



Ana Camila Pereira Messetti

”. “Análise da correlação entre condição periodontal e polimorfismos nos genes das citocinas IL-1, IL-6 e TNF- α e da enzima paraoxonase em indivíduos afetados ou não com Diabetes Melito tipos I e II

Piracicaba

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE
PIRACICABA

Ana Camila Pereira Messetti

“Análise da correlação entre condição periodontal e polimorfismos nos genes das citocinas IL-1, IL-6 e TNF- α e da enzima paraoxonase em indivíduos afetados ou não com Diabetes Melito tipos I e II”.

Orientadora: Profa. Dra. Rebeca de Souza Azevedo

Dissertação de Mestrado apresentada a Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do Título de Mestra em Estomatopatologia na área de Estomatologia.

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação defendida pela aluna Ana Camila Pereira Messetti e orientada pela Profa. Dra. Rebeca de Souza Azevedo.

Piracicaba

2013

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

M563a Messetti, Ana Camila Pereira, 1980-
Análise da correlação entre condição periodontal e polimorfismos nos genes das citocinas IL-1, IL-6, TNF-alpha e da enzima paraoxonase em indivíduos afetados ou não com Diabetes tipos I e II / Ana Camila Pereira Messetti. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2013. *45 = da pag. 100*
Orientador: Rebeca de Souza Azevedo.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.
1. Doença periodontal. 2. Polimorfismo. 3. Diabetes mellitus. 4. Interleucina-1. 5. Interleucina-6. I. Azevedo, Rebeca de Souza. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Analysis of the correlation between periodontal status and polymorphisms in the IL-1, IL-6, TNF-alpha and paraoxonase enzyme in individuals affected or not with Diabetes type I and II

Palavras-chave em inglês:

Periodontal disease

Polymorphism

Diabetes mellitus

Interleukin-1

Interleukin-6

Área de concentração: Estomatologia

Titulação: Mestra em Estomatopatologia

Banca examinadora:

Rebeca de Souza Azevedo [Orientador]

Livia Máris Ribeiro Paranaíba

Karina Gottardello Zecchin

Data de defesa: 24-07-2013

Programa de Pós-Graduação: Estomatopatologia

Unidade BCCU
T/UNICAMP
Cutter M563a
V. 1 Ed. 1
Tombo BC 102093
Proc. 16-94-13
C. 1 D. 1
Preço R\$ 11,00
Data 12/11/13
Cod. tit. 914187



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 24 de Julho de 2013, considerou a candidata ANA CAMILA PEREIRA MESSETTI aprovada.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Ricardo Della Coletta", written over a horizontal line.

Prof. Dr. RICARDO DELLA COLETTA

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Livia Maris Ribeiro Paranaíba", written over a horizontal line.

Profa. Dra. LÍVIA MARIS RIBEIRO PARANAIBA

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Karina Zecchin", written over a horizontal line.

Profa. Dra. KARINA GOTTARDELLO ZECCHIN

DEDICATÓRIA

À Deus, pela graça de permitir a realização deste trabalho e por fazer de mim, sal e luz, segundo sua vontade;

Ao meu esposo Luiz Marcelo, homem de muita ação e poucas teorias, mestre na arte de apoiar, pela presença, afeto e, pela paciência e renúncia que demonstrou durante a realização desta jornada, pelos esforços e privações que venceu para que minha formação fosse possível, além de esposo é por vezes amigo conselheiro e válvula de escape para todas as situações adversas. Esta pessoa é sem dúvida nenhuma, um dos maiores responsáveis por minhas vitórias e sempre me ergue nos momentos em que tudo parece inatingível. Seu companheirismo e cumplicidade foram a égide fundamental no desenrolar desta jornada. Amo-te.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha orientadora, **Profa. Dra. Rebeca de Souza Azevedo**, e ao **Prof. Dr. Ricardo Della Coletta** exemplos de dedicação e amor pela profissão, a quem tenho uma dívida intelectual, agradeço pela oportunidade, confiança, orientação e ensinamentos transmitidos. Grande parte deste trabalho deve-se ao seu incentivo e apoio por todo o desenrolar deste estudo.

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação foi realizada com a participação e apoio de muitas pessoas e instituições dentre as quais gostaria de agradecer especialmente:

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu diretor, **Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior**.

À **Profa. Dra. Renata C. Matheus R. Garcia**, coordenadora geral da Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas.

Ao **Prof. Dr. Alan Roger dos Santos Silva**, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Estomatopatologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas.

Aos professores das áreas de Patologia e Semiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, **Prof. Dr. Alan Roger dos Santos Silva**, **Prof. Dr. Edgard Graner**, **Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior**, **Prof. Dr. Márcio Ajudarte Lopes**, **Prof. Dr. Pablo Augustin Vargas**, **Prof. Dr. Ricardo Della Coletta**, e **Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida**. Expresso a minha admiração pela competência e seriedade com que realizam suas funções de ensino e pesquisa nesta instituição.

Ao **CNPq**, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao **Prof. Dr. Rogério da Silva Jorge**, pelo seu amor contagiante a Estomatologia.

À **Profa. Dra. Karina Gottardello Zecchin**, por me mostrar que é possível fazer Estomatopatologia com excelência e ter uma família abençoada.

À **Profa. Dra. Cristiane Duque**, à **Profa. Dra. Gabriela Alessandra da Cruz Galhardo Camargo**, e aos alunos de graduação **Alan Dornelas Silva** e **Tamires Monteiro Barboza**, pelo atendimento clínico e coleta das amostras oriundas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal Fluminense em Nova Friburgo (FOUFF/NF) da **Associação dos Diabéticos de Nova Friburgo (ADINF)**.

À **Profa Dra Raquel Mantuaneli Scarel-Caminaga**, por disponibilizar para este estudo as amostras oriundas da **Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (FOAr/UNESP)**.

A todos os **pacientes, familiares** e aos **voluntários** que se dispuseram, com tanto desprendimento e generosidade, participar desta pesquisa.

Aos meus companheiros de laboratório: **Andréia Silva, Andréia Bufalino, Camilla, Fernanda, Isadora, Débora, Luciana, Priscila, Rose, Sibeles, Fernanda, Renato, Estevão e Márcia**, pelo apoio e por estarem sempre dispostos a dividir o que sabem.

Aos pós-graduandos, **Elizabete Bagordakis Pinto, Marcondes Sena Filho e Victor Toral Rizo**, pela grande colaboração, disponibilidade e pelos ensinamentos de laboratório, clínica e histopatologia transferidos durante meu mestrado e pela tão sólida amizade com que fui agraciada.

Aos demais pós-graduandos do Curso de Estomatopatologia da FOP, **Alicia, Ana Carolina, Bruno, Daniel, Felipe, Harim, Juscelino, Karina, Katia, Lara, Lucas, Marisol, Nathalia, Rodrigo, Rogério, Sabino, Sabrina, Wagner e Wilfredo**, pela convivência maravilhosa em Piracicaba.

Aos técnicos de laboratório **Geovânia, Fabiana e Adriano**.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, meu profundo agradecimento.

