

SANTUZA MARIA SOUZA DE MENDONÇA

***ANÁLISE DE CITOCINAS NA SALIVA DE INDIVÍDUOS COM LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO E PERIODONTITE CRÔNICA***

**Faculdade de Odontologia
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2017**

Santuza Maria Souza de Mendonça

***ANÁLISE DE CITOCINAS NA SALIVA DE INDIVÍDUOS COM LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO E PERIODONTITE CRÔNICA***

Tese apresentada ao Colegiado de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Odontologia - área de concentração em Estomatologia.

Orientadora: Profa. Dra. Tarcília Aparecida da Silva
Coorientadora: Profa. Dra. Gilda Aparecida Ferreira

Belo Horizonte

2017

Ficha Catalográfica

M539a Mendonça, Santuza Maria Souza de.
2017 Análise de citocinas na saliva de indivíduos com lúpus
T eritematoso sistêmico e periodontite crônica / Santuza Maria
Souza de Mendonça. -- 2017.

110 f. : il.

Orientadora: Tarcília Aparecida da Silva.
Coorientadora: Gilda Aparecida Ferreira.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de Minas
Gerais, Faculdade de Odontologia.

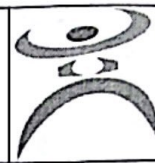
1. Lúpus eritematoso sistêmico. 2. Periodontite crônica.
3. Citocinas. 4. Saliva. 5. Glândulas salivares. I. Silva,
Tarcília Aparecida da. II. Ferreira, Gilda Aparecida. III.
Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de
Odontologia. IV. Título.

BLACK - D047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

ANÁLISE DE CITOCINAS NA SALIVA DE INDIVÍDUOS COM LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO E PERIODONTITE CRÔNICA

SANTUZA MARIA SOUZA DE MENDONÇA

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, como requisito para obtenção do grau de Doutor, área de concentração Estomatologia.

Aprovada em 18 de dezembro de 2017, pela banca constituída pelos membros:


Prof(a). Tarcília Silva - Orientadora
FO/UFMG


Prof(a). Gilda Aparecida Ferreira
FM/UFMG


Prof(a). Fabiana de Miranda Moura dos Santos
UFMG


Prof(a). Rafael Paschoal Esteves Lima
UFMG


Prof(a). Rodrigo Villamarim Soares
PUC-MG


Prof(a). Suzana Coulaud da Costa Cruz Miranda
Centro Universitário Newton Paiva

Belo Horizonte, 18 de dezembro de 2017.

À minha família, que é o bem mais precioso que tenho. Dela vem minha coragem para enfrentar a vida e ao mesmo tempo é para lá que “corro” quando estou vulnerável. É de onde obtenho e para a qual desejo ser: ***inspiração***.

Que meus filhos, Matheus, Gabriela e Felipe, saibam que todo trabalho demanda esforço, dedicação, empenho, mas também nos ensina a sermos organizados, responsáveis, criteriosos... e que o prazer de vê-lo concluído nos traz reconhecimento, felicidade e sentimento de dever cumprido.

Que meu marido Athos receba o meu agradecimento e o meu reconhecimento de que aqui estou porque caminhamos juntos!

O doutorado me propiciou descobertas que extrapolaram minha área de pesquisa. Descobri algo fantástico: ***sem vocês nada faz sentido, pois são vocês que dão sentido à minha vida.***

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à *Ele* por estar aqui, ao meu lado. Obrigada, *Senhor*, por fazer tudo acontecer da melhor maneira e no momento mais oportuno. Obrigada por ter colocado em meu caminho pessoas que contribuíram para meu crescimento espiritual, pessoal e profissional.

Oh, minha *Nossa Senhora*, mãe a quem recorri, através de seus diversos nomes, obrigada por me dar forças!

Aos meus pais, *Marília e Resende*, por plantarem em mim a semente do conhecimento, do respeito, da ética e da educação. Sou quem sou, pois o solo em que me criaram foi fértil! Meu profundo e mais sincero agradecimento! Amo vocês!

À minha prima/irmã/mãe/amiga *Wania*, por me amar incondicionalmente e por me apoiar de uma maneira tão ímpar, que nem consigo expressar em palavras.

À minha irmã *Roxane* e ao meu cunhado *Eduardo*, por estarem sempre por perto, prontos para ajudar.

À minha orientadora, Profa. *Tarcília Aparecida da Silva*, pesquisadora admirável, obrigada pelos inúmeros ensinamentos, os quais, certamente, utilizarei durante minha trajetória como docente e pesquisadora.

À minha coorientadora, Profa. *Gilda Aparecida Ferreira*, pelo acolhimento, respeito e ensinamentos, que transcendem a medicina e a ciência, e atingem o seu próximo, seja ele um paciente, um colega de trabalho ou um aluno.

Ao Prof. *Antônio Lúcio Teixeira* e sua equipe, pela valiosa contribuição na realização dos ensaios de citometria de fluxo.

À amiga *Débora Cerqueira Calderaro*, mulher de uma energia inesgotável e um coração maior ainda, obrigada pela parceria, apoio constante, conversas enriquecedoras, sempre muito acolhedoras e agradáveis.

À querida *Jôice Dias Corrêa* por compartilhar comigo seu conhecimento e técnicas de trabalho. Seu profissionalismo me encanta, seu futuro é promissor! Muito obrigada por tudo!

À amiga *Alessandra Figueiredo de Souza* pelo auxílio fundamental nas coletas e pela companhia sempre alegre e verdadeira.

Aos professores *Maria de Cássia Ferreira Aguiar* e *Ricardo Alves de Mesquita*, pelos conhecimentos e experiências compartilhados durante as aulas teóricas e práticas. Vocês agregaram muito!

Aos professores *Ricardo Santiago Gomez* e *Tânia Mara Pimenta Amaral* pelos ensinamentos durante o Estágio Docente.

À equipe do laboratório, em especial à *Janine Mayra Silva*, sempre disponível para ajudar com seu jeitinho doce de ser.

Ao Prof. *Fernando de Oliveira Costa* pela contribuição na definição da metodologia dos exames periodontais.

Ao Prof. *Mauro Nogueira Guimarães de Abreu* por me lembrar, sempre que nos encontrávamos, que eu era “maior” do que eu achava que era e que eu precisava persistir. Muito obrigada, Mauro!

Ao amigo Prof. *Rafael Paschoal Esteves Lima* pelas palavras de incentivo, experiências compartilhadas, ensinamentos e amizade.

À “queridíssima” Profa. *Jeane de Fátima Correia Silva Alves* pela atenção, carinho ao ler meu trabalho de qualificação e pelas excelentes sugestões. Foi muito bom te conhecer melhor, Jeane!

À Profa. *Suzana Coulaud da Costa Cruz* pela disponibilidade dupla, na qualificação e na defesa, e pelas ponderações sempre muito inteligentes.

À *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)*, ao *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)* e à *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)* pelo apoio financeiro ao estudo.

Agradeço, imensamente, aos *pacientes, em tratamento do lúpus no Hospital das Clínicas da UFMG*, que se prontificaram a participar do estudo. Espero ter contribuído de alguma forma para compreensão do lúpus e de suas manifestações periodontais. Agradeço também aos *participantes sem lúpus*, igualmente importantes para a realização dessa pesquisa.

Aos *amigos, professores e coordenadores do curso de Odontologia do Centro Universitário Newton Paiva* por me apoiarem na realização das tarefas e compromissos profissionais.

Agradeço de maneira muito especial aos professores *Andréa Márcia de Souza* e *Renato Sathler Avelar* pelas “aulas” de imunologia.

Ao *Lucas Paixão*, pela escuta serena, palavras de incentivo e por ter me ajudado a dissipar todo o estresse.

À querida "*Teca*" por participar ativamente de todo processo, auxiliando-me nas tomadas de decisões e na superação dos muitos obstáculos. Saio mais forte dessa!!! Obrigada de coração!

Aos amigos *Cinthia Mara da Fonseca*, *Júnia Noronha Carvalhais Amorim*, *José Flávio Batista Gabrich Giovannini* e *Geraldo Magela Pereira* por serem presença constante e acolhedora desde o início dessa jornada. Obrigada, AMIGOS!

“O que eu mais quero nessa vida é saúde, paz e amor...”

Gabi Silva

RESUMO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), doença crônica do tecido conjuntivo que pode apresentar manifestações bucais, possui em sua etiopatogenia fatores ambientais, genéticos, hormonais e infecciosos. O LES é caracterizado pelo descontrole da imunorregulação e conseqüente lesão de órgãos-alvo. A periodontite crônica (PC) é uma infecção bacteriana crônica dos tecidos de sustentação dos dentes que desencadeia, em pacientes suscetíveis, uma série de processos imuno-inflamatórios dependentes da interação hospedeiro-agente infeccioso. Esses processos culminam na destruição dos tecidos afetados e na perda da inserção dentária e do osso alveolar. O sistema imunológico tem importante participação no desenvolvimento da PC e do LES. Ambas as doenças são caracterizadas por níveis alterados de citocinas que favorecem a destruição dos tecidos periodontais na PC, assim como a deposição de macrocomplexos e destruição dos tecidos conjuntivos no LES. O presente estudo, de desenho transversal, teve como objetivo analisar a produção de citocinas salivares nos pacientes com LES e sua relação com a presença de PC. Parâmetros clínicos e salivares de inflamação e dano periodontal foram associados aos índices de atividade (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000*, SLEDAI-2K) e dano (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index*, SDI) do LES e a outros indicadores como níveis de proteína C reativa e dose acumulada de corticoide. A amostra foi composta por 70 pacientes com LES, em tratamento no Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, e 70 indivíduos sem LES (controles). Os dois grupos foram emparelhados por idade, gênero, cor, nível de instrução e renda mensal. Todos os indivíduos foram classificados quanto à presença ou ausência de PC. As concentrações salivares de interleucina-33 (IL-33), metaloproteinase de matriz 2/inibidor tecidual de metaloproteinase 2 (MMP2/TIMP2), receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANK) e osteoprotegerina (OPG) foram medidas por *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), enquanto as concentrações de interleucina-2 (IL-2), interferon gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), interleucina-4 (IL-4), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10) e interleucina-17A (IL-17A) foram determinadas por *Cytometric Bead Array* (CBA). Os níveis salivares de IL-6 e IL-17A foram mais elevados nos pacientes com LES e PC em relação aos indivíduos controles com PC. Os níveis de IL-6, IL-17A e IL-33 estavam aumentados nos indivíduos com LES e PC quando comparados com os pacientes com LES sem PC. Na análise bivariada, o tempo de duração do LES se correlacionou com profundidade de sondagem (PS), nível ou perda de inserção (CAL), sítios concomitantes (SC) e dentes perdidos. A dose acumulada de corticoides correlacionou-se com PS e SC, enquanto o dano provocado pelo LES correlacionou-se com a CAL e dentes perdidos. O modelo multivariado indicou associação entre dose acumulada de corticoide e dano periodontal e entre concentração salivar de IL-33 e atividade do LES. Os resultados sugerem que tratamentos de longo prazo com corticoides podem contribuir para a destruição periodontal em pacientes com LES. Além disso, níveis salivares aumentados de IL-6, IL-17A e IL-33 em pacientes com LES e PC indicam uma possível amplificação das vias pró-inflamatórias nesse grupo de pacientes.

Palavras-chave: Lúpus eritematoso sistêmico. Periodontite crônica. Citocinas. Saliva.

ABSTRACT

Analysis of cytokines in the saliva of individuals with systemic lupus erythematosus and chronic periodontitis

Systemic lupus erythematosus (SLE), a chronic connective tissue disease that may present with oral manifestations, has environmental, genetic, hormonal and infectious factors in its etiopathogenesis. It is characterized by the lack of control of immunoregulation and consequently target organ damage. Chronic periodontitis (CP) is a chronic bacterial infection of the tooth-supporting tissues that triggers, in susceptible patients, a series of immunological processes dependent on the host-infectious agent interaction. These processes culminate in the destruction of affected tissues, clinical attachment loss and alveolar bone. The immune system has an important role in the development of CP and SLE. Altered cytokines levels characterize both diseases and contributes to periodontal tissue damage in CP and to macrocomplexes deposition with connective tissue destruction in SLE. The aim of this cross-sectional study was to analyze the production of salivary cytokines in SLE patients and its relationship with CP. Clinical and salivary parameters of inflammation and periodontal damage were associated with activity (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000, SLEDAI-2K) and damage (Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index, SDI) indexes and to other indicators such as levels of C-reactive protein and cumulative dose of corticoids. The sample comprised of 70 SLE patients under in treatment at the Rheumatology Outpatient Clinic of the Hospital das Clínicas of the Federal University of Minas Gerais, and 70 individuals without SLE (controls). The two groups were paired by age, gender, color, educational level and monthly income. All subjects were classified as without CP and with CP. Salivary concentrations of interleukin 33 (IL-33), matrix metalloproteinase-2/tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (MMP2/TIMP2), receptor activator of nuclear factor kappa B (RANK) and osteoprotegerin (OPG) were measured by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), while interleukin 2 (IL-2), Interferon gamma (IFN- γ), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 4 (IL-4), interleukin 6 (IL-6), interleukin 10 (IL-10) and interleukin 17A (IL-17A) concentrations were determined by Cytometric Bead Array (CBA). IL-6 and IL-17A salivary levels were higher in SLE patients with CP than controls with CP. IL-6, IL-17A and IL-33 were increased in SLE individuals with CP when compared to SLE patients without CP. Bivariate analysis revealed that SLE duration correlated with probing depth (PD), clinical attachment loss (CAL), concomitant sites (CS) and missing teeth. Cumulative dose of corticoids correlated with PD and CS, while SLE damage correlated with CAL and missing teeth. The multivariate model indicated an association between cumulative dose of corticoid and periodontal damage and between salivary concentration of IL-33 and SLE activity. Our results suggest that the corticoids long-term therapy may contribute to periodontal destruction in SLE. Moreover, the increased levels of IL-6, IL-17A and IL-33 in saliva of SLE/CP subjects suggest possible pro-inflammatory pathways amplification in this group of patients.

Keywords: Systemic lupus erythematosus. Chronic periodontitis. Cytokine. Saliva.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACR	American College of Rheumatology
APC	Células apresentadoras de antígenos
AR	Artrite Reumatoide
APRIL	Ligante indutor de proliferação
BAFF/BLyS	Fator ativador de células B/Estimulador de linfócitos B
BILAG	British Isles Lupus Assessment Group
BOP	Bleeding on probing
CAL	Nível ou perda de inserção clínica
CBA	Citometria de fluxo
CGF	Fluido Crevicular Gengival
CP	Chronic Periodontitis
CS	Concomitant site
DM	Diabetes mellitus
DP	Doença periodontal
ECLAM	European Consensus Lupus Activity Measurement
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
IFN	Interferon
IFN- γ	Interferon-gama
IL	Interleucina
LAI	Lupus Activity Index
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
MMP	Metaloproteinase
MMP2/TIMP2	Complexo metaloproteinase de matriz 2/inibidor tecidual de metaloproteinase 2
NK	Células natural killer
OCP	Células precursoras de osteoclastos
OPG	Osteoprotegerina
PAS	Periodic acid-Schiff
PBMC	Células mononucleares de sangue periférico
PC	Periodontite Crônica

PCR	Proteína C reativa
PD	Probing Depth
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PI	Plaque Index
PS	Profundidade de Sondagem
RANK	Receptor ativador do fator nuclear kappa B
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B
SC	Sítios Concomitantes
SDI	Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index
SLAM	Systemic Lupus Activity Measure
SLE	Systemic Lupus Erythematosus
SLEDAI	Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index
SLEDAI-2K	Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000
SLICC	Systemic Lupus International Collaborating Clinics
SS	Sangramento à sondagem
SSo	Síndrome de Sjögren
TGF- β	Fator de transformação de crescimento β
Th	Célula T auxiliar
TIMP	Inibidor tecidual específico de MMP
TLR	Receptores do tipo Toll
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa
Treg	Célula T regulatória
Tx	Transplante
VHS	Velocidade de hemossedimentação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
1.1	Lúpus Eritematoso Sistêmico	17
2.2	Periodontite Crônica	22
2.3	Participação das citocinas na fisiopatogenia do LES	24
2.4	Participação das citocinas na fisiopatogenia da PC	32
2.5	Saliva como meio de diagnóstico	37
3	OBJETIVOS	40
3.1	Objetivo geral	40
3.2	Objetivos específicos	40
4	MATERIAL E MÉTODOS E RESULTADOS	41
5	DISCUSSÃO	67
6	CONCLUSÃO	73
	REFERÊNCIAS	74
	ANEXOS	90
	ANEXO A - Termo de consentimento livre e esclarecido (lúpus eritematoso sistêmico)	90
	ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido (controles)	93
	ANEXO C - Protocolo médico de coleta de dados (lúpus eritematoso sistêmico)	95
	ANEXO D - Protocolo médico de coleta de dados (controles)	101

ANEXO E - Formulário odontológico - exame bucal	102
ANEXO F - Protocolo de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP)	105
ANEXO G - Fluxograma da seleção da amostra de pacientes com LES ...	106
ANEXO H - Resultados complementares	108
ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O DOUTORADO	110
Artigos completos publicados em periódicos	110
Trabalhos apresentados em congressos	110

1 INTRODUÇÃO

A periodontite engloba um grupo de alterações periodontais caracterizadas pela inflamação gengival seguida por migração apical do epitélio juncional, perda de tecido conjuntivo e reabsorção do osso alveolar. Sua etiologia inclui a participação de bactérias periodontopatogênicas. A periodontite pode ser classificada em sete grandes categorias: I) periodontite crônica, II) periodontite agressiva, III) periodontite como manifestação de doenças sistêmicas, IV) doenças periodontais necrozantes, V) abscesso periodontal, VI) periodontite associada a lesões endodônticas e VII) deformidades e condições desenvolvidas ou adquiridas (ARMITAGE, 1999).

A periodontite crônica (PC) é uma doença inflamatória de progressão lenta causada pela infecção bacteriana dos tecidos de suporte do dente com consequente perda do tecido conjuntivo e reabsorção do osso alveolar (EKE *et al.*, 2012). As bactérias periodontopatogênicas, no entanto, não são suficientes para determinar seu início ou progressão da PC. Os fatores bacterianos estimulam uma reação inflamatória no periodonto e consequente ativação do sistema imune inato por meio do reconhecimento dos componentes microbianos pelas células do hospedeiro através dos receptores *Toll-Like* (TLR). A ativação dessas células provoca a liberação de citocinas pró-inflamatórias e recrutamento de fagócitos e linfócitos. A ativação dos linfócitos T e B desencadeia a resposta imune adquirida com as respostas Th1, Th2, Th17 e *Treg*, além da produção de anticorpos, respectivamente. O desequilíbrio entre as citocinas envolvidas na manutenção e reabsorção do tecido ósseo tem grande relevância na patogênese da periodontite, visto que a destruição dos tecidos periodontais é considerada uma consequência da resposta imunoinflamatória do hospedeiro frente ao desafio bacteriano (DI BENEDETTO *et al.*, 2013).

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença crônica do tecido conjuntivo caracterizada pela produção de autoanticorpos, ativação do sistema complemento, deposição de imunocomplexos, envolvimento multissistêmico e ampla variedade de manifestações clínicas e laboratoriais que culminam na destruição de tecidos e dano orgânico (ZHANG, M *et al.*, 2014). A presença de úlceras bucais constitui um dos critérios para diagnóstico do LES definidos pelo *American College of Rheumatology* (ACR) e validados pela *Systemic Lupus International Collaborating Clinics* (SLICC) (PETRI *et al.*, 2012).

Apesar da etiologia do LES não ser bem compreendida, admite-se que vários fatores podem contribuir para o seu desencadeamento, dentre eles destacam-se os fatores genéticos, ambientais e hormonais (D'CRUZ; KHAMASHTA; HUGHES, 2007). Anormalidades na função ou liberação de várias citocinas podem provocar o desequilíbrio entre diferentes subconjuntos de células imunitárias (Th1, Th2, Th17 e *Treg*) interferindo fortemente na patogênese do LES. Essas citocinas podem exercer efeitos pró-inflamatórios, anti-inflamatórios ou ambos, dependendo das características dos microambientes a que são expostas. Tais moléculas também promovem a conexão entre os sistemas imune inato e adaptativo, estando envolvidas em uma rede de resposta imune complexa (SU *et al.*, 2012).

A PC e o LES possuem similaridades em sua patogênese uma vez que, em ambas as doenças, mecanismos imunoinflamatórios similares são ativados e provocam dano à própria estrutura do hospedeiro, caracterizando uma resposta autoimune. As citocinas desempenham importante papel na resposta imunológica e estão envolvidas no distúrbio entre os processos de proteção e autodestruição do organismo presente nessas duas doenças (DEMA; CHARLES, 2014; DI BENEDETTO *et al.*, 2013; KINANE; PRESHAW; LOOS, 2011; SU *et al.*, 2012). É altamente provável que as citocinas passem a ser alvos na terapia imunológica de transtornos autoimunes (AVRĂMESCU *et al.*, 2010), o que justifica a realização de pesquisas científicas que objetivam conhecer o perfil destas moléculas nas diversas enfermidades.

Partindo-se do conhecimento de que doenças são reflexo do desequilíbrio fisiológico, sistêmico, psicológico e/ou social e que o organismo humano é composto por órgãos e sistemas interligados, acredita-se que alterações sistêmicas próprias do LES possam impactar na gravidade e evolução da PC. Em contra partida, o raciocínio inverso sugere que alterações locais do periodonto interfiram sistemicamente na patogênese do LES, aumentando sua atividade e, conseqüentemente, os danos associados a ele.

O tratamento do LES envolve a utilização de medicamentos com ação anti-inflamatória e imunossupressora os quais diminuem a resposta imunoinflamatória, evitando que o próprio organismo se auto destrua. Esses medicamentos podem, no entanto, comprometer a vigilância imunológica do indivíduo, contribuindo para disbiose da microbiota subgengival e conseqüente alteração do padrão de destruição periodontal (CORRÊA *et al.*, 2017; TAYLOR; PRESHAW, 2016).

A saliva, assim como o soro e outros fluidos biológicos, contém proteínas, metabólitos e produtos da microbiota que podem fornecer informações sobre condições bucais e sistêmicas (ZHANG, YONG *et al.*, 2016). O seu processo de coleta é simples, de baixo custo, não invasivo e não causa desconforto ao paciente. Desta forma, a saliva configura-se como importante fonte de informações que podem ser clinicamente relevantes para o entendimento de alterações periodontais, sistêmicas e da inter-relação entre elas (PATIL, PRITIBASGAUDA; PATIL, 2011).

O presente trabalho visa, portanto, aprofundar o estudo da relação entre PC e LES, mediante a avaliação da concentração de citocinas na saliva deste grupo de pacientes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Lúpus Eritematoso Sistêmico

O LES é uma doença crônica do tecido conjuntivo de etiologia multifatorial. É considerado um protótipo das doenças inflamatórias autoimunes e apresenta envolvimento multissistêmico, com ampla gama de manifestações clínicas e laboratoriais (ZHANG, M *et al.*, 2014).

No Brasil, ainda não foram conduzidos estudos de prevalência do LES. No entanto, dois estudos mediram sua incidência, sendo um na região Nordeste (VILAR; RODRIGUES; SATO, 2003) e outro na região Sul (NAKASHIMA *et al.*, 2011). As incidências encontradas foram 8,7 e 4,8 casos/100.000 habitantes/ano, respectivamente (NAKASHIMA *et al.*, 2011; VILAR; RODRIGUES; SATO, 2003). O LES pode se manifestar em qualquer faixa etária e acometer tanto homens quanto mulheres, entretanto sua maior incidência está entre indivíduos jovens do sexo feminino. Em estudos brasileiros, a frequência do LES variou de 9,3-14 mulheres para cada homem e a faixa etária oscilou de 31,8-41,5 anos na data de seu diagnóstico (NAKASHIMA *et al.*, 2011; VILAR; RODRIGUES; SATO, 2003; ZHANG, M *et al.*, 2014).

A etiologia do LES não é bem conhecida, mas fatores de origem genética, ambiental e hormonal podem contribuir para seu desencadeamento com consequente perda do controle imunorregulatório e da tolerância imunológica do indivíduo. Esta doença é caracterizada pelo desenvolvimento de autoanticorpos e complexos autoimunes; ativação do sistema do complemento e irregularidades do sistema imunológico que permitem a persistência de linfócitos B e T patogênicos; processamento de antígenos próprios pelas células apresentadoras de antígenos; hiperativação de células B e T, além da falência das vias regulatórias, que deveriam interromper todo o processo (TSOKOS, 2011).

O LES é uma doença de natureza dinâmica que pode acometer diversos órgãos e sistemas de forma isolada ou simultânea, o que dificulta o seu diagnóstico. No ano de 1971, foram desenvolvidos critérios de classificação para o LES, que foram, posteriormente, revisados em 1982, 1997 e 2012. A presença de no mínimo quatro critérios, dentre os critérios existentes, que incluam ao menos um clínico e um imunológico, permite a classificação do paciente como portador do LES (Quadro

1). A constatação de nefrite lúpica, comprovada por biópsia com anticorpos antinucleares ou anticorpos anti-dsDNA positivos também é suficiente para definição do diagnóstico de LES (PETRI *et al.*, 2012).

Quadro 1. Critérios para classificação do Lúpus Eritematoso Sistêmico, validados pela SLICC.

