

AVALIAÇÃO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO NA GENGIVITE CRÔNICA DE INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO FUMANTES

Assessment of inflammatory infiltrate in chronic gingivitis of smoker and non-smoker individuals

Giovanna Ribeiro Souto¹, Izabela Teodoro Amorim², Nayellen Narah Drummond Linhares², Rafael Henrique Bussular Lourenço², Ricardo Alves Mesquita³, Takeshi Kato Segundo³

Área de Imunologia

¹ Mestre, Departamento de Cirurgia e Patologia UFMG.

² Cirurgião dentista.

³ Doutor, Departamento de Cirurgia e Patologia UFMG.

Recebimento: 08/04/19 - Correção: 09/05/13 - Aceite: 05/06/13

RESUMO

O tabagismo tem sido considerado pela literatura um dos principais fatores de risco associado à doença periodontal. Substâncias como a nicotina podem afetar a vascularização, o sistema imunológico humoral e celular. Alterações no número de células inflamatórias podem ser observadas também em indivíduos com gengivite crônica. Neste estudo, foram avaliadas 27 amostras de tecidos gengivais que foram agrupadas em 10 amostras de indivíduos com gengivite e não fumantes (GNF), 10 amostras de indivíduos com gengivite e fumantes (GF) e 7 amostras controle (C) formada por indivíduos sem gengivite e não-fumantes. As biópsias foram coradas em hematoxilina-eosina e as células do infiltrado inflamatório foram contadas e expressas suas densidades em células/mm². O infiltrado inflamatório mononuclear foi maior no grupo GNF (137,60 ± 53,18) e GF (91,70 ± 42,59) quando comparado com o grupo C (12,43 ± 4,24), (p=0,0001 e p=0,002 respectivamente). Quando os grupos com gengivite foram comparados, observou-se um menor número de células inflamatórias no grupo GF (p=0,04). Conclui-se que o infiltrado inflamatório aumenta no tecido gengival de indivíduos com gengivite crônica, porém, em indivíduos fumantes, observa-se diminuição dessas células.

UNITERMOS: doença periodontal, gengivite, inflamação, tabaco. R Periodontia 2013; 23:11-15.

INTRODUÇÃO

A gengivite crônica é uma resposta inflamatória do tecido à presença de biofilme. É uma condição reversível e não acarreta perda de inserção, a saúde gengival é novamente retomada após efetivo controle deste biofilme. Clinicamente, a gengiva inflamada caracteriza-se por uma alteração na cor, tornando-se mais vermelha, com presença de edema e sangramento à sondagem. Histologicamente, observa-se um aumento da permeabilidade vascular, com exudação de proteínas plasmáticas, aumento da migração celular de neutrófilos, linfócitos e na doença crônica maior presença de plasmócitos (Page *et al.*, 1997). A gengivite precede a periodontite, mas a evolução da doença somente ocorrerá em indivíduos susceptíveis (Papapanou, 1996).

Imunologicamente, observa-se que a presença do biofilme bacteriano e seus metabólitos induzem a uma

resposta imune do tipo Th1 com aumento das moléculas de adesão celulares, proliferação de linfócitos T, aumento da expressão de MHC, produção de collagenases e ativação de macrófagos (Berglundh & Donati, 2005, Kinane & Bartold, 2007). Esta resposta imunológica pode ser alterada por diversos fatores, entre eles o uso do tabaco.

O tabagismo tem sido um dos principais fatores de risco associados à doença periodontal crônica. No entanto, a colonização da microbiota supragengival e o acúmulo de placa não são essencialmente influenciados pelo fumo (Silveira *et al.*, 2011). A associação entre o tabaco e a doença periodontal também foi baseada nos efeitos potenciais das substâncias relacionadas ao tabaco, como a nicotina, o monóxido de carbono e o cianeto de hidrogênio (César-Neto *et al.*, 2006). Estas substâncias podem afetar a vascularização, o sistema imunológico humoral e celular e ainda exerce influência na produção de citocinas e expressão

das moléculas de adesão (Gelskey, 1999; Palmer *et al.*, 1999; Kinane & Chestnutt, 2000).

É entendido agora que a resposta imune está intimamente relacionada na patogênese da doença periodontal e é modulada por vários fatores relacionados ao hospedeiro, tanto intrínsecos quanto induzidos (Page *et al.*, 1997 e Taubman *et al.*, 2007). A avaliação da composição e da natureza do infiltrado inflamatório tem sido muito abordada pelos pesquisadores que desejam entender o processo inflamatório periodontal (Ohlrich *et al.*, 2009).

