

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

Tatiana Souza Guinsburg

Tayná Ferreira Lopes

**NÍVEIS DE CITOCINAS ENCONTRADOS NA
SALIVA E FLUIDO GENGIVAL**

Taubaté – SP

Tatiana Souza Guinsburg

Tayná Ferreira Lopes

NÍVEIS DE CITOCINAS ENCONTRADOS NA SALIVA E FLUIDO GENGIVAL

Trabalho de Graduação, apresentado ao Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Débora Pallos

Taubaté – SP

2018

SIBi – Sistema Integrado de Bibliotecas / UNITAU

G964n Guinsburg, Tatiana Souza
Níveis de citocinas encontrados na saliva e fluido gengival / Tatiana
Souza Guinsburg; Tayná Ferreira Lopes. -- 2018.
33 f. : il.

Monografia (graduação) – Universidade de Taubaté, Departamento de
Odontologia, 2018.
Orientação: Profa. Dra. Débora Pallos, Departamento de Odontologia.

1. Citocinas. 2. Doença periodontal. 3. Fluido gengival crevicular. 4.
Saliva. I. Lopes, Tayná Ferreira. II. Universidade de Taubaté. III. Título.

CDD - 617.632

Ficha catalográfica elaborada por Angela de Andrade Viana – CRB-8/8111

TATIANA SOUZA GUINSBURG

TAYNÁ FERREIRA LOPES

NÍVEIS DE CITOCINAS ENCONTRADOS NA SALIVA E FLUIDO GENGIVAL

Trabalho de Graduação, apresentado ao Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Débora Pallos

Data: 29/11/2018

Resultado: APROVADAS

BANCA EXAMINADORA

Prof Alexandre Cursino _____ Universidade de Taubaté.

Assinatura

Prof Celso da Silva Monteiro _____ Universidade de Taubaté.

Assinatura

Prof Débora Pallos _____ Universidade de Taubaté.

Assinatura

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, pela força para superar os desafios.

Aos nossos queridos pais, pela oportunidade, pelo incentivo, e pelo apoio que sempre nos deram.

À nossa Orientadora, Profa. Dra. Débora Pallos, que esteve sempre nos apoiando durante essa caminhada.

À nossa banca Prof. Dr. Celso da Silva Monteiro, Prof Dr. Alexandre Cursino de Moura Santos pelos conhecimentos e conselhos compartilhados em clínica.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da nossa caminhada e torceram por nós ao longo da faculdade, os nossos sinceros agradecimentos.

Resumo

Analisar os níveis de citocinas, na saliva e fluido em pacientes, com doença periodontal. A pesquisa incluiu 23 indivíduos que se encontravam em diferentes estágios da doença periodontal. Foram analisadas amostras do fluido gengival crevicular, utilizando tiras de papel coletor (*Periopaper*) e coleta da saliva por meio da técnica do fluxo salivar não estimulado. A contagem de citocinas foi feita por meio da tecnologia Luminex. As concentrações de IL-1 β foram maiores, na saliva, enquanto que a IL-6 e TNF- α foram maiores no fluido gengival. Comparando os dados de saliva com o fluido gengival, foi encontrada diferença significativa para IL-1 β ($p=0,0056$), IL-6 ($p< 0,0001$) e TNF- α ($p=0,0119$). Foi encontrado, no grupo 10 pacientes com periodontite leve (grupo-G1) e 13 com periodontite de moderada a avançada (grupo2-G2). No momento em que foi dividido pela doença periodontal, apenas a IL-1 β apresentou diferença significativa tanto na saliva como no fluido gengival. Neste estudo, pode-se verificar que alguns marcadores biológicos estavam relacionados com o grau da doença periodontal.

Palavras-chave: Doença periodontal, citocinas, saliva, fluido gengival crevicular

SUMÁRIO

RESUMO

1 INTRODUÇÃO	6
2 REVISÃO DA LITERATURA	8
3 PROPOSIÇÃO	20
4 MATERIAIS E MÉTODOS	21
5 RESULTADOS	24
6 DISCUSSÃO	27
7 CONCLUSÃO	30
8 REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

A periodontite crônica começa como uma gengivite induzida pelo acúmulo de biofilme, uma condição reversível que, sem tratamento, pode progredir para a periodontite crônica. As lesões da doença periodontal podem ser a perda de inserção e perda óssea, considerada como irreversível. Clinicamente, podemos observar sangramento à sondagem, na região de bolsa, textura e volume da gengiva, alteração de cor, aumento da profundidade de bolsa periodontal, perda óssea alveolar, perda de nível de inserção, aumento da mobilidade do dente, exposição de furca. De acordo com a Academia de Periodontia, em 1999, a gravidade de destruição do periodonto foi classificada pelos níveis de perda de inserção em leve (PIC=1-2mm), moderada (PIC=3-4mm) e grave (PIC>5mm).

As citocinas regulam a duração e a intensidade das respostas específicas e também recrutam células efetoras para áreas nas quais se desenvolvem respostas e induzem à formação e à maturação de novas células a partir de precursores.

As interleucinas são membros do grupo das citocinas, que desempenham papel importante na patogênese da periodontite. Dentre esses mediadores, destacam-se as interleucinas 1 (IL-1, nas suas formas IL-1 α e IL-1 β), 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α).

As IL-1 são citocinas produzidas por monócitos/macrófagos em resposta a agressões bacterianas, que atuam sobre diversas células, entre elas, os neutrófilos, os linfócitos T e B, as células endoteliais, outros macrófagos e fibroblastos, estimulam os sistemas enzimáticos que produzem o óxido nítrico, as prostaglandinas, os leucotrienos, as interleucinas e o fator de ativação de plaquetas. Entretanto, quando produzida em quantidade excessiva, a IL-1 pode induzir mecanismos que culminam na reabsorção óssea, na inibição da síntese do colágeno e na ativação das metaloproteinases (MMPs), causando a destruição do tecido conjuntivo e do tecido ósseo.

A IL-1 é um importante agente do grupo das citocinas sendo o principal agente mediador na resposta imune contra invasão bacteriana, inflamação, infecções e lesões teciduais (GONZAGA, 2013).

A interleucina- 6 (IL-6) é uma citocina com forte atividade antiviral, com grandes repostas imunológica durante a fase aguda de uma infecção. A IL-6 age no estímulo da unidade criadora de colônias de granulócitos-macrófagos (CSF-GM) e na célula tronco. A produção de mutantes de IL-6 por células neoplásicas é um fator que fornece para o crescimento de linfócitos B leucêmicos, linfomas das células T, e no Sarcoma de Kaposi. A IL-6 anormal é polimórfica, e uma dessas formas mutantes de IL-6 está associada com hipertrigliceridemia.

De acordo com o Portal da saúde CCM, o fator de necrose tumoral é uma substância produzida pelo sistema imunológico durante a luta contra as células cancerígenas. Existem dois tipos de fatores de necrose tumoral (TNF, da sigla em inglês): o TNF α (alfa) e TNF β (beta). Eles são produzidos respectivamente pelos monócitos ativos e pelos linfócitos T das células essenciais no sistema de defesa imunológico. Os dois fatores agem igualmente na fase inflamatória da doença em caso de infecção.

