



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro Biomédico

Faculdade de Odontologia

Millena Amoedo Cobra

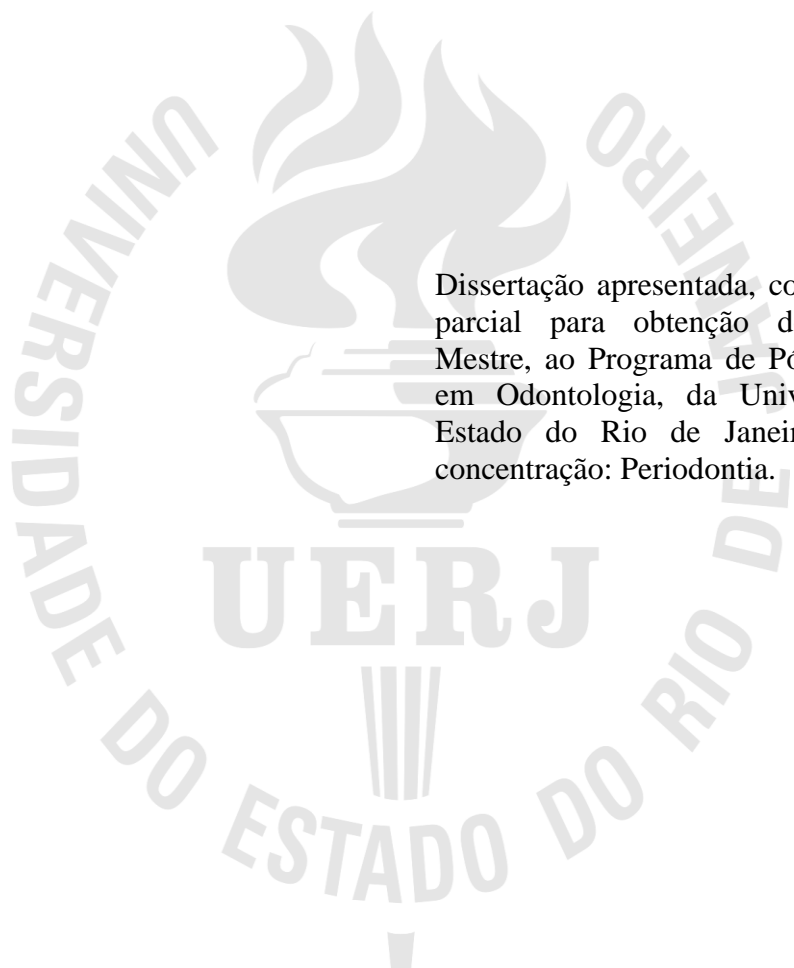
**Níveis de marcadores inflamatórios na saliva de adolescentes com  
lúpus eritematoso sistêmico juvenil**

Rio de Janeiro

2023

Millena Amoedo Cobra

**Níveis de marcadores inflamatórios na saliva de adolescentes com lúpus  
eritematoso sistêmico juvenil**



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Periodontia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Fernanda de Brito Silva

Rio de Janeiro

2023

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB/B

C657 Cobra, Millena Amoedo.  
Níveis de marcadores inflamatórios na saliva de adolescentes com lúpus eritematoso sistêmico juvenil / Millena Amoedo Cobra. – 2023.  
45 f.

Orientadora: Fernanda de Brito Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.

1. Lúpus eritematoso sistêmico. 2. Citocinas. 3. Adolescente. 4. Saliva. I. Silva, Fernanda de Brito. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. III. Título.

CDU  
616.314

Bibliotecária: Adriana Caamaño CRB7/5235

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Millena Amoedo Cobra

**Níveis de marcadores inflamatórios na saliva de adolescentes com lúpus eritematoso  
sistêmico juvenil**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Periodontia.

Aprovada em 06 de fevereiro de 2023.

Orientadora:

Prof.<sup>a</sup> Dra. Fernanda de Brito Silva  
Faculdade de Odontologia – UERJ

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer  
Faculdade de Odontologia – UERJ

---

Prof. Dr. Flávio Roberto Sztajnbok  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Fernanda de Oliveira Bello Correa  
Universidade Federal de Juiz de Fora

Rio de Janeiro

2023

## AGRADECIMENTOS

A minha mãe Maria Helena e a minha irmã Priscilla, pelo amor incondicional de sempre, por sempre me apoiarem em tudo, por incentivarem meus estudos e por estarem ao meu lado em qualquer situação.

As minhas afilhadas Maria Luísa e Maria Fernanda por serem meu refúgio diário, por toda a alegria que me trazem e por darem leveza para a minha vida.

Aos meus amigos da vida toda pelo amor, pela torcida e pelo incentivo de sempre.

A minha orientadora, Fernanda Brito, por ser uma das minhas maiores incentivadoras, por acreditar no meu potencial, por sempre arrumar um jeito de ceder seu precioso tempo, pelas dicas, pelos ensinamentos e por todo o carinho durante esses anos.

Ao professor Ricardo Fischer por todos os ensinamentos, pela paciência e por toda a ajuda que deu no meu trabalho.

Ao doutor Flávio Sztajnbok pela disponibilidade de seu tempo e por sua proatividade.

A Bárbara Coelho pelas horas e horas do seu tempo que foram cedidas a mim e ao meu trabalho, por toda a dedicação e empenho para que o trabalho desse certo e pela paciência.

A Heloísa por ter trabalhado comigo incansavelmente durante esse tempo e por toda a ajuda nesse projeto.

A todos os meus professores pelos ensinamentos durante esses anos.

Aos pacientes e seus respectivos responsáveis por confiarem na ciência e pela colaboração para que esse trabalho fosse realizado.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para o meu trabalho.

## RESUMO

COBRA, Millena Amoedo. *Níveis de marcadores inflamatórios na saliva de adolescentes com lúpus eritematoso sistêmico juvenil*. 2023. 45 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

**Objetivo:** o objetivo deste estudo foi avaliar os níveis de marcadores inflamatórios na saliva de adolescentes com lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj). **Material e Métodos:** 43 pacientes foram selecionados para participar do estudo e foram divididos em 2 grupos: LESj (n=21) e sistemicamente saudáveis (n=22). Todos os participantes foram submetidos ao exame periodontal padrão-ouro e tiveram a saliva coletada. Os dados reumatológicos dos pacientes com LESj também foram coletados. A análise da IL-34 foi feita por ELISA e as citocinas fator de necrose tumoral alpha (TNF- $\alpha$ ), interferon gama (IFN- $\gamma$ ), IL-23, IL-1 $\beta$  e IL-6 foram analisadas por LUMINEX. **Resultados:** O grupo com LESj teve uma perda de inserção clínica (PIC) significativamente maior (p=0.001) do que o grupo sistemicamente saudável. Ambos os grupos foram semelhantes em relação à profundidade de bolsa, sangramento a sondagem e porcentagem de sítios com placa. Não houve diferença estatística entre os grupos em relação as seis citocinas analisadas. No grupo com LESj, houve correlação entre IL-1 $\beta$  com PIC=1-2mm (p=0.042), do TNF- $\alpha$  com a velocidade de hemossedimentação (VHS) (p=0.041) e houve uma tendência da IL-6 com o índice de massa corporal (IMC) (p=0.050). Ao comparar os indivíduos com LESj de acordo com o status de atividade da doença, observou-se que a IL-1 $\beta$  foi significativamente maior (p=0.025) nos indivíduos com LESj em remissão do que nos indivíduos com LESj em atividade da doença. **Conclusão:** Indivíduos com LESj apresentam mais perda de inserção do que os indivíduos controles. As concentrações das citocinas inflamatórias na saliva dos pacientes com LESj foram semelhantes aos controles e a inflamação gengival não influenciou a concentração das citocinas inflamatórias.

Palavras-chave: LESj. Adolescente. Citocinas. Gengivite. PIC.

## ABSTRACT

COBRA, Millena Amoedo. *Levels of inflammatory markers in the saliva of teenagers with juvenile systemic lupus erythematosus*. 2023. 45 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

**Objective:** the aim of this study was to assess the levels of inflammatory markers in the saliva of teenagers with juvenile systemic lupus erythematosus (jSLE). **Material and methods:** 43 patients were selected to participate the study and were split in 2 groups: jSLE (n=21) and sistemically healthy (n=22). All participants underwent to a gold standard periodontal examination and had their saliva collected. The rheumatologic data of jSLE patients were also collected. IL-34 analysis was determined by ELISA and the cytokines tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), IL-23, IL-1 $\beta$  e IL-6 were analyzed by LUMINEX. **Results:** The jSLE group had a significantly higher clinical attachment loss (CAL) (p=0.001) than the sistemically healthy group. Both groups were similar regarding pocket depth, bleeding on probing and percentage of sites with plaque. There was no statistical difference between groups regarding the six cytokines analyzed. In the jSLE group, there was a positive correlation between IL-1 $\beta$  with CAL=1-2mm (p=0.042), TNF- $\alpha$  with erythrocyte sedimentation rate (ESR) (p=0.041) and there was a tendency between IL-6 with body mass index (BMI) (p=0.050). Comparing jSLE subjects according to disease activity status, it was observed that IL-1 $\beta$  was significantly higher (p=0.025) in subjects in remission than in subjects with the disease in activity. **Conclusion:** Individuals with jSLE have more attachment loss than control individuals. The concentrations of inflammatory cytokines in saliva were similar to controls and gingival inflammation did not influence the concentration of inflammatory cytokines.

Keywords: jSLE. Teenager. Cytokines. Gingivitis. CAL.

## LISTA DE TABELAS

Quadro 1 –	Dados demográficos dos participantes dos estudos que analisaram a IL-34 na DP, o meio biológico coletado e o teste utilizado para análise de detecção da IL-34 .....	16
Quadro 2 –	Parâmetros periodontais avaliados, as características periodontais dos participantes e os principais resultados em relação a IL-34 .....	18
Tabela 1 –	Dados demográficos e clínicos dos pacientes .....	29
Tabela 2 –	Parâmetros periodontais dos pacientes com LESj e controles .....	29
Tabela 3 –	Marcadores inflamatórios .....	30
Tabela 4 –	Divisão por status da doença .....	30
Tabela 5 –	Correlações das citocinas com PIC, IMC e VHS no grupo com LESj .....	30
Tabela 6 -	Dados dos pacientes com LESj com a IL-1 $\beta$ acima de 1440 .....	31



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AI	Anti-inflamatório
AR	Artrite reumatóide
ATB	Antibiótico
CSF-1	Fator estimulante de colônias 1
CSF-1R	Receptor de fator estimulante de colônias 1
DM	Diabetes mellitus
DP	Doença periodontal
FCG	Fluido crevicular gengival
FPI	Fluido peri-implantar
GC	Gengivite crônica
GIP	Gengivite induzida por placa
H	Homem
IFN- $\gamma$	Interferon gama
IG	Índice gengival
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
IPV	Índice de placa visível
ISS	Índice de sangramento a sondagem
JCE	Junção amelo-cementária
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
LESj	Lúpus eritematoso sistêmico juvenil
M	Mulher
MCP-1	Proteína quimioatrativa de monócitos-1
MMF	Micofenolato de Mofetil
NA	Não avaliado
NESA	Núcleo de Estudos da Saúde do Adolescente
NI	Não informado
PAg	Periodontite agressiva
PBS	Profundidade de bolsa à sondagem
PC	Periodontite crônica
PI	Peri-implantite

PIC	Perda de inserção clínica
PP	Parâmetros periodontais
PPI	Parâmetros peri-implantares
PTPNC	Pós terapia periodontal não cirúrgica
PTP- $\zeta$	Proteína-tirosina fosfatase do tipo receptor
SLEDAI	<i>Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index</i>
SLICC	<i>Systemic Lupus International Collaborating Clinics</i>
SP	Saúde periodontal
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
TO	Tratamento ortodôntico
TP	Terapia periodontal
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
VHS	Velocidade de Hemossedimentação