A fim de avaliar o efeito do hábito de fumar, um importante fator de risco para a doença periodontal, este estudo tem como objetivo quantificar e comparar o número de células presentes no infiltrado inflamatório de amostras gengivais de indivíduos com gengivite crônica fumantes e não fumantes e amostras controle.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro Universitário Newton Paiva, Belo Horizonte, Minas Gerais (CEP 227.215). Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, foram coletadas 27 biópsias de tecidos gengivais de indivíduos fumantes e não fumantes, com idade entre 18 e 40 anos de ambos os gêneros (Tabela 1).

Após sondagem clínica de todos os dentes presentes e análise de placa visível, foram incluídos no estudo indivíduos com gengivite crônica, caracterizada pela presença de

sangramento à sondagem em mais de 25% dos sítios presentes, inclusive no sítio onde foi removido a biópsia, além de ausência de profundidade de sondagem (PS) > 4 mm e perda de inserção clínica (PIC) > 3 mm (Armitage, 2004; López *et al.* 2005). As amostras de gengivas utilizadas como controle foram diagnosticadas como gengiva clinicamente saudável pela ausência de sangramento à sondagem, consequentemente ausência de placa bacteriana visível, PS > 4 mm e PIC > 3 mm. Foi neste sítio que se realizou a remoção da biópsia. Foram excluídos do estudo indivíduos com alterações sistêmicas como hipertensão, diabetes não controlada e outras que contra indicassem naquele momento o tratamento cirúrgico. Os fragmentos gengivais com gengivite crônica foram removidos durante exodontias com indicações protética ou ortodôntica, de uma clínica particular de Belo Horizonte. Os fragmentos gengivais do grupo controle foram obtidos durante acerto de tecido mole de exodontias do 3º molar totalmente incluso, na clínica de cirurgia do 8º período do curso de odontologia do Centro Universitário Newton Paiva. Os indivíduos com gengivite crônica foram categorizados em fumantes e não fumantes de acordo com os critérios de Tomar & Asma (2000).

Os fragmentos de tecido gengival removidos foram fixados em formol tamponado a 10%, encaminhados para o Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia da UFMG, onde foram processados e corados com hematoxilina-eosina (HE). Posteriormente, as lâminas foram fotografadas em microscópio acoplado a uma câmera fotográfica (Sistema

TABELA 1- CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA E DADOS PERIODONTAIS CLÍNICOS.

	Controle	Gengivite fumantes	Gengivite não fumantes
Idade	20*	22*	26*
(Mínimo - Máximo)	(18 - 25)	(19 - 35)	(18 - 40)
Gênero			
Masculino	3	4	5
Feminino	4	6	5
Sangramento à Sondagem (% sítios)	35,1‡	29,5‡	48,2‡
(Mínimo - Máximo)	(26,4 - 65,2)	(25,1 - 51,9)	(25,5 - 83,1)
Índice de placa	1,28‡	1,30‡	1,20‡

* mediana; ‡ média aritmética.

de imagens Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) e analisados com o programa Image Tool (version 3.0., Universidade Texas Health Science Center, San Antonio, TX) para contagem das células do infiltrado inflamatório. Os resultados foram expressos em médias e desvio padrão da densidade de células por mm². Para identificar a homogeneidade e distribuição das variáveis foi utilizado o teste Shapiro-Wilks. Deste modo, a análise estatística foi realizada utilizando o teste para comparação de médias de amostras independentes, *t-Student*, utilizando o programa BioEstat (version 4.0, PA, Belém, Pará, Brasil).

RESULTADOS

A amostra de indivíduos com gengivite crônica não fumantes (GNF) foi composta de 10 indivíduos. As amostras de indivíduos com gengivite crônica fumantes (GF) também foi composta de 10 indivíduos. O grupo controle (C) foi formado por sete indivíduos. Células inflamatórias foram observadas na região da lâmina própria logo abaixo ao epitélio do sulco gengival. Após identificação, estas células foram quantificadas e obtidas as densidades de células/mm².