A análise dos níveis de citocinas, de acordo com a doença periodontal, pode ser importante para seu diagnóstico, portanto o presente estudo verificou níveis de citocinas na saliva e no fluido gengival crevicular.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Engebretson et al., (1999) avaliaram a influência genética da interleucina-1 β no FGC (fluido gengival crevicular) de pacientes com diferentes graus de doença periodontal. No FGC a IL-1 β foi detectada por meio do ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática). A pesquisa foi realizada com 29 adultos não fumantes com doença periodontal leve, moderada e severa nos 6 sítios de todos os molares. Os dados clínicos utilizados foram profundidade de sondagem, nível de inserção, biofilme e sangramento à sondagem. A profundidade de sondagem em cada sítio foi definida como rasa (4 mm), intermediário (4-6 mm) ou profundo (> 6 mm). Os pacientes com doença periodontal severa apresentaram níveis mais elevados de IL1- β na PS. Quando comparados com os pacientes com doença periodontal leve/moderada ou severa, os pacientes com doença periodontal severa apresentaram 2 vezes mais IL1- β . Concluíram que, nos pacientes com doença periodontal grave, o aumento de IL-1 β apresentou níveis mais elevados em locais rasos, sugerindo que a alta expressão de IL-1 β é, em parte, uma característica do hospedeiro, e não estritamente uma função dos parâmetros clínicos.

Lopes et al., (2005) analisaram uma relação entre doença periodontal e nascimento de recém-nascidos prematuros de baixo peso (RPBP) por meio das condições periodontais e de tratamento em puérperas, fornecido pelo Registro Periodontal Simplificado (RPS). Participaram 40 puérperas que foram divididas em dois grupos: grupo teste, composto por mães de recém-nascidos prematuros com peso inferior a 2,500 g (n=20) e o grupo controle, por mães de recém-nascidos cujo peso é igual ou superior a 2,500 g (n=20). Os resultados do RPS verificaram se existem diferenças na condição periodontal e necessidade de tratamento entre as puérperas. Observou-se que todas as puérperas de ambos os grupos apresentaram alguma necessidade de tratamento de forma mais simples ou especializada. A presença de bolsa periodontal de 3,5 a 5,5 mm foi o achado mais frequente entre os RPBP. A ausência de bolsa periodontal e presença de sangramento à sondagem foram os achados mais comuns entre as puérperas de recém-nascidos com peso normal, houve uma diferença significativa na condição periodontal das puérperas (p=0,0494). Concluíram que a infecção periodontal pode estar relacionada ao

nascimento de recém-nascidos prematuros de baixo peso, pois as puérperas apresentaram piores condições periodontais.

Souza et al., (2006) por meio de uma revisão de literatura, pesquisaram sobre a existência de uma relação entre as doenças periodontais como fator de risco para as doenças cardiovasculares. As doenças periodontais são classificadas como infecções crônicas. A etiologia primária da doença periodontal deve-se à presença de biofilme acumulado nos tecidos dentários. Por meio do biofilme, há produção de lipopolissacarídeos que induzem à formação de citocinas (IL-1, IL-6, TNF, TX A2) e Proteínas C reativas, dando início à inflamação. A Aterosclerose é uma doença progressiva que afeta as artérias e os músculos. Doenças cardíacas estão, na maioria das vezes relacionadas à periodontite. Além dos fatores genéticos e ambientais, outros fatores também podem estar relacionados à doença vascular e à doença periodontal como: peso corporal, pressão arterial, idade, raça, sexo, diabetes, fumo, educação, nível socioeconômico e estado civil.

Czerniuk, et al., (2004) examinaram 50 indivíduos portadores de Periodontite crônica e Síndrome Coronária Aguda. Foram avaliados os níveis séricos de FNT- α e IL-1. Por meio de coletas de quatro amostras de sangue: nas primeiras 24 horas (coleta 01); 10 ou 12 dias depois (coleta 02); 03 meses (coleta 03) e 06 meses (coleta 04). Concluíram que, nos pacientes portadores de Síndrome Coronária Aguda, os níveis de IL-1 e FNT- α estavam mais elevados nos pacientes com doença periodontal severa quando comparados com pacientes com doença periodontal leve. Por meio dessa revisão de literatura, concluíram que para um indivíduo cardiopata, a doença periodontal parece ser um fator de risco. Sugere-se que fatores sistêmicos podem estar envolvidos no surgimento de doença periodontal nos indivíduos que já apresentam doença cardiovascular. É importante que o cirurgião-dentista tenha conhecimento da associação entre as duas doenças para que possa contribuir na diminuição no risco das doenças cardíacas.

Segundo Moura et al., (2007) a saliva pode servir como meio de diagnóstico de algumas doenças orais e sistêmicas. A análise salivar, tem duas finalidades: identificar indivíduos com doença e seguir o progresso desse indivíduo, avaliando a eficácia do tratamento usado. Entre algumas vantagens do recurso, podemos apontar a facilidade de coleta do material e o seu manuseio, que são pontos

importantes na instrumentação técnica desse tipo de exame. A progressão, nos estudos de métodos de diagnóstico que manipulam a saliva como meio biológico para o diagnóstico e acompanhamento de condições bucais e sistêmicas, mostra resultados favoráveis, que poderão constituir um meio de exame usado na rotina.

Segundo Alves et al., (2007) a DP é a complicação oral mais importante, sendo apontada a sexta complicação do diabetes. Alguns mecanismos estão envolvidos na fisiopatologia da DP associada ao DM (Diabetes Melito), como a produção de glicosilação, falha na resposta imune, herança de determinados polimorfismos genéticos, modificações dos vasos sanguíneos, tecido conjuntivo e da composição salivar. A gengivite e a periodontite predominam em sua fase inicial. Caso não for reconhecido precocemente, esses problemas podem progredir para doença periodontal avançada. Concluíram que os médicos e os dentistas orientem os pacientes com DM sobre a indispensabilidade do controle glicêmico e da higiene bucal apropriada para minimizar os riscos de doença periodontal.

De acordo com Lima et al., (2008) a periodontite é uma doença inflamatória crônica identificada pela infiltração de leucócitos, perda de tecido conjuntivo, reabsorção de osso alveolar e formação de bolsa periodontal. O objetivo dos autores foi discutir os principais mediadores inflamatórios envolvidos, na patogênese da doença periodontal e o papel de moduladores farmacológicos, nesse processo, na perspectiva de contribuir para a compreensão dos fenômenos associados com a lise óssea e a busca de tratamentos que possam alterar o curso evolutivo da DP. De acordo, com os pesquisadores concluíram que a DP está relacionada com o nível de resistência do hospedeiro aos fatores locais. Essas respostas envolvem mediadores como as citocinas, principalmente IL-1 β e TNF- α , prostaglandinas, fatores de crescimento, elaboração de enzimas líticas, recrutamento de células inflamatórias, ativação de osteoclastos e o óxido nítrico (NO), em conjunto, formam a base da destruição periodontal. Fármacos que modulem a resposta inflamatória podem, de forma racional, representar uma importante ferramenta no controle da reabsorção óssea alveolar.