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
1	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	12
1.1	<b>IL-34</b> .....	12
1.2	<b>Doença periodontal</b> .....	14
1.3	<b>IL-34 e DP</b> .....	15
1.4	<b>LES</b> .....	21
1.5	<b>IL-34 e LES</b> .....	22
1.6	<b>LES e DP</b> .....	22
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
2.1	<b>Seleção dos pacientes</b> .....	24
2.2	<b>Crterios de inclusão/exclusão</b> .....	24
2.3	<b>Prontuário do paciente</b> .....	25
2.4	<b>Exames odontológicos</b> .....	25
2.5	<b>Coleta da saliva</b> .....	26
2.6	<b>Análise das citocinas</b> .....	27
2.7	<b>Análise estatística</b> .....	27
3	<b>RESULTADOS</b> .....	28
3.1	<b>Características clínicas e periodontais</b> .....	28
3.2	<b>Análise da saliva</b> .....	28
3.3	<b>Correlações</b> .....	28
4	<b>DISCUSSÃO</b> .....	32
	<b>CONCLUSÃO</b> .....	36
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	37
	<b>ANEXO - Aprovação do Comitê de ética em pesquisa da UERJ</b> .....	44

## INTRODUÇÃO

A saúde periodontal é definida pela ausência de inflamação clinicamente detectável. A saúde gengival pode ser classificada como saúde no periodonto íntegro ou saúde no periodonto reduzido (em um paciente com periodontite estável ou em um paciente sem doença periodontal prévia).<sup>1</sup> Já as doenças gengivais são condições inflamatórias caracterizadas por vermelhidão, edema gengival e sangramento provocado que não acometem o periodonto de sustentação, mas são um fator de risco importante e um pré-requisito necessário para a doença periodontal (DP), sendo a principal delas a gengivite induzida por placa<sup>1</sup>, que é uma lesão inflamatória resultante das interações entre o biofilme da placa dentária e a resposta imunoinflamatória do hospedeiro, sendo reversível após a redução dos níveis de placa.<sup>1,2</sup>

O limiar de acúmulo de placa necessário para induzir a inflamação gengival e o impacto sobre sua taxa de progressão em sítios específicos, ou na boca toda, varia entre os indivíduos de acordo com os fatores de risco locais (como fatores de retenção de placa e baixo fluxo salivar) e os fatores de risco sistêmicos, que influenciam negativamente a resposta imunoinflamatória a uma determinada carga de biofilme da placa dentária, resultando em inflamação exagerada (como fumo, fatores metabólicos e fármacos). A saúde bucal e a saúde sistêmica estão fortemente inter-relacionadas.<sup>1</sup> Um desequilíbrio entre o biofilme microbiano e o sistema imunológico do hospedeiro resulta na superexpressão de uma série de mediadores inflamatórios, especialmente citocinas pró-inflamatórias.<sup>3</sup>

A IL-1 $\beta$  é uma potente citocina pró-inflamatória e tem uma infinidade de funções imunológicas, além de ser crucial para as respostas de defesa do hospedeiro a infecções e lesões.<sup>4,5</sup> O TNF- $\alpha$  é um componente crucial para uma resposta imune normal, no entanto, a produção inadequada ou excessiva pode ser prejudicial e levar a doenças. Além disso, foi identificado como um fator significativo na patogênese de doenças autoimunes.<sup>6</sup> A IL-23 é secretada principalmente por macrófagos ativados e células dendríticas. A desregulação da resposta inflamatória mediada por IL-23 pode causar inflamação crônica e dano tecidual.<sup>7</sup> A IL-6 é produzida em vários tipos de células, tem uma gama de atividades biológicas em várias células-alvo, além de exercer efeitos sistêmicos e mediar a inflamação local. Níveis elevados de IL-6 foram associados a produção de autoanticorpos.<sup>8</sup> O IFN- $\gamma$  pode contribuir para doenças autoimunes induzindo a produção de anticorpos que ativam o complemento e, além

disso, ativando macrófagos e promovendo inflamação tecidual.<sup>8</sup> A IL-34 parece desempenhar papéis importantes tanto na saúde, quanto na doença. A superexpressão ou diminuição da IL-34 pode ter um desempenho significativo na patogênese de distúrbios autoimunes.<sup>9</sup> Em doenças inflamatórias crônicas, a IL-34 pode ajudar a atenuar a inflamação e promover a resolução, suprimindo a produção de citocinas inflamatórias.<sup>10</sup>

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica de origem autoimune caracterizada por uma produção desregulada de autoanticorpos e ativação do complemento, resultando em múltiplos danos nos tecidos e órgãos.<sup>11</sup> Sua diversidade de manifestações clínicas é acompanhada pela complexidade dos fatores (genéticos, hormonais e ambientais) que a causam e pela variedade de autoanticorpos aos quais está associada.<sup>12</sup> A doença também pode possuir períodos de atividade e remissão e é mais comum em mulheres.<sup>13</sup> Quando o diagnóstico é realizado até os 18 anos de idade, é chamado de lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj)<sup>14</sup>, que é uma forma mais rara e mais grave, com maior atividade da doença no início e ao longo do tempo e, conseqüentemente, apresenta uma maior frequência de morbidade e taxas de sobrevivência menores.<sup>15</sup>

Embora as doenças gengivais e o LESj tenham fatores etiológicos diferentes, essas doenças apresentam um perfil imunológico semelhante e níveis alterados de citocinas.<sup>16</sup> Até o presente momento, poucos estudos analisaram os parâmetros periodontais em pacientes com LESj<sup>17-19</sup> e os resultados demonstram que mesmo jovens, indivíduos com LESj apresentam maior perda de inserção do que controles sistemicamente saudáveis.<sup>19</sup> Já foi demonstrado que pacientes com LESj apresentaram uma maior concentração de citocinas pró-inflamatórias no soro<sup>20</sup>, no plasma<sup>21</sup> e no fluido gengival<sup>19</sup>. No entanto, não há ainda informações sobre a concentração salivar de citocinas inflamatórias de pacientes com LESj.

O soro tem um papel importante na detecção e no monitoramento de autoanticorpos no LESj, entretanto, a coleta de sangue é desconfortável. Já a coleta da saliva não é invasiva e o risco de contrair infecções é mínimo.<sup>22</sup> A saliva provou ser uma fonte confiável para a detecção de biomarcadores<sup>22</sup> que podem prever o risco de desenvolvimento de doenças sistêmicas.<sup>23</sup> A saliva é uma combinação de várias moléculas orgânicas e inorgânicas, derivadas de diversas glândulas salivares, células epiteliais orais e sanguíneas descamadas, fluido gengival e alguns microrganismos; podendo refletir, assim, a saúde local e sistêmica.<sup>24</sup> No entanto, é importante saber se as concentrações de citocinas na saliva são influenciadas pela condição periodontal.

O objetivo desse estudo foi avaliar os níveis de marcadores inflamatórios na saliva dos pacientes com LESj.

## 1 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 IL-34

As citocinas controlam as principais funções fisiológicas no nível celular (crescimento, proliferação e migração), através da sinalização, via receptores específicos, além de processos biológicos essenciais, como inflamação, imunidade e angiogênese. Elas estão envolvidas, também, em uma ampla variedade de condições patológicas, incluindo inflamação, infecção, distúrbios autoimunes e câncer. As citocinas são uma grande família de pequenas proteínas secretadas, incluindo quimiocinas, linfocinas, interferons, fatores de necrose tumoral e interleucinas.<sup>25</sup>

No grupo das interleucinas, está a interleucina-34 (IL)-34; uma citocina que foi descoberta, em 2008, como um novo ligante para um receptor altamente seletivo e já conhecido: o receptor de fator estimulante de colônias 1 (CSF-1R).<sup>26</sup> A IL-34 pertence às citocinas hematopoiéticas helicoidais de cadeia curta, com a menor interface de dimerização entre os membros da família. Ela não possui domínio ou motivo estrutural de consenso aparente e não compartilha semelhança de sequência com qualquer outro fator de crescimento, incluindo o fator estimulante de colônias 1 (CSF-1).<sup>10</sup> A IL-34 é uma glicoproteína homodimérica secretada e altamente conservada entre os vertebrados e mais conservada que o CSF-1 entre as espécies de mamíferos e aves.<sup>27</sup>

Foi demonstrado que há a expressão do mRNA da IL-34 em vários tecidos, como coração, cérebro, pulmão, fígado, rim, baço, timo, testículos, ovário, intestino delgado, próstata, cólon<sup>26</sup> e, também, nos fibroblastos gengivais.<sup>28</sup> A IL-34 é uma citocina especializada que mostra expressão específica na pele (produzida por queratinócitos) e no cérebro (produzida por neurônios) e desempenha papéis críticos no desenvolvimento e manutenção das células de Langerhans e micróglia, respectivamente.<sup>29</sup> Porém, embora os padrões de expressão da IL-34 tenham sido bem identificados, os mecanismos moleculares que controlam essa expressão ainda precisam ser explorados.<sup>10</sup>

A IL-34 parece desempenhar papéis importantes tanto na saúde, quanto na doença e também foi identificada como uma citocina que aumenta seletivamente a viabilidade de monócitos.<sup>25</sup> Ela é conhecida por promover proliferação, diferenciação e sobrevivência em células hematopoiéticas, como macrófagos, osteoclastos e monócitos.<sup>30</sup> Essas células,

juntamente com as células de Langerhans e a micróglia, estão envolvidas no desenvolvimento, homeostase, reparo dos tecidos e servem como reguladores chave da função imune. No entanto, a desregulação dos macrófagos, osteoclastos, monócitos, células de Langerhans e micróglia contribui para uma variedade de doenças, incluindo inflamação, câncer, fibrose e doenças ósseas.<sup>31</sup> Em condições patológicas, a IL-34 parece ter envolvimento em todas essas doenças e em distúrbios autoimunes também.<sup>27</sup> Além disso, a IL-34 parece ter um papel central na reabsorção óssea causada pela inflamação.<sup>28</sup>

A alta expressão de IL-34, apesar de uma expressão quase indetectável de seu receptor, sugere a existência de outros receptores para ela. Assim, a expressão diferencial e maior da IL-34, em comparação com a expressão de CSF-1 e CSF-1R no cérebro, sugeriu que a IL-34 poderia sinalizar, também, através de um outro receptor. Dessa forma, por cromatografia de afinidade por IL-34 da membrana cerebral solubilizada de camundongos, seguida por análise espectrométrica de massa, a proteína-tirosina fosfatase do tipo receptor (PTP- $\zeta$ ), que é um proteoglicano de sulfato de condroitina na superfície celular, foi descoberto como um novo receptor funcional para a IL-34. O PTP- $\zeta$  interage com a IL-34 através de suas cadeias de sulfato de condroitina.<sup>32</sup> Encorajados por essa descoberta, Segaliny et al. (2015), foram procurar uma ligação alternativa de IL-34 em outros tipos de células. Em uma série de experiências, verificou-se que a IL-34 se liga com baixa afinidade a sulfatos de condroitina em células sem o CSF-1R e o PTP- $\zeta$ . Assim, foi descoberto o sindecan-1. Ele foi capaz de modular as atividades biológicas da IL-34 através do CSF-1R. Nas famílias proteoglicanas, os sindecans controlam muitas funções biológicas, como angiogênese, biodisponibilidade de citocinas e adesão/interação celular. A IL-34 induziu a migração de células que expressam o sindecan-1. Foi visto também que, um nível baixo/moderado de sindecan-1 pode “sequestrar” a IL-34 na superfície celular através de suas cadeias de sulfato de condroitina, limitando a interação entre a IL-34 e o CSF-1R. Já a superexpressão do sindecan-1, induziu fosforilação significativa do CSF-1R, reforçada pela presença de IL-34. O sindecan-1 é expresso, principalmente, em células epiteliais.<sup>33</sup>