CRITÉRIOS CLÍNICOS
1. Lúpus cutâneo agudo: eritema malar, lúpus bolhoso, variante necrólise epidérmica tóxica, eritema maculopapular, eritema fotossensível na ausência de dermatomiosite ou lúpus cutâneo subagudo.
2. Lúpus cutâneo crônico: eritema discóide clássico, lúpus hipertrófico, paniculite lúpica, lúpus de mucosa, lúpus eritematoso <i>tumidus</i> , <i>chillblains lúpus</i> , sobreposição lúpus discoide e líquen plano.
3. Úlceras orais ou nasais.
4. Alopecia não cicatricial (rarefação difusa ou fragilidade capilar com cabelos quebradiços).
5. Sinovite envolvendo 2 ou mais articulações, caracterizada por edema ou dor articular em 2 ou mais articulações e rigidez matinal de pelo menos 30 minutos.
6. Serosite: pleurisia típica por mais de 1 dia ou derrame pleural ou atrito pleural; dor pericárdica típica por mais de 1 dia ou derrame pericárdico ou atrito pericárdico ou pericardite pelo ECG.
7. Renal: razão proteína/creatinina urinária em amostra isolada ou proteinúria de 24 horas, representando 0,5g/24h ou cilindros hemáticos.
8. Neurológico: convulsão, psicose, mononeurite multiplex, mielite, neuropatia craniana ou periférica, estado confusional agudo.
9. Anemia hemolítica.
10. Leucopenia (<4000/mm ³) ou linfopenia (<1000/mm ³).
11. Trombocitopenia (<100000/mm ³).
CRITÉRIOS IMUNOLÓGICOS
1. Anticorpo antinúcleo.
2. Anti-dsDNA.
3. Anti-Sm.
4. Anticorpo antifosfolípide positivo: anticoagulante lúpico, resultado falso positivo para reagina plasmática rápida, anticardiolipina em níveis médios ou altos (IgA, IgM ou IgG), teste positivo para antiβ ₂ glicoproteína I (IgA, IgM ou IgG).
5. Complemento baixo: C3, C4 ou CH50.
6. Teste de Coombs direto positivo (na ausência de anemia hemolítica)

Fonte: adaptado de PETRI *et al.*, 2012.

Os pacientes com LES podem apresentar uma série de alterações orofaciais como ardência bucal, xerostomia, doenças das glândulas salivares, distúrbios nas articulações temporomandibulares, comprometimento periodontal, digeusia e lesões

de mucosa bucal (KHATIBI *et al.*, 2012). A prevalência de lesões de mucosa bucal nesses pacientes varia entre 6,5% e 21% e os locais mais acometidos são língua, mucosa jugal, lábios e palato (UMBELINO JÚNIOR *et al.*, 2010), entretanto esse dado é muito variável na literatura (KHATIBI *et al.*, 2012). Alterações bucais como gengivite marginal e lesões erosivas de mucosa foram identificadas em até 40% dos indivíduos com LES, sendo que pacientes em estágio avançado da doença podem apresentar características da síndrome de Sjögren (SSo) como boca, olhos e pele secos (ALBILIA *et al.*, 2007). A presença de úlceras orais compõem a listagem de critérios para o diagnóstico do LES (Quadro 1). As úlceras, frequentemente identificadas no palato duro durante a fase ativa da doença, são assintomáticas e regredem com a remissão do LES (CHIEWCHENGCHOL *et al.*, 2015).

De acordo com um estudo de meta-análise, a prevalência de SSo em pacientes com LES é de aproximadamente 17,8% e pode ser diagnosticada em um período que varia de 0,33 a 10,8 anos após o diagnóstico de LES. Os pacientes com LES-SSo parecem ter menor envolvimento de órgãos internos e prognóstico clínico mais favorável. Em metade dos estudos considerados nessa revisão, a porcentagem de pacientes com envolvimento oral, especialmente úlceras orais, foi maior nos pacientes com LES-SSo do que entre os pacientes com LES somente (YAO; ALTMAN; WANG, 2012). Em casos de suspeita de envolvimento oral associado ao LES, é preciso fazer o diagnóstico diferencial com outras patologias como o líquen plano oral e lesões liquenóides, eritema multiforme, pênfigo vulgar, penfigóide mucoso, herpes simples, infecções fúngicas e sífilis (FORTUNA; BRENNAN, 2013).

As características microscópicas das lesões de mucosa associadas ao LES são muito semelhantes às do líquen plano. Um aspecto microscópico comum entre essas lesões é a inflamação subepitelial em banda. No entanto, em pacientes com LES, o infiltrado inflamatório se aprofunda no tecido conjuntivo subjacente e mostra um padrão perivascular. A zona da membrana basal das lesões lúpicas é, frequentemente, PAS positiva. A imunofluorescência direta mostra deposição de imunoglobulina e complemento ao longo da zona de membrana basal em um padrão granular característico das reações de hipersensibilidade do tipo III (ALBILIA *et al.*, 2007).

Os medicamentos de escolha para tratamento dos pacientes com LES são os corticoides, os antimaláricos, os imunossupressores e, mais recentemente, os imunobiológicos. Todas essas drogas estão, frequentemente, relacionadas com

efeitos colaterais potencialmente graves. Os corticoides associam-se à hipertensão arterial sistêmica, ao *diabetes mellitus* (DM), osteoporose e graves infecções causadas por germes comuns ou atípicos, dentre outros comprometimentos. Os imunossupressores e imunobiológicos relacionam-se com maior frequência de infecções e neoplasias. Os antimaláricos podem desencadear problemas de retina e campo visual. Assim, o diagnóstico preciso e precoce do LES é de fundamental importância para a correta abordagem terapêutica do paciente, visando redução das taxas de mortalidade e morbidade associadas a essa doença, ao mesmo tempo em que evita o tratamento desnecessário de lesões já estabelecidas e minimiza os efeitos colaterais das medicações (TSOKOS, 2011).

A infecção por fungos é uma das muitas infecções oportunistas que acometem pacientes com LES, sendo a candidíase a infecção fúngica mais frequente. Dentre os indivíduos com LES, aqueles com LES ativo, proteinúria, contagem elevada de glóbulos brancos, uso de prednisona, imunossupressores ou antibióticos devem ter sua cavidade bucal monitorada com maior assiduidade, visto que podem apresentar risco aumentado para candidíase oral (FANGTHAM; MAGDER; PETRI, 2014).

A avaliação de atividade do LES inclui a impressão clínica do médico sobre o paciente associada ao uso de provas sorológicas. São empregados marcadores inflamatórios inespecíficos como a velocidade de hemossedimentação (VHS), a proteína C reativa (PCR) e marcadores de atividade mais específicos para o LES, que incluem anticorpos anti-dsDNA e a dosagem dos níveis séricos de complemento. Pode-se ainda avaliar a atividade do LES através da dosagem de algumas citocinas inflamatórias, especialmente as interleucinas (IL): IL-6, IL-10 e IL-16 (disponível apenas em pesquisa) (LISNEVSKAIA; MURPHY; ISENBERG, 2014).

Com o objetivo de padronizar, em estudos científicos, o processo que determina o estágio de atividade do LES, foram criados índices que visam quantificar a atividade do LES. No entanto, esses índices também têm sido, frequentemente, utilizados na prática clínica. Os índices mais empregados são o *British Isles Lupus Assessment Group* (BILAG) *index* (ISENBERG *et al.*, 2005; SYMMONS *et al.*, 1988), o *European Consensus Lupus Activity Measurement* (ECLAM) (VITALI *et al.*, 1992), o *Systemic Lupus Activity Measure* (SLAM) (BAE *et al.*, 2001; GRIFFITHS; MOSCA; GORDON, 2005; PETRI; HELLMANN; HOCHBERG, 1992), o *Lupus Activity Index* (LAI) (GRIFFITHS; MOSCA; GORDON,

2005; LIANG *et al.*, 1989; PETRI; HELLMANN; HOCHBERG, 1992), o *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (SLEDAI) e algumas de suas variantes como MEX-SLEDAI, SLEDAI-2K e SLEDAI-2K modificado (BOMBARDIER *et al.*, 1992; GLADMAN; IBAÑEZ; UROWITZ, 2002; URIBE *et al.*, 2004).

O SLEDAI-2K (GLADMAN; IBAÑEZ; UROWITZ, 2002) é uma adaptação da versão original do SLEDAI (BOMBARDIER *et al.*, 1992) que registra as manifestações do LES ocorridas nos dez dias anteriores à avaliação clínica. Ele inclui 24 manifestações com pesos que variam de 1 a 8, totalizando um escore máximo de 105 (ANEXO C). O SLEDAI-2K ≥ 6 sugere alta atividade do LES (FURIE *et al.*, 2011). O SLEDAI-2K modificado é calculado omitindo-se as variáveis imunológicas do SLEDAI-2K (URIBE *et al.*, 2004). Todos estes índices foram validados e apresentam boa confiabilidade, validade, reprodutibilidade e sensibilidade a mudanças (GRIFFITHS; MOSCA; GORDON, 2005; PETRI; HELLMANN; HOCHBERG, 1992; URIBE *et al.*, 2004).

O prognóstico dos pacientes com LES melhorou em virtude dos avanços no tratamento e identificação das formas mais leves da doença. Verificou-se uma diminuição da mortalidade precoce relacionada com a atividade da doença ou com seu tratamento, mas como consequência, houve a necessidade do desenvolvimento de medidas de controle da morbidade gerada pelo LES, cuja redução tornou-se um dos principais objetivos de seu tratamento (BARR *et al.*, 1999).

A necessidade de também quantificar o dano permanente ocorrido nos diversos órgãos e sistemas, em decorrência da atividade do LES, do seu tratamento ou da presença de doenças concomitantes, levou o ACR e a SLICC a, conjuntamente, elaborarem o *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index for Systemic Lupus Erythematosus* (SDI) (ANEXO C). Considera-se que houve dano associado ao LES ou ao seu tratamento quando o agravo avaliado em cada item do SDI está presente por no mínimo seis meses e causou injúria tecidual com prejuízo orgânico permanente (GLADMAN *et al.*, 1996; GRIFFITHS; MOSCA; GORDON, 2005).

2.2 Periodontite Crônica

A PC é uma doença inflamatória de progressão lenta causada pela infecção bacteriana dos tecidos de suporte dos dentes. As bactérias gram-negativas anaeróbicas estão frequentemente envolvidas no início do processo quando, juntamente com outras espécies, presentes no biofilme subgengival, estimulam uma reação imunoinflamatória que provoca a formação de bolsas periodontais com destruição do ligamento periodontal e do osso alveolar (PAGE; EKE, 2007).

Na presença de saúde periodontal, há um equilíbrio dinâmico entre microrganismos comensais e bactérias patogênicas presentes na placa bacteriana, protegendo-os contra uma eventual resposta de defesa do hospedeiro (SOCRANSKY; SMITH; HAFFAJEE, 2002). Acredita-se que a placa bacteriana supragengival funciona como um reservatório de bactérias gram-negativas periodontopatogênicas que, quando as defesas do hospedeiro são transpostas, migram para a região subgengival e agridem as estruturas periodontais. A complexa interação entre a microbiota bucal e o hospedeiro, portanto, exerce influência no desenvolvimento de doenças periodontais e vários são os fatores que podem interferir e modular a relação entre o desafio microbiano e a resposta do hospedeiro. Classicamente, o diabetes, o fumo, a imunossupressão, alterações hormonais, o *stress*, o uso de medicações, o alcoolismo e, mais recentemente, a predisposição genética são reconhecidos como fatores que podem alterar a patogênese, a expressão e o manejo clínico das doenças periodontais, onde se incluem as gengivites e periodontites (ALBANDAR; RAMS, 2002; BORRELL; PAPAPANOU, 2005). A atividade da PC e a velocidade da destruição tecidual são moduladas através da produção de citocinas e outros mediadores inflamatórios, incluindo interleucinas, prostaglandinas e metaloproteinases (MMPs) (BERGLUNDH; DONATI, 2005; BUDUNELI; KINANE, 2011).

Um estudo multicêntrico desenvolvido no Brasil indicou prevalência de 46% para sangramento gengival e de 35% para presença de bolsas periodontais rasa e profunda entre os adultos de 35-44 anos (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Em outro estudo desenvolvido na região sul do Brasil, a prevalência de PC variou de 18% a 72% entre adolescentes e adultos jovens (SUSIN *et al.*, 2011).

O diagnóstico clínico da PC utiliza como parâmetros a profundidade de sondagem (PS), o nível ou perda de inserção clínica (CAL), a presença de

sangramento à sondagem (SS), a ocorrência de sítios concomitantes (SC), que apresentam PS \geq 4 mm concomitantemente à ocorrência de SS, além do padrão e extensão da perda óssea alveolar, visualizados radiograficamente (PAGE; EKE, 2007). A presença de SS é avaliada durante 30 segundos após a introdução cuidadosa da sonda periodontal milimetrada no sulco gengival até o limite de sua base. A PS corresponde à distância da margem gengival ao fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal. O CAL é a distância entre o limite amelo-cementário e o fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal (PAGE; EKE, 2007).

Os critérios usados para a definição da PC e a avaliação de sua gravidade variam nos diferentes estudos. Eke e colaboradores (2012) propuseram uma atualização dos critérios de diagnóstico para PC e dos parâmetros de classificação de sua gravidade que devem ser adotados em estudos populacionais. Esses critérios foram cancelados pelo Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos da América e pela Academia Americana de Periodontia (Tabela 1) (EKE *et al.*, 2012). Devido à grande variabilidade de critérios de diagnóstico para PC, alguns estudos têm utilizado como parâmetros de gravidade a média das medidas de PS e CAL, o percentual de sítios com PS ou CAL $<$ 4 mm, entre 4 e 6 mm e $>$ 6 mm, e o percentual de sítios com SS e SC (ANDRUKHOV *et al.*, 2011; CORRÊA *et al.*, 2012, 2017; JEONG *et al.*, 2012; MICELI *et al.*, 2006).

Tabela 1: Critérios de diagnóstico propostos para a vigilância populacional da periodontite.

Diagnóstico	Critérios*
Ausência de periodontite	Ausência dos critérios usados para o diagnóstico de periodontite leve, moderada ou grave
Periodontite leve	≥ 2 sítios interproximais com CAL ≥ 3 mm E ≥ 2 sítios interproximais com PS ≥ 4 mm (não no mesmo dente) OU ≥ 1 sítio com PS ≥ 5 mm
Periodontite moderada	≥ 2 sítios interproximais com CAL ≥ 4 mm (em dentes diferentes), OU ≥ 2 sítios interproximais com PS ≥ 5 mm (em dentes diferentes)
Periodontite avançada	≥ 2 sítios interproximais em dentes diferentes com CAL ≥ 6 mm E ≥ 1 sítio interproximal com PS ≥ 5mm

A periodontite total é definida como a soma da doença leve, moderada e grave.

* Terceiros molares excluídos. Fonte: adaptado de EKE *et al.*, 2012.

2.3 Participação das citocinas na fisiopatogenia do LES

As citocinas são um grupo heterogêneo de moléculas proteicas, produzidas por vários tipos de células como os linfócitos T e B, os macrófagos e as células endoteliais. Seus efeitos podem ser pró-inflamatórios, hematopoiéticos, imunomodulatórios ou quimioatrativos. Possuem importante função nas reações de crescimento e diferenciação celular, reparo e remodelamento tecidual e nos processos inflamatórios e imunológicos. Essas moléculas podem iniciar, amplificar ou bloquear a resposta imune e, por isso, estão muito envolvidas na fisiopatogenia das doenças autoimunes (AVRĂMESCU *et al.*, 2010).

O LES é uma doença em que anormalidades imunoregulatórias secundárias à perda da autotolerância desencadeiam uma resposta imune direcionada a autoantígenos.

Existem inúmeros defeitos imunológicos no LES, contudo, a etiologia destas anormalidades e quais alterações seriam primárias e secundárias ainda permanecem desconhecidas (DEMA; CHARLES, 2014). A sequência de eventos deflagrados pelas alterações imunológicas se inicia com a disfunção na apoptose (morte celular geneticamente programada), associada ao clareamento reduzido de células apoptóticas que permite o processamento de autoantígenos pelas células apresentadoras de antígenos (APC), tais como os macrófagos, os linfócitos B e as células dendríticas, que culmina na produção de autoanticorpos. Outra possibilidade de evento deflagrador do LES é o processamento de microrganismos pelas APCs, o qual pode gerar peptídeos que mimetizam autoantígenos e desencadear a autoimunidade (MUÑOZ *et al.*, 2009).

Em qualquer circunstância, o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) induz a ativação e a expansão clonal de células T CD4+ autorreativas. Estas células, através da liberação de citocinas (ex. IL-4, IL-6, IL-10) ativam células B autorreativas, que proliferam e se diferenciam em células produtoras de autoanticorpos que produzem anticorpos contra vários antígenos nucleares (ex. anti-DNA, Sm, RNP, Ro, La, nucleossomos e outros). Ao mesmo tempo, ocorre ativação do sistema imune inato, que libera IL-1, fator de necrose tumoral α (TNF- α), interferon (IFN) do tipo 1, fator ativador de células B/estimulador de linfócitos B (BAFF/BLyS) e APRIL (ligante indutor de proliferação), que promovem a inflamação e aumentam a sobrevivência de células B autorreativas (DEMA; CHARLES, 2014; MUÑOZ *et al.*, 2009). Desta maneira, o LES também é caracterizado por um desequilíbrio na complexa inter-relação entre as diversas citocinas, as quais interferem na atividade e produção dos linfócitos B que, por sua vez, são responsáveis pela produção excessiva de autoanticorpos (AVRĂMESCU *et al.*, 2010).

Em síntese, a predisposição genética, associada aos estímulos ambientais e hormonais, favorece a produção de autoantígenos que são processados por APCs e células B. Os antígenos processados ativam células T e se ligam a receptores de células B, estimulando a produção de anticorpos patogênicos. Esses, por sua vez, se ligam aos antígenos para formar imunocomplexos que se depositam em órgãos-

alvo provocando lesão tecidual. As células-alvo lesadas liberam mais antígenos, que perpetuam o processo inflamatório. Além disto, as vias regulatórias, que deveriam interromper o processo, não funcionam adequadamente (DEMA; CHARLES, 2014; FORTUNA; BRENNAN, 2013).

Em estudo que incluiu 35 pacientes com LES, observou-se redução da concentração de IL-2 (imunomodulatória), aumento dos níveis de IL-6, IL-8, TNF- α (pró-inflamatórias) e IL-10 (anti-inflamatória). Existem evidências na literatura de que as citocinas IL-1, IL-3, IL-4, IL-16 e IFN, entre outras, estão envolvidos na fisiopatologia do LES (AVRĂMESCU *et al.*, 2010).

O tratamento do LES é bastante complexo e envolve a utilização de medicamentos como corticoides, imunossupressores e antimaláricos e, mais recentemente, o uso de imunobiológicos, os quais influenciam a produção de citocinas ou bloqueiam especificamente sua função. Estudos clínicos e laboratoriais identificaram a presença de alterações na função ou liberação anormal de algumas citocinas envolvidas na patogênese do LES. Tais moléculas podem exercer ação inflamatória, anti-inflamatória ou mesmo as duas ações, dependendo das condições específicas do microambiente em que estão. Além disso, as citocinas também podem atuar como mediadores na inter-relação entre o sistema imune inato e adaptativo, estruturando uma rede de resposta bastante complexa. A atividade anormal de diversas citocinas pode refletir no desequilíbrio entre diferentes subconjuntos de Th como Th1/Th2 e Th17/Treg, contribuindo fortemente para o avanço do LES (SU *et al.*, 2012).

As células Th são caracterizadas de acordo com os vários tipos de citocinas que produzem. As células Th1 produzem IL-2, IFN- α e TNF. As citocinas IL-4, IL-5 e IL-13 estão relacionadas com o perfil Th2. O perfil Th17 é caracterizado principalmente pela produção das citocinas IL-17A e IL-6, enquanto que as células Treg produzem as citocinas anti-inflamatórias, IL-10 e fator de transformação de crescimento β (TGF- β). Estudos científicos têm mostrado diversos perfis de citocinas para as células Th1, Th2, Th17 e Treg em pacientes adultos com LES quando comparados com controles saudáveis, bem como diferenças no fenótipo e atividade da doença (CAVALCANTI *et al.*, 2017).

A IL-2 é uma citocina crucial na prevenção da autoimunidade. Ela atua na manutenção da função e homeostase das células T reguladoras, assim como na inibição da produção de IL-17 (OHL; TENBROCK, 2011). Níveis reduzidos de IL-2

corroboraram para diminuição da atividade de células T citotóxicas e aumento do risco de infecções em pacientes com LES, tais infecções podem ser responsáveis pelo aumento da morbidade ou mesmo da mortalidade desses pacientes. A diminuição dos níveis de IL-2 também provoca supressão da morte celular induzida por ativação e, portanto, aumento da longevidade das células T autorreativas (TSOKOS, 2011).

Na família dos interferon (IFN) do tipo I, os subtipos IFN- α têm grande destaque na patogênese do LES. O aumento da concentração de IFN- α tem sido associado à alta atividade da doença, indicando que níveis séricos de quimiocinas reguladas pelos IFN do tipo I podem ser utilizados como biomarcadores de atividade e dano do LES. Adicionalmente, a assinatura gênica do IFN- α foi detectada em tecido glomerular e sinovial, sugerindo que esta citocina tenha participação no dano local de órgãos alvo do LES (JACOB; STOHL, 2011).

O interferon do tipo II (IFN- γ) também tem expressão aumentada no soro de pacientes com LES. Ele, juntamente com outros fatores solúveis e moléculas de superfície, induzem as APCs a produzirem fatores estimuladores de linfócitos B (BLyS) que promovem ativação e maturação das células B (HARIGAI *et al.*, 2008). Recentemente, um estudo experimental em camundongos com LES evidenciou que o IFN- γ de sinalização tem importante papel na produção de grupos de linfócitos B auto-reativos e na autoimunidade. Camundongos com LES, cujos receptores para o IFN- γ foram removidos de suas células B, tiveram menos dano tecidual em decorrência da resposta auto imune, níveis mais baixos de auto anticorpos e menos sintomas relacionados ao LES do que camundongos que tiveram seus receptores preservados (DOMEIER *et al.*, 2016).

O TNF- α é uma citocina de ação ainda controversa dentro da literatura que abrange a patogênese do LES, devido às evidências conflitantes sobre sua ação. Elevadas concentrações séricas de TNF- α relacionaram-se com presença e/ou aumento da atividade do LES, sugerindo que ele tenha atividade inflamatória. No entanto, altas concentrações séricas de TNF- α também foram detectadas em pacientes com LES inativo, indicando uma ação anti- inflamatória (SU *et al.*, 2012). Além disso, também foi detectado que a concentração de TNF- α encontra-se aumentada localmente em órgãos alvo do LES, como nos rins (SU *et al.*, 2012). A divergência entre esses achados científicos sugere que o TNF- α possa ter ações

diferenciadas em nível sistêmico e local, o que pode ser influenciado pelas características genéticas do paciente (SU *et al.*, 2012).

A IL-4 é uma citocina anti-inflamatória produzida pelas células CD4⁺ Th2, basófilos e mastócitos envolvidos na regulação da resposta imune humoral. A IL-4 tem efeito citotóxico, inibe a síntese de óxido nítrico e a liberação de ânion superóxido pelos macrófagos, induz a diferenciação e a ativação das células B e o desenvolvimento das células T (MOHAMMADOO-KHORASANI *et al.*, 2016). Estudos científicos identificaram níveis de IL-4 similares ou aumentados no plasma de pacientes com LES quando comparados com indivíduos saudáveis (CAVALCANTI *et al.*, 2017; WONG *et al.*, 2000).

A IL-33 é uma citocina pertencente à família da IL-1 e tem sido reconhecida por desempenhar tanto funções pró quanto anti-inflamatórias. Ela pode estimular células Th1 e Th2 a produzirem citocinas, como IL-4, IL-5, IL-13 IL-12 e IFN- γ , envolvidas nos processos de ativação ou inibição do LES (YANG *et al.*, 2011). No entanto, a função exata da IL-33 na patogênese do LES ainda não está clara (WANG, SONG *et al.*, 2012) e resultados de estudos clínicos que visam analisar os níveis séricos de IL-33 em pacientes com LES são controversos (GUO *et al.*, 2016).

Concentrações séricas muito baixas de IL-33 foram identificadas tanto em grupos de pacientes com LES, quanto em indivíduos saudáveis e não foi encontrada diferença estatisticamente significativa quando os grupos foram comparados entre si (MOK; WU; *et al.*, 2010). Contraditoriamente, outro ensaio clínico constatou níveis séricos de IL-33 significativamente mais altos em pacientes com LES do que em pacientes saudáveis, apesar da concentração de IL-33 não ter se correlacionado com a maior parte dos achados clínicos e laboratoriais dos pacientes lúpicos, exceto pela presença de trombocitopenia, eritrocitopenia, anticorpo anti-SSB, VHS, PCR e IgA. Nesse mesmo estudo, os níveis séricos de IL-33 não se correlacionaram com o SLEDAI, sugerindo que IL-33 participa da fase aguda do LES, mas não tem associação com seu curso total (YANG *et al.*, 2011). Recentemente, outro estudo demonstrou que o polimorfismo rs1891385A/C da IL-33 estava significativamente associado à sua expressão anormal no soro de pacientes chineses com LES e que o nível elevado desta citocina estava relacionado com o risco aumentado de LES (GUO *et al.*, 2016).

As células Th-17 exercem função central na patogênese das doenças autoimunes entre as quais o LES se inclui. A IL-17 é uma citocina pró-inflamatória

que promove a amplificação das células T e estimula as células epiteliais, endoteliais e fibroblastos a produzirem vários mediadores inflamatórios, incluindo IL-1, IL-6, TNF α e quimiocinas (ABDEL GALIL; EZZELDIN; EL-BOSHY, 2015). Esta citocina amplifica a resposta imune através de vários mecanismos: estimulando a produção local de quimiocinas e citocinas, recrutando neutrófilos e monócitos, aumentando a produção de auto anticorpos pelas células B e ampliando o processo angiogênese/inflamação, o que contribui para lesão de órgãos alvo, como os rins no caso do LES (LI *et al.*, 2015).