“Ao homem pertencem os planos do coração, mas do Senhor vem a resposta da língua. Todos os caminhos do homem lhe parecem puros, mas o Senhor avalia o espírito. Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos. O Senhor faz tudo com um propósito; até os ímpios para o dia do castigo. O Senhor detesta os orgulhosos de coração. Sem dúvida serão punidos. Com amor e fidelidade se faz expiação pelo pecado; com o temor do Senhor o homem evita o mal. Quando os caminhos de um homem são agradáveis ao Senhor, ele faz que até os seus inimigos vivam em paz com ele.”

Provérbios 16:1-7

RESUMO

A doença periodontal (DP) é uma doença inflamatória crônica de ampla distribuição etária e mundial, que resulta da interação entre fatores etiológicos heterogêneos e que pode sofrer influência ambiental e sistêmica, especialmente na presença do diabetes melito (DM). Os mecanismos que envolvem a associação entre o DM e a presença da DP ainda não estão completamente elucidados, mas as características genéticas ou epigenéticas do hospedeiro, como os polimorfismos genéticos, podem influenciar esta relação. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o envolvimento de polimorfismos nos genes de IL1- α (-889), de IL1- β (+3984), de IL-6 (-174), de TNF- α (-308) e da paraoxanase (-192) e da paraoxanase (-55) no desenvolvimento de DP e DM em um grupo de pacientes brasileiros. Os polimorfismos rs1800587 e rs1143634 no gene IL-1, rs1800796 no gene IL6, rs1800629 no gene TNF- α , e rs662 e rs854560 no gene paraoxanase foram genotipados em 302 adultos, dos quais 96 eram diabéticos com DP (ADM+DP), 20 eram diabéticos com saúde periodontal (ADM-DP), 112 eram normoglicêmicos com DP (AN+DP) e 74 eram normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP); e em 88 crianças e adolescentes, dos quais 11 eram diabéticos com gengivite (CDM+G), 15 eram diabéticos com saúde gengival (CDM-G), 30 eram normoglicêmicos com gengivite (CN+G) e 32 eram normoglicêmicos com saúde gengival (CN-G). No grupo de pacientes adultos, a presença do alelo T no polimorfismo rs1143634 no gene IL1- β foi mais frequente nos indivíduos ADM+DP que nos indivíduos AN-DP, gerando um OR de 14,9 (95% IC: 8,6-25,9; $p < 0,0001$); a presença do alelo A no polimorfismo rs1800629 no gene TNF- α foi mais frequente nos indivíduos ADM+DP que nos indivíduos AN-DP, gerando um OR de 22,7 (95% IC: 6,96 -74,5 $p < 0,0001$), e a presença do alelo C no polimorfismo rs1800796 no gene IL6 foi mais frequente nos indivíduos ADM+DP que nos indivíduos AN+DP, gerando um risco de recorrência de 2,38 (95% IC:1,61-3,5; $p < 0,0001$), e que nos indivíduos AN-DP, gerando risco de recorrência de 2,87 (1,79-4,5; $p < 0,0001$). No grupo de pacientes crianças e adolescentes, a presença do alelo C no polimorfismo rs1800796 no gene IL-6 foi mais frequente em indivíduos CN+G que nos indivíduos CN-G, gerando um risco de recorrência de 121,1 (95% IC:32,3-145,3; $p < 0,0001$), e foi mais frequente nos indivíduos CDM+G que nos indivíduos CN-G, gerando um risco de recorrência de 104 (95% IC:11,4-

136,6; $p < 0,0001$). Os resultados deste estudo evidenciam a associação dos polimorfismos rs1143634 no gene IL1- β , rs1800796 no gene IL6 e rs1800629 no gene TNF- α com a suscetibilidade genética ao desenvolvimento de DP e/ou DM na população adulta estudada; e a associação do polimorfismo rs1800796 no gene IL-6 com a suscetibilidade genética ao desenvolvimento de DP e/ou DM na população de crianças e adolescentes estudada.

Palavras-chave: doença periodontal; diabetes melito; polimorfismo; interleucinas; paraoxonase.

ABSTRACT

Periodontal disease (PD) is a chronic inflammatory disease of worldwide distribution that may affect all age groups, and results from the interaction between heterogeneous etiologic factors, such as environmental and systemic influence, especially in the presence of diabetes mellitus (DM). Mechanisms involving the association between DM and the presence of PD are still not fully elucidated, but the genetic or epigenetic alterations of the host, such as the genetic polymorphisms may influence this relationship. Thus, the aim of this study was to evaluate the involvement of polymorphisms in the genes of IL1- α (-889), IL1- β (+3984), IL-6 (-174), TNF- α (-308) and paraoxanase (-192) and paraoxonase (-55) in PD and/or DM development in a group of Brazilian patients. The polymorphisms rs1800587 and rs1143634 from IL1 gene, rs1800796 from IL6 gene, rs1800629 from TNF- α gene, and rs662 and rs854560 from paraoxanase gene were genotyped in 302 adults, of whom 96 were diabetic with PD (ADM+PD), 20 were diabetics with periodontal health (ADM-PD), 112 were normoglycemic with PD (AN+PD) and 74 were normoglycemic with periodontal health (AN-PD); and in 88 children and adolescents, of whom 11 were diabetic patients with gingivitis (CDM+G), 15 were diabetics with gingival health (CDM-G), 30 were normoglycemic with gingivitis (CN+G) and 32 were normoglycemic with gingival health (CN-G). In the group of adult patients, the presence of T allele at the rs1143634 polymorphism in the IL1- β gene was more frequent in ADM+PD than in AN-PD, generating an OR of 14, 9 (95% CI :14,9-25, 9; $p < 0.0001$), the presence of A allele at the rs1800629 polymorphism in the TNF- α gene was more frequent in ADM+PD than in AN+PD, generating an OR of 22,7 (95% CI 6.96 -74.5; $p < 0.0001$), and the presence of C allele at the rs1800796 polymorphism in the gene IL6 was more frequent in ADM+PD than in AN+PD, generating an OR of 2.38 (95% CI :1,61-3, 5; $p < 0.0001$), and it was more frequent in ADM+PD than in AN-PD, generating an OR of 2.87 (1.79 to 4.5, $p < 0.0001$). In the group of children and adolescents, the presence of C allele at the rs1800796 polymorphism in the IL6 gene is more frequent in NC+G than in NC-G, generating an OR of 121.1 (95% CI :32,3-145, 3; $p < 0.0001$), and it was more frequent in CMD+G than in NC-G, generating an OR of 104 (95% CI :11,4-136,6; $p < 0.0001$). The results of this study show the association of rs1143634 polymorphisms in the IL1- β gene, rs1800796 in the IL6 gene, and

rs1800629 in the TNF- α gene with genetic susceptibility to PD and/or DM development in the adult population studied, and association of the polymorphism rs1800796 in the IL6 gene with genetic susceptibility for PD and/or DM development in the children and adolescents population studied.

