

Esiste una predisposizione genetica alla malattia parodontale?

IL-6 e IL-10 quali fattori di suscettibilità all'insorgenza e mantenimento della malattia

Is there a genetic predisposition to periodontal disease?

IL-6 and IL-10 as factors of genetic susceptibility in the onset and maintenance of periodontal disease



Marialice Boldi*
marialice.boldi@gmail.com

Michela Rossini*
Clelia Mazza**
Annalisa Palmieri***

* Università dell'Insubria di Varese, CLID, Prof. a contratto

** Seconda Università degli Studi di Napoli, CLID, Direttore della Didattica Professionale

*** Università degli Studi di Bologna, Post Doc Biologia, Dipartimento di medicina specialistica diagnostica e sperimentale

SCOPO DEL LAVORO

È noto che la malattia parodontale è una patologia multifattoriale, in cui sia fattori ambientali che genetici giocano un ruolo preciso e controverso nel determinarne l'insorgenza. La flora batterica orale riveste sicuramente un ruolo importante nella progressione della malattia parodontale. Ulteriori fattori di rischio, ampiamente studiati, sono il fumo e il diabete. Tuttavia, una serie di fattori genetici dell'ospite possono condizionare la suscettibilità individuale all'insorgenza di malattia, determinarne le differenti manifestazioni cliniche e la velocità di progressione. Sono stati analizzati sei specifici polimorfismi a carico dei geni codificanti per IL-1A, IL-1B, IL-6, IL-10 e VDR, al fine di verificare se essi agiscono come fattori di suscettibilità per l'insorgenza di malattia parodontale cronica.

MATERIALI E METODI

È stato effettuato uno studio

genetico con 182 pazienti affetti da parodontite cronica e 230 controlli, tutti di origine italiana.

RISULTATI

Lo studio ha dimostrato un'associazione statisticamente significativa tra le varianti alleliche comuni, IL-6 rs1800795-G e IL-10 rs1800872-A, e la malattia parodontale. Valori borderline sono stati ottenuti per VDR.

CONCLUSIONI

Questi dati suggeriscono un possibile uso di questi polimorfismi in un test basato sul DNA per migliorare la diagnostica della malattia parodontale.

AIM OF THE WORK

It's known that periodontitis is a multifactorial disease, in which both environmental and genetic factors play a precise and controversial role in the onset of the disease. The oral bacterial flora certainly plays an important role in the progression of periodontitis. Additional risk factors, extensively studied, are smoking and diabetes. However, a number of host genetic factors may influence the individual susceptibility to the onset of the disease, determining the different clinical manifestations and the speed of progression. We analyzed the six specific polymorphisms in the genes codified for IL-1A, IL-1B, IL-6, IL-10 and VDR in order to check whether they act as susceptibility factors of development of chronic periodontitis.

MATERIALS AND METHODS

It was carried out a genetic study with 182 patients with chronic periodontitis and 230 controls, all of Italian origin.

RESULTS

The study showed a statistically significant association between common allelic variants, IL-6 rs1800795-G and IL-10 rs1800872 A, and periodontal disease. Borderline values were obtained for VDR.

CONCLUSIONS

These data suggest a possible use of these polymorphisms in a DNA-based test to improve the diagnosis of periodontal disease.



MALATTIA PARODONTALE / GENETICA / POLIMORFISMI / PERIODONTAL DISEASE / GENETIC / POLYMORPHISMS

INTRODUZIONE



Per decenni genetisti ed odontoiatri hanno rivolto la loro attenzione ai rispettivi campi d'azione, specializzandosi gli uni nella medicina relativa ai vari apparati e sistemi del corpo e gli altri sulle varie affezioni della cavità orale. Tuttavia, recenti studi hanno fortemente suggerito che anche la malattia parodontale potrebbe dimostrare una suscettibilità genetica (1).

La parodontite è definita come una malattia infiammatoria dei tessuti di sostegno del dente causata da specifici microrganismi che determinano una distruzione progressiva del legamento parodontale e dell'osso alveolare con formazione di tasche. La caratteristica clinica che distingue la malattia parodontale dalla gengivite è la presenza di una perdita di attacco clinicamente rilevabile. I segni clinici tipici dell'infiammazione parodontale che permettono di fare diagnosi sono: alterazione cromatica dei tessuti parodontali, modifiche della consistenza dei tessuti molli parodontali, sanguinamento; in particolare un indicatore affidabile d'infiammazione è rappresentato dalla presenza di sanguinamento al sondaggio.