Concentrações elevadas de IL-17A foram encontradas no soro de pacientes com LES e correlacionaram-se positivamente com o SLEDAI (ABOU GHANIMA *et al.*, 2012; TANASESCU *et al.*, 2010; YU *et al.*, 2011), apesar de outros estudos não terem encontrado essa correlação (MOK; HUANG; *et al.*, 2010; VINCENT *et al.*, 2013). A alta atividade de IL-17A está relacionada com a ocorrência de nefrite lúpica, um preditor confiável para determinação de prognóstico desfavorável do LES. Além do nível de IL-17A encontrar-se elevado sistemicamente, altas concentrações desta citocina também foram detectadas localmente em órgãos alvo do LES, incluindo lesões do sistema nervoso central, pele e rins (LU *et al.*, 2010; TANASESCU *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2010).

A IL-6, por sua vez, é uma citocina que participa do processo de diferenciação das células T naíve em células Th-17, com importante função na patogênese do LES (JACOB; STOHL, 2011; LI *et al.*, 2015). Ela promove a ativação e diferenciação de células como macrófagos, neutrófilos, células T e B envolvidas no desenvolvimento da auto imunidade sistêmica e respostas inflamatórias patológicas (JACOB; STOHL, 2011). Altos níveis de IL-6 foram identificados no soro de pacientes com LES e se correlacionaram com piores indicadores de atividade, dano e resposta ao tratamento do LES (CHUN *et al.*, 2007; JACOB; STOHL, 2011; UMARE *et al.*, 2016). Nesses pacientes, as células B expressaram espontaneamente o IL-6R e produziram, conseqüentemente, grandes quantidades de IL-6. Além disso, os clones auto-reativos de células T dos pacientes com LES também produziram grandes quantidades de IL-6 que ativaram as células B que, por sua vez, produziram mais anticorpos. Assim acredita-se que, no LES, a produção excessiva e espontânea de imunoglobulinas pelas células B possa ser estimulada pela utilização de IL-6 exógena e inibida através da neutralização dos anticorpos de IL-6 (JACOB; STOHL, 2011).

A IL-6 também mediou o processo inflamatório local que ocorre em complicações cardiopulmonares, nefrite, alterações neuropsiquiátricos e lesões articulares associados ao LES (BALL *et al.*, 2014; ESPOSITO *et al.*, 2009; FRAGOSO-LOYO *et al.*, 2013). Concentrações elevadas de IL-6 foram detectadas no líquido cefalorraquidiano, em tecido renal e na urina de indivíduos com LES, estando intensamente associadas com manifestações clínicas próprias dessa doença, como psicoses e nefrite lúpicas (SU *et al.*, 2012).

Em pacientes com LES, uma forte correlação foi detectada entre os níveis séricos de IL-17A e IL-6, sugerindo que a IL-17 possa ser responsável pela ativação de diversos mecanismos imunológicos (VINCENT *et al.*, 2013). Especificamente no caso de pacientes com nefrite lúpica, a IL-17 estimulou a produção de grande quantidade de auto anticorpos por meio da expressão aumentada de IL-6 (DONG *et al.*, 2003). Pacientes com LES apresentaram aumento significativo dos níveis séricos de IL-17 e IL-6 quando comparados com indivíduos saudáveis. A concentração de ambas as citocinas também estavam aumentadas em pacientes com LES ativo quando comparados aos pacientes com LES inativo. O aumento simultâneo dos níveis séricos das duas citocinas associou-se com nefrite lúpica em atividade, anemia e maiores scores do SLEDAI-2K. Além disso, os níveis séricos de IL-17 A e IL-6 exibiram uma correlação positiva entre eles, tanto durante o período de atividade quanto durante o período de remissão do LES (ABDEL GALIL; EZZELDIN; EL-BOSHY, 2015).

A IL-10 é um importante mediador endógeno de ação anti-inflamatória reconhecida. Atua inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- α , IL-8), através de sua ação sobre monócitos/macrófagos. No entanto, apesar de suas funções inibitórias e anti-inflamatórias, essa citocina também pode ter efeitos imunoestimulantes sobre algumas células (AVRĂMESCU *et al.*, 2010). Existem evidências científicas fortes de que a superprodução de IL-10 exerce um papel crucial no desequilíbrio imunoinflamatório presente no LES (AVRĂMESCU *et al.*, 2010) e que a hiperatividade de linfócitos B pode ser causada pelos seus efeitos autócrinos e parácrinos desencadeados pela sinalização de IL-10 (TALAAT *et al.*, 2015). Assim, a IL-10 atua regulando o crescimento e diferenciação da células B e a produção de auto anticorpos. Ela também pode contribuir para ocorrência de anormalidades precoces nas células B periféricas, incluindo a expansão das células plasmáticas (OKAMOTO *et al.*, 2011). Foi sugerido, recentemente, que a IL-10

possa ser um biomarcador para o LES e que ela, juntamente com a IL-6 poderiam ser sinalizadores da atividade dos linfócitos B na produção de auto anticorpos (AVRĂMESCU *et al.*, 2010; OKAMOTO *et al.*, 2011).

Os níveis séricos de IL-10 mostraram-se mais elevados em pacientes com LES quando comparados com os controles. Esse aumento ocorreu principalmente devido ao aumento da produção de IL-10 por monócitos, um subconjunto de células B, e possivelmente por células T de memória CD4+CD45 RO+. Concentrações séricas de IL-10 correlacionaram-se positivamente com as concentrações de anticorpos de anti-dsDNA e com o escore do SLEDAI e inversamente com os níveis de C3 do complemento. Em pacientes com LES, a IL10 aumentou a produção de IgG por células mononucleares de sangue periférico (PBMC) e o tratamento de pacientes portadores de LES com anticorpo neutralizante anti-IL10 reduziu a taxa de apoptose em 50% (DEAN *et al.*, 2000).

Sabe-se que o processo de remodelação óssea tem como base o sistema Receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANK)/Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANKL)/Osteoprotegerina (OPG), também conhecido como RANK/RANKL/OPG. O RANKL se liga a seu receptor RANK e essa união promove a ativação dos osteoclastos e conseqüente reabsorção óssea. Dentro desse contexto, a OPG atua como um inibidor do processo, na medida em que também se liga ao RANK. Em condições fisiológicas normais, há um equilíbrio entre os processos e reabsorção e neoformação ósseas. A inflamação exacerbada presente no LES, assim com o tratamento com corticoides, interferem no equilíbrio desse sistema. Há uma redução da diferenciação dos osteoblastos e um aumento da maturação dos osteoclastos, o que predispõe o paciente com LES à sérios danos musculoesqueléticos (BONFÁ *et al.*, 2015).

As metaloproteinases (MMPs), uma grande família de enzimas proteolíticas dependentes de zinco e produzidas em decorrência da sensibilização dos receptores *Toll*, desempenham função central na remodelação dos tecidos conjuntivos e degradação da matriz extracelular tanto em processos fisiológicos quando em situações patológicas (ZHANG, QIAN *et al.*, 2014). A MMP-2 e a MMP-9, também chamadas de gelatinases, degradam o colágeno tipo IV presente na membrana basal, fato particularmente relevante nas doença renais como a glomerulonefrite associada ao LES (PHILLIPS *et al.*, 2017).

Adicionalmente, as MMPs regulam ativação das células CD4 e CD8, assim como a migração das células CD8+T e esse pode ser o mecanismo através do qual essas enzimas contribuem para o fenótipo do LES (PHILLIPS *et al.*, 2017). Acredita-se que as MMPs participam da degradação dos tecidos ósseo e cartilaginoso na artrite reumatoide (AR), bem como na neuropatia periférica que acomete os pacientes com LES. Tanto a concentração quanto a atividade das metaloproteinases (MMP-2 e MMP-9) estavam significativamente aumentadas no soro de pacientes com LES e artrite reumatoide quando comparadas com controles saudáveis, reforçando o possível envolvimento dessas proteínas na patogênese da AR e do LES (CHANG *et al.*, 2008).

Atividade das gelatinases é regulada por inibidores teciduais específicos de MMPs (TIMP). Os TIMPs agem localmente inibindo a ação das MMPs e prevenindo a destruição da matriz extracelular. A MMP-2 é inibida essencialmente pelo TIMP-2 e a MMP-9 pelo TIMP-1. O equilíbrio entre os níveis de MMP e TIMP determina a homeostase do tecido conjuntivo (ZHANG, QIAN *et al.*, 2014).

Várias outras citocinas têm participação na patogênese do LES (DEAN *et al.*, 2000; JACOB; STOHL, 2011; LU *et al.*, 2010; MOK; WU; *et al.*, 2010; OHL; TENBROCK, 2011). É importante, no entanto, reforçar que essas moléculas são capazes de literalmente “orquestrar” as interações celulares durante a resposta imune, influenciando o sistema humoral e participando tanto no desequilíbrio imunológico sistêmico quanto no processo inflamatório local presente no LES.

2.4 Participação das citocinas na fisiopatogenia da PC

Apesar de ser amplamente aceito que as bactérias periodontopatogênicas são responsáveis pelo desencadeamento da PC, sabe-se que o processo de destruição periodontal se mantém, principalmente, devido à resposta imunoinflamatória do hospedeiro (JAEDICKE; PRESHAW; TAYLOR, 2016). De fato, os fatores bacterianos são os responsáveis por iniciar a resposta inflamatória local, ativando o sistema imune inato via reconhecimento dos componentes microbianos por TLR presentes em células residentes e leucócitos. No entanto, a ativação dessas células mantém o processo induzindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias e recrutamento de fagócitos e linfócitos. Por consequência, a ativação das células T e B, as respostas Th1, Th2, Th17 e Treg e a produção de anticorpos,

demarca o início da resposta imune adaptativa. A liberação contínua e excessiva de diversas citocinas nos tecidos periodontais é essencial para a manutenção do processo inflamatório local que resulta na destruição dos tecidos de suporte dentário (DI BENEDETTO *et al.*, 2013).

A IL-1 β foi a primeira citocina dosada no tecido gengival de pacientes com PC e, desde então, várias outras citocinas foram identificadas no tecido periodontal, fluido crevicular gengival (CGF) e, mais recentemente, na saliva (JAEDICKE; PRESHAW; TAYLOR, 2016). Está associada ao recrutamento de neutrófilos e à ativação de osteoclastos por meio de sua capacidade de induzir a produção de quimiocinas e ativar os osteoclastos. A IL-1 β é, portanto, a citocina mais estudada em pesquisas que envolvem análise de biomarcadores salivares na PC (PRESHAW; TAYLOR, 2011).

A IL-17 tem grande importância na patogênese da PC, pois é responsável pelo recrutamento, ativação e migração de células inflamatórias como os neutrófilos (ESKAN *et al.*, 2012), além de induzir o processo osteoclastogênico em desordens inflamatórias que envolvam reabsorção óssea (SHAHRARA *et al.*, 2008). A diferenciação de células precursoras de osteoclastos (OCPs) em osteoclastos maduros pode ser influenciada pela IL-17. Na presença de patógenos periodontopatogênicos, as células mononucleares do sangue secretam IL-17 que acelera o processo de diferenciação dos osteoclastos, aumentando os níveis de RANKL e diminuindo a expressão de OPG pelas células osteoblásticas (KOTAKE *et al.*, 1999; LIN *et al.*, 2014; ODA; YOSHIE; YAMAZAKI, 2003).

Foi demonstrado que a IL-17 é capaz de estimular os neutrófilos a liberar enzimas (colagenases e elastases) e espécies que reagem com o oxigênio para o microambiente extracelular, contribuindo para a eliminação dos patógenos periodontais. Apesar do propósito inicial ser o extermínio dos microrganismos, esse processo também contribui para o dano aos tecidos periodontais e manutenção da atividade inflamatória local (KANTARCI; OYAIZU; DYKE, 2003). A IL-17 também estimula células epiteliais, endoteliais e fibroblásticas a produzirem outros mediadores inflamatórios como IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , MMPs e prostaglandina E₂ (PGE₂) que interferem no equilíbrio entre RANKL E OPG e causam destruição tecidual e perda óssea (BEKLEN *et al.*, 2007; FOSSIEZ, 1996; MAHANONDA *et al.*, 2008; RACZ *et al.*, 2014). Esta citocina pode ainda estar envolvida na regulação da

resposta imune inata em células epiteliais gengivais através da indução da produção de IL-8 (TAKAHASHI, NAOKI *et al.*, 2011).

Em doenças inflamatórias crônicas, a IL-6 pode ter ação anti-inflamatória, inibindo o recrutamento de neutrófilos e a expressão de citocinas pró-inflamatórias ou ter ação inflamatória; induzindo a atividade das proteínas de fase aguda. Sugere-se ainda que a IL-6 tenha propriedades de fator de crescimento, relacionadas ao aparecimento e progressão de vários tipos de câncer. Portanto, acredita-se que a capacidade particular de cada indivíduo em produzir e liberar IL-6 possa regular a predisposição, o desenvolvimento e a progressão de várias doenças autoimunes, inflamatórias e neoplásicas (NIBALI *et al.*, 2012). A produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-6 associa-se com a destruição de tecidos moles e duros, tanto na AR quanto na PC (KOBAYASHI; YOSHIE, 2015).

A produção local de IL-6 também foi descrita e alguns estudos revelaram sua presença em células endoteliais, fibroblastos e macrófagos de indivíduos com PC (TAKAHASHI, KEISO *et al.*, 1994), além de alta expressão de proteína e mRNA de IL-6 em células mononucleares gengivais (FUJIHASHI *et al.*, 1993). A IL-6 também foi identificada em fibroblastos de ligamento periodontal humano, após a contaminação por bactérias periodontopatogênicas (BELIBASAKIS *et al.*, 2005; PATIL, C.; ROSSA; KIRKWOOD, 2006; ROGERS *et al.*, 2007; YAMAJI *et al.*, 1995). Indivíduos com PC apresentaram níveis aumentados de IL-6 sistemicamente, no soro, e localmente, na saliva e GCF, quando comparados com controles saudáveis (COSTA *et al.*, 2010; GEIVELIS *et al.*, 1993; SHIMADA *et al.*, 2010).

A IL-6 é produzida por muitas células durante o processo de destruição periodontal e, juntamente com a IL-1 e o TNF- α , desencadeia reabsorção óssea, através da produção de proteínas de fase aguda da inflamação. No tecido conjuntivo e ósseo, os efeitos da degradação tecidual da IL-6 são mediados por MMPs, osteoclastos, ativação de células T e amplificação da cascata inflamatória. Conseqüentemente, essa citocina é um potente estimulador da diferenciação de osteoclastos e reabsorção óssea (ERDEMIR; DURAN; HALILOGLU, 2004; NIBALI *et al.*, 2012) e foi considerada um biomarcador salivar de precisão aceitável para o diagnóstico de PC (DE LIMA *et al.*, 2016). No entanto, um estudo científico não encontrou diferenças significantes nos níveis salivares de IL-6 entre grupos de indivíduos com e sem PC (TELES *et al.*, 2009).

A expressão aumentada de IL-6 em PBMC foi relacionada com a gravidade da PC em indivíduos brasileiros (MOREIRA *et al.*, 2007), enquanto que o tratamento periodontal parece interferir na concentração sistêmica de IL-6. No período imediatamente pós tratamento periodontal, observou-se aumento dos níveis desta citocina (D'AIUTO *et al.*, 2005; TONETTI *et al.*, 2007), enquanto que a longo prazo, com a melhora dos parâmetros clínicos periodontais, houve um declínio (D'AIUTO *et al.*, 2004; MARCACCINI *et al.*, 2010; SHIMADA *et al.*, 2010). O equilíbrio entre o papel defensivo e danoso da IL-6 na PC ainda não está suficientemente definido e merece ser esclarecido (IRWIN; MYRILLAS, 1998).

A IL-18 é secretada por células mieloides, queratinócitos e células epiteliais e desempenha importante papel na inflamação periodontal através da ativação dos neutrófilos e células Th1 (BARKSBY *et al.*, 2007). Em contrapartida, a IL-33 direciona a produção de citocinas pelas células Th2 (BUDUNELI; ÖZÇAKA; NALBANTSOY, 2012) e é responsável por ativar outros tipos de células como basófilos, mastócitos e células linfoides inatas (DA LUZ *et al.*, 2014). As células Th2 e os mastócitos, em particular, têm papel importante na patogênese da PC (BUDUNELI; ÖZÇAKA; NALBANTSOY, 2012).

A IL-33 induz as células Th2 a produzirem outras citocinas como IL-4, IL-5 e IL-13, como também induz a liberação de mediadores inflamatórios como TNF α , IL-6 e IL-1 β . Foi proposto que a IL-33 pode atuar de três formas durante o desenvolvimento da PC: como alarminas, quimioatratadores ou como citocinas de ação sistêmica. A IL-33 opera como alarmina quando é liberada por células periodontais necrosadas. Ela também estimula a degranulação dos mastócitos e aumenta o número de células pró-inflamatórias como macrófagos, eosinófilos e basófilos. Quando a IL-33 é identificada pelos mastócitos, ela os induz a liberarem histaminas, leucotrienos, prostanoídes, proteases, citoquinas e quimiocinas que, por sua vez, atraem neutrófilos para o local da infecção. A liberação de mediadores inflamatórios e de IL-33 aumenta a produção de RANKL e reduz a de OPG determinando a ativação dos osteoclastos e consequente reabsorção óssea (DA LUZ *et al.*, 2014).

Um estudo experimental demonstrou que os níveis de expressão de IL-33 estavam mais altos no grupo com PC em relação ao grupo de controles saudáveis, sugerindo uma correlação positiva entre a expressão de IL-33 e de RANKL (KÖSEOĞLU *et al.*, 2015). Outro estudo concluiu que a IL-33 contribuiu para a reabsorção óssea periodontal através do aumento da produção de RANKL pelos

linfócitos T e B ativados por *Porphyromonas gingivalis* e sugeriu que o conjunto IL-33/ST2 poderia ser um alvo terapêutico promissor no tratamento da PC (MALCOLM *et al.*, 2015). Embora estudos *in vitro* tenham indicado que a IL-33 possui um papel importante na PC, estudos *in vivo* não confirmaram aumento da concentração de IL-33 no GCF, saliva ou soro de pacientes com PC em comparação com indivíduos saudáveis (BUDUNELI; ÖZÇAKA; NALBANTSOY, 2012; SAĞLAM *et al.*, 2016).

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória que exerce função central na imunidade antimicrobiana, o que sugere que ela também atue na PC. Esta citocina possui inúmeras funções necessárias para a manutenção da homeostase, atuando inclusive na regulação neurológica (SEDGER; MCDERMOTT, 2014). O TNF- α é produzido principalmente por macrófagos, como resposta primária à sinalização enviada pelos receptores TLR, por células T ativadas, células *natural killer* (NK) e também por células endoteliais e fibroblastos (SEDGER; MCDERMOTT, 2014). Sabe-se ainda que o TNF- α aumenta a destruição óssea, visto que é um potente ativador de osteoclastos (GUERRINI; TAKAYANAGI, 2014). O sucesso da terapia anti TNF- α no tratamento da artrite reumatoide aumentou o interesse por esta importante citocina na patogenia de doenças inflamatórias crônicas, como a periodontite (JAEDICKE; PRESHAW; TAYLOR, 2016).

A IL-4 é produzida por células Th-2 tem importante função na regulação da proliferação celular e apoptose de numerosos tipos celulares, incluindo linfócitos, células mieloides, fibroblastos e células epiteliais (LUZINA *et al.*, 2012). A IL-4 é um mediador determinante na regulação do desenvolvimento e plasticidade das células T na PC (FORD; GAMONAL; SEYMOUR, 2010). A IL-10, por sua vez, é uma citocina anti-inflamatória potente capaz de contribuir para manutenção da massa óssea através da inibição da reabsorção óssea osteoclástica e regulação da formação óssea osteoblástica. Está, portanto, fortemente envolvida na PC e tem potencial para ser utilizada no tratamento de doenças que envolvem reabsorção óssea, como a PC (ZHANG, QIAN *et al.*, 2014). Um estudo *in vitro* sugeriu que a *Treponema denticola* pode aumentar a ativação da MMP-2 nas células do ligamento periodontal, contribuindo para a degradação da matriz extracelular e reabsorção óssea (MIAO *et al.*, 2014).

Desta forma, percebe-se que a PC deriva de uma interação entre a resposta imunológica inata e adaptativa frente ao desafio estabelecido por uma comunidade bacteriana sinérgica e disbiótica que se instala no tecido periodontal. Dentro desse

contexto, as citocinas, com sua rede complexa de ações, atuam orquestrando os processos imunológicos e inflamatórios.

Apesar do conhecimento de que as citocinas exercem importante papel na patogênese das doenças inflamatórias, um número ainda restrito de citocinas tem sido descrito como biomarcadores precisos na identificação e monitoramento da periodontite. Há necessidade, portanto, de desenvolvimento de outros estudos que envolvam análise sistêmica das respostas imunológicas do hospedeiro, assim como realização de estudos clínicos, a fim de identificar novos marcadores (TAYLOR; PRESHAW, 2016).

2.5 Saliva como meio de diagnóstico

A detecção precoce das doenças é de fundamental importância para o bom prognóstico de seu tratamento, no entanto, na maioria das vezes, o diagnóstico é feito somente após o aparecimento de seus sinais e sintomas, quando as enfermidades já estão em estágios mais avançados. Desta forma, profissionais da saúde e pesquisadores têm se empenhado na busca por biomarcadores moleculares capazes de identificar doenças antes que elas provoquem danos irreversíveis (LEE; WONG, 2009).

A saliva é um fluido biológico composto por secreções das glândulas salivares (parótida, submandibulares, sublinguais e outras), células da mucosa oral, sangue e CGF. Assim como outros fluidos biológicos, ela contém moléculas, proteínas, metabólitos e microbiota que podem ser analisados e fornecer valiosas informações sobre mecanismos fisiológicos ou patológicos (ZHANG, YONG *et al.*, 2016). Ao contrário de outros fluidos corporais, a utilização da saliva como meio de diagnóstico, oferece vantagens, visto que sua coleta é simples, segura, não invasiva e indolor. Assim, possui grande potencial para revolucionar a próxima geração de métodos de diagnóstico (LEE; WONG, 2009).

Há uma grande expectativa em torno da aplicação da saliva para diagnóstico de doenças bucais e identificação de biomarcadores que possam ser úteis para o entendimento de outras enfermidades sistêmicas, visto que ela contém moléculas que são filtradas, processadas e “secretadas” pelos vasos sanguíneos que nutrem as glândulas salivares (LEE; WONG, 2009). Desta forma, é desejável que a saliva possibilite o entrelaçamento entre as pesquisas em saúde bucal e sistêmica,

reforçando o conceito de que a boca é parte integrante do organismo e que doenças bucais podem refletir condições sistêmicas, assim como contribuir para seu agravamento.

Nas últimas décadas, técnicas de diagnóstico salivar foram desenvolvidas com o objetivo de monitorar doenças bucais como periodontite e cárie (GAO *et al.*, 2016; TAYLOR, 2014). Recentemente, aplicação de biotecnologias modernas no diagnóstico salivar permitiu identificação biomarcadores salivares para diversas doenças como câncer, doenças auto imunes, doenças virais, doenças bacterianas, doenças cardiovasculares, HIV entre outras. Esse avanço tecnológico permitiu que diagnósticos feitos através de análises salivares extrapolassem os limites da cavidade bucal, abrangendo todo o sistema fisiológico. Desta forma, o diagnóstico embasado em exames salivares está na vanguarda das tecnologias de diagnóstico e pode ser uma alternativa promissora para os profissionais da saúde, auxiliando-os em suas decisões clínicas e previsão de resultados pós-tratamento (LEE; WONG, 2009).

Apesar dos vários avanços na compreensão da patogênese das doenças inflamatórias crônicas, o diagnóstico da periodontite ainda é feito após a constatação clínica da destruição do tecidos conjuntivo e ósseo. Esse processo requer o envolvimento de profissionais tecnicamente qualificados para realizar o exame periodontal, o qual compreende avaliação de sítios com sangramento à sondagem, medidas de profundidade de sondagem e perda de inserção, além da avaliação radiográfica e observações clínicas subjetivas. As mesmas dificuldades são enfrentadas durante monitoramento da saúde periodontal (PIHLSTROM; MICHALOWICZ; JOHNSON, 2005). É altamente desejável a identificação de biomarcadores capazes de detectar precocemente as periodontites, além de monitorar sua evolução, visto que as abordagens diagnósticas atuais avaliam, com maior ênfase, os efeitos cumulativos da destruição periodontal e são limitadas em mensurar a atividade atual da doença (JAEDICKE; PRESHAW; TAYLOR, 2016).

Os primeiros estudos que objetivaram investigar o envolvimento das citocinas na patogênese da periodontite utilizaram amostras de soro e CGF (BUDUNELI; KINANE, 2011), no entanto, atualmente, a saliva vem se tornando uma fonte promissora de biomarcadores (TAYLOR, 2014).

A análise da saliva, de forma semelhante ao CGF, proporciona uma melhor representação das alterações patológicas locais da boca do que a análise do soro.

No entanto, a saliva tem várias vantagens sobre o CGF: é mais facilmente acessível; pode ser amostrada em um volume muito maior sem a necessidade de instalações clínicas e não é necessária nenhuma habilidade complexa para a sua amostragem. Além disso, enquanto o teor do CGF reflete processos inflamatórios em sítios específicos de doença, é razoável sugerir que o conteúdo de saliva reflete um estado inflamatório consensual de "boca inteira", que provavelmente será muito mais relevante do ponto de vista clínico (JAEDICKE; PRESHAW; TAYLOR, 2016).

Assim, a saliva é um fluido que reúne características que a permitem ser utilizada como fonte de biomarcadores úteis para diagnóstico e monitoramento das doenças periodontais, visto que contém uma grande quantidade de CGF total, provindo de bolsas periodontais presentes em toda a boca. Além disso, é óbvio pensar que a análise isolada de fatores envolvidos na patogênese de doenças complexas como a PC, não é tão útil (ou tão desejável) quanto a investigação de múltiplos fatores que se sobrepõem, mas que são capazes de identificar as associações entre doenças (KORTE; KINNEY, 2016).