Keywords: periodontal disease, diabetes mellitus, polymorphism, interleukin; paraoxonase.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	Doença Periodontal	3
2.2	Diabetes Melito (DM)	5
2.3	Doença Periodontal (DP) e Diabetes Melito (DM)	6
2.4	Citocinas Inflamatórias na DP e DM	9
2.4.1	Interleucina IL1	11
2.4.2	Fator de Necrose Tumoral -TNF- α	13
2.4.3	Interleucina -IL6	14
2.4.4	Paraoxonase	15
2.5	Polimorfismos Genéticos na DP e no DM	19
2.5.1	Polimorfismo no gene IL1 (rs1800587 e rs1143634)	20
2.5.2	Polimorfismo no gene TNF α (rs1800629)	23
2.5.3	Polimorfismo no gene IL6 (rs1800796)	24
2.5.4	Polimorfismo no gene PON-1 (rs662 e rs854560)	26
3	PROPOSIÇÃO	31
3.1	Objetivo Geral	31
3.2	Objetivos específicos	31
4	MATERIAI E MÉTODOS	33
4.1	Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	33
4.2	Seleção da amostra	33
4.3	Seleção dos polimorfismos Genéticos	35
4.4	Coleta das amostras para Análise dos Polimorfismos Genéticos	36
4.5	Isolamento do DNA	36
4.6	Genotipagem pelo método de Descriminação Alélica com sondas Fluorescentes	37
4.7	Análise Estatística	37
5	RESULTADOS	39
5.1	Características Gerais do Grupo A (Adultos)	39
5.2	Frequência Alélica e Genotípica dos Polimorfismos no Grupo A (Adultos)	40
5.2.1	Polimorfismo rs1143634 no gene IL- β	40
5.2.2	Polimorfismo rs1800629 no gene TNF- α	42
5.2.3	Polimorfismo rs1800796 no gene IL-6	43
5.3	Características Gerais do grupo B (crianças e adolescentes)	52
5.4	Frequência Alélica e Genotípica dos Polimorfismos no Grupo B (Crianças e Adolescentes)	53
5.4.1	Polimorfismo rs1800796 no gene IL-6	53
6	DISCUSSÃO	61
7	CONCLUSÃO	71
	REFERÊNCIAS	73
	Anexos	95
	Anexo 1. Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos FOP-Unicamp	96
	Anexo 2: Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos UFF	97

1. INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) é uma das causas de perda precoce dos dentes e representa um problema de saúde pública de ampla distribuição mundial e que pode acometer todas as faixas etárias (Brasil, 2003). É uma doença inflamatória crônica que resulta da interação de fatores etiológicos heterogêneos, incluindo a formação de um biofilme complexo no microambiente supra e subgengival, que levará a perda de inserção periodontal e que poderá ser irreversível e ter como principal consequência, em longo prazo e em casos de doença agressiva, a destruição óssea e a perda do dente (Bickel *et al.*, 2001; Moreira *et al.*, 2005; De Freitas *et al.*, 2007; Struch *et al.*, 2008; Xiao *et al.*, 2009; Correia *et al.*, 2010; Vieira *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011). Outros fatores podem ter papel importante na etiologia da DP, provocando alterações na resposta do hospedeiro, e incluem alguns fatores ambientais e sistêmicos, como o tabagismo, o diabetes melito (DM), e outras características genéticas ou epigenéticas do hospedeiro, como os polimorfismos genéticos, os quais podem ser influenciados e/ou modulados pela resposta imune e inflamatória do hospedeiro (Santos *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2011).

O DM é uma doença sistêmica caracterizada pela desregulação do sistema endócrino e metabólico no controle dos níveis de glicose no sangue, resultando em hiperglicemia (Sima & Glogauer, 2013), e é considerado um importante fator sistêmico de risco para o desenvolvimento e progressão da DP, influenciando na prevalência, incidência e severidade da doença (Taylor, 2001; Orbak *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2010; Sima & Glogauer, 2013), tanto em adultos quanto em crianças e adolescentes (Grossi *et al.*, 1994; Mealey e Oates, 2006; Bajaj *et al.*, 2012).

Além disso, fatores genéticos e ambientais podem exercer um papel essencial na patogênese da DP e/ou do DM (Michalowicz *et al.*, 2000; Santos *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2011), que são doenças complexas e geralmente poligênicas, ou seja, apresentam inúmeros genes envolvidos na suscetibilidade e na gravidade da doença, cada qual garantindo uma pequena contribuição (Kinane *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2011).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi investigar marcadores genéticos que foram recentemente descritos para avaliar a associação do perfil clínico e genético de indivíduos diabéticos e normoglicêmicos portadores de DP, com o intuito de contribuir para o entendimento da etiopatogênese da DP na infância e adolescência e na idade adulta.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Doença Periodontal (DP)

A DP consiste em processos inflamatórios de origem infecciosa que acometem os tecidos gengivais (gengivites) e/ou os tecidos de suporte dos dentes (periodontites) (Bickel *et al.*, 2001; Moreira *et al.*, 2005; Vieira *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.*, 2011). É iniciada pelo acúmulo de biofilme no sulco gengival, que promoverá uma resposta local aos patógenos periodontais e seus produtos, incluindo o recrutamento de neutrófilos e macrófagos e a posterior liberação de mediadores inflamatórios, metaloproteinases de matriz e citocinas pró e anti-inflamatórias (Armitage, 2003; Duarte *et al.*, 2007; Holla *et al.*, 2008(b); Nikolopoulos *et al.*, 2008). Esta resposta tecidual inicial pode conduzir ao desenvolvimento da gengivite, que é reversível, mas, caso a infecção e esta resposta tecidual persistam, o quadro poderá evoluir para uma periodontite, que, ao contrário da gengivite, geralmente destrói o periodonto e consiste em uma das principais causas de perda dentária em adultos (Holla *et al.*, 2008(b); Nikolopoulos *et al.*, 2008; Duarte *et al.*, 2012).

A compreensão das interações entre o hospedeiro e as bactérias bucais é essencial para o entendimento da patogênese da DP. *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Treponema denticola* constituem os microrganismos periodontopatogênicos que se acumulam na região do sulco gengival e produzem lipopolissacarídeos, que induzem a uma resposta inflamatória, funcionando como agentes etiológicos primários no desenvolvimento da DP (Oliveira *et al.*, 2011). Estas bactérias periodontopatogênicas agredem o hospedeiro, ativando os mecanismos imunoinflamatórios dos tecidos periodontais, que reagirão com sua resposta imunológica e inflamatória capaz de destruir lentamente o periodonto a partir da destruição do colágeno e do osso que suporta os dentes (Kornman & di Giovine 1998; Kobayashi *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2010). É importante destacar que a função primordial desta resposta imunológica e inflamatória é de proteger o organismo contra agentes estranhos (Bickel *et al.*, 2001), contudo, quando a tal

resposta não é suficiente para eliminar os microrganismos invasores, a persistência de mediadores inflamatórios pode levar a injúrias ao tecido, com consequente formação de bolsa periodontal, perda de tecido conjuntivo, destruição do ligamento periodontal e reabsorção de osso alveolar, resultando na DP e posterior perda do dente (Laine *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011).