Ulker et al., (2008) compararam os níveis de cistatina C, IL-1 β e (TNF- α) na saliva total e no fluido crevicular gengival (FGC) de 10 crianças com o periodonto saudável (CPS) e 25 crianças com gengivite (CG) entre 11 e 16 anos. Nesse estudo,

utilizaram saliva total não estimulada, amostras de FGC, e os parâmetros clínicos avaliados foram profundidade de sondagem (PS), perda de inserção clínica (PIC), índice de placa (IP), índice gengival (GI) e índice de sangramento gengival (ISG). As amostras de FGC foram coletadas dos quatro incisivos superiores. Após a amostragem, as análises bioquímicas foram realizadas, usando imunoenensaio turbidimétrico reforçado com partículas de látex para teste de imunoadsorção ligada à citosamina para Cistatina C e ensaio de imunoadsorção enzimática para IL-1 β e TNF- α . Os níveis de saliva total, cistatina C e TNF- α , foram maiores em CPS, os níveis de TNF- α e IL-1 β foram maiores em CG, porém as diferenças não foram estatisticamente significantes. No grupo CG, houve correlações positivas entre o nível de FGC cistatina C e o PI do local amostrado ($r = 0,488$; $P < 0,05$); Os níveis de FGC IL-1 β ($r = 0,603$; $P < 0,05$) e TNF- α ($r = 0,456$; $P < 0,05$) foram positivamente correlacionados com CAL e PD. Para a boca toda e os locais amostrados, os valores de IP, GI, GBI, PS e PIC foram maiores no CG ($P < 0,05$), mas não foram detectadas diferenças significativas entre os volumes FGC dos dois grupos. Concluíram que, na saliva total e na cistatina C, os níveis foram maiores nas CPS ($p > 0,005$); não houve correlação entre os níveis de cistatina C e IL-1 β ou níveis de TNF- α na saliva total ou FGC.

Segundo Leite et al., (2008) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis* são apontados como patógenos periodontais, e não são frequentemente detectados em indivíduos com periodonto sadio. O propósito do artigo foi expor uma revisão da literatura sobre a transferência de bactérias associadas com as doenças periodontais entre membros da família. A transmissão de microrganismos entre pais e filhos é particularmente evidente. Técnicas de genética molecular têm confirmado que se uma criança é colonizada por uma espécie patogênica, então um dos pais abriga a bactéria idêntica genotipicamente. Os dados também apontam que a transferência de bactéria entre cônjuges ocorre, embora não frequentemente. Concluíram que a infecção periodontal, quando presente em um dos cônjuges ou em membros da mesma família, pode aumentar a probabilidade de transmissão de periodontopatógenos. Embora a transmissão de *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* não implique necessariamente nas manifestações dos sintomas da doença periodontal, o conhecimento das vias de transmissão é fundamental e deve ser considerado na prevenção e no tratamento da

doença periodontal, uma vez que há maior possibilidade de infecção, de reinfecção e de recolonização em pacientes suscetíveis.

Chibebe et al., (2008) após revisão de literatura, verificaram três métodos para coleta de Fluido Gengival Crevicular (FGC). São eles: Métodos de lavagem gengival; método por meio de túbulos microcapilares ou micropipetas; e utilização de tiras de papel filtro. A quantidade de FGC coletada, na tira de papel, pode ser calculada pela distância que o fluido migrou para tira. Essa é geralmente obtida como uma simples medida linear, um valor mais preciso pode ser obtido pelo cálculo da área umedecida da tira de papel. Maior precisão ainda pode ser alcançada corando-se a tira com ninidrina, o que produz uma cor púrpura na área em que o FGC foi acumulado. Os mediadores inflamatórios do FGC são indicadores para doença periodontal. Durante a resposta inflamatória os monócitos liberam prostaglandina E_2 , interleucina 1- 6 e 8, fator de necrose tumoral, tromboxana β e colagenase. Comparou-se que, em indivíduos fumantes, não fumantes e portadores de periodontite crônica a quantidade de TGF- 1β no FGC tem interferência dependente quando comparado com os parâmetros clínicos no exame inicial e pós tratamento. Concluíram que o FGC é um importante marcador de diagnóstico que pode indicar o início ou um risco futuro da doença. O fluido gengival também contribui para a prevenção e tratamento efetivo de indivíduos que precisam de acompanhamento frequente.

Perozini et al., (2010) avaliaram os níveis de interleucina 1β (IL- 1β) e fosfatase alcalina (ALP) em fluido crevicular, e relacionaram as medidas com características clínicas de pacientes saudáveis e pacientes com gengivite e com periodontite. Foram divididos em 12 grupos o total de 36 indivíduos: grupos controle, gengivite e periodontite. Foram realizadas 2 amostras de 2 locais diferentes em cada paciente. Pela técnica de ELISA, foram avaliados os níveis de IL- 1β ; A ALP foi medida pelo método cinético. Níveis de IL β e APL foram medidos de acordo com 3 diferentes grupos: grupo controle (GC) $22,34 \pm 16,53 \mu\text{L}$ / e $7,68 \pm 2,46 \text{ U} / \text{L}$; grupo gengivite (GG) $41,46 \pm 27,98 \mu\text{L}$ / e $9,80 \pm 1,53 \text{ U} / \text{L}$; e grupo periodontite $105,97 \pm 89,26 \mu\text{L}$ /e $11,56 \pm 1,82 \text{ U} / \text{L}$. Os resultados dos níveis de IL- 1β , obtidos no grupo de periodontite, foram significantes, com o resultado maior do que nos outros grupos. Entre níveis de IL- 1β e ALP, não ocorreu correlação. Foi observada uma relação

positiva entre os níveis de IL-1 β , volume de fluido crevicular e profundidade de sondagem. Concluíram que os marcadores imunológicos podem transferir informações sobre os locais que podem haver doença e locais saudáveis.

Thunell et. al. (2010) analisaram o efeito da terapia periodontal por meio de citocinas e quimiocinas obtidas no FGC. Participaram desse estudo 6 indivíduos, entre 40 e 75 anos, com periodontite crônica generalizada severa. Os pacientes com doença periodontal apresentaram mais de um terço da dentição com Perda de Inserção Clínica (PIC) \geq 5 mm. Foi feito um exame periodontal, instruções de higiene oral e 2 sessões de raspagem e aplainamento radicular, em todos os pacientes. Antes da terapia periodontal inicial, o FGC foi coletado de 2 locais saudáveis (PS, PIC \leq 3 mm, sem sangramento à sondagem) e 4 locais não saudáveis (PS, PIC \geq 5 mm, sangramento à sondagem). Entre 6 e 8 semanas, foi coletado FGC dos locais previamente amostrados com o Periopaper. A quantificação de quimiocinas e citocinas foi feita utilizando o Luminex 100 IS Instrument e esferas fluorescentes de 22 Multiplex. O kit multiplex detectou citocinas IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, (p70), IFN, TNF- α , fator estimulante de colônias de granulócitos macrófagos (GM-CSF), e IL-12 (p40), quimiocinas IL-7 e IL-8, IL-15, CCL2, CXCL8, CXCL10, (IP)-10, MIP)-1 α , CCL5 / (RANTES - Regulado na Ativação, Célula T Normal Expressa e Secretada) CCL11 (MCP)-1, CCL3. A interleucina IL-1 α e IL-1 β do FGC foram as únicas citocinas que se alteraram inicialmente em pacientes não saudáveis quando comparados com pacientes saudáveis. Após a terapia inicial, em locais não saudáveis, as interleucinas IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12 (p40), CCL5 / regulado, na ativação, normalmente células T expressa e secretada (RANTES- Regulado na Ativação, Célula T Normal Expressa e Secretada), eotaxina, proteína quimiotática de macrófagos-1, macrófagos proteína-1 α inflamatória e IFN- γ , diminuíram significativamente, e nos locais saudáveis, tanto a IL-3 como a IL-4 diminuíram significativamente. Constataram que, antes da terapia periodontal, havia uma similaridade na quantidade de citocinas de locais não saudáveis e saudáveis. As citocinas IL-1 α e a IL-1 β foram as únicas que foram significativamente mais altas nos sítios não saudáveis do que nos saudáveis. A terapia periodontal reduz efetivamente as citocinas pró inflamatórias e quimiocinas.