Entretanto, ainda não está claro como fatores de confusão como o tabagismo e doenças sistêmicas, influenciam os componentes bioquímicos e celulares dos fluidos bucais, o que pode limitar, num primeiro momento, a utilidade diagnóstica da saliva na identificação e monitoramento das enfermidades periodontais. Após esclarecimento desses questionamentos e melhora das técnicas de análise laboratoriais, a avaliação salivar poderá contribuir, de forma ainda mais significativa, para o manejo das doenças orais (TAYLOR; PRESHAW, 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a produção de citocinas salivares em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico e sua associação com a periodontite crônica

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a concentração das citocinas IL-2, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-6, IL-10, IL-33, IL-17A, RANK, OPG e MMP2/TIMP2 na saliva de indivíduos com lúpus eritematoso sistêmico e verificar sua associação com a presença e ausência de periodontite crônica.
- Correlacionar a condição periodontal dos indivíduos com LES com indicadores de atividade, dano e tratamento do lúpus eritematoso sistêmico.
- Correlacionar a concentração salivar das citocinas avaliadas com condição periodontal, indicadores de atividade, dano e de tratamento do LES dos indivíduos com lúpus eritematoso sistêmico.

4 MATERIAL E MÉTODOS E RESULTADOS

Os itens Material e Métodos e Resultados serão apresentados na forma do artigo científico intitulado “***Immunological signatures in saliva of Systemic Lupus Erythematosus patients: influence of periodontal condition***”. O artigo foi submetido para o periódico ***Clinical and Experimental Rheumatology***.

Title: Immunological signatures in saliva of Systemic Lupus Erythematosus patients: influence of periodontal condition.

Authors:

Santuza M. S. Mendonça, PhD ¹; Joice D. Corrêa, PhD ¹; Alessandra F. Souza, MD ¹; Denise V. Travassos, PhD ²; Débora C. Calderaro, PhD ³; Natalia P. Rocha, PhD ⁴; Érica L. M. Vieira, PhD ⁴; Antônio L. Teixeira PhD ⁴; Gilda A. Ferreira, PhD ³, Tarcília A. Silva, PhD^{1†}

¹ Department of Oral Surgery and Pathology, School of Dentistry, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil. Av. Antônio Carlos 6627, Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. CEP 31.270-901.

² Department of Community and Preventive Dentistry, School of Dentistry, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil. Av. Antônio Carlos 6627, Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. CEP 31.270-901.

³ Department of Locomotor System, School of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil. Av. Prof. Alfredo Balena, 190, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. CEP 30.130-100.

⁴ Department of Internal Medicine, School of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil. Av. Prof. Alfredo Balena, 190, Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. CEP 30.130-100.

Short running title: Salivary cytokines in SLE patients

†**Corresponding author:** Tarcília Aparecida Silva, Ph.D. Mailing address: Departamento de Patologia e Cirurgia Odontológica, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos 6627, CEP 31.270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Phone: 55 31 3409-2478 (voice); 55 31 3409-2430 (Fax). E-mail: tarcilia@ufmg.br. <http://orcid.org/0000-0001-9623-7835>.

IMMUNOLOGICAL SIGNATURES IN SALIVA OF SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS PATIENTS: INFLUENCE OF PERIODONTAL CONDITION

ABSTRACT

Objective: The immune system has an important role in the development of systemic lupus erythematosus (SLE) and chronic periodontitis (CP). Altered cytokines levels characterize both diseases and contributes to periodontal tissue damage in CP and to macrocomplexes deposition with connective tissue destruction in SLE. This study aimed to evaluate the production of salivary cytokines in patients with SLE and its association with periodontal status. **Methods:** The sample comprised 70 SLE patients and 70 paired controls. SLE activity and damage were scored using Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 and Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index. Subjects were classified as without or with CP. Salivary concentrations of IL-33, MMP2/TIMP2, RANK and OPG were measured by ELISA, while IL-2, IFN γ , TNF α , IL-4, IL-6, IL-10 and IL-17A were determined by Cytometric Bead Array. Linear regression models analyzed association among SLE, CP and salivary cytokines. **Results:** IL-6 and IL-17A concentrations were significantly higher in SLE/CP patients than controls/CP. Concentrations of IL-6, IL-17A and IL-33 were increased in SLE/CP individuals when compared to SLE without CP. Multivariate model revealed association of cumulative dose of corticoids with periodontal damage and of IL-33 salivary concentration with SLE activity. **Conclusion:** Our results suggest that the corticoids long-term therapy contributes with periodontal destruction in SLE. Moreover, the increased levels of IL-6, IL-17A and IL-33 in saliva of SLE/CP subjects suggest possible pro-inflammatory pathways amplification in this group of patients, in particular for IL-33 that was correlated with SLE activity in multivariate model.

KEY WORD

Systemic lupus erythematosus; Chronic periodontitis; Cytokine; Saliva.

INTRODUCTION

Chronic periodontitis (CP) is an inflammatory disease triggered by oral microorganisms of the dental biofilm that results in damage of supporting connective tissue and alveolar bone loss (1). The severity of periodontal inflammation varies among individuals, irrespective of the bacterial load indicating that the deregulation of the host inflammatory response might aggravate the periodontal destruction (2).

In this setting, chronic conditions marked by systemic inflammation such as diabetes (3), obesity, chronic kidney disease and rheumatoid arthritis (4) are associated with an increased risk of CP. Additionally, some studies indicated that CP amplifies systemic inflammation potentially affecting the development of atherosclerotic cardiovascular disease (5), adverse pregnancy outcomes (6), pneumonia, rheumatoid arthritis (4) and Systemic Lupus Erythematosus (SLE) activity (7).

SLE is a multisystem connective-tissue disorder characterized by autoimmune response to different autoantigens, and a wide range of clinical features. SLE diagnosis is based on the Systemic Lupus International Clinics Classification (SLICC) criteria (8). There are similarities in the pathogenesis of SLE and CP, but the nature of the association between these two conditions remains to be elucidated. Previous studies suggested that CP frequency in SLE individuals varies from 60 to 93.8% (9–11). Data of CP severity in SLE population are also divergent, since SLE patients exhibited similar, less severe or more severe periodontal parameters when compared to healthy controls or to non-SLE patients with CP (11–15). Interestingly, it was reported that periodontal treatment improves response to conventional therapy in SLE patients with reduction of disease activity (7).

Reports of cytokine salivary levels in periodontitis are controversial; nevertheless recent evidence suggests that IL-1 β is elevated in periodontal diseases and could discriminate between active and inactive sites (16). IL-6 is also increased in saliva of individuals with periodontitis and it is associated with periodontal tissue destruction. Some inflammatory

biomarkers such as IL-17, TNF α , MMPs, RANK, RANKL, OPG have been studied and could be correlated with the stages of periodontal disease. However, it is unlikely that one standalone marker could be used as a diagnostic tool (16). A restrict number of studies has investigated the influence of systemic diseases such as rheumatoid arthritis, bowel disease and diabetes on salivary cytokines levels in presence of periodontitis and none has been designed specifically with this objective, consequently it was not possible to precise the local or systemic influence in salivary cytokines concentrations (16). Little information is available concerning the cytokines profile in saliva (17) and gingival crevicular fluid (GCF) (18) of SLE patients and its relation with periodontal status. For instance, the total amount of IL-1 β and IL-18 in GCF were decreased in SLE patients when compared to controls (18) and the levels of IL-6 and IL-1 β in saliva were also lower in SLE individuals with inflamed periodontal sites compared to healthy controls with similar periodontal condition (17). Considering contradictory results on the complex link between of SLE and CP, the evaluation of salivary cytokines and periodontal condition might contribute to identify markers of periodontal destruction and to define possible correlations with SLE activity or damage. Herein, this study evaluated the production of salivary cytokines in SLE patients and its relationship with periodontal parameters and SLE activity and damage.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

A total of 336 patients diagnosed with SLE and with a regular follow-up at the Rheumatology Outpatient Clinic of the Medical School Hospital of Universidade Federal de Minas Gerais were initially evaluated. Seventy SLE patients with at least 18 years and with at least eight erupted teeth were included in the present study. Exclusion criteria were: other rheumatic diseases (except from secondary Sjögren Syndrome), CP treatment in the former 6

months, presence of orthodontic appliances, use of antibiotics in the last 3 months, chronic kidney disease requiring dialysis or after kidney transplantation, pregnancy, lactation and neoplasia diagnosis in the last 5 years. Medical records of SLE patients were reviewed in order to collect information about the disease and medication. The SLE activity and damage were evaluated through Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 (SLEDAI-2K) (19) and Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index (SDI) (20), respectively. The cumulative dose of corticoids (mg/prednisone) was calculated and current use of corticoids, antimalarials and immunosuppressants were determined.

Seventy individuals, with no clinical evidence of rheumatic diseases, matched for age, gender, self-referred color, educational level and monthly income with SLE patients, comprised the control group. They were randomly selected from a population with socioeconomic and educational backgrounds similar to SLE patients, recruited among staff and escorts of patients from Faculty of Dentistry and Clinics Hospital and with no dental complaints. All participants signed a written informed consent. This study was approved by Institutional Ethics Committee for Human Studies (CAAE: 03128012.0.0000.5149/2012).

Assessment of periodontal parameters

Both groups were submitted to periodontal examination of full mouth using a periodontal probe (Hu-Friedy, PCP 15, North Carolina University, Chicago, Illinois, USA). Probing depth (PD), clinical attachment loss (CAL) and bleeding on probing (BP) were determined. Four measures were noted for each tooth (mesial, distal, lingual and buccal) (1). A site was considered a concomitant site (CS) when exhibited bleeding upon probing and $PD \geq 4\text{mm}$. Plaque index (PI) (21) was also assessed to verify oral hygiene. Two trained and calibrated examiners (JDC and SMSM) performed the periodontal examination. CP was defined as ≥ 2 interproximal sites with $CAL \geq 3\text{ mm}$, and ≥ 2 interproximal sites with $PD \geq 4$

mm (not on same tooth) or one site with PD \geq 5 mm (1).

Saliva collection and processing

Saliva samples were obtained under stimulated conditions before the periodontal examination as described elsewhere (22). The patients were instructed to wash their mouth with filtered water before collection. During 5 minutes, they were asked to chew a hyperboloid, spitting the whole produced saliva into a 50 mL sterile falcon tube. The salivary flow was determined dividing the total volume of saliva collected by five (mL/min). The samples were centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes and 4°C. The supernatants were collected and diluted (1:1) in a phosphate-buffered saline solution (0.4 mM NaCl and 10 mM NaPO₄, pH7.4), containing protease inhibitors (0.1 mM phenylmethylsulphonyl fluoride, 0.1 mM benzethonium chloride, 10 mM ethylenediaminetetraacetic acid, 0.01 mg/ml aprotinin A and 0.05% Tween-20) and frozen at -80°C until analysis.

Cytokines analysis

The concentrations of the cytokines IL-33, RANK, OPG and MMP2/TIMP2 were measured in stimulated saliva by sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercially available kits (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). The assay was performed according to the manufacturer's instructions. The concentrations of the cytokines IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN γ and TNF α were also measured in stimulated saliva by Cytometric Bead Array (CBA) employing a BDTM CBA Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit (Becton, Dickinson and Company, BD Biosciences, San Diego, Calif.) and were analyzed on a BD FACSCalibur flow cytometer (Becton, Dickinson and Company). The concentrations of cytokines were measured using a standard curve according to the manufacturer's guidelines. The results were expressed as picogram of cytokine per mL of saliva and adjusted by stimulated salivary flux (picogram per mL^{min} of saliva).

Statistical analysis

Normal distribution of the variables was tested using Kolmogorov-Smirnov test. Chi-square test and Mann-Whitney's test were used to verify if SLE and control groups were correctly matched. Kruskal-Wallis test was applied to analyze the differences in cytokines concentrations and clinical data between SLE and control groups, subdivided according the presence (CP) or absence (non-CP) of CP. Mann Whitney test with Bonferroni correction was used to verify where was the difference when the groups were compared two by two. Mann Whitney's test was applied to compare the distribution of cytokines levels between SLE patients that currently used and did not use corticoids, antimalarial or immunosuppressant medication. Spearman's correlation analysis was used to investigate a potential correlation among variables. Posteriorly, linear regression models were designed to determine the most significant associations among SLE variables (CPR, C3, C4, ESR, cumulative dose of corticoids, SLEDAI-2K, SDI and age) and parameters of periodontal destruction (PD, CAL, BP, CS and missing teeth). Linear regression models were also constructed to evaluate the interference of periodontitis and SLE chronicity and activity parameters in the levels of IL-6, IL-17A and IL-33 cytokines in saliva of SLE patients. The criterion adopted to include the variables in each model was $p < 0.2$. Significance level was determined as $p < 0.05$. All statistical evaluations were performed with SPSS software (version 20.0 for Macintosh; IBM, Armonk, NY, USA).

RESULTS

The demographic, laboratorial, clinical and periodontal characteristics of the studied population are presented in Table 1. Among SLE patients, few subjects presented SLE activity: SLEDAI-2K > 10 (n=11, 15.7%); serositis (n=3, 4%); skin (n=15, 21%); nephritis (n=11, 15.7%), CNS (n=1, 1.4%), arthritis (n=5, 7%). CP frequency and periodontal

parameters were similar when comparing SLE and controls. The plaque index was significantly higher among SLE individuals ($p=0.030$). SLE and control groups were subdivided, according to the presence or absence of CP into: control/CP, control/non-CP, SLE/CP and SLE/non-CP groups. With regard to age, SLE/CP subjects were younger than control/CP individuals (40.09 ± 10.09 vs. 46.67 ± 12.36 years, $p=0.009$), but they were older than SLE/non-CP patients (40.09 ± 10.09 vs. 32.29 ± 6.98 years, $p=0.002$). Control/CP subjects were also older than control/non-CP individuals (46.67 ± 12.36 vs. 33.65 ± 12.82 years, $p<0.0005$) (Table 1).

Salivary levels of IL-6 and IL-17 were significantly higher in SLE/CP group compared to control/CP group (Figure 1E and H). Otherwise, we observed significantly lower salivary levels of IL-33 in SLE/non-CP compared to controls/non-CP (Figure 1G). The presence of periodontal inflammation significantly increased the levels of IL-6, IL-17A and IL-33 in saliva of SLE patients compared to SLE/non-CP (Figure 1E, G and H). No significant differences were seen comparing the concentrations of IL-2, $\text{INF}\gamma$, $\text{TNF}\alpha$, IL-4, IL-10, MMP2/TIMP2, RANK and OPG between the groups (Figure 1).

Table 2 shows the correlations between SLE variables and periodontal parameters. Positive correlations were observed between periodontal destruction (PD, CAL, CS and missing teeth) and SLE duration ($p=0.016$, $p=0.003$, $p=0.024$ and $p=0.006$ respectively). Cumulative dose of corticoids correlated with PD ($p=0.021$) and CS ($p=0.011$). The SLE index of damage (SDI) was positively correlated with two measures of periodontal damage (CAL and missing teeth, $p<0.05$). Additionally, missing teeth positively correlated with PD ($\rho=0.359$, $p=0.002$), CAL ($\rho=0.555$, $p<0.0005$), BP ($\rho=0.0307$, $p=0.010$) and CS ($\rho=0.429$, $p<0.0005$).

Table 3 presents the correlation between salivary cytokines, periodontal condition and SLE parameters of activity and damage. Salivary cytokine levels showed no correlation

with periodontal parameters, SLEDAI-2K, the different subsets of SLE activity, SDI and cumulative dose of corticoids. There was no difference in salivary concentrations of all dosed cytokines between SLE patients that were or not under corticoids, antimalarial or immunosuppressive therapy at the moment of data collection ($p>0.05$).

After multivariate analysis, the cumulative dose of corticoids was the SLE variable that remained associated with the highest number of periodontal destruction parameters such as PD ($p=0.001$), CAL ($p=0.021$) and CS ($p=0.005$) Regarding cytokines, salivary concentration of IL-33 was positively associated with SLEDAI-2K ($p=0.009$). IL-6 and IL-17A presented no correlation with periodontitis and SLE parameters.

DISCUSSION

The main findings of this study are summarized as follows: 1) SLE patients with chronic periodontitis presented increased salivary concentration of IL-6 and IL-17A than respective controls; 2) positive correlations were seen between SLE parameters (SLE duration, cumulative dose of corticoids and SDI) and periodontal parameters (PD, CAL, CS and missing teeth); 3) the cumulative dose of corticosteroids correlated with periodontal damage and increased salivary levels of IL-33 were associated with high SLE activity in linear regression models 4) frequency and severity of CP were similar in SLE and control groups, but periodontitis seemed to affect SLE individuals earlier.

SLE is an autoimmune disease in which cytokines play a significant role priming the immune system (23). This mechanism might contribute for exacerbated periodontal inflammation triggering earlier periodontitis observed in SLE individuals. Moreover, chronic periodontal inflammation might induce systemic effects (4–7) that in turn can perpetuate inflammatory response increasing SLE damage.

Increased salivary levels of IL-17A were observed in SLE patients with periodontitis. TH17-cells play a central role in the pathogenesis of autoimmune diseases and IL-17, specifically, amplifies the immune response in SLE by increasing the production of autoantibodies by B cells contributing to injury of target organs (24). Consistently, plasma levels of IL-17A were positively correlated with SLEDAI and poor prognosis in SLE nephritis (23). Therefore, this cytokine is emerging as potential therapeutic target for SLE treatment (24). The elevated concentration of IL-17A in saliva of SLE patients with periodontitis might suggest periodontium as SLE target structure. In line with these results, IL-17A has been detected at SLE target organs including central nervous system, skin and kidney (25,26) IL-17A also plays an important role in the pathogenesis of periodontitis, mainly affecting osteoclastogenesis and neutrophil recruitment to periodontal sites (27).

We also observed an increase of IL-6 in saliva of SLE patients with periodontitis. IL-6 participates in the differentiation process of naïve T cells into TH-17 cells and promotes activation and/or differentiation of macrophages, neutrophils, T cells and B cells that are involved in SLE systemic auto-immunity (28). High levels of IL-6 were identified in serum of SLE patients and correlated with SLEDAI (29). Besides its systemic effects, IL-6 also mediates local inflammation in lupus nephritis, cardiopulmonary complications, neuropsychiatric problems and joint damage (30,31). Accordingly, IL-6 might be a link between systemic disease and local inflammation and a potential marker of periodontitis activity. Indeed, IL-6 is a key molecule for alveolar bone resorption and connective tissue destruction (32) and subjects with periodontitis present higher levels of IL-6 in serum, saliva and GCF than healthy controls (33).

In our study, periodontitis increased the salivary concentration of IL-33 in SLE patients. Although experimental studies indicated that IL-33 plays a role in periodontal disease (34,35), clinical studies failed to prove that IL-33 concentration was increased in

GCF, saliva and serum of patients with periodontitis (36,37). Furthermore, the precise function of IL-33 in SLE pathogenesis remains unclear (38). A study reported that SLE patients and healthy volunteers showed similar concentration of IL-33 in serum (39). On the other hand, another study found that IL-33 serum concentration was significantly increased in SLE patients compared to healthy controls (40). Additionally, the serum levels of IL-33 correlated with inflammatory markers (ESR and CRP) in SLE patients, but no association of serum levels of IL-33 and SLEDAI was found, suggesting that IL-33 may have a role in acute phase of SLE, but could not reflect the entire progression of this disease expressed through SLEDAI (40). In the present study, all SLE patients were under treatment for approximately 11.29 (± 7.55) years and most of them did not present high SLE activity what could explain reduced levels of IL-33 in saliva of SLE/non-CP patients and no difference between SLE/CP and control/CP group. However, after multivariate analysis, salivary IL-33 levels correlated exclusively with SLEDAI-2K suggesting that lupus activity interfered with IL-33 concentration in oral cavity and that IL-33 might be a link between two diseases.

The other cytokines analyzed (IL-2, INF- γ , TNF- α , IL-4, IL-10, MMP2/TIMP2, RANK and OPG) did not differ between SLE and controls. Contradictory results were reported when levels of IFN- γ , IL-10, IL-17, IL-1 β and IL-4 were measured in saliva of SLE patients with and without CP. This study failed to identify a significant difference in IL-17 salivary concentrations, but it also found no differences in salivary concentrations of IL-4, IL-10 and IFN- γ between these groups (17).

In the present study, the frequency and severity of CP were similar in SLE and control groups. Similar to our finding several studies found no difference in some periodontal parameters of CP severity between SLE and control groups (12,13,15,18,41). However, others studies showed that some periodontal parameters were less severe (12,13,17,18) or more severe (12,13,42,43) in SLE group. The truly CP frequency in SLE is debatable in the

literature with a wide range of variability, probability due to methodological issues, such as application of different criteria for CP diagnosis and sample recruitment (1,11). We verified that CP occurred earlier in SLE patients in accordance with previous results (15). SLE patients have high risk to infections due to frequent use of immunosuppressive medications and reduced host resistance (44). It is possible that the long-term therapy with corticoids has contributed to anticipate the onset of CP and increase of periodontal destruction since corticoids reduce the immune response and consequently the control of periodontal pathogens. Thus, increased bacterial load at periodontal sites resulted in high damage of periodontal structures at younger ages (45). Indeed, in our study, we found that cumulated dose of corticoids was associated with periodontal damage in a multivariate model.

Possible limitations of the present study are its transversal design and the SLE population evaluated, with long-lasting disease, low SLEDAI-2K and frequent cumulative damage, as evaluated by SDI score greater than 1 in half of patients. A longitudinal study in which individuals were followed just after SLE diagnosis, for monitoring periodontal condition and salivary cytokines would produce substantial information about disease progression and onset biomarkers. It is particularly important considering that SLE patients have early periodontitis compared to control subjects. Furthermore, we found that the number of missing teeth positively correlated with worse periodontal parameters suggesting that periodontitis might contribute to early dental loss in SLE patients. Interestingly, CAL and missing teeth were correlated with SLE damage indicating a progressive deteriorated periodontal condition as SLE outcome. Therefore, SLE subjects need to be referred for periodontal treatment just after diagnosis.

To our knowledge this is the first study that analyzed the association between salivary cytokines, periodontal status and SLE parameters. In conclusion, despite the similar frequency and severity of CP in SLE and control subjects, CP occurs earlier in SLE subjects. It is

possible that the long-term therapy with corticoids have contributed with increased periodontal destruction in SLE patients. Moreover, the increased levels of IL-6, IL-17A and IL-33 in saliva of SLE subjects with CP suggest possible pro-inflammatory pathways amplification in this group of patients, in particular for IL-33 that was correlated with SLE activity in multivariate model.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was partly funded by FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais), Brazil.

CONFLICT OF INTERESTS

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

REFERENCES

1. EKE PI, PAGE RC, WEI L, THORNTON-EVANS G, GENCO RJ: Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol* 2012; 83: 1449–54.
2. GRAVES D: Cytokines That Promote Periodontal Tissue Destruction. *J Periodontol* 2008; 79: 1585–91.
3. CHAPPLE ILC, GENCO R, WORKING GROUP 2 OF JOINT EFP/AAP WORKSHOP: Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol* 2013; 40 (Suppl. 14): S106-12.
4. LINDEN GJ, HERZBERG MC, WORKING GROUP 4 OF THE JOINT EFP/AAP WORKSHOP: Periodontitis and systemic diseases: a record of discussions of working group 4 of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol* 2013; 40 (Suppl. 14): S20-3.
5. TONETTI MS, VAN DYKE TE, WORKING GROUP 1 OF THE JOINT EFP/AAP WORKSHOP: Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol* 2013; 40 (Suppl. 14): S24-9.
6. SANZ M, KORNMAN K, WORKING GROUP 3 OF JOINT EFP/AAP WORKSHOP: Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol* 2013; 40 (Suppl. 14): S164-9.
7. FABBRI C, FULLER R, BONFÁ E, GUEDES LKN, D'ALLEVA PSR, BORBA EF: Periodontitis treatment improves systemic lupus erythematosus response to immunosuppressive therapy. *Clin Rheumatol* 2014; 33: 505–9.

8. PETRI M, ORBAI A, ALARCÓN GS *et al*: Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 2677–86.
9. NOVO E, GARCIA-MACGREGOR E, VIERA N, CHAPARRO N, CROZZOLI Y: Periodontitis and Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibodies in Systemic Lupus Erythematosus and Rheumatoid Arthritis: A Comparative Study. *J Periodontol* 1999; 70: 185–8.
10. RHODUS NL, JOHNSON DK: The prevalence of oral manifestations of systemic lupus erythematosus. *Quintessence Int* 1990; 21: 461–5.
11. CALDERARO DC, FERREIRA GA, DE MENDONÇA SMS *et al*: Is there an association between systemic lupus erythematosus and periodontal disease? *Rev Bras Reumatol* 2016; 56: 280–4.
12. KOBAYASHI T, ITO S, YAMAMOTO K *et al*: Risk of periodontitis in systemic lupus erythematosus is associated with Fcγ receptor polymorphisms. *J Periodontol* 2003; 74: 378–84.
13. Kobayashi T, Ito S, Yasuda K *et al*: The combined genotypes of stimulatory and inhibitory Fc γ receptors associated with systemic lupus erythematosus and periodontitis in Japanese adults. *J Periodontol* 2007; 78: 467–74.
14. UMBELINO JÚNIOR AA, CANTISANO MH, KLUMB EM, DIAS EP, SILVA AA: Achados bucais e laboratoriais em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. *Bras Patol Medica* 2010; 46: 479–86.
15. CALDERARO DC, FERREIRA GA, CORRÊA JD *et al*: Is chronic periodontitis premature in systemic lupus erythematosus patients? *Clin Rheumatol. Clinical Rheumatology* 2017; 36: 713–8.
16. JAEDICKE KM, PRESHAW PM, TAYLOR JJ: Salivary cytokines as biomarkers of

- periodontal diseases. *Periodontol 2000* 2016; 70: 164–83.
17. MARQUES CPC, VICTOR EC, FRANCO MM *et al*: Salivary levels of inflammatory cytokines and their association to periodontal disease in systemic lupus erythematosus patients. A case-control study. *Cytokine* 2016; 85: 165–70.
 18. FIGUEREDO CMS, AREAS A, SZTAJNBOK FR *et al*: Higher elastase activity associated with lower IL-18 in GCF from juvenile systemic lupus patients. *Oral Health Prev Dent* 2008; 6: 75–81.
 19. GLADMAN DD, IBAÑEZ D, UROWITZ MB: Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol* 2002; 29: 288–91.
 20. GLADMAN DD, GINZLER E, GOLDSMITH C *et al*: The development and initial validation of the systemic lupus international collaborating clinics/American college of rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 363–9.
 21. SILNESS J, LÖE H: Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 121–35.
 22. de Souza FTA, Amaral TMP, dos Santos TPM *et al*: Burning Mouth Syndrome: A Therapeutic Approach Involving Mechanical Salivary Stimulation. *Headache J Head Face Pain* 2012; 52: 1026–34.
 23. OHL K, TENBROCK K: Inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 432595.
 24. LI D, GUO B, WU H, TAN L, CHANG C, LU Q: Interleukin-17 in systemic lupus erythematosus: A comprehensive review. *Autoimmunity* 2015; 48: 353–61.
 25. Wang Y, Ito S, Chino Y *et al*: Laser microdissection-based analysis of cytokine balance in the kidneys of patients with lupus nephritis. *Clin Exp Immunol* 2010; 159: 1–10.