A presença das bactérias gram-negativas denominadas periodontopatogênicas é essencial para o início da DP, no entanto, é importante destacar que somente a presença destas bactérias na região subgengival não resulta na destruição periodontal na maioria dos casos (Taubman *et al.*, 2005; Xiao *et al.*, 2009; Stabholz *et al.*, 2010; Kardesler *et al.*, 2011; Hernández *et al.*, 2011). Fatores intrínsecos e extrínsecos contribuem para as variações individuais na etiologia e no curso da doença (Beck *et al.*, 2000; Moreira *et al.*, 2005; Nikolopoulos *et al.*, 2008; Shao *et al.*, 2009; Laine *et al.*, 2010; Stabholz *et al.*, 2010; Trevilatto *et al.*, 2011). Embora as bactérias sejam essenciais para o início da DP, a quantidade de biofilme e as espécies de bactérias, não necessariamente se correlacionam com a gravidade da doença e, cada pessoa pode ter uma resposta individual para o desafio bacteriano que determina a sua suscetibilidade a DP (Laine *et al.*, 2010).

A DP ocorre de forma multifatorial e depende da interação entre fatores de risco imunológicos, microbiológicos, sistêmicos, ambientais e genéticos, além das variações sociodemográficas, como idade, gênero, raça e condição financeira (Taubman *et al.*, 2005; Xiao *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2009; Scannapieco *et al.*, 2010; Stabholz *et al.*, 2010; Kardesler *et al.*, 2011; Hernández, *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2011), e dentre os principais fatores que podem ter um papel importante na etiologia da DP, provocando alterações na resposta do hospedeiro, estão as alterações sistêmicas, como o DM, e a influência genética, como os polimorfismos genéticos (Stabholz *et al.*, 2000; Herbert *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011). Além disso, alguns pacientes são geneticamente predispostos à DP, por serem portadores de anormalidades imunológicas fundamentais na resposta do hospedeiro, e embora esta relação ainda não esteja completamente elucidada (Guzeldemir *et al.*, 2008; Struch *et al.*, 2008), alguns estudos indicam, que as diferenças genéticas entre os indivíduos podem desempenhar um papel importante no desenvolvimento da DP (Diehl *et al.*, 1999; Scarel-Caminaga *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2010).

A busca por fatores de risco genéticos e marcadores com alta sensibilidade e especificidade, que poderiam ser usados para identificar indivíduos em risco para a DP, tem sido constante nos últimos anos (Kornman & di Giovine, 1998; Stabholz *et al.*, 2010). O resultado dessa busca são estudos que têm demonstrado que a DP está associada a níveis elevados de uma variedade de biomarcadores inflamatórios, em que variantes genéticas de algumas citocinas conferem maior ou menor suscetibilidade à DP (Kornman & di Giovine, 1998; López *et al.*, 2005; Shao *et al.*, 2009; Gurav, 2012). Assim, o controle genético da função destas citocinas pode afetar a aparência ou a severidade da DP (Nikolopoulos *et al.*, 2008) por alterar o nível de secreção de citocinas em resposta ao desafio de bactérias, o que poderia explicar também as diferenças individuais na suscetibilidade e severidade da doença (López *et al.*, 2005).

Dessa forma, é importante que se entenda que a fisiopatologia de uma doença complexa, como a DP, é caracterizada por diversos caminhos biológicos, levando a fenômenos com semelhança clínica, como a perda de inserção e, dessa forma, pode-se supor que a interação entre vários grupamentos de genes modificadores e o meio ambiente pode ser responsável pela ampla variação que existe na expressão clínica da DP (Loos *et al.*, 2005; Covani *et al.*, 2008., Stabholz *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011).

2.2. Diabetes Melito (DM)

No mundo, segundo a Federação Internacional de Diabetes, em 2012, mais de 371 milhões de pessoas, eram portadoras de DM, e esse número tem aumentado em todos os países (Frigo *et al.*, 2012), incluindo o Brasil, no qual estima-se que entre os anos de 2000 e 2030, o número de indivíduos com DM passará de 4,5 milhões para 11 milhões (Wild *et al.*, 2004; Brasil, 2005; Sociedade Brasileira de Diabetes, 2009).

As diretrizes nacionais e internacionais mais recentes recomendam a classificação do DM em duas principais categorias: DM tipo 1 (DM1) e DM tipo 2 (DM2). DM1, anteriormente conhecido como diabetes insulino dependente, de início na infância ou diabetes juvenil, é caracterizado pela deficiência absoluta de

insulina devido à destruição celular autoimune mediada por células β do pâncreas (IEC, 2009; ADA, 2012). Representa entre 5% e 10% dos indivíduos portadores de DM, e ocorrendo na infância e na adolescência (IEC, 2009). DM2, anteriormente denominado diabetes não-insulino-dependente ou diabetes do adulto, é provocado pelo aumento da resistência à insulina e, geralmente relativa deficiência de insulina. Representa entre 90% e 95% dos indivíduos com DM, e é considerado pela Organização Mundial de Saúde uma das doenças mais prevalentes no mundo (OMS, 2006; Ding *et al.*, 2012; Cruz *et al.*, 2012), representando o principal tipo de DM na população adulta e intimamente relacionada com complicações metabólicas, clínicas e sociais, relacionadas a urbanização crescente, sedentarismo, dieta inadequada e obesidade (Lerario *et al.*, 2008). Outros tipos de DM incluem o diabetes gestacional (ADA, 2012) e o diabetes associado a doenças que envolvem o pâncreas e a destruição de células β , doenças endócrinas, tumores, pancreatectomia, e drogas ou substâncias químicas induzidas por insensibilidade à insulina ou a sua resistência (Wehba *et al.*, 2004). Existem ainda duas categorias de DM, referidas como pré-diabetes, que são a glicemia em jejum alterada e a tolerância à glicose diminuída, que não são entidades clínicas, mas fatores de risco para o desenvolvimento de DM e doenças cardiovasculares (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2009).

O diagnóstico de DM baseia-se fundamentalmente nas alterações da glicose plasmática de jejum (70 mg/dl e 99 mg/dl) ou após uma sobrecarga de glicose por via oral (inferior a 140mg/dl) (ADA, 2009). Os critérios diagnósticos baseiam-se na glicose plasmática de jejum (8 horas), nos pontos de jejum e de 2h após sobrecarga oral de 75g de glicose (teste oral de tolerância à glicose – TOTG) (ADA, 2010).

2.3. Doença Periodontal (DP) e Diabetes Melito (DM)

A DP, além de ser uma doença crônica inflamatória, que se manifesta primariamente por uma infecção oral, pode ser também uma consequência das complicações microvasculares do DM (Taubman *et al.*, 2005; Xiao *et al.*, 2009; Kardesler *et al.*, 2011; Correia *et al.*, 2010; Hernández, *et al.*, 2011). O DM é uma doença crônica caracterizada pela deficiência parcial ou total na produção de

insulina ou por resistência a sua ação, pode levar a diferentes complicações crônicas sistêmicas, e estar também relacionado à complicações bucais (Alves *et al.*, 2007; Ünür *et al.*, 2008; Farbstein & Levy, 2010; ADA, 2012; Chang & Lin, 2012; Cruz *et al.*, 2012).

A DP é a complicação bucal mais importante do DM, sendo considerada a sexta complicação clássica do DM em ordem decrescente de frequência (Struch *et al.*, 2008; Ünür *et al.*, 2008; Correia *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011; Gurav, 2012; Chang & Lim 2012). A associação entre DP e DM exhibe uma relação bidirecional, na qual o DM favorece o desenvolvimento da DP, e esta, quando não tratada, piora o controle metabólico do DM (Alves *et al.*, 2007; Gurav, 2012; Chang & Lim, 2012).