Tymkiw, et al., (2011) compararam a expressão de 22 citocinas e quimiocinas no FGC de fumantes e não fumantes com periodontite, e indivíduos com o periodonto saudável. Participaram desse estudo 40 indivíduos com periodontite crônica severa generalizada (20 fumantes e 20 não-fumantes) e 12 indivíduos periodontalmente saudáveis. Foram selecionados 4 sítios com periodontite e 2 sítios saudáveis das pessoas com doença periodontal. O FGC foi coletado e foram analisadas as citocinas, utilizando um imunensaio multiplexado (Luminex®). O FGC de pacientes com periodontite crônica apresentaram quantidades significativamente maiores de citocinas (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-12); IL-8, MCP-1, MIP-1 α , RANTES (quimiocinas); IL-2, IFN- γ , IL-3, IL-4 (Th1/Th2); IL-15 (regulador de células T e NK) quando comparados com indivíduos saudáveis. Os indivíduos com periodontite exibiram dados significativamente elevados de citocinas (IL-1 α , IL-6, IL-12 (p40)) e quimiocinas (IL-8, IP-10, MCP-1, MIP-1 α e RANTES). Os fumantes mostraram uma diminuição em várias citocinas, quimiocinas pró-inflamatórias, alguns reguladores de células T e NK (IL-7 e IL-15). Os efeitos dos imunossuppressores do tabagismo podem contribuir para uma maior suscetibilidade à periodontite.

Otenio, (2012) aferiu as citocinas e enzima óxido nítrico induzível (iNOS) em tecido periodontal de gestantes e não gestantes. O objetivo desse estudo foi de analisar a expressão gênica das citocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF- α) e da enzima óxido nítrico induzível (iNOS) no periodonto de gestantes e não gestantes. Examinou um total de 120 mulheres, incluíram 32 mulheres nesse estudo, entre novembro de 2009 e novembro de 2010. Os indivíduos selecionados foram divididos em quatro grupos: Gestantes com doença periodontal (GD), Gestantes sem doença periodontal (GND), não gestantes com doença periodontal (NGD), não gestantes sem doença periodontal (NGND). O pesquisador realizou uma entrevista e preencheu um prontuário de cada voluntário, com a finalidade de analisar o estado de saúde geral, bucal e histórico de gestação. Durante o exame periodontal, foi avaliado: Sangramento à sondagem (SS), Nível de inserção clínico (NIC), Índice periodontal comunitário (CPI). Foi realizada a coleta de tecido gengival das mulheres com bolsas periodontal profunda e que necessitavam de tratamento. Nas mulheres sem DP, foi feito na distal do segundo molar. Com as amostras coletadas, fizeram um estudo piloto. Na primeira fase do estudo, eles coletaram os dados; durante a segunda fase, realizaram um exame da condição periodontal; em seguida, na

terceira fase, ficou demarcada a metodologia de PCR em tempo real para avaliar a expressão da IL-1 β , IL-6, TNF- α e iNOS das amostras. Os resultados obtidos da expressão dos genes revelam que em mulheres grávidas com e sem DP não teve relevância significativa. Mesmo com as mudanças hormonais, que ocorrem na gravidez, há pouca ou nenhuma influência sobre os genes associados a DP.

Fonseca et. al., (2012) avaliaram os níveis de GM-CSF, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IFN e TNF- α no fluido crevicular peri-implantar (PICF) e saliva de pacientes com doença peri-implantar. Participaram do estudo 22 indivíduos que foram divididos em dois grupos: Mucosite (MU), pacientes apresentaram perda óssea ao redor do implante até a primeira rosca e o fundo da bolsa \leq 3mm; Peri-implantite (PI), pacientes com pelo menos um implante com perda óssea em torno de duas ou mais roscas e profundidade da bolsa \geq 4mm. Os parâmetros clínicos analisados foram sangramento à sondagem, profundidade de sondagem e porcentagem de placa. Foram coletadas amostras do fluido crevicular peri-implantar em sítios de mucosite, locais rasos (SPI), locais profundos (DPI). Foi coletada a saliva do ducto parotídeo de todos os pacientes. Todas as citocinas foram medidas por meio de imunoensaio multiplexado. Os pacientes com peri-implantite obtiveram maiores percentuais de placa comparando com os resultados do grupo mucosite. Nos sítios da MU houve menor profundidade de bolsa quando verificou com SPI e DPI. No PICF, os níveis de IL-1 β foram mais significativos nos sítios de SPI comparados com MU. Na saliva da parótida, IL-8 e IL-12 obtiveram maior significância em pacientes com PI. Os autores concluíram que o PICF apresentou níveis elevados de IL-1 β nos pacientes com implante, e a saliva do ducto parotídeo mostrou um aumento significativo na expressão de IL-8, o que pode estar relacionado à uma resposta sistêmica.

Ribeiro (2014) pesquisou sobre a relação entre a Periodontite e o Lúpus Eritematoso Sistêmico. O estudo foi realizado com 40 indivíduos que foram divididos entre 4 grupos: Grupo A –indivíduos com Lúpus Eritematoso Sistêmico e Doença Periodontal; Grupo B –Indivíduos com Lúpus Eritematoso Sistêmico; Grupo C– indivíduos com Doença Periodontal; Grupo D–indivíduos saudáveis. Realizou-se uma avaliação clínica, utilizando o Índice Periodontal Comunitário (IPC) e o Índice de Perda de Inserção Periodontal (PIP), com o objetivo de analisar a condição

periodontal de cada indivíduo, bem como, foi feita a dosagem dos níveis de IL-6 e de TNF- α nas amostras de saliva. Os resultados dos níveis de TNF- α e IL-6 foram baixas no grupo D e elevadas no grupo C, em ambos não tiveram relevância estatisticamente. Os dados do IPC, PIP, idade e as citocinas pesquisadas também não tiveram relevância estatística, exceto o grupo B. O PIP e o TNF- α foram estatisticamente relevantes no grupo B. Concluíram que tanto a IL-6 como o TNF- α , da doença periodontal, apresentam níveis elevados quando comparados com o grupo controle. Nos indivíduos lúpicos o TNF- α é um excelente marcador que indica a perda de inserção periodontal existente. Por meio da citocina TNF- α , observaram que há uma relação entre perda de inserção periodontal e Lúpus Eritematoso Sistêmico.