26. TANASESCU C, BALANESCU E, BALANESCU P *et al*: IL-17 in cutaneous lupus erythematosus. *Eur J Intern Med* 2010; 21: 202–7.
27. ZENOBIA C, HAJISHENGALLIS G: Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. *Periodontol 2000* 2015; 69: 142–59.
28. JACOB N, STOHL W: Cytokine disturbances in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2011; 13: 228.
29. CHUN H-Y, CHUNG J-W, KIM H-A *et al*: Cytokine IL-6 and IL-10 as biomarkers in systemic lupus erythematosus. *J Clin Immunol* 2007; 27: 461–6.
30. BALL EMA, GIBSON DS, BELL AL, ROONEY MR: Plasma IL-6 levels correlate with clinical and ultrasound measures of arthritis in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2014; 23: 46–56.
31. ESPOSITO P, BALLETTA MM, PROCINO A, POSTIGLIONE L, MEMOLI B: Interleukin-6 release from peripheral mononuclear cells is associated to disease activity and treatment response in patients with lupus nephritis. *Lupus* 2009;18: 1329–30.
32. NIBALI L, FEDELE S, D’AIUTO F, DONOS N: Interleukin-6 in oral diseases: a review. *Oral Dis* 2012;18: 236–43.
33. KOBAYASHI T, YOSHIE H: Host Responses in the Link Between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis. *Curr Oral Heal Reports* 2015; 2: 1–8.
34. KÖSEOĞLU S, HATIPOĞLU M, SAĞLAM M, ENHOŞ Ş, ESEN HH: Interleukin-33 could play an important role in the pathogenesis of periodontitis. *J Periodontal Res* 2015; 50: 525–34.
35. MALCOLM J, AWANG RA, OLIVER-BELL J *et al*: IL-33 Exacerbates Periodontal Disease through Induction of RANKL. *J Dent Res* 2015; 94: 968–75.
36. BUDUNELI N, ÖZÇAKA Ö, NALBANTSOY A: Interleukin-33 levels in gingival crevicular fluid, saliva, or plasma do not differentiate chronic periodontitis. *J*

- Periodontol 2012; 83: 362–8.
37. SAĞLAM M, KÖSEOĞLU S, ARAL CA, SAVRAN L, PEKBAĞRİYANIK T, ÇETINKAYA A: Increased levels of interleukin-33 in gingival crevicular fluids of patients with chronic periodontitis. *Odontology* 2017; 105: 184-90.
 38. Wang S, Ding L, Liu S-S *et al*: IL-33: a potential therapeutic target in autoimmune diseases. *J Investig Med* 2012; 60: 1151–6.
 39. MOK MY, HUANG FP, IP WK *et al*: Serum levels of IL-33 and soluble ST2 and their association with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2010; 49: 520–7.
 40. YANG Z, LIANG Y, XI W, LI C, ZHONG R: Association of increased serum IL-33 levels with clinical and laboratory characteristics of systemic lupus erythematosus in Chinese population. *Clin Exp Med* 2011; 11: 75–80.
 41. AL-MUTAIRI K, AL-ZAHRANI M, BAHLAS S, KAYAL R, ZAWAWI K: Periodontal findings in systemic lupus erythematosus patients and healthy controls. *Saudi Med J* 2015; 36: 463–8.
 42. FERNANDES EGC, SAVIOLI C, SIQUEIRA JTT, SILVA CAA: Oral health and the masticatory system in juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2007; 16: 713–9.
 43. WANG C-Y, CHYUAN I-T, WANG Y-L *et al*: β 2-Glycoprotein I-Dependent Anti-Cardiolipin Antibodies Associated With Periodontitis in Patients With Systemic Lupus Erythematosus. *J Periodontol* 2015; 86: 995–1004.
 44. YOUSSEF J, NOVOSAD SA, WINTHROP KL: Infection Risk and Safety of Corticosteroid Use. *Rheum Dis Clin North Am* 2016; 42: 157–76, ix–x.
 45. JENTSCH HFR, MÄRZ D, KRÜGER M: The effects of stress hormones on growth of selected periodontitis related bacteria. *Anaerobe* 2013; 24: 49–54.

Table 1 Demographic, laboratorial, clinical and periodontal characteristics of study subjects

	Control (n=70)	SLE (n=70)	p
Females	56 (80%)	63 (90%)	0.098
Age (years) mean (\pmSD)	40.9 (\pm 14.07)	37.41 (\pm 9.82)	0.200
Self-referred color (White/No White) (%)	30 (43%) / 40 (57%)	19 (27%) / 51 (73%)	0.051
Educational level (years of study) (min-max)	11 (0-17.00)	11 (3.00-18.5)	0.150
Income (minimum wage) (min-max)	3.00 (1.00-11.00)	3.00 (0.30-20.00)	0.110
Diabetes Mellitus (%)	1 (1.4%)	4 (5.7%)	0.370
Smokers (%)	7 (10%)	7 (10%)	1.000
SLE duration (years)	-	11.29 (\pm 7.55)	-
Cumulative dose of corticoid (mg/prednisone)	-	37741.89 (\pm 27054.99)	-
Current use of corticoids	-	58 (82.9%)	-
Current use of antimalarial	-	43 (61.4%)	-
Current use of immunosuppressant	-	55 (78.6%)	-
SLEDAI-2K (min-max)	-	4.00 (0.00-18.00)	-
SDI (min-max)	-	0.00 (0.00-4.00)	-
C3 (mg/dL) (\pmSD)	-	96.60 (\pm 26.93)	-

C4 (mg/dL) (min-max)	-	18.85 (4.00-57.00)	-
ESR (mm/h)(min-max)	-	22.00 (0.00-110.00)	-
CRP (mg/dL) (min-max)	-	5.80 (0.00-87.90)	-
Missing teeth (min-max)	2.00 (0.00-20.00)	2.50 (0.00-18.00)	0.740
Stimulated sialometry (mL/min) (min-max)	2.00 (0.5-5.0)	1.65 (0.20-5.00)	0.110
Plaque Index (min-max)	0.58 (0-3.00)	0.75 (0.04-2.20)	^a 0.030
Periodontitis (%)	39 (56%)	46 (66%)	0.230
PD (mm) (min-max)	1.93 (1.29-4.42)	1.89 (1.3-3.17)	0.970
CAL (mm) (min-max)	2.01 (1.32-5.44)	2.09 (1.42-4.18)	0.610
BP (% sites) (min-max)	8.65 (0.00-38.00)	8.33 (0.00-47.00)	0.790
CS % sites (min-max)	0.00 (00.00-38.00)	0.00 (0.00-15.00)	0.740

‡

‡ Values are expressed as mean (\pm SD) for normal variables and median (min-max) for non-normal variables. Control: subjects without systemic lupus erythematosus or other rheumatic diseases SLE: systemic lupus erythematosus subjects, SLEDAI-2K: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2K, SDI: Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index for Systemic Lupus Erythematosus, PD: probing depth, CAL: clinical attachment loss, BP: sites with bleeding upon probing, CS: concomitant sites (with bleeding upon probing and PD \geq 4mm). Chi-square test and Mann Whitney test were used to analyze the statistical differences between the groups ($p < 0,05$).

^aStatistical significance difference when compared controls with SLE patients

Table 2 Correlation between SLE variables and periodontal parameters (rho values)

	PD mean (mm)	CAL mean (mm)	BP (% sites)	CS (% sites)	Missing teeth (number)
Age (years) mean (±SD)	0.194	^a 0.475	0.076	^a 0.277	^a 0.621
SLE duration (years)	^a 0.288	^a 0.350	0.076	^a 0.269	^a 0.326
Cumulative dose of					
corticoids	^a 0.276	0.220	0.172	^a 0.301	0.121
(mg/prednisone)					
SLEDAI-2K	0.136	0.168	-0.079	-0.008	-0.039
SDI	0.186	^a 0.257	0.073	0.115	^a 0.371
C3 (mg/dL) (±SD)	-0.054	-0.073	0.091	-0.003	0.011
C4 (mg/dL) (min-max)	0.037	0.018	0.031	0.053	0.027
CRP (mg/dL) (min-max)	0.079	0.078	-0.217	-0.077	-0.015

§

§ PD: probing depth, CAL: clinical attachment loss, BP: sites with bleeding upon probing, CS: concomitant sites (with bleeding upon probing and PD ≥ 4mm). SLEDAI-2K: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2K, SDI: Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index for Systemic Lupus Erythematosus. Spearman's correlation coefficient (rho values). ^aStatistically significant correlation (p<0.05).

Table 3 Correlation between salivary cytokines levels and periodontal, laboratorial and clinical parameters in SLE subjects (rho values)

	IL-2	IFN γ	TNF α	IL-4	IL-6	IL-10	IL-33	IL-17A	RANK	OPG	MMP2 TIMP2
PD mean (mm)	0.009	-0.009	-0.010	0.058	0.209	0.037	0.166	0.055	0.038	0.130	0.028
CAL mean (mm)	0.011	-0.015	0.053	0.054	0.195	0.033	0.171	0.107	-0.005	0.126	0.042
BP (% sites)	0.128	0.011	0.081	0.146	0.146	0.149	-0.116	0.166	-0.047	0.185	0.073
CS (% sites)	0.041	-0.023	0.066	0.118	0.118	0.088	0.035	0.118	-0.122	0.094	0.032
C3 (mg/dL)	-0.126	-0.141	-0.151	-0.092	-0.124	-0.087	-0.214	-0.106	-0.140	^a -0.261	-0.052
C4 (mg/dL)	-0.028	0.004	-0.008	0.004	-0.005	0.030	0.006	-0.084	-0.101	-0.107	-0.030
SLEDAI-2K	0.115	0.066	0.171	0.098	0.107	0.098	0.199	0.135	0.109	0.131	-0.022
SDI	-0.014	-0.014	0.051	0.022	0.171	0.006	-0.044	-0.026	0.046	0.134	0.148
Cumulative dose of corticoids (mg/prednisone)	-0.161	-0.177	-0.064	-0.143	0.069	-0.124	-0.158	0.017	-0.182	0.118	0.018

**

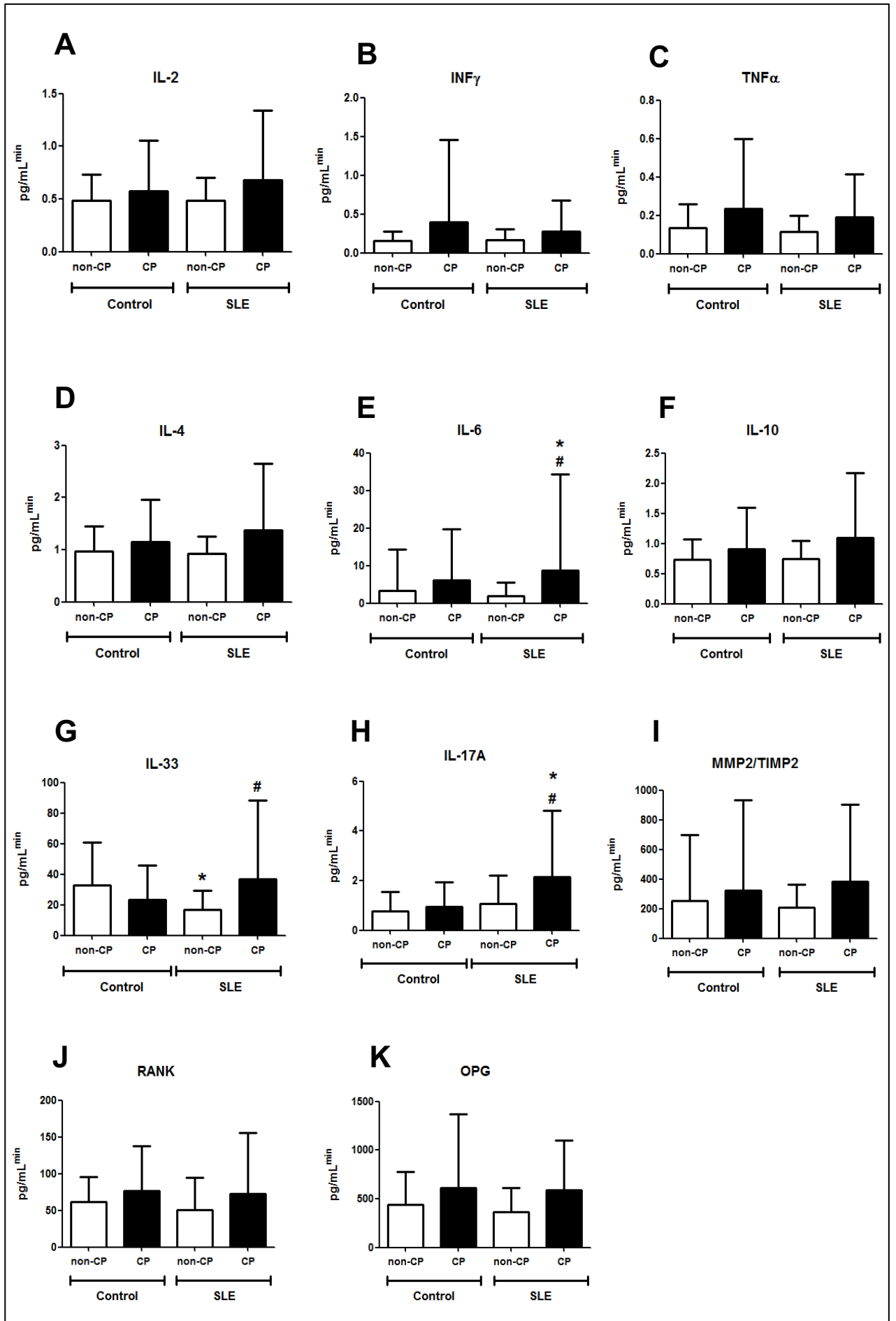
** Spearman's correlation coefficient (rho values). ^aStatistically significant correlation (p<0.05).

FIGURE LEGEND

Fig 1. Concentration of IL-2 (A), INF γ (B), TNF α (C), IL-4 (D), IL-6 (E), IL-10 (F), IL-33 (G), IL-17A (H), MMP2/TIMP2 (I), RANK (J) and OPG (K) in saliva of study subjects.

Control: subjects without systemic rheumatic diseases, *SLE:* systemic lupus erythematosus subjects, *Non-CP:* subjects without chronic periodontitis (CP), *CP:* subjects with CP.

#statistically different compared to non-CP subjects within the same group. *Statistically different compared to controls with the same periodontal condition. $p < 0.05$, Kruskal- Wallis and Mann-Whitney's test.



5 DISCUSSÃO

No presente estudo, os pacientes com LES e PC apresentaram concentrações salivares de IL-6 e IL-17 significativamente mais altas do que as apresentadas pelos seus respectivos controles (controle/PC e LES/sem PC). Observou-se uma correlação positiva entre os parâmetros de dano do LES (tempo de doença, dose acumulada de corticoides e SDI) e parâmetros periodontais (PS, CAL, SC e dentes perdidos). A dose acumulada de corticoides se correlacionou positivamente com a destruição dos tecidos periodontais, enquanto que o aumento nos níveis de IL-33 na saliva associou-se com maiores níveis de atividade do LES, após aplicação de modelos multivariados de regressão linear. Não houve diferença estatisticamente significativa quanto à frequência e gravidade da PC quando os grupos de pacientes com lúpus e sem lúpus foram comparados, no entanto a PC parece acometer de maneira mais precoce os pacientes com LES.

As citocinas exercem um importante papel na patogênese do LES, pois são capazes de primar o sistema imune (OHL; TENBROCK, 2011). Esse mecanismo pode ter contribuído para exacerbar a inflamação periodontal, fazendo com que os indivíduos com LES desenvolvessem a PC em idade inferior quando comparados aos indivíduos sem LES. Além disso, a inflamação crônica das estruturas periodontais tem potencial para produzir efeitos sistêmicos (FABBRI *et al.*, 2014; LINDEN; HERZBERG; WORKING GROUP 4 OF THE JOINT EFP/AAP WORKSHOP, 2013; SANZ; KORNMAN; WORKING GROUP 3 OF JOINT EFP/AAP WORKSHOP, 2013; TONETTI; VAN DYKE; WORKING GROUP 1 OF THE JOINT EFP/AAP WORKSHOP, 2013) que podem, por sua vez, contribuir para a manutenção do processo inflamatório, aumentando o dano provocado pelo LES.

Os pacientes com LES e PC apresentaram aumento dos níveis salivares de IL-17A. As células Th17 exercem papel central na patogênese das doenças auto-imunes, visto que a IL-17 amplifica a resposta imune no LES ao contribuir para o aumento da produção dos anticorpos pelos linfócitos B que, por sua vez após a inflamação sistêmica, favorecem o dano de órgãos alvo (LI *et al.*, 2015). Níveis plasmáticos aumentados de IL-17A também se correlacionaram positivamente com o SLEDAI e com um prognóstico desfavorável para nefrite lúpica (OHL; TENBROCK, 2011). Desta forma, a IL-17A tem emergido como um potencial alvo terapêutico no tratamento do LES (LI *et al.*, 2015). A concentração elevada de IL-17A encontrada

na saliva dos pacientes com LES e PC sugere o periodonto como uma possível estrutura alvo do LES, visto que outros estudos também detectaram altas concentrações de IL-17A em órgãos já considerados alvo do LES, como é o caso do sistema nervoso central, da pele e do rim (LU *et al.*, 2010; TANASESCU *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2010). A IL-17A também possui importante função na patogênese da PC, interferindo, principalmente, na osteoclastogênese e no recrutamento de neutrófilos para os sítos com inflamação periodontal (ZENOBIA; HAJISHENGALLIS, 2015).

Os pacientes com LES e PC também apresentaram aumento dos níveis salivares de IL-6. A IL-6 participa do processo de diferenciação das células T naïve em células Th17 e promove a ativação e/ou diferenciação de macrófagos, neutrófilos, células T e células B envolvidos no processo de autoimunidade sistêmica característico do LES (JACOB; STOHL, 2011). Níveis elevados de IL-6 foram identificados no soro de pacientes com LES e se correlacionam positivamente com o SLEDAI (CHUN *et al.*, 2007). Além de seus efeitos sistêmicos, a IL-6 medeia a inflamação local que ocorre na nefrite (ESPOSITO *et al.*, 2009), complicações cardiopulmonares (FURUYA; SATOH; KUWANA, 2010), problemas neuropsiquiátricos (FRAGOSO-LOYO *et al.*, 2013) e danos articulares associados ao LES (BALL *et al.*, 2014). Conseqüentemente, a IL-6 pode ser considerada um elo entre a doença sistêmica (LES) e a inflamação local (PC), além de um marcador em potencial da presença de inflamação periodontal no LES. De fato, a IL-6 é uma molécula chave para a reabsorção óssea alveolar e destruição de tecido conjuntivo (NIBALI *et al.*, 2012), sendo que indivíduos com PC apresentam níveis mais elevados de IL-6 no soro, saliva e CGF quando comparados a controles periodontalmente saudáveis (KOBAYASHI; YOSHIE, 2015).

No presente estudo, a presença de PC nos pacientes com LES aumentou a concentração salivar de IL-33 em relação ao grupo de pacientes com LES/sem PC. Embora estudos experimentais tenham apontado que a IL-33 está envolvida na inflamação periodontal (KÖSEOĞLU *et al.*, 2015; MALCOLM *et al.*, 2015), estudos clínicos não obtiveram êxito em comprovar que pacientes com periodontite apresentavam concentrações aumentadas de IL-33 no CGF, saliva ou soro (BUDUNELI; ÖZÇAKA; NALBANTSOY, 2012; SAĞLAM *et al.*, 2016). Além disso, ainda não está claramente definido qual é o papel da IL-33 na patogênese do LES (WANG, SONG *et al.*, 2012). Um estudo concluiu que pacientes com LES e

voluntários saudáveis apresentaram concentrações similares de IL-33 no soro (MOK et al., 2010). Em contrapartida, outro estudo encontrou que a concentração sérica de IL-33 estava significativamente aumentada em pacientes com LES quando comparados à controles saudáveis (YANG *et al.*, 2011). Além disso, apesar dos níveis séricos de IL-33 em pacientes com LES terem se correlacionado com marcadores inflamatórios como VHS e PCR, não foi encontrada associação entre os níveis séricos dessa citocina e o SLEDAI desses pacientes, sugerindo que a IL-33 possa estar relacionada com a resposta inflamatória aguda no LES, mas não consegue refletir a progressão completa do LES quantificada pelo SLEDAI (YANG *et al.*, 2011).

Neste estudo, o grupo de pacientes portadores de LES já estava em tratamento por um tempo médio de 11,29 (± 7.55) anos, sendo que a grande maioria deles não apresentava alta atividade do LES no momento da coleta dos dados da pesquisa, SLEDAI-2K > 10 (n=11, 15,7%). Isso poderia justificar a presença de níveis reduzidos de IL-33 na saliva dos pacientes com LES e PC que participaram do estudo. No entanto, após a análise multivariada, verificou-se que os níveis salivares de IL-33 correlacionaram-se, exclusivamente, com o SLEDAI-2K, sugerindo que a atividade do LES possa ter interferido na concentração salivar de IL-33 e que esta citocina possa ser um elo entre LES e PC. As outras variáveis que fizeram parte do modelo da IL-33 (idade, presença de PC, PS média, CAL médio, média de dentes perdidos e dose acumulada de corticoide) apresentaram $p < 0,20$ na análise bivariada, mas não se correlacionaram com os níveis salivares de IL-33 no modelo multivariado.

Os outros modelos multivariados construídos para IL-6 (variáveis incluídas: presença de PC, PS média, CAL médio, média de dentes perdidos, SLICC e PCR) e IL-17A (variáveis incluídas: presença de PC, índice de placa, PCR e % sítios SS) não mostraram associação entre a concentração dessas citocinas na saliva e as variáveis dos modelos criados.

Os níveis salivares das outras citocinas analisadas (IL-2, INF- γ , TNF- α , IL-4, IL-10, MMP2/TIMP2, RANK e OPG) não apresentaram diferença estatisticamente significantes entre os grupos de pacientes com LES e sem LES. Resultados contraditórios foram encontrados quando níveis de IFN- γ , IL-10, IL-17, IL-1 β e IL-4 foram dosados na saliva de pacientes lúpicos com e sem PC (MARQUES *et al.*, 2016). Esse último estudo não só não conseguiu identificar diferença significativa

entre as concentrações salivares de IL-17, como também não encontrou diferenças entre os níveis salivares de IL-4, IL-10 e IFN- γ (MARQUES *et al.*, 2016).

A frequência e gravidade da PC foram semelhantes nos grupos com LES e controle, validando estudos que também não encontraram diferenças entre alguns parâmetros de gravidade periodontal quando grupos de pacientes com LES foram comparados a controles saudáveis (AL-MUTAIRI *et al.*, 2015; CALDERARO *et al.*, 2017; FIGUEREDO *et al.*, 2008; KOBAYASHI *et al.*, 2003, 2007). No entanto, alguns estudos identificaram parâmetros periodontais menos graves (FIGUEREDO *et al.*, 2008; KOBAYASHI *et al.*, 2003, 2007; MARQUES *et al.*, 2016) ou mais graves no grupo de pacientes com LES (FERNANDES *et al.*, 2007; KOBAYASHI *et al.*, 2003, 2007; WANG, CHEN-YING *et al.*, 2015). Neste trabalho, a frequência de PC entre os pacientes com LES foi alta (66%), mas não foi significativamente maior do que a prevalência de PC no grupo controle (56%). A literatura científica não é conclusiva a respeito da prevalência de PC no LES, pois os trabalhos publicados possuem prevalências diversas. A variabilidade na prevalência de PC pode ser atribuída a problemas metodológicos, como a aplicação de diferentes critérios para o diagnóstico de PC e viés no recrutamento de amostras (CALDERARO *et al.*, 2016; EKE *et al.*, 2012).