Os estudos epidemiológicos têm evidenciado um risco aumentado entre 3 e 4 vezes para o desenvolvimento da DP no grupo de pacientes com DM1 ou com DM2, em comparação com o grupo de pacientes normoglicêmicos (Pérez *et al.*, 2004; Correia *et al.*, 2010; Stabholz *et al.*, 2010). Embora os resultados de alguns estudos indiquem ausência de DP em pacientes com DM1, vários estudos indicam que há uma prevalência de inflamação gengival e DP em crianças com DM1 é de cerca de 10%, enquanto que representa menos que 2% em crianças e adolescentes normoglicêmicos, reforçando, assim, que o papel do DM1 no desenvolvimento da DP (Lalla *et al.*, 2007; Al-Khabbaz *et al.*, 2013).

Além disso, os indivíduos diabéticos apresentam uma maior prevalência, maior progressão e maior severidade da DP, em comparação com os indivíduos normoglicêmicos (Mealey & Oates, 2006; Taylor & Borgnakke, 2008; Correia *et al.*, 2010; Chang & Lim, 2012). Estudos que avaliaram a DP como agente complicador do DM e do efeito da terapia periodontal no controle glicêmico evidenciaram que indivíduos com DM têm maior prevalência, extensão, severidade ou progressão da DP, em que indivíduos diabéticos são duas vezes mais propensos a ter perda de inserção severa do que os indivíduos normoglicêmicos (Peruzzo *et al.*, 2007; Stabholz *et al.*, 2010). Pacientes diabéticos compensados, o quadro de DP pode ser persistente, provavelmente pelo fato de que, nestes pacientes, o DM induz alterações metabólicas que vão causar desde uma diminuição na resposta do hospedeiro até uma destruição tecidual em associação à

suscetibilidade individual de cada paciente (Wehba *et al.*, 2004; Alves *et al.*, 2007; Correia *et al.*, 2010).

Diversos fatores associados ao DM podem contribuir para a progressão e agressividade da DP, e incluem (i) tipo de DM, sendo geralmente mais extensos nos pacientes com DM1; (ii) idade, sendo geralmente de maior risco nos pacientes durante e após a puberdade; (iii) duração da doença, sendo geralmente piores nos pacientes com história de DM por um maior período de tempo; e (iv) o controle metabólico, sendo geralmente pior nos pacientes com controle metabólico inadequado do DM (Wehba *et al.*, 2004; Alves *et al.*, 2007; Lalla *et al.*, 2007).

Uma vez que a microbiota periodontal em pacientes com DM é similar à dos pacientes normoglicêmicos (Herring & Shah, 2006), outros fatores, como a hiperglicemia e as anormalidades da resposta imune do hospedeiro frente às infecções bucais, parecem ser os responsáveis pela maior prevalência da DP nos pacientes diabéticos (Gregghi *et al.*, 2002; Vernillo, 2003, Alves *et al.*, 2007).

A relação entre DP e DM em um estado hiperglicêmico parece ser resultado de problemas na função de células do sistema imunológico, alterações no metabolismo do colágeno, resposta inflamatória a patógenos bucais e um aumento da taxa de apoptose das células produtoras de matriz extracelular (Liu *et al.*, 2004), além da aceleração na formação dos chamados produtos terminais da glicosilação avançada, que por sua vez, afetam a secreção de citocinas e outros mediadores inflamatórios por meio da interação com receptores de superfície celular (Raunio *et al.*, 2009).

Pacientes diabéticos com DP apresentam níveis mais elevados de mediadores pró-inflamatórios, como a interleucina 1 (IL-1), o fator de necrose tumoral α (TNF- α), a proteína C-reativa e a prostaglandina E2 no fluido gengival, em comparação com os pacientes normoglicêmicos, aumentando assim, o processo de destruição periodontal (Struch *et al.*, 2008; Raunio *et al.*, 2009). Por conseguinte, parece que a resposta imunológica exagerada do hospedeiro pode ser uma razão para o aumento da prevalência e severidade da DP observada em pacientes diabéticos (Raunio *et al.*, 2009), e como a própria DP é um agente complicador para os pacientes diabéticos, esta relação pode ter consequências significativas em níveis funcionais e metabólicos para o paciente (Pérez *et al.*,

2004). Dados recentes indicam que a inflamação crônica de baixo grau está intimamente envolvida na patogênese do DM2 e em suas complicações (Mealey & Rose, 2008), assim como na patogênese da DP (Genco *et al.*, 2005; Mealey & Rose, 2008), em que estas citocinas pró-inflamatórias desempenham um papel central na resposta do hospedeiro ao biofilme periodontal (Sun *et al.*, 2011).

Em doenças complexas como DP e DM, fatores genéticos e ambientais parecem exercer um papel essencial na patogênese da doença (Michalowicz *et al.*, 2000), sendo comum o fato de serem poligênicas, ou seja, inúmeros genes parecem estar envolvidos na suscetibilidade e na gravidade da doença, cada qual garantindo uma pequena contribuição nestas doenças (Oliveira *et al.*, 2011). Diferentes estudos relatam que variações alélicas, como os polimorfismos em genes que codificam diferentes citocinas inflamatórias, podem afetar a suscetibilidade e a progressão da DP (Lópes *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2008; Franch-Chillida *et al.*, 2010; Grigoriadou *et al.*, 2010), assim como elevar o risco de desenvolvimento do DM (Franch-Chillida *et al.*, 2010; Javed *et al.*, 2011).

Polimorfismos genéticos são diferentes versões de uma determinada sequência de DNA ou formas variantes (alelos) de um locus específico do cromossomo e a coexistência natural de alelos múltiplos em um *locus* na população humana, é denominada polimorfismo genético (Thompson & Thompson, 2002), sendo, portanto, variações normais. (Oliveira *et al.*; 2011).

2.4. Citocinas inflamatórias na DP e no DM

As citocinas constituem pequenas proteínas solúveis secretadas por células de defesa, importantes na regulação imune (Hodge *et al.*, 2001; López *et al.*, 2005), e por sua participação em numerosas atividades biológicas, incluindo a proliferação, o desenvolvimento, a homeostase, a regeneração, o reparo e a inflamação (Okada, 1998). São pleiotrópicas, participando e desencadeando sistemas e cascatas inflamatórias em diferentes tipos celulares (Oliveira *et al.*, 2011).

Uma citocina inflamatória pode ser descrita como uma citocina que é induzida durante uma resposta inflamatória, e está associada com o aparecimento

e/ou a progressão de uma lesão ou de uma doença (Javed *et al.*, 2011), incluindo a DP e diferentes doenças sistêmicas (Hodge *et al.*, 2001; López *et al.*, 2005). O nível de secreção destas citocinas inflamatórias em resposta ao desafio bacteriano na DP pode explicar as diferenças de suscetibilidade e a gravidade desta DP em um indivíduo (López *et al.*, 2005).

As células residentes do tecido periodontal, quando estimuladas pelas bactérias periodontopatogênicas da DP, secretam citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α , que participarão na patogênese da doença (Guzeldemir *et al.*, 2008), IL-1 e TNF- α , geralmente são observados em níveis aumentados na existência de DP ativa, e portanto são consideradas as principais mediadoras da inflamação periodontal (Pérez *et al.*, 2004; Guzeldemir *et al.*, 2008).