Kinney et al., (2014) avaliaram a capacidade de um painel de biomarcadores de FGC como preditores de progressão da doença periodontal (PDP). Participaram desse estudo 100 indivíduos que foram divididos em 4 grupos de acordo com seu estado periodontal, essa pesquisa ocorreu durante 1 ano. A cada 2 meses, a saliva e os parâmetros clínicos foram coletados do FGC. A cada 6 meses, foram coletados soro e biofilme. No primeiro semestre, nenhum indivíduo recebeu tratamento periodontal. No segundo semestre, os pacientes receberam terapia periodontal e continuaram participando de 6 meses até 1 ano. Por meio do método ELISA, as amostras das citocinas IL-1 β , OPG, proteína C-reativa (PCR) e metaloproteinases (MMP-8, MMP-9) do FGC foram quantificadas. Foi utilizado o teste Wilcoxon Rank Sum ($p = 0,05$) para comparar pacientes estáveis e em progresso. Durante 6 meses, 83 indivíduos completaram a fase de observação. Os resultados obtidos, por meio dos biomarcadores, foram significativamente maiores, no grupo PDP, em comparação aos pacientes estáveis com exceção da PCR do FGC. A análise dos grupos mostrou maiores níveis de sensibilidade quando os patógenos de biofilme e os biomarcadores FGC foram combinados com medidas clínicas. No FGC a IL-1 β , de pacientes estáveis, apresentou o valor 118 pg/ml, em pacientes em evolução foi de 482 pg/ml. O p valor encontrado foi 0,001. Concluíram que os biomarcadores derivados de fluidos FGC combinados com patógenos medidas clínicas fornece uma medida sensível para a discriminação do PDP.

Para Zhang et al., (2016) a limpeza bucal, a proteção antimicrobiana e os efeitos, na digestão são algumas das funções da saliva. A saliva pode ser reconhecida como marcador biológico, substituindo a coleta de sangue pela saliva, uma fonte não invasiva e segura para o diagnóstico e prognóstico de doenças. Essa revisão teve como objetivo estudar os últimos avanços relacionados à saliva e o seu potencial, no diagnóstico precoce de doenças orais, como cárie dentária, doença periodontal, câncer, diabetes e outros distúrbios sistêmicos. Dados de outro estudo, relatados, no trabalho, demonstram que, na saliva, os seus metabólitos finais são mais apropriados do que o fluido crevicular gengival para o diagnóstico de doenças periodontais. O mesmo estudo demonstrou a capacidade da saliva como uma forma mais conveniente de diagnosticar pacientes com maior risco de doença pré-cancerosa, lesões e condições. A interleucina (IL) -1β , IL-6, prostaglandina E2, níveis de fator de necrose tumoral (TNF- α) mostraram potencial para indicar gengivite e periodontite. Os biomarcadores da saliva podem ir desde mudanças nos índices bioquímicos de DNA, RNA e proteínas até variação da estrutura de uma microbiota. Esse estudo engloba dados recentes, na literatura, e discute o significado clínico e o propósito da aplicação de saliva no diagnóstico precoce.

Segundo Rangbulla et al., (2017) o biomarcador é uma medida confirmada como indicador de saúde, de processo patogênico ou de resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica. O objetivo desse estudo foi relacionar parâmetros clínicos e níveis de imunoglobulina A salivar (IgA), interleucina 1β (IL- 1β), e metaloproteinase de matriz-8 (MMP-8), em pacientes com doença periodontal crônica, moderada e grave e em pacientes com gengiva saudável. Foram registrados 50 adultos, sendo 30 pacientes com periodontite crônica generalizada moderada a grave, constituindo o grupo A, e 20 pacientes controles, constituído o grupo B. Os parâmetros clínicos foram: índice de placa (PI), índice gengival (GI), profundidade de sondagem, nível de inserção clínica e sangramento à sondagem. Juntamente com os biomarcadores salivares IgA, IL- 1β e MMP-8 foram registrados os grupos. A avaliação clínica foi feita antes da profilaxia, 6 semanas e 12 semanas após a profilaxia, as amostras de saliva foram obtidas. Quando comparada em intervalos de 6 semanas e 12 semanas após a profilaxia, no grupo A houve diferença significativa em termos de PI, GI, profundidade de sondagem, nível de inserção clínica e sangramento à sondagem antes da profilaxia. No grupo B, os

níveis medidos não foram significativos nos intervalos, exceto PI. Os níveis medidos, no início do estudo de IgA salivar, IL-1 β e MMP-8 em pacientes com periodontite crônica, foram significantes 12 semanas após a profilaxia(P<0,001), mas permaneceram inalterados no grupo B. Concluíram que após a profilaxia, os níveis de IgA, IL-1 β e MMP-8 mostraram redução significativa, sugerindo que os biomarcadores podem facilitar no diagnóstico precoce e no controle da doença periodontal.

Segundo Mendoza et al., (2018) os biomarcadores do fluido crevicular permitem o reconhecimento da doença periodontal, os riscos e a previsão de progressão. O objetivo desse estudo é comparar os níveis de interleucina1(IL1 β) e de metaloproteinase de matriz 1(MMP1) no fluido crevicular em crianças com doença periodontal severa. Em um estudo transversal, foi realizada uma pesquisa com crianças de 9 a 12 anos em 82 escolas. Recessão gengival, porcentagem de biofilme, cálculo dentário, nível de inserção e sangramento à sondagem foram avaliados nos dentes 16, 26, 41 e 46. Os resultados entre 0 a 10 pontos foram selecionados de acordo com os cinco parâmetros estudados. Foram mensurados os níveis de IL1 β e MMP1, no fluido crevicular do dente de maior pontuação. De acordo com os resultados, três grupos foram estabelecidos: gengivite induzida por biofilme leve n = 20 (24,4%), gengivite moderada n = 30 (36,6%) e gengivite grave n = 32 (39%). Conforme a porcentagem de biofilme, os níveis de IL1 β e MMP1 aumentaram à medida que a gravidade da doença periodontal aumentava. A pontuação dos parâmetros clínicos da doença correlacionou-se positivamente com a porcentagem de biofilme (r = 0,63, P \leq 0,001), IL1 β (r = 0,50; P <0,001) e níveis de MMP1 no fluido crevicular (r = 0,45, P <0,001), respectivamente. Concluíram que os biomarcadores do fluido crevicular permitem identificar doença periodontal, podendo prevenir a progressão. À medida que a proporção da doença aumentava, a porcentagem de biofilme, níveis de IL1 β e MMP1 aumentaram.