Anche la malattia parodontale cronica potrebbe avere una componente genetica mediata dall'azione delle interleuchine IL-6 e IL-10.

LE CITOCINE

Le citochine sono molecole proteiche prodotte da vari tipi di cellule e secrete nel mezzo circostante di solito in risposta ad uno stimolo, in grado di modificare il comportamento di altre cellule inducendo nuove attività come crescita, differenziamento e morte. La loro azione di solito è locale, ma talvolta hanno un effetto su tutto l'organismo. Le citochine possono quindi avere un effetto autocrino (modificando il comportamento della stessa cellula che l'ha secreta) o paracrino (modificando il comportamento di cellule adiacenti). Alcune citochine possono invece agire in modo endocrino, modificando cioè il comportamento di cellule molto distanti da loro. Hanno una vita media di pochi minuti.

Le citochine prodotte da cellule del sistema immunitario vengono denominate linfocine o interleuchine. La prima linfocina (migration inhibitory factor, MIF) venne identificata negli anni Sessanta da John David e Barry Bloom.

LE INTERLEUCHINE

Le interleuchine sono proteine secrete dai leucociti (più comunemente definiti globuli bianchi) durante la risposta immunitaria. Grazie alla secrezione di interleuchine un leucocita può monitorare l'attività di altri leucociti, innescando uno dei più importanti meccanismi di comunicazione cellulare a livello del sistema immunitario, fra l'altro posseggono anche la capacità di stimolare le cellule permettendo di differenziarsi.

SUSCETTIBILITÀ GENETICA ALLA MALATTIA PARODONTALE

È noto come la malattia parodontale sia una patologia multifattoriale, in cui sia fattori ambientali che genetici giocano un ruolo preciso e controverso nel determinarne l'insorgenza. La flora batterica orale riveste sicuramente un ruolo importante nella progressione della malattia. Ulteriori fattori di rischio, ampiamente studiati, sono il fumo e il diabete. Tuttavia, una serie di fattori genetici dell'ospite possono condizionare la suscettibilità individuale all'insorgenza della malattia, determinarne le differenti manifestazioni cliniche e la velocità di progressione (1).

Le malattie multifattoriali, quali la malattia parodontale, presentano suscettibilità genetica correlata a diversi polimorfismi, diversamente da altre patologie che sono causate da una singola, o poche, mutazioni del gene. Inoltre una comune variazione a livello del codice genetico può determinare sia un'alterazione dell'espressione genica, sia cambiamenti funzionali delle molecole codificate, rendendo gli individui con quel genotipo più suscettibili all'insorgenza di una determinata malattia o al manifestarsi di quadri clinici più gravi della malattia stessa (2).

Negli ultimi anni, le ricerche correlate ai fattori di suscettibilità della malattia parodontale si sono indirizzate principalmente allo studio di geni coinvolti nell'immunoregolazione quali citochine, recettori della superficie cellulare, chemochine, enzimi e proteine deputate al riconoscimento dell'antigene. Le citochine, come IL-1A, IL-1B, IL-10 e IL-6, sono fattori chiave che mediano il processo infiammatorio nella malattia parodontale. Esse hanno un ruolo nell'attivazione, nella proliferazione e nella differenziazione delle cellule B, le principali cellule implicate nelle manifestazioni severe di malattia parodontale

(3). Tali variazioni genetiche possono perciò favorire la progressione della malattia (4) causandone il classico andamento, caratterizzato da cicli ripetuti di infiammazione tissutale, seguiti da remissioni spontanee (andamento a "pousses") (5). Nella malattia parodontale i batteri patogeni accumulati nel solco subgengivale sono i fattori ambientali che influenzano la risposta infiammatoria dei tessuti parodontali (6). Tuttavia, le citochine sono considerate anch'esse indirettamente responsabili della distruzione del tessuto connettivo e del riassorbimento osseo (7). Dal momento che il riassorbimento osseo alveolare è un fattore chiave nella malattia parodontale, il recettore della vitamina D (VDR) è stato considerato come un fattore di suscettibilità nella progressione della malattia. Dati in letteratura sostengono l'esistenza di un'associazione tra comuni polimorfismi a carico di geni candidati e la malattia parodontale (8-14).