O infiltrado inflamatório mononuclear foi maior no grupo com gengivite crônica (GF 91,70 ± 42,59 cel/mm² e GNF 137,60 ± 53,18 cel/mm²) do que no grupo C (12,43 ± 4,24 cel/mm²) ($p = 0,0001$ e $p = 0,002$ respectivamente). Quando os grupos com gengivite foram comparados, observou-se um menor número de células inflamatórias no grupo de indivíduos fumantes ($p = 0,04$) (Tabela 2).

DISCUSSÃO

No presente estudo, foi realizada uma comparação entre a densidade de células inflamatórias presentes na

lâmina própria de amostras gengivais com gengivite crônica de fumantes, não fumantes e controles. Observou-se uma menor densidade de células no grupo GF em comparação com o grupo GNF, e ambos os grupos apresentaram maior densidade de células inflamatórias quando comparadas com as amostras do grupo C. Esses resultados estão de acordo com outros estudos avaliando infiltrado inflamatório na doença periodontal (Albandar *et al.*, 2000; Bergstrom *et al.*, 2000; Haffajee & Socransky, 2001; Souto *et al.*, 2011).

A influência das substâncias presentes no cigarro sobre tecido periodontal tem sido objeto de estudo há vários anos. A nicotina, o monóxido de carbono e o cianeto de hidrogênio agem como vasoconstritores, causando isquemia dos tecidos, redução da resposta inflamatória e do reparo celular (A.A.P., 1996). A alta concentração de nicotina presente em fumo de mascar causa inibição da função defensiva dos neutrófilos e macrófagos, demonstrado por Pabst *et al.* (1995) em um estudo *in vitro*. Além disso, a nicotina também causa alterações nos osteoblastos e fibroblastos, estimulando os fibroblastos a produzirem citocinas pró-inflamatórias: IL-6 e IL-8 (A.A.P., 1996).

Em relação à resposta imunológica em fumantes, Persson *et al.*, (1999) concluíram em seu estudo que a influência de fumar nas atividades dos neutrófilos é limitada. Entretanto, alguns autores afirmam que o fumo pode interferir na quimiotaxia e fagocitose dos neutrófilos gengivais (Kinane & Bartold, 2007). Neste estudo, não foi avaliado a expressão de fatores quimiotáticos, citocinas ou de moléculas de adesão, o que pode ser visto como uma limitação. No entanto, foi avaliada a condição final, ou seja, a presença das células inflamatórias no tecido. Observando desta forma, um menor número de células nos indivíduos fumantes, em acordo com estes estudos citados anteriormente.

O fumo afeta a função tanto de linfócitos B quanto

TABELA 2 – COMPARAÇÃO ENTRE AS DENSIDADES MÉDIAS DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO DAS AMOSTRAS DOS GRUPOS DE GENGIVITE CRÔNICA DE FUMANTE, NÃO FUMANTES E GRUPO CONTROLE.

	Controle	Gengivite fumantes	Gengivite não fumantes
Número de casos	7	10	10
Mediana (Mínimo - Máximo)	13.00 (7.00 - 19.00)	84.50 (41.00 - 174.00)	131.50 (67.00 - 254.00)
Média Aritmética (Desvio- Padrão)	12.43 (± 4.24)*‡	91.70 (± 42.59)	137.60 (± 53.18)

*Comparação entre controles (C) e gengivite não-fumante (GNF) Teste *t-Student* $p=0,002$;

‡Comparação entre C e gengivite fumante (GF) Teste *t-Student* $p=0,0001$;

†Comparação entre GF e GNF Teste *t-Student* $p=0,04$.

de linfócitos T, induzindo a não resposta funcional nos linfócitos T. Além disso, o fumo reduz a maioria das classes de imunoglobulinas, exceto IgE e inibe as citocinas pró-inflamatórias (Baurbour *et al.*, 1997; Quinn *et al.*, 1998). Souto *et al.* (2011) observaram que há uma variação quantitativa de células de Langerhans e células do infiltrado inflamatório de indivíduos fumantes com gengivite crônica. O que pode influenciar a eficácia da resposta imune nestes indivíduos. Como no presente estudo, somente uma avaliação quantitativa de linfócitos e neutrófilos foi realizada, a efetividade da resposta imune local poderia estar relacionado ao menor número de células presentes, porém, seria preciso uma avaliação mais detalhada incluindo expressão de MHC, interleucinas e efetividade de imunoglobulinas para confirmar esta alteração da resposta imune.