De acordo com Machado et al., (2018) a periodontite está associada ao aumento de marcadores inflamatórios, e a saliva tem sido reconhecida como fonte de diagnósticos na cavidade oral e em doenças sistêmicas, a coleta da saliva é segura e não invasiva. Os biomarcadores salivares conseguem verificar os níveis das citocinas, que podem ser usados para diferenciar periodonto saudável de doença periodontal. O objetivo desse trabalho foi definir os níveis salivares em dois

biomarcadores inflamatórios associados à periodontite, interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), com o intuito de avaliar se os níveis das citocinas poderiam ser usados para concluir o diagnóstico de doença periodontal em mulheres grávidas. Foi realizada a coleta de saliva não estimulada de quarenta e quatro gestantes, divididas em três grupos de acordo com seu estado periodontal: saudável, periodontite leve/ moderada e grave. De acordo com as amostras de saliva de cada grupo, foram analisadas IL-6 e TNF- α , realizado com o Immulita. Pacientes com periodontite mostraram níveis significativamente maiores ($p=0,001$), a IL-6 e TNF- α em comparação com o grupo de pacientes saudáveis: 25,1 ($\pm 11,2$) vs. 16,3 ($\pm 5,0$) pg / mL e 29,7 ($\pm 17,2$) vs. 16,2 ($\pm 7,6$) pg / mL, cerca de 1,5 e 1,8 vezes mais. Níveis salivares das citocinas foram significativamente aumentadas ($p < 0,05$) em periodontite grave comparada com saudável, mas não foram estatisticamente significantes entre os grupos. Concluíram que os biomarcadores de IL-6 e TNF- α podem ter uma alta capacidade para identificar doença periodontal e periodontite saudável. Os biomarcadores provavelmente fornecerão benefício clínico quando suplementado com outras informações clínicas.

3 PROPOSIÇÃO

Analisar os níveis de citocinas na saliva e no fluido gengival crevicular de pacientes com doença periodontal por meio da tecnologia Luminex.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra

Este estudo incluiu 23 indivíduos, com idade superior ou igual a 20 anos, previamente avaliados no Departamento de Periodontia da UNITAU.

Os participantes foram informados sobre o objetivo e a metodologia do estudo e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A) previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté – UNITAU (405/07).

Os indivíduos foram categorizados em grupos com base no exame clínico periodontal.

Critérios de Inclusão

- ✓ Apresentar, no mínimo, 15 dentes na cavidade bucal
- ✓ Disponibilidade de tempo para a execução do trabalho

Critérios de Exclusão

- ✓ Ser desdentado
- ✓ Ter recebido tratamento periodontal nos últimos 6 meses
- ✓ Antibioticoterapia nas últimas 72h antes do exame periodontal
- ✓ Ser soropositivo para o HIV, hepatite C vírus (HCV) ou hepatite B (HBV) e ou outra doença sistêmica
- ✓ Ser fumante

Avaliação Odontológica:

Exame Clínico Periodontal

A profundidade de sondagem (PS) foi aferida por um único examinador em todos os sítios, usando sonda periodontal manual tipo Willians. A PS foi mensurada da margem gengival livre até a base da bolsa periodontal.

O nível clínico de inserção (NCI) foi obtido de todos os sítios examinados através da medida da distância da junção esmalte-cimento (JEC) até a margem gengival (MG) somando à medida da PS. Resumindo: $NCI = PS + (JEC - MG)$. Todas as medidas obtidas foram expressas em milímetros.

A condição gengival dos indivíduos foi avaliada usando o Índice Gengival (Løe & Silness - 1963).

A higiene bucal foi avaliada pelo Índice de Placa (Silness & Løe - 1964)

Os indivíduos após o exame clínico periodontal foram diagnosticados de acordo com sua condição em: Periodontite crônica leve, moderada e avançada, seguindo a classificação proposta pela Academia Americana de Periodontia (1999).

Coleta das Amostras do Fluido Gengival Crevicular e Armazenamento das Amostras

Dois sítios foram selecionados de cada participante, e as superfícies dentais foram lavadas com spray de ar e de água, secas com jatos de ar e isoladas com roletes de algodão. Tiras de papel coletor (*Periopaper*®, Harco) foram inseridas no sulco ou bolsa periodontal, até que fosse sentida certa resistência, permanecendo, no local, por 30 segundos. As tiras que foram contaminadas com sangue foram descartadas. As tiras estavam acondicionadas em 500ml de uma solução estéril contida em frascos de centrifugação de 1,5ml e etiquetadas, imediatamente congeladas em gelo seco e armazenadas a -70°C para análise laboratorial posterior da IL-1 β , IL-6, FNT- α .

Coleta de saliva

Para a coleta do volume do fluxo salivar, utilizamos um recipiente plástico de 200 ml pré-pesado, unitariamente, em uma balança analítica por ser mais precisa. O paciente estava sentado, com a cabeça levemente inclinada para frente e para baixo. Foi orientado a não conversar, para não ocorrer o estímulo da salivação, e não deglutir a saliva secretada naturalmente pelas glândulas salivares. Utilizamos técnica do Fluxo Salivar Não-Estimulado, que preconizou um tempo de coleta de 05 minutos. O paciente fazia toda a excreção no recipiente descartável.

Quantificação das citocinas por LUMINEX na saliva e no fluido gengival

A Tecnologia Luminex™ xMAP (MAP=Multiple Analyte Profiling, x= sua variável (ex: citocinas, endócrino, oligo) envolveu um processo exclusivo que cora microesferas de látex com dois fluoróforos. Utilizando proporções precisas de dois fluoróforos podem ser criados 100 conjuntos diferentes de microesferas, cada uma delas com uma assinatura baseada em “código de cores” e que podem ser identificadas pelo instrumento Luminex.

Os kits Milliplex foram desenvolvidos com essas microesferas e se fundamentam no imunoensaio. Anticorpos de captura específicos para cada analito estão imobilizadas as microesferas através de ligações covalentes não reversíveis. Depois que o analito (amostra) se liga aos anticorpos de captura localizados, na superfície das microesferas, a detecção final é feita através de um terceiro marcador fluorescente, ficoeritrina (PE) ligada ao anticorpo de detecção. O resultado final é um ensaio “sanduíche” realizado por meio de microesferas. O equipamento Luminex 200 movimentam essas esferas em fila única através de feixes de dois lasers diferentes em um citômetro de fluxo. O primeiro feixe de laser detecta (classifica) a microesfera (o código de cor para o ensaio), e o segundo laser quantifica o sinal de reporte em cada microesfera. A leitura dos resultados foi realizada no Equipamento MagPix - Software xPonent/Analyst versão 4.2.

Análise Estatística

O teste t de student e Mann Whitney foi utilizado para comparar as médias dos valores obtidos entre os grupos. As análises e os gráficos do presente estudo foram realizados com o auxílio do programa estatístico GraphPad Prism versão 4.0. Os dados presentes, nos gráficos, foram expressos como média + SEM (erro padrão da média). Foram utilizadas as médias de dados obtidos para cada paciente, dessa forma, utilizando o paciente, e não o sítio periodontal como unidade de análise.

5 RESULTADOS

Dos vinte e três indivíduos estudados, treze eram do gênero feminino e dez do gênero masculino. A idade variou de 24 a 77 anos com média de $55,21 \pm 13,47$. Primeiramente apresentamos os dados gerais de todos os pacientes. Os dados periodontais estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Média e desvio padrão (DP) dos parâmetros periodontais de todos os pacientes

N=23	PS (mm)	PIC (mm)	IG	IP	DA
Média	2,95	3,54	1,74	1,66	10,91
Desvio padrão	0,88	1,66	0,58	0,63	7,49

PS- Profundidade a sondagem, PIC- perda de inserção clínica, IG-índice gengival, IP-índice de placa, DA- dente ausente.