Em cada doença a IL-34 pode desempenhar papéis diferentes, dependendo da origem celular, das características moleculares, dos componentes celulares no microambiente circundante, além da magnitude da disponibilidade e expressão de receptores e reguladores relacionados a ela, como CSF-1R, PTP- $\zeta$  e sindecan-1.<sup>10</sup> Em condições fisiológicas, a expressão da IL-34 parece ser restrita à epiderme e ao sistema nervoso central.<sup>29</sup> A diminuição da expressão de IL-34 afeta o status homeostático na pele e, provavelmente, no sistema nervoso central.<sup>25</sup> A superexpressão ou diminuição da IL-34 pode ter um desempenho

significativo na patogênese de distúrbios autoimunes.<sup>9</sup> Nas doenças inflamatórias, a IL-34 pode ajudar a atenuar a inflamação e promover a resolução, suprimindo a produção de citocinas inflamatórias.<sup>10</sup> Deve ser considerada a possibilidade de que a IL-34 possa ser aumentada como um mecanismo inibitório iniciado como consequência de inflamação aguda ou crônica e não como causa da doença.<sup>34</sup> Em suma, a expressão da IL-34 vai ser acompanhada pela gravidade e progressão da doença em alguns casos, mas também poderá ter efeitos benéficos em outros. Portanto, o papel da IL-34 na doença é complexo, controverso e altamente dependente do contexto.<sup>10,27</sup>

Os papéis patológicos da IL-34 nos distúrbios autoimunes foram avaliados em várias doenças como artrite reumatoide, síndrome de Sjogren, lúpus eritematoso sistêmico e psoríase. Nessas doenças, espera-se que a neutralização da IL-34 tenha múltiplos efeitos terapêuticos. Nas condições patológicas acompanhadas de inflamação, como doença inflamatória intestinal, doença arterial coronariana, periodontite, obesidade, doença hepática crônica (na doença hepática gordurosa não alcoólica), lesões das glândulas salivares e lesões renais, uma expressão aprimorada da IL-34 foi relatada. A inflamação é um processo biológico vital que permite ao hospedeiro desenvolver uma resposta de proteção. Através de uma complexa rede de sinalização, que envolve vários tipos de células e moléculas, a IL-34 desempenha papéis importantes na orquestração de respostas imunes inatas e adaptativas durante a inflamação.<sup>10</sup> Porém, ainda é necessário saber se a IL-34 sustenta uma doença inflamatória, possui propriedades pró-inflamatórias ou imunorregulatórias ou é simplesmente uma marca da inflamação.<sup>27</sup> Dessa forma, a IL-34 poderá ser útil como um novo biomarcador para avaliar a progressão de inúmeras doenças, incluindo distúrbios autoimunes, doenças inflamatórias, infecções e câncer.<sup>25</sup> A elucidação dos efeitos benéficos e adversos da IL-34 no microambiente inflamatório pode ser importante para entender e tratar doenças.<sup>30</sup>

## 1.2 Doença periodontal

A periodontite é uma doença inflamatória crônica multifatorial caracterizada pela destruição progressiva dos tecidos de suporte do dente. A doença periodontal começa com a gengivite, que é um quadro reversível. A gengivite pode ser induzida por placa, quando for iniciada por bactérias presentes no biofilme microbiano que se forma na superfície dos dentes e invadem o tecido adjacente, resultando em inflamação ou não induzida por placa, quando



geralmente ocorre como manifestação de condições sistêmicas. Na gengivite, o osso e o ligamento periodontal não são afetados, além disso, ela é comumente indolor, raramente leva a sangramento espontâneo e é caracterizada por mudanças clínicas sutis. Quando não tratada, a gengivite pode evoluir para a periodontite, levando à destruição dos tecidos e, em alguns casos, à perda dentária.<sup>35-37</sup>

As principais características da periodontite incluem a perda de suporte do tecido periodontal manifestada por perda de inserção clínica e perda óssea alveolar avaliada radiograficamente, presença de bolsa periodontal e sangramento gengival. Um novo esquema de classificação de periodontite foi adotado, no qual as formas da doença anteriormente reconhecidas como "crônica" ou "agressiva" agora são agrupadas em uma única categoria "periodontite" e são definidas com base em um sistema multidimensional de estadiamento e graduação.<sup>38</sup>

A patogênese da periodontite não é totalmente elucidada, mas é sabido que as bactérias são os agentes desencadeantes da doença, porém, também envolve fatores genéticos e ambientais, a disbiose da microflora e a resposta imune do hospedeiro à infecção patogênica. Essa resposta do hospedeiro é o que vai determinar a progressão da doença.<sup>37,39</sup> Um desequilíbrio entre o biofilme bacteriano e o sistema imunológico do hospedeiro resulta na superexpressão de uma série de citocinas pró-inflamatórias e propagação da inflamação através dos tecidos gengivais, que leva à destruição do tecido conjuntivo e subsequente destruição do osso alveolar.<sup>40</sup>

### 1.3 IL-34 e DP

As citocinas são produzidas localmente nos tecidos periodontais e podem ser detectadas no fluido gengival. As citocinas pró-inflamatórias encontradas no fluido gengival ou nos tecidos adjacentes aos sítios afetados pela periodontite, tem sido sugeridas como uma ajuda importante no monitoramento da gravidade clínica da doença<sup>41</sup> e, dessa forma, alguns estudos foram realizados para verificar se existe alguma relação entre a IL-34 e a doença periodontal e se essa citocina pode ser usada como um marcador da periodontite.

Atualmente existem 8 estudos que avaliam essa relação.<sup>41-47</sup>

**Quadro 1:** Dados demográficos dos participantes dos estudos que analisaram a IL-34 na DP, o meio biológico coletado e o teste utilizado para análise de detecção da IL-34

Referências	Objetivo	Amostra Total (n = pacientes)	Grupo(s) Teste	Grupo(s) Controle	Crítérios de Exclusão	Idade (anos)	Gênero	Meio Biológico	Teste de Detecção IL-34
Batra et al., 2019	Avaliar IL-34 em saudáveis, PC e PAg	90	PC: 30 PAg: 30	SP: 30	Fumantes, grávidas e/ou lactantes; doenças sistêmicas relevantes; uso de AI/ATB nos 3 meses anteriores; <20 dentes e TP nos 6 meses anteriores	PC: 40.80 ± 7.65 PAg: 30.00± 5.27 SP: 27.00± 2.82	54 H 36 M	FGC	ELISA
Lira-Junior et al., 2019	Avaliar IL-34, CSF-1 e IL-1β em mucosite e PI	43	PI: 23	Mucosite: 20	Fumantes; TP ou peri-implantar nos 6 meses anteriores; grávidas ou lactantes; uso de ATB e AI nos últimos 6 meses	PI: 60.8 (± 5.9) Mucosite: 61.5 (± 10.8)	37,2% H 62,8% M	FPI e saliva não estimulada	ELISA
Guruprasad & Pradeep, 2018a	Avaliar IL-34 em PC e o efeito da TP não cirúrgica	30	PC: 15  Receberam TP não cirúrgica e, após 8 semanas, FGC/plasma foram coletados novamente (grupo PTPNC)	SP: 15	Doenças sistêmicas relevantes; gravidez; tumores ósseos de células gigantes; PAg, DM; tabagismo/alcoolismo; uso de esteróide, anticoncepcional, AI ou ATB; e TP nos 6 meses anteriores	PC: 40.8 ± 7.2 SP: 37.4 ± 4.93	16 H 14 M	FGC e plasma	ELISA
Guruprasad & Pradeep, 2018b	Avaliar IL-34 em fumantes saudáveis e com PC generalizada	60	PC não fumantes: 15 PC fumantes: 15	SP não fumantes: 15 SP fumantes: 15	Doenças sistêmicas relevantes; gravidez; tumores ósseos de células gigantes; PAg, DM; alcoolismo; uso de esteróide, anticoncepcional, AI ou ATB; e TP nos 6 meses anteriores; <20 dentes	PC não fumantes: 39.7 ± 7.995 PC fumantes: 39.4 ± 6.468  SP não fumantes: 35.3 ± 7.825 SP fumantes: 35.3 ± 7.287	NI	FGC e plasma	ELISA
Guruprasad & Pradeep,	Avaliar IL-34 em obesos	40	PC não obesos:	SP não	Doenças sistêmicas relevantes; gravidez; tumores ósseos de células gigantes; PAg, DM;	PC não obesos: 31.80 ± 4.96	20 H	FGC e	ELISA

2018c	com/sem DP		10 PC obesos: 10	obesos: 10 SP obesos: 10	tabagismo/alcoolismo; uso de esteróide, anticoncepcional, AI ou ATB; e TP nos 6 meses anteriores; <20 dentes	PC obesos: 31.40 ± 6.04 SP não obesos: 33.90 ± 4.48 SP obesos: 32.00 ± 4.40	20 M	plasma	
Guruprasad & Pradeep, 2018d	Avaliar IL-34 em PC com/sem DM tipo 2	175	PC não diabéticos: 35 PC diabéticos: 35	SP não diabéticos: 35 GC não diabéticos: 35 Gengivite diabéticos: 35	Doenças sistêmicas relevantes; gravidez; tumores ósseos de células gigantes; PAg, DM não controlada; tabagismo/alcoolismo; uso de esteróide, anticoncepcional, AI ou ATB; e TP nos 6 meses anteriores	PC não diabéticos: 41.5 ± 6.56 PC diabéticos: 48.5 ± 6.55 SP não diabéticos: 36.0 ± 3.97 GC não diabéticos: 37.2 ± 4.83 Gengivite diabéticos: 38.4 ± 4.63	90 H 85 M	FGC e plasma	ELISA
Martinez et al., 2017	Explorar a presença de IL-34 e CSF-1 em relação à DP	48	PC: 29	GIP: 12 SP: 7	Doenças sistêmicas, fumantes/ex-fumantes que pararam <5 anos, uso de ATB/AI não esteróides nos 6 e 3 meses anteriores, respectivamente, uso de anticonvulsivantes/imunossupressores; TP e/ou TO prévio nos últimos 12 meses; <20 dentes	PC: 48.9 ± 11.0 GIP: 37.3 ± 12.2 SP: 38.3 ± 14.2	PC: 41% H 59% M GIP: 42% H 58% M SP: 57% H 43% M	Soro e saliva não estimulada	ELISA

PC – Periodontite crônica; PAg – Periodontite agressiva; SP – Saúde periodontal; AI – Anti-inflamatório; ATB – Antibiótico; FGC – Fluido crevicular gengival; FPI – Fluido Peri-implantar; DM – Diabetes mellitus; TP – Terapia periodontal; PI – Peri-implantite; DP – Doença periodontal; TO – Tratamento ortodôntico; PTPNC – Pós terapia periodontal não cirúrgica; GC – Gengivite crônica; GIP – Gengivite induzida por placa; NI – Não Informado; H – Homem; M – Mulher.

**Quadro 2:** Parâmetros periodontais avaliados, as características periodontais dos participantes e os principais resultados em relação a IL-34.