É interessante ressaltar que 90% do grupo de pacientes com LES foi composto por mulheres, reforçando os dados da literatura que identifica que essa doença acomete mais indivíduos do gênero feminino (NAKASHIMA *et al.*, 2011; VILAR; RODRIGUES; SATO, 2003). Pudemos observar também que a média de idade dos pacientes com PC no grupo com LES foi menor do que a encontrada no grupo de pacientes sem LES, sugerindo que o desenvolvimento da PC possa ter sido antecipado pela atividade do LES ou mesmo pelo efeito de seu tratamento, conforme já foi discutido em trabalho anterior (CALDERARO *et al.*, 2017). Sabe-se que os pacientes portadores de LES possuem alto risco para infecções, devido ao uso frequente de medicamentos imunossupressores e menor resistência do hospedeiro (YOUSSEF; NOVOSAD; WINTHROP, 2016). Portanto, acredita-se que a terapia de longo prazo com corticóides possa ter contribuído para antecipar o aparecimento da PC, assim como para um maior comprometimento periodontal desses pacientes, uma vez que os corticoides reduzem a resposta imunológica necessária para controle dos patógenos periodontais. Assim, o aumento da carga bacteriana periodontopatogênica e, até mesmo, a simples disbiose da microbiota

subgingival podem ter sido responsáveis pelo maior dano das estruturas periodontais em idade mais precoce (CORRÊA *et al.*, 2017; JENTSCH; MÄRZ; KRÜGER, 2013). O presente trabalho sustenta essa hipótese, visto que identificou, através de análise multivariada, associação entre a dose acumulada de corticoides e o dano periodontal. Para tal foi construído um modelo multivariado para cada parâmetro clínico de avaliação periodontal utilizado na pesquisa (PS média, CAL médio, % sítios SS, % sítios SC) e para média de dentes perdidos. Nessa análise, cada parâmetro periodontal foi incluído no modelo multivariado juntamente com às variáveis relacionadas com o LES que apresentaram $p < 0,20$ na análise bivariada (Idade, tempo de diagnóstico, SLEDAI-2K, SLICC, PCR, C3, C4, dose acumulada de corticoide).

Esse é o primeiro estudo que analisou a associação entre os níveis de citocinas na saliva de pacientes com LES e sua relação com o status periodontal e parâmetros de atividade e dano do LES. É importante considerar ainda que os pacientes com LES manifestaram a PC em idade menor do que os indivíduos sem LES e que o número de dentes perdidos se correlacionou positivamente com a piores parâmetros periodontais, sugerindo que a PC possa ter contribuído para perda dental precoce dos pacientes com LES. Essa hipótese é reforçada pelo fato de que, dentre os pacientes excluídos do estudo, 31% deles foram excluídos por terem menos de oito dentes em boca (CALDERARO *et al.*, 2017; CORRÊA *et al.*, 2017). É claro que não se pode afirmar que a perda dentária desta amostra esteja relacionada, exclusivamente, com a atividade da PC, mas também não se pode deixar de considerar sua possível interferência. Curiosamente, a perda de inserção periodontal média e a média de dentes perdidos também se correlacionaram com o aumento do índice de dano causado pelo LES, sugerindo que o dano periodontal possa ser considerado uma complicação agravada pela presença do LES. Desta forma, aconselha-se que indivíduos diagnosticados com LES sejam encaminhados para avaliação e tratamento periodontais imediatamente após o diagnóstico.

Os resultados desse estudo devem ser avaliados com cautela em função de suas possíveis limitações. Dentre elas, cabe considerar aquelas relativas ao tipo de desenho de estudo utilizado, transversal com comparação entre dois grupos, que não permite conclusões definitivas sobre causalidade entre PC e LES. É preciso considerar ainda que a população incluída foi selecionada por conveniência, visto que o cálculo amostral previu uma amostra extremamente grande e que superava

muito o número total de pacientes atendidos no Ambulatório de Reumatologia do HC-UFMG. Outra limitação do estudo abrange algumas características da amostra de pacientes com LES, que apresentava longo tempo de doença, baixo SLEDAI-2K (mediana de 4) e maior frequência de dano acumulado, já que metade dos pacientes apresentou SDI maior do que 1. Entretanto, é importante reforçar que, apesar das limitações do estudo, a amostra avaliada reflete as características de uma população de pacientes com LES que recebe assistência em serviços universitários especializados em Reumatologia.

A realização de estudos longitudinais, em que pacientes com diagnóstico recente de LES sejam monitorados quanto à condição periodontal e níveis de citocinas salivares poderá fornecer informações sobre a progressão da PC associada ao LES e os biomarcadores envolvidos nesse processo. Para tal é preciso estar atento às questões éticas desse tipo de estudo, visto que, uma vez diagnosticada, a PC deve ser tratada. Desta forma os estudos de intervenção, envolvendo tratamento periodontal dos pacientes com LES e PC poderia contribuir para o melhor entendimento da interface entre essas duas doenças e seus biomarcadores salivares.

6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo sugerem que na amostra avaliada:

1. A presença de PC associou-se com o aumento das concentrações salivares das citocinas IL-6, IL-17A e IL-33 nos pacientes com LES, o que pode indicar uma amplificação das vias pró-inflamatórias nos pacientes portadores das duas doenças.
2. As concentrações das citocinas dosadas na saliva dos pacientes com LES não se correlacionaram com seus parâmetros de destruição periodontal e nem com o dano, atividade e características de tratamento do LES.
3. O maior tempo de duração do LES associou-se a piores parâmetros de atividade e dano da PC.
4. O maior dano causado pelo LES ou por seu tratamento associou-se a piores parâmetros de dano periodontal.
5. Terapias prolongadas com corticoides contribuem para maior dano periodontal em pacientes com LES.

REFERÊNCIAS

Abdel Galil, S. M.; Ezzeldin, N.; El-Boshy, M. E. The role of serum IL-17 and IL-6 as biomarkers of disease activity and predictors of remission in patients with lupus nephritis. **Cytokine**, Philadelphia, v. 76, n. 2, p. 280-287, Dec. 2015.

Abou Ghanima, A. T.; Abou Ghanima, A. T.; Elolemy, G. G.; Ganeb, S. S.; Abo Elazem, A. A.; Abdelgawad, E. R. Role of T helper 17 cells in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. **Egypt J Immunol.**, Cairo, v. 19, n. 2, p. 25-33, s.m. 2012.

Albandar, J. M.; Rams T. E. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 29, n. 1, p. 7-10, June. 2002.

Albilal, J. B.; Lam, D. K.; Clokie, C. M. L.; Sándor, G. K. B. Systemic lupus erythematosus: a review for dentists. **J Can Dent Assoc**, Ottawa, v. 73, n. 9, p. 823-828, Nov. 2007.

Al-Mutairi, K.; Al-Zahrani, M.; Bahlas, S.; Kayal, R.; Zawawi, K. Periodontal findings in systemic lupus erythematosus patients and healthy controls. **Saudi Med J**, Riyadh, v. 36, n. 4, p. 463-468, s.m. 2015.

Andrukhov, O.; Ulm, C.; Reischl, H.; Nguyen, P. Q.; Matejka, M.; Rausch-Fan, X. Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load. **J Periodontol**, Chicago, v. 82, n. 6, p. 885-892, June. 2011.

Armitage, G. C. Development of a classification system for Periodontal Disease. **Ann Periodontol**, Chicago, v. 4, n. 1, p. 1-6, Dec. 1999.

Avrămescu, C.; Biciușcă, V.; Dăianu, T.; Turculeanu, A.; Bălășoiu, M.; Popescu, S. N. *et al.* Cytokine panel and histopathological aspects in the systemic lupus erythematosus. **Rom J Morphol Embryol**, Bucuresti, v. 51, n. 4, p. 633-640, Nov. 2010.

Bae, S. C.; Koh, H. K.; Chang, D. K.; Kim, M. H.; Park, J. K.; Kim, S. Reliability and validity of systemic lupus activity measure-revised (SLAM-R) for measuring clinical disease activity in systemic lupus erythematosus. **Lupus**, London, v. 10, n. 6, p. 405-409, June. 2001.

Ball, E. M. A.; Gibson, D. S.; Bell, A. L.; Rooney, M. R. Plasma IL-6 levels correlate

with clinical and ultrasound measures of arthritis in patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, London, v. 23, n. 6, p. 46-56, Jan. 2014.

Barksby, H. E.; Lea, S. R.; Preshaw, P. M.; Taylor, J. J. The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. **Clin Exp Immunol**, Oxford, v. 149, n. 2, p. 217-225, Aug. 2007.

Barr, S. G.; Zonana-Nacach, A.; Magder, L. S.; Petri, M. Patterns of disease activity in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, Hoboken, v. 42, n. 12, p. 2682-2688, Dec. 1999.

Beklen, A.; Ainola, M.; Sorsa, T.; Konttinen, Y. T. MMPs, IL-1, and TNF are regulated by IL-17 in periodontitis. **J Dent Res**, Thousand Oaks, v. 86, n. 4, p. 347-351, Apr. 2007.

Belibasakis, G. N.; Johansson, A.; Wang, Y.; Chen, C.; Lagergård, T.; Kalfas, S. *et al.* Cytokine responses of human gingival fibroblasts to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* cytolethal distending toxin. **Cytokine**, Oxford, v. 30, n. 2, p. 56-63, Apr. 2005.

Berglundh, T.; Donati, M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 32, n. s6, p. 87-107, Oct. 2007.

Bombardier, C.; Gladman, D. D.; Urowitz, M. B.; Caron, D.; Chang, C.H. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. **Arthritis Rheum**, Hoboken, v. 35, n. 6, p. 630, June. 2007.

Bonfá, A. C.; Seguro, L. P. C.; Caparbo, V.; Bonfá, E.; Pereira, R. M. R. RANKL and OPG gene polymorphisms: associations with vertebral fractures and bone mineral density in premenopausal systemic lupus erythematosus. **Osteoporos Int**, London, v. 26, n. 5, p. 1563-1571, 630, May. 2015.

Borrell, L. N.; Papapanou, P. N. Analytical epidemiology of periodontitis. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 32, Suppl. 6, p. 132-158, Oct. 2005.

Buduneli, N.; Kinane, D.F. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 38, Suppl. 11, p. 85-105, Mar. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: resultados principais**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

Buduneli, N.; Özçaka, Ö.; Nalbantsoy, A. Interleukin-33 levels in gingival crevicular fluid, saliva, or plasma do not differentiate chronic periodontitis. **J Periodontol**, Chicago, v. 83, n. 3, p. 362-368, Mar. 2012.

Calderaro, D. C.; Ferreira, G. A.; Corrêa, J. D.; Mendonça, S. M. S.; Silva, T. A.; Costa, F. O. *et al.* Is chronic periodontitis premature in systemic lupus erythematosus patients? **Clin Rheumatol**, Heidelberg, v. 36, n. 3, p. 713-118, Mar. 2017.

Calderaro, D. C.; Ferreira, G. A.; de Mendonça, S. M. S.; Corrêa, J. D.; Santos, F. X.; Sanção, J. G. C. *et al.* Is there an association between systemic lupus erythematosus and periodontal disease? **Rev Bras Reumatol Engl Ed**, Rio de Janeiro, v. 56, n. 3, p. 280-284, May-June. 2016.

Cavalcanti, A.; Santos, R.; Mesquita, Z.; Duarte, A. L. B. P.; Lucena-Silva, N. Cytokine profile in childhood-onset systemic lupus erythematosus: a cross-sectional and longitudinal study. **Braz J Med Biol Res**, São Paulo, v. 83, n. 4, p. 1-9, Apr. 2017.

Chang, Y. H.; Lin, I. L.; Tsay, G. J.; Yang, S. C.; Yang, T. P.; Ho, K. T. *et al.* Elevated circulatory MMP-2 and MMP-9 levels and activities in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. **Clin Biochem**, Tarrytown, v. 41, n. 12, p. 955-959, Aug. 2008.

Chiewchengchol, D.; Murphy, R.; Edwards, S. W.; Beresford, M. W. Mucocutaneous manifestations in juvenile-onset systemic lupus erythematosus: a review of literature. **Pediatr Rheumatol Online J**, London, v. 13, n. 1, p. 1-9, Jan. 2015.

Chun, H. Y.; Chung, J. W.; Kim, H. A.; Yun, J. M.; Jeon, J. Y.; Ye, Y. M. *et al.* Cytokine IL-6 and IL-10 as biomarkers in systemic lupus erythematosus. **J Clin Immunol**, Amsterdam, v. 27, n. 5, p. 461-466, Sep. 2007.

Corrêa, J. D.; Calderaro, D. C.; Ferreira, G. A.; Mendonça, S. M. S.; Fernandes, G. R.; Xiao, E. *et al.* Subgingival microbiota dysbiosis in systemic lupus erythematosus: association with periodontal status. **Microbiome**, London, v. 5, n. 34, p. 1-13, Mar. 2017.

Corrêa, J. D.; Madeira, M. F. M.; Resende, R. G.; Correia-Silva J de F.; Gomez, R. S.; de Souza, D. D. G. *et al.* Association between polymorphisms in interleukin-17A

and -17F genes and chronic periodontal disease. **Mediators Inflamm**, Sylvania, v. 2012, s.n., p. 1-9, Dec. 2012.

Costa, P. P.; Trevisan, G. L.; Macedo, G. O.; Palioto, D. B.; Souza, S. L. S.; Grisi, M. F. M. *et al.* Salivary Interleukin-6, Matrix Metalloproteinase-8, and Osteoprotegerin in Patients With Periodontitis and Diabetes. **J Periodontol**, Chicago, v. 81, n. 3, p. 384-391, Mar. 2010.

D'Aiuto, F.; Nibali, L.; Parkar, M.; Suvan, J.; Tonetti, M. S. Short-term Effects of Intensive Periodontal Therapy on Serum Inflammatory Markers and Cholesterol. **J Dent Res**, Thousand Oaks, v. 84, n. 3, p. 269-273, Mar. 2005.

D'Aiuto, F.; Parkar, M.; Andreou, G.; Suvan, J.; Brett, P. M.; Ready, D. *et al.* Periodontitis and Systemic Inflammation: Control of the Local Infection is Associated with a Reduction in Serum Inflammatory Markers. **J Dent Res**, Thousand Oaks, v. 84, n. 2, p. 156-160, Feb. 2004.

D'Cruz, D. P.; Khamashta, M. A.; Hughes, G. R. Systemic lupus erythematosus. **Lancet**, London, v. 369, n. 9561, p. 587-596, Feb 17. 2007

Cordero da Luz, F. A.; Lima Oliveira, A. P.; Borges D., Cristina Brígido, P., Barbosa Silva, M. J. The physiopathological role of IL-33: new highlights in bone biology and a proposed role in periodontal disease. **Mediators Inflamm**, Sylvania, v. 2014, n. 2014 Article ID 342410, 8 pages, Feb. 2014,

Dean, G. S.; Tyrrell-Price, J.; Crawley, E.; Isenberg, D. A. Cytokines and systemic lupus erythematosus. **Ann Rheum Dis**, London, v. 59, n. 4, p. 243-251, Apr. 2000.

Dema, B.; Charles, N. Advances in mechanisms of systemic lupus erythematosus. **Discov Med**, Timonium, v. 17, n. 95, p. 247-255, May. 2014.

De Lima, C. L.; Acevedo, A. C.; Grisi, D. C.; Taba, M.; Guerra, E.; De Luca Canto, G. Host-derived salivary biomarkers in diagnosing periodontal disease: systematic review and meta-analysis. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 43, n. 6, p. 492-502, June. 2016.

Di Benedetto, A.; Gigante, I.; Colucci, S.; Grano, M. Periodontal disease: linking the primary inflammation to bone loss. **Clin Dev Immunol**, Cario, v. 2013, Article ID 503754, 7 pages, May. 2013.

Domeier, P. P.; Chodisetti, S. B.; Soni, C.; Schell, S. L.; Elias, M. J.; Wong, E. B. *et al.* IFN- γ receptor and STAT1 signaling in B cells are central to spontaneous germinal center formation and autoimmunity. **J Exp Med**, New York, v. 2, n. 213(5), p. 715-732, May. 2016.

Dong, G.; Ye, R.; Shi, W.; Liu, S.; Wang, T.; Yang, X. *et al.* IL-17 induces autoantibody overproduction and peripheral blood mononuclear cell overexpression of IL-6 in lupus nephritis patients. **Chin Med J (Eng)**, Beijing, v. 116, n. 4, p. 543-548, Apr. 2003.

Fabbri, C.; Fuller, R.; Bonfá, E.; Guedes, L. K. N.; D'Alleva, P. S. R.; Borba, E. F. Periodontitis treatment improves systemic lupus erythematosus response to immunosuppressive therapy. **Clin Rheumatol**, Heidelberg, v. 33, n. 4, p. 505–509, Apr. 2014.

Eke, P. I.; Page, R. C.; Wei, L.; Thornton-Evans, G.; Genco, R. J. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. **J Periodontol**, Chicago, v. 83, n. 12, p. 1449–1454, Dec. 2012.

Erdemir, E. O.; Duran, I.; Haliloglu, S. Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-alpha in patients with chronic periodontitis. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 31, n. 2, p. 99–104, Feb. 2004.

Eskan, M. A.; Jotwani, R.; Abe, T.; Chmelar, J.; Lim, J. H.; Liang, S. *et al.* The leukocyte integrin antagonist Del-1 inhibits IL-17-mediated inflammatory bone loss. **Nat Immunol**, New York, v. 13, n. 5, p. 465–73, Mar. 2004.

Esposito, P.; Balletta, M. M.; Procino, A.; Postiglione, L.; Memoli, B. Interleukin-6 release from peripheral mononuclear cells is associated to disease activity and treatment response in patients with lupus nephritis. **Lupus**, London, v. 18, n. 14, p. 1329-1330, Dec. 2009.

Fangtham, M.; Magder, L.; Petri, M. Oral candidiasis in systemic lupus erythematosus. **Lupus**, London, v. 23, n. 7, p. 684-690, Jun. 2014.

Fernandes, E. G. C.; Savioli, C.; Siqueira, J. T. T.; Silva, C. A. A. Oral health and the masticatory system in juvenile systemic lupus erythematosus. **Lupus**, London, v. 16, n. 9, p. 713-719, Sep. 2007.

Figueredo, C. M. S.; Areas, A.; Sztajn bok, F. R.; Miceli, V.; Miranda, L. A.; Fischer, R. G. *et al.* Higher elastase activity associated with lower IL-18 in GCF from juvenile

systemic lupus patients. **Oral Health Prev Dent**, New Malden, v. 16, n. 1, p. 75-81, 2008.

Ford, P. J.; Gamonal, J.; Seymour, G. J. Immunological differences and similarities between chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol.* 2000, Copenhagen, v. 53, n. 1, p. 111-123, June. 2010.

Fortuna, G.; Brennan, M. T. Systemic lupus erythematosus: epidemiology, pathophysiology, manifestations, and management. **Dent Clin North Am**, Philadelphia, v. 57, n. 4, p. 631-655, Oct. 2013.

Fossiez, F. T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. **J Exp Med**, New York, v. 183, n. 6, p. 2593–2603, June. 1996.

Fragoso-Loyo, H.; Atisha-Fregoso, Y.; Llorente, L.; Sanchez-Guerrero, J. Inflammatory profile in cerebrospinal fluid of patients with headache as a manifestation of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. **Rheumatology (Oxford)**, Oxford, v. 52, n. 12, p. 2218-2222, Dec. 2013.

Fujihashi, K.; Beagley, K. W.; Kono, Y.; Aicher, W.K.; Yamamoto, M.; DiFabio, S. *et al.* Gingival Mononuclear Cells From Chronic Inflammatory Periodontal Tissues Produce Interleukin (IL)-5 and IL-6 but Not IL-2 and IL-4. **Am J Pathol**, New York, v. 142, n. 4, p. 1239-1250, Apr. 1993.

Furie, R.; Petri, M.; Zamani, O.; Cervera, R.; Wallace, D. J.; Tegzová, D. *et al.* A phase III, randomized, placebo-controlled study of belimumab, a monoclonal antibody that inhibits B lymphocyte stimulator, in patients with systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, Hoboken, v. 63, n. 12, p. 3918-3930, Dec. 2011.

Furuya, Y.; Satoh, T.; Kuwana, M. Interleukin-6 as a Potential Therapeutic Target for Pulmonary Arterial Hypertension. **Int J Rheumatol**, New York, v. 2010, Article ID 720305, 8 pages, 2010.

Gao X, Jiang S, Koh D, Hsu C-YS. Salivary biomarkers for dental caries. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 79, n. 1, p. 128–141, Feb. 2016.

Geivelis, M.; Turner, D. W.; Pederson, E. D.; Lamberts, B. L. Measurements of interleukin-6 in gingival crevicular fluid from adults with destructive periodontal disease. **J Periodontol**, Chicago, v. 64, n. 10, p. 980–983, Oct. 1993.

Gladman, D. D.; Ginzler, E.; Goldsmith, C.; Fortin, P.; Liang, M.; Sanchez-Guerrero, J. *et al.* The development and initial validation of the systemic lupus international collaborating clinics/American college of rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, Hoboken, v. 39, n. 3, p. 363-369, Mar. 1996.

Gladman, D. D.; Ibañez, D.; Urowitz, M. B. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. **J Rheumatol**, Toronto, v. 29, n. 2, p. 288–291, Feb. 2002.

Griffiths, B.; Mosca, M.; Gordon, C. Assessment of patients with systemic lupus erythematosus and the use of lupus disease activity indices. **Best Pract Res Clin Rheumatol**, Amsterdam, v. 19, n. 5, p. 685–708, Oct. 2005.

Guerrini, M. M.; Takayanagi, H. The immune system, bone and RANKL. **Arch Biochem Biophys**, New York, v. 561, s.n., p. 118-123, Nov. 2014.

Guo, J.; Xiang, Y.; Peng, Y. F.; Huang, H. T.; Lan, Y.; Wei, Y. S. The association of novel IL-33 polymorphisms with sIL-33 and risk of systemic lupus erythematosus. **Mol Immunol**, Oxford, v. 77, n. 6, p. 1-7, Sep. 2016.

Harigai, M.; Kawamoto, M.; Hara, M.; Kubota, T.; Kamatani, N.; Miyasaka, N. Excessive production of IFN-gamma in patients with systemic lupus erythematosus and its contribution to induction of B lymphocyte stimulator/B cell-activating factor/TNF ligand superfamily-13B. **J Immunol.**, Bethesda, v. 181, n. 3, p. 2211-2219, Aug. 2008.

Isenberg, D. A.; Rahman, A.; Allen, E.; Farewell, V.; Akil, M.; Bruce, I. N. *et al.* BILAG 2004. Development and initial validation of an updated version of the British Isles Lupus Assessment Group's disease activity index for patients with systemic lupus erythematosus. **Rheumatology (Oxford)**, Oxford, v. 44, n. 7, p. 902-906, Jul. 2005.

Irwin, C. R.; Myrillas, T. T. The role of IL-6 in the pathogenesis of periodontal disease. **Oral Dis**, Copenhagen, v. 4, n. 1, p. 43–47, Mar. 1998.

Jacob, N.; Stohl, W. Cytokine disturbances in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Res Ther**, London, v. 13, n. 4, article ID: 228, Jul. 2011.

Jaedicke, K. M.; Preshaw, P. M.; Taylor, J. J. Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 70, n. 1, p. 164–183, Feb. 2016.

Jentsch, H. F. R.; März, D.; Krüger, M. The effects of stress hormones on growth of selected periodontitis related bacteria. **Anaerobe**, London, v. 24, s.n., p. 149-154, Dec. 2013.

Jeong, E.; Lee, J. Y.; Kim, S. J.; Choi, J. Predominant immunoreactivity of Porphyromonas gingivalis heat shock protein in autoimmune diseases. **J Periodontal Res**, Malden, v. 47, n. 6, p. 811–816, Dec. 2012.

Kantarci, A.; Oyaizu, K.; Dyke, T. E. Van. Neutrophil-Mediated Tissue Injury in Periodontal Disease Pathogenesis: Findings from Localized Aggressive Periodontitis. **J Periodontol**, Chicago, v. 74, n. 1, p. 66-75, Jan. 2003.

Khatibi, M.; Shakoormapour, A. H.; Jahromi, Z. M.; Ahmadzadeh, A. The prevalence of oral mucosal lesions and related factors in 188 patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, London, v. 21, n. 12, p. 1312-135, Oct. 2012.

Kinane, D. F.; Preshaw, P. M.; Loos, B. G. Host-response: understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions - Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 38, Suppl. 11, p. 44-48, Mar. 2011.

Korte, D. L.; Kinney, J. Personalized medicine: An update of salivary biomarkers for periodontal diseases. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 70, n. 1, p. 26-37, Feb. 2016.

Kobayashi, T.; Ito, S.; Yamamoto, K.; Hasegawa, H.; Sugita, N.; Kuroda, T. *et al.* Risk of periodontitis in systemic lupus erythematosus is associated with Fcγ receptor polymorphisms. **J Periodontol**, Chicago, v. 74, n. 3, p. 378-84, Mar. 2003.

Kobayashi, T.; Ito, S.; Yasuda, K.; Kuroda, T.; Yamamoto, K.; Sugita, N. *et al.* The combined genotypes of stimulatory and inhibitory Fcγ receptors associated with systemic lupus erythematosus and periodontitis in Japanese adults. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 3, p. 467-74, Mar. 2007

Kobayashi, T.; Yoshie, H. Host Responses in the Link Between Periodontitis and **Rheumatoid Arthritis**. *Curr Oral Health Rep*, Switzerland, v. 2, n. 1, p. 1-8, Dec. 2005.

Köseoğlu, S.; Hatipoğlu, M.; Sağlam, M.; Enhoş, Ş.; Esen, H. H. Interleukin-33 could play an important role in the pathogenesis of periodontitis. **J Periodontal Res**,

Malden, v. 50, n. 4, p. 525-34, Aug. 2015.

Kotake, S.; Udagawa, N.; Takahashi, N.; Matsuzaki, K.; Itoh, K.; Ishiyama, S. *et al.* IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. **J Clin Invest**, Ann Arbor, v. 103, n. 9, p. 1345–52, May. 1999.

Lee, Y. H; Wong, D. T. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. **Am J Dent**, San Antonio, v. 22, n. 4, p. 241–8, Aug. 2009.