Muitos genes responsáveis pela produção de citocinas apresentam polimorfismos que podem modificar a produção de citocinas pró-inflamatórias, levando a uma resposta exagerada ou deficiente do hospedeiro, resultando, em ambos os casos, em destruição periodontal em uma idade precoce (López *et al.*, 2005; De Freitas *et al.*, 2007; Raunio *et al.*, 2009; Karasneh *et al.*, 2011). As mutações pontuais e substituições de um único nucleotídeo em regiões reguladoras dos genes de citocinas podem afetar na transcrição dessas citocinas e influenciar no seu nível de produção. Consequentemente, como os níveis de expressão podem afetar a inflamação e a regulação imunológica, a diferença no alelo da citocina entre populações pode contribuir para diferenças na incidência da DP (Visentainer *et al.*, 2008), e assim, explicar as variações individuais das respostas imunes a uma agressão bacteriana (De Freitas *et al.*, 2007). Além disso, como se sabe que a frequência de alelos polimórficos de citocinas é influenciada de forma significativa pela herança genética familiar, e o modelo de gêmeo monozigótico representa o método mais eficaz para estudar os aspectos genéticos da maioria das doenças (Visentainer *et al.*, 2008; Laine *et al.*, 2010), estudos familiares com gêmeos afirmam que a base para a agregação familiar da DP parece não ser somente dependente da influência bacteriana, ambiental e comportamental na natureza, mas parece também ser baseada na constituição genética destes indivíduos (Laine *et al.*, 2010).

DM é precedido por reação inflamatória e a hiperglicemia é considerada um estado pró-inflamatório que resulta em aumento dos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias (López *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2011), o que sugere que a hiperglicemia leva à ativação imune nos pacientes com DM (Raunio *et al.*, 2009).

As bactérias, as toxinas e as citocinas pró-inflamatórias presentes no tecido periodontal durante a DP ativa, podem cair na circulação sanguínea, influenciando sistemicamente tecidos e órgãos à distância, como o pâncreas no DM (Oliveira *et al.*, 2011). Paralelamente as citocinas pró-inflamatórias sistemicamente envolvidas no DM podem infiltrar-se localmente nos tecidos periodontais e agravar a condição periodontal, resultando, assim, em uma relação bidirecional (Taylor, 2001; Xiao *et al.*, 2009).

2.4.1. Interleucina 1 (IL-1)

IL-1 é expressa por vários tipos celulares, incluindo os monócitos, os macrófagos e as células dendríticas dos tecidos, e também é produzido por linfócitos B, células NK e células epiteliais (Dinarello, 2009). Sua produção é induzida por diversos estímulos inflamatórios como os produtos bacterianos e outras citocinas inflamatórias, como a TNF- α (Banerjee & Saxena, 2012).

IL-1 é ativadora primária de citocinas quimiotáticas precoces e estimula a expressão de moléculas de adesão que facilitam a migração de leucócitos para os tecidos (Moreira *et al.*, 2005; Guzeldemir *et al.*, 2008). Está diretamente envolvida na degradação da matriz extracelular óssea e dos tecidos periodontais que ocorre em resposta a uma inflamação exacerbada na DP ativa (Loos *et al.*, 2005; Moreira *et al.*, 2005; Moreira *et al.*, 2007; Guzeldemir *et al.*, 2008; Struch *et al.*, 2008). Além de ser conhecida como uma das maiores estimuladoras da reabsorção óssea osteoclástica (Moreira *et al.*, 2005; Guzeldemir *et al.*, 2008), estimula também os fibroblastos e outras células nucleadas que produzem metaloproteinases, participando assim, do catabolismo do tecido conjuntivo, da ativação do plasminogênio e de imunócitos e da síntese de prostaglandinas durante a DP (Loos *et al.*, 2005; De Freitas *et al.*, 2007). Além disso, IL-1 facilita a degranulação de

neutrófilos, o que também colabora com este processo ao inibir a síntese de colágeno (Greenstein & Hart, 2002; Grigoriadou *et al.*, 2010).

São reconhecidas duas citocinas pró-inflamatórias, IL-1 α e IL-1 β , e uma citocina antagonista, denominada IL-1RA, e que é capaz de bloquear a ação de IL-1 α e IL-1 β (Moreira *et al.*, 2005; Dashash *et al.*, 2006; Laine *et al.*, 2010; Karasneh *et al.*, 2011).

IL-1 α e IL-1 β desencadeiam a produção de proteases que degradam a matriz extracelular e promovem a reabsorção do osso alveolar, resultando em destruição do tecido. IL-1RA, por sua vez, regula a atividade de IL-1 α e IL-1 β se ligando competitivamente ao receptor, suprimindo, assim, a indução destas citocinas (Trevilatto *et al.*, 2011). Além disso, existe um equilíbrio entre IL-1 e IL-1RA na fisiologia normal de vários órgãos e tecidos, na qual a reduzida produção local de IL-1RA e o excesso de produção de IL-1 podem estar associados a diferentes doenças crônicas, como a própria DP. Já foi demonstrado aumento do nível de IL-1RA em sulcos gengivais saudáveis de pacientes pediátricos quando comparados aos níveis nos sulcos gengivais com DP, da mesma forma que foi demonstrado aumento do nível de IL-1 β em sulcos gengivais com DP de pacientes pediátricos quando comparados aos níveis nos sulcos gengivais saudáveis (Dashash *et al.*, 2007).

O aparecimento do DM é precedido por uma reação inflamatória subclínica (Cruz *et al.*, 2013) e a hiperglicemia é considerada um estado pró-inflamatório que resulta em aumento dos níveis circulantes de citocinas (Raunio *et al.*, 2009). Pelo fato de o DM1 ser considerado uma doença de imunidade celular (Salvi *et al.*, 1998; Aspriello *et al.*, 2011), existem evidências de que os componentes do sistema imune inato desempenham um papel significativo no desenvolvimento de DM1, controlado principalmente pelos receptores do tipo *Toll*, que são moléculas que reconhecem padrões em células imunitárias que por sua vez, reconhecem agentes patogênicos, e, conseqüentemente, conduzem à produção de citocinas, como IL-1 β que se apresenta em níveis aumentados em pacientes com DM1 recém-diagnosticados e, provavelmente, represente um sinal inflamatório no início do desenvolvimento da DM1 (Grishmam *et al.*, 2012). Níveis elevados de IL-1 β foram identificados no fluido crevicular gengival e nos tecidos gengivais de

pacientes com DP, especialmente nos pacientes DM2 em estado de hiperglicemia (Díaz-Romero & Ovadía, 2007; Struch *et al.*, 2008).

Dessa forma, as citocinas IL-1 representam potentes mediadores da resposta inflamatória e desempenham um importante papel na remodelação tecidual decorrente da inflamação crônica, como observado na DP e no DM (Offenbacher, 1996; López *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2011), podendo modificar as respostas individuais aos diferentes estímulos bacterianos (Kornman & Di Giovine, 1998), os genes que codificam estas citocinas são importantes candidatos a influenciarem a patogênese da DP e do DM (Franch-Chillida *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011).