Referência	Parâmetros Avaliados	Profundidade de Bolsa (mm)	Nível Clínico de Inserção (mm)	Índice de Placa (%)	Índice de Sangramento/ Índice Gengival	Fluido Gengival ou Saliva (pg/ml)	Plasma ou Soro (pg/ml)	Resultados
Batra et al., 2019	PBS, PIC, ISS, IPV, IG	PC: 4,96 ± 1,14 PAg: 6,76 ± 0,88  SP: 1,83 ± 0,32	PC: 4,77 ± 1,07  PAg: 6,40 ± 0,88  SP: Não houve perda	PC: 1.8933  PAg: 1.0600  SP: 0.3600	IG:  PC: 1.9000  PAg: 1.3867  SP: 0.3400	FGC  PC: 103,76 ± 26,61  PAg: 191,71 ± 49,24  SP: 47,22 ± 18,04	NA	A IL-34 foi encontrada em níveis estatisticamente mais altos em pacientes com PAg e PC do que nos com SP
Lira-Junior et al., 2019	PBS, PIC, ISS, IPV, IG	PI: 2.3 ± 0.3 Mucosite: 2.1 ± 0.5	Em relação aos PP: PI: 1.6 ± 1.4 Mucosite: 1.5 ± 0.7	PI: 69.0 ± 36.0  Mucosite: 76.0 ± 32.0	Em relação aos PP: PI: 35.0 ± 20.0  Mucosite: 34.0 ± 38.7	IL-34 foi detectada em 60,5% das amostras de FPI.  A IL-34 foi detectada em 97,7% das amostras de saliva	NA	Os níveis de IL-34 no FPI e na saliva não mostraram diferença significativa entre os grupos

Guruprasad & Pradeep, 2018a	PBS, PIC, IG	SP: $1.67 \pm 0.49$ PC: $6.00 \pm 1.13$ PTPNC: $3.73 \pm 0.79$	SP: 0 PC: $4.67 \pm 1.11$ PTPNC: $2.07 \pm 0.59$	NI	IG:  SP: 0 PC: $2.29 \pm 0.34$ PTPNC: $1.29 \pm 0.25$	FGC  SP: $414.49 \pm 44.54$ PC: $1022.76 \pm 168.21$ PTNCP: $604.17 \pm 105.11$	SP: $82.71 \pm 8.88$ PC: $614.44 \pm 171.83$ PTPNC: $235.65 \pm 50.87$	A concentração média de IL-34 no FGC e no plasma foi estatisticamente maior nos pacientes com DP em comparação com os com SP e diminuiu após a TP não cirúrgica no grupo com DP
Guruprasad & Pradeep, 2018b	PBS, PIC, ISS, IG	SP não fumantes: $2.33 \pm 0.724$ SP fumantes: $2.33 \pm 0.724$  PC não fumantes: $6.00 \pm 1.134$  PC fumantes: $6.20 \pm 1.014$	PC não fumantes: $4.53 \pm 0.915$  PC fumantes: $5.13 \pm 1.060$	NI	IG:  PC não fumantes: $2.167 \pm 0.339$ PC fumantes: $1.980 \pm 0.332$	FGC  SP não fumantes: $366.71 \pm 36.13$ SP fumantes: $392.25 \pm 48.26$ PC não fumantes: $710.80 \pm 162.08$ PC fumantes: $826.44 \pm 161.28$	SP não fumantes: $76.79 \pm 5.45$ SP fumantes: $120.69 \pm 29.75$ PC não fumantes: $397.52 \pm 95.59$ PC fumantes: $573.28 \pm 107.57$	Concentrações médias da IL-34 no FGC e no plasma foram maiores nos fumantes com PC
Guruprasad & Pradeep, 2018c	PBS, PIC, ISS, IG	SP não obesos: $1.80 \pm 0.63$  SP obesos: $2.10 \pm 0.74$ PC não obesos: $6.40 \pm 1.71$  PC obesos: $7.00 \pm 1.56$	PC não obesos: $4.90 \pm 1.52$ PC obesos: $5.60 \pm 1.78$	NI	IG:  PC não obesos: $2.360 \pm 0.38$ PC obesos: $2.520 \pm 0.50$	FGC  SP não obesos: $358.80 \pm 29.68$ SP obesos: $446.18 \pm 35.80$ PC não obesos: $899.20 \pm 67.83$ PC obesos: $969.44 \pm 143.27$	SP não obesos: $77.66 \pm 5.48$ SP obesos: $184.36 \pm 62.60$ PC não obesos: $641.76 \pm 165.8$ PC obesos: $774.02 \pm 215.47$	Concentrações de IL-34, no FGC e no plasma estatisticamentes maiores nos pacientes obesos e com PC

Guruprasad & Pradeep, 2018d	PBS, PIC, IG	SP não diabéticos: 2.31 ± .53 GC não diabéticos: 2.11 ± .32 PC não diabéticos: 6.34 ± 1.31 PC diabéticos: 6.69 ± 1.43 Gengivite diabéticos: 2.09 ± .74	PC não diabéticos: 5.03 ± 1.32  PC diabéticos: 5.54 ± 1.22	NI	IG:  GC não diabéticos: 1.88 ± .35 PC não diabéticos: 2.28 ± .36 PC diabéticos: 2.37 ± .38 Gengivite diabéticos: 1.69 ± .30	FGC  SP não diabéticos: 418.47 ± 50.16 GC não diabéticos: 578.73 ± 109.75 PC não diabéticos: 976.36 ± 143.30 PC diabéticos: 1153.91 ± 257.96 Gengivite diabéticos: 600.15 ± 100.94	SP não diabéticos: 85.32 ± 7.63 GC não diabéticos: 237.86 ± 45.64 PC não diabéticos: 608.17 ± 167.38 PC diabéticos: 671.84 ± 212.14 Gengivite diabéticos: 339.92 ± 85.66	Concentração de IL-34 no FGC e no plasma estatisticamente maior nos pacientes com PC e com DM tipo 2. Houve correlação positiva entre a concentração de IL-34 no FGC e plasma nos grupos de estudo, com exceção do grupo com SP e sem DM, para o qual houve correlação negativa
Martinez et al., 2017	PBS, PIC, ISS, IPV	PC: 3.0 ± 1.1 GIP: 2.1 ± 0.3 SP: 2.0 ± 0.2	PC: 2.3 ± 1.6  GIP: 0.3 ± 0.2  SP: 0.4 ± 0.3	PC: 66.5 ± 21.0  GIP: 69.9 ± 28.2  SP: 29.5 ± 28.1	PC: 23.6 ± 20.6 GIP: 10.0 ± 10.7 SP: 0.6 ± 0.9	A IL-34 estava acima do limite de detecção do ensaio em 100% dos pacientes com SP, 68% dos pacientes com gengivite e 59% dos pacientes com PC	A IL-34 não foi mensurável no soro de nenhum indivíduo, nem nos saudáveis, nem nos com DP	Pacientes com DP apresentaram níveis significativamente menores de IL-34. Parâmetros clínicos periodontais correlacionaram-se negativamente com IL-34 em pacientes com DP

PBS – Profundidade de bolsa a sondagem; IG – Índice gengival; IPV – Índice de placa visível; ISS – Índice de sangramento a sondagem; PIC – Perda de inserção clínica; DP – Doença periodontal; PC – Periodontite crônica; PAg – Periodontite agressiva; GC – Gengivite crônica; GIP – Gengivite induzida por placa; FGC – Fluido crevicular gengival; PP – Parâmetros periodontais; PPI – Parâmetros peri-implantares; PI – Peri-implantite; FPI – Fluido peri-implantar; TP – Terapia periodontal; DM – Diabetes mellitus; SP – Saúde periodontal; PTPNC – Pós terapia periodontal não cirúrgica; NI – Não Informado; NA – Não Avaliado.

## 1.4 LES

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune sistêmica crônica caracterizada por uma produção desregulada de autoanticorpos e ativação do complemento, resultando em múltiplos danos nos tecidos e órgãos.<sup>11</sup> Sua diversidade de manifestações clínicas é acompanhada pela complexidade dos fatores (genéticos, hormonais e ambientais) que a causam e pela variedade de autoanticorpos aos quais está associada.<sup>12</sup> Fatores genéticos, ambientais, hormonais, epigenéticos e imunorreguladores agem sequencialmente ou simultaneamente no sistema imunológico. A ação de fatores patogênicos resulta na geração de autoanticorpos, complexos imunes, células T autorreativas ou inflamatórias e citocinas inflamatórias que podem iniciar e ampliar a inflamação e danos a vários órgãos.<sup>48</sup> Quando o diagnóstico é realizado até os 18 anos de idade, o LES é chamado de lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj)<sup>14</sup>, que é uma forma mais rara e mais grave, com maior atividade da doença no início e ao longo do tempo e, conseqüentemente, apresenta uma maior frequência de morbidade e taxas de sobrevivência menores.<sup>15</sup> A apresentação clínica do LES é heterogênea e pode envolver articulações, além de um ou mais órgãos, incluindo pele, rins e o sistema nervoso. Além disso, a doença também pode possuir períodos de atividade e remissão e é mais comum em mulheres.<sup>13</sup>

A heterogeneidade clínica da doença forçou o estabelecimento de 11 critérios, sendo 4 necessários para o diagnóstico formal de LES. São eles: Erupção cutânea malar, erupção discóide, fotossensibilidade, úlceras orais, artrite, serosite, distúrbio renal, desordem neurológica, desordem sanguínea, desordem imunológica e anticorpos antinucleares anormais.<sup>49</sup> O envolvimento de órgãos e tecidos vitais, como cérebro, sangue e rins impulsiona os esforços para desenvolver ferramentas de diagnóstico e terapêuticas eficazes. Os pacientes com LES são tratados com antiinflamatórios não-esteroidais, antimaláricos, glicocorticóides e imunossupressores e a escolha do medicamento é determinada pela gravidade da doença e pela função do órgão envolvido.<sup>48</sup> Os pacientes com lúpus que não respondem a medicamentos imunossupressores convencionais são considerados para terapias biológicas direcionadas destinadas a citocinas, linfócitos B e T e fatores ativadores de células B<sup>50</sup>, porém, apesar dos avanços na terapia, a mortalidade associada ao LES permanece considerável.<sup>13</sup>

## 1.5 IL-34 e LES

A IL-34 pode induzir a expressão de IL-6, proteína induzível por interferon- $\gamma$ -10 e proteína quimioatrativa de monócitos-1 (MCP-1) no sangue.<sup>51</sup> IL-6, interferon- $\gamma$ -10 e MCP-1 participam da patogênese do LES e podem contribuir para as respostas inflamatórias e autoimunidade.<sup>11</sup> A IL-34 também desempenha papéis importantes na patogênese de inflamações crônicas, como na artrite reumatóide (AR)<sup>31</sup> e o LES e a AR são doenças autoimunes sistêmicas e compartilham muitas características e apresentações clínicas comuns.<sup>12</sup> Dessa forma, estudos foram realizados para verificar se existe algum envolvimento da IL-34 com o LES.

