

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

Efeito da Doença Periodontal no Transplante de Medula Óssea

RONALD HALLA JÚNIOR

Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Mariano da Rocha Silla

Tese de Doutorado

2009

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

Efeito da Doença Periodontal no Transplante de Medula Óssea

RONALD HALLA JÚNIOR

Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Mariano da Rocha Silla

**Tese apresentada para a obtenção do título de doutor
em Medicina: Ciências Médicas, no PPG em Medicina:
Ciências Médicas**

Tese de Doutorado

2009

Halla Júnior, Ronald

Efeito da Doença Periodontal no Transplante de Medula Óssea/Ronald Halla Júnior ; orient.Lúcia Mariano da Rocha Silla. – 2009.

156 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2009.

1. Mucosite Oral 2. Transplante 3. Célula Tronco Hematopoiética 4. Doença periodontal I. Silla, Lúcia Mariano da Rocha II. Título.

“Nunca ande pelo caminho traçado,
pois ele conduz somente
até onde os outros foram.”

(Graham Bell)

DEDICATÓRIA

À minha amada filha Laura, pelo sentimento de alegria, motivação, amor, crescimento e plenitude, que com sua “chegada ao mundo” foram desencadeados na
minha vida.

Aos pacientes participantes, motivo maior da realização deste estudo.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Lúcia Mariano da Rocha Silla, pela oportunidade e confiança depositada em mim, amizade, dedicação profissional além da orientação que corroborou para o aprimoramento desta tese e que certamente contribuiu para o meu crescimento pessoal e profissional.

Às enfermeiras Jaqueline Simon, Vânia Matte e Tatiana Gallego Aquino pela dedicada e eficiente avaliação clínica dos pacientes, aspecto fundamental no estudo.

Ao meu irmão Roger, meu grande amigo, pelo apoio nas horas difíceis.

À minha esposa Mariana Messias Rodrigues da Fonseca, pelo carinho, apoio, compreensão e dedicação ao longo dos últimos anos.

À Ingrid Mitto pela longa, dedicada, incansável, insubstituível e amigável contribuição na elaboração do banco de dados deste trabalho.

Aos colegas e amigos Júlio Maciel e Mário Queiróz pelo apoio logístico e motivacional, e a toda equipe de trabalho do serviço odontológico do HCPA.

À direção da Faculdade de Odontologia da UFRGS, pela cedência de suas estruturas para execução de parte dos exames clínicos, assim como a todos anotadores que colaboraram.

Ao Dr. Jomar Laurino, pela disponibilidade, competência e seriedade no planejamento e montagem da análise microbiológica do estudo.

À bióloga Fernanda Mosena Munari pela competente supervisão e execução da parte microbiológica e laboratorial do estudo.

Ao bolsista Pablo Vasconcelos pela dedicação e eficiência na execução da parte microbiológica e laboratorial do estudo.

À Daniela Benzano, por todo apoio na análise dos dados.

À amiga e veterinária Dulce Schuch pelo apoio, empenho, amizade e colaboração.

Aos médicos Alessandra Aparecida Paz, Gustavo Fischer e Rosane Isabel Bittencourt, pela colaboração.

Ao Fagner Sutel de Moura, funcionário da secretaria do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS, pela dedicação e competência na formatação da tese.

Ao meu sogro, Geraldo Pinto Rodrigues da Fonseca, pelo bom português.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão de mais esta etapa da minha vida.

Índice

I INTRODUÇÃO	16
II REVISÃO DA LITERATURA	19
O Sistema Hematopoético	19
Transplante de Células-tronco Hematopoéticas	24
Tipos de Transplante de Células-tronco Hematopoéticas	24
Antígenos maiores de histocompatibilidade	26
Antígenos menores de histocompatibilidade.....	28
Regimes de Condicionamento.....	30
Fontes de células-tronco hematopoéticas	32
Profilaxia farmacológica da DECH.....	34
Profilaxia da cavidade bucal	35
Complicações relacionadas ao TCTH	36
Complicações relacionadas ao condicionamento:	36
1. Mucosite.....	36
2. Neutropenia e infecções.....	41
3. Cistite Hemorrágica.....	45
Doença Periodontal	51
Definições	52
Classificação.....	53
Epidemiologia	57
Etiopatogenia.....	59
Patogenia	62

III OBJETIVOS:	76
Objetivo Principal:	76
Objetivos secundários:	76
Referências da revisão da literatura:	78
IV Artigos	102
Artigo em Português	103
Artigo em Inglês	127
V CONSIDERAÇÕES FINAIS	149
VI ANEXOS	152

LISTA DE ABREVIATURAS

TCTH: Transplante de Célula-Tronco Hematopoética

DECH: Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro

UFC: Unidade Formadora de Colônias

GEMM: Granulócito-eritróide-monócito-megacariócito

E: Eritrócito

MEG: Megacariócito

GM: Granulócito-monócito

EO: Eosinófilo

BA: basófilo

UFB: unidade formadora de inúmeras células

APC: Célula apresentadora de antígeno

NK: Células *Natural Killer*

HLA: Antígenos Leucocitários Humanos

NF-k: Fator nuclear kappa beta

IL-1: Interleucina 1

IL-6: Interleucina 6

TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa

TNF- β : Fator de necrose tumoral beta

PGE₂ – Prostaglandina E₂

DNA: Ácido desoxirribonucléico

MMPs: Metaloproteinases da matriz extracelular

LPS: Lipopolisacáride

BEAM: Citarabina, Carmustina, Etoposide e Melfalano

LLA: Leucemia Linfóide Aguda

LMC: Leucemia Mielóide Crônica

LMA: Leucemia Mielóide Aguda

CEB: Ciclofosfamida, Etoposide e Carmustina

TBI: Irradiação Corporal Total

Bu-CY: Bussulfan e Ciclofosfamida

Cy-TBI: Químio-radioterapia

WHO: World Health Organization

NCI: Instituto Nacional do Câncer do Estados unidos

HSV: *Herpes simplex vírus*

CMV: Citomegalovírus

CIBMT: *Center for International Blood and Marrow Transplant Research*

IFN - γ : Interferon- γ

IL-2: Interleucina 2

IL-5: Interleucina 5

IL- 10: Interleucina 10

IL-13: Interleucina 13

EVT:Efeito enxerto versus tumor

EUA: Estados Unidos da América

CPITN: Índice Periodontal Comunitário de Necessidades de Tratamento

cfu/ml: Unidades de colônias por mililitro

pb : Pares de base

TRM: Mortalidade relacionada ao transplante

MHC: Complexo maior de histocompatibilidade

MiHA: Antígeno menor de histocompatibilidade

SLD: Sobrevida livre de doença

SG: Sobrevida global

TGI: Trato gastrointestinal

MO: Medula óssea

PBSC: *Peripheral blood stem cells*

RIC: Condicionamentos de intensidade reduzida

CD: Células dendríticas

CSA: Ciclosporina A

MTX: Methotrexate

TCR: Receptores das células

NO: Óxido nítrico

cGy: Gray

PRD: Prednisona

MPRD: Metilprednisona

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Hematopoese. HSC, células-tronco hematopoéticas; HPC, células-tronco pluripotentes; CLP, células-progenitora linfóide; CMP, células-progenitora mielóide; UFC, unidade formadora de colônias; GEMM, granulócito-eritróide-monócito-megacariócito; E, eritrócito; MEG, megacariócito; GM, granulócito-monócito; EO, eosinófilo; BA, basófilo; UFB, unidade formadora de inúmeras células (13).....	21
Figura 2 - Desenho esquemático das fases da mucosite - modificado de (Sonis,2004 a,b) (66).....	38
Figura 3 – Desenho esquemático do processo de formação da bolsa periodontal em nível da união dento - gengival. Adaptado de (157).	64

LISTA DE TABELAS

Tabela1. 1 - Escala do grau de mucosite segundo WHO (1979)	40
Tabela1. 2	47
Tabela 1– Características gerais dos pacientes	121
Tabela 2 - Características gerais dos pacientes.....	122
Tabela 3 - Comportamento dos desfechos clínicos no pós transplante de acordo com a origem da célula tronco hematopoética.....	123
Tabela 4 – Características gerais e periodontais da amostra de acordo com a origem da célula tronco hematopoética.....	124
Tabela 5 – Comparação dos desfechos clínicos do pós transplante em relação à presença de atividade inflamatória periodontal, de acordo com a origem das células tronco utilizadas no TCTH.....	125
Tabela 6 - Regressão linear múltipla da relação entre a presença da atividade inflamatória periodontal e os dias de mucosite ajustado para TBI:	126
Table 1– General patient characteristics	144
Table 2 – Clinical outcomes after transplantation according to the origin of hematopoietic stem cells.	145
Table 3 – General and periodontal characteristics of the sample according to the origin of hematopoietic stem cells	146
Table 4 – Comparison of clinical outcomes after transplantation according to periodontal inflammation and origin of stem cells used in HSCT.....	147
Table 5 – Multiple linear regression for presence of periodontal inflammation and days with mucositis adjusted according to TBI.	148

RESUMO

No contexto atual dos centros de transplante de célula-tronco hematopoética (TCTH), as complicações precoces e tardias relacionadas ao transplante têm preocupado as equipes médicas, pois aumentam as taxas de morbi-mortalidade, elevando também os custos operacionais dos estabelecimentos de saúde. Neste sentido, a atenção dada as condições de saúde bucal dos pacientes que se submetem ao TCTH tem merecido nos últimos anos uma maior preocupação, embora ainda de uma maneira muito despadronizada, unidirecional e generalizada. Frente a evidência de que as condições intrabucais sofreriam modificações em função do protocolo do TCTH, a questão da influência da presença de infecções bucais nas complicações relacionadas ao TCTH recebeu maior atenção. Por conseguinte, iniciaram-se um número maior de investigações, direcionadas para o tipo e quantidade de infecção presente na cavidade oral.

Objetivo: neste contexto o presente estudo foi desenvolvido no sentido de avaliar, mais precisamente, o impacto da presença da atividade inflamatória periodontal, assim como a presença de reconhecidas bactérias associadas à infecção periodontal, nas complicações relacionadas ao TCTH.

Métodos: estudo prospectivo, observacional, em 105 pacientes candidatos ao TCTH autólogo e alogênico [condicionamento mieloablativo ou de intensidade reduzida (RIC)] do Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), sobre a presença da atividade inflamatória periodontal, definida por profundidade de sondagem e sangramento gengival, diagnosticada na avaliação bucal de rotina pré-transplante e sua relação com mucosite oral, neutropenia, dias de febre, pega e

Doença do Enxerto versus Hospedeiro (DECH) aguda. A associação foi aferida por ferramentas estatísticas uni e multivariadas, para $p \leq 0,05$.

Resultados: dos 91 pacientes com dados avaliáveis, 86,8% tinham atividade inflamatória periodontal (pelo menos um sítio com profundidade de sondagem ≥ 3 mm associada ao sangramento) e estavam igualmente distribuídos entre todas as modalidades de transplante. Devido ao fato que os desfechos avaliados foram superponíveis entre os grupos que receberam células-tronco de sangue periférico CTSP (autólogo e alogênico com RIC), as análises foram realizadas de acordo com a origem das células-tronco, com exceção da DECH aguda. A presença da atividade inflamatória periodontal aumentou significativamente os dias de mucosite nos pacientes submetidos ao TCTH com célula-tronco da medula óssea (MO) quando comparado ao TCTH de CTSP ($p = 0.023$), e este efeito permaneceu significativo ($p = 0.03$) mesmo quando controlado para o regime de condicionamento com Irradiação Corporal Total.

Conclusão: a presença da atividade inflamatória periodontal levou a um aumento significativo na duração da mucosite oral nos pacientes que receberam TCTH de MO. Estes achados devem ser confirmados em um grupo maior de pacientes.

I INTRODUÇÃO

O Transplante de Células-tronco Hematopoéticas (TCTH) tem sido a terapêutica de eleição para uma série de neoplasias hematológicas e de doenças benignas do sistema hematopoético. O TCTH consiste na transfusão de um concentrado de células-tronco obtido a partir da medula óssea, do sangue periférico ou do sangue do cordão umbilical, em um receptor cujo sistema imuno-hematopoético foi previamente destruído pela ação de drogas citotóxicas com ou sem a associação de radioterapia – procedimento conhecido como condicionamento. Em média e dependendo da modalidade do transplante (autólogo, alogênico aparentado ou não-aparentado) e da fonte de células-tronco (medula óssea, sangue periférico ou sangue do cordão umbilical), o receptor permanece de 14 a 21 dias em aplasia, ou seja, com diminuição acentuada ou ausência de produção de hemácias, leucócitos e plaquetas. Neste período ocorrem os efeitos resultantes do tipo de condicionamento, caracterizado por graus variados de mucosite (oral e do trato gastrintestinal) que, dependendo da gravidade, impede a ingestão da própria saliva e causa diarréias profusas. Nesta fase geralmente se inicia a hiperalimentação parenteral e a transfusão de grande quantidade de hemoderivados (concentrado de hemácias e plaquetas). A ausência de leucócitos, notadamente de neutrófilos, associada à mucosite e à presença de cateteres endovenosos de longa permanência, predispõe às infecções sistêmicas causadas por bactérias saprófitas residentes na boca, trato intestinal ou pele, respectivamente. Esta fase, na qual se administra antibacterianos de amplo espectro e doses profiláticas de drogas antivirais e antifúngicas se encerra com a pega do enxerto e a reconstituição imuno-hematológica, agora com as características (tipo sanguíneo e antígenos de histocompatibilidade) do doador. No TCTH alogênico, à pega segue-se

as reações resultantes das disparidades genéticas (geralmente de antígenos menores do complexo de histocompatibilidade) entre os linfócitos do doador e os tecidos (pele, mucosas e fígado) do receptor e, em cerca de 50% dos receptores, se estabelece a Doença do Enxerto contra o Hospedeiro (DECH) aguda (1-3), cuja gravidade determina a quantidade e variedade de imunossupressores utilizados. Os fatores de risco para o desenvolvimento da DECH aguda foram recentemente revisados em um grupo homogêneo de pacientes reportados ao CIBMTR (*Center for International Blood and Marrow Transplant Research*), submetidos ao TCTH HLA-idêntico e aparentado para o tratamento de leucemia mielóide crônica (LMC), leucemia mielóide aguda (LMA) e leucemia linfóide aguda (LLA) (4). Ter menos de 40 anos e recebido células-tronco do sangue periférico; ter idade ≥ 40 anos; ser portador de leucemia mielóide crônica (LMC); ter performance status ≤ 80 no momento do TCTH e ter sido submetido à ciclofosfamida com Irradiação Corporal Total (Cy-TBI) como condicionamento, são fatores de risco independentes para o desenvolvimento de DECH aguda. O nível socioeconômico do receptor parece ter impacto no desenvolvimento da DECH aguda, como demonstrado pelo nosso grupo recentemente (5).

No TCTH alogênico, depois da DECH aguda e frequentemente relacionada com a gravidade desta, se estabelece a DECH crônica cuja fisiopatogenia se assemelha a de uma doença autoimune.

Estas reações, naturalmente estão ausentes no TCTH autólogo, cuja toxicidade é então representada apenas pelos efeitos do condicionamento e da aplasia anterior à pega. De uma maneira geral, em um período de 100 dias pós-transplante a mortalidade relacionada ao TCTH alogênico varia de 20% a 40% dependendo, por exemplo, do tipo de doador (aparentado ou não-aparentado) (6). Tardiamente, cerca de 50% dos pacientes submetidos ao TCTH alogênico irão falecer de consequências

da recidiva de sua doença de base ou da DECH crônica e/ou infecções. Vale ressaltar, no entanto, que embora temida e acompanhada de morbi-mortalidade elevada, a DECH é a responsável pela cura da doença de base. No embate imunológico entre os linfócitos do doador e os tecidos do receptor, são eliminados os resíduos da doença neoplásica de base – indicação mais frequente de TCTH. O efeito Enxerto versus Tumor (EVT) é o mecanismo de cura obtido com o TCTH (7).

No TCTH alogênico os melhores resultados são obtidos naqueles pacientes mais jovens, em melhores condições clínicas, e idealmente, sem focos bacterianos ou dos demais germes colonizadores. A presença de infecção sistêmica ou localizada pode predispor à DECH (aguda ou crônica). Para tentar evitar a DECH são utilizadas medidas profiláticas no preparo do paciente. Estas medidas buscam eliminar os focos visíveis, tais como dentes sépticos, e utilizam doses profiláticas de drogas antivirais, antifúngicas e antibacterianas. Neste contexto, a presença de doença periodontal tem sido pouco valorizada.

Esta tese visa definir em um estudo observacional, se a presença da **atividade inflamatória periodontal** tem algum impacto na mucosite oral, DECH aguda, prevalência de infecção sistêmica e demais desfechos precoces do TCTH de todas as modalidades – autólogo, alogênico (aparentado ou não) e com diferentes tipos de condicionamento.

II REVISÃO DA LITERATURA

O Sistema Hematopoético

O sangue contém diferentes tipos de células. Cada um destes tipos é morfológicamente distinto e apresenta funções biológicas específicas. Apesar das marcadas diferenças morfológicas e funcionais, fortes evidências indicam uma origem comum a partir da célula-tronco hematopoética. Tal célula apresenta a capacidade de auto-renovação, além de originar precursores de todas as séries que, em um processo de diferenciação e amadurecimento, formarão os diferentes tipos de células sanguíneas (8).

Embora há muitos anos conhecida a origem das diversas células sanguíneas, o processo de auto-renovação da célula-tronco hematopoética e os sinais e processos envolvidos na diferenciação e maturação destas células são ainda controversos (9, 10).

O processo de produção, amadurecimento e liberação destas células para exercerem suas funções biológicas no sangue periférico, a partir do precursor hematopoético, denomina-se hematopoese (11). Tal fenômeno inicia-se na vida intrauterina por volta da sexta ou oitava semana, no saco vitelino e, no adulto, ocorre principalmente na medula óssea, cavidade existente no interior dos ossos, onde a célula progenitora encontra o microambiente necessário para se desenvolver. A hematopoese é um processo contínuo, dada a sobrevivência curta da maioria dos tipos celulares sanguíneos. Assim, os granulócitos sobrevivem apenas horas, as plaquetas por poucos dias e alguns tipos de linfócitos podem sobreviver por meses. Portanto, é necessário um sistema em que, à medida que as células antigas são eliminadas,

células novas, funcionantes, venham substituí-las. Tal processo é finamente regulado, de modo que as contagens de cada elemento permaneçam relativamente constantes. Para cada linhagem celular existem fatores específicos que promovem a produção e amadurecimento de acordo com as necessidades, bem como fatores menos específicos, que atuam nas etapas mais precoces da diferenciação, quando o precursor não está comprometido com uma linhagem determinada. Uma das alternativas aceitas para explicar que o *pool* de células-tronco seja mantido durante a vida e ao mesmo tempo haja a geração contínua de células sanguíneas, é a de que células-tronco se dividem de maneira assimétrica. Neste contexto, uma das células filhas abandona definitivamente o *pool* quiescente e entra em processo de diferenciação enquanto que a outra retorna imediatamente para o estado quiescente G_0 , repondo a célula-mãe. A transição desta célula primitiva a células funcionais ocorre através de vários estágios intermediários, caracterizados pela progressiva perda da capacidade de autorrenovação e restrição à determinada linhagem; a cada divisão, a célula-progenitora resultante torna-se mais comprometida e restrita a uma linhagem hematopoética específica (Fig. 1).

Existem duas linhagens celulares principais: **linfóide** e **mielóide** (12)

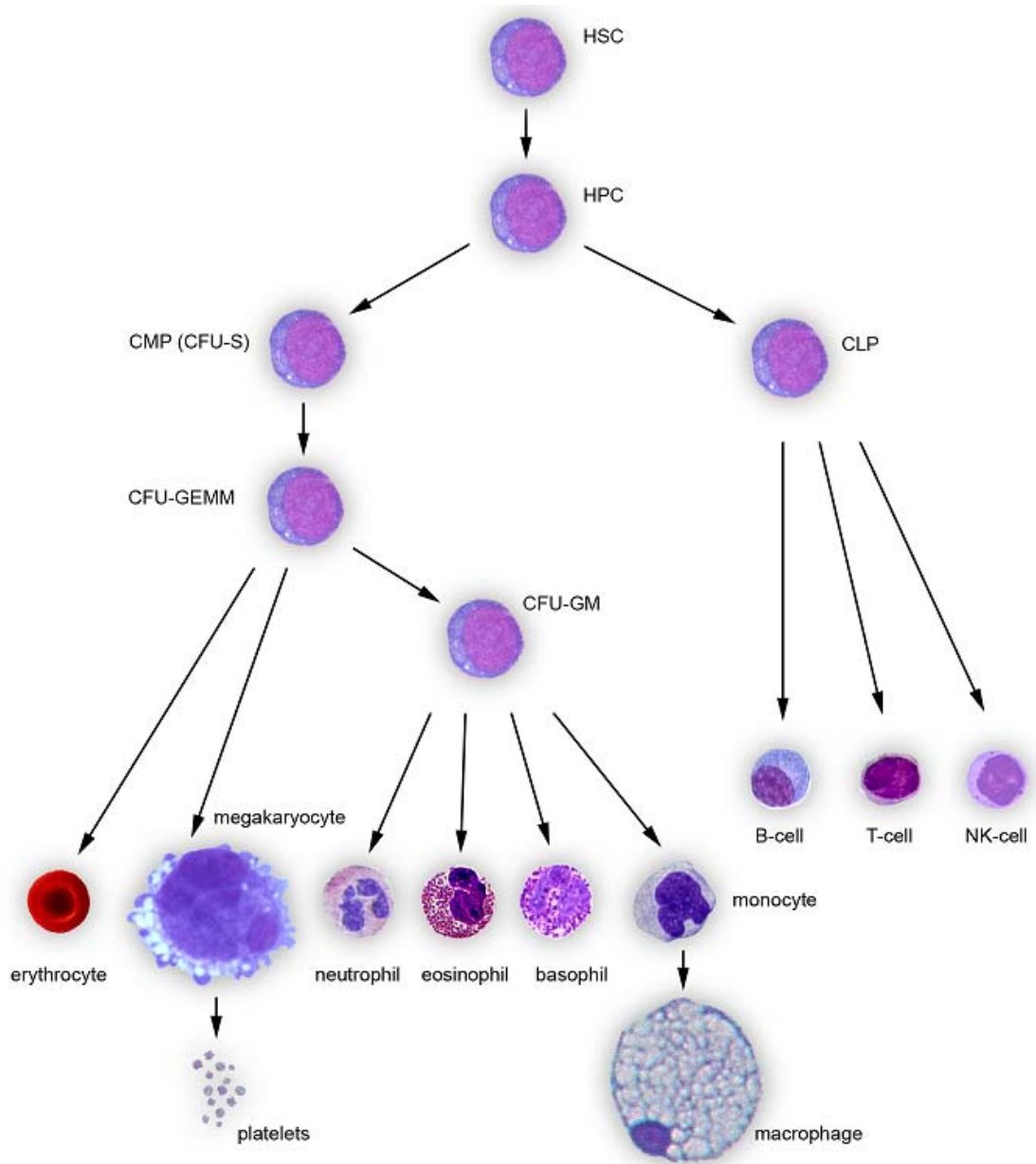


Figura 1 – Hematopoese. HSC, células-tronco hematopoéticas; HPC, células-tronco pluripotentes; CLP, células-progenitora linfóide; CMP, células-progenitora mielóide; UFC, unidade formadora de colônias; GEMM, granulócito-eritróide-monócito-megacariócito; E, eritrócito; MEG, megacariócito; GM, granulócito-monócito; EO, eosinófilo; BA, basófilo; UFB, unidade formadora de inúmeras células (13).

Os progenitores **mielóides** originam os seguintes tipos celulares:

- Eritrócitos ou hemácias: conhecidos também como glóbulos vermelhos contêm hemoglobina; são células anucleadas cuja função principal é transporte de oxigênio e nutrientes para todo o organismo.

- Granulócitos:

- Neutrófilos: são os leucócitos mais abundantes correspondendo a 70%–80% do total de granulócitos polimorfonucleares, e têm vida curta (de horas a dias). São importantes no processo de defesa contra agentes extracelulares fagocitando antígenos.

- Eosinófilos: constituem 1% a 3% dos leucócitos, são semelhantes morfológica e funcionalmente aos neutrófilos; suas funções principais são mediar processos alérgicos e a defesa inespecífica, ao secretar grânulos que fazem combate a parasitas, como os helmintos.

- Basófilos/Mastócitos: constituem menos do 1% dos leucócitos; são encontrados em pequeno número na circulação sanguínea, sendo frequentemente localizados nos tecidos. Apresentam grandes quantidades de substâncias envolvidas em reações de hipersensibilidade imediata tais como histaminas, serotonina e heparina.

- Monócitos/Macrófagos: Os monócitos são células mononucleares que entram no sangue periférico, migram ao local de ação nos tecidos e sofrem modificação morfológica e metabólica transformando-se em macrófagos, células

apresentadoras de antígenos (APC); desempenham várias funções como citotoxicidade, secreção de citocinas, quimiotaxia, fagocitose, e pinocitose.

- Megacariócitos: são grandes células cujo volume citoplasmático chega a ser 16 vezes maior que o de células normais; são deste citoplasma que se originam as plaquetas, que desempenham importante papel na coagulação sanguínea.

Os linfócitos são células capazes de reconhecer e distinguir especificamente diferentes determinantes antigênicos. Encontramos nos adultos, em torno de um bilhão de linfócitos, o que equivale a 2% do peso corporal. Os progenitores **linfóides** originarão os seguintes tipos celulares:

- Linfócitos B: representam em torno de 5%-15% do total de linfócitos circulantes e diferenciam-se em plasmócitos, que produzem imunoglobulinas (anticorpos), participando da imunidade humoral. Seu amadurecimento ocorre na própria medula óssea. Na ausência de estímulo antigênico, os linfócitos B maduros morrem por apoptose.

- Linfócitos T: são células relacionadas com a imunidade celular participando da resposta imune do hospedeiro contra microorganismos de multiplicação intracelular e na produção de citocinas que regulam o sistema imunológico como um todo. As células precursoras $CD34^+CD7^+$ derivadas da célula-tronco migram para o timo, onde se diferenciam em linfócitos T maduros. Podem ser divididos em duas populações: T auxiliares (*helper T*, T_H) $CD4^+$ e T citotóxicos (T_C) $CD8^+$.

- Células *Natural Killer* (NK): Esta é a terceira população de linfócitos (não representada na Figura 1), representando de 15% a 20% dos linfócitos sanguíneos. Sua principal função está na imunidade inata ou inespecífica, já que apresentam a

característica de mediar citotoxicidade espontânea, sem sensibilização prévia, contra diversas células-alvo tumorais ou infectadas por vírus, poupando células próprias normais e regulando funções do sistema imunológico e hematopoético (14).

Transplante de Células-tronco Hematopoéticas

O Transplante de Células-tronco Hematopoéticas (TCTH) fundamenta-se na utilização da célula-tronco, com o objetivo de reconstituir o sistema hematopoético de um indivíduo receptor, que foi destruído total ou parcialmente por altas doses de quimioterapia e/ou radioterapia ou drogas imunossupressoras potentes (condicionamento) (15). O TCTH é a terapia de eleição para uma série de neoplasias adquiridas, patologias não-malignas herdadas ou metabólicas (16).

Tipos de Transplante de Células-tronco Hematopoéticas

Para o entendimento dos tipos de transplante, deve-se levar em consideração aspectos relacionados à origem das células-tronco hematopoéticas e ao sistema HLA (Human Leucocyte Antigens ou Antígenos Leucocitários Humanos).

