

<https://doi.org/10.53924/pswr.04>

Capítulo
04

EIXO IL-33/ST2 NA DOENÇA
PERIODONTAL CRÔNICA NA
SENESCÊNCIA: UM ESTUDO
ANALÍTICO TRANSVERSAL

EIXO IL-33/ST2 NA DOENÇA PERIODONTAL CRÔNICA NA SENESCÊNCIA: UM ESTUDO ANALÍTICO TRANSVERSAL

*IL-33 / ST2 Axis in Chronic Periodontal Disease in Senescence:
A Cross-Sectional Analytical Study.*

Amanda Rodrigues Borges¹
Melissa Carvalho Martins de Abreu²
Camila Botelho Miguel^{2,4}
Javier Emilio Lazo-Chica³
Wellington Francisco Rodrigues⁴

¹Odontóloga pela Faculdade Morgana Potrich - FAMP- Mineiros, GO, Brasil

²Departamento de Medicina do Centro Universitário de Mineiros - Unifimes, Mineiros, GO, Brasil

³Laboratório de Biologia Celular - Departamento de Biologia Estrutural /ICBN. Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM. Uberaba, MG, Brasil.

⁴Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG, Brasil.

RESUMO

A periodontite crônica é a forma mais comum de periodontite e a que mais acomete pacientes idosos. É caracterizada pela perda clínica de inserção devido à destruição do ligamento periodontal e a perda de suporte ósseo. A utilização do fluido crevicular gengival como diagnóstico da doença periodontal visa identificar mediadores liberados na infecção periodontal e conseqüentemente indicar um estado de saúde periodontal, antecipando o risco de adquirir a doença e determinar a sua progressão através de uma medida de coleta não invasiva. Este fluido contém proteínas sinalizadoras tais como a IL-33 que é um ligante do receptor ST2, e apesar desta ligação entre IL-33/ST2 ainda não ser totalmente esclarecida, acredita-se que ela possa participar da biologia óssea e no processo de osteoclastogênese observada na doença periodontal. Assim este estudo teve por objetivo avaliar o perfil de expressão do ligante do receptor ST2 no fluido crevicular da periodontite crônica de indivíduos da terceira idade, além de, verificar possíveis alvos diagnóstico na doença periodontal crônica no idoso. Para isto, foram coletadas amostras do fluido crevicular de 20 indivíduos, separados em 2 grupos, com e sem doença periodontal. As amostras foram avaliadas quanto a diferenças nas concentrações de IL-33 (ELISA). Foi encontrado uma elevação das concentrações de IL-33 na população com doença periodontal crônica de quase 3x acima dos valores do grupo sem doença periodontal ($p < 0.05$). Contudo o presente estudo indica uma interação da IL-33 na doença periodontal crônica em idosos e permite ratificar a necessidade de novas abordagens para investigar a via de sinalização relacionada ao eixo da IL-33.

Palavras-chaves: Periodontite crônica, fluido crevicular, IL-33, senescência.

ABSTRACT

Chronic periodontitis is the most common form of periodontitis and the one that most affects elderly patients. It is characterized by clinical attachment loss due to periodontal ligament destruction and loss of bone support. The use of gingival crevicular fluid as a diagnosis of periodontal disease aims to identify mediators released in periodontal infection and consequently indicate a periodontal health status, anticipating the risk of acquiring the disease and determining its progression through a non-invasive collection measure. This fluid contains signaling proteins such as IL-33 which is a ST2 receptor ligand, and although this link between IL-33/ST2 is not yet fully understood, it is believed that it may participate in bone biology and in the osteoclastogenesis process observed in periodontal disease. Thus, this study aimed to evaluate the expression profile of the ST2 receptor ligand in the crevicular fluid of chronic periodontitis in elderly individuals, in addition to verifying possible diagnostic targets in chronic periodontal disease in the elderly. For this, crevicular fluid samples were collected from 20 individuals, separated into 2 groups, with and without periodontal disease. Samples were evaluated for differences in IL-33 concentrations (ELISA). An elevation of IL-33 concentrations in the population with chronic periodontal disease was found almost 3x above the values of the group without periodontal disease ($p < 0.05$). However, the present study indicates an interaction of IL-33 in chronic periodontal disease in the elderly and allows us to confirm the need for new approaches to investigate the signaling pathway related to the IL-33 axis.