Até o presente momento, apenas 3 estudos avaliaram essa relação. Em um estudo, o objetivo foi determinar o papel da interleucina-34 na patogênese do lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj), explorando a relação entre a concentração de IL-34 e a atividade da doença. Foi encontrado que houve uma elevação significativa na concentração sérica de IL-34 em pacientes com LESj comparado ao grupo controle e que houve correlação positiva estatisticamente significativa entre os níveis de IL-34 e o índice de atividade da doença. Portanto, a IL-34 pode ser um provável marcador da atividade do LESj<sup>20</sup>; Em outro estudo, o nível sérico de IL-34 foi avaliado e foi encontrado significativamente mais alto nos pacientes com LES do que nos saudáveis e foi visto que o nível de IL-34 pode estar correlacionado com a atividade da doença. Além disso, a IL-34 pode estar associada à produção de anticorpos na patogênese do LES<sup>11</sup>; E em um estudo foi visto que os níveis séricos de IL-34 foram elevados em pacientes com LES e foram associados à atividade da doença. É provável que a IL-34 esteja envolvida na patogênese do LES e possa ser um potencial biomarcador para a atividade da doença.<sup>12</sup>

## 1.6 LES e DP

Acredita-se que o LES ocorra, possivelmente, quando um estímulo ambiental ou um processo infeccioso crônico desencadeia uma inflamação em um indivíduo suscetível geneticamente. Já a doença periodontal é uma doença infecciosa causada por microrganismos na cavidade oral, resultando em um processo inflamatório crônico que estimula



continuamente a resposta imune, causando danos aos tecidos periodontais. A disbiose oral pode contribuir para a manutenção do processo inflamatório no LES, por isso, há um interesse crescente em relação ao possível papel da disbiose oral na etiologia de doenças autoimunes. Fatores genéticos, ambientais, hormonais, epigenéticos e imunorreguladores agem sequencialmente ou simultaneamente no sistema imunológico e, embora a doença periodontal e o LES tenham fatores etiológicos diferentes, ambas as doenças apresentam um perfil imunológico semelhante, levando a danos nos tecidos, caracterizados principalmente por níveis alterados de citocinas e isso pode ser responsável pela possível associação entre essas doenças.<sup>48,52-54</sup>

As citocinas desempenham um papel importante na determinação da natureza, duração e força da resposta imune na patogênese de muitas doenças inflamatórias, incluindo o LES e a DP. Algumas citocinas inflamatórias, como IL-6, IL-1 e TNF- $\alpha$ , foram identificadas como citocinas importantes em ambas as doenças.<sup>8,55</sup> Considerando a doença periodontal como uma condição caracterizada por inflamação e influenciada por fatores infecciosos, como o LES, é plausível sugerir que o LES influencie a progressão da doença periodontal e vice-versa.<sup>16</sup> A probabilidade de incidência do LES pode ser aumentada como uma consequência direta da periodontite devido ao perfil pró-inflamatório compartilhado<sup>56</sup> e a resposta do hospedeiro às bactérias orais pode ser alterada por doenças sistêmicas como o LES, de modo que o grau de inflamação induzida é maior do que seria em condições normais.<sup>57</sup> Outro possível mecanismo para a explicação da conexão entre a doença periodontal e o LES é a presença de alterações nas células endoteliais. A proteína C reativa contribui para a hipercoagulação e aumenta a expressão de moléculas de adesão nessas células. Seus níveis estão elevados em pacientes com doença periodontal, e autoanticorpos direcionados contra essa proteína também estão aumentados em pacientes com LES.<sup>58</sup>

A patogênese exata do LES, assim como da periodontite, ainda é desconhecida. Os dados sobre possíveis associações entre LES e doença periodontal são controversos. É recomendada atenção à saúde bucal dos pacientes com LES, realizando avaliações odontológicas periodicamente. No caso de identificação da doença periodontal, seu tratamento deve ser realizado, pois pode influenciar positivamente no desenvolvimento do LES. A compreensão adicional de qualquer potencial associação entre periodontite e LES expandiria o conhecimento atual e poderá levar a novas estratégias de tratamento.<sup>16,54,59,60</sup>

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Seleção dos pacientes**

43 pacientes foram recrutados com a colaboração da equipe de reumatologia e da clínica médica do Núcleo de Estudos da Saúde do Adolescente (NESA), Rio de Janeiro, Brasil. Os pacientes foram convidados a participar voluntariamente da pesquisa e foram encaminhados para a clínica de mestrado e doutorado em Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Indivíduos com idades entre 10 e 18 anos foram selecionados para participar do estudo. O grupo teste foi composto por indivíduos com o diagnóstico de LESj e que estavam em tratamento/acompanhamento para o lúpus com a equipe de reumatologistas do NESA. O grupo controle foi composto por indivíduos que também foram selecionados entre os pacientes que estavam em atendimento na clínica médica do NESA, porém sem apresentar nenhuma doença sistêmica. Foram aceitos, ainda, para compor este grupo, familiares do grupo teste e/ou do grupo controle de mesma faixa etária e que relataram ser sistemicamente saudáveis.

### **2.2 Critérios de inclusão/exclusão**

**Inclusão:** Todos os indivíduos deveriam ter pelo menos 15 dentes naturais erupcionados (excluindo os terceiros molares) e ter entre 10 e 18 anos de idade. Os participantes do grupo teste deveriam apresentar lúpus eritematoso sistêmico juvenil diagnosticado de acordo com os critérios adotados pelo American College of Rheumatology<sup>61</sup> e deveriam estar em tratamento no NESA.

**Exclusão:** Gravidez, lactação e/ou tratamento periodontal nos últimos seis meses. No grupo controle, além dos critérios citados acima, foram excluídos os pacientes que apresentaram qualquer desordem sistêmica.

Antibióticos não foram usados como critério de exclusão, porque os pacientes com LESj costumam tomá-los por serem imunossuprimidos e mais propensos a infecções.<sup>19</sup>

### 2.3 Prontuário do paciente

Para cada um dos participantes do estudo foi preenchido um prontuário contendo dados pessoais, anamnese, dados reumatológicos (para o grupo teste) e dados odontológicos. Os dados pessoais coletados incluíram: identificação do paciente, data de nascimento, endereço, autodeclaração de raça e identificação do responsável (no caso de pacientes menores de idade). Os dados mencionados a seguir compõem as perguntas da anamnese tanto do grupo teste, quanto do grupo controle: se havia gravidez em curso, presença de qualquer tipo de doença sistêmica (no grupo controle) e medicações utilizadas.

Além desses dados, na anamnese do grupo teste foram coletadas informações sobre a história do LESj: quando foi realizado o diagnóstico, tempo da doença, medicações em uso e atividade da doença. Os dados reumatológicos dos pacientes com LESj foram preenchidos pelo médico reumatologista do NESA, responsável pelo tratamento e acompanhamento desses indivíduos. Esses dados incluíram o índice de avaliação de danos – Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) e o índice de atividade de doença – Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI).

### 2.4 Exames odontológicos

O exame clínico e a coleta das amostras foram realizados por uma examinadora previamente calibrada.

Os exames odontológicos realizados foram: índice de placa visível (IPV) e periograma composto por profundidade de bolsa à sondagem (PBS), que foi tomada a partir da distância entre a margem gengival e a porção mais apical sondável, perda de inserção clínica (PIC), que foi dada pela distância entre a junção amelo-cementária (JCE) e a porção mais apical sondável e índice de sangramento à sondagem (ISS) em todos os dentes da boca, com exceção dos terceiros molares, nesta ordem. Foram avaliados 6 sítios por dente (mesiovestibular, vestibular, distovestibular, mesiopalatino/mesiolingual, palatino/lingual e distopalatino/distolingual) para todos os parâmetros periodontais avaliados.

O IPV utilizado foi dicotômico (presença/ausência) conforme descrito por Ainamo & Bay em 1975.<sup>62</sup> O índice de sangramento à sondagem utilizado neste trabalho foi dicotômico (presença/ausência).

Para a realização do periograma, cada dente avaliado foi mantido sob boa iluminação, com isolamento relativo e seco com jato de ar. As medições foram feitas a partir da introdução suave de uma sonda periodontal milimetrada (Carolina do Norte Universal 15 Ponta Única - PCPUNC15 – Hu-Friedy®, Chicago, IL, Estados Unidos) dentro do sulco gengival/bolsa periodontal. O ISS foi calculado obtendo-se a porcentagem de sítios com presença de sangramento do total de sítios sondados, assim como o IPV.

## 2.5 Coleta da saliva

A coleta de saliva foi realizada antes da realização dos exames odontológicos para que as amostras não fossem contaminadas por sangue oriundo da manipulação dos tecidos gengivais durante os exames. Os pacientes foram orientados a abster-se completamente de atividades orais (consumir qualquer alimento ou bebida, escovar os dentes, realizar bochechos, fumar, etc.) por, pelo menos, 30 minutos antes da coleta de saliva.

Foi realizada, então, a coleta não estimulada da saliva. A saliva foi expectorada da boca diretamente para um tubo coletor de plástico estéril. Os pacientes foram orientados a expectorar a saliva por até cinco minutos.

Em seguida, para cada paciente, a saliva obtida foi alíquotada em tubos do tipo Eppendorf. Para cada 1 mL de saliva, 20 microlitros ( $\mu\text{L}$ ) de inibidor de protease (SIGMAFAST™ Protease Inhibitor Tablets, Sigma Aldrich Co., Saint Louis, Missouri, Estados Unidos) foi adicionado para ser centrifugado (Micro-centrífuga NT800, Novatecnica®) durante 8 minutos, a 8000 rotações por minuto e à temperatura do laboratório. Após a centrifugação, o sobrenadante da saliva foi transferido para um novo Eppendorf (de rosca) e congelado a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o processamento das amostras.

## 2.6 Análise das citocinas

O imunoensaio ELISA foi utilizado para mensuração da IL-34. 100 $\mu$ L de saliva foram analisados utilizando um kit comercial (R&D Systems Minneapolis, MN, USA), de acordo com as recomendações do fabricante. A leitura foi realizada em um espectrofotômetro (Millenia Kinetic Analyser, Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, CA, EUA) a 450nm de comprimento de onda.

A análise com o LUMINEX® (xMAP technology, Luminex, Austin, Texas, EUA) foi utilizada para mensuração de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\gamma$  e IL-23. A tecnologia multiplex segue os mesmos princípios do ELISA, sendo que os anticorpos específicos para as citocinas são ligados covalentemente a marcadores fluorescentes que são detectados em um citômetro de fluxo modificado. Essa tecnologia permite, através de um pequeno volume de amostra, a avaliação simultânea de numerosas citocinas e mediadores. 50 $\mu$ L de saliva foram analisados utilizando um kit comercial (R&D Systems Minneapolis, MN, USA), de acordo com as recomendações do fabricante. Os resultados foram calculados pelo programa *Bio-Plex Manager Software* (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA) e expressos em pg/ $\mu$ L.

## 2.7 Análise estatística

A análise dos dados foi feita usando o SPSS 21.0 (IBM). A normalidade dos dados foi checada com o teste de Kolmogorov-Smirnov. Valores não distribuídos normalmente foram apresentados como mediana e intervalo interquartil. O teste de Mann-Whitney U foi utilizado para comparar os dados não-paramétricos entre os grupos. O coeficiente de correlação Pearson foi utilizado na análise das correlações. O nível de significância foi estabelecido em 5% ( $p < 0,05$ ).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Características clínicas e periodontais

Os dois grupos examinados eram semelhantes em relação à idade e raça. Em relação ao gênero, houve diferença estatística entre os grupos ( $p=0.029$ ), onde o número de mulheres foi maior no grupo com LESj (tabela 1).

Avaliando as características periodontais obtidas através do exame periodontal de todos os dentes presentes (exceto terceiros molares), foi observado que houve diferença estatística entre os grupos apenas em relação a perda de inserção clínica ( $p=0.001$ ). Os dois grupos eram semelhantes em relação à profundidade de bolsa, sangramento a sondagem e porcentagem de sítios com placa (tabela 2).

#### 3.2 Análise da saliva

Não houve diferença entre os grupos em relação as seis citocinas analisadas (tabela 3).

Ao fazer a divisão do grupo com LESj, de acordo com o status da doença, foi visto que a IL-1 $\beta$  foi significativamente maior ( $p=0.025$ ) no grupo com remissão em relação ao grupo com a doença ativa (tabela 4).

Ao fazer um corte no segundo ponto da curva padrão (concentração observada acima de 1440 pg/ $\mu$ L), foi visto que seis pacientes apresentaram IL-1 $\beta$  aumentada. As características desses pacientes estão demonstradas na tabela 6.