Vários trabalhos observaram uma diminuição no sangramento gengival em indivíduos fumantes (Bergström *et al.*, 2000; Albandar *et al.*, 2000; Bergström e Boström, 2001). Além disso, Segundo (2002), em um estudo na comunidade negra dos Arturo's, observou a presença de sangramento gengival em 98.7% de indivíduos não fumantes e 95.2% em fumantes. Neste, estudo também foi observado menor porcentagem de sítios com sangramento nos indivíduos fumantes (29,5%) do que nos não fumantes (48,2%).

Os pacientes fumantes apresentaram uma menor redução na profundidade de sondagem, um menor ganho no nível de inserção e uma menor redução do sangramento gengival após os tratamentos de raspagem e alisamento radicular, cirurgia a retalho e cirurgia óssea ressectiva. Além disso, sugeriu-se que parar de fumar é um benefício para o paciente, visto que os ex-fumantes tiveram melhores respostas no tratamento periodontal que os fumantes (Kaldahl *et al.*, 1996; Renvert *et al.*, 1998; Scabbia *et al.*, 2001; Heasman *et al.*, 2006). No entanto, é importante salientar, que este estudo foi realizado somente em indivíduos com gengivite, sem PS > 4 mm e sem PIC > 3 mm. E que a gengivite é uma condição reversível, desde que haja um efetivo controle do biofilme dental. Embora exista uma influência do tabaco no reparo celular (AAP 1996), neste estudo somente o infiltrado inflamatório na gengivite foi avaliado, não podendo concluir sobre alguma alteração no reparo celular.

Desta forma, este estudo demonstrou que a placa bacteriana induz maior migração de células inflamatórias nos indivíduos diagnosticados clinicamente com gengivite crônica, quando comparamos com amostras de gengivas saudáveis. No entanto, podemos sugerir que esta migração de células foi inibida pelo consumo de cigarro, ao compararmos os indivíduos GF com GNF. Isto poderia explicar os achados da literatura que demonstram uma resposta inflamatória menos

eficaz observada nos indivíduos fumantes com gengivite crônica ou outras formas da doença periodontal.

Os autores declaram a inexistência de conflito de interesse e apoio financeiro relacionados ao presente artigo.

ABSTRACT

The smoking habit has been considered by the literature as one of the major risk factors associated to the periodontal diseases. Substances such as nicotine can affect the vascularization, the humoral and cellular immune system. Changes in the number of inflammatory cells can also be observed in patients with chronic gingivitis. In this study we have evaluated 27 samples of gingival tissues that were divided in three groups: the first one contained 10 samples from nonsmokers patients with gingivitis (GNF), the second contained 10 samples from smokers patients with gingivitis (GF) and the last group contained 07 control samples (C) of nonsmoker patients without gingivitis. The biopsies were stained with hematoxylin-eosin and the inflammatory cells were counted and showed the density in cells/mm². The mononuclear cell infiltration was higher in the GNF (137.60 ± 53.18) and GF (91.70 ± 42.59) when compared with group C (12.43 ± 4.24) ($p=0.0001$ e $p=0.002$ respectively). When groups with gingivitis were compared to each other, there was a smaller number of inflammatory cells in the group GF ($p=0.04$). We conclude that there is an increase of the inflammatory infiltrate in the gingival tissue of patients with chronic gingivitis, however, in smokers patients, there is a decrease of those cells.