È interessante notare che la maggior parte degli studi genetici sulla malattia parodontale abbiano impiegato coorti di piccole dimensioni, con conseguente rischio di ottenere risultati falsi positivi e falsi negativi e quindi con potenza statistica inadeguata a rilevare correttamente un'eventuale associazione. Inoltre, il numero e il tipo di geni che influenzano l'andamento della malattia parodontale possono essere differenti in relazione all'etnia del campione studiato e al grado di severità della malattia.

In recenti pubblicazioni (15, 16) sono stati analizzati sei specifici polimorfismi a carico dei geni codificanti per IL-1A, IL-1B, IL-6, IL-10 e VDR, al fine di verificare se essi agiscano come fattori di suscettibilità della malattia parodontale cronica. Molti studi hanno valutato l'associazione tra varianti genetiche e malattia parodontale, tuttavia non vi è ancora un accordo tra gli studiosi per quanto riguarda le correlazioni tra basi genetiche e manifestazioni cliniche di questa patologia. Infatti, i numerosi studi hanno riportato risultati contrastanti. Questo è principalmente legato alla diversa etnia delle popolazioni studiate, ma anche alle piccole dimensioni dei campioni oggetto di studio. Infatti studi di piccole dimensioni - con meno di 100 pazienti e 100 controlli - non sono in grado di fornire una potenza statistica in grado di rilevare un moderato effetto genetico, cioè un odds ratio di 1,5 o inferiore. Un'altra fonte di variabilità potrebbe essere correlata al disegno dello studio, essendo i diversi studi focalizzati su fenotipi specifici, come parodontite aggressiva, parodontite cronica, o la risposta ai trattamenti.



FIG. 1 LAB test.



FIG. 2 Modalità di prelievo.



LAB srl
Sede Amministrativa: Via Della Barca, 28, 40133 Bologna
Sede Operativa: Via Cavallotti 65, 44021 Codigoro (FE)

ANALISI GENETICA

Richiedente: _____
Via: _____
CAP e Città: _____
Tel: _____
E-mail: _____

CODICE PAZIENTE	
DATA di NASCITA	
SESSO	
SEDE PRELIEVO	
PROFONDITA' di TASCA	
DATA del PRELIEVO	

Test Batterico Test Genetico

Risultati dell'analisi

GENE	POLIMORFISMO	GENOTIPO DEL PAZIENTE	VALUTAZIONE RISCHIO
Interleuchina 6 (IL6)	rs1800795 (G/C)	CC	I genotipi GC e CC diminuiscono il rischio di parodontite di un fattore 0,7 ●
Interleuchina 10 (IL10)	rs1800872 (A/C)	AC	I genotipi AC ed AA aumentano il rischio di parodontite di un fattore 1,4 ●
Recettore vit. D (VDR)	rs731236 (T/C)	CC	I genotipi TC e CC diminuiscono il rischio di parodontite di un fattore 0,8 ●

FIG. 3 Referto.

MATERIALI E METODI

Il nostro gruppo di ricerca ha condotto uno studio genetico con 182 pazienti affetti da parodontite cronica e 230 controlli, tutti di origine italiana. Il fluido crevicolare raccolto con una sonda di carta mediante LAB test (LAB srl, Ferrara, Italia; figg. 1-3) è stato usato come fonte di DNA genomico. L'efficienza del test genetico su questo DNA è risultata alta, fornendo circa il 98% dei genotipi.

RISULTATI E CONCLUSIONI

Lo studio ha dimostrato un'associazione statisticamente significativa tra le varianti alleliche comuni, IL-6 rs1800795-G e IL-10 rs1800872-A, e la malattia parodontale. Valori borderline sono stati ottenuti per VDR. Questi dati suggeriscono un possibile uso di questi polimorfismi in un test basato sul DNA per migliorare la diagnostica della malattia parodontale. Secondo l'OMS la malattia parodontale

è una delle due patologie che affligge maggiormente la popolazione umana di tutto il mondo, con una prevalenza molto alta. La stessa prevalenza e la severità della malattia parodontale sono state misurate nella popolazione di paesi socioeconomicamente sviluppati e in paesi in via di sviluppo. Questi studi sono stati svolti misurando vari parametri. Il Community Periodontal Index (CPI) è stato introdotto dall'OMS nel 1982 per stabilire i profili della salute parodontale nelle varie nazioni e per indurre le stesse ad intervenire con piani di prevenzione per il controllo della patologia. Per la valutazione del CPI il cavo orale è diviso in 6 sestanti e l'esame viene effettuato con una sonda parodontale millimetrata. Lo score viene identificato esaminando la profondità di solco/tasca di 16, 11, 26, 36, 31, 46, oppure di tutti gli elementi dentari presenti nel cavo orale. Il CPI assegna il seguente punteggio: 0 assenza di malattia parodontale, 1 sanguinamento al sondaggio, 2 calcoli con placca osservata o percepita al sondaggio, 3 tasche parodontali patologiche di 4-5 mm, 4 tasche parodontali patologiche di 6 o più mm, x quando sono presenti 1 o nessun elemento dentario. Lo score del CPI è la somma suddivisa per il numero di elementi dentari considerati.