#### 3.3 Correlações

Ao correlacionar a PIC com as citocinas no grupo com LESj, foi visto que houve correlação entre a IL-1 $\beta$  com PIC=1-2mm ( $p=0.042$ ). Ao fazer as correlações das seis citocinas com o índice de massa corporal (IMC) dos pacientes e com a velocidade de

hemossedimentação (VHS), foi visto que houve correlação de TNF- $\alpha$  com o VHS ( $p=0.041$ ) e uma tendência da IL-6 com o IMC ( $p=0.050$ ) (tabela 5).

**Tabela 1: Dados demográficos e clínicos dos pacientes**

	LESj (n=21)	Controle (n=22)	P.
Idade	15 (3)	15 (3)	0.304
Número de dentes	28 (2)	28 (1)	0.770
Mulheres, n (%)	18 (85,72)	11 (50)	<b>0.029</b>
Homens, n (%)	3 (14,28)	11 (50)	
Negros, n (%)	8 (38,09)	11 (50)	0.632
Não negros, n (%)	13 (61,90)	11 (50)	
Atividade, n (%)	7 (33,33)	-	
SLICC	0 (0)	-	
SLEDAI	0 (5)	-	
Uso de antimalárico, n (%)	21 (100)	-	
Uso de corticosteróide, n (%)	10 (47,62)	-	
Uso de imunossupressivo, n (%)	16 (76,19)	-	

Idade, número de dentes, SLICC e SLEDAI são apresentados em mediana e amplitude interquartil (teste de Mann-Whitney U); Todos os outros dados são apresentados como número de indivíduos e porcentagem. Para as variáveis gênero e raça, o teste  $\chi^2$  foi utilizado. SLICC, Systemic Lupus International Collaborating Clinics; SLEDAI, Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index.

**Tabela 2: Parâmetros periodontais dos pacientes com LESj e controles**

	LESj	Controle	P.
% sítios com placa	28,67 (32,92)	32,74 (26,57)	0.990
% sítios com sangramento	6,67 (11,01)	10,42 (12,68)	0.279
PBS (mm)	1,85 (0,43)	1,93 (0,23)	0.981
PIC (mm)	0 (0,04)	0 (0,00)	<b>0.001</b>
% PIC 1-2mm	0 (3,57)	0 (0,00)	<b>0.001</b>

Os dados são apresentados em mediana e amplitude interquartil (teste de Mann-Whitney U). PBS, profundidade de bolsa a sondagem; PIC, perda de inserção clínica.

**Tabela 3: Marcadores inflamatórios**

	<b>LESj</b>	<b>Controle</b>	<b>P.</b>
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	14,12 (42,52)	8,72 (14,81)	0.147
<b>IL-23</b>	124,10 (679,34)	213,51 (405,54)	0.427
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	5,51 (23,22)	5,15 (9,97)	0.258
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	768,99 (1595,12)	599,67 (1751,60)	0.789
<b>IL-6</b>	2,14 (6,58)	0,9550 (3,58)	0.466
<b>IL-34</b>	0,1290 (0,34)	0,1000 (0,20)	0.733

Os dados são apresentados em mediana e amplitude interquartil (teste de Mann-Whitney U).

**Tabela 4: Divisão por status da doença**

	<b>Remissão (N=14)</b>	<b>Atividade (N=7)</b>	<b>P.</b>
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	19,58 (59,73)	8,72 (64,47)	0.432
<b>IL-23</b>	104,65 (785,75)	235,30 (605,95)	0.433
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	5,51 (26,74)	14,13 (22,76)	0.881
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	1227,26 (2090,68)	186,19 (755,07)	<b>0.025</b>
<b>IL-6</b>	1,77 (8,58)	4,80 (6,60)	0.478
<b>IL-34</b>	0,1700 (0,44)	0,00 (0,19)	0.190

Os dados são apresentados em mediana e amplitude interquartil (teste de Mann-Whitney U)

**Tabela 5: Correlações das citocinas com PIC, IMC e VHS no grupo com LESj**

	<b>PIC=1-2mm</b>	<b>IMC</b>	<b>VHS</b>
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	0.447	0.673	0.732
<b>IL-23</b>	0.685	0.936	0.141
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	0.402	0.995	<b>0.041</b>
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>0.042</b>	0.663	0.469
<b>IL-6</b>	0.504	<b>0.050</b>	0.126
<b>IL-34</b>	0.433	0.881	0.949

Coefficiente de correlação Pearson ( $p < 0.05$ ). PIC, perda de inserção clínica; IMC, índice de massa corporal; VHS, velocidade de hemossedimentação.



**Tabela 6: Dados dos pacientes com LESj com a IL-1 $\beta$  acima de 1440 pg/ $\mu$ L**

<b>Gênero</b>	<b>Peso (kg)</b>	<b>Altura (cm)</b>	<b>Classificação (grau)</b>	<b>Tempo de doença (anos)</b>	<b>VHS (mm/h)</b>	<b>MMF</b>	<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>Diagnóstico Periodontal</b>
M	125	1,83	Obesidade II	< de 1	15	Sim	2471,21	1A
F	44	1,55	Magreza	> de 5	8	Sim	2593,42	2B
F	54	1,59	Normal	De 1 a 4	18	Não	23753,81	1B
F	85	1,52	Obesidade II	De 1 a 4	19	Sim	2206,29	2A
F	75	1,60	Obesidade I	De 1 a 4	13	Sim	1474,88	1A
F	71,6	1,62	Obesidade I	De 1 a 4	31	Sim	4731,35	1A

1A, saúde no periodonto íntegro; 1B, saúde no periodonto reduzido; 2A, gengivite no periodonto íntegro; 2B, gengivite no periodonto reduzido. Normalidade VHS: Até 20 mm/h em mulheres e até 15 mm/h em homens. M, masculino; F, feminino; MMF, Micofenolato de Mofetil; VHS, velocidade de hemossedimentação.

## 4 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que os níveis salivares das citocinas IL-34, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-23, IL-6 e IFN- $\gamma$  foram semelhantes nos indivíduos com LESj quando comparados aos indivíduos sistemicamente saudáveis e, os pacientes com LESj, apresentaram maior perda de inserção.

A saliva é uma combinação de várias moléculas orgânicas e inorgânicas, derivadas de diversas glândulas salivares, sangue descamado, células epiteliais orais, fluido gengival e alguns microrganismos.<sup>24</sup> Como já dito anteriormente, a saliva provou ser uma fonte confiável para a detecção de biomarcadores que podem prever o risco de desenvolvimento de doenças sistêmicas, tendo em vista que ela pode refletir a saúde local e geral do corpo humano.<sup>22,23</sup> Além disso, a saliva é de fácil acesso, coleta e armazenamento. Não é necessário ter equipamento especializado ou profissionais treinados para a coleta da mesma e é o método mais bem aceito pelos pacientes, pois é indolor e não gera desconforto.<sup>63</sup>

Até o momento, esse é o primeiro estudo a avaliar níveis salivares de citocinas em pacientes com LESj e não há dados para a comparação dos resultados. Analisando os dados sobre os níveis das mesmas citocinas na saliva de pacientes com LES para termos um parâmetro com uma doença similar, foi visto que Marques et al. (2016), observaram que os níveis de IL-1 $\beta$ , IL-6 e IFN- $\gamma$  foram mais altos nos pacientes com LES, mesmo sem a presença de DP.<sup>52</sup> Stanescu et al. (2018) também observaram que os níveis salivares de IL-6 foram mais altos no grupo com LES.<sup>64</sup> No estudo realizado por Mendonça et al. (2019), foi visto que os níveis de IL-6 estavam mais altos nos pacientes com LES e com DP e que os níveis de TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  não diferiram entre os grupos.<sup>65</sup> No estudo realizado por Ruacho et al. (2022), o nível de TNF- $\alpha$  foi maior na saliva dos pacientes com LES do que nos sistemicamente saudáveis.<sup>66</sup> Desses 4 trabalhos, 2 analisaram também as citocinas no soro. No estudo de Stanescu et al. (2018), foi demonstrado que os níveis de IL-6 no soro de pacientes com LES foram significativamente maiores do que no grupo controle e também foi encontrada correlação positiva entre os níveis séricos e salivares de IL-6.<sup>64</sup> No estudo realizado por Ruacho et al. (2022), os níveis séricos de TNF- $\alpha$  foram mais altos no grupo com LES.<sup>66</sup>

No LES, quanto no LESj, a prevenção de crises e da progressão da doença é importante para preservar a função dos órgãos e evitar danos irreversíveis.<sup>67</sup> Entretanto,

nessas doenças, várias citocinas estão envolvidas na desregulação imunológica geral e também na inflamação local, que leva à lesão tecidual e danos aos órgãos.<sup>8</sup> Em virtude da etiopatogenia do LESj<sup>68</sup>, seria coerente que os níveis de citocinas inflamatórias estivessem aumentados, no entanto, os resultados desse estudo demonstraram o oposto.

O fato dos pacientes com LESj fazerem uso de drogas antirreumáticas, imunossupressoras e corticosteróides pode ser uma possível explicação para a ausência de diferença nas concentrações das citocinas em relação ao grupo controle. Todos os 21 pacientes com LESj faziam uso de Hidroxicloroquina, 10 faziam uso de Prednisona/Prednisolona e apenas cinco deles não faziam uso de Micofenolato de Mofetil (MMF). Já foi demonstrado anteriormente que drogas antirreumáticas podem reduzir os níveis salivares de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ <sup>69</sup> e, se sabe também, que corticosteróides interferem na expressão de determinados biomarcadores.<sup>52</sup> Além disso, foi visto que imunossupressores são capazes de regular a secreção de citocinas.<sup>70</sup> Diferente dos nossos achados das citocinas na saliva, um estudo realizado por Sete et al. (2018), teve como resultado IL-1 $\beta$  e IFN- $\gamma$  aumentadas no fluido gengival de pacientes adolescentes com LESj.<sup>19</sup> Essa diferença de resultado pode ser explicada pela diluição que o fluido gengival sofre na saliva, fazendo com que, possivelmente, ela seja um reflexo maior da condição sistêmica do que da condição oral.