2.4.2 Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α)

TNF- α é uma citocina pró-inflamatória produzida por macrófagos ativados, linfócitos ou monócitos e que exibe amplas funções imunomediadoras semelhantes a IL-1 (Binghan, 2002; Laine *et al.*, 2009; Schulz *et al.*, 2012). Os lipopolissacarídeos que compõem a membrana das bactérias gram negativas, comuns na DP, podem iniciar a produção de TNF- α (van Dyke *et al.*, 1993). Após ser produzido e liberado, TNF- α irá ligar-se a receptores específicos para que possa produzir o seu efeito biológico, incluindo proliferação celular, diferenciação, apoptose, metabolismo lipídico e coagulação.

TNF- α estimula a produção de derivados de mediadores inflamatórios, incluindo metaloproteinases, citocinas, quimiocinas e os produtos das ciclooxigenases, amplificando o grau de inflamação (Bradley, 2008; Laine *et al.*, 2009) ao induzir a secreção de collagenase, prostaglandina E2 e IL-6 em fibroblastos e em células ósseas para estimular também a reabsorção óssea pelos osteoclastos de forma bem menos potente que a IL-1 (De Freitas *et al.*, 2007; Guzeldemir *et al.*, 2008). Além disso, TNF- α também influencia na ativação de células endoteliais e na interação entre leucócitos e células endoteliais, resultando em aumento do recrutamento e adesão dos leucócitos (Berk *et al.*, 2001), e dos monócitos de adesão, mediando a remodelação óssea (Schett, 2011) e processos oxidativos (Ungvari *et al.*, 2003). Dessa forma, o principal efeito fisiológico do TNF-

α é promover a resposta imune e a resposta inflamatória por meio do recrutamento de células inflamatórias para o local da infecção (Vitalle *et al.*, 2007).

A desregulação de TNF- α pode estar associada com a patogenese da DP (Dhadse *et al.*, 2010; Deo & Bhongade 2010; Andrukhov *et al.*, 2011; Preshaw & Taylor, 2011) e do DM (Spranger *et al.*, 2003;Goldberg, 2009). É uma citocina que tem sido identificada no fluido gengival e no soro de pacientes com gengivite e com DP (Pérez *et al.*, 2004; De Freitas *et al.*, 2007; Nikolopoulos *et al.*, 2008), e também pode ser detectado em níveis elevados no soro de pacientes com DM1, podendo levar a alterações no metabolismo lipídico e a hiperlipidemia (Pérez *et al.*, 2004).

2.4.3 Interleucina 6 (IL-6)

IL-6 é uma citocina pleiotrópica produzida por muitos tipos celulares, tais como monócitos, fibroblastos, células endoteliais e linfócitos T e B (Moreira *et al.*, 2007). Seus níveis de secreção são determinados pelo tipo de célula e a natureza do estímulo (Laine *et al.*, 2010), ou seja, não é expressa constitutivamente, mas é altamente induzível e é produzida em resposta a uma série de estímulos inflamatórios, como IL-1 e TNF- α , os produtos bacterianos e uma infecção viral (Terry *et al.*, 2000). IL-6 é um dos mais importantes mediadores da resposta inflamatória, podendo desempenhar papel pró ou anti-inflamatório (Kishimoto, 2006), e apresenta diversas funções, incluindo a diferenciação e/ou ativação de macrófagos e células T, crescimento e diferenciação de células B, estimulação da hematopoiese e da diferenciação neural (Raunio *et al.*, 2009). Além disso, IL-6 é também um potente estimulador da diferenciação dos osteoclastos e, conseqüentemente, da reabsorção óssea, ao mesmo tempo que inibe a formação óssea por inibir a atuação dos osteoblastos (Terry *et al.*, 2000; Kishimoto , 2006).

Várias doenças inflamatórias, incluindo DP e DM, têm sido associadas a níveis elevados de IL-6 (Herbert *et al.*, 2005; Shao *et al.*, 2009). É uma citocina que se encontra elevada no fluido crevicular de pacientes com DP e é responsável pelo estímulo de osteoclastos e, conseqüente aumento da reabsorção óssea (Correia *et al.*, 2010). A intensidade da expressão de IL-6 é positivamente correlacionada com a perda de inserção periodontal e está associada com a destruição tecidual

contínua na DP, sendo importante destacar que estes níveis de IL-6 tendem a diminuir após a realização de uma terapia periodontal bem sucedida (Shao *et al.*, 2009). Adicionalmente, estudos clínicos indicam que IL-6 desempenha papel crucial na resposta inflamatória a bactérias gram-negativas, afetando a composição da microbiota local e aumentando a suscetibilidade à colonização com bactérias periodontopatogênicas (Shao *et al.*, 2009).

IL-6 também regula a expressão de citocinas, atenuando a síntese de IL-1, IL-10 e TNF- α (Wiedermann, 2004), estando presente em células endoteliais, fibroblastos e macrófagos em pacientes com DP, mas ausente nestas células em indivíduos saudáveis (Takahashi *et al.*, 1994) e apresenta uma importante ação na resposta inflamatória envolvida na fisiopatologia de doenças metabólicas, como DM2 (Hamid *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2011) afetando a resistência à insulina (Testa *et al.*, 2006).

Adicionalmente, a IL-6 tem mostrado maior correlação entre a resistência à insulina e o DM2, nos quais os níveis plasmáticos desta citocina são de duas a três vezes maiores em pacientes obesos e com DM2 comparado aos indivíduos saudáveis (Senn *et al.*, 2002). É importante destacar que existem evidências de que os níveis circulantes de IL6 estejam elevados anos antes do início do DM2, porém se esta interleucina é responsável ou não pela precipitação da doença DM2, permanece como um assunto controverso (Kristiansen & Mandrup-Poulsen, 2005).

2.4.4 Paraoxonase (PON)

A enzima PON é uma hidrolase de ligações triésteres de ácido fosfórico com afinidade específica a compostos organofosforados e considerada a principal representante das esterases do tipo A, que são enzimas capazes de hidrolisar compostos organofosforados, sem serem inibidas por estes (Costa *et al.*, 2003). A enzima PON está presente no soro plasmático, podendo ser encontrada também em eritrócitos, no cérebro e no fígado, que além de concentrar parte desta atividade enzimática, representa sua fonte primária (Davies *et al.*, 1996; Billecke *et al.*, 2000; Costa *et al.*, 2003; Harel *et al.*, 2004; Draganov *et al.*, 2005).

PON pertence a uma família multigênica e é composta por três diferentes membros, PON-1, PON2, e PON3. PON-1 é uma esterase cálcio-depedente (Marsillach *et al.*, 2010) sintetizada e secretada pelo fígado na corrente sanguínea, onde se encontra associada com a apolipoproteína A1, indicando uma interação específica com a lipoproteína de alta densidade (HDL) (Davies *et al.*, 1996; Billecke *et al.*, 2000; Harel *et al.*, 2004; Marshillach *et al.*, 2008). PON-1 tem a função de degradar os fosfolipídios nas lipoproteínas e desempenhar um importante papel no sistema de defesa antioxidante do organismo (La Du, 1992, Mackness *et al.*, 1993; Aviram *et al.*, 1998; Marsillach *et al.*, 2010). Em humanos, PON-1 sofre influência de muitos fatores que podem atuar de modo a inibir ou estimular sua atividade e expressão. Em recém-nascidos, a atividade de PON-1 é relativamente baixa e aumenta até os dois primeiros anos de vida (Holland *et al.*, 2006, Marchegiani *et al.*, 2008). Posteriormente, seus níveis voltam a cair com o envelhecimento pelo desenvolvimento de condições relacionadas ao estresse oxidativo (Seres *et al.*, 2004, Lescai *et al.*, 2009).