Keywords: Chronic periodontitis, crevicular fluid, IL-33, senescence.

1. INTRODUÇÃO

Com o aumento da população idosa e do acesso às orientações de saúde, nota-se que estes indivíduos estão mantendo por mais tempo a dentição natural e sua devida função, clinicamente diferente do que foi observado há pouco tempo, onde se tinham poucos dentes remanescentes e um grande número de próteses totais. Atualmente, ainda é possível observar pacientes portadores de próteses total, parcial, ou implantes, mas, em geral com maior número de remanescentes dentários na cavidade bucal. ^(1,2)

Existem alguns problemas comuns na cavidade oral relacionados ao envelhecimento, tais como: edentulismo, xerostomia, lesões na mucosa oral, problemas mastigatórios, próteses mal adaptadas, cáries coronoradiculares e principalmente, a doença periodontal. ⁽³⁾

A doença periodontal é o resultado de condições inflamatórias e destrutivas que acometem as estruturas do periodonto de proteção e/ou sustentação. ⁽⁴⁾ Em pacientes da terceira idade, em geral, é referida como periodontite crônica, que é o tipo mais comum de periodontite. ⁽⁵⁾

É característico da periodontite crônica, o acúmulo de biofilmes bacterianos supra-gengival e sub-gengival associados à formação do cálculo, assim como a inflamação gengival, formação de bolsa, perda de inserção periodontal, perda de osso alveolar e em alguns casos, a supuração. ⁽⁶⁾

Por muitos anos, a doença periodontal era diagnosticada somente através de exames clínicos e radiográficos.⁽⁷⁾ Os novos testes de diagnóstico da doença periodontal visam por meio do fluido gengival crevicular, analisar a resposta inflamatória do hospedeiro, onde métodos imunológicos e biológicos são capazes de identificar mediadores liberados na infecção periodontal. ⁽⁸⁾

O fluido crevicular gengival é a resposta da interação entre o biofilme bacteriano e o tecido periodontal.⁽⁹⁾ Este fluido tem origem dos plexos de vênulas pós-capilares situados logo abaixo do epitélio juncional, e sua função é servir como indicadores da doença periodontal. ⁽⁸⁾

A coleta do fluido crevicular gengival é feita com acesso ao estado fisiopatológico do periodonto de um sítio específico de forma não invasiva. ⁽¹⁰⁾ Diversas proteínas sinalizadoras estão presentes no fluido crevicular, incluindo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-1 (IL-1) e interleucina-6 (IL-6). Outras

mais recentes estão sendo associadas como a interleucina-33 (IL-33). A IL-33 chama atenção, pois além de estar associada com a ativação da via de linfócitos T helper tipo 2 (Th2), do sistema imune, parece participar da biologia óssea e na osteoclastogênese observada na doença periodontal.

A IL-33 foi descrita pela primeira vez por Schimitz e colaboradores em 2005.⁽¹¹⁾ Esta citocina é considerada membro da família da IL-1, e considera-se que a mesma atua na variação da resposta imunológica induzindo a produção de citocinas pelos linfócitos Th2.

A IL-33 é um ligante para o receptor ST2. A participação desta ligação ST2/IL-33 na doença periodontal crônica, ainda é obscura. ⁽¹¹⁾ Desta forma, levando em consideração os fatores que favorecem a doença periodontal crônica (DPC) no idoso, bem como a sua maior incidência de doença crônica, compreender a relação da ativação de ST2 pelo seu ligante, se torna atrativo, pois poderá auxiliar na compreensão do papel da ativação do eixo IL-33/ST2 na DPC, bem como apontar para um possível marcador diagnóstico na doença. Além disso, diversas outras moléculas direcionam a patogenia da doença, o que pode contribuir para indicar possíveis biomarcadores

Assim este estudo teve por objetivo avaliar o perfil das concentrações da IL-33 no fluido crevicular de indivíduos da terceira idade com e sem periodontite crônica.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Aspectos Éticos da Pesquisa

Todos os procedimentos já foram aprovados pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, sob número: 017430/2014, assim como devidamente cadastrado na Plataforma Brasil, e seguem a resolução 466/2012 do conselho nacional de saúde.