Li, D.; Guo, B.; Wu, H.; Tan, L.; Chang, C.; Lu, Q. Interleukin-17 in systemic lupus erythematosus: A comprehensive review. **Autoimmunity**, Abingdon, v. 48, n. 6, p. 353–61, Aug. 2015.

Liang, M. H.; Socher, S. A.; Larson, M. G.; Schur, P. H. Reliability and validity of six systems for the clinical assessment of disease activity in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, Hoboken, v. 32, n. 9, p. 1107–18, Sep. 1989.

Lin, D.; Li, L.; Sun, Y.; Wang, W.; Wang, X.; Ye, Y. *et al.* IL-17 regulates the expressions of RANKL and OPG in human periodontal ligament cells via TRAF6/TBK1-JNK/NF- κ B pathways. **Immunology**. Oxford, v. 144, n. 3, p. 472-485, Sep. 2014.

Linden, G. J.; Herzberg, M. C.; working group 4 of the joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and systemic diseases: a record of discussions of working group 4 of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. **J Periodontol**, Chicago, v. 84 (4 Suppl), p. S20-3, Apr. 2013.

Lisnevskaja, L.; Murphy, G.; Isenberg, D. Seminar Systemic lupus erythematosus. **Lancet**, London, v. 384, n. 9957, p. 1878–88, May. 2014.

Lu, X. Y; Zhu, C. Q.; Qian, J.; Chen, X. X.; Ye, S.; Gu, Y. Y. Intrathecal cytokine and chemokine profiling in neuropsychiatric lupus or lupus complicated with central nervous system infection. **Lupus**, London, v. 19, n. 6, p. 689–95, May. 2010.

Luzina, I. G.; Keegan, A. D.; Heller, N. M.; Rook, G. A. W.; Shea-Donohue, T.; Atamas, S. P. Regulation of inflammation by interleukin-4: a review of “alternatives”. **J Leukoc Biol.**, Hoboken, v. 92, n. 4, p. 753–64, Oct. 2012.

Mahanonda, R.; Jitprasertwong, P.; Sa-Ard-lam, N.; Rerkyen, P.; Charatkulangkun, O.; Jansisanont, P. *et al.* Effects of IL-17 on human gingival fibroblasts. **J Dent Res**, Thousand Oaks, v. 87, n. 3, p. 267–72, Mar. 2008.

Malcolm J, Awang RA, Oliver-Bell J, Butcher JP, Campbell L, Adrados Planell A, *et al.* IL-33 Exacerbates Periodontal Disease through Induction of RANKL. **J Dent Res**, Thousand Oaks, v. 94, n. 7, p. 968–75, Jul. 2015.

Marcaccini, A. M.; Meschiari, C. A.; Zuardi, L. R.; de Sousa, T. S.; Taba, M.; Teofilo, J. M. *et al.* Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 37, n. 2, p. 180–90, Feb. 2010.

Marques, C. P. C.; Victor, E. C.; Franco, M. M.; Fernandes, J. M. C.; Maor, Y.; de Andrade, M. S. *et al.* Salivary levels of inflammatory cytokines and their association to periodontal disease in systemic lupus erythematosus patients. A case-control study. **Cytokine**, Oxford, v. 85, s.n., p. 165–70, Sep. 2016.

Miao, D.; Godovikova, V.; Qian, X.; Seshadrinathan, S.; Kapila, Y. L.; Fenno, J. C. Treponema denticola upregulates MMP-2 activation in periodontal ligament cells: interplay between epigenetics and periodontal infection. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 59, n. 10, p. 1056–64, Oct. 2014.

Miceli, V. C.; Braga, F.; Areas, A.; Figueiredo, C. M. S.; Sztajn bok, F.; Fischer, R. G. Condições clínicas e níveis de IL-1B em pacientes adolescentes com lúpus eritematoso sistêmico. **Revista Periodontia**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 4, p. 21–7, Dez. 2006.

Mohammadoo-khorasani, M.; Salimi, S.; Tabatabai, E.; Sandoughi, M.; Zakeri, Z.; Farajian-Mashhadi, F. Interleukin-1 β (IL-1 β) & IL-4 gene polymorphisms in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) & their association with susceptibility to SLE. **Indian J Med Res**, Mumbai, v. 143, n. 5, p. 591–6, May. 2016.

Mok, M. Y.; Huang, F. P.; Ip, W. K.; Lo, Y.; Wong, F. Y.; Chan, E. Y. T. *et al.* Serum levels of IL-33 and soluble ST2 and their association with disease activity in systemic lupus erythematosus. **Rheumatology (Oxford)**, Oxford, v. 49, n. 3, p. 520–7, Mar. 2010.

Mok, M. Y.; Wu, H. J.; Lo, Y.; Lau, C. S. The relation of interleukin 17 (IL-17) and IL-23 to Th1/Th2 cytokines and disease activity in systemic lupus erythematosus. **J Rheumatol**, Toronto, v. 37, n. 10, p. 2046–52, Oct. 2010.

Moreira, P. R.; Lima, P. M. A.; Sathler, K. O. B.; Imanishi, S. A. W.; Costa, J. E.; Gomez, R. S. *et al.* Interleukin-6 expression and gene polymorphism are associated

with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. **Clin Exp Immunol**, Oxford, v. 148, n. 1, p. 119–26, Apr. 2007.

Muñoz, L. E.; Janko, C.; Grossmayer, G. E.; Frey, B.; Voll, R. E.; Kern, P. *et al.* Remnants of secondarily necrotic cells fuel inflammation in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, Hoboken, v. 60, n. 6, p. 1733–42, Jun. 2009.

Nakashima, C. A. K.; Galhardo, A. P.; Silva, J. F. M.; Fiorenzano, G. R.; Santos, A. B. D. S.; Leite, M. F. S. *et al.* Incidência e aspectos clínico-laboratoriais do Lúpus eritematoso sistêmico em cidade do Sul do Brasil. **Rev Bras Reumatol**, São Paulo, v. 51, n. 3, p. 235–9, Jun. 2011.

Nibali, L.; Fedele, S.; D’Aiuto, F.; Donos, N. Interleukin-6 in oral diseases: a review. **Oral Dis**, Copenhagen, v. 18, n. 3, p. 236–43, Jun. 2012.

Oda, T.; Yoshie, H.; Yamazaki, K. Porphyromonas gingivalis antigen preferentially stimulates T cells to express IL-17 but not receptor activator of NF-kappaB ligand in vitro. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 10, n. 1, p. 30–6, Feb. 2003.

Okamoto, A.; Fujio, K.; Okamura, T.; Yamamoto, K. Regulatory t-cell-associated cytokines in systemic lupus erythematosus. **J Biomed Biotechnol**, Cairo, v. 2011, s.n., p. 463412, Dec. 2011.

Ohl, K.; Tenbrock, K. Inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus. **J Biomed Biotechnol**, Cairo, v. 2011, s.n., p. 432595, Oct. 2011.

Page, R. C.; Eke, P. I. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 7, p.1387–99, Jul. 2007.

Patil, C.; Rossa, C.; Kirkwood, K. L. Actinobacillus actinomycetemcomitans lipopolysaccharide induces interleukin-6 expression through multiple mitogen-activated protein kinase pathways in periodontal ligament fibroblasts. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 21, n. 6, p. 392–8, Dec. 2006.

Patil, P.; Patil, B. Saliva: A diagnostic biomarker of periodontal diseases. **J Indian Soc Periodontol**, Mumbai, v. 15, n. 4, p. 310–7, Oct. 2011.

Petri, M.; Hellmann, D.; Hochberg, M. Validity and reliability of lupus activity measures in the routine clinic setting. **J Rheumatol**, Toronto, v. 19, n. 1, p. 53–9, Jan. 1992.

Petri, M.; Orbai, A.; Alarcón, G. S.; Gordon, C.; Merrill, J. T.; Fortin, P. R. *et al.* Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, Hoboken, v. 64, n. 8, p. 2677–86, Aug. 2012.

Phillips, T. M.; Fadia, M.; Lea-Henry, T. N.; Smiles, J.; Walters, G. D.; Jiang, S. H. MMP2 and MMP9 associate with crescentic glomerulonephritis. **Clin Kidney J**. Oxford, v. 10, n. 2, p. 215–20, Apr. 2017.

Pihlstrom, B. L.; Michalowicz, B. S.; Johnson, N. W. Periodontal diseases. **Lancet**, London, v. 19, n. 366(9499), p. 1809–20, Nov. 2005.

Preshaw, P. M.; Taylor, J. J. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? **J Clin Periodontol**, London, v. 38, SUPPL. 11, p. 60–84, Mar. 2011.

Racz, G. Z.; Kadar, K.; Foldes, A.; Kallo, K.; Perczel-Kovach, K.; Keremi, B. *et al.* Immunomodulatory and potential therapeutic role of mesenchymal stem cells in periodontitis. **J Physiol Pharmacol**, Krakow, v. 65, n. 3, p. 327–39, Jun. 2014.

Rogers, J. E.; Li, F.; Coatney, D. D.; Rossa, C.; Bronson, P.; Krieder, J. M. *et al.* Actinobacillus actinomycetemcomitans lipopolysaccharide-mediated experimental bone loss model for aggressive periodontitis. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 3, p. 550–8, Mar. 2007.

Sağlam, M.; Köseoğlu, S.; Aral, C. A.; Savran L, Pekbağrıyanık T, Çetinkaya A. Increased levels of interleukin-33 in gingival crevicular fluids of patients with chronic periodontitis. **Odontology**, Tokyo, v. 105, n. 2, p. 184-190, Apr. 2017.

Sanz, M.; Kornman, K. Working group 3 of joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 40, SUPPL. 14, p. S164-9, Apr. 2013.

Sedger, L. M.; McDermott, M. F. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants - past, present and future. **Cytokine Growth Factor Rev**, Oxford, v. 25, n. 4, p. 453–72, Aug. 2014.

Shahrara, S.; Huang, Q.; Mandelin, A. M.; Pope, R. M. TH-17 cells in rheumatoid arthritis. **Arthritis Res Ther**, London, v. 10, n. 4, p. R93, Aug. 2008.

Shimada, Y.; Komatsu, Y.; Ikezawa-Suzuki I.; Tai, H.; Sugita, N.; Yoshie, H. The Effect of Periodontal Treatment on Serum Leptin, Interleukin-6, and C-Reactive Protein. **J Periodontol**, Chicago, v. 81, n. 8, p. 1118–23, Aug. 2010.

Socransky, S. S.; Smith, C.; Haffajee, A. D. Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 29, n. 3, p. 260–8, Mar. 2002.

Susin, C.; Haas, A. N.; Valle, P. M.; Oppermann, R. V.; Albandar, J. M. Prevalence and risk indicators for chronic periodontitis in adolescents and young adults in south Brazil. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 38, n. 4, p. 326–33, Apr. 2011.

Symmons, D. P.; Coppock, J. S.; Bacon, P. A.; Bresnihan, B.; Isenberg, D. A.; Maddison, P. *et al.* Development and assessment of a computerized index of clinical disease activity in systemic lupus erythematosus. Members of the British Isles Lupus Assessment Group (BILAG). **Q J Med**, Oxford, v. 69, n. 259, p. 927–37, Nov. 1988.

Su, D. L.; Lu, Z. M.; Shen, M. N.; Li, X.; Sun, L. Y. Roles of pro- and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of SLE. **J Biomed Biotechnol**, Cairo, v. 2012, n. 259, Article ID. 347141, Feb. 2012.

Takahashi, N.; Okui, T.; Tabeta, K.; Yamazaki, K. Effect of interleukin-17 on the expression of chemokines in gingival epithelial cells. **Eur J Oral Sci**, Chichester, v. 119, n. 5, p. 339–44, Oct. 2011.

Takahashi, K.; Takashiba, S.; Nagai, A.; Takigawa, M.; Myoukai, F.; Kurihara, H. *et al.* Assessment of Interleukin-6 in the Pathogenesis of Periodontal Disease. **J Periodontol**, Chicago, v. 65, n. 2, p. 147–53, Feb. 1994.

Talaat, R. M.; Mohamed, S. F.; Bassyouni, I. H.; Raouf, A. A. Th1/Th2/Th17/Treg cytokine imbalance in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: Correlation with disease activity. **Cytokine**, Oxford, v. 72, n. 2, p. 146–53, Apr. 2015.

Tanasescu, C.; Balanescu, E.; Balanescu, P.; Olteanu, R.; Badea, C.; Grancea, C. *et al.* IL-17 in cutaneous lupus erythematosus. **Eur J Intern Med**, Amsterdam, v. 21, n. 3, p. 202–7, Jun. 2010.

Taylor, J. J. Protein Biomarkers of Periodontitis in Saliva. **ISRN Inflamm**, New York, v. 2014, n. 2014, Article ID. 59315, Apr. 2014.

Taylor, J. J.; Preshaw, P. M. Gingival crevicular fluid and saliva. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 70, n. 1, p. 7–10, Feb. 2016.

Teles, R. P.; Likhari, V.; Socransky, S. S.; Haffajee, A. D. Salivary cytokine levels in subjects with chronic periodontitis and in periodontally healthy individuals: a cross-sectional study. **J Periodontal Res**, Malden, v. 44, n. 3, p. 411-7, Jun. 2009.

Tonetti, M. S.; D'Aiuto, F.; Nibali, L.; Donald, A.; Storry, C.; Parkar, M. *et al.* Treatment of periodontitis and endothelial function. **N Engl J Med**, Boston, v. 356, n. 9, p. 911–20, Mar. 2007.

Tonetti, M. S.; Van Dyke, T. E.; Working group 1 of the joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 40, Suppl. 14, p. S24-9, Apr. 2013.

Tsokos, G. C. Systemic Lupus Erythematosus. **N Engl J Med**, Boston, v. 365, n. 22, p. 2110–21, Dec. 2011.

Umare, V.; Nadkarni, A.; Nadkar, M.; Rajadhyksha, A.; Khadilkar, P.; Ghosh, K. *et al.* Do high sensitivity C-reactive protein and serum interleukin-6 levels correlate with disease activity in systemic lupus erythematosus patients? **J Postgrad Med**, Mumbai, v. 63, n. 2, p. 92-95, Jun. 2017.

Umbelino Júnior, A. A.; Cantisano, M. H.; Klumb, E. M.; Dias, E. P.; Silva, A. A. Achados bucais e laboratoriais em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. **J Bras Patol Med Lab**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 6, p. 479–86, Dez. 2010.

Uribe, A. G.; Vilá, L. M.; McGwin, G.; Sanchez, M. L.; Reveille, J. D.; Alarcón, G. S. The Systemic Lupus Activity Measure-revised, the Mexican Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI), and a modified SLEDAI-2K are adequate instruments to measure disease activity in systemic lupus erythematosus. **J Rheumatol**, Toronto, v. 31, n. 10, p. 1934–40, Oct. 2004.

Vilar, M. J. P.; Rodrigues, J. M.; Sato, E. I. Incidência de lúpus eritematoso sistêmico em Natal, RN - Brasil. **Rev Bras Reumatol**, São Paulo, v. 43, n. 6, p. 347–51, Dec. 2003.

Vincent, F. B.; Northcott, M.; Hoi, A.; Mackay, F.; Morand, E. F. Clinical associations of serum interleukin-17 in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Res Ther**, London, v. 15, n. 4, p. R97, Aug. 2003.

Vitali, C.; Bencivelli, W.; Isenberg, D. A.; Smolen, J. S.; Snaith, M. L.; Sciuto, M. *et al.* Disease activity in systemic lupus erythematosus: report of the Consensus Study Group of the European Workshop for Rheumatology Research. II. Identification of the variables indicative of disease activity and their use in the development of an activity SLE. The European Consensus Study Group for Disease Activity in SLE. **Clin Exp Rheumatol**, Pisa, v. 10, n. 5, p. 541–7, Sep-Oct. 1992.

Wang, C. Y.; Chyuan, I. T.; Wang, Y. L.; Kuo, M. Y. P.; Chang, C. W.; Wu, K. J. *et al.* β 2-Glycoprotein I-Dependent Anti-Cardiolipin Antibodies Associated With Periodontitis in Patients With Systemic Lupus Erythematosus. **J Periodontol**, Chicago, v. 86, n. 8, p. 995–1004, Aug. 2015.

Wang, Y.; Ito, S.; Chino, Y.; Goto, D.; Matsumoto, I.; Murata, H. *et al.* Laser microdissection-based analysis of cytokine balance in the kidneys of patients with lupus nephritis. **Clin Exp Immunol**, Oxford, v. 159, n. 1, p. 1–10, Jan. 2010.

Wang, S.; Ding, L.; Liu, S. S.; Wang, C.; Leng, R. X.; Chen, G. M. *et al.* IL-33: a potential therapeutic target in autoimmune diseases. **J Investig Med**, London, v. 60, n. 8, p. 1151–6, Dec. 2012.

Wong, C. K.; Ho, C. Y.; Li, E.; Lam, C. Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, London, v. 9, n. 8, p. 589-93, Oct. 2000.

Yamaji, Y.; Kubota, T.; Sasaguri, K.; Sato, S.; Suzuki, Y.; Kumada, H. *et al.* Inflammatory cytokine gene expression in human periodontal ligament fibroblasts stimulated with bacterial lipopolysaccharides. **Infect Immun**, Washington, v. 63, n. 9, p. 3576–81, Sep. 1995.

Yang, Z.; Liang, Y.; Xi, W.; Li, C.; Zhong, R. Association of increased serum IL-33 levels with clinical and laboratory characteristics of systemic lupus erythematosus in Chinese population. **Clin Exp Med**, Milano, v. 11, n. 2, p. 75–80, Jun. 2011.

Yao, Q.; Altman, R. D.; Wang, X. Systemic lupus erythematosus with Sjögren syndrome compared to systemic lupus erythematosus alone: a meta-analysis. **J Clin Rheumatol**, Philadelphia, v. 18, n. 1, p. 28–32, Jan. 2012.

Youssef, J.; Novosad, S. A.; Winthrop, K. L. Infection Risk and Safety of Corticosteroid Use. **Rheum Dis Clin North Am**, Philadelphia, v. 42, n. 1, p. 157–76, ix–x, Feb. 2016.

Yu, B.; Guan, M.; Peng, Y.; Shao, Y.; Zhang, C.; Yue, X. *et al.* Copy number variations of interleukin-17F, interleukin-21, and interleukin-22 are associated with systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, Hoboken, v. 63, n. 11, p. 3487–92, Nov. 2011.

Zenobia, C.; Hajishengallis, G. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 69, n. 1, p. 142–59, Oct. 2015.

Zhang, Q.; Chen, B.; Yan, F.; Guo, J.; Zhu, X.; Ma, S. *et al.* Interleukin-10 inhibits bone resorption: A potential therapeutic strategy in periodontitis and other bone loss diseases. **Biomed Res Int**, New York, v. 2014, n. 2014, Article ID. 284836, Feb. 2014.

Zhang, M.; Xu, W. D.; Zhu, Y.; Wen, P. F.; Leng, R. X.; Pan, H. F. *et al.* Serum levels of cytokines in systemic lupus erythematosus: Association study in a Chinese population. **Z Rheumatol**, Darmstadt, v. 73, n. 3, p. 277–80, Apr. 2014.

Zhang, Y.; Sun, J.; Lin, C. C.; Abemayor, E.; Wang, M. B.; Wong, D. T. W. The emerging landscape of salivary diagnostics. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 70, n. 1, p. 38–52, Feb. 2016.

**ANEXO A - Termo de consentimento livre e esclarecido
(lúpus eritematoso sistêmico)**

Estudo: Associações Clínicas e Imunológicas entre Periodontite e Lúpus Eritematoso Sistêmico

Nome: _____

Registro: _____ Data: _____

Você está sendo convidado a participar desse estudo, pois apresenta um reumatismo chamado lúpus eritematoso sistêmico (lúpus). O seu reumatismo é uma doença autoimune, em que o seu sistema imunológico, responsável por defendê-lo contra substâncias ou agentes estranhos, passa a funcionar mal e a atacar as substâncias e órgãos que pertencem a você. Sua doença tem períodos em que ela pode estar melhor (inativa), intercalados com períodos em que ela pode estar pior e provocar maiores alterações em diversas partes de seu organismo (atividade). O uso de diversos medicamentos pode ser necessário para o seu tratamento, que também inclui realização periódica de exames de sangue e urina, visitas regulares ao reumatologista e realização de exames de imagem, como radiografias, quando indicados. A avaliação da presença de atividade ou lesões crônicas (cicatrizes) de sua doença depende dos exames de sangue e da avaliação clínica do seu médico reumatologista, mas hoje há uma série de questionários que permitem uma melhor avaliação, tanto da atividade quanto da presença de lesões provocadas por seu reumatismo. A ocorrência de doença periodontal, que é uma doença da gengiva e das estruturas que sustentam os dentes, pode ser mais frequente em pacientes com o seu reumatismo. Quando ela não é tratada rapidamente, pode levar a infecções na boca e à perda de dentes. A doença periodontal decorre de uma infecção da gengiva e outras estruturas que mantêm o dente em boca e também envolve a alterações do sistema imunológico. Seu diagnóstico depende da avaliação feita por um dentista com realização de medidas clínicas que avaliam a localização dos dentes, a presença de alterações em sua fixação e a perda de dentes. Desejamos estudar, nos pacientes que como você, apresentam lúpus e fazem seu tratamento no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, a presença e a

gravidade da doença periodontal. Desejamos também avaliar se a doença periodontal tem algum efeito sobre o seu reumatismo.

Para realizar este estudo, você, em dia de consulta regular para o tratamento e acompanhamento do seu lúpus, será convidado a participar dele. Se você concordar em participar, será realizada uma consulta usual com médico reumatologista (no caso eu, Débora Cerqueira Calderaro, pesquisadora deste estudo), que incluirá seu exame clínico, conferência dos exames laboratoriais de seguimento usual, aplicação de questionários para avaliação de atividade da doença e encaminhamento para uma avaliação odontológica. Durante avaliação odontológica, será realizada avaliação bucal com objetivo de avaliar toda sua boca. Será coletado um pouco de sua saliva quando você mastigará uma borrachinha e recolherá sua saliva em um copinho. Também passaremos em suas bochechas escovinhas com objetivo de coletar o material que está sobre elas. Faremos ainda exame dos dentes e das gengivas. Finalizando, faremos a coleta de amostras de sangue. No sangue e na saliva serão medidas substâncias que regulam o sistema de defesa do organismo e se associam ao seu reumatismo e à doença periodontal e serão feitos exames para avaliara a possível influência de alterações genéticas sobre o seu reumatismo e/ou doença periodontal. Se você tiver a doença periodontal, você será encaminhado a ambulatório especializado para o tratamento. O tratamento de seu reumatismo sofrerá alterações apenas se necessário, conforme presença de atividade do mesmo e julgamento clínico de seu médico.

Os resultados do estudo serão divulgados através de apresentação em congressos ou publicação em revistas médicas ou odontológicas e sua identidade não será divulgada de forma alguma.

As vantagens de participar do estudo incluem a avaliação odontológica para pesquisa da doença periodontal, cujo tratamento vai contribuir para a melhoria da sua saúde bucal e pode ajudar no controle e na prevenção de lesões de seu reumatismo. Os exames que serão realizados podem ainda ajudar a entender melhor o seu reumatismo e suas possíveis causas.

A principal desvantagem de participar do estudo inclui os desconfortos associados à avaliação pelo dentista e a colher sangue. É importante que você entenda que sua participação no estudo é totalmente voluntária e, em qualquer momento, você pode solicitar que seja retirado dele. Caso você não concorde em participar dessa

pesquisa, ou quiser interrompê-la, não haverá nenhum prejuízo ao seu tratamento e acompanhamento, os quais continuarão a serem feitos normalmente.

Em caso de dúvidas ou se perceber alguma alteração diferente, você poderá fazer contato com a Dra. Débora Cerqueira Calderaro, médica reumatologista, no telefone 9164-9191, Dra. Santuza Mendonça (telefone 84499390) ou Dra. Joice Corrêa (92060343), cirurgiãs-dentistas.

Declaro que li e entendi o estudo acima descrito e, de livre e espontânea vontade, concordei em participar dele. Declaro ainda que todas as minhas dúvidas foram prontamente esclarecidas pelas pesquisadoras.

Belo Horizonte, ____ de _____ de _____.

Paciente

Testemunha

Pesquisadoras

ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido (controles)

Estudo: Associações Clínicas e Imunológicas entre Periodontite e Lúpus Eritematoso Sistêmico

Nome: _____

Registro: _____ Data: _____

O lúpus eritematoso sistêmico é uma doença autoimune que pode levar a uma série de alterações no organismo e tem tendência a acontecer mais frequentemente em uma mesma família. Ele decorre de um mal funcionamento no sistema de defesa do organismo, que começa a atacar várias partes do corpo. A doença periodontal é uma infecção na gengiva e nos tecidos que sustentam os dentes, que pode levar à perda de dentes, mas também a alterações do sistema de defesa do organismo semelhantes às que ocorrem no lúpus e em outros reumatismos. Algumas alterações genéticas podem associar-se tanto ao lúpus quanto à doença periodontal. Desejamos pesquisar, em pacientes com lúpus e com doença periodontal, as alterações no sistema de defesa do organismo e genéticas que podem ocorrer nas duas doenças e a influência de uma doença sobre a outra. Também desejamos avaliar pacientes com nenhuma das duas doenças para comparar os pacientes doentes com pessoas saudáveis e avaliar se as alterações que encontraremos são realmente devidas às doenças, que é o seu caso. Se você concordar em participar, você responderá a algumas perguntas sobre o seu estado de saúde, colherá uma amostra de sangue para realização de exames de inflamação no sangue e pesquisa de alterações genéticas, e será avaliado por um dentista experiente, que pesquisará a presença de doença periodontal. Durante avaliação odontológica, será realizada avaliação oral completa para detectar a presença de doença periodontal, e será coletada saliva, para realização de exames de inflamação. As vantagens de participar do estudo incluem a pesquisa de alterações que podem associar-se ao risco de desenvolvimento de lúpus sistêmico e o diagnóstico de doença periodontal. No caso desses diagnósticos, você será encaminhado para acompanhamento e tratamento. A principal desvantagem de participar do estudo inclui o desconforto de colher sangue, realizar o exame odontológico e a coleta de saliva. Os dados do estudo serão divulgados em congressos e revistas médicas e odontológicas, mas

sua identidade não será revelada em hipótese alguma. É importante que você entenda que sua participação no estudo é totalmente voluntária e, em qualquer momento, você pode solicitar que seja retirado dele. Se você não concordar em participar nessa pesquisa, ou optar em deixá-la, não haverá nenhum prejuízo à realização de tratamento e acompanhamento que venham a ser necessários. Em caso de qualquer dúvida ou se perceber alguma alteração diferente, você poderá fazer contato com a Dra. Débora Cerqueira Calderaro, médica reumatologista, no telefone 9164-9191, ou com a Dra. Santuza Maria S. de Mendonça, cirurgiã-dentista, no telefone 8449-9390.