Células progenitoras hematopoéticas podem ser obtidas de três fontes: a partir de punção na medula óssea (célula-tronco de medula óssea), aférese de sangue periférico e através da coleta de sangue do cordão umbilical. Todas as fontes podem ser utilizadas em TCTH alogênico ou autólogo. Neste último, no entanto, a fonte mais comumente utilizada é a do sangue periférico, entre outras razões, pela maior rapidez

na pega e conseqüente diminuição do período de aplasia pós-transplante e suas complicações. Mais adiante, no contexto dos TCTH alogênicos, as diferentes fontes de células-tronco e suas diferenças biológicas serão discutidas.

Transplante de Células-tronco Hematopoéticas Autólogo

O TCTH é dito autólogo quando as células-tronco hematopoiéticas são coletadas e reinfundidas no mesmo indivíduo. Neste tipo de TCTH o paciente é submetido à quimioterapia de altas doses objetivando o tratamento de uma neoplasia, geralmente hematológica, e tem o seu sistema imuno-hematológico reconstituído pelas suas próprias células-tronco, previamente coletadas e crio-preservadas para este fim. Nesta modalidade de transplante, por conseguinte, não existem problemas de compatibilidade, de rejeição ou ainda de DECH, relacionado ao TCTH alogênico e comentado abaixo.

Transplante de Células-tronco Hematopoéticas Alogênico

O TCTH é dito alogênico quando as células-tronco hematopoéticas são coletadas de um doador e infundidas num indivíduo geneticamente diferente. Este tipo de transplante pode ser realizado utilizando um membro da mesma família (irmão) como doador, chamado de TCTH alogênico aparentado; ou de um doador não-familiar chamado de TCTH alogênico não-aparentado. O TCTH alogênico requer compatibilidade do sistema HLA entre receptor e doador, aparentado ou não. No TCTH alogênico, o receptor é submetido à administração de quimioterapia e/ou

radioterapia mieloablativa, com o objetivo de eliminar o sistema imuno-hematopoético doente e/ou a possibilidade de rejeição, levando a um quadro de imunossupressão. Ultimamente terapias não-mieloablativas têm sido utilizadas, com objetivo de diminuir a toxicidade do condicionamento e proporcionar maior imunossupressão. Este tipo de transplante leva a uma menor incidência de complicações no pós-transplante imediato (17).

Antígenos maiores de histocompatibilidade

O sistema HLA consiste num grupo de glicoproteínas da superfície celular que são codificadas por um *loci* multigênico e multialélico, extremamente polimórfico entre os indivíduos, segregado em um modelo codominante Mendeliano e localizado no braço curto do cromossomo seis (18). Cerca de quarenta genes codificam os antígenos relacionados ao sistema HLA. Estes podem ser separados em dois grupos estruturalmente e funcionalmente distintos: Classe I e Classe II. A molécula do antígeno de Classe I é constituída por cadeia alfa-peptídica com cinco domínios e uma cadeia beta (β -2-microglobulina); diferindo da Classe II que se apresenta como duas cadeias polipeptídicas (α e β), cada uma com quatro domínios (19, 20). Os principais genes da Classe I são o HLA-A, B e C (genes Ia), que possuem expressão variável na maioria das células somáticas e são fundamentais na imunogenética do TCTH, pois geralmente são responsáveis pela apresentação de antígenos intracelulares ou endógenos ao interagirem com linfócitos T CD8+. A Classe II (HLA-D) é designada por três letras: uma para a Classe (D), uma para a família (M, O, P, Q ou R), e a terceira para especificar a cadeia polipeptídica (A, alfa; B, beta, respectivamente). Estes

antígenos são expressos preferencialmente em células imunológicas tais como linfócitos B, linfócitos T ativados, macrófagos, células dendríticas (CD) e células epiteliais tímicas que têm a função de apresentar antígenos ou peptídeos exógenos aos linfócitos T CD4+ (20).

O sistema HLA coordena, portanto, o reconhecimento antigênico de peptídeos endógenos ou exógenos e controla as respostas imunes humoral e celular. Estes antígenos são processados pelos monócitos, macrófagos e CD que atuam como Células Apresentadoras de Antígenos – ou *Antigen Presenting Cells* – (APC). Os antígenos estranhos ou “não próprios” podem ser provenientes da degradação intracelular de proteínas citoplasmáticas, através da ação do proteossomo (restritos ao HLA Classe I), ou adquiridos por endocitose, a partir do meio externo celular (restrita ao HLA Classe II). Processados pelas APCs e expressos em suas membranas, eles formam complexos com o HLA e assim são apresentados aos TCR (*T Cell Receptor*) (21). O HLA age como peça fundamental na segregação e eliminação de células autorreativas, na fisiologia das vias de reciclagem e eliminação do “lixo celular” (22), na identificação de células infectadas por vírus ou em transformação neoplásica, desempenhando um papel central na proteção do organismo e por conseguinte, na defesa imunológica. No TCTH alogênico, no entanto, o sistema HLA representa uma barreira imunológica cujas reações citotóxicas do sistema imuno-hematopoético do doador resultam na reação do enxerto contra hospedeiro e na sua expressão patológica (20).

Antígenos menores de histocompatibilidade

No TCTH HLA compatível, a presença de disparidades entre antígenos menores passa a exercer um papel central nas reações imunológicas entre o receptor e o doador (rejeição) e o doador e receptor com o surgimento da DECH. Neste cenário, os antígenos menores derivados do hospedeiro passam a ter maior importância no reconhecimento alogênico (22). Estes antígenos são denominados MiHA e têm a capacidade de induzir uma resposta imune especificamente mediada pelos linfócitos T e restrita ao MHC. É reconhecida a participação dos MiHA nas respostas alogênicas associadas com a rejeição do enxerto, com a fisiopatologia da DECH, com a reação EVT e no desenvolvimento da tolerância imunológica enxerto-hospedeiro (22, 23).

A expressão de MiHA em humanos é provavelmente específica para determinado tecido, porém a sua distribuição é bastante variada por estar presente difusamente em um tecido somático ou restrito somente à uma linhagem celular. Eles são capazes de ativar, via MHC, os linfócitos T CD8⁺ e CD4⁺ podendo também ser expressos por células infectadas, associados com sequências retrovirais ou herpesvirais endógenas ou latentes (24). Entre os indivíduos, fragmentos de diversas proteínas endógenas tais como a transferrina ou a mioglobina podem atuar como MiHA e estão sujeitos a polimorfismos genéticos (22).

Muitos MiHA com potencial alo-reativo compõe o repertório imunogênico humano, mas a relação causal com a DECH é ainda limitada. A disparidade para HA-1 ou HA-8, dois antígenos menores restritos ao HLA-A*0201, induz uma resposta citotóxica específica e está associada com um risco aumentado de DECH aguda clinicamente severa (25, 26). Outros antígenos menores humanos implicados na

DECH aguda são a expressão do CD31 e o antígeno plaquetário humano três (HPA-3) (27).

Correlações entre antígenos menores H-Y relacionados aos cromossomos sexuais e a incidência de DECH aguda ou risco de rejeição do enxerto tem sido estabelecidas (28, 29). Randolph et al. (2004) avaliando 3.238 transplantes alogênicos encontraram uma maior chance de DECH aguda e menor recaída de doença nos receptores masculinos de doadores do sexo feminino, sugerindo que MiHA codificados ou regulados pelo cromossomo Y estimulariam uma resposta citotóxica, com papel crucial na atividade antitumoral, independentemente ao desenvolvimento da DECH (30). Esta ainda é, no entanto, uma questão discutível, já que em estudo recente analisando 1298 pacientes portadores de leucemia aguda ou LMC, submetidos ao TCTH alogênico, HLA-idêntico, aparentado, mieloablativo e condicionados com Bussulfan e Ciclofosfamida ou Ciclofosfamida e irradiação corporal total, o transplante de mulheres para homens não apareceu como fator de risco para o desenvolvimento da DECH aguda (4). Embora a disparidade de gêneros não tenha aparecido como fator de risco para DECH aguda, a sobrevida livre de doença não foi examinada.

Em resumo, os antígenos menores se mostram fundamentais tanto para o reconhecimento imunológico do que é considerado como “próprio”, como para manter a regulação do repertório fisiológico de linfócitos T (23). O conceito inicial que os definiram como “menores e pouco imunogênicos”, por não serem relacionados ao sistema HLA, está definitivamente ultrapassado. Suas complexas interações celulares, ainda incompletamente compreendidas, e o equilíbrio das respostas imunes que caracterizam a DECH e o EVT representam barreiras a serem transpostas no desenvolvimento do TCTH.

Regimes de Condicionamento

Os regimes de condicionamento foram inicialmente desenvolvidos no sentido de promover a ablação do sistema imunológico do receptor para que este não rejeite o TCTH do doador. Mais tarde, e à medida que o TCTH foi tomando o seu lugar no tratamento de neoplasias, a finalidade do condicionamento passou a ser também a de proporcionar a máxima redução da carga tumoral sem ultrapassar a toxicidade dose-limitante dos órgãos, excetuando-se a medula óssea. Seus benefícios como terapia curativa, contudo, são limitados pela morbi-mortalidade relacionada ao TCTH alogênico e representada principalmente pela DECH (31).

Estudos clínicos mostraram a correlação entre a incidência de DECH e diferentes doses de TBI, bem como na comparação entre os regimes baseados apenas em quimioterapia ou na associação desta com TBI. Apesar de diminuir as chances de recaída, o emprego de TBI na dose de 15,75 Gy aumentou a mortalidade relacionada ao transplante (TRM) e a probabilidade de DECH aguda moderada a severa (48% versus 21%, $p = 0.02$), quando comparado a dose de 12 Gy (32). Resultados semelhantes foram também observados quando se comparou doses de TBI menor ou maior que 12 Gy onde a DECH aguda grau II a IV ocorreu em 28% e 44%, respectivamente ($p < 0.001$) (33), ou entre um regime de quimioterapia apenas com bussulfan e ciclofosfamida (Bu-CY) e quimio-radioterapia (Cy-TBI). Neste último a incidência de DECH aguda II a IV foi superior (48%) aquela observada nos condicionados com Bu-CY (35%) $p = 0.05$ (34). Estes resultados foram recentemente confirmados (4).

Quanto maior a toxicidade do condicionamento sobre tecidos como a pele, o fígado e o trato gastrointestinal (TGI), maior a liberação de citocinas pró-inflamatórias que ativam as CD e as APCs, e maior a expressão de antígenos do MHC, iniciando a cascata da DECH aguda (35, 36). Doses de TBI acima de 900 Gy causam intenso dano no TGI, permitindo aumento da translocação de lipopolissacarídeos (LPS) para a circulação sistêmica (37). Os níveis séricos de LPS são, portanto, proporcionais à intensidade da lesão intestinal e, uma vez que são capazes de estimular monócitos e macrófagos a secretarem fator de necrose tumoral alfa (Tumor Necrosis Factor – TNF- α), os LPS podem agir diretamente sobre as células ativando vias de apoptose e assim amplificando o dano tecidual no TGI (38). Além disto, condicionamentos mais intensos resultam na necessidade de modificar as doses dos esquemas de profilaxia utilizados após a infusão, o que acaba por comprometer a eficácia destes (39).

Os condicionamentos de intensidade reduzida (RIC) foram idealizados no sentido de explorar a possibilidade de induzir tolerância imunológica entre receptor e doador, possibilitando a enxertia e um estado de quimerismo misto para que os linfócitos T do doador atuem na eliminação da doença de base (40), e para diminuir a toxicidade possibilitando o TCTH alogênico em pacientes idosos e com comorbidades (17).

Vários aspectos biológicos do TCTH-RIC podem influenciar nas características clínicas e incidência de DECH aguda. Primeiro, ele causa menor lesão tecidual nos receptores e conseqüentemente menor liberação de citocinas inflamatórias; segundo, induz um quimerismo misto com tolerância imunológica, teoricamente diminuindo a DECH; terceiro, o tipo de imunossupressão e tempo de uso desta diferem entre as técnicas de condicionamento; quarto, o número e função das APCs do receptor podem ser distintos no TCTH-RIC (41). Entretanto, a DECH aguda não é efetivamente

prevenida com o RIC, uma vez que entre 12% a 64% dos pacientes apresentam manifestações de moderadas a severas desta complicação (41-44). Adicionalmente, muitos pacientes desenvolvem DECH aguda tardiamente dificultando a retirada dos corticoesteróides (41, 45), assim como, parece haver um aumento na incidência de DECH crônica severa e uma tendência à maior recidiva da doença – o que contradiz o papel EVT que o quimerismo misto poderia ter (46). É possível que a utilização de células-tronco do sangue periférico (veja abaixo) e a infusão de linfócitos do doador, preconizada nestes transplantes, sobretudo naqueles ensaios clínicos iniciais, tenham uma papel na inesperada prevalência da DECH. Finalmente, existe uma grande variabilidade na literatura no que se considera RIC, com diferentes combinações de drogas e, sobretudo de doses de Fludarabina. É sugerido que doses crescentes desta última devem ser investigadas, de forma controlada, no sentido de definir um melhor equilíbrio entre o controle da doença de base e a morbidade relacionada (46).

Fontes de células-tronco hematopoéticas

Como já mencionado, células-tronco hematopoéticas podem ser obtidas pela punção aspirativa da medula óssea (MO) em cristas ilíacas, pela aférese de mononucleares progenitores mobilizados no sangue periférico (*peripheral blood stem cells* – PBSC) e de precursores hematopoéticos obtidos do sangue do cordão umbilical (*umbilical cord blood* – UCB). Estas fontes diferem entre si quanto à praticidade de sua obtenção, aos riscos dos procedimentos de coleta, e principalmente, quanto ao conteúdo celular de precursores hematopoéticos, linfócitos e monócitos (47). A cinética da enxertia, a recuperação imunológica e as manifestações de DECH variam conforme

a fonte de células escolhida. O TCTH-PBSC comparado com o TCTH-MO se caracteriza por maior rapidez na reconstituição imuno-hematológica e consequentemente menor necessidade transfusional e período de internação hospitalar (48).

A reconstituição imunológica, avaliada através das contagens de neutrófilos e subtipos de linfócitos após o transplante, por mais rápida no TCTH-PBSC diminui o risco de infecções fúngicas ou bacterianas severas e de mortalidade associada ao transplante (TRM) (49).

Dois estudos de meta-análise, com trabalhos randomizados e controlados, compararam as incidências de DECH aguda e crônica nos TCTH-MO e TCTH-PBSC encontrando um maior risco relativo associado com o uso de PBSC para ambos os tipos, em especial nas formas agudas II e IV e crônica extensa (50, 51). Esta maior incidência, contudo, não se associou a aumento significativo na TRM (52).

O TCTH-PBSC melhora tanto a sobrevida livre de doença (SLD) como a sobrevida global (SG) nos pacientes considerados de alto risco, ou em estágios avançados de neoplasias hematológicas (50). Entretanto, a DECH crônica relacionada a esta fonte de células-tronco tem como características ser mais prolongada e menos responsiva ao tratamento (53) o que pode afetar a qualidade de vida dos acometidos (54).

Profilaxia farmacológica da DECH

As comparações entre o uso combinado de Ciclosporina A (CSA) e methotrexate (MTX) com a CSA ou o MTX isolados definiram a terapia dupla como padrão ouro na profilaxia da DECH (55, 56). Nenhum estudo randomizado comparou o uso ou não de profilaxia para a DECH aguda, contudo outras evidências mostraram que a suspensão da imunossupressão profilática associa-se com alta ocorrência de DECH moderada a severa e da forma clínica hiperaguda (57). A associação de CSA e MTX, com seus mecanismos de ação diversos e sinérgicos, reduz significativamente a prevalência de DECH. Este benefício, no entanto, não se traduz em aumento da sobrevida pós-transplante, pois trazem consigo riscos de maior toxicidade medicamentosa e maior probabilidade de recaída. Este equilíbrio delicado de imunossupressão das células do doador pode comprometer o efeito enxerto contra neoplasia (45). A tripla profilaxia com a adição de corticoesteróides, particularmente prednisona (PRD) ou metilprednisona (MPRD), enquanto capaz de reduzir a incidência da DECH aguda, resulta também em uma maior chance de desenvolvimento de DECH crônica e de intercorrências infecciosas (58).

Novas drogas como o Tracolimus (FK506), o Micofenolato Mofetil (MMF) e a Rapamicina (Sirolimus) mostraram-se altamente eficientes na profilaxia da DECH. Esquemas combinados são usados com sucesso, quando em conjunto com a CSA ou o MTX, especialmente nos casos onde o risco de DECH aguda é muito elevado, como no TCTH entre não-aparentados ou com algum grau de incompatibilidade HLA (59, 60).

A profilaxia ideal da DECH seria aquela que diminuísse os impactos negativos desta complicação sem interferir na recuperação imunológica pós-transplante e nos efeitos do enxerto contra a doença, estando associada com mínima toxicidade orgânica e melhorando a sobrevida.

Profilaxia da cavidade bucal

Após a remoção pré-transplante de focos endodônticos, todos os pacientes submetidos ao TCTH no HCPA participam de uma rotina de cuidados para com a sua cavidade bucal preventivamente ao aparecimento de qualquer lesão em tecidos moles. Medidas como o controle mecânico de placa através da escovação com uma escova extramacia associada a um gel dentífrico, e a utilização de soluções colutórias (malva, camomila, digluconato de clorexidina 0,12%) como coadjuvantes, são estratégias utilizadas para remover o acúmulo do biofilme supragengival da superfície dos dentes, bem como fungos e bactérias dos tecidos moles da cavidade bucal. A frequência de escovação sugerida é de três vezes ao dia, com bochechos de chá gelado (Malva ou Camomila) no mínimo seis vezes ao dia e de clorexidina a cada 12 horas, não havendo lesões. A terapia com laser também é empregada sistematicamente, entre os dias (-5) a (+5) em relação ao dia do transplante.

Complicações relacionadas ao TCTH

Complicações relacionadas ao condicionamento:

1. Mucosite

É um processo patológico que induz injúrias às mucosas, variando desde uma leve inflamação até uma úlcera profunda, podendo afetar uma ou mais partes do trato gastrointestinal, desde a mucosa oral até a mucosa retal. Normalmente este quadro está relacionado à quimioterapia e/ou radioterapia do condicionamento pré-transplante (61, 62). Na mucosite oral, o primeiro sinal clínico aparece de sete a 10 dias do início da quimioterapia, onde inicialmente se observa uma atrofia e engrossamento superficial do epitélio, juntamente com vermelhidão. Em seguida o tecido torna-se ulcerado com uma membrana necrótica superficial. Este quadro é bastante debilitante, podendo acarretar elevada morbidade para o paciente, caracterizada por sensação de queimação, dor, sangramento, disfagia, infecções e dificuldade de alimentação. A mucosite dura de uma a três semanas, período em que normalmente a neutropenia está presente, aumentando o risco de infecções secundária à bacteremia associada a bacilos gram negativos. O principal diagnóstico diferencial da mucosite deve ser feito com a DECH, que ocorre nos pacientes que se submetem ao TCTH alogênico, em torno de 21 dias depois da pega do enxerto, e que tem características de uma lesão tipo líquen (63).

Patogênese

A mucosite oral parece apresentar cinco fases evolutivas; iniciação, resposta primária ao dano, sinais de amplificação, ulceração e cicatrização. Tudo começa como uma resposta tecidual ao dano provocado por um estímulo radioterápico e/ou quimioterápico. Na fase de iniciação ocorre o dano tecidual ao DNA da camada basal das células epiteliais e simultaneamente uma resposta oxidativa tecidual gerando a produção de superóxido. A resposta primária ao dano, observada nas células e na submucosa é caracterizada pela expressão precoce de genes e ativação dos fatores de transcrição como fator nuclear kappa beta (NF- κ) com seus 26 proteosomos e as moléculas de adesão vascular. Este fenômeno é seguido pela hiperregulação gênica que leva a uma produção de uma série de moléculas e proteínas destrutivas como as citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6; TNF- α e MMPs) e enzimas que vão modular uma série de eventos biológicos que levam a amplificação da destruição tecidual e apoptose, perda da integridade epitelial e formação das úlceras (64). As lesões ulcerativas ocorrem preferentemente na mucosa não-queratinizada, em locais como lábio, bochecha, assoalho de boca e língua. Na fase de ulceração pode ocorrer colonização bacteriana, com a penetração de componentes da parede celular bacteriana lipopolissacáride (LPS) na submucosa tecidual provocando uma hiperregulação das citocinas pró-inflamatórias levando assim ao aumento do dano tecidual (Figura 2) (65). Na presença de neutropenia aumenta o risco para bacteremia e ou septicemia. Na sequência, durante a fase de cicatrização ocorrem a proliferação, diferenciação e migração de células epiteliais para iniciar o processo de restauração da mucosa.

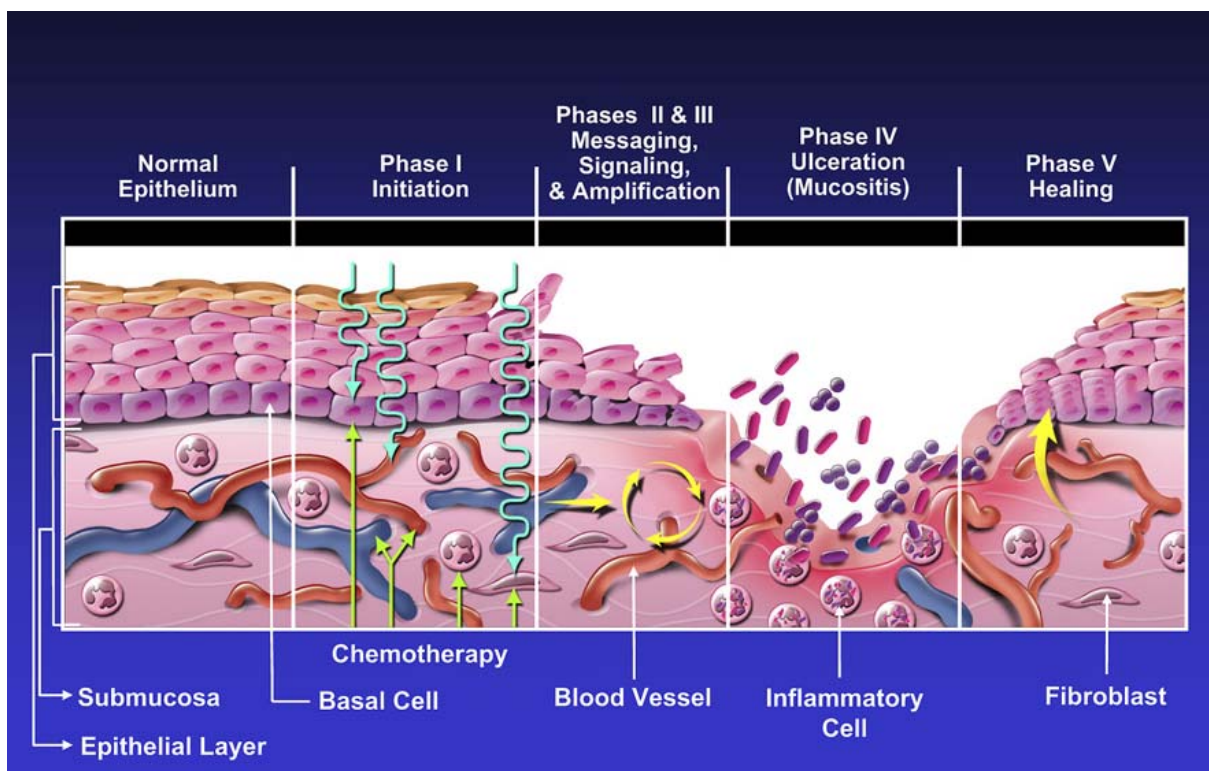


Figura 2 - Desenho esquemático das fases da mucosite - modificado de (Sonis,2004 a,b) (66)

Normal epithelium : epitélio normal; **Epithelial layer**: camada epitelial; **Phase**: fase; **Initiation**: iniciação; **Chemotherapy**: quimioterapia; **Basal cell**: células basais; **Messaging**: geração de mensagem; **Signaling**: sinalização; **Amplification**: amplificação; **Blood Vessel**: vasos sanguíneos; **Ulceration** (mucositis): ulceração (mucosite); **Inflammatory Cell**: células inflamatórias; **Healing**: cicatrização; **Fibroblast**: fibroblasto.

Epidemiologia

A mucosite oral no cenário TCTH autólogo está relacionada ao tipo de esquema poliquimioterápico utilizado no condicionamento, a exposição prévia a alguma droga (ex. antraciclina, ciclofosfamida, fludarabina), ser do sexo feminino e ao tipo de doença. Potenciais fatores como polimorfismo genético, idade, sexo, massa corporal, condição oral pré-existente, controle de placa e alterações salivares influenciam na ocorrência de mucosite (65).

A incidência de 40% a 70% de mucosite tem sido relatada nos pacientes que realizam quimioterapia padrão. Foi observada a presença de mucosite severa em 75% dos casos quando da utilização do protocolo quimioterápico com Citarabina, Carmustina, Etoposide e Melfalano (BEAM) comparado com Ciclofosfamida, Etoposide e Carmustina (CEB) (67). No TCTH, a ocorrência de mucosite varia de 75% a 100%, dependendo do tipo de doença, do procedimento em si e do regime de condicionamento (65), e ocorre particularmente naqueles pacientes que são submetidos à associação da quimioterapia e radioterapia (61).

Para a avaliação de fatores preditivos para a mucosite foram arrolados 133 pacientes com LMC submetidos à TCTH alogênico. Através de análise de regressão linear múltipla foram associados como preditores de mucosite a TBI, o índice de massa corporal maior que 25 e presença do genótipo 677TT da methylenetetrahydrofolate reductase (68).

A incidência de dor associada à mucosite oral tem sido reportada em 40% a 70% dos pacientes tratados com quimioterapia; em 100% dos pacientes que realizam radioterapia para tumores de cabeça e pescoço e em 60% a 85% dos pacientes que realizam TCTH alogênico (69, 70).

Classificação

Ainda existe certa dificuldade em padronizar um critério de diagnóstico para a avaliação clínica da mucosite oral de acordo com estudos controlados. Dois sistemas propostos têm tido melhor aceitação como ferramenta de descrição dos quadros de mucosite: o da Organização Mundial de Saúde (WHO) (71) e do Instituto Nacional do

Câncer (NCI) dos Estados Unidos (72). Ambos utilizam a mesma terminologia e critérios de definição dos efeitos adversos da mucosite. A WHO propõe uma escala que mensura aspectos anatômicos, sintomáticos e funcionais da mucosite oral. São quatro graus de severidade numa ordem crescente: (Tabela 1) (65).

Tabela 1. 1 - Escala do grau de mucosite segundo WHO (1979)

GRAU	Características Clínicas
0	Sem mucosite
1	Leve eritema e dolorimento
2	Eritema e úlcera Paciente ingere alimentação sólida
3	Úlcera e extenso eritema Paciente não ingere alimentação sólida
4	Quadro grave Alimentação parenteral

Adaptado de (65)

Implicações

A presença de mucosite em pacientes neutropênicos, como já ressaltado pode ser um fator predisponente para uma bacteremia, ou septicemia e mesmo infecções fúngicas (73-77).

Mais atualmente, bacteremia associada a bacilos gram-negativos, espécies bacterianas encontradas frequentemente na bolsa periodontal de pacientes com periodontite, tem apresentado uma incidência relativamente baixa em pacientes neutropênicos (78), sendo comumente mais associadas com bactérias gram positivas

(79). Isto se deve provavelmente aos protocolos de antibioticoterapia, sobretudo de uso profilático (80), a utilização de cateteres venosos profundos de longa permanência e aos cuidados profiláticos de higiene bucal aos quais os pacientes são submetidos.