2.2. Critérios de inclusão

Neste item foram considerados indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos, não fumantes, com e sem doença periodontal crônica.

2.3. Critérios de exclusão

Indivíduos que não conseguiram realizar pelo menos 3 coletas dos cones e indivíduos edentados.

2.4. Coletas de Material Biológico

Os grupos foram separados em pacientes com doença periodontal crônica e sem doença periodontal. Os indivíduos doentes foram selecionados após a avaliação clínica e a detecção de profundidade de sondagem igual ou maior a 3 mm, além de terem apresentado em pelo menos um local a presença de sangramento marginal.

Já para os indivíduos saudáveis foram considerados todos que estiveram fora dos parâmetros citados anteriormente.

Os cones foram coletados e levados a micro tubos com 500 µL de inibidor de protease. Imediatamente após a coleta o material foi inserido em nitrogênio líquido e mantido em refrigeração a -80°C.

2.5. Elisa

Os fluidos foram descongelados e homogeneizados individualmente com o auxílio de um vórtex, na presença de inibidor de proteases (Complete, Roche Diagnostics GmbH) e, após homogeneização, os sobrenadantes foram coletados para dosagem de citocina. A técnica de ELISA foi utilizada para a detecção e quantificação da interleucina-33 (R&D Systems). Os procedimentos foram executados de acordo com as indicações do fabricante.

2.6. Controle de Qualidade

Realizou-se o Controle de Qualidade Interno para todas as análises, onde os parâmetros necessários foram seguidos: definição clara dos objetivos, procedimentos, normas e critérios para os limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades, bem como o uso de controles para avaliar a imprecisão analítica. ⁽¹²⁾

2.7. Análise estatística

Após a realização dos Elisás, os dados foram tabulados no programa Excel da Microsoft e analisados do software da "Graphpad prisma". As normalidades dos dados foram avaliadas (teste Shapiro-Wilk) e as variâncias (teste F). O teste T não pareado

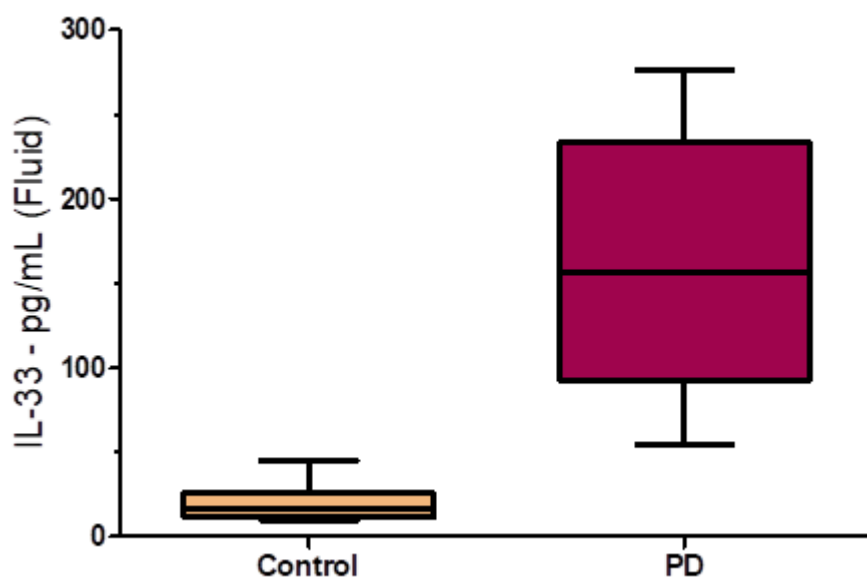
foi utilizado para comparação dos grupos. Foi considerado um nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

Após as coletas das amostras e realização dos Elisás, foi determinado as concentrações do ligante de ST2, a interleucina-33. Uma vez que a mesma se relaciona com a capacidade de ativação de osteoclastos independente de RANK-L.