UNITERMS: periodontal disease, gingivitis, inflammation, tobacco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol* 2000 1997; 14: 216-248.
- 2- Papapanou PN. Periodontal diseases: epidemiology. *Annals of Periodontology* 1996; 1: 1-36.
- 3- Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptative host response in periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32(Suppl.6): 87-107.
- 4- Kinane DF, Mark Bartold P. Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontol* 2000 2007; 43: 278-293.
- 5- Silveira VRS, Vasconcellos AA, Pequeno JHP, Vieira GHA, Rêgo ROCC. Avaliação da presença de cálculo subgingival em fumantes. *Rev. Periodontia* 2011; 21(2): 49-56.
- 6- César-Neto JB, Benati BB, Sallum EA, Casati MZ, Nociti JR. The influence of cigarette smoke inhalation and its cessation on the tooth-supporting alveolar bone: a histometric study in rats. *J Periodont Res* 2006; 41: 118-23.
- 7- Gelskey SC. Cigarette smoking and periodontitis: methodology to assess the strength of evidence in support of a causal association. *Comm Dent Oral Epidemiol* 1999; 27:16-24.
- 8- Palmer RM, Scott DA, Meekin TN, Wilson RF, Poston RN, Odell EW. Potential mechanisms of susceptibility to periodontitis in tobacco smoking. *J Periodontol Res* 1999; 34: 363-69.
- 9- Kinane DF, Chestnutt IG. Smoking and periodontal disease. *Crit Ver Oral Bio Med* 2000; 11: 356-65.
- 10- Taubman MA, Kawai T, Han X. The new concept of periodontal disease pathogenesis requires new and novel therapeutic strategies. *J Clin Periodontol* 2007; 34(5): 367-69.
- 11- Ohlrich EJ, Cullinan MP, Seymour GJ. The immunopathogenesis of periodontal disease. *Aust Dent J* 2009; 54(Suppl.1): 2-10.
- 12- Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal disease. *Periodontol* 2000 2004; 34: 9- 24.
- 13- López NJ, Da Silva I, Ipinza J, Gutiérrez J. Periodontal therapy reduces the rate of preterm low birth weight in women with pregnancy associated gingivitis. *J Periodontol* 2005; 76: 2144-2153.
- 14- Tomar SL, Asma S. Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. *J Periodontol* 2000; 71(5): 743-51.
- 15- Albandar JM, Streckfus CF, Adesanya MR, Winn DM. Cigar, pipe and cigarette smoking as risk factors Periodontal Disease and tooth loss. *J Periodontol* 2000 Dec; 21 (12): 1874-1881.
- 16- Bergström J, Eliasson S, Dock J. Exposure to tobacco smoking and periodontal health. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 61-68.
- 17- Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *J Periodontol* 2001; 28: 377.
- 18- Souto GR, Kato Segundo T, Costa FO, Aguiar MCF, Mesquita RA. Effect of smoking on Langerhans and dendritic cells in patients with chronic gingivitis. *J Periodontol* 2011; 82(4): 619-625.
- 19- AAP. Tobacco use and the periodontal patient. *J Periodontol* 1996; 67(1): 51-56.
- 20- Lindhe J, Thorkil K, Lang NP. *Tratado de Periodontia Clínica e Oimplantodontia Oral*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
- 21- Pabst MJ, Pabst KM, Collier JA, Coleman TC, Lemons-Prince ML, Godat MS et al. Inhibition of neutrophil and monocyte defensive functions by nicotine. *J Periodontol* 1995; 66: 1047-1055.
- 22- Persson L, Bergström, Gustafsson A, Asman B. Tobacco smoking and gingival neutrophil activity in young adults. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 512-517.
- 23- Carranza FA, Newman MG. *Periodontia Clínica*. 9ª ed. Guanabara Koogan; 2004.
- 24- Barbour SE, Nakashima K, Zhang JB. Tobacco and smoking environmental factors that modify the host response (immune system) and have on periodontal health. *Crit Ver Oral Bio* 1997; 8: 437-460.
- 25- Quinn SM, Zhang JB, Gunsolle JC, Schenkein HÁ, ew JG. Influence of smoking and race on adult periodontitis and serum Ig G2 levels. *J Periodontol* 1998; 69: 171-177.
- 26- Bergström J, Boström L. Tobacco smoking and periodontal hemorrhagic responsiveness. *J Clin Periodontol* 2001; 28(7): 680-685.
- 27- Segundo TK. *A doença periodontal na comunidade negra dos Arturo's, Contagem MG [Dissertação de mestrado em Periodontia]*. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Odontologia, 2002. 92p.
- 28- Kaldahl WB, Jonhson GK, Patil KD. Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1996; 67: 675.
- 29- Renvert S, Dahlen G, Wikstrom M. The clinical and microbiologic effects of non surgical periodontal therapy in smokers and nonsmokers. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 153.
- 30- Scabbia A, Cho KS, Sigurdsson TJ, Kim CK, Trombelli L et al. Cigarette smoking negatively affects healing response following flap debridement surgery. *J Periodontol* 2001; 72(1): 43-49.
- 31- Heasman L, Stacey F, Preshave PM, Mccracken GI, Hepburn S, Heasman PA. The effect of smoking on periodontal treatment response: a review of clinical evidence. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 241-253.

Endereço para correspondência:

Takeshi Kato Segundo

Av. Brasil, 283 – sala 1108 – Bairro Santa Efigênia

CEP: 30140-001 – Belo Horizonte – MG

Email: takeshisegundo@hotmail.com