Declaro que li e entendi o estudo acima descrito e, de livre e espontânea vontade, concordei em participar dele. Declaro ainda que todas as minhas dúvidas foram prontamente esclarecidas pelas pesquisadoras.

Belo Horizonte, ____ de _____ de _____.

Paciente

Testemunha

Pesquisador

ANEXO C - Protocolo médico de coleta de dados (lúpus eritematoso sistêmico)

Nome: _____

Registro: _____ Data: ___/___/___

Sexo: _____ Data de nascimento: ___/___/___ Idade: ___ anos

Escolaridade: _____ anos Cor: ___ B ___ P ___ N

Renda familiar média mensal: _____ salários – mínimos

Escovação: _____ vezes ao dia Uso de fio dental: _____ vezes ao dia

Endereço: _____

Telefone (s): (____) _____

Data do diagnóstico do LES: ___/___/___

Tempo de doença:

Critérios diagnósticos do LES Rash malar Rash discoide Fotossensibilidade Úlceras orais Artrite Serosite Alterações renais Alterações neurológicas Alterações hematológicas: _____ A _____ Leuc. _____ Linf. _____ Plaq. Alterações imunológicas:

_____ Anti-DNA _____ Anti-SM _____ ACL – IgG _____ ACL – IgM _____ AL _____ VDRL

 ANA _____**Comorbidades:**

_____ DM _____ HAS _____ Doença arterial coronariana _____ Hipotireoidismo

_____ Dislipidemia _____ Outras: _____

Manifestações no momento do estudo:

 Sim Não. Lesão cutânea ativa Sim Não. Serosite Sim Não. Vasculite cutânea Sim Não. Miocardite Sim Não. Nefrite Sim Não. Artrite Sim Não. Manif. SNC ativa Sim Não. Manif. hematológica**Hábitos:**

Tabagismo: ___ Atual ___ Prévio. _____ Anos-Maço. Interrupção: _____ anos/ meses

Etilismo: ___ Atual ___ Prévio. _____ Drinks/semana. Interrupção: _____ anos/ meses

Sorologias prévias: ____ Anti-Sm. ____ Anti-DNA. ____ Anti-Ro. ____ Anti-La.
 ____ Anti-RNP. ____ FR. ____ ACL-IgG: ____ . ____ AL. ____ ANCA.

Medicações em uso atual (doses):

Prednisona – () Sim () Não () Uso prévio Dose diária: _____mg Dose máxima: _____ Dose acumulada: _____	Antimalárico – ____ – Dose: ____ mg () Sim () Não () Uso prévio
Ciclofosfamida Dose: _____ mg () Sim () Não () Uso prévio	Ciclosporina Dose: _____ mg () Sim () Não () Uso prévio
Metotrexate Dose _____ mg () Sim () Não () Uso prévio	Azatioprina Dose: _____ mg () Sim () Não () Uso prévio
Carbonato de cálcio + Vitamina D3 Dose: _____ () Sim () Não () Uso prévio	Bisfosfonatos: _____ Dose: _____ mg () Sim () Não () Uso prévio
Mofetil Micofenolato Dose: _____ mg () Sim () Não () Uso prévio	

Exames recentes – Data: _____

Hb: ____ Ht: ____ VCM: ____ HCM: ____ LG: ____ S ____ L ____ M ____

E ____ Bast ____ Basóf ____ VHS: ____ PCR: ____ (VR: ____) C3: ____ (VR: ____)
 C4: ____ (VR: ____) Anti-DNA quantitativo: _____

Ureia: ____ Creat: ____ Glicemia: _____

EUR: Densidade: ____ Hemoglobina: ____ Proteínas: ____ Leucócitos: _____

Epit: ____ Piócitos: ____ .Hem: ____ .Cilindros: _____

Proteinúria de 24 h: _____ Clear.Creatinina: _____ (calculado/estimado)

Peso: _____ Kg Altura: _____ m IMC: _____

SLEDAI-2K

Peso	Score	Descrição
8		Convulsão
8		Psicose
8		Síndrome cerebral orgânica
8		Distúrbios visuais
8		Alteração de nervos cranianos
8		Cefaleia lúpica
8		Acidente cerebrovascular
8		Vasculite
4		Artrite
4		Miosite
4		Cilindros urinários
4		Hematúria
4		Proteinúria
4		Piúria
2		Rash
2		Alopécia
2		Úlceras mucosas
2		Pleurisia
2		Pericardite
2		Complemento baixo
2		Anti-DNA elevado
1		Febre
1		Trombocitopenia
1		Leucopenia
Total		

SDI

O dano deve iniciar-se a partir do início do lúpus sistêmico, ser confirmado por critérios clínicos e estar presente por pelo menos seis meses. A mesma lesão não pode ser pontuada duas vezes.

<p>1. Ocular (qualquer olho, avaliação clínica)</p> <p>Catarata</p> <p>Alteração retiniana ou atrofia do nervo óptico</p>	<p>1</p> <p>1</p>
<p>2. Neuropsiquiátrico</p> <p>Déficit cognitivo (ex. alteração de memória, dificuldade de calcular, concentração prejudicada, dificuldades de linguagem falada ou escrita, alteração da performance) ou psicose maior</p> <p>Convulsão com terapia por seis meses</p> <p>Acidente vascular cerebral (pontue 2 se > 1)</p> <p>Neuropatia periférica ou craniana (excluir óptica)</p> <p>Mielite transversa</p>	<p>1</p> <p>1</p> <p>1 (2)</p> <p>1</p> <p>1</p>
<p>3. Renal</p> <p>Taxa de filtração glomerular (estimada ou medida) < 50%</p> <p>Proteinúria ≥ 3,5 g/ 24 h</p> <p>OU</p> <p>Doença renal terminal (em hemodiálise ou com transplante renal)</p>	<p>1</p> <p>1</p> <p>3</p>
<p>4. Pulmonar</p> <p>Hipertensão pulmonar (Hiperfonese de B2 ou proeminência de ventrículo direito)</p> <p>Fibrose pulmonar (física ou radiográfica)</p> <p>Pulmão encolhido (radiografia)</p> <p>Fibrose pleural (radiografia)</p> <p>Infarto pulmonar (radiografia)</p>	<p>1</p> <p>1</p> <p>1</p> <p>1</p> <p>1</p>

5. Cardiovascular	
Angina ou revascularização coronária	1
Infarto do miocárdio (pontue 2 se > 1)	1 (2)
Cardiomiopatia (disfunção ventricular)	1
Doença valvular (sopro diastólico ou sopro sistólico > 3/6)	1
Pericardite por 6 meses ou pericardiectomia	1
6. Vascular periférico	
Claudicação por 6 meses	1
Perda tecidual mínima (polpa digital)	1
Perda tecidual significativa (perda de dedos ou membros). (Pontue 2 se > 1 local)	1 (2)
Trombose venosa com edema, ulceração ou estase	1
7. Gastrointestinal	
Infarto ou ressecção intestinal abaixo do duodeno, baço, fígado ou vesícula biliar por qualquer causa (pontue 2 se > 1 local)	1 (2)
Insuficiência mesentérica	1
Peritonite crônica	1
Estreitamento ou cirurgia no trato gastrintestinal superior	1
8. Musculoesquelético	
Atrofia ou fraqueza	1
Artrite erosiva ou deformante (incluir deformidades redutíveis; excluir necrose avascular)	1
Osteoporose com fraturas ou colapsos vertebrais (excluir necrose avascular)	1
Necrose avascular (pontue 2 se > 1 local)	1 (2)
Osteomielite	1
9. Pele	
Alopécia crônica cicatricial	1

Escarificação (ulceração) extensa ou paniculite em local diferente da polpa digital e do couro cabeludo	1
Ulceração cutânea (excluir trombose) por mais de 6 meses	1
10. Falência gonadal prematura	1
11. Diabetes (independente do tratamento)	1
12. Malignidade (excluir displasia) (pontue 2 se > 1 local)	1 (2)

ANEXO E - Formulário odontológico - exame bucal

Nome:	Registro:
Data:	No. na pesquisa:

AVALIAÇÃO DA XEROSTOMIA

Dificuldade na fonação devido boca seca? (escala 0-10)	()
Dificuldade de deglutição devido boca seca? (escala 0-10)	()
Relação de quantidade de saliva na boca (escala 0-10)	()
Relação de secura na garganta (escala 0-10)	()
Relação de secura dos lábios (escala 0-10)	()
Relação de secura da língua (escala 0-10)	()
Relação do nível de sede (escala de 0-10)	()

CARACTERIZAÇÃO DA SALIVA

Viscosidade	() viscosa	() fluida
Coloração	() presença de pigmento	() ausência de pigmento
Turbidez	() turva	() translúcida

SIALOMETRIA

Sialometria em repouso	Valor: _____ mL/minuto				
Sialometria sob estímulo	Valor: _____ mL/minuto				
Volume	() normal	() Hiposalivação leve	() Hiposalivação moderada	() Hiposalivação severa	() Sialorréia

AValiação PERIODONTAL**Índice de placa**

DENTE	SUPERFÍCIE	SCORE DA SUPERFÍCIE	SCORE DENTE	SCORE PACIENTE
16	Vestibular			
	Lingual			
	Mesial			
	Distal			
12	Vestibular			
	Lingual			
	Mesial			
	Distal			
24	Vestibular			
	Lingual			
	Mesial			
	Distal			
36	Vestibular			
	Lingual			
	Mesial			
	Distal			
32	Vestibular			
	Lingual			
	Mesial			
	Distal			
44	Vestibular			
	Lingual			
	Mesial			
	Distal			

Índice de Placa/Paciente: _____

**ANEXO F - Protocolo de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de Minas Gerais (COEP)**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**


Projeto: CAAE – 03128012.0.0000.5149

**Interessado(a): Profa. Gilda Aparecida Ferreira
Departamento de Aparelho Locomotor
Faculdade de Medicina – UFMG**

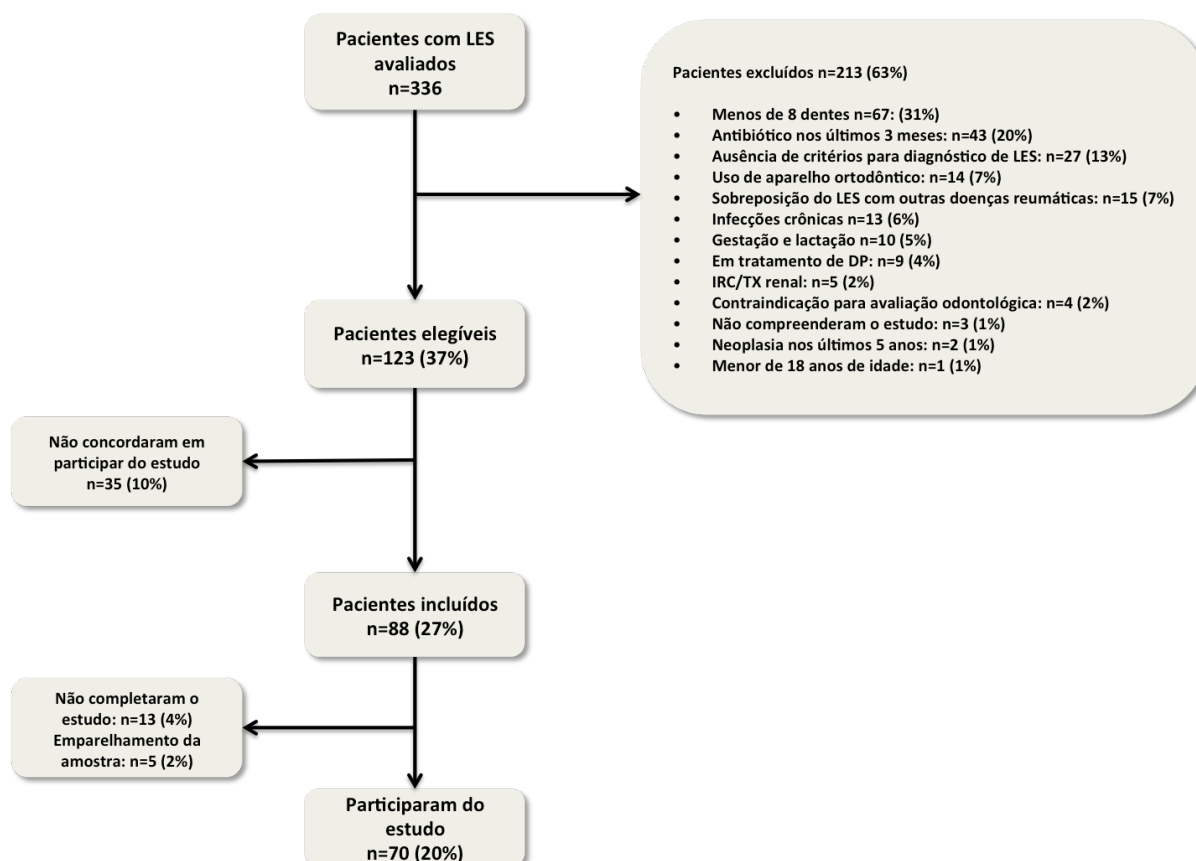
DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 22 de agosto de 2012, o projeto de pesquisa intitulado "**Doença periodontal e doenças reumáticas: avaliação de associações clínicas, imunológicas, genéticas e microbiológicas**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


**Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

ANEXO G - Fluxograma da seleção da amostra de pacientes com LES



DP: doença periodontal. IRC: insuficiência renal crônica. Tx renal: transplante renal. Critérios de classificação LES (PETRI et al., 2012). Infecções crônicas: hepatites B ou C, tuberculose, reações hansênicas. Contraindicações à avaliação odontológica: plaquetopenia grave, valvulopatia reumática.

Values are expressed as mean (\pm SD) for normal variables and median (min-max) for non-normal variables. Control: subjects without systemic lupus erythematosus or other rheumatic diseases SLE: systemic lupus erythematosus subjects, SLEDAI-2K: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2K, SDI: Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index for Systemic Lupus Erythematosus, PD: probing depth, CAL: clinical attachment loss, BP: sites with bleeding upon probing, CS: concomitant sites (with bleeding upon probing and $PD \geq 4\text{mm}$). Chi-square test and Mann Whitney test were used to analyze the statistical differences between the groups ($p < 0,05$).

*Statistical significance difference when compared controls with SLE patients

ANEXO H - Resultados complementares

Table 1 Demographic, laboratorial, clinical and periodontal characteristics of study subjects separated by periodontal condition.

	Control (n=70)		SLE (n=70)		P
	Non-PC (n=31)	PC (n=39)	Non-PC (n=24)	PC (n=46)	
Females	26 (83.87%)	30 (76.92%)	21 (87.5%)	42 (91.30)	0.098
Age (years) mean (\pm SD)	33.65 (\pm 12.82)	46.67* (\pm12.36)	32,29 (\pm 6.98)	40.09* (\pm10.09)	0.200*
Self-referred color (White/No White) (%)	14 (45.16%) 17 (54.84%)	16 (41.03%) 23 (58.97%)	8 (33.33%) 16 (66.67%)	11 (23.91%) 35 (76.09%)	0.051
Educational level (years of study) (min-max)	12.00 (4.00-17.00)	11.00 (0.00-17.00)	11.00 (4.00-18.00)	11.00 (3.00-18.50)	0.150
Income (minimum wage) (min-max)	4.00 (1.00-10.00)	3.00 (1.00-11.00)	2,75 (1.00-20.00)	3,00 (3.00-15.00)	0,110
Diabetes Mellitus (%)	0 (0%)	1 (1.4%)	0 (0%)	4 (5.7%)	0,370
Smokers (%)	1 (3.22)	6 (15.38%)	1 (4.16%)	6 (13.04%)	1,000
SLE duration (years)	-	-	8.59 (\pm 5.79)	12.69 (\pm 8.02)	0.030*
Cumulative dose of corticoid (mg/prednisone) (\pm SD)	-	-	30657.55 (\pm 17.737.57)	41438.08 (\pm 30345.01)	0.114
Current use of corticoids (%)	-	-	20 (83.33%)	38 (82.61)	0.930
Current use of antimalarial (%)	-	-	14 (58.33%)	29 (63.04)	0.700
Current use of immunosuppressant (%)	-	-	19 (79.16%)	36 (78.26%)	0.930
SLEDAI-2K (min-max)	-	-	2,00 (0.00-18.00)	4,00 (0,00-18,00)	0.231
SDI (min-max)	-	-	0,00 (0,00-4.00)	0,5 (0.00-3.00)	0.313
C3 (mg/dL) (\pm SD)	-	-	100.15 (\pm 27.60)	94.75 (\pm 26.68)	0.429
C4 (mg/dL) (min-max)	-	-	19.50 (4.00-44.00)	18,00 (5.00-57.10)	0.975
ESR (mm/h) (min-max)	-	-	18,00 (1.00-70.00)	22,00 (0,00-110.00)	0.284
CRP (mg/dL) (min-max)	-	-	6,00 (0.44-17.87)	5,25 (0.00-87.90)	0.729
Missing teeth (min-max)	1.00 (0.00-7.00)	4.00 (0.00-20.00)	1.00 (0.00-5.00)	4,00 (0.00-18.00)	0.740
Stimulated sialometry (mL/min) (min-max)	2.00 (0.80-5.00)	2.00 (0.50-5.00)	2.00 (1.00-4.00)	1,50 (0.20-5.00)	0.110
Plaque Index (min-max)	0.45* (0.00-1.06)	0.80 (0.05-3.00)	0.62* (0.21-1.50)	0.80 (0.04-2.20)	0.030*
Periodontitis (%)	31 (44.29%)	39 (55.71%)	24 (34.28%)	46 (65.71%)	0.230
PD (mm) (min-max)	1.65 (1.29-2,11)	2.15 (1.45-4.42)	1.69 (1.30-2.04)	2,05 (1.55-3.17)	0.970
CAL (mm) (min-max)	1.76 (1.32-2.37)	2.39 1.80-5.44	1.73 (1.42-2.23)	2,31 (1.61-4.18)	0.610
BP (% sites) (min-max)	4.50 (0.00-36.90)	13.33 (0,00-68.00)	6.75 (0.00-20.38)	11,50 (0.00-47.00)	0.790
CS % sites (min-max)	0.00 (0.00-2.00)	2.00 (0.00-38.00)	-	2.00 (0.00-15.00)	0.740

Table 2 Correlation between the activity and chronicity parameters of SLE and CP and the salivary levels of IL-33, multiple linear regression model ($R^2 = 0.95$).

Model	Unstandardized coefficients		Standardized coefficients			95.0% Confidence interval for B	
	B	Std. Error	Beta	t	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
1 (Constant)	15.848	7.201		2.201	0.301	1.478	30.218
SLEDAI-2K	2.800	1.047	0.308	2.674	0.009	0.711	4.890

Equation: $IL-33 = 15.848 + 2.800SLEDAI-2K$.

Table 3 Correlation between periodontal parameters and variables related to SLE, multiple linear regression model.

Models (Periodontal parameters)	Cumulative dose of corticoid (mg/prednisone)	
	R^2	p
PD (mm)	0,248	0,001
CAL (mm)	0,289	0,021
BP (% sites)	-	-
CS % sites	0,108	0,005
Missing teeth	-	-

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O DOUTORADO

Artigos completos publicados em periódicos

CORRÊA, J. D.; CALDERARO, D. C.; FERREIRA, G. A.; **MENDONÇA, S. M. S.**; FERNANDES, G. R.; XIAO, E.; TEIXEIRA, A. L.; LEYS, E. J.; GRAVES, D. T.; SILVA, T. A. Subgingival microbiota dysbiosis in systemic lupus erythematosus: association with periodontal status. *Microbiome JCR*, London, v. 5, p. 1-13, Mar. 2017. **Impact Factor: 9.000**

CALDERARO, D. C.; FERREIRA, G. A.; CORRÊA, J. D.; **MENDONÇA, S. M. S.**; SILVA, T. A.; COSTA, F. O.; TEIXEIRA, A. L. Is chronic periodontitis premature in systemic lupus erythematosus patients?. *Clinical Rheumatology JCR*, Brussels, v. 36, p. 713-718, Mar. 2016. **Impact Factor: 2.042**

CALDERARO, D. C.; FERREIRA, G. A.; **MENDONÇA, S. M. S.**; CORRÊA, J. D.; SANTOS, F. X.; SANÇÃO, J. G. C.; SILVA, T. A.; TEIXEIRA, A. L. Is there an association between systemic lupus erythematosus and periodontal disease?. *Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition)*, Rio de Janeiro, v. 56, p. 280-284, Mai-Jun. 2016. **Impact Factor: 1.087**

CORRÊA, J. D.; BRANCO, L. G. A; CALDERARO, D. C; **MENDONÇA, S. M. S.**; TRAVASSOS, D. V.; FERREIRA, G. A; TEIXEIRA, A. L.; ABREU, L. G.; SILVA, T. A. Impact of Systemic Lupus Erythematosus on Oral health-related quality of life. LUPUS (in press). **Impact Factor: 2.118**

Trabalhos apresentados em congressos

CALDERARO, D. C.; FERREIRA, G. A.; **MENDONÇA, S. M. S.**; CORREA, J. D.; SANTOS, F. X.; SANCAO, J. G. C.; SILVA, T. A.; TEIXEIRA, A. L. A doença periodontal apresenta associação com dano em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. 2014. (Apresentação de Trabalho/Congresso). XXXI Congresso Brasileiro de Reumatologia.

CORRÊA, J. D.; CALDERARO, D. C.; FERREIRA, G. A.; **MENDONÇA, S. M. S.**; XIAO, E.; TEIXEIRA, A. L. ; GRAVES, D. T. ; SILVA, T. A. Análise do microbioma oral na doença periodontal em pacientes portadores do lúpus eritematoso sistêmico. 2015. (Apresentação de Trabalho/Simpósio). II Simpósio de Microbiologia da UFMG – Microbiologia Translacional: Do ambiente natural às aplicações biotecnológicas.

CALDERARO, D.; FERREIRA, G.A.; **MENDONÇA, S.**; CORRÊA, J.D.; SILVA, T.A.; TEIXEIRA, A. Associations Between Systemic Lupus Erythematosus and Chronic Periodontitis - a Single-Centre Case-Control Study. *Annals of the Rheumatic Diseases JCR*, v. 74, p. 1087.1-1087, 2015.

CORRÊA, J. D.; CALDERARO, D. C.; FERREIRA; G. A.; **MENDONÇA, S. M. S.**; XIAO, E.; GRAVES, D. T.; TEIXEIRA, A. L.; SILVA, T. A. Clinical and microbiological findings of periodontal disease in patients with systemic lupus erythematosus. 2015.

(Apresentação de Trabalho/Conferência ou palestra). 2nd Penn Periodontal Conference for junior investigators.

MENDONÇA, S. M. S.; CALDERARO D. C.; CORRÊA, J. D.; FERREIRA, G. A.; TEIXEIRA JR, A. L.; SILVA, T. A. Concentrações salivares de citocinas e suas associações com periodontite crônica (PC) em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES). 2016. (Apresentação de Trabalho/Simpósio). XIII Encontro Científico da Faculdade de Odontologia – UFMG.

CORRÊA, J. D.; CERQUEIRA, D. C.; FERREIRA, G. A.; **MENDONÇA, S. M. S.**; SILVA, T. A. Análise do microbioma subgingival e da condição periodontal em pacientes portadores do lúpus eritematoso sistêmico. 2016. (Apresentação de Trabalho/Simpósio). XIII Encontro Científico da Faculdade de Odontologia – UFMG.

CORRÊA, J. D.; CALDERARO, D. C.; FERREIRA, G. A.; **MENDONÇA, S. M. S.**; ALBIERO, M. L.; TEIXEIRA, A. L.; GRAVES, D. T.; SILVA, T. A. Dysbiosis of subgingival microbiome and periodontal status in patients with rheumatoid arthritis. In: 33^a Reunião da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, 2016, Campinas. In: Anais da 33^a Reunião da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, 2016. v. 30. p. 1-793.

CORRÊA, J. D.; CALDERARO, D. C.; FERREIRA, G. A.; **MENDONÇA, S. M. S.**; XIAO, E.; TEIXEIRA, A. L.; LEYS, E. J.; SILVA, T. A.; GRAVES, D. T. Subgingival microbiome and periodontal condition in patients with systemic autoimmune diseases. In: IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition (95th), 2017. San Francisco.

MENDONÇA, S. M. S.; CORRÊA, J. D.; CALDERARO, D. C.; SOUZA, A. F FERREIRA, G. A.; TEIXEIRA, A. L. ; GRAVES, D. T. ; SILVA, T. A. Assinaturas imunológicas na saliva de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico: impacto do condição periodontal. In: 34^a Reunião da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, 2017, Campinas. Anais da 34^a Reunião da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, 2017. v. 31. p. 1-572.