Por outro lado, a ação da antibioticoterapia utilizada no TCTH, nas partes mais profundas da bolsa periodontal nos pacientes com doença periodontal moderada ou avançada é questionada. Neste contexto a bolsa periodontal poderia atuar como reservatório de bactérias gram-negativas (anaeróbicas e aeróbicas), bacilos gram positivos, fungos, e vírus (81). Por exemplo, (82) em relação a este aspecto, encontraram infecção grave pelo *Fusobacterium nucleatum* em pacientes neutropênicos e com mucosite associada ao condicionamento, onde as ulcerações provocadas pela mucosite podem ser o caminho de entrada para a invasão tecidual em indivíduos mielossuprimidos.

2. Neutropenia e infecções

A toxicidade hematológica, decorrente dos esquemas de condicionamento, leva a pancitopenias severas com diminuição das hemácias, leucócitos e plaquetas. Concentrados de hemácias e plaquetas são rotineiramente transfundidos até a pega do enxerto, enquanto que a diminuição de leucócitos, particularmente dos neutrófilos, é responsável pela susceptibilidade aumentada às infecções, observada neste período de elevada morbidade e mortalidade (83). A neutropenia é definida quando a contagem de neutrófilos diminui abaixo de 1500 cels/mm^3 . O aumento do número de infecções é esperado numa frequência e severidade inversamente proporcional a contagem de neutrófilos (84, 85). Um nível de bacteremia elevado ($> 500 \text{ cfu/ml}$),

situação compatível com quadros neutropênicos, está associado a maior morbidade e taxas de mortalidade mais altas do que níveis de bacteremia mais baixos nos pacientes (86).

Um dos sítios que são mais acometidos por infecções no paciente imunossuprimido é o trato gastrointestinal, onde o condicionamento induz injúrias às mucosas, muitas vezes permitindo a invasão de organismos oportunistas. Da mesma forma, as injúrias que são provocadas na pele, devido a colocação de cateteres, por exemplo, propiciam uma porta de entrada para espécies oportunistas. Os sinais e sintomas em pacientes neutropênicos podem ser mínimos ou mesmo ausentes. Podemos estar à frente de uma infecção cutânea sem a presença de celulite, de uma infecção pulmonar sem imagem radiográfica compatível ou uma infecção urinária sem disúria, por exemplo. Porém, deve-se estar atento as manifestações de sinais e sintomas subclínicos, incluindo dor em sítios normalmente infectados como, por exemplo: periodonto, faringe, esôfago inferior, períneo, ânus, fundo dos olhos e pele (87).

Quanto maior a duração da neutropenia maior é a incidência de infecções, geralmente de origem bacteriana, mas também podendo ser de origem fúngica. Após a pega do enxerto, a disfunção linfocitária decorrente da reconstituição imunológica ou do uso de imunossuppressores potentes, frequentemente utilizados nesta fase do transplante, aumenta a susceptibilidade às infecções virais (88).

Em torno de 14% dos pacientes submetidos ao TCTH podem desenvolver bacteremias, onde os patógenos gram-positivos são os mais encontrados (47% *staphylococci*) e sendo responsáveis por 75% das infecções (89, 90). Uma série de

bactérias tem sido relacionadas com episódios febris e com a bacteremia em pacientes com neutropenia (87) :

Cocos e bacilos gram-positivos

Staphylococcus speciosa

Coagulase-positiva (*Staphylococcus aureus*)

Coagulase negativa (*Staphylococcus epidermidis* e outros)

Streptococcus speciosa

Streptococcus pneumoniae

Streptococcus pyogenes

Viridans grupos

Enterococcus faecalis/faecium

Corynebacterium speciosa

Bacilos e cocos gram-negativos

Escherichia coli

Klebsiella speciosa

Pseudomonas aeruginosa

Cocos e bacilos anaeróbicos

Bacteroides species

Clostridium species

Fusobacterium species

Propionibacterium species

Peptococcus species

Veillonella species

Peptostreptococcus species

Além das infecções bacterianas, podem acontecer quadros de diarreia infecciosa, ligadas principalmente ao *Clostridium difficile*, os quais são muitas vezes exacerbados pela mucosite do trato gastrintestinal e pela elevada carga de antibióticos. As infecções fúngicas por *Cândida sp.* ou *aspergillus sp.* que ocorrem neste período inicial, causadoras de febre persistente e resistentes aos antifúngicos, estão associadas a elevada morbidade e mortalidade (91).

As infecções virais são geralmente observadas tardiamente no TCTH, podendo aparecer precocemente em pacientes soropositivos para *Herpes simplex vírus* (HSV), estabelecendo assim, uma dificuldade no diagnóstico diferencial com a mucosite relacionada ao condicionamento. Após a pega as infecções virais acometem com maior frequência os pulmões, sendo o Citomegalovírus (CMV), o *Herpes Simplex* e o Adenovírus os agentes mais envolvidos. Depois do estabelecimento da profilaxia específica não se tem observado mais a pneumonia intersticial por *Pneumocystis carinii* (92).

3. Cistite Hemorrágica

A cistite hemorrágica não infecciosa normalmente ocorre precocemente após o TCTH, e esta relacionada à toxicidade do quimioterápico ou até mesmo da irradiação. A cistite hemorrágica associada à infecções, geralmente observada mais tardiamente, após a pega do transplante, tem o polyomavirus BK como um dos seus principais agentes. Agentes como Cytomegalovirus e Adenovirus também estão associados aos quadros infecciosos (93, 94). Os pacientes que apresentam este quadro, normalmente de urgência, têm maior frequência de urinar e disúria devido à inflamação da mucosa da bexiga. Pode haver dor suprapúbica com espasmos na bexiga, associados muitas vezes ao quadro de hematúria. Embora, raramente represente risco de vida, a cistite hemorrágica esta relacionada à morbidade com quadros de dor severa, sangramento contínuo, parada no funcionamento renal e um maior tempo de internação (95, 96).

Complicações relacionadas à pega do enxerto

Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH)

Relatada como a segunda complicação de maior prevalência e de maior gravidade no TCTH alogênico, a DECH apresenta duas formas de ocorrência: aguda e a crônica. Classificada muitas vezes como uma síndrome clínica patológica, a DECH é uma reação das células do tecido hematopoético doador contra os tecidos do hospedeiro, que usualmente envolve três sistemas de órgãos: a pele, o fígado e o trato gastrointestinal.

DECH Aguda

Historicamente a DECH que ocorre dentro dos primeiros 100 dias (normalmente entre a 2° e a 6° semana) após o transplante de medula óssea alogênico é classificada como aguda. O risco de incidência de DECH aguda varia de acordo com os seguintes fatores: grau de histocompatibilidade dos antígenos do sistema HLA entre doador e o receptor, origem do enxerto e o número de linfócitos T do doador infundidos, idade do transplantado, sexo (mulher doadora para receptor homem), dosagem da quimioterapia e da irradiação corporal total, esplenectomia anterior, infecção viral e utilização de protocolos preventivos para a DECH (97-99).

Transplantes com doador não-aparentado têm uma chance duas vezes maior de desenvolver DECH do que o aparentado (100). A DECH aguda pode ocorrer em mais de 70% dos pacientes submetidos ao TCTH HLA idêntico não-aparentado, e mais de 80% a 90% em pacientes HLA haplo-idênticos (101, 102). Na mucosa oral a DECH aguda, embora pouco frequente, pode se manifestar por lesões ulcerativas dolorosas ou erupções papulares esbranquiçadas. Muitas vezes as lesões orais ocorrem concomitantemente com as manifestações sistêmicas (103, 104). O diagnóstico diferencial é realizado entre a mucosite secundária ao condicionamento, a infecção oral causada pelo *vírus herpes simplex* e a mucosite associada à neutropenia, ocasionando muitas vezes dúvidas devido aos três quadros apresentarem manifestações semelhantes com períodos de risco superpostos.

Na pele, tecido mais comumente afetado, a manifestação mais comum é o exantema com prurido. As lesões podem evoluir para uma eritoderma generalizada com formação bolhosa e descamação (105). O trato gastrointestinal e o fígado são

também órgãos-alvo da DECH aguda, sendo que neste último a DECH se manifesta mais comumente como colestase, com níveis séricos de bilirrubina e fosfatase alcalina elevados (106). A presença da doença veno-oclusiva hepática, da infecção viral e mesmo da septicemia podem contribuir para o funcionamento deficiente do fígado. No trato gastrointestinal a DECH aguda se manifesta por diarreia profusa e esverdeada, vômito, dor abdominal e sangramento (107).

Classificação

A DECH aguda tem uma classificação por estadiamento com relação aos sistemas de órgãos envolvidos: (Tabela 2)

Tabela 1. 2

Órgão	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Pele	Erupções em < de 25% do corpo	Erupções em 25-50% do corpo	Eritoderma generalizado	Eritoderma generalizado com formação bolhosa
Fígado	Bilirubina de 2 – 3 mg/dl	Bilirubina de 3.1 – 6 mg/dl	Bilirubina de 6.1 –15 mg/dl	Bilirubina maior que 15 mg/dl
Gastrointestinal	Diarreia > 500ml/dia	Diarreia > 1000ml/dia	Diarreia > 1500ml/dia	Diarreia > 2000ml/dia com dor abdominal

Adaptado de (108)

Fisiopatogenia

A fisiopatogenia da DECH aguda envolve três fases: uma fase inicial, que ocorre em decorrência do dano tecidual provocado pelo próprio condicionamento,

acarretando um estímulo para produção de citocinas inflamatórias como a interleucina (IL1), o fator de necrose tumoral α (TNF $-\alpha$) e o interferon- γ (IFN $-\gamma$). Estas citocinas agem como potentes indutores da expressão de moléculas de adesão e de antígenos do Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC) (109, 110). Esta ação potencializa o reconhecimento, pelos linfócitos T infundidos, das moléculas HLA e de MiHA alogênicos (35).

A segunda fase, conhecida como “Tempestade de citocinas” é caracterizada pela adesão e interação entre as células dendríticas (DC) ou apresentadoras de antígenos (APCs) do receptor e os linfócitos T do doador. A ativação, estimulação e proliferação das células T neste momento são cruciais para a fase aferente da DECH. Nesta fase o grau de histocompatibilidade desenvolve um papel primordial, pois de acordo com ele, teremos uma reação contra o hospedeiro de uma magnitude mais severa, intensa e destrutiva, ou mais branda e não tão destrutiva (35). A ligação entre os receptores das células T (TCR) e o complexo peptídeo/MHC determina a inter-sinalização simultânea através de moléculas coestimuladoras presentes na superfície dos linfócitos T e das APCs. Os sinais gerados a partir desta interação regulam a secreção de citocinas que caracteristicamente na DECH aguda são do tipo Th1, desencadeando mecanismos complexos que são os responsáveis pela ativação celular e expansão clonal e, em última análise, pelo dano tecidual e pela disfunção orgânica final (106). As citocinas produzidas por células Th1 são predominantemente a IL-2, IL-12, IL-15, IL-18, TNF- β , IFN- γ e TNF- α (111, 112).

Na terceira fase chamada “fase efetora”, relacionada à amplitude da tempestade de citocinas, as células T do doador, ativadas, direcionam citotoxicidade contra os tecidos do receptor. O predomínio da via Th1 converge para a ativação de efetores celulares como os linfócitos T citotóxicos e células NK através de interações de ligação

“Fas-Fas” ou de perforina-granzima B, que juntamente com os efetores inflamatórios TNF- α , IL-1 e óxido nítrico (NO) resultam no dano tecidual característico da DECH aguda (113). Os efetores inflamatórios TNF- α , IL-1 e (NO) são produzidos por macrófagos sensibilizados pelo IFN- γ e coestimulados pelos LPS provenientes das lesões de mucosas danificadas pelo condicionamento pré-TCTH (31). O TNF- α induz diretamente a apoptose e é importante mediador da resposta imune das células T alo-reativas, ativando a APC e estimulando a proliferação e diferenciação Th1 (111). Em modelo murino, a administração de IL-1 causa uma síndrome debilitante com elevada mortalidade semelhante a uma forma acelerada de DECH aguda (114). O (NO) elevado antes da apresentação clínica da DECH aguda contribui para a amplificação da resposta inflamatória, para a imunossupressão, e pela sua propriedade antiproliferativa, dificulta a reparação dos tecidos lesados (31).

Estes mecanismos celulares e bioquímicos complexos, normalmente participam de forma harmoniosa na resposta imune inata e adaptativa. No cenário do TCTH alogênico, marcado pela injúria tecidual, e propício à apresentação de antígenos, a quebra deste equilíbrio pela produção exacerbada de citocinas associada a produtos microbianos, culmina nos eventos que levam à retroalimentação da resposta imunológica e perpetuam a agressão tecidual.

Finalmente, a ocorrência tardia da DECH aguda no TCTH com condicionamento de intensidade reduzida tem sido estudada. Neste contexto, o papel das CD do receptor parece ocupar um papel central desencadeando a DECH aguda (115). Adicionalmente, outros tipos de células T – células *naive*, de memória, regulatórias e linfócito T *natural killer* (TNK), assim como células não -T do doador e do receptor como APCs, as células T *gama delta* (T $\gamma\delta$) e as células B e NK estão também envolvidas na severidade e manutenção da DECH aguda (116).

DECH Crônica

A DECH crônica acomete os pacientes entre 50^o e o 100^o dias após o transplante, embora este ponto de corte apresente variações. Tem como fatores de risco a ocorrência de DECH aguda prévia, incompatibilidade HLA e idade do receptor. Acomete em torno de 33% dos pacientes que fazem transplante HLA-idêntico e 64% dos pacientes que recebem TCTH com algum grau de incompatibilidade HLA (117, 118). As lesões cutâneas apresentam um aspecto clínico semelhante ao líquen (estrias hiperqueratosas, pápulas e placas), ou ainda eritema e ulcerações (119).

A manifestação da DECH crônica apresenta semelhança clínica com as doenças autoimunes crônicas como esclerose sistêmica progressiva, lúpus eritematoso sistêmico, síndrome de Sjögren, artrite reumatóide, cirrose biliar (120). Neste contexto, embora os mecanismos fisiopatológicos permaneçam ainda não esclarecidos, a DECH crônica é caracterizada pela produção de autoanticorpos, deposição de colágeno e supressão da resposta inflamatória aguda na persistência de estímulo antigênico (121, 122).

Mecanismos potencialmente envolvidos na DECH crônica incluem o estado de quimerismo estável e a disfunção tímica que ocorre após o TCTH alogênico. A permanência de níveis baixos de linfócitos T alogênicos do doador no receptor – condição definida como microquimerismo, pode estar envolvida no desenvolvimento de doenças autoimunes como a esclerodermia e síndrome de Sjögren (123). Por outro lado, a lesão do epitélio tímico pelo tratamento prévio, pelo condicionamento e/ou pela DECH aguda (122) estaria diretamente implicada na incapacidade da seleção negativa

de novas células T com potencial de agressão patológica (124). Os critérios clínicos para o diagnóstico da DECH crônica foram recentemente revisados (119, 125-127).

As atuais recomendações para o diagnóstico da DECH crônica estabelecem que: 1) as lesões sejam diferenciadas da DECH aguda; 2) a presença de pelo menos um sinal clínico diagnóstico de DECH crônica, ou pela presença de espécime tecidual compatível (biópsia); 3) a exclusão de outros possíveis diagnósticos. Estas recomendações resultaram de um consenso entre um painel de especialistas no sentido de padronizar os critérios mínimos para o diagnóstico da DECH crônica e propor um sistema de escore de severidade. Tal sistematização se fez necessária para que o tratamento da DECH crônica possa ser comparado entre os diversos centros de TCTH e melhor administrado (126).

Embora o estudo da DECH crônica fuja ao escopo desta tese, é imprescindível ressaltar que, embora uma causa importante de morte tardia relacionada ao transplante, suas formas menos severas tem um papel reconhecido na maior sobrevida livre de doença (128).

Doença Periodontal

As doenças periodontais se dividem basicamente em gengivites e periodontites, acometendo respectivamente os tecidos marginais e mais profundos que consistem no aparato de sustentação dos dentes. A gengivite é definida como o grau de inflamação dos tecidos gengivais marginais associados ao acúmulo do biofilme supragengival, aferido através do sangramento gengival (129, 130). A periodontite crônica é uma doença infecciosa que resulta na inflamação dos tecidos de suporte que circundam o

dente levando progressivamente a perda de inserção e de estrutura óssea. Apresenta como características, presença de bolsa periodontal e/ou recessão gengival (131).

Definições

O periodonto se define como o conjunto de tecidos situados ao redor dos dentes com a finalidade de relacioná-lo com as estruturas ósseas e protegê-las da ação do meio externo. O periodonto de proteção é composto de gengiva, que é a parte da mucosa oral que reveste os processos alveolares dos maxilares. A gengiva inicia-se na junção mucogengival, estende-se até a porção cervical dos dentes (colo anatômico) por meio de um anel epitelial (epitélio juncional). No palato a gengiva integra a mucosa inserida e queratinizada, constituindo a mucosa palatina. O periodonto de sustentação é composto de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar. O cimento consiste num tecido calcificado de origem mesenquimal que reveste externamente as raízes, o ligamento periodontal consiste num denso tecido conjuntivo, com vasos e células que circundam os dentes e une o cimento ao osso alveolar, desenvolvendo uma função física, formadora, nutricional e sensorial. O processo alveolar se compõe de partes da mandíbula e maxila que formam e fornecem suporte aos alvéolos dos dentes, com a função de distribuir e absorver as forças geradas pela mastigação e outros contatos dentários (131-133).

Classificação

A última classificação da Academia Americana de Periodontia (134) apresenta uma grande divisão das doenças periodontais em Gengivites e Periodontites.

Dentro das gengivites, a forma mais prevalente está associada ao biofilme supragengival, ainda existem as gengivites necrosantes, as gengivites relacionadas a problemas dermatológicos e sistêmicos e relacionadas a outras situações. As periodontites se dividem em periodontites crônicas, agressivas, periodontite necrosante e as periodontites relacionadas a problemas sistêmicos.

Quando se analisa a literatura com relação à definição de “caso de periodontite”, encontra-se uma falta de unanimidade importante. O que se observa é uma série de possibilidades e critérios utilizados pelos autores, no sentido de tentar estabelecer um consenso para facilitar as avaliações em estudos de prevalência da doença, ou mesmo aqueles relacionados a fatores de risco para a periodontite. Uma discussão inicial que ocorre, é em razão de qual parâmetro clínico se basear para definir um caso de periodontite (135, 136). As variáveis clínicas comumente utilizadas são a profundidade de sondagem, o sangramento à sondagem, a perda de inserção e perda óssea radiográfica. A combinação da medida de perda de inserção com a profundidade de sondagem, propicia o fortalecimento do resultado encontrado em relação à utilização de um único critério. A amplitude considerada do critério utilizado também se torna relevante, pois pode haver possibilidade de superestimação da presença da doença ou mesmo a subestimação da própria. A perda de inserção tem

uma razoável acurácia clínica em mensurar a magnitude da perda de estrutura periodontal em uma situação passada de doença, mas não fornece informação sobre a atividade de doença no momento atual (136).

Por exemplo, pode-se estabelecer um critério (137) onde o termo “periodontite estabelecida” se aplica para pacientes que apresentam dois ou mais dentes individuais com ≥ 6 mm de perda de inserção, e que também tenham dois ou mais sítios com profundidade de sondagem ≥ 5 mm. A perda de inserção foi escolhida como primeiro desfecho para a definição de periodontite por apresentar uma forte correlação com a definição histológica de periodontite: migração apical do epitélio juncional para aquém da junção cimento-esmalte e concomitante destruição do ligamento periodontal e osso alveolar. A utilização da profundidade de sondagem como parâmetro para a definição de periodontite, apesar de estar frequentemente associada à doença, muitas vezes ela pode ser interpretada erroneamente. Por exemplo, quando temos um aumento gengival sem ocorrência de perda de inserção existe a formação de uma bolsa, ou quando o aumento da profundidade de sondagem pode ser minimizado ou mascarado pela presença de recessão gengival.

Também foi proposta a diferenciação da severidade da doença periodontal em leve (perda de inserção entre 1 e 2 mm), moderada (perda de inserção de 3 a 4 mm) e avançada (perda de inserção maior ou igual a 5 mm) (138).

A profundidade de sondagem utilizada isoladamente poderia superestimar a extensão e severidade da doença em indivíduos jovens, e subestimar a doença em idosos. Esta situação está relacionada à presença de aumento gengival e recessão gengival nos dois grupos, respectivamente (139, 140).

Com relação à utilização de exames radiográficos para estimar a presença e extensão de doença periodontal em estudos transversais epidemiológicos, é importante ressaltar que a imagem radiográfica descreve a experiência cumulativa de doença que o indivíduo teve. Normalmente apresenta uma forte associação com a idade, porém não com a atividade de doença periodontal atual (141). Estudos comparativos têm demonstrado que as radiografias panorâmicas subestimam a perda óssea entre 13% e 32%, enquanto as radiografias *bitewing* e periapicais subestimam a extensão da perda óssea em 11% a 23% e 9% a 20%, respectivamente (142).

Quando da realização de uma avaliação epidemiológica no EUA (143), uma classificação para o estado gengival e periodontal foi proposta:

Gengivite limitada - dois a quatro dentes ou (25% – 50% dos dentes examinados) com sangramento gengival.

Gengivite extensa - cinco ou mais dentes (mais de 50% dos dentes examinados) com sangramento gengival.

A periodontite foi definida como um estado de doença na qual se evidencia a destruição dos tecidos de suporte periodontal pela presença de uma profundidade de sondagem e perda de inserção ≥ 3 mm em um mesmo sítio. Para extensão e severidade da doença foi proposta a seguinte classificação:

(0) – **Gengivite**: Presença de placa visível e sangramento gengival.

(1) - **Periodontite Leve**

a) um ou mais dentes com profundidade de sondagem ≥ 3 mm; ou b) um ou mais dentes posteriores com envolvimento de furca grau 1.

(2) - **Periodontite Moderada**

a) Um ou mais dentes com profundidade de sondagem ≥ 5 mm; ou b) dois ou mais dentes (30% ou mais dos dentes examinados) com profundidade de sondagem ≥ 4 mm; ou c) um ou mais dentes posteriores com envolvimento de furca grau 1, acompanhado de profundidade de sondagem ≥ 3 mm.

(3) - Periodontite Avançada

a) Dois ou mais dentes (30% ou mais dos dentes examinados) com profundidade de sondagem ≥ 5 mm; ou b) quatro ou mais dentes (60% ou mais dos dentes examinados) com profundidade de sondagem ≥ 4 mm; ou c) um ou mais dentes posteriores com envolvimento de furca grau 2.

Mais recentemente o mesmo autor sugere que a profundidade de sondagem poderia representar isoladamente o estado atual de inflamação periodontal (135).

Durante o 5º Encontro da Academia Européia de Periodontia foram discutidos critérios para definir a presença de doença periodontal. Inicialmente, foram estabelecidas diretrizes baseadas em considerações como: a presença de doença não pode ser estabelecida apenas por um único parâmetro; enquanto o histórico de doença (o passado) é mensurado pela perda de inserção e perda óssea alveolar, a atividade da doença é aferida pela profundidade de sondagem e sangramento à sondagem. Assumindo que a perda de inserção é o parâmetro que mensura cumulativamente a experiência com a doença periodontal ao longo do tempo, esta variável de desfecho deve ser relatada como a principal para estudos de fatores de risco para periodontite. Por conseguinte, sugerem-se dois níveis de definição de periodontite:

- perda de inserção proximal ≥ 3 mm em dois ou mais dentes não adjacentes; critério com maior sensibilidade de definir casos de doença (considera casos incipientes);

- perda inserção proximal de ≥ 5 mm em mais de 30% dos dentes presentes; permite maior especificidade na definição de casos que envolvam maior extensão e severidade da doença periodontal.

A utilização de sítios proximais de dentes não adjacentes é com objetivo de minimizar a possibilidade de mensuração da perda de inserção vestibular / lingual ou em dentes adjacentes por razões outras que não a periodontite. Cabe ressaltar que os critérios propostos de definição de casos são direcionados para estudos de risco e não para estudos de prevalência em grupos e/ou faixas etárias determinadas. Desta forma a utilização de outros critérios para a definição de casos de periodontite pode ser utilizada de acordo com objetivos específicos em estudos individuais (136).

Em relação à saúde periodontal, existe unanimidade em considerar que a ausência de sangramento à sondagem periodontal pode ser considerado saúde periodontal (144).

Epidemiologia

É inerente a este aspecto, a grande variabilidade dos resultados com relação à prevalência da periodontite em diferentes regiões do mundo (143, 145-147). Questiona-se, se esta diferença de prevalência da doença periodontal entre os estudos representaria a real distribuição da doença nas diversas regiões do mundo ou seria por problemas metodológicos relacionados às amostragens populacionais (148).

Uma avaliação epidemiológica realizada nos EUA, utilizando sistema de avaliação parcial estimou que 35% dos adultos com 30 anos ou mais apresentam alguma forma de periodontite (143). Além disso, a doença apresenta uma distribuição de 22% na sua forma leve e 13% nas formas moderada e severa. Foi observado também um aumento da prevalência da doença com a idade, com 29% da população entre 30 e 54 anos apresentando periodontite contra uma prevalência de 50% entre 54 e 90 anos.

Durante levantamento epidemiológico nacional realizado no Reino Unido, utilizando o Índice Periodontal Comunitário foi observado que 42% da faixa etária de 35-44 anos e 70% da faixa de 55-64 anos apresentavam mais de 3,5mm de perda de inserção periodontal. (147). No Kenya, encontra-se praticamente 90% da população com mais de 35 anos apresentando um nível de destruição periodontal maior que 4mm (145).

No Brasil, dois estudos realizados, em 1986 e 1991, utilizaram o Índice Periodontal Comunitário de Necessidades de Tratamento (CPITN) para estimar a doença periodontal destrutiva na população das capitais dos 16 maiores estados e da cidade do Rio de Janeiro, respectivamente. O estudo de 1986 (Ministério da Saúde, Censo Nacional de Saúde Bucal, 1988) estimou uma prevalência de um ou mais sítios com profundidade de sondagem maior ou igual a 5mm, em 5% na faixa etária de 35-44 anos, e de 7% na faixa etária de 50-59 anos. Já o estudo realizado, na cidade do Rio de Janeiro (146) encontrou uma prevalência de 20% na faixa de 35-44 anos e 49% na faixa de 55-64 anos.

Mais recentemente, através de uma amostra probabilística de 853 indivíduos dentados, com idade de 30 até 103 anos, em uma região urbana na Região Sul do

Brasil, foi estimada a prevalência e extensão de perda de inserção nesta população (148). Na amostra estudada foi observada uma alta ocorrência de perda de inserção, aproximadamente 97%, 79% e 52% dos indivíduos apresentavam perda de inserção de ≥ 3 mm, ≥ 5 mm e ≥ 7 mm, respectivamente. Além disso, o número de dentes envolvidos por indivíduo para cada faixa de perda de inserção foi de 68%, 36% e 16%, respectivamente. Tanto o percentual de indivíduos assim como o percentual de dentes por indivíduo com perda de inserção aumentou em função da idade, com perda de inserção ≥ 5 mm em 18%, 42% e 48% dos dentes em indivíduos da faixa etária de 30-39 anos, 40-49 anos e 50-59 anos, respectivamente. Homens apresentam maior prevalência de perda de inserção e frequência de dentes com perda de inserção que mulheres. Não-brancos apresentaram no estudo, significativamente maior prevalência de perda de inserção moderada que brancos. Foi observada forte relação entre perda de inserção e o nível socioeconômico (149).

Etiopatogenia

Aspectos microbiológicos

A relação da doença periodontal com a presença de espécies bacterianas tem sido por muitos anos avaliada e reavaliada por uma série de pesquisadores (150, 151). Parece que a evolução dos conceitos nesta questão caminha muito lentamente devido, inicialmente, à premissa que poucas espécies bacterianas seriam periodontopatogênicas e também da ineficiência das técnicas de identificação de um

número maior de espécies bacterianas em um número maior de amostras de áreas com uma microbióta complexa.