L'OMS reputa quindi la malattia parodontale una patologia ad alto impatto sociale. Di qui l'importanza di definire nuovi strumenti diagnostico-terapeutici per prevenire e curare la malattia. Le conoscenze genetiche sono utili nella diagnostica della malattia parodontale e nella definizione di un piano terapeutico personalizzato per ogni singolo paziente in relazione a differenti quadri clinici.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Heitz-Mayfield L.J. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis. J Clin Periodontol

- 2005;32(Suppl 6):196-209.
- 2) Craandijk J, van Krugten MV, Verweij CL, van der Velden U, Loos BG. Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002;29:28-34.
 - 3) Yamazaki K, Nakajima T, Gemmell E, Polak B, Seymour GJ, Hara K. IL-4- and IL-6-producing cells in human periodontal disease tissue. *J Oral Pathol Med* 1994;23:347-53.
 - 4) Scarel-Caminaga RM, Trevisatto PC, Souza AP, Brito RB, Jr., Line SR. Investigation of IL4 gene polymorphism in individuals with different levels of chronic periodontitis in a Brazilian population. *J Clin Periodontol* 2003;30: 341-5.
 - 5) Duff GW. Molecular genetics of cytokines: Cytokines in chronic inflammatory disease. In: Thompson, editor. *The cytokine handbook*. London: Academic Press; 1998. p. 21-33.
 - 6) Wilson M, Reddi K, Henderson B. Cytokine-inducing components of periodontopathogenic bacteria. *J Periodontol Res* 1996;31:393-407.
 - 7) Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;9:248-66.
 - 8) Karimbux NY, Saraiya VM, Elangovan S, Allareddy V, Kinnunen T, Korman KS, et al. Interleukin-1 Gene Polymorphisms and Chronic Periodontitis in Adult Caucasians: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Periodontol*.
 - 9) Laine ML, Loos BG, Crielaard W. Gene polymorphisms in chronic periodontitis. *Int J Dent* 2010: 324719.
 - 10) Dudbridge F, Gusnanto A. Estimation of significance thresholds for genomewide association scans. *Genet Epidemiol* 2008;32:227-34.
 - 11) Scapoli C, Borzani I, Guarnelli ME, Mamolini E, Annunziata M, Guida L, et al. IL-1 gene cluster is not linked to aggressive periodontitis. *J Dent Res*; 89:457-61.
 - 12) Claudino M, Trombone AP, Cardoso CR, Ferreira SB, Jr., Martins W, Jr., Assis GF, et al. The broad effects of the functional IL-10 promoter-592 polymorphism: modulation of IL-10, TIMP-3, and OPG expression and their association with periodontal disease outcome. *J Leukoc Biol* 2008;84:1565-73.
 - 13) Reichert S, Machulla HK, Klapproth J, Zimmermann U, Reichert Y, Glaser CH, et al. The interleukin-10 promoter haplotype ATA is a putative risk factor for aggressive periodontitis. *J Periodontol Res* 2008;43:40-7.
 - 14) Amano Y, Cho Y, Matsunawa M, Komiya K, Makishima M. Increased nuclear expression and transactivation of vitamin D receptor by the cardiotonic steroid bufalin in human myeloid leukemia cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2009;114:144-51.
 - 15) Carinci F, Girardi A, Palmieri A, Martinelli M, Scapoli L, Avantaggiato A, Nardi GM, Lauritano D. Lab-Test 3: Genetic Susceptibility In Periodontal Disease. *European Journal of Inflammation* 2012;10:99-101.
 - 16) Scapoli L, Girardi A, Palmieri A, Carinci F, Testori T, F. Zuffetti, R. Monguzzi, D. Lauritano. IL-6 and IL-10 are genetic susceptibility factors of periodontal disease. *Dental Res J* 2012;9(Suppl 2):197-201.

Questo lavoro è stato supportato da LAB S.r.l, Ferrara, Italia.