Os resultados obtidos das citocinas após a análise do Luminex estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2: Resultados das citocinas, na saliva e no fluido gengival, no grupo total (média e desvio padrão)

Citocina	Saliva			Fluido gengival		
	IL-1 β	IL-6	TNF- α	IL-1 β	IL-6	TNF- α
Média	140,00	37,06	4,41	123,10	6,05	11,55
Desvio padrão	175,60	25,65	2,78	271,70	9,93	14,33

As concentrações de IL-1 β foram maiores, na saliva, enquanto que a IL-6 e TNF- α foram maiores no fluido gengival. Comparando os dados de saliva com fluido gengival, foi encontrada diferença significativa para IL-1 β ($p=0,0056$), IL-6 ($p=<0,0001$) e TNF- α ($p=0,0119$).

Posteriormente, os pacientes foram divididos pela perda de inserção clínica em dois grupos: Periodontite crônica leve e periodontite crônica de moderada a avançada. Foi encontrado, no grupo total, 10 pacientes com periodontite leve (grupo 1- G1) e 13 com periodontite de moderada a avançada (grupo 2- G2). A tabela 3 apresenta os dados dos parâmetros periodontais divididos pelos grupos.

Tabela 3. Média e desvio padrão dos parâmetros periodontais divididos pelos grupos 1 e 2.

G 1	Idade	PS (mm)	PIC (mm)	IP	IG	DA
Média	47,90	2,34	2,38	1,46	1,26	7,00
Desvio padrão	14,55	0,39	0,72	0,47	0,45	6,04
G 2	Idade	PS (mm)	PIC (mm)	IP	IG	DA
Média	61,83	3,47	5,10	1,99	2,02	14,25
Desvio padrão	10,32	0,90	1,22	0,60	0,57	7,50
P value	0,0163*	0,0016*	< 0,0001*	0,0369*	0,0029*	0,0232*

*= estatisticamente significativo

No momento em que foi dividido pela doença periodontal, apenas a IL-1 β apresentou diferença significativa tanto na saliva como no fluido gengival (Tabela 4).

Tabela 4: Resultados das citocinas, na saliva e no fluido gengival, do grupo 1 e 2 (média e desvio padrão)

G 1		Saliva			Fluido gengival		
Citocina	IL-1 β	IL-6	TNF- α	IL-1 β	IL-6	TNF- α	
Média	31,38	39,04	4,68	8,26	7,38	15,44	
Desvio padrão	14,08	18,42	1,79	15,74	6,80	20,73	
G 2							
G 2		Saliva			Fluido gengival		
Citocina	IL-1 β	IL-6	TNF- α	IL-1 β	IL-6	TNF- α	
Média	184,5	26,49	4,296	85,08	3,325	11,26	
Desvio padrão	138,9	13,94	3,590	123,10	2,139	8,396	
P value	0,0263*	0,2031	0,1962	0,0213*	0,3506	0,9349	

6 DISCUSSÃO

A doença periodontal crônica é considerada um processo irreversível. A gravidade de destruição do periodonto é classificada após exame clínico pelos níveis de perda de inserção em leve, moderada e avançada (Lindhe et al., 2016).

As interleucinas são membros do grupo de citocina e aparecem quando ocorre o processo inflamatório, entre elas, destacam-se a IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Esse estudo propôs investigar os níveis de citocina, na saliva e no fluido gengival, em pacientes com doença periodontal. De acordo com os resultados obtidos nesse estudo, após a análise do Luminex, as concentrações de IL-1 β foram maiores, na saliva, enquanto que a IL-6 e TNF- α foram maiores no fluido gengival.

No momento em que foi dividido pela doença periodontal, apenas a IL-1 β apresentou diferença significativa tanto na saliva quanto no fluido gengival. Os estudos de Perozini et al., (2010) também encontraram os níveis de interleucina IL-1 β no grupo de periodontite, sendo significativamente maior comparado com o grupo controle e grupo gengivite. No FGC a IL-1 β de pacientes do grupo controle, apresentou valor menor quando comparado com pacientes em evolução da doença periodontal (Kinney et al.,). Mendoza et al., (2018) afirmaram que os níveis de IL-1 β e MMP1 aumentaram à medida que a gravidade da doença periodontal aumentava. Fonseca et al. (2014) concluíram que o fluido crevicular peri-implantar apresentou níveis elevados de IL-1 β nos pacientes com implante. Thunell et. al., (2010) concluíram que a IL-1 alfa e a IL-1 β foram significativamente mais altas em pacientes com periodontite crônica generalizada severa quando comparadas com pacientes saudáveis.

Engebretson et. al., (1999) perceberam que, nos pacientes com doença periodontal grave, o aumento da IL-1 β apresentou níveis mais elevados em locais rasos, sugerindo que a alta expressão da IL-1 β é uma parte característica do hospedeiro, e não estritamente uma função dos parâmetros clínicos. Lima et al., (2008) concluíram que a doença periodontal está relacionada com o nível de resistência do hospedeiro aos fatores locais. Essas respostas envolvem mediadores como as citocinas, principalmente IL-1 β e TNF- α .

Uker et al., (2008) compararam os níveis de IL-1 β , TNF- α e cistatina C, na saliva e no FGC de crianças com o periodonto saudável e crianças com gengivite.

Obtiveram como resultado desse estudo que não houve correlação entre os níveis de cistatina C, IL-1 β ou TNF- α , na saliva total ou FGC, porém em outro estudo (Souza et al., 2006) a avaliação em pacientes adultos os níveis de IL-1 β e TNF- α estavam mais elevados nos pacientes com doença periodontal severa quando comparados com doença periodontal leve.

Zhang et. al., (2016) e Otenio, (2012) avaliaram a IL-1 β , IL-6 e TNF- α , apresentaram que as citocinas têm potencial para indicar gengivite e periodontite. Porém em mulheres grávidas com e sem doença periodontal não teve relevância significativa (Otenio, 2012).

Os biomarcadores foram avaliados por diversos autores que apontam os biomarcadores do fluido crevicular permitem identificar a doença periodontal, podendo prevenir a progressão (Mendoza et al., 2018 e Kinney et al., 2014). Machado et al., (2018) afirmaram que os biomacadores de IL-6 e TNF- α podem ter uma capacidade para identificar a doença periodontal. Rangbulla et al., (2017) pesquisaram que após profilaxia em pacientes com periodontite crônica, os níveis de IgA, IL-1 β e MMP-8 mostraram redução significativa, sugerindo que os biomarcadores podem facilitar no diagnóstico precoce e no controle da doença periodontal.

Moura et al., (2017) e Zhang et al., (2016) afirmaram que a saliva pode ser reconhecida como marcador biológico e serve como diagnóstico e prognóstico de doenças orais e sistêmicas.

Ribeiro (2014) e Machado et al., (2018) concluíram que tanto a IL-6 como o TNF- α da doença periodontal apresentam níveis elevados quando comparados com o grupo controle.

A gengivite e a periodontite predominam em sua fase inicial, caso não sejam reconhecidas precocemente, esses problemas podem progredir para uma doença periodontal avançada (Alves et al., 2007). O conhecimento das vias de transmissão é fundamental e deve ser considerado na prevenção e no tratamento da doença periodontal, uma vez que há possibilidade de infecção, de reinfecção e de recolonização em pacientes susceptíveis à doença periodontal (Leite et al., 2008).