Desde as definições dos periodontopatógenos mais associados com doença periodontal em estudos observacionais, têm sido sugerida uma classificação em grupos de acordo com a sua patogenicidade, e frequência nos sítios periodontais (152, 153). O agrupamento de bactérias em chamados “complexos” foi proposto para tentar uniformizar as relações com o grau de severidade da doença periodontal com os tipos bacterianos que habitam a área supra e subgingival. Para tanto foi criado um sistema que segmenta os patógenos em grupos de cores. Em ordem decrescente, os mais relacionados com a periodontite são o **complexo vermelho**: (*T. forsythia*; *P. gingivalis*; *T. denticola*); o **complexo laranja** (*C. gracilis*; *C. rectus*; *C. showae*; *E. nodatum*; *F. nucleatum ss nucleatum*; *F. nucleatum ss polymorphum*; *F. nucleatum ss vincentii*; *F. periodonticum*; *P. micros*; *P. intermédia*; *P. nigrescens*; *S. constellatus*; o **complexo verde** (*A. actinomycetemcomitans*; *C. gingivalis*; *C. ochracea*; *C. sputigena*; *E. corrodens*); o complexo amarelo; o complexo roxo, actino e outros (153).

Tem sido evidenciado que tanto o estado inflamatório da bolsa periodontal como a presença do próprio sulco gengival ou bolsa periodontal tem importância na proporção e tipo de colonização bacteriana que ocorre a baixo da margem gengival (154).

A maioria dos patógenos do complexo laranja e a totalidade do complexo vermelho aumenta significativamente com o aumento da profundidade de sondagem, da mesma forma a presença de bactérias componentes do complexo vermelho e laranja aumenta significativamente em sítios com sangramento a sondagem periodontal, parâmetros clínicos utilizados para determinar atividade inflamatória

periodontal (154). Uma explicação para esta situação é que a bolsa periodontal sendo mais profunda, os patógenos do complexo vermelho têm maior superfície de epitélio da bolsa para sua adesão (155). Com o aprofundamento da bolsa periodontal aumentam as fontes energéticas não derivadas de carboidrato e sim derivadas de hidrogênio, produtos ácidos finais, formato, da degradação protéica que suprem espécies assacarolíticas do complexo vermelho e laranja (156).

Parece haver muito mais diferenças significativas entre a proporção de bactérias do biofilme supragengival em relação ao biofilme subgengival em pacientes com periodontite do que em pacientes saudáveis. Com o desenvolvimento da periodontite, há um aumento na proporção de *Actinomyces* e de espécies do complexo verde, além de um significativo aumento da espécie *N. mucosa* no biofilme supragengival e também, um significativo aumento na proporção de componentes do complexo laranja e do complexo vermelho no biofilme subgengival. Existe uma tendência natural de haver uma proporção maior de *Actinomyces* e *Streptococcus sanguis* nos sítios supragengivais e de espécies do complexo laranja nos sítios subgengivais (152).

A microbióta subgengival associada aos quadros de gengivite é predominantemente gram-positiva (*Streptococcus* spp., *Actinomyces* spp., *Peptostreptococcus micros*), mas também incluem bactérias gram-negativas como o *Fusobacterium nucleatum* e a *Prevotella intermédia* (157).

A progressão da periodontite e a formação da bolsa periodontal tem sido associada com a presença e crescimento de determinadas bactérias gram-negativas estritas ou bactérias anaeróbicas facultativas como o *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*,

Treponema spp. e *Fusobacterium nucleatum*. Bactérias como *staphylococci*, *bacillus entéricos*, *Pseudomonasspp.*, fungos como (*Candida albicans*) e vírus (herpesvírus) também podem habitar o biofilme subgengival da bolsa periodontal (158-160).

Embora sejam encontrados mais de 500 espécies bacterianas na bolsa periodontal, o *Porphyromonas gingivalis* e o *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* são considerados os principais patógenos periodontais com capacidade de invasão das células epiteliais. Este fato confere a essas bactérias mecanismos de evasão frente ao sistema imune do hospedeiro e grande resistência ao tratamento com antibióticos.

Patogenia

Normalmente a ausência de adequada higiene bucal, acarreta no acúmulo de um biofilme bacteriano na superfície dentária contígua a gengiva marginal. Considerado o fator etiológico da gengivite, o biofilme supragengival caracteriza-se por uma estrutura organizada e complexa que com o tempo produz diversos fatores de virulência, por exemplo, o Lipopolissacáride (LPS), que pode levar a destruição direta dos tecidos periodontais ou estimular a cascata de mecanismos inflamatórios locais de defesa do hospedeiro, levando à exacerbação da destruição tecidual (161).

As gengivites apresentam caráter reversível sendo relacionadas ao acúmulo do biofilme supragengival numa interação de causa-efeito. A gengivite caracteriza-se por edema marginal, sangramento na sondagem marginal, muitas vezes vermelhidão, mas sem a ocorrência da perda de inserção dos tecidos periodontais. Observa-se uma microbiota preferentemente gram-positiva, mas que com o tempo, algumas bactérias

gram-negativas (*Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum*) passam a colonizar os sítios inflamados também (78, 162). Embora nem todas as gengivites evoluam para uma periodontite, não existe um consenso se toda periodontite é precedida de alguma forma por uma gengivite. Mas parece lícita a observação de que alterações no ambiente gengival induzidas por produtos tóxicos e componentes pró-inflamatórios produzidos por bactérias associadas à gengivite (*Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*), poderiam ser um fator predisponente para o aumento da concentração de periodontopatógenos dentro do biofilme subgengival, principalmente em pacientes mielossuprimidos (159).

Durante as décadas de 70 e início de 80, acreditava-se que todos pacientes que apresentassem gengivite seriam acometidos no decorrer do tempo pela periodontite. Trabalhos longitudinais demonstraram que em populações sem assistência odontológica, uma parcela dos indivíduos não apresentava periodontite, apesar de serem acometidos por gengivite. Esta observação já denota a especificidade da periodontite (163, 164).

As periodontites são caracterizadas pela perda de inserção do dente, associada aos sinais clínicos inflamatórios como sangramento à sondagem periodontal, profundidade de sondagem aumentada, e muitas vezes acompanhada de mobilidade e movimentações dentárias. As periodontites diferentemente das gengivites consistem em uma doença infecto - inflamatória, de carácter multifatorial e muitas vezes comportamental que se não tratadas podem levar a perda dos dentes.

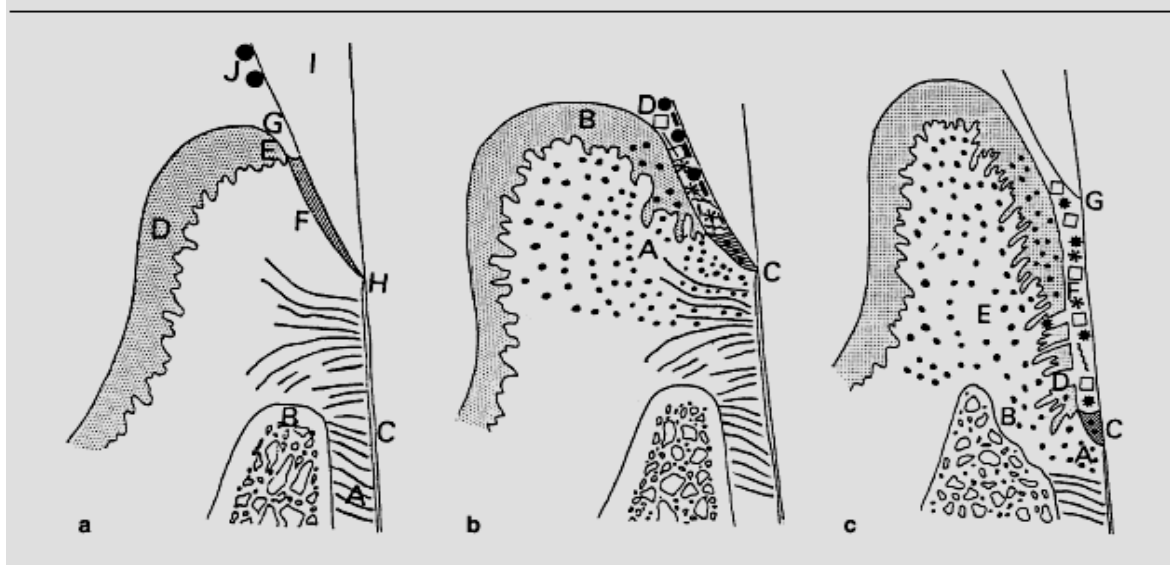


Figura 3 – Desenho esquemático do processo de formação da bolsa periodontal em nível da união dento - gengival. Adaptado de (157).

a- Periodonto saudável: A) ligamento periodontal, B)osso alveolar, C) cimento, D) epitélio oral, E) epitélio sulcular, F) epitélio juncional, G) sulco gengival, H) junção cimento-esmalte, I) esmalte dentário, J) placa supragengival. **b- Gingivite estabelecida:** A) infiltrado inflamatório do tecido conjuntivo gengival, epitélio sulcular e epitélio juncional; B) edema do tecido gengival levando ao aprofundamento do sulco gengival, C) epitélio juncional na junção cimento-esmalte; D) placa subgengival. **c- Lesão Periodontal:** A) perda de tecido conjuntivo de inserção; B) perda da crista óssea alveolar; C) migração apical do epitélio juncional; D) ulceração do epitélio da bolsa periodontal; E) infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo gengival, epitélio juncional e epitélio sulcular F) aprofundamento da bolsa periodontal e aumento do número de bactérias patogênicas.

O modelo que se preocupa em explicar o estabelecimento e progressão da doença periodontal, não tem uma característica linear (165). Parece que a relação entre o desafio bacteriano e a resposta imunológica do hospedeiro é modificada por aspectos genéticos, comportamentais e sistêmicos, e desta maneira influenciando na determinação da expressão clínica de estabelecimento e progressão da doença

periodontal (166). Embora o desafio bacteriano seja o primeiro fator de iniciação, uma série de outros fatores parecem atuar como modificadores da expressão da doença, mas não como causadores. Os mecanismos imunoinflamatórios do hospedeiro são ativados pela presença bacteriana e de seus produtos. A partir daí temos a ativação de neutrófilos e anticorpos com o objetivo de conter o desafio bacteriano presente dentro do sulco / bolsa periodontal (Figura 3). Neste sentido, a resposta imune ativa a produção de citocinas (IL2, IL6, TNF- α , PGE₂) e metaloproteinases da matriz extracelular que são responsáveis por estimular o dano tecidual ao tecido conjuntivo e ao tecido ósseo, modulando assim a expressão clínica da doença periodontal. (165). O papel destas citocinas está fortemente relacionado com a destruição dos tecidos periodontais, incluindo a reabsorção de colágeno e de tecido ósseo. Em modelos experimentais em cães (167) e em primatas (168, 169) foi observado que tratamentos com inibidores de PGE₂ e inibidores de IL1 e TNF- α promovem a diminuição da progressão da perda óssea periodontal e do tecido conjuntivo de inserção, respectivamente.

A presença de fatores modificadores do processo patogênico da doença periodontal é evidenciada por estudos de risco, onde fica claro que fatores de risco comportamentais (tabagismo) (170, 171) ambientais e mesmo genéticos (diabetes) (172, 173) atuam modificando a resposta imunoinflamatória do hospedeiro, agindo diretamente no metabolismo ósseo e tecidual. As diferentes manifestações clínicas da doença periodontal na verdade são o resultado da expressão biológica de uma cascata imunoinflamatória que envolve o tecido conjuntivo e ósseo, sendo determinada por fatores microbiológicos em combinação com fatores ambientais e um padrão de expressão genética individual. A relação entre as expressões genéticas e

protéicas associadas a determinados componentes da modulação da inflamação periodontal tem sido o escopo mais recente dos pesquisadores (174).

A infecção periodontal como fator de risco para infecções durante o TCTH:

Bacteremia

Na bolsa periodontal habitam uma série de periodontopatógenos organizados através de um biofilme subgingival. Neste complexo e amadurecido sistema, algumas bactérias destacam-se por sua alta capacidade de virulência e de mecanismos evasivos intrínsecos. Tem sido demonstrado em estudos com número reduzido de pacientes com câncer que a presença de inflamação periodontal seria um potencial fator para que as bactérias da bolsa periodontal penetrassem na corrente sanguínea, disseminando-se através do corpo e por consequência desencadeando a ativação da cascata de eventos inflamatórios com objetivo de eliminar a infecção (75, 80, 175). Foi demonstrado que um paciente que apresente periodontite severa ou moderada teria na bolsa periodontal uma quantidade de ulceração epitelial em contato com bactérias, equivalente a área da palma de uma mão (176).

O periodonto foi o local na boca com a maior incidência de infecção (25%) quando da análise do papel de uma infecção oral nos episódios sistêmicos de infecção aguda em pacientes com leucemia não linfocítica aguda. Quanto maior foi a presença de infecções orais, mais profunda foi a neutropenia dos pacientes (175).

Em pacientes com leucemia aguda foi observada a presença na corrente sanguínea de bactérias como o *Enterobacteriaceae spp*, *Pseudomonadaceae spp.* e *Staphylococci*, as quais fazem parte do biofilme das bolsas periodontais. Além disso, o processo inflamatório associado à atividade de doença periodontal tem sido amplamente relacionado como potencial porta de entrada de patógenos na corrente sanguínea em pacientes imunossuprimidos, com diminuição da expectativa de vida (75, 80, 175, 177-179).

Cabe ressaltar que em pacientes neutropênicos os sinais e sintomas clínicos podem estar minimizados e desta forma a infecção periodontal subestimada (78).

Em 22 pacientes com leucecemia não linfocítica aguda foi avaliada a prevalência de infecções orais no momento do diagnóstico, bem como as exarcebações ocorridas durante a remissão pelo condicionamento. Das 47 infecções relatadas durante o período de neutropenia, 28% foram de origem periodontal, sendo que nenhuma delas resultou em bacteremia ou septicemia. Foi relatada uma prevalência de mucosite em torno de 11% nesta amostra de pacientes (178).

A doença periodontal tem sido citada como fator de risco de vida por ser a porta de entrada para a invasão sistêmica por bactérias gram-negativas (*Capnocytophaga* e *Fusobacterium nucleatum*) em pacientes neutropênicos e portadores de câncer (180, 181). A ocorrência de infecção severa pela bactéria anaeróbica gram positiva (*Fusobacterium nucleatum*), associada a mortalidade, foi relatada em três pacientes neutropênicos submetidos a quimioterapia durante o TCTH (82). Cabe lembrar que esta bactéria é um reconhecido patógeno periodontal. Por outro lado, indivíduos que apresentam infecção periodontal e foram submetidos à quimioterapia para tratamento de linfoma, sofreram mais episódios febris que indivíduos periodontalmente saudáveis.

Uma coorte retrospectiva (182) foi desenvolvida para avaliar se a doença periodontal avançada foi um fator de risco para septicemia e mortalidade relacionada ao transplante nos 100 primeiros dias pós TCTH. Os 77 pacientes participantes do estudo receberam avaliação periodontal basicamente através de radiografias panorâmicas. O status periodontal foi estabelecido pelo percentual de perda óssea alveolar, aferido no exame radiográfico. Nos pacientes que apresentavam sinais clínicos de septicemia, foi realizada coleta sanguínea e posterior cultura para investigar a presença de potenciais patógenos periodontais. Foi encontrada uma grande incidência de septicemia neste grupo de pacientes (64%) associada à cultura bacteriana relacionada com *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mitis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *Staphylococcus aureus*, e *Escherichia coli*. Na análise de regressão logística não foi encontrada associação significativa entre o fato de o paciente ser categorizado de doente periodontal e a ocorrência de septicemia. Nos testes de cultura não foram encontrados patógenos periodontais associados à septicemia.

Antes da publicação deste estudo, o consenso do Instituto Nacional de Saúde do EUA (183) relacionado às complicações orais no tratamento de câncer reconhece que os “focos” de origem dentária são potenciais fontes de infecções sistêmicas e precisam ser eliminados. Atualmente dentes com doença periodontal são considerados focos crônicos de infecção oral e potenciais causadores de septicemia em pacientes neutropênicos. Esta recomendação foi reforçada, mais atualmente, por diversas outras opiniões, culminando com publicação de um “guideline” a partir de uma monografia chamada *Oral Health in Cancer Therapy* (184).

Componentes inflamatórios e DECH

Como já ressaltado, os componentes da parede celular das bactérias anaeróbicas gram-negativas como o Lipopolisacáride (LPS) podem atuar diretamente induzindo a destruição tecidual por sua capacidade antigênica e/ou estimulando a ativação da cascata inflamatória local. Em decorrência desta hipermodulação acontece o aumento da produção de citocinas inflamatórias como a IL6, PGE₂, TNF α ; IL2 (161).

Evidências sugerem que a combinação da presença de periodontopatógenos, dos componentes de sua membrana celular e as citocinas envolvidas no processo inflamatório desencadeado pelo hospedeiro (IL-2, IL-1 e TNF α) poderiam sofrer uma translocação contínua para a corrente circulatória ou mesmo para vias linfáticas através do epitélio ulcerado e inflamado bolsa periodontal, determinando o surgimento de uma resposta inflamatória e imunológica sistêmica (185-187). A ativação da cascata da resposta inflamatória sistêmica poderia ser induzida por substâncias bacterianas supra citadas e por citocinas envolvidas no processo infecto-inflamatório local na bolsa periodontal (188).

Sabe-se que dentro da patogenia da DECH e da mucosite temos uma série de eventos de caráter modulador ou mesmo hiperregulador da cascata inflamatória. A indução destes eventos, no caso, é em decorrência de estímulos provocados geralmente pela ação do tipo de condicionamento relacionado ao TCTH. Mediadores inflamatórios como IL-6, IL-2, IL-1 e TNF α presentes no desenvolvimento da DECH e mucosite também são amplamente relacionados com o processo inflamatório da doença periodontal. Desta forma a presença de um processo infecto-inflamatório periodontal em pacientes que recebem condicionamento prévio ao TCTH, poderia ter

um efeito sinérgico com relação aos mecanismos fisiopatogênicos e de morbidade da DECH e da mucosite.

Estratégias na prevenção de complicações infecciosas

Quando frente à indefinição do tipo de conduta a ser utilizada em determinada situação clínica nas diversas áreas de medicina, as entidades ou sociedades específicas elaboram protocolos de condutas clínicas para orientar os profissionais nas mais diversas situações clínicas das diferentes especialidades médicas. Logicamente estes protocolos, devem ser embasados cientificamente para que tenham validade na comunidade médica.

O sistema para hierarquizar as recomendações clínicas dos “*guidelines*” é definido de acordo com a categoria, definição e força da recomendação citada (87).

Para tanto, observa-se as seguintes divisões:

- A- Boa evidência para amparar a recomendação utilizada.
- B- Moderada evidência para amparar a recomendação utilizada.
- C- Fraca evidência para amparar a recomendação.
- D- Moderada evidência para amparar a recomendação contra o uso.
- E- Boa evidência para amparar a recomendação contra o uso.

Qualidade da evidência

Nível 1 - Evidência de 1 ensaio clínico randomizado, estudo controlado.

Nível 2 - Evidência de 1 estudo bem controlado sem randomização; de um estudo de coorte ou um estudo de caso-controle analítico (preferentemente de 11 centros de pesquisa), de múltiplos casos seriados ou mesmo de resultados impactantes de experimentos não controlados.

Nível 3 - Evidência de opiniões pessoais de autoridades na área, baseadas na experiência clínica, estudos descritivos ou sugestões de comitês de conhecedores do assunto.

O desenvolvimento de estratégias para a prevenção de infecções oportunistas em pacientes que realizam o transplante de medula óssea tem sido o escopo das mais variadas instituições e entidades ligadas ao TCTH. Quando da análise do conhecimento e da atenção dada à condição bucal dos pacientes transplantados ou que receberão TCTH, observa-se que as recomendações preconizadas são todas na maioria relacionadas ao nível de qualidade de evidência nível 3 (189). Esta realidade de certa forma tem preocupado os profissionais envolvidos.

A partir dos meados da década de 80 o termo “cuidados de saúde bucal medicamente necessários” começou a ser citado (190). Inicialmente esta questão era vista dentro de um paradigma em que a condição sistêmica teria um impacto sobre as condições bucais pré-existentes, e o tratamento das patologias bucais levaria a um quadro final de saúde bucal. A partir de um amplo debate sobre a reforma da saúde (191), foi discutida a relação inversa, onde a existência de pouca evidência relacionada ao efeito da saúde bucal sobre as enfermidades sistêmicas foi observada. No entanto, esta discussão, ainda acalorada entre muitos, tende a arrefecer a medida que o conhecimento da fisiopatogenia das doenças bucais avança. Se as doenças odontológicas tiverem efetivamente um impacto na morbi-mortalidade durante o

tratamento de doenças sistêmicas, a eliminação daquela variável proporcionaria melhores desfechos positivos de saúde (diminuído a morbidade e mortalidade) levando também a um menor custo por parte das redes de atenção em saúde.

Estudos de associação têm demonstrado a relação entre a má higiene bucal e doença periodontal com outras condições sistêmicas. Associações têm sido investigadas com relação às infecções respiratórias (192, 193), doenças cardiovasculares e infarto (194), controle do diabetes (195-197), baixo peso e parto prematuros (198, 199).

Desta maneira, a recomendação que pacientes candidatos ao transplante de medula óssea devam ser avaliados em relação às doenças bucais, bem como promover sua eliminação, já é rotina dos serviços de TCTH (200), embora a preocupação primária ainda gire em torno da infecção endodôntica.

Vários estudos demonstram uma melhor evolução das manifestações das infecções bucais em pacientes transplantados, quando da participação dos pacientes em programas de atenção específica, seja através do controle mecânico associado ou não ao controle químico de placa supra e subgengival (201-203).

Numa visão mais direcionada para a presença da doença periodontal, tem sido demonstrado que um quadro sistêmico de leucemia aguda pode provocar um aumento gengival com hemorragia associado ou não com necrose tecidual, assim como a leucemia crônica, porém como menor severidade (204). A exacerbação da doença periodontal pré-existente em pacientes com neutropenia, levando ao aumento da morbidade após o TCTH, tem sido relatada (175, 178). Até o surgimento de granuloma piogênico eventualmente, pode ser observado neste grupo de pacientes (205). Além disso, tem sido sugerida em alguns casos uma rápida perda óssea em pacientes com

provável periodontite pré-existente (206). Por outro lado, não foram encontradas diferenças significativas durante os três e seis meses de observação pós-TCTH de 37 pacientes, em relação à perda clínica de inserção, índice gengival e na presença de periodontopatógenos (207). No entanto, a grande maioria dos pacientes submetidos ao TCTH para o tratamento de leucemia se encontra em remissão completa da doença, não havendo, portanto, aumento gengival secundário à infiltração leucêmica.

A avaliação das condições bucais de pacientes submetidos ao TCTH e sua influência nas complicações do período pós TCTH, bem como a possível ação de protocolos de cuidados bucais tem sido aferido por poucos estudos. A aplicação de um protocolo de atendimento odontológico prévio ao condicionamento realizado no TCTH foi testada em um grupo de 31 pacientes candidatos a TCTH alogênico e 15 pacientes a TCTH autólogo. As condições extra e intrabucal foram aferidas nos pacientes através da presença de depósitos, de cáries, de restos radiculares, do envolvimento periodontal, das lesões em mucosa e na língua e linfadenopatia. Os achados mais comuns nos pacientes foram a presença de cálculo (54%) e de cáries (45%). Na avaliação radiográfica os achados mais frequentes foram a cárie (52%) e a reabsorção alveolar-periodontite (37%). A indicação de raspagem, restaurações, endodontias e extrações, foram tratamentos realizados para a eliminação dos focos infecciosos previamente ao TCTH. O estudo demonstrou a grande necessidade de tratamento odontológico nos pacientes que se submetem ao TCTH, bem como a importância da abordagem terapêutica prévia ao TCTH (208).

Em duas unidades de um centro de TCTH foi implementado e avaliado um modelo de atendimento direcionado aos cuidados odontológicos com pacientes que se submeteram ao TCTH. Este modelo preconiza estratégias de colaboração, de consulta clínica, de educação e de avaliação por parte da equipe de saúde envolvida. Todos os

pacientes aderiram ao tipo de atendimento, evidenciando que protocolos de atendimento neste tipo de pacientes, que devem recomendar uma grande ênfase nos cuidados da saúde bucal, boa documentação e uma adequada educação da equipe de saúde pode ser efetiva (209).

Um estudo observacional, realizado em 38 pacientes com infecção dentária/periodontal submetidos ao TCTH testou o protocolo de eliminação de qualquer tipo de foco de origem dentária / periodontal, ao qual são submetidos os pacientes que realizam quimioterapia prévia ao TCTH. Dos 21 pacientes que apresentavam infecção severa e tinham risco de necessitar de alguma intervenção odontológica, dois desenvolveram abscessos agudos, porém o condicionamento dos pacientes não precisou ser descontinuado. A conclusão foi que pacientes com presença de infecções crônicas de origem dental / periodontal podem realizar a quimioterapia sem intervenção odontológica prévia, devido a baixa ocorrência da transformação de infecções crônicas em quadros agudos, além do que quando da necessidade de intervenção, esta não impossibilitou o condicionamento pré-TCTH (210).

Um grupo de 58 pacientes (211) submetidos ao TCTH alogênico e autólogo foram divididos em dois grupos em função da presença ou ausência (pacientes tratados) de focos dentários no momento do transplante. Na avaliação do impacto da presença de focos dentários na presença de infecção pós-transplante e na taxa de sobrevida não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Para a DECH aguda foi encontrada uma significativa associação com focos dentários, especialmente com dentes impactados e infecções periapicais. A presença de foco dentário também não alterou a incidência de mucosite neste grupo de pacientes.

Recentemente, em uma análise retrospectiva, a prevalência de mucosite oral foi avaliada em 96 pacientes que receberam TCTH alogênico consecutivamente entre (1998-2006). Os pacientes transplantados até 2003 não foram submetidos a qualquer tratamento dentário sistemático pré-transplante. O programa de cuidados com a saúde bucal, iniciado em 2004, que incluía a remoção de todos os potenciais focos de infecção da cavidade bucal previamente ao TCTH, juntamente com a instrução e orientação para os cuidados de higiene bucal, até que os pacientes alcançassem um índice de placa corada inferior a 20%, diminuiu significativamente a incidência de mucosite oral nos pacientes ($p= 0,024$), mesmo quando ajustado para o tipo de condicionamento (212).

Embora a higiene bucal adequada, assim como o tratamento endodôntico, esteja emergindo como um consenso baseado em evidências, no manejo dos pacientes submetidos ao TCTH, o impacto da doença periodontal com atividade inflamatória/infecciosa nos desfechos do transplante ainda não foi adequadamente avaliado.

III OBJETIVOS:

Objetivo Principal:

Avaliar se existe associação da presença da inflamação periodontal e de periodontopatógenos com as complicações imediatas do TCTH.

Objetivos secundários:

- 1) Avaliar a saúde periodontal de pacientes submetidos a TCTH alogênico e autólogo, no período pré-transplante
- 2) Avaliar a incidência de mucosite na amostra estudada
- 3) Avaliar a incidência de infecções sistêmicas na amostra estudada, no período pré-pega
- 4) Avaliar a taxa de positividade das hemoculturas
- 5) Avaliar o tempo de pega
- 6) Avaliar a incidência de DECH aguda nos primeiros 100 dias
- 7) Avaliar a taxa de mortalidade nos primeiros 100 dias
- 8) Detectar por reação da polimerase em cadeia (PCR) a bactéria *Porphyromonas gingivalis* (complexo vermelho)
- 9) Detectar por (PCR) a bactéria *Fusobacterium nucleatum* (complexo laranja)

10) Detectar por (PCR) a bactéria *Prevotella intermedia* (complexo laranja); e

11) Detectar por (PCR) a bactéria *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (complexo verde).