Como resultados, encontrou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) das concentrações de IL-33 no fluido crevicular dos indivíduos com doença periodontal crônica (Figura 1).

Figura 1. Concentração de IL-33 no fluido crevicular na doença periodontal crônica em idosos.



Fonte:
dos autores e da pesquisa.

Própria

4. DISCUSSÃO

A doença periodontal é uma doença infecciosa e relacionada à destruição dos tecidos de suporte, levando à perda funcional dos dentes, estando associada em maiores índices a grupos com maior vulnerabilidade, como os idosos. A senescência

é um estágio da vida que tem se ampliado cada vez mais, pela melhoria da qualidade de vida. No entanto, esta fase traz severas modificações biológicas, tais como modificações do sistema imune. Nosso estudo, possibilitou identificar concentrações maiores de IL-33 no fluido crevicular de idosos em doença periodontal.

A interleucina-33 é uma proteína de função dupla que pode desempenhar papéis importantes tanto como citocina quanto como fator nuclear intracelular. Em estudo que avaliou possíveis correlações entre as concentrações de IL-33 e IL-1 α no fluido gengival crevicular e plasma obtido de pacientes saudáveis, com periodontite crônica ou com periodontite agressiva generalizada em faixa etária de 20-60 anos, os autores identificaram concentrações médias maiores de IL-33 no fluido crevicular e no plasma no grupo com periodontite agressiva, seguidas pelo grupo com periodontite crônica. Tal dado corrobora e demonstra a relação da citocina com a doença periodontal. ⁽¹³⁾

Por outro lado, em outra abordagem outro grupo de pesquisadores avaliou se a contração de IL-33 poderia contribuir para diferenciar pacientes com doença periodontal daqueles saudáveis. Os autores avaliaram o fluido gengival, a saliva e os níveis plasmáticos de interleucina-33, e concluíram que os níveis de IL-33 na doença periodontal crônica não garantem a separação entre indivíduos saudáveis e doentes. ⁽¹⁴⁾

Acreditamos que fatores como idade, polimorfismo gênico e grau da doença possam contribuir para os níveis da citocina. Em recente abordagem foi verificado a relação das concentrações de IL-33 com a doença periodontal de pacientes com doença periodontal crônica e agressiva, da qual os autores correlacionaram positivamente com o polimorfismo de nucleotídeos únicos. ⁽¹⁵⁾

A associação da concentração da IL-33 na doença periodontal em idosos é pouca abordada e já foi relatada a necessidade de novos estudos para avaliar a verdadeira relação em pacientes idosos, uma vez que esta pode ser uma via promissora para instigação a alvos terapêuticos em idosos com a doença periodontal crônica. ^(16,17)

5. CONCLUSÃO

O presente estudo indica uma interação da IL-33 na doença periodontal crônica em idosos e permite ratificar a necessidade de novas abordagens para investigar a via de sinalização relacionada ao eixo da IL-33.