Dividindo o grupo com LESj de acordo com o status da doença (remissão/atividade), os níveis salivares da IL-1 $\beta$  foram significativamente maiores no grupo com remissão em relação ao grupo com a doença ativa. O papel das citocinas na progressão do LES é significativo porque as alterações nos níveis dessas moléculas interrompem as interações intercelulares no sistema imunológico.<sup>71</sup> A IL-1 $\beta$  pode promover o movimento de células inflamatórias do sangue para os tecidos inflamados, regular a matriz extracelular e induzir outras citocinas.<sup>72</sup> A desregulação de citocinas no LES é caracterizada principalmente por anormalidades nas interleucinas (incluindo a IL-1 $\beta$ ), quimiciocinas e TNF- $\alpha$ .<sup>71</sup> No estudo realizado por Melamud et al. (2022), foi visto que a IL-1 $\beta$  estava aumentada no soro de pacientes com LES, mesmo com todos eles fazendo uso de corticosteróides, antimaláricos ou imunossupressores.<sup>71</sup> A explicação para tal, pode ser algum foco de infecção nesses pacientes, tendo em vista que infecções são comuns no LES, principalmente por bactérias encapsuladas. A caracterização precisa dos fenótipos da doença com base em características moleculares e clínicas é crucial para projetar um tratamento personalizado.<sup>73</sup>

Ao avaliarmos individualmente os níveis salivares dos indivíduos com LESj em terços, seis indivíduos apresentaram níveis bastante elevados da IL-1 $\beta$ . Ao fazer um corte no

segundo ponto da curva padrão, foi visto que seis pacientes apresentaram IL-1 $\beta$  aumentada. Foi observado que todos esses pacientes estavam em remissão da doença e a VHS estava dentro da normalidade em cinco deles. O que a maioria desses indivíduos apresentou em comum, foi a questão do maior peso corporal, sendo 2 com obesidade grau I, 2 com obesidade grau II e, contrariando esses dados, apenas um paciente estava abaixo do peso e um paciente não estava nem abaixo, nem acima do peso. O impacto da obesidade em pacientes com LES é observado no aumento da frequência de complicações relacionadas à doença, piora da qualidade de vida e diminuição da capacidade funcional. Já se sabe há algum tempo que o tecido adiposo visceral é uma glândula endócrina muito ativa que secreta várias citocinas, quimiocinas e hormônios (adipocinas) que possuem impacto parácrino, autócrino e endócrino. Essas moléculas participam de vários processos fisiológicos, incluindo inflamação, imunidade e resposta de fase aguda.<sup>74</sup> Uma outra hipótese é a questão microbiana. Huang et al. (2018), demonstraram que a indução de IL-1 $\beta$  pelo ácido micofenólico, que é o metabólito ativo do MMF, só ocorreu na presença de lipopolissacarídeo. Ou seja, pacientes tratados com MMF, não poderiam produzir IL-1 $\beta$  a menos que fossem expostos a patógenos como bactérias<sup>75</sup>, por exemplo e, dos 6 pacientes, apenas 1 não fazia uso de MMF. Como a gengivite tem como fator etiológico primário microrganismos principalmente Gram-negativos, isso poderia indicar uma agressão maior de bactérias Gram-negativas nesses indivíduos. No entanto, desses indivíduos com níveis muito elevados da IL-1 $\beta$ , apenas 2 tinham gengivite.

Em relação aos dados periodontais, nossos resultados demonstraram que os pacientes com LESj tiveram uma perda de inserção clínica significativamente maior do que os pacientes sistemicamente saudáveis, o que está de acordo com o estudo realizado por Sete et al. (2018).<sup>19</sup> Esse achado indica que os pacientes com LESj podem ter uma predisposição para a DP futuramente. É interessante que esses pacientes sejam chamados anualmente para avaliação periodontal a fim de que possamos monitorar se ocorre ou não a progressão dessa perda de inserção ou se há a ocorrência de novas perdas. O presente estudo também mostrou que não houve diferença entre os dois grupos em relação a porcentagem de placa e sangramento, o que está de acordo com o estudo realizado por Figueredo et al. (2008).<sup>17</sup> A explicação para tal, pode ser o uso de anti-inflamatórios feito pelos pacientes portadores de LESj, que pode acabar mascarando a inflamação na cavidade oral de alguns pacientes. Contrastando com esses achados, dois estudos relataram que os pacientes com LESj apresentaram uma quantidade maior de placa e sangramento do que os pacientes sistemicamente saudáveis.<sup>18,19</sup>

Ao correlacionar a PIC com as citocinas analisadas, houve correlação entre a perda de inserção entre 1-2mm com a IL-1 $\beta$ . A IL-1 $\beta$  é considerada um fator chave na progressão da DP e polimorfismos nessa citocina têm sido sugeridos como fatores que influenciam o risco de desenvolver a doença.<sup>76</sup> Correlacionando as citocinas com o IMC, houve uma tendência da IL-6 ser correlacionada positivamente ( $p=0.050$ ). Já se sabe que o tecido adiposo pode liberar citocinas como a IL-6 e potencializar, assim, a inflamação crônica.<sup>74</sup> Correlacionando as citocinas com a VHS, foi visto que o TNF- $\alpha$  apresentou uma correlação positiva ( $p=0.041$ ). Em um estudo realizado por Sullivan et al. (2008), foi visto que os monócitos de pacientes com LES exibem padrões epigenéticos que permitem o aumento da expressão do TNF- $\alpha$ .<sup>77</sup> No estudo realizado por Illahi et al. (2021), foi visto que os níveis séricos de TNF- $\alpha$  correlacionaram positivamente com o score de atividade da doença – VHS em 28 articulações de pacientes com artrite reumatóide<sup>78</sup>, que também é uma doença sistêmica autoimune que compartilha muitas características e apresentações clínicas com o LES.<sup>12</sup>

Esse foi o primeiro estudo a analisar marcadores inflamatórios na saliva de pacientes com LESj e mostrou que não houve diferença estatística entre os grupos avaliados. Mais estudos são necessários para a comparação dos dados.

O presente estudo mostrou também que, apesar de não haver diferença das citocinas entre os grupos avaliados, houve uma correção positiva entre a IL-1 $\beta$  e a PIC=1-2mm no grupo dos pacientes com LESj, o que indica que esses pacientes possam ter uma predisposição para o aparecimento da DP futuramente. Programas de avaliação anual devem ser implementados para o acompanhamento dessas perdas de inserção.

## 5 CONCLUSÃO

Indivíduos com LESj apresentam mais perda de inserção do que os indivíduos controles. No grupo com LESj, houve correlação entre a perda de inserção (1-2mm) com a IL-1 $\beta$ , que é considerada um fator chave na progressão da doença periodontal.

As concentrações das citocinas inflamatórias na saliva dos adolescentes com LESj foram semelhantes aos controles e a inflamação gengival não influenciou a concentração das citocinas inflamatórias.

## REFERÊNCIAS

1. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018;89(December 2017):S74–84.
2. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *J Clin Periodontol*. 2017;45(October 2017):S44–67.
3. Meyle J, Chapple I. Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2015;69:7–17.
4. Takeuchi O, Akira S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell* [Internet]. 2010;140(6):805–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.022>
5. Jaedicke KM, Preshaw PM, Taylor JJ. Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2016;70:164–83.
6. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, et al. The role of tumor necrosis factor alpha (Tnf- $\alpha$ ) in autoimmune disease and current tnf- $\alpha$  inhibitors in therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):1–16.
7. Abdo AIK, Tye GJ. Interleukin 23 and autoimmune diseases: current and possible future therapies. *Inflamm Res* [Internet]. 2020;69(5):463–80. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01339-9>
8. Ohl K, Tenbrock K. Inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:1–14.
9. Xu WD, Huang AF, Fu L, Liu XY, Su LC. Targeting IL-34 in inflammatory autoimmune diseases. *J Cell Physiol*. 2019;234(12):1–7.
10. Baghdadi M, Umeyama Y, Hama N, Kobayashi T, Han N, Wada H, et al. Interleukin-34, a comprehensive review. *J Leukoc Biol*. 2018;104:931–51.
11. Xie HH, Shen H, Zhang L, Cui MY, Xia LP, Lu J. Elevated Serum Interleukin-34 Level in Patients with Systemic Lupus Erythematosus Is Associated with Disease Activity. *Sci Rep* [Internet]. 2018;8(1):2–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-21859-z>
12. Wang H, Cao J, Lai X. Serum interleukin-34 levels are elevated in patients with

- systemic lupus erythematosus. *Molecules*. 2017;22(1):2–8.
13. Durcan L, O'Dwyer T, Petri M. Management strategies and future directions for systemic lupus erythematosus in adults. *Lancet* [Internet]. 2019;393(10188):2332–43. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30237-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30237-5)
  14. Silva CA, Avcin T, Brunner HI. Taxonomy for systemic lupus erythematosus with onset before adulthood. *Arthritis Care Res*. 2012;64(12):1787–93.
  15. Levy DM, Kamphuis S. Systemic Lupus Erythematosus in Children and Adolescents. *Pediatr Clin North Am* [Internet]. 2012;59(2):345–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcl.2012.03.007>
  16. Sete MRC, Figueredo CM da S, Sztajn bok F. Periodontitis and systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reumatol* [Internet]. 2016;56(2):1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbre.2015.09.001>
  17. Figueredo CMS, Areas A, Sztajn bok FR, Miceli V, Miranda LA, Fischer RG, et al. Higher elastase activity associated with lower IL-18 in GCF from juvenile systemic lupus patients. *Oral Health Prev Dent* [Internet]. 2008;6(1):1–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18399311>
  18. Fernandes EGC, Savioli C, Siqueira JTT, Silva CAA. Oral health and the masticatory system in juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2007;16(9):713–9.
  19. Sete MRC, Carlos JC, Lira-Junior R, Boström EA, Sztajn bok FR, Figueredo CM. Clinical, immunological and microbial gingival profile of juvenile systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*. 2018;28(2):189–98.
  20. El-Banna HS, El Khouly RM, Gado SE. Elevated serum interleukin-34 level in juvenile systemic lupus erythematosus and disease activity. *Clin Rheumatol*. 2020;39(5):1627–32.
  21. Abo-Shanab AM, Kholoussi S, Kandil R, Dorgham D. Cytokines, 25-OH vit D and disease activity in patients with juvenile-onset systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2020;30(3):459–64.
  22. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: Current state and future applications. *Clin Chem*. 2011;57(5):675–87.
  23. Podzimek S, Vondrackova L, Duskova J, Janatova T, Broukal Z. Salivary Markers for Periodontal and General Diseases. *Dis Markers*. 2016;2016.
  24. Zian Z, Bouhoudan A, Mourabit N, Azizi G, Bennani Mechita M. Salivary Cytokines as Potential Diagnostic Biomarkers for Systemic Lupus Erythematosus Disease. *Mediators Inflamm*. 2021;2021.



25. Baghdadi M, Endo H, Tanaka Y, Wada H, Seino K ichiro. Interleukin 34, from pathogenesis to clinical applications. *Cytokine*. 2017;99:139–47.
26. Lin H, Lee E, Hestir K, Leo C, Huang M, Bosch E, et al. Discovery of a cytokine and its receptor by functional screening of the extracellular proteome. *Science* (80- ). 2008;320:807–11.
27. Lelios I, Cansever D, Utz SG, Mildenerger W, Stifter SA, Greter M. Emerging roles of IL-34 in health and disease. *J Exp Med*. 2020;217:1–11.
28. Boström EA, Lundberg P. The newly discovered cytokine IL-34 is expressed in gingival fibroblasts, shows enhanced expression by pro-inflammatory cytokines, and stimulates osteoclast differentiation. *PLoS One*. 2013;8:1–7.
29. Wang Y, Szretter KJ, Vermi W, Gilfillan S, Rossini C, Cella M, et al. IL-34 is a tissue-restricted ligand of CSF1R required for the development of Langerhans cells and microglia. *Nat Immunol*. 2012;13(8):753–60.
30. Ge Y, Huang M, Zhu X, Yao Y. Biological functions and clinical implications of interleukin-34 in inflammatory diseases. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2020;119:1–25.
31. Masteller EL, Wong BR. Targeting IL-34 in chronic inflammation. *Drug Discov Today*. 2014;19:1212–6.
32. Nandi S, Cioce M, Yeung YG, Nieves E, Tesfa L, Lin H, et al. Receptor-type protein-tyrosine phosphatase  $\zeta$  is a functional receptor for interleukin-34. *J Biol Chem*. 2013;288(30):21972–86.
33. Segaliny AI, Brion R, Mortier E, Maillason M, Cherel M, Jacques Y, et al. Syndecan-1 regulates the biological activities of interleukin-34. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res* [Internet]. 2015;1853(5):1010–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.01.023>
34. Guillonneau C, Bézie S, Anegon I. Immunoregulatory properties of the cytokine IL-34. *Cell Mol Life Sci*. 2017;74:2569–86.
35. Blicher B, Joshipura K, Eke P. Validation of Self-reported Periodontal Disease: a systematic review. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2005;84(10):881–90.
36. G. Caton J, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, S. Kornman K, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018;45(March):S1–8.
37. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Prim*.