Referências da revisão da literatura:

1. Gale RP, Bortin MM, van Bekkum DW, Biggs JC, Dicke KA, Gluckman E, et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol.* 1987 Dec;67(4):397-406.
2. Rowlings PA, Przepiorka D, Klein JP, Gale RP, Passweg JR, Henslee-Downey PJ, et al. IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br J Haematol.* 1997 Jun;97(4):855-64.
3. Weisdorf D, Hakke R, Blazar B, Miller W, McGlave P, Ramsay N, et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease in histocompatible donor bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1991 Jun;51(6):1197-203.
4. Hahn T, McCarthy PL, Jr., Zhang MJ, Wang D, Arora M, Frangoul H, et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplants for adults with leukemia. *J Clin Oncol.* 2008 Dec 10;26(35):5728-34.
5. Silla L, Fischer GB, Paz A, Daudt LE, Mitto I, Katz B, et al. Patient's socioeconomic status as a prognostic factor for allo-SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2008 Nov 3.
6. Yakoub-Agha I, Mesnil F, Kuentz M, Boiron JM, Ifrah N, Milpied N, et al. Allogeneic marrow stem-cell transplantation from human leukocyte antigen-identical siblings versus human leukocyte antigen-allelic-matched unrelated donors (10/10) in patients with standard-risk hematologic malignancy: a prospective study from the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cell Therapy. *J Clin Oncol.* 2006 Dec 20;24(36):5695-702.
7. Kolb HJ. Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood.* 2008 Dec 1;112(12):4371-83.
8. Bondurant M, Koury M. Origin and development of blood cells. In: G L, J F, J L, editors. *Wintrobe's Clinical Hematology.* 10 ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1999.

9. Buza-Vidas N, Luc S, Jacobsen SE. Delineation of the earliest lineage commitment steps of haematopoietic stem cells: new developments, controversies and major challenges. *Curr Opin Hematol.* 2007 Jul;14(4):315-21.
10. Quesenberry PJ, Colvin G, Dooner G, Dooner M, Aliotta JM, Johnson K. The stem cell continuum: cell cycle, injury, and phenotype lability. *Ann N Y Acad Sci.* 2007 Jun;1106:20-9.
11. Emerson S. The Stem Cell Model of Hematopoiesis. In: Hoffman R, Benz E, Shattil S, Furie B, Cohen H, editors. *Hematology - Basic Principles and Practice.* New York: Churchill Livingstone; 1991. p. 71-81.
12. Hoffmann RG. *Hematology - Basic Principles and Practice.* Fourth, editor. Philadelphia: Elsevier; 2005.
13. Lensch W. [cited]; Available from: http://images.google.com/imgres?imgurl=http://daley.med.harvard.edu/assets/Willy/hematopoiesis.jpg&imgrefurl=http://daley.med.harvard.edu/assets/Willy/willy.htm&usq=__WZY8EwnmR1i0zvV00IE9joBD-rk=&h=1590&w=1380&sz=482&hl=pt-BR&start=2&tbnid=WbI3G-1QENeSLM:&tbnh=150&tbnw=130&prev=/images%3Fq%3Dhematopoiesis%26gbv%3D2%26hl%3Dpt-BR%26sa%3DG.
14. Silla LM, Pincus SM, Locker JD, Glover J, Elder EM, Donnenberg AD, et al. Generation of activated natural killer (A-NK) cells in patients with chronic myelogenous leukaemia and their role in the in vitro disappearance of BCR/abl-positive targets. *Br J Haematol.* 1996 May;93(2):375-85.
15. Baelum V, Wen-Min L, Fejerskov O, Xia C. Tooth mortality and periodontal conditions in 60-80-year-old Chinese. *Scand J Dent Res.* 1988 Apr;96(2):99-107.
16. Long G, Blume K. Allogenic and Autologous Marrow Transplantation. In: Marshall A, Lichtman, Beutler BE, Thomas J, Kipps U, Kenneth K, et al., editors. *Williams Hematology.* New York: McGraw Hill; 1995.

17. McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA, Sandmaier BM, Molina AJ, Maloney DG, et al. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood*. 2001 Jun 1;97(11):3390-400.
18. Carbone F, Bevan M. Major histocompatibility complex control of T cell recognition. In: Paul W, editor. *Fundamental immunology*. New York: Raven; 1989.
19. Klein J, Sato A. The HLA system. Second of two parts. *N Engl J Med*. 2000 Sep 14;343(11):782-6.
20. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med*. 2000 Sep 7;343(10):702-9.
21. Van den Eynde BJ, Morel S. Differential processing of class-I-restricted epitopes by the standard proteasome and the immunoproteasome. *Curr Opin Immunol*. 2001 Apr;13(2):147-53.
22. Chao NJ. Minors come of age: Minor histocompatibility antigens and graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004 Apr;10(4):215-23.
23. Perreault C, Decary F, Brochu S, Gyger M, Belanger R, Roy D. Minor histocompatibility antigens. *Blood*. 1990 Oct 1;76(7):1269-80.
24. Claverie JM, Kourilsky P, Langlade-Demoyen P, Chalufour-Prochnicka A, Dadaglio G, Tekaiia F, et al. T-immunogenic peptides are constituted of rare sequence patterns. Use in the identification of T epitopes in the human immunodeficiency virus gag protein. *Eur J Immunol*. 1988 Oct;18(10):1547-53.
25. Akatsuka Y, Warren EH, Gooley TA, Brickner AG, Lin MT, Hansen JA, et al. Disparity for a newly identified minor histocompatibility antigen, HA-8, correlates with acute graft-versus-host disease after haematopoietic stem cell transplantation from an HLA-identical sibling. *Br J Haematol*. 2003 Nov;123(4):671-5.

26. Tseng LH, Lin MT, Hansen JA, Gooley T, Pei J, Smith AG, et al. Correlation between disparity for the minor histocompatibility antigen HA-1 and the development of acute graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation. *Blood*. 1999 Oct 15;94(8):2911-4.
27. Balduini CL, Frassoni F, Noris P, Klersy C, Iannone AM, Bacigalupo A, et al. Donor-recipient incompatibility at CD31-codon 563 is a major risk factor for acute graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation from a human leucocyte antigen-matched donor. *Br J Haematol*. 2001 Sep;114(4):951-3.
28. Goulmy E. Human minor histocompatibility antigens: new concepts for marrow transplantation and adoptive immunotherapy. *Immunol Rev*. 1997 Jun;157:125-40.
29. Wang W, Meadows LR, den Haan JM, Sherman NE, Chen Y, Blokland E, et al. Human H-Y: a male-specific histocompatibility antigen derived from the SMCY protein. *Science*. 1995 Sep 15;269(5230):1588-90.
30. Randolph SS, Gooley TA, Warren EH, Appelbaum FR, Riddell SR. Female donors contribute to a selective graft-versus-leukemia effect in male recipients of HLA-matched, related hematopoietic stem cell transplants. *Blood*. 2004 Jan 1;103(1):347-52.
31. Teshima T, Ferrara J. Pathogenesis of acute and chronic graft-versus-host disease. In: Atkinson K, Champlin R, Ritz J, Fibbe W, Ljungman P, Brenner M, editors. *Clinical bone marrow and blood stem cell transplantation*. 03 ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2004. p. 227-46.
32. Clift RA, Buckner CD, Appelbaum FR, Bearman SI, Petersen FB, Fisher LD, et al. Allogeneic marrow transplantation in patients with acute myeloid leukemia in first remission: a randomized trial of two irradiation regimens. *Blood*. 1990 Nov 1;76(9):1867-71.
33. Nash RA, Pepe MS, Storb R, Longton G, Pettinger M, Anasetti C, et al. Acute graft-versus-host disease: analysis of risk factors after allogeneic marrow transplantation and prophylaxis with cyclosporine and methotrexate. *Blood*. 1992 Oct 1;80(7):1838-45.

34. Clift RA, Buckner CD, Thomas ED, Bensinger WI, Bowden R, Bryant E, et al. Marrow transplantation for chronic myeloid leukemia: a randomized study comparing cyclophosphamide and total body irradiation with busulfan and cyclophosphamide. *Blood*. 1994 Sep 15;84(6):2036-43.
35. Ferrara JL, Levy R, Chao NJ. Pathophysiologic mechanisms of acute graft-vs.-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1999;5(6):347-56.
36. Xun CQ, Thompson JS, Jennings CD, Brown SA, Widmer MB. Effect of total body irradiation, busulfan-cyclophosphamide, or cyclophosphamide conditioning on inflammatory cytokine release and development of acute and chronic graft-versus-host disease in H-2-incompatible transplanted SCID mice. *Blood*. 1994 Apr 15;83(8):2360-7.
37. Hill GR, Crawford JM, Cooke KR, Brinson YS, Pan L, Ferrara JL. Total body irradiation and acute graft-versus-host disease: the role of gastrointestinal damage and inflammatory cytokines. *Blood*. 1997 Oct 15;90(8):3204-13.
38. Cooke KR, Hill GR, Crawford JM, Bungard D, Brinson YS, Delmonte J, Jr., et al. Tumor necrosis factor- alpha production to lipopolysaccharide stimulation by donor cells predicts the severity of experimental acute graft-versus-host disease. *J Clin Invest*. 1998 Nov 15;102(10):1882-91.
39. Deeg HJ, Spitzer TR, Cottler-Fox M, Cahill R, Pickle LW. Conditioning-related toxicity and acute graft-versus-host disease in patients given methotrexate/cyclosporine prophylaxis. *Bone Marrow Transplant*. 1991 Mar;7(3):193-8.
40. Slavin S, Nagler A, Naparstek E, Kapelushnik Y, Aker M, Cividalli G, et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood*. 1998 Feb 1;91(3):756-63.

41. Mielcarek M, Martin PJ, Leisenring W, Flowers ME, Maloney DG, Sandmaier BM, et al. Graft-versus-host disease after nonmyeloablative versus conventional hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2003 Jul 15;102(2):756-62.
42. Couriel D, Saliba R, Hicks K, Ippoliti C, de Lima M, Hosing C, et al. Tumor necrosis factor-alpha blockade for the treatment of acute GVHD. *Blood*. 2004 Aug 1;104(3):649-54.
43. Perez-Simon JA, Diez-Campelo M, Martino R, Brunet S, Urbano A, Caballero MD, et al. Influence of the intensity of the conditioning regimen on the characteristics of acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic transplantation. *Br J Haematol*. 2005 Aug;130(3):394-403.
44. Valcarcel D, Martino R, Sureda A, Canals C, Altes A, Briones J, et al. Conventional versus reduced-intensity conditioning regimen for allogeneic stem cell transplantation in patients with hematological malignancies. *Eur J Haematol*. 2005 Feb;74(2):144-51.
45. Benesch M, Deeg H. Acute graft-versus-host disease. In: Atkinson K, Champlin R, Ritz J, Fibbe W, Ljungman P, Brenne R M, editors. *Clinical bone marrow and blood stem cell transplantation*. 3 ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2004. p. 1109-32.
46. Barrett AJ, Savani BN. Stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning regimens: a review of ten years experience with new transplant concepts and new therapeutic agents. *Leukemia*. 2006 Oct;20(10):1661-72.
47. Schmitz N, Barrett J. Optimizing engraftment--source and dose of stem cells. *Semin Hematol*. 2002 Jan;39(1):3-14.
48. Champlin RE, Schmitz N, Horowitz MM, Chappuis B, Chopra R, Cornelissen JJ, et al. Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood*. 2000 Jun 15;95(12):3702-9.

49. Storek J, Dawson MA, Storer B, Stevens-Ayers T, Maloney DG, Marr KA, et al. Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation. *Blood*. 2001 Jun 1;97(11):3380-9.
50. Allogeneic peripheral blood stem-cell compared with bone marrow transplantation in the management of hematologic malignancies: an individual patient data meta-analysis of nine randomized trials. *J Clin Oncol*. 2005 Aug 1;23(22):5074-87.
51. Cutler C, Giri S, Jeyapalan S, Paniagua D, Viswanathan A, Antin JH. Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. *J Clin Oncol*. 2001 Aug 15;19(16):3685-91.
52. Couban S, Barnett M. The source of cells for allografting. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2003 Nov;9(11):669-73.
53. Flowers ME, Parker PM, Johnston LJ, Matos AV, Storer B, Bensinger WI, et al. Comparison of chronic graft-versus-host disease after transplantation of peripheral blood stem cells versus bone marrow in allogeneic recipients: long-term follow-up of a randomized trial. *Blood*. 2002 Jul 15;100(2):415-9.
54. De Souza CA, Duraes MI, Vigorito AC, Penteadó Aranha FJ, Oliveira GB, De Brito Eid KA, et al. Quality of life in patients randomized to receive a bone marrow or a peripheral blood allograft. *Haematologica*. 2002 Dec;87(12):1281-5.
55. Storb R, Deeg HJ, Farewell V, Doney K, Appelbaum F, Beatty P, et al. Marrow transplantation for severe aplastic anemia: methotrexate alone compared with a combination of methotrexate and cyclosporine for prevention of acute graft-versus-host disease. *Blood*. 1986 Jul;68(1):119-25.
56. Storb R, Deeg HJ, Whitehead J, Appelbaum F, Beatty P, Bensinger W, et al. Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft

versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med.* 1986 Mar 20;314(12):729-35.

57. Sullivan KM, Deeg HJ, Sanders J, Klosterman A, Amos D, Shulman H, et al. Hyperacute graft-v-host disease in patients not given immunosuppression after allogeneic marrow transplantation. *Blood.* 1986 Apr;67(4):1172-5.

58. Deeg HJ, Antin JH. The clinical spectrum of acute graft-versus-host disease. *Semin Hematol.* 2006 Jan;43(1):24-31.

59. Nash RA, Antin JH, Karanes C, Fay JW, Avalos BR, Yeager AM, et al. Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus with methotrexate and cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation from unrelated donors. *Blood.* 2000 Sep 15;96(6):2062-8.

60. Nash RA, Johnston L, Parker P, McCune JS, Storer B, Slattery JT, et al. A phase I/II study of mycophenolate mofetil in combination with cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after myeloablative conditioning and allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005 Jul;11(7):495-505.

61. Blijlevens NM, Donnelly JP, De Pauw BE. Mucosal barrier injury: biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy: an overview. *Bone Marrow Transplant.* 2000 Jun;25(12):1269-78.

62. Wardley AM, Jayson GC, Swindell R, Morgenstern GR, Chang J, Bloor R, et al. Prospective evaluation of oral mucositis in patients receiving myeloablative conditioning regimens and haemopoietic progenitor rescue. *Br J Haematol.* 2000 Aug;110(2):292-9.

63. Sonis ST. The pathobiology of mucositis. *Nat Rev Cancer.* 2004 Apr;4(4):277-84.

64. Brown CG, Wingard J. Clinical consequences of oral mucositis. *Semin Oncol Nurs.* 2004 Feb;20(1):16-21.

65. Sonis ST, Elting LS, Keefe D, Peterson DE, Schubert M, Hauer-Jensen M, et al. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. *Cancer*. 2004 May 1;100(9 Suppl):1995-2025.
66. Sonis ST. A biological approach to mucositis. *J Support Oncol*. 2004 Jan-Feb;2(1):21-32; discussion 5-6.
67. Wang EH, Chen YA, Corringham S, Bashey A, Holman P, Ball ED, et al. High-dose CEB vs BEAM with autologous stem cell transplant in lymphoma. *Bone Marrow Transplant*. 2004 Oct;34(7):581-7.
68. Robien K, Schubert MM, Bruemmer B, Lloid ME, Potter JD, Ulrich CM. Predictors of oral mucositis in patients receiving hematopoietic cell transplants for chronic myelogenous leukemia. *J Clin Oncol*. 2004 Apr 1;22(7):1268-75.
69. McGuire DB, Altomonte V, Peterson DE, Wingard JR, Jones RJ, Grochow LB. Patterns of mucositis and pain in patients receiving preparative chemotherapy and bone marrow transplantation. *Oncol Nurs Forum*. 1993 Nov-Dec;20(10):1493-502.
70. McGuire DB, Yeager KA, Dudley WN, Peterson DE, Owen DC, Lin LS, et al. Acute oral pain and mucositis in bone marrow transplant and leukemia patients: data from a pilot study. *Cancer Nurs*. 1998 Dec;21(6):385-93.
71. WHO. Handbook for reporting results of cancer treatment. Geneva: World Health Organization; 1979.
72. National_Cancer_Institute. Cancer Therapy Evaluation Program forms and templates: Generic CTC version 2.0. [cited 2003 June 15]; Available from: http://ctep.cancer.gov/forms/ctc_genatacol.pdf.
73. Bergmann OJ. Oral infections and septicemia in immunocompromised patients with hematologic malignancies. *J Clin Microbiol*. 1988 Oct;26(10):2105-9.

74. Donnelly JP. Infection in the neutropenic and haematopoietic stem cell transplant recipient. *Curr Opin Infect Dis.* 2000 Aug;13(4):337-42.
75. Greenberg MS, Cohen SG, McKittrick JC, Cassileth PA. The oral flora as a source of septicemia in patients with acute leukemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1982 Jan;53(1):32-6.
76. Heimdahl A, Mattsson T, Dahllof G, Lonnquist B, Ringden O. The oral cavity as a port of entry for early infections in patients treated with bone marrow transplantation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1989 Dec;68(6):711-6.
77. Ruescher TJ, Sodeifi A, Scrivani SJ, Kaban LB, Sonis ST. The impact of mucositis on alpha-hemolytic streptococcal infection in patients undergoing autologous bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Cancer.* 1998 Jun 1;82(11):2275-81.
78. Raber-Durlacher JE, Epstein JB, Raber J, van Dissel JT, van Winkelhoff AJ, Guiot HF, et al. Periodontal infection in cancer patients treated with high-dose chemotherapy. *Support Care Cancer.* 2002 Sep;10(6):466-73.
79. Zinner SH. Changing epidemiology of infections in patients with neutropenia and cancer: emphasis on gram-positive and resistant bacteria. *Clin Infect Dis.* 1999 Sep;29(3):490-4.
80. Reynolds MA, Minah GE, Peterson DE, Weikel DS, Williams LT, Overholser CD, et al. Periodontal disease and oral microbial successions during myelosuppressive cancer chemotherapy. *J Clin Periodontol.* 1989 Mar;16(3):185-9.
81. Cutler LS. Evaluation and management of the dental patient with cancer I: Complications associated with chemotherapy or bone marrow transplantation. *J Conn State Dent Assoc.* 1987 Oct;61(4):236-8.
82. Landsaat PM, van der Lelie H, Bongaerts G, Kuijper EJ. *Fusobacterium nucleatum*, a new invasive pathogen in neutropenic patients? *Scand J Infect Dis.* 1995;27(1):83-4.

83. Talcott JA, Finberg R, Mayer RJ, Goldman L. The medical course of cancer patients with fever and neutropenia. Clinical identification of a low-risk subgroup at presentation. *Arch Intern Med.* 1988 Dec;148(12):2561-8.
84. Bodey GP. The treatment of febrile neutropenia: from the Dark Ages to the present. *Support Care Cancer.* 1997 Sep;5(5):351-7.
85. Lucas KG, Brown AE, Armstrong D, Chapman D, Heller G. The identification of febrile, neutropenic children with neoplastic disease at low risk for bacteremia and complications of sepsis. *Cancer.* 1996 Feb 15;77(4):791-8.
86. Rolston R, M MB, Elting L. Is quantitative variation in cancer patients with bacteremic infections linked to severity of infection? [abstract 729]. In: Microbiology ASf, editor. Program and abstracts of the 40th Interscience Conference for Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Toronto) Washington; 2000.
87. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Brown AE, Edwards JE, Feld R, et al. 1997 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with unexplained fever. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 1997 Sep;25(3):551-73.
88. Sepkowitz K. Risks and epidemiology of infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. In: Bowden R, Ljungman P, Paya C, editors. *Transplant infections.* 2 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. p. 31-8.
89. Walter EA, Bowden RA. Infection in the bone marrow transplant recipient. *Infect Dis Clin North Am.* 1995 Dec;9(4):823-47.
90. Yuen KY, Woo PC, Hui CH, Luk WK, Chen FE, Lie AK, et al. Unique risk factors for bacteraemia in allogeneic bone marrow transplant recipients before and after engraftment. *Bone Marrow Transplant.* 1998 Jun;21(11):1137-43.

91. Wald A, Leisenring W, van Burik JA, Bowden RA. Epidemiology of Aspergillus infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. *J Infect Dis.* 1997 Jun;175(6):1459-66.
92. Prentice HG, Kho P. Clinical strategies for the management of cytomegalovirus infection and disease in allogeneic bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplant.* 1997 Jan;19(2):135-42.
93. Arthur RR, Shah KV, Charache P, Saral R. BK and JC virus infections in recipients of bone marrow transplants. *J Infect Dis.* 1988 Sep;158(3):563-9.
94. Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis.* 2003 Oct;3(10):611-23.
95. Bedi A, Miller CB, Hanson JL, Goodman S, Ambinder RF, Charache P, et al. Association of BK virus with failure of prophylaxis against hemorrhagic cystitis following bone marrow transplantation. *J Clin Oncol.* 1995 May;13(5):1103-9.
96. Droller MJ, Saral R, Santos G. Prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *Urology.* 1982 Sep;20(3):256-8.
97. Stern M, Brand R, de Witte T, Sureda A, Rocha V, Passweg J, et al. Female-versus-male alloreactivity as a model for minor histocompatibility antigens in hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Transplant.* 2008 Oct;8(10):2149-57.
98. Thomas E, Storb R, Clift RA, Fefer A, Johnson FL, Neiman PE, et al. Bone-marrow transplantation (first of two parts). *N Engl J Med.* 1975 Apr 17;292(16):832-43.
99. Wang LR, Dong LJ, Zhang MJ, Lu DP. Correlations of human herpesvirus 6B and CMV infection with acute GVHD in recipients of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2008 Nov;42(10):673-7.
100. Kernan NA, Bartsch G, Ash RC, Beatty PG, Champlin R, Filipovich A, et al. Analysis of 462 transplantations from unrelated donors facilitated by the National Marrow Donor Program. *N Engl J Med.* 1993 Mar 4;328(9):593-602.

101. Balduzzi A, Gooley T, Anasetti C, Sanders JE, Martin PJ, Petersdorf EW, et al. Unrelated donor marrow transplantation in children. *Blood*. 1995 Oct 15;86(8):3247-56.
102. Martin PJ. Increased disparity for minor histocompatibility antigens as a potential cause of increased GVHD risk in marrow transplantation from unrelated donors compared with related donors. *Bone Marrow Transplant*. 1991 Sep;8(3):217-23.
103. da Fonseca MA, Hong C. An overview of chronic oral graft-vs-host disease following pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Dent*. 2008 Mar-Apr;30(2):98-104.
104. Dreizen S, McCredie KB, Dicke KA, Zander AR, Peters LJ. Oral complications of bone marrow transplantation in adults with acute leukemia. *Postgrad Med*. 1979 Nov;66(5):187-93, 96.
105. Hausermann P, Walter RB, Halter J, Biedermann BC, Tichelli A, Itin P, et al. Cutaneous graft-versus-host disease: a guide for the dermatologist. *Dermatology*. 2008;216(4):287-304.
106. Goker H, Haznedaroglu IC, Chao NJ. Acute graft-vs-host disease: pathobiology and management. *Exp Hematol*. 2001 Mar;29(3):259-77.
107. Takatsuka H, Iwasaki T, Okamoto T, Kakishita E. Intestinal graft-versus-host disease: mechanisms and management. *Drugs*. 2003;63(1):1-15.
108. Sullivan K. Graft vs host disease. In: Thomas E, Blume K, Forman S, editors. *Hematopoietic cell transplantation*. 2 ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1999. p. 515.
109. Johnson DR, Pober JS. Tumor necrosis factor and immune interferon synergistically increase transcription of HLA class I heavy- and light-chain genes in vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Jul;87(13):5183-7.
110. Norton J, Sloane JP, al-Saffar N, Haskard DO. Vessel associated adhesion molecules in normal skin and acute graft-versus-host disease. *J Clin Pathol*. 1991 Jul;44(7):586-91.

111. Lappin MB, Campbell JD. The Th1-Th2 classification of cellular immune responses: concepts, current thinking and applications in haematological malignancy. *Blood Rev.* 2000 Dec;14(4):228-39.
112. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. 1986. *J Immunol.* 2005 Jul 1;175(1):5-14.
113. Teshima T, Ferrara JL. Understanding the alloresponse: new approaches to graft-versus-host disease prevention. *Semin Hematol.* 2002 Jan;39(1):15-22.
114. Atkinson K, Matias C, Guiffre A, Seymour R, Cooley M, Biggs J, et al. In vivo administration of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), granulocyte-macrophage CSF, interleukin-1 (IL-1), and IL-4, alone and in combination, after allogeneic murine hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 1991 Mar 15;77(6):1376-82.
115. Turner BE, Kambouris ME, Sinfield L, Lange J, Burns AM, Lourie R, et al. Reduced intensity conditioning for allogeneic hematopoietic stem-cell transplant determines the kinetics of acute graft-versus-host disease. *Transplantation.* 2008 Oct 15;86(7):968-76.
116. Sun Y, Tawara I, Toubai T, Reddy P. Pathophysiology of acute graft-versus-host disease: recent advances. *Transl Res.* 2007 Oct;150(4):197-214.
117. Lazarus HM, Rowe JM. New and experimental therapies for treating graft-versus-host disease. *Blood Rev.* 1995 Jun;9(2):117-33.
118. Sullivan KM, Agura E, Anasetti C, Appelbaum F, Badger C, Bearman S, et al. Chronic graft-versus-host disease and other late complications of bone marrow transplantation. *Semin Hematol.* 1991 Jul;28(3):250-9.
119. Filipovich AH. Diagnosis and manifestations of chronic graft-versus-host disease. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2008 Jun;21(2):251-7.

120. Siadak M, Sullivan KM. The management of chronic graft-versus-host disease. *Blood Rev.* 1994 Sep;8(3):154-60.
121. Gilman AL, Serody J. Diagnosis and treatment of chronic graft-versus-host disease. *Semin Hematol.* 2006 Jan;43(1):70-80.
122. Akpek G, Via C, Volgelsang G. Clinical spectrum and therapeutic approaches to chronic graft-vs-host disease. In: Ferrara J, Cooke K, Deeg H, editors. *Graft-vs-Host disease.* 3 ed. New York: Marcel Dekker; 2005. p. 55-608.
123. Nelson JL, Furst DE, Maloney S, Gooley T, Evans PC, Smith A, et al. Microchimerism and HLA-compatible relationships of pregnancy in scleroderma. *Lancet.* 1998 Feb 21;351(9102):559-62.
124. Fukuzawa M, Via CS, Shearer GM. Defective thymic education of L3T4+ T helper cell function in graft-vs-host mice. *J Immunol.* 1988 Jul 15;141(2):430-9.
125. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE, et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med.* 1980 Aug;69(2):204-17.
126. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005 Dec;11(12):945-56.
127. Pasquini MC. Impact of graft-versus-host disease on survival. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2008 Jun;21(2):193-204.
128. Lee SJ, Klein JP, Barrett AJ, Ringden O, Antin JH, Cahn JY, et al. Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse. *Blood.* 2002 Jul 15;100(2):406-14.

129. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975 Dec;25(4):229-35.
130. Loe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *J Periodontol*. 1967 Nov-Dec;38(6):Suppl:610-6.
131. Wiley V. CLINICAL PERIODONTOLOGY AND IMPLANT DENTISTRY. In: Jan L, Thorkild K, PLNiklaus, editors.; 2008.
132. Beertsen W, McCulloch CA, Sodek J. The periodontal ligament: a unique, multifunctional connective tissue. *Periodontol 2000*. 1997 Feb;13:20-40.
133. Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontol 2000*. 1997 Feb;13:91-120.
134. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999 Dec;4(1):1-6.
135. Albandar JM. Periodontal disease surveillance. *J Periodontol*. 2007 Jul;78(7):1179-81.
136. Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:210-3.
137. Machtei EE, Christersson LA, Grossi SG, Dunford R, Zambon JJ, Genco RJ. Clinical criteria for the definition of "established periodontitis". *J Periodontol*. 1992 Mar;63(3):206-14.
138. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2004;34:9-21.
139. Kingman A, Albandar JM. Methodological aspects of epidemiological studies of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2002;29:11-30.

140. Susin C, Haas AN, Oppermann RV, Haugejorden O, Albandar JM. Gingival recession: epidemiology and risk indicators in a representative urban Brazilian population. *J Periodontol*. 2004 Oct;75(10):1377-86.
141. Gjermo P, Rosing CK, Susin C, Oppermann R. Periodontal diseases in Central and South America. *Periodontol 2000*. 2002;29:70-8.
142. Akesson L, Hakansson J, Rohlin M. Comparison of panoramic and intraoral radiography and pocket probing for the measurement of the marginal bone level. *J Clin Periodontol*. 1992 May;19(5):326-32.
143. Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol*. 1999 Jan;70(1):13-29.
144. Lang NP, Nyman S, Senn C, Joss A. Bleeding on probing as it relates to probing pressure and gingival health. *J Clin Periodontol*. 1991 Apr;18(4):257-61.
145. Baelum V, Fejerskov O, Manji F. Periodontal diseases in adult Kenyans. *J Clin Periodontol*. 1988 Aug;15(7):445-52.
146. Mengel R, Flores-de-Jacoby L, Bruchmann S, Zafiroopoulos GG. [Periodontal status in Rio de Janeiro city (Brazil)]. *Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl*. 1991;79(4):285-92.
147. Morris AJ, Steele J, White DA. The oral cleanliness and periodontal health of UK adults in 1998. *Br Dent J*. 2001 Aug 25;191(4):186-92.
148. Susin C. *Periodontal Disease in a Representative Urban Population in South Brazil*. Bergen: University of Bergen, Norway; 2004.
149. Susin C, Dalla Vecchia CF, Oppermann RV, Haugejorden O, Albandar JM. Periodontal attachment loss in an urban population of Brazilian adults: effect of demographic, behavioral, and environmental risk indicators. *J Periodontol*. 2004 Jul;75(7):1033-41.

150. Holt SC, Ebersole JL. Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol 2000*. 2005;38:72-122.
151. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol*. 2001 Jun;183(12):3770-83.
152. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000*. 2005;38:135-87.
153. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998 Feb;25(2):134-44.
154. Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Dibart S. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J Clin Periodontol*. 1991 Nov;18(10):766-75.
155. Kigure T, Saito A, Seida K, Yamada S, Ishihara K, Okuda K. Distribution of Porphyromonas gingivalis and Treponema denticola in human subgingival plaque at different periodontal pocket depths examined by immunohistochemical methods. *J Periodontal Res*. 1995 Sep;30(5):332-41.
156. Noiri Y, Ozaki K, Nakae H, Matsuo T, Ebisu S. An immunohistochemical study on the localization of Porphyromonas gingivalis, Campylobacter rectus and Actinomyces viscosus in human periodontal pockets. *J Periodontal Res*. 1997 Oct;32(7):598-607.
157. Slots J, Rams T. Microbiology of periodontal disease. In: Slots J, Taubman M, editors. *Contemporary oral microbiology and immunology*. St Louis: Mosby-Year Book; 1992. p. 425-43.
158. Dahlen G, Wikstrom M. Occurrence of enteric rods, staphylococci and Candida in subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol*. 1995 Feb;10(1):42-6.
159. Slots J, Rams TE. New views on periodontal microbiota in special patient categories. *J Clin Periodontol*. 1991 Jul;18(6):411-20.

160. Slots J, Rams TE, Listgarten MA. Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 1988 Jun;3(2):47-52.
161. Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol* 2000. 1997 Jun;14:12-32.
162. Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A, Pollack RP, Smith C, Kent RL, Jr., et al. Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J Clin Periodontol*. 1998 May;25(5):346-53.
163. Loe H, Anerud A, Boysen H, Smith M. The natural history of periodontal disease in man. Study design and baseline data. *J Periodontal Res*. 1978 Nov;13(6):550-62.
164. Loe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol*. 1986 May;13(5):431-45.
165. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000. 1997 Jun;14:9-11.
166. Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1997 Jan;24(1):72-7.
167. Williams RC, Jeffcoat MK, Kaplan ML, Goldhaber P, Johnson HG, Wechter WJ. Flurbiprofen: a potent inhibitor of alveolar bone resorption in beagles. *Science*. 1985 Feb 8;227(4687):640-2.
168. Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves DT. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol*. 1998 Jan 1;160(1):403-9.

169. Delima AJ, Oates T, Assuma R, Schwartz Z, Cochran D, Amar S, et al. Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2001 Mar;28(3):233-40.
170. Bergstrom J. Periodontitis and smoking: an evidence-based appraisal. *J Evid Based Dent Pract*. 2006 Mar;6(1):33-41.
171. Haber J, Wattles J, Crowley M, Mandell R, Joshipura K, Kent RL. Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis. *J Periodontol*. 1993 Jan;64(1):16-23.
172. Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol*. 1996 Oct;67(10 Suppl):1041-9.
173. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Zambon JJ, Cummins D, Genco RJ. Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *J Periodontol*. 1996 Oct;67(10 Suppl):1094-102.
174. Offenbacher S, Barros SP, Singer RE, Moss K, Williams RC, Beck JD. Periodontal disease at the biofilm-gingival interface. *J Periodontol*. 2007 Oct;78(10):1911-25.
175. Peterson DE, Overholser CD. Increased morbidity associated with oral infection in patients with acute nonlymphocytic leukemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1981 Apr;51(4):390-3.
176. Page RC. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Ann Periodontol*. 1998 Jul;3(1):108-20.
177. Bergmann OJ, Kilian M, Ellegaard J. Potentially pathogenic microorganisms in the oral cavity during febrile episodes in immunocompromised patients with haematologic malignancies. *Scand J Infect Dis*. 1989;21(1):43-51.
178. Overholser CD, Peterson DE, Williams LT, Schimpff SC. Periodontal infection in patients with acute nonlymphocyte leukemia. Prevalence of acute exacerbations. *Arch Intern Med*. 1982 Mar;142(3):551-4.

179. Peterson DE, Minah GE, Overholser CD, Suzuki JB, DePaola LG, Stansbury DM, et al. Microbiology of acute periodontal infection in myelosuppressed cancer patients. *J Clin Oncol.* 1987 Sep;5(9):1461-8.
180. Baquero F, Fernandez J, Drona F, Erice A, Perez de Oteiza J, Reguera JA, et al. Capnophilic and anaerobic bacteremia in neutropenic patients: an oral source. *Rev Infect Dis.* 1990 Jan-Feb;12 Suppl 2:S157-60.
181. Bilgrami S, Bergstrom SK, Peterson DE, Hill DR, Dainiak N, Quinn JJ, et al. Capnocytophaga bacteremia in a patient with Hodgkin's disease following bone marrow transplantation: case report and review. *Clin Infect Dis.* 1992 May;14(5):1045-9.
182. Akintoye SO, Brennan MT, Graber CJ, McKinney BE, Rams TE, Barrett AJ, et al. A retrospective investigation of advanced periodontal disease as a risk factor for septicemia in hematopoietic stem cell and bone marrow transplant recipients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002 Nov;94(5):581-8.
183. Panel NIOHCD. Consensus statement: oral complications of cancer therapies. In: Institut NC, editor.; 1990. p. 3-8.
184. Bradley L, Chambers M, Conklin C, Fox P, Garden A, Haveman C. Oral health in cancer therapy. A guide for health care professionals. In: Rankin K, Jones D, Redding S, editors. *Oral health in cancer therapy.* Dallas; 2003.
185. Craig RG, Yip JK, So MK, Boylan RJ, Socransky SS, Haffajee AD. Relationship of destructive periodontal disease to the acute-phase response. *J Periodontol.* 2003 Jul;74(7):1007-16.
186. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol.* 2000 Oct;71(10):1528-34.

187. Noack B, Genco RJ, Trevisan M, Grossi S, Zambon JJ, De Nardin E. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. *J Periodontol*. 2001 Sep;72(9):1221-7.
188. Wenzel RP, Pinsky MR, Ulevitch RJ, Young L. Current understanding of sepsis. *Clin Infect Dis*. 1996 Mar;22(3):407-12.
189. Sullivan KM, Dykewicz CA, Longworth DL, Boeckh M, Baden LR, Rubin RH, et al. Preventing opportunistic infections after hematopoietic stem cell transplantation: the Centers for Disease Control and Prevention, Infectious Diseases Society of America, and American Society for Blood and Marrow Transplantation Practice Guidelines and beyond. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2001:392-421.
190. Conway TE. What is currently available in terms of medically necessary oral care? *Spec Care Dentist*. 1995 Sep-Oct;15(5):187-91.
191. Health NAfO. Consensus Conference on Medically Necessary Oral Health Care. Chicago, IL, April 29-30, 1995. Proceedings and Recommendations. *Spec Care Dentist*. 1995 Sep-Oct;15(5):179-205.
192. Hayes C, Sparrow D, Cohen M, Vokonas PS, Garcia RI. The association between alveolar bone loss and pulmonary function: the VA Dental Longitudinal Study. *Ann Periodontol*. 1998 Jul;3(1):257-61.
193. Scannapieco FA, Genco RJ. Association of periodontal infections with atherosclerotic and pulmonary diseases. *J Periodontal Res*. 1999 Oct;34(7):340-5.
194. Beck J, Garcia R, Heiss G, Vokonas PS, Offenbacher S. Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol*. 1996 Oct;67(10 Suppl):1123-37.
195. Lamster IB, Lalla E, Borgnakke WS, Taylor GW. The relationship between oral health and diabetes mellitus. *J Am Dent Assoc*. 2008 Oct;139 Suppl:19S-24S.

196. Mealey BL, Rose LF. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. *Compend Contin Educ Dent*. 2008 Sep;29(7):402-8, 10, 12-3.
197. Taylor GW, Borgnakke WS. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. *Oral Dis*. 2008 Apr;14(3):191-203.
198. Lopez R. Periodontal disease, preterm birth and low birthweight. *Evid Based Dent*. 2005;6(4):90-1.
199. Wimmer G, Pihlstrom BL. A critical assessment of adverse pregnancy outcome and periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2008 Sep;35(8 Suppl):380-97.
200. Epstein JB, Schubert MM. Oral mucositis in myelosuppressive cancer therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999 Sep;88(3):273-6.
201. Ellegaard B, Bergmann OJ, Ellegaard J. Effect of plaque removal on patients with acute leukemia. *J Oral Pathol Med*. 1989 Jan;18(1):54-8.
202. Ferretti GA, Ash RC, Brown AT, Largent BM, Kaplan A, Lillich TT. Chlorhexidine for prophylaxis against oral infections and associated complications in patients receiving bone marrow transplants. *J Am Dent Assoc*. 1987 Apr;114(4):461-7.
203. Levy-Polack MP, Sebelli P, Polack NL. Incidence of oral complications and application of a preventive protocol in children with acute leukemia. *Spec Care Dentist*. 1998 Sep-Oct;18(5):189-93.
204. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Northwest Dent*. 2000 Nov-Dec;79(6):31-5.
205. Lee L, Miller PA, Maxymiw WG, Messner HA, Rotstein LE. Intraoral pyogenic granuloma after allogeneic bone marrow transplant. Report of three cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1994 Nov;78(5):607-10.
206. Curtis AB. Childhood leukemias: osseous changes in jaws on panoramic dental radiographs. *J Am Dent Assoc*. 1971 Oct;83(4):844-7.

207. Pattni R, Walsh LJ, Marshall RI, Seymour GJ, Bartold PM. Periodontal implications of immunodeficient states: manifestations and management. *J Int Acad Periodontol*. 2000 Jul;2(3):79-93.
208. Elad S, Garfunkel AA, Or R, Michaeli E, Shapira MY, Galili D. Time limitations and the challenge of providing infection-preventing dental care to hematopoietic stem-cell transplantation patients. *Support Care Cancer*. 2003 Oct;11(10):674-7.
209. Yeager KA, Webster J, Crain M, Kasow J, McGuire DB. Implementation of an oral care standard for leukemia and transplantation patients. *Cancer Nurs*. 2000 Feb;23(1):40-7; quiz 7-8.
210. Toljanic JA, Bedard JF, Larson RA, Fox JP. A prospective pilot study to evaluate a new dental assessment and treatment paradigm for patients scheduled to undergo intensive chemotherapy for cancer. *Cancer*. 1999 Apr 15;85(8):1843-8.
211. Melkos AB, Massenkeil G, Arnold R, Reichart PA. Dental treatment prior to stem cell transplantation and its influence on the posttransplantation outcome. *Clin Oral Investig*. 2003 Jun;7(2):113-5.
212. Ohbayashi Y, Imataki O, Ohnishi H, Iwasaki A, Ogawa T, Inagaki N, et al. Multivariate analysis of factors influencing oral mucositis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol*. 2008 Oct;87(10):837-45.

IV Artigos

Artigo em Português

O impacto da inflamação periodontal no transplante de medula óssea

Ronald Halla Júnior⁸⁻⁹, Ingrid Mitto¹, Jomar Laurino⁴, Fernanda Munari³, Pablo Vasconcelos², Alessandra Paz⁵, Gustavo Fisher⁵, Rosane Bittencourt⁵, Laura Fogliatto⁵, Liane Esteves Daudt^{5,6} e Lucia Silla^{5,7}

1 Responsável pelo banco de dados do Serviço de Hematologia e Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

2 Biólogo do Laboratório de Cultura e Análise Molecular de Células Hematopoéticas – Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

3 Bióloga do Laboratório de Biologia Molecular em Doenças Auto-Imunes e Infecções - Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

4 Pesquisador visitante do Laboratório de Biologia Molecular em Doenças Auto-Imunes e Infecções - Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

5 Hematologista do Serviço de Hematologia e Transplante de medula Óssea do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

6 Chefe do Serviço de Hematologia e Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

7 Professor associado da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Professora do Programa de Pós-Graduação Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

8 Cirurgião-dentista, Periodontista

9 Departamento de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Correspondência para:

Ronald Halla Júnior
Av. Cristóvão Colombo 2937/s703
Porto Alegre - 90570-005. Brasil
Email: hallajr@cpovo.net

Resumo

Este estudo observacional avaliou o impacto da inflamação periodontal e da presença de periodontopatógenos nas complicações orais e sistêmicas do Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH). **Métodos:** durante o período de 07/2003 e 10/2008, 91 pacientes, dentados e \geq de 18 anos que se submeteram ao TCTH autólogo ou alogênico realizaram avaliação clínica e microbiológica de sua situação periodontal previamente ao TCTH. Os desfechos clínicos precoces após o TCTH: dias de mucosite de acordo com World Health Organization (WHO), dia da pega, dias de neutropenia, hemocultura e de complicações nos 100 primeiros dias, como doença do enxerto contra o hospedeiro aguda (DECH) e mortalidade foram avaliados e relacionados com a situação periodontal dos pacientes. **Resultados:** devido a semelhança nos desfechos após TCTH entre pacientes que receberam células tronco de origem periférica e os que receberam células tronco da medula óssea, porém com condicionamento de intensidade reduzida (RIC) os dados foram agrupados de acordo a origem celular do TCTH: células periféricas e da medula. A presença da inflamação periodontal durante TCTH com células da medula óssea aumentou os dias de mucosite $p < 0,023$ (20 e 11 dias), respectivamente. Na análise multivariada, a presença de inflamação representou em média 8 dias a mais de mucosite, $p < 0,030$. **Conclusões:** no presente estudo a presença de inflamação periodontal aumentou os dias de mucosite no grupo que recebeu células da medula óssea no TCTH, desta maneira, aumentando a morbidade relacionada ao TCTH. O aspecto infecto-inflamatório periodontal parece ser um fator a ser mais desenvolvido por novas investigações com um número maior de pacientes.

Palavras Chave: mucosite oral, Transplante de célula tronco hematopoiética (TCTH), Doença periodontal, inflamação / infecção periodontal

Introdução

Durante os procedimentos que envolvem o transplante de células tronco hematopoiética (TCTH) alogênico e autólogo, atenção especial tem sido aferida aos efeitos colaterais do condicionamento realizado nos protocolos prévios à infusão celular. As drogas utilizadas para promoverem a ablação das células progenitoras hematopoiéticas também atuam sobre as células epiteliais das mucosas oral e gástrica levando a mucosite (1). A irradiação corporal total (TBI) tem sido associada ao risco de incidência da mucosite oral em pacientes submetidos ao TCTH alogênico (2, 3). As complicações associadas à mucosite podem dificultar significativamente a ingestão oral, levando frequentemente a suplementação parenteral ou mesmo alimentação parenteral total, que associada a mielossupressão pode aumentar o risco de bacteremia e septicemia, especialmente durante a neutropenia (4). Nos pacientes que são submetidos à terapia mieloablativa, a ocorrência de DECH aguda aumenta a morbidade e mortalidade precoce relacionada ao transplante. Com objetivo de reduzir a morbidade após TCTH, tem sido sugerida a avaliação prévia da saúde bucal com o respectivo tratamento de possíveis focos potenciais de infecção, inclusive com estabelecimento de protocolos de atendimento para estes pacientes (5, 6). Algumas investigações têm demonstrado que a adequada higiene bucal pode prevenir infecções após o TCTH (7, 8). Em uma análise multivariada dos fatores de risco para mucosite, os cuidados com a saúde bucal e o tipo de condicionamento foram significativamente associados com a incidência de mucosite (9).

A infecção periodontal tem sido citada como fonte relevante para infecções sistêmicas em pacientes neutropênicos embora a magnitude desta influência não esteja bem esclarecida. O processo infecto–inflamatório periodontal normalmente não

envolve dor e não pode ser diagnosticado apenas visualmente. A atividade de doença periodontal trás com ela uma carga de patógenos presentes na bolsa periodontal, bem como uma cascata de eventos inflamatórios com objetivo de controlar a agressão bacteriana. A presença de complexos bacterianos associados com atividade de doença periodontal bem como a estados de saúde gengival são reconhecidos através de estudos observacionais e mesmo terapêuticos (10, 11). O *P. gingivalis*, *P. intermedia*, e *A. actinomycetemcomitans* são associados com aumento da profundidade de sondagem e atividade de doença periodontal(12).

Neste sentido, há relatos em número reduzido de pacientes, que a atividade inflamatória periodontal poderia ser porta de entrada para as bactérias orais estarem presentes na corrente sanguínea (13), e que a instituição de tratamento periodontal entre os ciclos de quimioterapia mostrou eficiência em reduzir a neutropenia febril em uma paciente de 61 anos de idade com leucemia mielóide aguda (LMA) (14).

Por outro lado, em um estudo retrospectivo com 77 pacientes (15) não foi encontrada associação significativa entre o fato de o paciente ser considerado doente periodontal, avaliado pela perda óssea alveolar, com a incidência de septicemia. Tem sido demonstrado por algumas investigações que focos de origem dentária e periodontal não atuariam como fator de risco significativo para infecções sistêmicas, por conseguinte os tratamentos necessários poderiam ser postergados para depois do transplante (16, 17). É possível que estes resultados um tanto conflitantes, possam estar em parte relacionados com a falta de consenso sobre definição de atividade de doença periodontal. Os parâmetros, perda óssea alveolar e perda de inserção periodontal, utilizados como marcadores de doença periodontal em estudos epidemiológicos (18, 19), podem ser observados em pacientes sem atividade inflamatória periodontal, e desta forma não poderiam ser indicadores de risco para

infecção sistêmica ou morbidade durante o TCTH. O objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto da presença de atividade inflamatória periodontal e da presença de periodontopatógenos nas complicações orais e sistêmicas decorrentes do TCTH.

Pacientes e Métodos:

Delineamento do estudo

Estudo observacional prospectivo que avalia a associação entre a condição periodontal dos pacientes previa ao TCTH com as complicações e mortalidade relacionada ao transplante no período de até 100 dias.

Seleção de pacientes

Foram incluídos pacientes maiores de 18 anos, dentados submetidos ao transplante de medula óssea autólogo ou alogênico que procuraram o Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) entre o período de 07/2003 e 08/2008. A ordem de entrada no estudo foi seqüencial e de acordo com a disponibilidade e conveniência para o exame clínico periodontal.

Avaliação periodontal prévia ao transplante:

Como rotina do Serviço de Hematologia e TCTH, todos pacientes candidatos para TCTH são avaliados e tratados para eliminar qualquer infecção de origem endodôntica ou cáries; e de acordo com o protocolo, se necessário, exodontias são realizadas. Após estes procedimentos de rotina e após assinarem o termo de consentimento informado, todos pacientes realizaram exame clínico periodontal completo e a coleta de placa subgengival no ambulatório da Faculdade de Odontologia

da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e no Serviço Odontológico do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). O autor realizou todos os exames clínicos periodontais com uma sonda periodontal manual codificada e colorida (1 a 10 mm)[¶]. Foi realizada uma calibragem intra-examinador através do teste de concordância Kappa, com valor de 0,78. Os seguintes parâmetros foram aferidos: Índice de Placa Visível (20), Índice de Sangramento Gengival (20), presença de fatores retentivos de placa (cálculo, cavidade cariosa, restaurações desadaptadas), profundidade de sondagem e recessão gengival. A medida da perda de inserção foi aferida a partir da recessão e profundidade de sondagem. Atividade inflamatória periodontal foi definida através da presença de um ou mais sítios com profundidade de sondagem ≥ 3 mm associado à presença de sangramento gengival.

Coleta Microbiológica:

A coleta de placa subgengival de cada paciente foi realizada através de uma cureta 3/4 da série Gracey® de ponta ativa pequena e estéril (21) sob condições de isolamento relativo com rolos de algodões e sugador de saliva. Dois sítios com a maior profundidade de sondagem foram escolhidos para a realização da coleta. Após deplacagem supragengival e remoção de cálculo nos sítios eleitos para a coleta, a ponta da cureta foi introduzida diretamente na porção mais profunda da bolsa periodontal e levemente tracionada contra a superfície do dente. Após a remoção, o material foi armazenado em tubo ephendorf em PBS (phosphate buffered saline) e congelado em -20°C .

Análise Microbiológica

Análise Molecular

Extração do DNA e purificação

De posse das amostras de biofilme subgingival congelados em meio tampão (PBS) e do meio cultivado congelado -20 °C foi iniciado o processo de extração do ácido desoxirribonucleico (DNA) pelo uso do QIAamp Tissue Kit[®] de acordo com as instruções do fabricante (Protocols for Bacteria; Qiagen Inc.,Valencia, Calif.). As amostras de placa foram ressuspensas em 70 µl de TE e armazenadas a -80°C.

Reações de Polimerase em Cadeia (PCR)

Foram realizadas (PCR) multiplex visando amplificar regiões dos segmentos dos genes 16S o ácido ribonucleico (RNA) das seguintes bactérias: *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. As PCR foram realizadas em aparelho DNA Thermal Cycler[®] (MJ research, Inc.). As reações contiveram aproximadamente 20ng de DNA, 1µM de cada primer, dNTPs 2,5 mM; ao redor de MgCl₂ 2mM; 0,5U de Taq DNA[®] polimerase (Super-therm JMR Holdings) em tampão adequado e foram realizadas num volume final de 25µl. A reação foi incubada por 4 minutos a 94°C, seguida de 40 ciclos de incubações a 94°C por 30 segundos, aproximadamente 60°C (relativo a cada set de primer) por 1 minuto e a 72°C por 1 minuto (extensão de 5 segundos a cada ciclo). Por último, foi realizada uma incubação a 72 °C por 10 minutos.

Multiplex PCR análise

Seleção do Primer

A estratégia montada para realização deste multiplex foi de utilizar 4 primers (F – forward) específicos, um para cada uma das espécies a ser investigada, e outro primer (R – reverse) o qual tem a propriedade de ser universal servindo para a amplificação do gene 16S rRNA de qualquer espécie bacteriana. Portanto, a especificidade da PCR multiplex foi realizada pelos primers F, conferindo amplicons de

tamanhos distintos para cada uma das quatro espécies a serem estudadas. Os primers R e os F para *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* foram os mesmos descritos por (22). Os primers F para *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* foram desenhados utilizando ferramentas de bioinformática (Clustal X e Blastn), tendo como molde de DNA as seqüências depositadas no GeneBank sob os números gi|51339819| (*P. intermedia*) e gi|19703352| (*F. nucleatum*). As seqüências nucleotídicas dos quatro primers F específicos bem como a do primer R para amplificação dos genes 16S rRNA encontram-se a seguir: *A. actinomycetemcomitans* - primer F específico (AaF), 5' ATT GGG GTT TAG CCC TGG TG 3'; *P. intermedia* - primer F específico (PiF), 5' GGT GTA GCG GTG AAA TGC TTA G 3'; *P. gingivalis* - primer F específico (PgF), 5' TGT AGA TGA CTG ATG GTG AAA ACC 3'; *F. nucleatum*- primer F específico (FnF), 5' GAC GGT ACC AAC AGA AGA AGT G 3' e conserved reverse primer (C11R), 5' ACG TCA TCC CCA CCT TCC TC 3'. Como controles positivos foram utilizados DNA de cultura das bactérias padrões *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* e *F. nucleatum*. Para os controles negativos foi utilizado DNA de placa subgengival de um paciente sem doença periodontal. Foram também utilizados controles brancos visando ter controle sobre possíveis contaminações das reações da PCR. A eletroforese do DNA foi realizada em gel de agarose 1,5% adicionadas de tampão de amostra (azul de bromofenol 0,25%, glicerol 30%, EDTA 1mM), e aplicada no gel contendo 0,5 ug/ml de brometo de etídeo. O DNA foi visualizado através de iluminação ultravioleta. Os amplicons dos genes de 16SRNA gerados pela PCR foram dos seguintes tamanhos: Fn/ 713pb; Pi/ 509pb; Aa/360pb, Pg/ 197/pb.

Avaliação dos desfechos após a realização do transplante:

Os seguintes desfechos foram avaliados: dias e grau de mucosite preconizado pela WHO (23); dias de febre ($\geq 37,8^{\circ}\text{C}$); dias de neutropenia; dias de antibioticoterapia; hemoculturas positivas, e dia da “pega” do enxerto, definida como três dias consecutivos com contagem de neutrófilos maior que $0.5 \times 10^9/\text{L}$. A presença de DECH aguda foi diagnosticada e graduada de acordo com o critério de Glucksberg (24), e a mortalidade relacionada ao TCTH (MRT), não associada com recaída foram aferidas nos primeiros 100 dias. As avaliações dos desfechos após o TCTH foram realizadas por duas enfermeiras treinadas do serviço de enfermagem do centro de TCTH do HCPA especificamente treinadas.

Análise dos dados

Para as comparações múltiplas foi utilizada uma Anova e post hoc Tukey para variáveis quantitativas e o teste de Qui-quadrado para variáveis categóricas. Na análise univariada comparativa foram utilizados o teste t de Student para amostras independentes para as variáveis quantitativas e o teste de Qui-quadrado com correção de Yates ou Teste Exato de Fisher para as variáveis categóricas. Na análise multivariada foi utilizada uma regressão linear múltipla. A análise estatística foi realizada no programa SPSS 15.0.