LISTA DE ABREVIATURAS

DPC Doença periodontal crônica

IL-1: Interleucina-1

IL-33: Interleucina-33

IL-6: Interleucina-6

TNF- α :Fator de necrose tumoral alfa

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rodrigues WF. Estudo da fisiopatologia da doença periodontal e ferramentas aplicadas ao diagnóstico e terapêutica. Uberlândia; 2016.
- Marchini L, Montenegro FLB, Cunha V de PP da, Santos JFF dos. Prótese dentária na Terceira Idade: considerações clínicas e preventivas diversas. *Revista Longevidade*. 2010;(1).
- Brochier CW. Fatores odontológicos associados à disfagia orofaríngea em idosos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul . Porto Alegre; 2017. p. 1–46.
- Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *Journal of dental research*. 2010;89(12):1349–63. DOI:[10.1177/0022034510376402](https://doi.org/10.1177/0022034510376402)
- Tadjoedin FM, Fitri AH, Kuswandani SO, Sulijaya B, Soeroso Y. The correlation between age and periodontal diseases. *Journal of International Dental and Medical Research*. 2017;10(2):327–32.
- Quirynen M, de Soete M, van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: a review of the literature. *Clinical oral implants research*. 2002 Feb;13(1):1–19. DOI: [10.1034/j.1600-0501.2002.130101.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.2002.130101.x)
- Abbott PV. Classification, diagnosis and clinical manifestations of apical periodontitis. *Endodontic Topics*. 2004 Jul 1;8(1):36–54. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2004.00098.x>
- Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontology* 2000. 2016 Feb 1;70(1):53–64. DOI: [10.1111/prd.12107](https://doi.org/10.1111/prd.12107)
- Teles R, Sakellari D, Teles F, Konstantinidis A, Kent R, Socransky S, et al. Relationships among gingival crevicular fluid biomarkers, clinical parameters of periodontal disease, and the subgingival microbiota. *Journal of periodontology*. 2010 Jan;81(1):89–98. DOI: [10.1902/jop.2009.090397](https://doi.org/10.1902/jop.2009.090397)
- Ozeki M, Nozaki T, Aoki J, Bamba T, Jensen KR, Murakami S, et al. Metabolomic Analysis of Gingival Crevicular Fluid Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Mass spectrometry (Tokyo, Japan)*. 2016;5(1):A0047–A0047. DOI: [10.5702/massspectrometry.A0047](https://doi.org/10.5702/massspectrometry.A0047)
- Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*. 2005 Nov;23(5):479–90. DOI: [10.1016/j.immuni.2005.09.015](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2005.09.015)
- Rodrigues WF, Miguel CB, Napimoga MH, Oliveira CJ, Lazo-Chica JE. Establishing standards for studying renal function in mice through measurements of body size-adjusted creatinine and urea levels. *BioMed research international*. 2014. DOI: [10.1155/2014/872827](https://doi.org/10.1155/2014/872827)
- Pai B S, Pradeep AR. Correlations between Interleukin-33 and -1 α Levels in Gingival Crevicular Fluid and Plasma in Patients with Chronic or Aggressive Periodontitis and Disease-

- free Subjects. The Bulletin of Tokyo Dental College. 2019 Dec 10;60(4):279–89. DOI:[10.2209/tdcpublication.2019-0002](https://doi.org/10.2209/tdcpublication.2019-0002)
14. Buduneli N, Özçaka Ö, Nalbantsoy A. Interleukin-33 levels in gingival crevicular fluid, saliva, or plasma do not differentiate chronic periodontitis. Journal of periodontology. 2012 Mar;83(3):362–8. DOI: [10.1902/jop.2011.110239](https://doi.org/10.1902/jop.2011.110239)
 15. Ballambettu SP, Pradeep AR, Purushottam M, Sen S. Higher interleukin-33 levels in aggressive periodontitis cases. Journal of Indian Society of Periodontology. 2019 Sep 1;23(5):424–9. DOI: [10.4103/jisp.jisp_217_19](https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_217_19)
 16. Rodrigues WF, Miguel CB, Mendes NS, Freire Oliveira CJ, Ueira-Vieira C. Association between pro-inflammatory cytokine interleukin-33 and periodontal disease in the elderly: A retrospective study. Journal of Indian Society of Periodontology. 2017 Jan 1;21(1):4–9. DOI:[10.4103/jisp.jisp_178_17](https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_178_17)
 17. Chibebe PC, Terreri M, Ricardo LH, Pallos D. Uma visão atual do fluido gengival crevicular como método de diagnóstico periodontal. Rev ciênc méd, (Campinas). 2008;17(3/6):163–73.