- 2017;3:1–14.
38. Papananou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2018;89(March):S173–82.
  39. Offenbacher S. Periodontal Diseases: Pathogenesis. *Ann Periodontol.* 1996;1:821–78.
  40. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2004;34:9–21.
  41. Batra P, Das S, Patel P. Comparative evaluation of Gingival Crevicular Fluid (GCF) levels of Interleukin-34 levels in periodontally healthy and in patients with chronic and aggressive periodontitis- A cross-sectional study. *Saudi Dent J.* 2019;31:316–21.
  42. Lira-Junior R, Teixeira MKS, Lourenço EJV, Telles DM, Figueredo CM, Boström EA. CSF-1 and IL-34 levels in peri-implant crevicular fluid and saliva from patients having peri-implant diseases. *Clin Oral Investig.* 2019;24:309–15.
  43. Guruprasad CN, Pradeep AR. Effect of nonsurgical periodontal therapy on interleukin-34 levels in periodontal health and disease. *Indian J Dent Res.* 2018;29:280–5.
  44. Guruprasad CN, Pradeep AR. Influence of Smoking on Interleukin-34 Levels in Gingival Crevicular Fluid and Plasma in Periodontal Health and Disease: A Clinico-biochemical Study. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2018;59:247–55.
  45. Guruprasad CN, Pradeep AR. Interleukin-34 Levels in Gingival Crevicular Fluid and Plasma in Healthy and Diseased Periodontal Tissue in Presence or Absence of Obesity: A Clinico-biochemical Study. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2018;59:79–86.
  46. Guruprasad CN, Pradeep AR. Interleukin-34 levels in gingival crevicular fluid and plasma in periodontal health and disease with and without type-2 diabetes mellitus. *J Investig Clin Dent.* 2018;9:1–6.
  47. Martinez GL, Majster M, Bjurshammar N, Johannsen A, Figueredo CM, Boström EA. Salivary Colony Stimulating Factor-1 and Interleukin-34 in Periodontal Disease. *J Periodontol.* 2017;88:e140–9.
  48. Tsokos GC. Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med.* 2011;365(22):2110–21.
  49. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. THE 1982 REVISED CRITERIA FOR THE CLASSIFICATION OF SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS. *Off J Am Rheum Assoc Sect Arthritis Found.* 1982;25(11):1271–7.
  50. Lisnevskaja L, Murphy G, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. *Lancet*

- [Internet]. 2014;384(9957):1878–88. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60128-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60128-8)
51. Eda H, Zhang J, Keith RH, Michener M, Beidler DR, Monahan JB. Macrophage-colony stimulating factor and interleukin-34 induce chemokines in human whole blood. *Cytokine* [Internet]. 2010;52(3):215–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2010.08.005>
  52. Marques CPC, Maor Y, de Andrade MS, Rodrigues VP, Benatti BB. Possible evidence of systemic lupus erythematosus and periodontal disease association mediated by Toll-like receptors 2 and 4. *Clin Exp Immunol*. 2016;183(2):187–92.
  53. Marques CPC, Victor EC, Franco MM, Fernandes JMC, Maor Y, de Andrade MS, et al. Salivary levels of inflammatory cytokines and their association to periodontal disease in systemic lupus erythematosus patients. A case-control study. *Cytokine* [Internet]. 2016;85:165–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2016.06.025>
  54. Rutter-Locher Z, Smith TO, Giles I, Sofat N. Association between systemic lupus erythematosus and periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Front Immunol*. 2017;8(OCT).
  55. Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: A re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res*. 2010;89(12):1349–63.
  56. Bae SC, Lee YH. Causal association between periodontitis and risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a Mendelian randomization. *Z Rheumatol*. 2020;
  57. Graves DT, Corrêa JD, Silva TA. The Oral Microbiota Is Modified by Systemic Diseases. *J Dent Res*. 2019;98(2):148–56.
  58. Pessoa L, Galvão V, Santos-Neto L. Periodontal disease as a risk factor for cardiovascular disease: Suggestion of a further link in systemic lupus erythematosus. *Med Hypotheses* [Internet]. 2011;77(2):286–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2011.04.037>
  59. Calderaro DC, Ferreira GA, de Mendonça SMS, Corrêa JD, Santos FX, Sanção JGC, et al. Is there an association between systemic lupus erythematosus and periodontal disease? *Rev Bras Reumatol*. 2016;56(3):280–4.
  60. Fabbri C, Fuller R, Bonfá E, Guedes LKN, D’Alleva PSR, Borba EF. Periodontitis treatment improves systemic lupus erythematosus response to immunosuppressive therapy. *Clin Rheumatol*. 2014;33(4):505–9.

61. Petri M, Orbai AM AG. Derivation and Validation of Systemic Lupus International. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2677–86.
62. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975;25(4):229–35.
63. Esteves CV, de Campos WG, de Souza MM, Lourenço SV, Siqueira WL, Lemos-Júnior CA. Diagnostic potential of saliva proteome analysis: A review and guide to clinical practice. *Braz Oral Res.* 2019;33:1–13.
64. Stanescu II, Calenic B, Dima A, Gugoasa LA, Balanescu E, Stefan-van Staden RI, et al. Salivary biomarkers of inflammation in systemic lupus erythematosus. *Ann Anat [Internet].* 2018;219:89–93. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2018.02.012>
65. Mendonça SMS, Corrêa JD, Souza AF, Travassos D V, Calderaro DC, Rocha NP, et al. Immunological signatures in saliva of systemic lupus erythematosus patients: influence of periodontal condition. *Clin Exp Rheumatol.* 2019;37(2):208–14.
66. Ruacho G, Lira-Junior R, Gunnarsson I, Svenungsson E, Boström EA. Inflammatory markers in saliva and urine reflect disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus Sci Med.* 2022;9(1):e000607.
67. Gatto M, Zen M, Iaccarino L, Doria A. New therapeutic strategies in systemic lupus erythematosus management. *Nat Rev Rheumatol.* 2019;15(1):30–48.
68. Hedrich CM, Smith EMD, Beresford MW. Juvenile-onset systemic lupus erythematosus (jSLE) – Pathophysiological concepts and treatment options. *Best Pract Res Clin Rheumatol [Internet].* 2017;31(4):488–504. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.berh.2018.02.001>
69. Mirrieles J, Crofford LJ, Lin Y, Kryscio RJ, Dawson DR, Ebersole JL, et al. Rheumatoid arthritis and salivary biomarkers of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2010;37(12):1068–74.
70. Allison AC, Eugui EM. Immunosuppressive and other Effects of Mycophenolic Acid and an Ester Prodrug, Mycophenolate Mofetil. Vol. 136, *Immunological Reviews.* 1993. p. 5–28.
71. Melamud MM, Ermakov EA, Boiko AS, Kamaeva DA, Sizikov AE, Ivanova SA, et al. Multiplex Analysis of Serum Cytokine Profiles in Systemic Lupus Erythematosus and Multiple Sclerosis. *Int J Mol Sci.* 2022;23(22):13829.
72. Ma L, Chu WM, Zhu J, Wu YN, Wang ZL. Interleukin-1 $\beta$  (3953/4) C→T polymorphism increases the risk of chronic periodontitis in Asians: Evidence from a

- meta-analysis of 20 case-control studies. *Arch Med Sci.* 2015;11(2):267–73.
73. Fava A, Petri M. SLE: Diagnosis and clinical management. *Physiol Behav.* 2020;176(3):139–48.
  74. Held M, Sestan M, Jelusic M. Obesity as a comorbidity in children and adolescents with autoimmune rheumatic diseases. *Rheumatol Int [Internet].* 2022;(0123456789). Available from: <https://doi.org/10.1007/s00296-022-05238-6>
  75. Huang XC, He Y, Zhuang J, He J, Luo GH, Han JC, et al. Mycophenolic Acid Synergizing with Lipopolysaccharide to Induce Interleukin-1 $\beta$  Release via Activation of Caspase-1. *Chin Med J (Engl).* 2018;131(13):1533–40.
  76. Da Silva MK, De Carvalho ACG, Alves EHP, Da Silva FRP, Pessoa LDS, Vasconcelos DFP. Genetic Factors and the Risk of Periodontitis Development: Findings from a Systematic Review Composed of 13 Studies of Meta-Analysis with 71,531 Participants. *Int J Dent.* 2017;2017.
  77. Sullivan KE, Suriano A, Dietzmann K, Lin J, Goldman D, Petri MA. The TNF- $\alpha$  locus is Altered in Monocytes from Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J Clin Immunol.* 2008;123(1):1–16.
  78. Inam Illahi M, Amjad S, Alam SM, Ahmed ST, Fatima M, Shahid MA. Serum Tumor Necrosis Factor-Alpha as a Competent Biomarker for Evaluation of Disease Activity in Early Rheumatoid Arthritis. *Cureus.* 2021;13(5):e15314.

## ANEXO - Aprovação do Comitê de ética em pesquisa da UERJ

UERJ - UNIVERSIDADE DO  
ESTADO DO RIO DE JANEIRO;

Continuação do Parecer: 4.834.322

Este Comitê de Ética em Pesquisa considera o presente protocolo de pesquisa "APROVADO", tendo a pesquisadora atendido as pendências indicadas.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Faz-se necessário apresentar Relatório Anual - previsto para julho de 2022. A COEP deverá ser informada de fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo, devendo o pesquisador apresentar justificativa, caso o projeto venha a ser interrompido e/ou os resultados não sejam publicados.

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao(à) Pesquisador(a): Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e/ou no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, para análise das mudanças; informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; o comitê de ética solicita a V.S.<sup>a</sup> que encaminhe a esta comissão relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) meses da pesquisa e, ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1721182.pdf	29/05/2021 13:13:49		Aceito
Outros	Carta_em_resposta_as_pendencias.pdf	29/05/2021 13:07:33	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
Outros	Carta_de_anuencia_NESA.pdf	29/05/2021 12:58:26	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_modificado.docx	29/05/2021 12:54:17	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
Cronograma	Cronograma_modificado.pdf	29/05/2021 12:52:34	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_modificado.docx	29/05/2021 12:51:58	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE_responsavel_legal.docx	08/04/2021 19:49:53	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito

**Endereço:** Rua São Francisco Xavier 524, BL E 3ºand. SI 3018  
**Bairro:** Maracanã **CEP:** 20.559-900  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2334-2180 **Fax:** (21)2334-2180 **E-mail:** etica@uerj.br

UERJ - UNIVERSIDADE DO  
ESTADO DO RIO DE JANEIRO;



Continuação do Parecer: 4.834.322

Ausência	TCLE_responsavel_legal.docx	08/04/2021 19:49:53	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_maioresdeidade.docx	08/04/2021 19:49:41	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE.docx	08/04/2021 19:49:24	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	06/04/2021 17:52:29	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
Orçamento	Declaracao_de_orcamento.pdf	06/04/2021 17:51:25	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
Declaração de concordância	Declaracao_de_ciencia.pdf	06/04/2021 17:40:14	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado.docx	06/04/2021 17:08:12	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
Outros	Declaracao_de_isencao_de_custos.pdf	04/04/2021 17:55:48	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito
Cronograma	Cronograma_PB.pdf	19/03/2021 18:19:31	MILLENA AMOEDO COBRA	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RIO DE JANEIRO, 08 de Julho de 2021

Assinado por:  
**ALBA LUCIA CASTELO BRANCO**  
(Coordenador(a))

**Endereço:** Rua São Francisco Xavier 524, BL E 3ºand. SI 3018  
**Bairro:** Maracanã **CEP:** 20.559-900  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2334-2180 **Fax:** (21)2334-2180 **E-mail:** etica@uerj.br