Considerações éticas

Este estudo foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Todos os pacientes assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Ficou assegurada, após o término do estudo, a

disponibilidade de tratamento periodontal a todos pacientes participantes do estudo, de acordo com a necessidade.

Resultados

Dos 105 pacientes examinados periodontalmente durante o período de Julho de 2003 até Agosto de 2008, 91 foram considerados para análise dos dados clínicos. Para análise microbiológica foram considerados 86 pacientes. Pode ser observado, na Tabela 1, que quase 90% dos transplantes alogênicos foram de doadores relacionados, e apenas 18% dos pacientes receberam condicionamento de intensidade reduzida. A doença mais prevalente foi o mieloma múltiplo, que foi tratado na totalidade pelo TCTH autólogo, já as leucemias agudas foram a segunda doença mais prevalente e tratadas na maioria dos casos com TCTH alogênico (Tabela 1).

Como podemos observar na Tabela 2, os desfechos clínicos precoces como o tempo de “pega” e/ou dias de neutropenia, que são fatores de impacto na incidência de infecções, foram semelhantes entre os pacientes que realizaram o TCTH autólogo e os que realizaram TCTH alogênico com RIC, no caso a fludarabina. Por isso, toda análise foi realizada agrupando os pacientes em função da origem das células tronco utilizadas no TCTH. Desta forma mesmo os pacientes realizando um transplante alogênico, porém com RCI, devem ser analisados juntamente com os que realizaram transplante autólogo.

Na comparação dos desfechos clínicos precoces entre os diferentes tipos de célula tronco utilizada no transplante, constata-se um quadro clínico significativamente pior nos pacientes que realizam transplante com células tronco da medula óssea, com exceção da hemocultura positiva. (Tabela 2). A taxa de mortalidade foi

significativamente menor no transplante com célula tronco periférica, com um percentual de (16,9% vs 43,8%, $p = 0.016$) do transplante alogênico. Ainda cabe ressaltar que o condicionamento não-mieloablativo do TCTH alogênico reduziu significativamente os dias em que os pacientes ficam neutropênicos em relação ao condicionamento mieloablativo e ainda que pacientes que utilizaram células tronco periféricas tinham mais idade que os pacientes que utilizaram células da medula óssea.

A incidência de DECH aguda, durante os primeiros 100 dias, foi semelhante entre o TCTH alogênico mieloablativo e TCTH com RIC (40,6% vs 42,9%, $p < 0.001$).

A mediana de idade foi maior no grupo do TCTH com células tronco periféricas 48,0 (41 – 56) do que no grupo que utilizou células da medula óssea 34,5 (26,8 – 39,5), $p = < 0.001$ (Tabela 3). Em relação à condição periodontal, foi observada inicialmente uma presença de placa supragengival bastante elevada tanto no grupo do TCTH de células periféricas, com um índice significativamente maior de placa 73,3% ($\pm 21,6$) que no grupo do TCTH de células da medula óssea 62,9% ($\pm 23,3$). Da mesma forma a presença de cálculo dental também foi alta, porém não significativa com uma média de 51% $\pm 23,2$ e 46,8% $\pm 19,2$, respectivamente. A mediana da perda de inserção no grupo de células periféricas foi maior 1,9mm (0,6 – 3,7) do que a do grupo das células da medula óssea 0,9mm (0,1 - 1,4), $p = 0.003$. Os pacientes que receberam célula tronco de origem periférica apresentaram condições periodontais significativamente piores (perda de inserção e presença de placa) do que os que receberam célula da medula óssea. Esta situação poderia ser explicada pela idade. O TCTH autólogo e o TCTH com RIC geralmente são realizados em pacientes mais

velhos, e a idade é um fator associado com o aumento da prevalência de doença periodontal (25, 26). A profundidade de sondagem teve uma média de 2 mm para ambos os grupos, a qual foi considerada relativamente baixa na amostra. Da mesma forma o sangramento teve uma média percentual muito baixa, tanto no TCTH de células periféricas 15,6% (7,9 -38,4) como no TCTH de medula óssea 12,4% (8,9 – 21,5). Em relação ao critério estabelecido para avaliação da presença de atividade inflamatória periodontal observa-se que a presença de inflamação foi consideravelmente alta e semelhante entre os pacientes, 88,1% no TCTH de células periféricas e 84,4% no TCTH de medula óssea (Tabela 3).

Todos os desfechos clínicos avaliados após o TCTH, exceto a mucosite, mostraram-se semelhantes em relação à presença ou ausência de inflamação periodontal, independentemente da fonte celular do transplante. Nos pacientes que realizaram TCTH com células da medula óssea, a presença de atividade inflamatória periodontal aumentou significativamente ($p= 0,023$), a quantidade de dias com presença de mucosite, $20,0 \pm 7,8$, em relação aos pacientes sem atividade inflamatória, $11,2 \pm 5,7$ (Tabela 4). Observou-se uma tendência a maior severidade da mucosite.

Na análise de regressão múltipla, quando ajustado para a TBI, o fato de o paciente apresentar atividade inflamatória periodontal implica que ele tenha em média 8 dias a mais de mucosite que um paciente que não tenha atividade inflamatória periodontal (Tabela 5).

A ocorrência da DECH aguda nos pacientes submetidos ao TCTH alogênico foi semelhante, independente da presença (37,5%) ou ausência (57,1%) de atividade inflamatória periodontal (Tabela 4).

Somente 16 pacientes apresentaram durante o desenvolvimento do PCR multiplex, pelo menos um dos periodontopatógenos estudados, sendo que 87,5% destes apresentavam atividade inflamatória periodontal (dados não apresentados). A presença do *Porphyromonas gingivalis* no biofilme coletado dos pacientes mostrou uma associação total com a presença do critério clínico de atividade de doença periodontal. Durante a análise univariada nenhuma variável de desfecho seja categórica ou quantitativa mostrou associação significativa com a presença de cada um ou pelo menos um dos 4 periodontopatógenos avaliados (dados não apresentados).

Discussão

Como o objetivo do estudo foi avaliar se a presença de atividade inflamatória periodontal tem algum papel na mortalidade precoce ou nas complicações precoces relacionadas ao TCTH, o grupo de pacientes que receberam transplantes no presente estudo foram divididos de acordo com a origem das células tronco hematopoiética utilizadas: células tronco do sangue periférico e células da medula óssea. Metodologicamente houve um agrupamento devido ao fato do TCTH autólogo e alogênico com RIC apresentarem em nossa amostra de pacientes desfechos semelhantes e igualmente diferentes daqueles observados no TCTH alogênicos mieloablativos.

Como nossa preocupação foi a identificação de sítios periodontais com atividade inflamatória nos pacientes submetidos ao TCTH, os critérios utilizados para categorização foram a profundidade de sondagem maior ou igual a 3 mm associada ao sangramento gengival. O sangramento e a profundidade de sondagem são reconhecidos parâmetros associados com inflamação periodontal (18, 19). Apesar da

perda de inserção ser o parâmetro clínico mais associado ao quadro histológico de migração apical do epitélio juncional, mostrando o histórico cumulativo de doença e sendo utilizado por muitos autores associado com a profundidade de sondagem para determinar atividade de doença periodontal (27, 28), no presente estudo optou-se por associar o sangramento a profundidade de sondagem para evitar uma possível superestimação da atividade inflamatória pela utilização isolada da profundidade de sondagem, determinando resultados falso-positivos (29) e pela reconhecida associação entre ausência de sangramento e saúde gengival (30).

No presente estudo, o grupo de pacientes do TCTH com células tronco da medula óssea que apresentavam atividade inflamatória periodontal desenvolveram um número maior de dias de mucosite que o grupo sem inflamação. Desta forma, um paciente com atividade inflamatória periodontal com todas suas características infecto-inflamatórias (31) aumentaria o risco para complicações relacionadas com a morbidade da mucosite. Os periodontopatógenos através de seus produtos metabólicos poderiam exercer um potencial efeito hiper-regulador para as citocinas pró-inflamatórias como no TNF- α e IL-1 presentes no epitélio oral e submucosa durante o estabelecimento da mucosite (32). Estas citocinas podem acelerar a progressão da ferida por dois meios: aumento do dano tecidual localizado e aumento da vascularidade subepitelial e subsequente maior liberação de quimioterápico na mucosa (32, 33). Finalmente, embora em um grupo pequeno de pacientes, nosso estudo mostrou que a presença de atividade inflamatória periodontal teve um efeito na duração da mucosite e suas conseqüências do TCTH alogênico mieloablativo.

Referências

1. Blijlevens NM, Donnelly JP, De Pauw BE. Mucosal barrier injury: biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy: an overview. *Bone Marrow Transplant* 2000; **25**(12): 1269-78.
2. Robien K, Schubert MM, Bruemmer B, Lloid ME, Potter JD, Ulrich CM. Predictors of oral mucositis in patients receiving hematopoietic cell transplants for chronic myelogenous leukemia. *J Clin Oncol* 2004; **22**(7): 1268-75.
3. Wardley AM, Jayson GC, Swindell R, Morgenstern GR, Chang J, Bloor R *et al.* Prospective evaluation of oral mucositis in patients receiving myeloablative conditioning regimens and haemopoietic progenitor rescue. *Br J Haematol* 2000; **110**(2): 292-9.
4. Forchielli ML, Azzi N, Cadranel S, Paolucci G. Total parenteral nutrition in bone marrow transplant: what is the appropriate energy level? *Oncology* 2003; **64**(1): 7-13.
5. Bradley L, Chambers M, Conklin C, Fox P, Garden A, Haveman C. Oral health in cancer therapy. A guide for health care professionals. In: Rankin K, Jones D, Redding S (eds). *Oral health in cancer therapy*: Dallas, 2003.
6. Panel NIOHCD. Consensus statement: oral complications of cancer therapies. In: Institut NC, (ed), 1990. pp 3-8.
7. Elad S, Garfunkel AA, Or R, Michaeli E, Shapira MY, Galili D. Time limitations and the challenge of providing infection-preventing dental care to hematopoietic stem-cell transplantation patients. *Support Care Cancer* 2003; **11**(10): 674-7.
8. Yeager KA, Webster J, Crain M, Kasow J, McGuire DB. Implementation of an oral care standard for leukemia and transplantation patients. *Cancer Nurs* 2000; **23**(1): 40-7; quiz 47-8.
9. Ohbayashi Y, Imataki O, Ohnishi H, Iwasaki A, Ogawa T, Inagaki N *et al.* Multivariate analysis of factors influencing oral mucositis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol* 2008; **87**(10): 837-45.
10. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000* 2005; **38**: 135-87.
11. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; **25**(2): 134-44.
12. Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Dibart S. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J Clin Periodontol* 1991; **18**(10): 766-75.
13. Reynolds MA, Minah GE, Peterson DE, Weikel DS, Williams LT, Overholser CD *et al.* Periodontal disease and oral microbial successions during myelosuppressive cancer chemotherapy. *J Clin Periodontol* 1989; **16**(3): 185-9.

14. Soga Y, Yamasuji Y, Kudo C, Matsuura-Yoshimoto K, Yamabe K, Sugiura Y *et al.* Febrile neutropenia and periodontitis: lessons from a case periodontal treatment in the intervals between chemotherapy cycles for leukemia reduced febrile neutropenia. *Support Care Cancer* 2008.
15. Akintoye SO, Brennan MT, Graber CJ, McKinney BE, Rams TE, Barrett AJ *et al.* A retrospective investigation of advanced periodontal disease as a risk factor for septicemia in hematopoietic stem cell and bone marrow transplant recipients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; **94**(5): 581-8.
16. Toljanic JA, Bedard JF, Larson RA, Fox JP. A prospective pilot study to evaluate a new dental assessment and treatment paradigm for patients scheduled to undergo intensive chemotherapy for cancer. *Cancer* 1999; **85**(8): 1843-8.
17. Melkos AB, Massenkeil G, Arnold R, Reichart PA. Dental treatment prior to stem cell transplantation and its influence on the posttransplantation outcome. *Clin Oral Investig* 2003; **7**(2): 113-5.
18. Albandar JM. Periodontal disease surveillance. *J Periodontol* 2007; **78**(7): 1179-81.
19. Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol* 2005; **32 Suppl 6**: 210-3.
20. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975; **25**(4): 229-35.
21. Jervoe-Storm PM, Alahdab H, Koltzsch M, Fimmers R, Jepsen S. Comparison of curet and paper point sampling of subgingival bacteria as analyzed by real-time polymerase chain reaction. *J Periodontol* 2007; **78**(5): 909-17.
22. Tran SD, Rudney JD. Improved multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA gene primers for simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, and *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Microbiol* 1999; **37**(11): 3504-8.
23. WHO. *Handbook for reporting results of cancer treatment*, World Health Organization: Geneva, 1979.
24. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J *et al.* 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; **15**(6): 825-8.
25. Beck JD. Periodontal implications: older adults. *Ann Periodontol* 1996; **1**(1): 322-57.
26. Locker D, Slade GD, Murray H. Epidemiology of periodontal disease among older adults: a review. *Periodontol 2000* 1998; **16**: 16-33.

27. Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol* 1999; **70**(1): 13-29.
28. Machtei EE, Christersson LA, Grossi SG, Dunford R, Zambon JJ, Genco RJ. Clinical criteria for the definition of "established periodontitis". *J Periodontol* 1992; **63**(3): 206-14.
29. Susin C, Haas AN, Oppermann RV, Haugejorden O, Albandar JM. Gingival recession: epidemiology and risk indicators in a representative urban Brazilian population. *J Periodontol* 2004; **75**(10): 1377-86.
30. Lang NP, Nyman S, Senn C, Joss A. Bleeding on probing as it relates to probing pressure and gingival health. *J Clin Periodontol* 1991; **18**(4): 257-61.
31. Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW *et al.* The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997; **24**(1): 72-7.
32. Sonis ST. Mucositis as a biological process: a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. *Oral Oncol* 1998; **34**(1): 39-43.
33. Donnelly JP, Bellm LA, Epstein JB, Sonis ST, Symonds RP. Antimicrobial therapy to prevent or treat oral mucositis. *Lancet Infect Dis* 2003; **3**(7): 405-12.

Tabela 1– Características gerais dos pacientes

Características Gerais	pacientes n = 91	autólogo n= 52	alogênico N=39
Idade*	43 (32-51)	50 (43.2-56)	35 (26-40)
Sexo masculino **	46 (50,5%)	24 (46,2%)	23 (59%)
Tipo de doação aparentado		0	35 (89,7%)
Condicionamento Não mieloablativo			7 (17,9%)
Diagnóstico da doença			
Leucemias Agudas (LLA,LMA)	23 (25,3%)	3 (5,8%)	20(51,2%)
Leucemias Mielóide Crônica (LMC)	3 (3,3%)	0	3 (7,7%)
Linfoma Não Hodgkin (LNH)	14 (15,4%)	11 (21,2%)	3 (7,7%)
Linfoma de Hodgkin (LH)	9 (9,9%)	8 (15,4%)	1 (2,6%)
Myelodisplasias	1 (1%)	0	1(2,6%)
Mieloma	30 (33%)	30(57,6%)	0
Outras	11 (12,1%)	0	11(28,2%)

* Variáveis quantitativas descritas pela mediana (percentil 25 e 75)

** Variáveis categóricas descritas pelo (n) percentual.

Tabela 2- Características gerais dos pacientes

Características Gerais	pacientes n = 91	autólogo n= 52	alogênico N=39
Idade	43 (32-51)	50 (43.2-56)	35 (26-40)
Sexo masculino **	46 (50,5%)	24 (46,2%)	23 (59%)
Tipo de doação aparentado		0	35 (89,7%)
Condicionamento Não mieloablativo			7 (17,9%)
Diagnóstico da doença			
Leucemias Agudas (LLA,LMA)	23 (25,3%)	3 (5,8%)	20(51,2%)
Leucemias Mielóide Crônica (LMC)	3 (3,3%)	0	3 (7,7%)
Linfoma Não Hodgkin (LNH)	14 (15,4%)	11 (21,2%)	3 (7,7%)
Linfoma de Hodgkin (LH)	9 (9,9%)	8 (15,4%)	1 (2,6%)
Myelodisplasias	1 (1%)	0	1(2,6%)
Mieloma	30 (33%)	30(57,6%)	0
Outras	11 (12,1%)	0	11(28,2%)

* Variáveis quantitativas descritas pela mediana (percentil 25 e 75)

** Variáveis categóricas descritas pelo (n) percentual.

Tabela 3 - Comportamento dos desfechos clínicos no pós transplante de acordo com a origem da célula tronco hematopoética.

	célula periférica		medula óssea	Valor P
	autólogo n=52	alo RIC n=7	alogênico n= 32	
Dias de pega	14.0 ±3.0 ^a	15.6 ±4.3 ^{a,b}	20.4 ±7.4 ^b	<0.001*
Dias de neutropenia	10.9 ±3.5 ^a	8.7 ±2.4 ^a	18.0 ±6.1 ^b	<0.001
Dias de mucosite	12.3 ±7.5 ^a	11.9 ±7.7 ^{a,b}	18.6 ±8.1 ^b	<0.001
Dias de mucosite grau 3 e 4	1.3 ±2.3 ^a	2.3 ±6.0 ^{a,b}	4.6 ±6.4 ^b	<0.005
Dias de antibioticoterapia	12.4 ±5.9 ^a	16.4 ±9.3 ^{a,b}	19.0 ±8.6 ^b	<0.001
Hemocultura positiva	25 (48.4%) ^a	5 (71.4%) ^a	17 (53.1%) ^a	0.499**
Óbito	8 (15.4%) ^a	2 (28.6%) ^{ab}	14 (43.8%) ^b	0.016**
DECH aguda	0 (0%) ^a	3 (42,9%) ^b	13 (40,6%) ^b	<0.001**

*Variáveis quantitativas descritas pela média ± desvio padrão.

a,b – letras diferentes significam médias diferentes. Anova e post hoc Tukey para comparações múltiplas.

** Variáveis categóricas descritas pelo n(%) e comparadas pelo teste de Qui-quadrado.

Tabela 4 – Características gerais e periodontais da amostra de acordo com a origem da célula tronco hematopoética.

Características Gerais	célula periférica n= 59	medula óssea n= 32	Valor P
Idade	48.0 (41 – 56)	34.5 (26.8 – 39.5)	< 0,001
Sexo masculino	27 (45.8%)	20 (62.5%)	0,192
Atividade Inflamatória Periodontal	52 (88.1%)	27 (84.4%)	0,747***
Parâmetros Periodontais			
Índice de Placa Visível ^a	73.3% ±21.6	62.9% ±23.3	0,035*
Profundidade de Sondagem	2.1 ±0.6	2.0 ±0.5	0,584
Cálculo dental ^a	51% ±23.2	46.8 ±19.2	0,383
Sangramento Gengival ^b	15.6% (7.9 -38.4)	12.4% (8.9 – 21.5)	0,267**
Perda de Inserção	1.9 (0.6 – 3.7)	0.9 (0.1 - 1.4)	0,003
Dentes perdidos	2 (0 -10.5)	0 (0-0)	0,000

^a Média percentual de sítios.

^b Mediana percentual de sítios.

* Variáveis quantitativas descritas pela média de \pm desvio padrão e comparadas pelo teste t de Student para amostras independentes.

** Variáveis quantitativas descritas pela mediana (percentil 25 e 75) e comparadas pelo teste Mann-Whitney .

*** Variáveis categóricas descritas pelo n (%) e comparadas pelo teste de teste de Qui quadrado e pelo Teste Exato de Fisher. $p < 0,05$.

Tabela 5 – Comparação dos desfechos clínicos do pós transplante em relação à presença de atividade inflamatória periodontal, de acordo com a origem das células tronco utilizadas no TCTH.

	célula periférica		Valor <i>P</i>	medula óssea		Valor <i>P</i>
	c/inflamação n= 52	s/inflamação n= 7		c/inflamação n= 27	s/inflamação n= 5	
Dias de pega	14.2 ±3.3	13.7 ±2.0	0,925	20.3 ±7.3	21.2 ±9.0	*
Dias de neutropenia	10.9 ±3.6	9.1 ±1.9	0,216	17.7 ±5.9	19.8 ±7.7	0,490
Dias de mucosite	11.8 ±7.6	15.6 ±6.0	0,208	20.0 ±7.8	11.2 ±5.7	0,023
Dias de mucosite Grau 3 e 4	1.5 ±3.0	0.9 ±1.5	0,575	5.9 ±6.9	1.4 ±1.9	0,237
Dias de antibioticoterapia	12.7 ±6.7	14.3 ±3.3	0,340	19.8 ±7.3	14.8 ±14.1	0,477
Hemocultura positiva	27 (51.9%)	3 (42.9%)	0,706	15(55.6%)	12 (44.4%)	**
Obito	7 (13.5%)	3 (42.9%)	0,087	13(48.1%)	1 (20.0%)	0,355
Dech aguda				12 (37,5%)	4 (57,1%)	0,415

* Variáveis quantitativas descritas pela média de \pm desvio padrão e comparadas pelo teste t de Student para amostras independentes.

**Variáveis categóricas descritas pelo n(%) e comparadas pelo teste de Qui quadrado com correção de Yates ou Teste Exato de Fisher.

Tabela 6 - Regressão linear múltipla da relação entre a presença da atividade inflamatória periodontal e os dias de mucosite ajustado para TBI:

Variáveis	Coeficiente b(IC 95%)	Valor p
Inflamação periodontal	8,1 (0,8 – 15,3)	0,030
TBI	5,6 (-0,1 – 11,2)	0,054

Artigo em Inglês

The effect of periodontal inflammation on bone marrow transplantation

Ronald Halla Júnior¹, Ingrid Mitto², Jomar Laurino³, Fernanda Munari⁴, Pablo Vasconcelos⁵, Alessandra Paz⁶, Gustavo Fisher⁶, Rosane Bittencourt⁶, Laura Fogliatto⁶, Liane Esteves Daudt^{6,7} e Lucia Silla^{7,8}.

1 Periodontist, PhD student of the Post-Graduation Program in Medical Sciences, Faculty of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

2 Data manager Hematology and Bone Marrow Transplantation do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

3 Visiting researcher from Laboratório de Biologia Molecular em Doenças Auto-Imunes e Infeccciosas - Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

4 Biologist from Laboratório de Biologia Molecular em Doenças Auto-Imunes e Infeccciosas - Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

5 Biologist from Laboratório de Cultura e Análise Molecular de Células Hematopoéticas – Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

6 Hematologist of Serviço de Hematologia e Transplante de medula Óssea do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

7 Head of Hematology and Bone Marrow Transplantation do HCPA.

8 Associate Professor School of Medicine Federal University of Rio Grande do Sul, Professor post-Graduation Program from the Federal University of Rio Grande do Sul.

Address correspondence to:

Ronald Halla Júnior
Av. Cristóvão Colombo 2937/s703
Porto Alegre. 90570-005. Brazil
Email:hallajr@cpovo.net

:

Abstract

This observational study evaluated the impact of periodontal inflammation and periodontal pathogens on oral and systemic complications of hematopoietic stem-cell transplantations (HSCT). **Methods:** From July 2003 to October 2008, 91 toothed patients aged 18 years or older submitted to autologous or allogeneic HSCT underwent clinical and microbiological periodontal evaluations before transplantation. Early clinical outcomes after HSCT were number of days with mucositis according to the World Health Organization, days to engraftment, days with neutropenia, blood cultures and complications at 100 days, such as acute graft-versus-host disease (GVHD), and mortality. Outcomes were evaluated and analyzed according to patients' periodontal conditions. **Results:** Because of the observed similarity of results in the first 100 days after HSCT between patients that received peripheral blood stem cells – autologous or reduced-intensity conditioning alloSCT, data was analyzed according to the origin of HSCT: peripheral blood or bone marrow cells. The number of mucositis days was greater in the group with periodontal inflammation after bone marrow HSCT ($p < 0.023$; 20 and 11 days). Multivariate analysis controlling for conditioning regimen revealed that the presence of inflammation resulted in a mean additional 8 days with mucositis ($p < 0.030$). **Conclusions:** Periodontal inflammation increased the number of days with mucositis in the group of patients that received bone marrow HSCT, and morbidity associated with HSCT was, therefore, greater. These results should be confirmed in a larger group of patients.

Key words: Oral mucositis, hematopoietic stem-cell transplantation, periodontal disease, periodontal inflammation and infection.

Introduction

Special attention has been given to determine risk factors for adverse effects shortly after allogeneic and autologous hematopoietic stem-cell transplantation (HSCT). Drugs used to promote myelosuppression also act on the epithelial cells of oral and gastric mucosa and cause mucositis (1). Total body irradiation (TBI) associated conditioning regimen is an independent risk factor for oral mucositis in allogeneic HSCT (2, 3). Mucositis morbidity may dramatically impair oral nutrition frequently leading to parenteral supplementation or total parenteral nutrition which, in addition to myelosuppression, may increase the marked susceptibility to bacteremia and septicemia, particularly during neutropenia (4). In the alloSCT setting, the occurrence of acute graft-versus-host disease (aGVHD) further increase HSCT early morbidity and mortality. To reduce post HSCT morbidity, evaluation of oral health before transplantation has been suggested for the treatment of possible potential focuses of infection and to establish a treatment protocol for these patients (5). Some studies reported that proper oral hygiene may prevent post HSCT infections (6, 7). A multivariate analysis of risk factors of mucositis revealed that oral healthcare and type of conditioning were significantly associated with the incidence of mucositis (8).

Periodontal disease have been described as risk factors for systemic infection (5, 9). Periodontal infection could be a relevant source of systemic infections in patients with neutropenia, and the magnitude of this effect has not been fully explored in HSCT. Periodontal infection and inflammation are not often painful and cannot be diagnosed visually only, moreover, pathogens are found in the periodontal pocket, and a cascade of inflammatory events is triggered to control bacterial aggression. Microbial complexes characteristics are related either with periodontal disease or gingival health (10, 11). *P. gingivalis*, *P. intermedia*, and *A. actinomycetemcomitans* are associated with increased

pocketed depth and among the most frequent pathogens involved with active periodontal disease (12).

In the setting of myelosuppressive cancer therapy, periodontal inflammation, and oral bacteria were shown as possible related to systemic infection (13), and periodontal treatment between chemotherapy courses was efficient in reducing febrile neutropenia in a 61-year-old patient with acute myelogenous leukemia (AML) (14). However, a retrospective study with 77 patients undergoing HSCT (15) did not find any significant association between periodontal disease, as measured by crestal alveolar bone loss, and septicemia. The lack of evidence for a casual relationship between periodontal disease and systemic infection suggested that its treatment could be postponed to a time after transplantation (16, 17).

These conflicting results could be associated with the lack of consensus about active periodontal disease. Crestal alveolar bone loss and clinical attachment loss, used as a marker for periodontal disease in epidemiological studies (18, 19), can be observed in patients without active disease, and as such do not pose a risk for bloodstream systemic infection or oral morbidity in HSCT. This study evaluated the impact of active periodontal inflammation and periodontal pathogens on oral and systemic complications of HSCT.

Patients and Methods

Study design

This prospective observational study evaluated the association of periodontal active disease, measured by gingival bleeding index and probing depth, and the

presence of periodontal pathogens as detected by Multiplex PCR before HSCT, with the outcomes in the first 100 days after transplantation.

Patient selection

Eighteen years and older patients scheduled to undergo autologous or allogeneic SCT at the Bone Marrow Transplantation Unit of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) were included consecutively, according to convenience and availability for periodontal clinical examination.