A quantidade de FGC coletada, na tira de papel, pode ser calculada pela distância que o fluido migrou na tira. Os mediadores inflamatórios do FGC são indicadores para a doença periodontal (Chibebe et al., 2008). O FGC de pacientes

com periodontite crônica apresentou quantidades significativamente maiores de citocinas quando comparadas com indivíduos saudáveis (Tymkiw et al., 2011).

7 CONCLUSÃO

Neste estudo, pode-se verificar que alguns marcadores biológicos estavam relacionados com o grau da doença periodontal. Conclui-se que as concentrações de IL-1 β foram maiores, na saliva, enquanto no fluido gengival a IL-6 e TNF- α foram maiores.

Os biomarcadores são importantes marcadores de diagnóstico que podem indicar o começo, o risco e a diferenciação da doença periodontal. Podendo ser relevante para fins diagnóstico ou metodologia para novos estudos.

8 REFERÊNCIAS

Alves C, et al., **Mecanismos Patogênicos da Doença Periodontal Associada ao Diabetes Melito**. Arq Bras Endocrinol Metab. v. 51. p.1050-1057. Salvador, BA. 2007.

ChibebePC, et al., **Uma visão atual do fluido gengival crevicular como método de diagnóstico periodontal**. Rev. Ciênc. Méd. v. 17. p.167-173. Campinas- São Paulo. Maio/Dez, 2008.

EBAH. DISPONÍVEL em:

<http://www.ebah.com.br/content/ABAAABexIAA/interleucina> Acesso em: 10 set 2018

Engbretson SP, et al., **The influence of Interleukin Gene Polymorphism on Expression of Interleukin-1 β and Tumor Necrosis Factor- in Periodontal Tissue and Gingival Crevicular Fluid**. J. Periodontol. v. 70.n. 6. p. 567-573. Junho 1999.

Fonseca FJ et al., **Cytokines expression in saliva and peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant disease**. Clin. Oral Implants Res. v. 25.p.68–72. Rio de Janeiro, Fev 2014.

Gonzaga DVB, Vieira FO, **Interleucina – 1: Revisão de literatura das funções biológicas dos membros da família IL – 1**. Instituto Metodista Izabela Hendrix, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2013. p. 1-18.

Kinney JS, et al., **Crevicular Fluid Biomarkers and Periodontal Disease Progression**. J Clin Periodontol.v.41. p. 113–120. Fev 2014.

Leite ACE, et al., **Transmissão de bactérias periodontais**. Revista Periodontia, São Paulo. v.18. n.03, p. 28-33. Set 2008.

Lindhe,J; Kinane, F. D.; Trombelli, L.; Periodontite Crônica.In: LINDHE, J. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 5 ed. Rio de Janeiro:Editora Guanabara, 2016. p. 400-404.

Lima V, et al., **Principais mediadores inflamatórios envolvidos na fisiopatologia da periodontite – papel de moduladores farmacológicos**. Revista Periodontia, São Paulo. v. 18, n. 3. p. 07-19. Set 2008.

Lopes FF. **A condição periodontal materna e o nascimento de prematuro de baixo peso: estudo caso-controle**. Rev Bras Ginecol Obstet v.27. n. 7. 2005.

Machado V, et al., **IL-6 and TNF- α salivary levels according to the periodontal status in Portuguese pregnant women**. PeerJ 6: e4710; DOI 10.7717/peerj.4710. Maio 2018.

Mendoza JMG, et al., **Correlation between interleukin1 β and matrix metalloproteinase1 levels in crevicular fluid with a proposed periodontal disease index in children.** J Indian Soc Periodontol. V.22, p. 209–214. Jun 2018.

Moura SAB, et al., **Valor Diagnóstico da Saliva em Doenças Orais e Sistêmicas: Uma Revisão de Literatura.** Pesq Bras Odontoped Clin Integr.v.7. n. 2. p. 187-194. João Pessoa. Maio/Ago 2007.

Otenio CCM.**Doença periodontal em gestantes: expressão gênica de citocinas inflamatórias e óxido nítrico.** Universidade federal de Juiz de Fora. p. 1-88. Tese. Juiz de Fora, 2012.

Perozini C, et al., **Gingival crevicular fluid biochemical markers in periodontal disease: A cross-sectional study.** Quintessence Int. v. 41, n. 10. p. 877-883. Nov 2010.

PORTAL DA EDUCAÇÃO. DISPONÍVEL em:
<https://www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/educacao/mediadores-inflamatorios-da-doenca-periodontal/34111>). Acesso em: 20 abr 2018.

PORTAL DA SAÚDE CCM. Disponivel em:
<https://saude.ccm.net/faq/2236-fator-de-necrose-tumoral-definicao> Acesso em: 22 fev 2018

Rangbulla V, et al., **Salivary IgA, Interleukin-1 β and MMP-8 as Salivary Biomarkers in Chonic Periodontitis Patients.** The Chinese J Dent Res. v. 20. p. 43-51. 2017.

Ribeiro MSA.**Saliva e mediadores inflamatórios- relação entre lúpus eritematoso e sistêmico e periodontite.**Tese. p.1-74. Set 2014.

Souza ELB, et al., **A doença periodontal como fator de risco para as doenças cardiovasculares.** International Journal of dentistry. Tese. p. 1-6. Recife. Abr/Jun 2006.

Thunell DH, et al., **A multiplex immunoarray demomitraten reduction in gingival crevicular fluid cytokiner following initial periodontal therapy.** J Periodontal Rei. P. 148 – 152. n.1. v. 45. Fev 2010.

Tymkiw KD, et al., **Influence of smoking on gingival crevicular fluid cytokines in severe chronic periodontitis.** NIH Public Access. v.38 p.219–228. Mar 2011.

Ulker AE, et al., **The evaluation of cystatin C, IL-1beta, and TNF-alpha levels in total saliva and gingival crevicular fluid from 11- to 16-year-old children.** J Periodontol. v. 79. n.5. p. 854-860. Maio 2008.

Zhang CZ, et al., **Saliva in the diagnosis of diseases.** IntJOral Sci, p. 133–137. Set 2016.

Anexo A



PRPPG-Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação
Comitê de ética em Pesquisa
Rua Visconde do Rio Branco, 210 Centro Taubaté-SP 12020-040
Tel.: (12) 3625.4143 – 3635.1233 Fax: (12) 3632.2947
cepunitau@unitau.br

DECLARAÇÃO Nº 0485/07

Protocolo CEP/UNITAU nº 0405/07 (Esse número de registro deverá ser citado pelo pesquisador nas correspondências referentes a este projeto)

Projeto de Pesquisa: *Caracterização imunológica dos níveis inflamatórios nos estágios da doença renal crônica*

Pesquisador(a) Responsável: Caroline Perozini

Pesquisadores/Alunos:

O Comitê de Ética em Pesquisa, em reunião de **14/11/2007**, e no uso das competências definidas na Resolução CNS/MS 196/96, considerou o Projeto acima **aprovado**, após atendimento às pendências.

Taubaté, 12 de dezembro de 2007

Prof. Robison Baroni

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté

Autorizamos a reprodução e divulgação total ou parcial desta obra, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Tatiana Souza Guinsburg

Tayná Ferreira Lopes

Taubaté, dezembro de 2018.