Periodontal evaluation before transplantation

As a routine of the Hematology and HSCT Service, all patients scheduled for SCT are evaluated and treated to eliminate any infection of endodontic origin or caries; according to the protocol, if necessary, teeth are extracted. After this routine procedures and after signing an informed consent, all patients underwent complete clinical periodontal examination and plaque collection in the outpatient office of the School of Dentistry of Universidade Federal do Rio Grande do Sul and the Dental Service of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). The author performed all clinical periodontal exams using a manual colorcoded (1 to 10mm) periodontal probe. Intra-observer variability was assessed using kappa statistics, and agreement was very good (kappa = 0.78). The following parameters were recorded: visible plaque index (20); gingival bleeding index (20); plaque retention factors, such as dental calculi, cavities, and faulty restorations; probing depth; and gingival recession. Clinical attachment loss was measured according to recession and probing depth. Active periodontal inflammation was defined as one or more sites with probing depth ≥ 3 mm associated with gingival bleeding.

MICROBIOLOGICAL SAMPLE COLLECTION:

Utilizing a sterilized 3.4 small blunt working-end Gracey hand curette (21) under relative isolation using cotton rolls and saliva ejector, two sites with the greatest probing depth were chosen for collection. After the removal of supragingival plaque and calculus from the sites selected for collection, the tip of the curette was introduced directly into the deepest portion of the periodontal pocket and slightly pushed against the tooth surface. The collected material was stored in an Eppendorf tube with phosphate buffered saline (PBS) and frozen at -20° C.

Molecular Microbiological analysis

DNA EXTRACTION AND PURIFICATION

DNA extraction was done using QIAamp Tissue Kit[®] according to manufacturer's instruction (Protocols for Bacteria; Qiagen Inc., Valencia, CA), and in stored at -80° C in 70 µl TE buffer.

POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) AND MULTIPLEX PCR ANALYSIS

Multiplex PCR was performed to amplify regions of 16S RNA gene segments of the following bacteria: *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. PCR was performed in a DNA Thermal Cycler[®] (MJ Research, Inc.). Reactions contained about 20 ng of DNA, 1 µM of each primer, 2.5 mM dNTPs; 2mM MgCl₂; and 0.5U Taq DNA[®] polymerase (Super-therm JMR Holdings) in buffer for a final volume of 25 µl. Thermocycling conditions were: 4 minutes at 94° C, 40 cycles at 94° C for 30 s, 60° C 60s, and at 72° C for 60s followed by a final extension at 72° C for 10 minutes. Four specific primers (F – forward): one for each species under investigation, and another primer (R – reverse),

for the amplification of the 16S rRNA gene. PCR multiplex specificity was obtained by the use of F primers, which provided Amplicons of different sizes for each of the four species under study. The R and F primers for *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis* were as described (22). F primers for *Prevotella intermedia* and *Fusobacterium nucleatum* were designed using bioinformation tools (Clustal S and Blastn) and GeneBank sequences numbers gi|51339819| (*P. intermedia*) and gi|19703352| (*F. nucleatum*) as DNA models. Nucleotide sequences of the four specific F primers, as well as of the R primer for 16S rRNA gene amplification, are described below: *A. actinomycetemcomitans* -specific F primer (AaF), 5' ATT GGG GTT TAG CCC TGG TG 3'; *P. intermedia*-specific F primer (PiF), 5' GGT GTA GCG GTG AAA TGC TTA G 3' *P. gingivalis*-specific F primer (PgF), 5' TGT AGA TGA CTG ATG GTG AAA ACC 3'; *F. nucleatum*-specific F primer (FnF) 5' GAC GGT ACC AAC AGA AGA AGT G 3' And conserved reverse primer (C11R), 5' ACG TCA TCC CCA CCT TCC TC 3'. DNA from standard bacterial cultures of *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* e *F. nucleatum* was used as positive control. DNA from sub-gingival plaque of a patient without periodontal disease was used as negative control. Blank controls were also used to control possible contamination of PCR reactions. DNA products were analyzed in 1.5% agarose gel electrophoresis stained ethidium bromide, and visualized under ultraviolet light. Amplicons of the 16SRNA genes generated by PCR had the following sizes: Pi - 509bp; Pg - 197bp; Aa - 360bp and Fn - 713bp.

SCT end point definitions:

The following end points were evaluated: days and severity of mucositis according to WHO recommendations (23); days with fever ($\geq 37.8^{\circ}\text{C}$); days with

neutropenia; days on antibiotic therapy; positive blood cultures during febrile neutropenia, and number of days to engraftment, as defined by three consecutive days with neutrophils more than $0.5 \times 10^9/L$. The presence of acute GVHD diagnosed and graded according to the Glucksberg criteria (24), and transplant related mortality (TRM), not associated with relapse, was assessed in the first 100 days. The evaluation of post HSCT outcomes was performed by two specially trained certified nurses from the nursing service of the HSCT Center of HCPA.

Statistical analysis

ANOVA and the post-hoc Tukey test were used for multiple comparisons of quantitative variables, and the chi-square test, for categorical variables. The Student *t* test was used for comparative univariate analysis of independent samples for quantitative variables, and the chi-square test with Yates adjustment or the Fisher exact test, for categorical variables. Multiple linear regressions were performed for multivariate analyses. All statistical tests were two-sided, with P-values of 0.05 or less indicating statistical significance. Statistical analyses were performed on SPSS 15.0 software.

Ethical considerations

This study was approved by the Committee on Research Ethics of Hospital de Clínicas de Porto Alegre. All patients signed informed consent to participate. Periodontal treatment was made available to all participants after the end of the study, according to their needs.

Results

From July 2003 to August 2008, of the 105 patients that underwent periodontal clinical evaluation data were evaluable in 91. Subgingival samples for microbiologic studies were collected from 86 patients. As can be seen in Table 1, almost 90% of allogeneic HSCT were from related donors, and only 18% underwent reduced-intensity conditioning (RIC). Multiple myeloma was the most frequent indication and all cases had an auto-SCT; acute leukemia was the second most frequent indication, and most cases were treated with myeloablative allogeneic HSCT (Table 1).

As can be seen in Table 2, early clinical outcomes, such as days with neutropenia and days to engraftment, which are factors that have an impact on the susceptibility to infection and mucositis, were similar for patients who underwent autologous and RIC allogeneic HSCT. Because of the similarity in the early outcomes, and the well known earlier engraftment of peripheral blood stem cells (PBSC), RIC alloSCT and autoSCT were grouped, and analysis was performed according to the origin of the stem cells used in HSCT. With the exception of positive blood cultures, which were similar between the groups, there was a significant statistical difference in all outcomes according to the SC origin. As expected, myeloablative bone marrow SCT lead to a significant early morbidity as well as mortality (43.8% vs 16.9%, $p = 0.016$) when compared to PBSC. During the first 100 days aGVHD occurred 41% of allo-SCT with 42,9% for RIC and 40,6% for myeloablative SCT.

As expected, median age was greater in the group that received PBSC 48.0 (41-56) as compared to bone marrow SC 34.5 (26.8-39.5), $p = < 0.001$ (Table 3). Periodontal condition, as defined by plaque index and attachment loss, was significantly more prevalent in the PBSC group 73.3% \pm 21.6 vs 62.9% \pm 23.3, $p = 0.035$; and 1.9 mm (0.6-3.7) vs 0.9 mm (0.1-1.4), $p = 0.003$, respectively. Although

without significance, dental calculus was also more frequently found in the PBSC group 51% \pm 23.2 and 46.8% \pm 19.2, respectively. These differences are probably related to age. AutoSCT and RIC alloSCT are performed in older patients as well as the prevalence of periodontal pathology is higher in older individuals (25, 26). Mean probing depth was 2 mm in both groups, and relatively low prevalent in the whole sample of patients. Similarly, bleeding also had a very low percentage mean, both in the peripheral blood 15.6% (7.9-38.4) and bone marrow 12.4% (8.9-21.5) HSCT groups. Hence, according to the evaluation criterion used, the presence of inflammation was similarly distributed in both groups of patients (Table 3).

When we analyze source of SC and the presence of periodontal inflammation with transplant early outcomes (Table 4), duration of mucositis in the BMSC group as compared with PBSC, was significantly affected by the presence of periodontal inflammation. In the BMSC group of patients, the mean duration of mucositis was 20.0 \pm 7.8 and 11.2 \pm 5.7 days for patients with and without periodontal inflammation, respectively, and the difference was statistically significant ($p = 0.023$). There was a trend for higher severity as well. Multiple regression analysis adjusted for TBI revealed that periodontal inflammation resulted in a statistically significant longer period of mucositis (mean 8 days) when compared with patients without active periodontal disease (Table 5).

Acute GVHD in patients that underwent allogeneic HSCT was similar regardless of the presence (37.5%) or absence (57.1%) of periodontal inflammation (Table 4).

Multiplex PCR analysis revealed at least one periodontal pathogens in 16 patients, and 87.5% of those had active periodontal inflammation, showing a good correlation between the presence of pathogens and active periodontal inflammation (data not shown). Of note, the presence of *Porphyromonas gingivalis* in the plaque

collected from patients showed a direct association with the clinical criteria for active periodontal inflammation. In univariate analysis, no outcome variable, either categorical or quantitative, was significantly associated with the presence of each or at least one of the 4 periodontal pathogens under study (data not shown).

Discussion

This study investigated the role of periodontal inflammation in early morbidity and mortality of HSCT. Because PBSC receptors (autoSCT or RIC alloSCT) presented similar early outcomes, for the purpose of analysis, the group of patients that underwent transplantation was divided according to the origin of hematopoietic stem cells: peripheral blood or bone marrow.

Because inactive periodontal disease is not relevant as a source of inflammation and infection, the criteria used for classification were probing depth equal to or greater than 3 mm and gingival bleeding. Bleeding and probing depth are parameters associated with periodontal inflammation (18, 19). Attachment loss is the clinical parameter more closely associated with the histological conditions of apical migration of junctional epithelium, which is a marker of cumulative disease and is used by several authors, together with probing depth, to determine disease activity (27, 28). To avoid a possible overestimation of inflammatory activity and false-positive results (29) when using only probing depth, and because the absence of bleeding is associated with gingival health (30), the evaluation was controlled by gingival bleeding.

In this study, patients with periodontal inflammation who receive BMSC experienced a greater number of days with mucositis than those in the group without inflammation. Therefore, patients with periodontal inflammation and its infectious and inflammatory characteristics (31) may be at an increased risk for mucositis. The

metabolic products of periodontal pathogens may have a potential hyper-regulatory effect on pro-inflammatory cytokines, such as TNF- α and IL-1 found in oral epithelium and submucosa during mucositis (32). These cytokines may accelerate the progression of the wound in two ways: by increasing local tissue damage and sub-epithelial vascularization, and by subsequent release of chemotherapeutic drugs into the mucosa (32, 33). In summary, although in a small sample of patients, our study showed that the presence of active periodontal inflammation might have an impact in mucositis duration and its consequences in myeloablative allogeneic SCT.

References

1. Blijlevens NM, Donnelly JP, De Pauw BE. Mucosal barrier injury: biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy: an overview. *Bone Marrow Transplant*. 2000 Jun;25(12):1269-78.
2. Robien K, Schubert MM, Bruemmer B, Lloid ME, Potter JD, Ulrich CM. Predictors of oral mucositis in patients receiving hematopoietic cell transplants for chronic myelogenous leukemia. *J Clin Oncol*. 2004 Apr 1;22(7):1268-75.
3. Wardley AM, Jayson GC, Swindell R, Morgenstern GR, Chang J, Bloor R, et al. Prospective evaluation of oral mucositis in patients receiving myeloablative conditioning regimens and haemopoietic progenitor rescue. *Br J Haematol*. 2000 Aug;110(2):292-9.
4. Forchielli ML, Azzi N, Cadranel S, Paolucci G. Total parenteral nutrition in bone marrow transplant: what is the appropriate energy level? *Oncology*. 2003;64(1):7-13.
5. Panel NIOHCD. Consensus statement: oral complications of cancer therapies. In: Institut NC, editor.; 1990. p. 3-8.
6. Elad S, Garfunkel AA, Or R, Michaeli E, Shapira MY, Galili D. Time limitations and the challenge of providing infection-preventing dental care to hematopoietic stem-cell transplantation patients. *Support Care Cancer*. 2003 Oct;11(10):674-7.
7. Yeager KA, Webster J, Crain M, Kasow J, McGuire DB. Implementation of an oral care standard for leukemia and transplantation patients. *Cancer Nurs*. 2000 Feb;23(1):40-7; quiz 7-8.
8. Ohbayashi Y, Imataki O, Ohnishi H, Iwasaki A, Ogawa T, Inagaki N, et al. Multivariate analysis of factors influencing oral mucositis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol*. 2008 Oct;87(10):837-45.
9. Bradley L, Chambers M, Conklin C, Fox P, Garden A, Haveman C. Oral health in cancer therapy. A guide for

health care professionals. In: Rankin K, Jones D, Redding S, editors. Oral health in cancer therapy. Dallas; 2003.

10. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000. 2005;38:135-87.

11. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998 Feb;25(2):134-44.

12. Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Dibart S. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J Clin Periodontol*. 1991 Nov;18(10):766-75.

13. Reynolds MA, Minah GE, Peterson DE, Weikel DS, Williams LT, Overholser CD, et al. Periodontal disease and oral microbial successions during myelosuppressive cancer chemotherapy. *J Clin Periodontol*. 1989 Mar;16(3):185-9.

14. Soga Y, Yamasuji Y, Kudo C, Matsuura-Yoshimoto K, Yamabe K, Sugiura Y, et al. Febrile neutropenia and periodontitis: lessons from a case periodontal treatment in the intervals between chemotherapy cycles for leukemia reduced febrile neutropenia. *Support Care Cancer*. 2008 Nov 18.

15. Akintoye SO, Brennan MT, Graber CJ, McKinney BE, Rams TE, Barrett AJ, et al. A retrospective investigation of advanced periodontal disease as a risk factor for septicemia in hematopoietic stem cell and bone marrow transplant recipients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002 Nov;94(5):581-8.

16. Melkos AB, Massenkeil G, Arnold R, Reichart PA. Dental treatment prior to stem cell transplantation and its influence on the posttransplantation outcome. *Clin Oral Investig*. 2003 Jun;7(2):113-5.

17. Toljanic JA, Bedard JF, Larson RA, Fox JP. A prospective pilot study to evaluate a new dental assessment and treatment paradigm for patients scheduled to undergo intensive chemotherapy for cancer. *Cancer*. 1999 Apr 15;85(8):1843-8.

18. Albandar JM. Periodontal disease surveillance. *J Periodontol*. 2007 Jul;78(7):1179-81.
19. Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005;32 Suppl 6:210-3.
20. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975 Dec;25(4):229-35.
21. Jervoe-Storm PM, Alahdab H, Koltzsch M, Fimmers R, Jepsen S. Comparison of curet and paper point sampling of subgingival bacteria as analyzed by real-time polymerase chain reaction. *J Periodontol*. 2007 May;78(5):909-17.
22. Tran SD, Rudney JD. Improved multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA gene primers for simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, and *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Microbiol*. 1999 Nov;37(11):3504-8.
23. WHO. Handbook for reporting results of cancer treatment. Geneva: World Health Organization; 1979.
24. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant*. 1995 Jun;15(6):825-8.
25. Beck J, Garcia R, Heiss G, Vokonas PS, Offenbacher S. Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol*. 1996 Oct;67(10 Suppl):1123-37.
26. Locker D, Slade GD, Murray H. Epidemiology of periodontal disease among older adults: a review. *Periodontol 2000*. 1998 Feb;16:16-33.
27. Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol*. 1999 Jan;70(1):13-29.

28. Machtei EE, Christersson LA, Grossi SG, Dunford R, Zambon JJ, Genco RJ. Clinical criteria for the definition of "established periodontitis". *J Periodontol*. 1992 Mar;63(3):206-14.
29. Susin C, Haas AN, Oppermann RV, Haugejorden O, Albandar JM. Gingival recession: epidemiology and risk indicators in a representative urban Brazilian population. *J Periodontol*. 2004 Oct;75(10):1377-86.
30. Lang NP, Nyman S, Senn C, Joss A. Bleeding on probing as it relates to probing pressure and gingival health. *J Clin Periodontol*. 1991 Apr;18(4):257-61.
31. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000*. 1997 Jun;14:33-53.
32. Sonis ST. Mucositis as a biological process: a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. *Oral Oncol*. 1998 Jan;34(1):39-43.
33. Donnelly JP, Bellm LA, Epstein JB, Sonis ST, Symonds RP. Antimicrobial therapy to prevent or treat oral mucositis. *Lancet Infect Dis*. 2003 Jul;3(7):405-12.

Table 1– General patient characteristics

General Characteristic	Patients n = 91	Autologous n = 52	Allogeneic n=39
Age*	43 (32-51)	50 (43.2-56)	35 (26-40)
Male sex**	46 (50.5%)	24 (46.2%)	23 (59%)
HLA matched related donors			35 (89.7%)
RIC Conditioning			7 (17.9%)
Disease diagnosis			
Acute Leukemia (ALL, AML)	23 (25.3%)	3 (5.8%)	20(51.2%)
Chronic Myelogenous Leukemia (CML)	3 (3.3%)	0	3 (7.7%)
NHL	14 (15.4%)	11 (21.2%)	3 (7.7%)
HD	9 (9.9%)	8 (15.4%)	1 (2.6%)
Myelodysplasia	1 (1%)	0	1(2.6%)
MM	30 (33%)	30(57.6%)	0
Other	11 (12.1%)	0	11(28.2%)

* Quantitative variables described as median (25th and 75th percentile).

** Categorical variables described as (n)percentage.

Abbreviations: RIC = reduced intention conditioning; ALL = acute lymphocytic leukemia; AML = acute myeloid leukemia; CML = chronic myeloid leukemia; NHL = non-Hodgkin lymphoma; HD = Hodgkin disease, and MM = multiple myeloma.

Table 2 – Clinical outcomes after transplantation according to the origin of hematopoietic stem cells.

	Peripheral Autologous n=52	blood cell allo RIC n=7	Bone marrow Allogeneic n = 32	<i>P</i>
Days to engraftment	14.0 ±3.0 ^a	15.6 ±4.3 ^{a,b}	20.4 ±7.4 ^b	<0.001*
Days with neutropenia	10.9 ±3.5 ^a	8.7 ±2.4 ^a	18.0 ±6.1 ^b	<0.001
Days with mucositis	12.3 ±7.5 ^a	11.9 ±7.7 ^{a,b}	18.6 ±8.1 ^b	<0.001
Days with grade 3 and 4 mucositis	1.3 ±2.3 ^a	2.3 ±6.0 ^{a,b}	4.6 ±6.4 ^b	<0.005
Days on antibiotic therapy.	12.4 ±5.9 ^a	16.4 ±9.3 ^{a,b}	19.0 ±8.6 ^b	<0.001
Positive blood culture	25 (48.4%) ^a	5 (71.4%) ^a	17 (53.1%) ^a	0.499**
Death	8 (15.4%) ^a	2 (28.6%) ^{ab}	14 (43.8%) ^b	0.016**
aGVHD	0 (0%) ^a	3 (42,9%) ^b	13 (40,6%) ^b	<0.001**

* Quantitative variables described as mean ± standard deviation; a, b – different letters indicate different means. ANOVA and post-hoc Tukey test for multiple comparisons; ** Categorical variables described as n(%) and compared using the chi-square test. aGVHD = acute graft-versus-host disease.

Table 3 – General and periodontal characteristics of the sample according to the origin of hematopoietic stem cells

General Characteristic	Peripheral blood cell n = 59	Bone marrow n = 32	P
Age	48.0 (41 – 56)	34.5 (26.8 – 39.5)	< 0.001
Male sex	27 (45.8%)	20 (62.5%)	0.192
Periodontal disease activity	52 (88.1%)	27 (84.4%)	0.747***
Periodontal parameters			
Visible plaque index ^a	73.3% ±21.6	62.9% ±23.3	0.035*
Probing depth	2.1 ±0.6	2.0 ±0.5	0.584
Dental calculus ^a	51% ±23.2	46.8 ±19.2	0.383
Gingival bleeding ^b	15.6% (7.9 -38.4)	12.4% (8.9 – 21.5)	0.267**
Attachment loss	1.9 (0.6 – 3.7)	0.9 (0.1 - 1.4)	0.003
Tooth loss	2 (0 -10.5)	0 (0-0)	0.000

^a % mean of sites.

^b % median of sites.

* Quantitative variables described as mean ± standard deviation and compared using the Student *t* test for independent samples.

** Quantitative variables described as median (25th and 75th percentile) and compared using the Mann-Whitney test.

*** Categorical variables described as n(%) and compared using the chi-square test and the Fisher exact test.

Table 4 – Comparison of clinical outcomes after transplantation according to periodontal inflammation and origin of stem cells used in HSCT.

	Peripheral blood cell		P	Bone marrow		P
	w/inflammation n= 52	wo/inflammation n= 7		w/inflammation n= 27	wo/inflammation n= 5	
Days to engraftment	14.2 ±3.3	13.7 ±2.0	0.925	20.3 ±7.3	21.2 ±9.0	0.805 *
Days with neutropenia	10.9 ±3.6	9.1 ±1.9	0.216	17.7 ±5.9	19.8 ±7.7	0.490
Days with mucositis	11.8 ±7.6	15.6 ±6.0	0.208	20.0 ±7.8	11.2 ±5.7	0.023
Days with grade 3 and 4 mucositis	1.5 ±3.0	0.9 ±1.5	0.575	5.9 ±6.9	1.4 ±1.9	0.237
Days on antibiotic therapy.	12.7 ±6.7	14.3 ±3.3	0.340	19.8 ±7.3	14.8 ±14.1	0.477 **
Positive blood culture	27 (51.9%)	3 (42.9%)	0.706	15(55.6%)	12 (44.4%)	0.645
Death	7 (13.5%)	3 (42.9%)	0.087	13(48.1%)	1 (20.0%)	0.355
aGVHD				12 (37,5%)	4 (57,1%)	0,415

* Quantitative variables described as mean ± standard deviation and compared using the Student *t* test for independent samples.

** Categorical variables described as n(%) and compared using the chi-square test and Yates correction or the Fisher exact test.

Table 5 – Multiple linear regression for presence of periodontal inflammation and days with mucositis adjusted according to TBI.

Variables	Coefficient b (95% CI)	P
Periodontal inflammation	8.1 (0.8 – 15.3)	0.030
TBI	5.6 (-0.1 – 11.2)	0.054

V CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerações Finais

Foi demonstrado, no presente estudo que a presença da inflamação periodontal aumentou significativamente o número de dias de mucosite oral nos pacientes que se submeteram ao TCTH de MO alogênico com condicionamento mieloablativo. Considerando-se que a mucosite é uma complicação importante após o transplante, não só aumentando o risco de bacteremia no paciente que está neutropênico, mas também interferindo na nutrição, tão importante para o sucesso do TCTH, é essencial que todas as medidas no sentido de diminuir sua prevalência, intensidade e duração sejam tomadas. Neste estudo observacional demonstramos, pela primeira vez, que a presença de doença periodontal ativa parece ser um fator de risco independente, para a duração da mucosite no transplante mieloablativo. Mostramos também que, na nossa população de pacientes, a presença do *Porphyromonas gingivalis* (complexo vermelho) e da *Prevotella intermedia* (complexo laranja) na bolsa periodontal, foi relacionada com atividade inflamatória periodontal na totalidade e em 85,7% das vezes, respectivamente.

Do ponto de vista patogênico, a cascata inflamatória desencadeada pela doença periodontal poderia estar relacionada com as fases II e III da mucosite, contribuindo na amplificação dos sinais moleculares que, se acredita, atuem nestas fases. Embora possível esta relação é difícil de ser comprovada pela complexidade dos processos determinantes da mucosite, e pelas medidas terapêuticas intensivas que devem ser tomadas no tratamento desta.

Se confirmados em um grupo maior de pacientes, nossos resultados sugerem que não apenas a infecção endodôntica, mas também a doença periodontal devem ser

apropriadamente tratada nos pacientes com indicação de TCTH, sobretudo nos que serão submetidos ao condicionamento mieloablativo e que receberão células-tronco de MO. O investimento em estrutura e em profissionais periodontistas é importante e necessário nos centros de TCTH, no esforço em diminuir a morbi-mortalidade destes procedimentos.

VI ANEXOS

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Caro participante,

O presente estudo é resultado de uma parceria entre a Faculdade de Medicina da UFRGS e a Faculdade de Odontologia da UFRGS e tem por objetivo aumentar o conhecimento e entendimento sobre as relações da presença de infecções bucais com complicações após o transplante de medula óssea.

O estudo será realizado nos pacientes que procuram o Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre para realização do transplante de medula óssea. Após o cadastramento, inicialmente todos os pacientes receberão tratamento dentário, com objetivo de tratar as cáries e qualquer infecção do canal.

Na seqüência será realizado um questionário, no qual as perguntas estão relacionadas aos hábitos de higiene e ao conhecimento sobre saúde bucal dos pacientes. Em seguida, será realizado um exame clínico com o objetivo de verificar a presença de doença de gengiva. Todo esse procedimento deverá demorar em torno de 40 minutos.

Depois de decorridos cem dias do transplante todos os pacientes serão orientados e encaminhados para tratamento da doença de gengiva de acordo com a sua situação.

Os possíveis desconfortos relacionados a esses procedimentos são aqueles decorrentes de um exame clínico odontológico de rotina, não havendo, situação dolorosa. Durante o tratamento da gengiva e dos dentes será indicado à utilização de anestésicos locais de acordo com a necessidade. Da mesma forma, não existem riscos adicionais de se submeter a esse exame e posterior tratamento odontológico além daquele normalmente associado a uma visita ao dentista. Serão tomadas todas as medidas para que o exame e tratamento sejam os mais seguros possíveis, tais como uso de materiais descartáveis e de instrumentais esterilizados.

São dois os benefícios associados à participação nesse estudo: (1) definir para o futuro se é necessário o tratamento da gengiva antes do transplante de medula óssea ou se as medidas de higiene oral atualmente utilizadas são suficientes; (2) diagnosticar precisamente a condição de sua gengiva e, se necessário for, encaminhar para tratamento na Faculdade de Odontologia da UFRGS.

Fica, ainda, assegurado o direito ao sigilo de todos os dados coletados, sendo que, em nenhum momento, será permitido acesso à outra pessoa que não o próprio indivíduo ou responsável legal.

É importante ressaltar que toda e qualquer dúvida será esclarecida pelos envolvidos nessa pesquisa e que esse esclarecimento poderá ser requisitado a qualquer momento. Fica, ainda, assegurada a liberdade do participante de recusar-se a participar ou de retirar-se do estudo a qualquer momento, sem que isso traga nenhuma consequência.

Eu, _____ (participante ou responsável) declaro que fui informado dos objetivos e procedimentos que serão realizados na presente pesquisa, bem como sei dos meus direitos e dos deveres dos pesquisadores. Declaro, ainda, que recebi uma copia do presente Termo.

_____, _____ de _____ de 200_.

Participante:

CI:

Responsável:

CI:

EFEITO DA DOENÇA PERIODONTAL NO
TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA

Pesquisador responsável:
Dra. Lúcia Mariano da Rocha Silla
UFRGS/HCPA
Telefone : 33168317

Anexo 3

ALOGÉNICO							Cod.:
Nome:			Doença:		Condicionamento:		
Prontuário:			Idade:		Nível sócioeconómico:		
Dia/Desfecho	Nº de neutrófilos	Febre > 38° C	Cultura positiva no Sangue	GVHD local / Grau(1,2,3,4)	Mucosite / grau(1,2,3,4)	Fungos	Dia/ Antibiótico
-5							
-4							
-3							
-2							
-1							
0							
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
Total							

Anexo 4

AUTÓLOGO						Cod.:
Nome:		Doença:		Condicionamento:		
Prontuário:		Idade:		Nível sócioeconômico:		
Dia/Desfecho	Nº de neutrófilos	Febre > 38° C	Cultura positiva no Sangue	Mucosite / grau(1,2,3,4)	Fungos	Dias Antibiótico
-5						
-4						
-3						
-2						
-1						
0						
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						
Total						