Embora o papel fisiológico de PON ainda não esteja completamente elucidado, é descrita como a enzima polimórfica responsável pelo papel antioxidante e anti-inflamatório do HDL (Steinberg *et al.*, 1989; Précout *et al.*, 2011), e parece ser um importante fator no metabolismo lipídico com propriedades antiaterogênicas, anti-inflamatórias e antioxidantes, inibindo, dessa forma, o desenvolvimento da aterosclerose (Mackness *et al.*, 1991; Mackness *et al.*, 1993). Estudos *in vitro* demonstraram que PON pode reduzir os produtos de peroxidação lipídica durante a oxidação de LDL ao mesmo tempo em que confere proteção ao HDL no processo de aterosclerose, considerado também uma complicação no DM (Gupta *et al.*, 2011; Mackness & Mackness, 2010; Noack *et al.*, 2013). Níveis e atividade adequados de PON-1 podem reduzir o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica e, assim, proteger contra o risco de doença cardiovascular (James, 2006; Mackness & Mackness, 2010; Altuner *et al.*, 2011).

A redução na atividade de PON-1 já foi relatada em pacientes com DM, o que, conseqüentemente, tem sido acompanhado de complicações vasculares (Noack *et al.*, 2013). PON-1 atua na proteção contra a aterosclerose, e evidencia que a baixa atividade PON-1 pode estar contribuindo para o aumento da incidência de doenças cardiovasculares e outras complicações nos pacientes diabéticos e que

a atividade reduzida de PON-1 parece ser causada por glicação e pelo aumento do nível de glicemia (Ferretti *et al.*, 2001; Noack *et al.*, 2013).

Uma das principais características da DP e do DM é o estado pró-inflamatório, que resulta em um aumento de mediadores inflamatórios e de estresse oxidativo (Noack *et al.*, 2013), existindo uma correlação positiva entre a peroxidação lipídica e os parâmetros periodontais em indivíduos com DM (Bullon *et al.*, 2009). Assim, a deficiência de PON-1 em pacientes com DP e DM pode ser reforçada pelo acúmulo de LDL oxidada, que é conhecido por ser um importante inativador da enzima PON-1 (Noack *et al.*, 2013).

Adicionalmente, a atividade de subprodutos da PON-1, como as lactonases, pode ligar as PON à resposta imune inata, e assim, a diminuição da atividade de PON-1 pode também ter um impacto na formação do biofilme dental e da DP ao reduzir a hidrólise das homosserinas-lactonas, que são descritas como as maiores responsáveis por inibir o desenvolvimento do comportamento coletivo na formação do biofilme de bactérias gram-negativas, como a *Porphyromonas gingivalis* (Noack *et al.*, 2013). Embora o papel das PON na DP não tenha sido muito explorado, existem hipóteses de que a PON-1 pode estar associada ao desenvolvimento da DP em pacientes com aterosclerose (Hettne *et al.*, 2007).

Diante do exposto, a literatura sugere uma associação da PON-1 com a DP e o DM pela participação de PON-1 no estresse oxidativo e na inflamação, e pela sua função anti-infecciosa atribuível à capacidade de hidrólise de moléculas sinalizadoras bacterianas (Khersonsky *et al.*, 2005), em que a diminuição dos níveis ou atividade de PON-1 resultarão em alteração nas condições caracterizadas por um aumento da tensão oxidativa, que ocorrem tanto na DP quanto no DM, representando, assim, uma via adicional ligando a PON-1, o DM e a DP, bem como o risco do paciente desenvolver uma doença cardiovascular (Noack *et al.*, 2013).

Um resumo do papel das interleucinas citadas e de PON-1 no desenvolvimento da DP e/ou DM encontra-se descrito nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Função de IL-1, TNF- α , IL-6 e PON-1 no desenvolvimento da DP.

<i>IL-1</i>
Ativa os fibroblastos e outras células nucleadas produtoras de MMP para participarem na degradação da matriz extracelular. Ativa os osteoclastos para participarem da reabsorção óssea. Regula a expressão de outras interleucinas pró-inflamatórias, como o TNF- α e a IL-6.
<i>TNF-α</i>
Ativa os osteoclastos para participarem da reabsorção óssea (menos potente que IL-1). Promove a resposta imune e inflamatória recrutando monócitos e neutrófilos.
<i>IL-6</i>
Altera a microbiota local, favorecendo a colonização por bactérias periodontopatogênicas. Ativa de forma potente de osteoclastos para participarem da reabsorção óssea. Inibe a neoformação óssea. Regula a expressão de outras interleucinas pró-inflamatórias, como a IL-1 e o TNF- α .
<i>PON</i>
Atua no metabolismo lipídico, e em níveis inadequados permite o aumento do estresse oxidativo que pode influenciar indiretamente o desenvolvimento da DP. Função anti-infecciosa pela hidrólise de moléculas sinalizadoras bacterianas, e em níveis inadequados permite o acúmulo de bactérias que pode influenciar diretamente a DP.

Tabela 2. Papel de IL-1, TNF- α , IL-6 e PON-1 no desenvolvimento do DM.

<i>IL-1</i>
Inibe a função das células β das Ilhotas de Langerhans, que são responsáveis pela secreção de insulina, promovendo a sua apoptose.
<i>TNF-α</i>
Em níveis elevados, contribui para a resistência à insulina e piora do controle metabólico.
<i>IL-6</i>
Papel no início e aceleração da inflamação crônica, podendo contribuir para o desenvolvimento de complicações microvasculares em pacientes com DM1. Em níveis elevados, diminui a tolerância à glicose e contribui para resistência a insulina.
<i>PON</i>
Atua no metabolismo lipídico, e em níveis inadequados permite o aumento do estresse oxidativo que pode influenciar indiretamente o desenvolvimento do DM. O aumento do nível de glicemia parece reduzir sua atividade.

2.5 - Polimorfismos genéticos na DP e no DM

Estima-se que existam cerca de 14 milhões de polimorfismos distribuídos pelo genoma com a capacidade de promover variações subjacentes nos traços de normalidade e de doença, incluindo DP e DM (Sachidanandam *et al.*, 2001; Herbert *et al.*, 2005; Guzeldemir *et al.*, 2008).

O tipo de polimorfismo gênico mais comumente encontrado na população é o polimorfismo de base única (*single nucleotide polymorphism*, SNP) (Sachidanandam *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2011). Com isso, a investigação da funcionalidade de um polimorfismo se torna importante pelo fato de que tais variações alélicas podem estar situadas em regiões promotoras do gene e podem influenciar a transcrição deste gene em específico, ou seja, a presença deste SNP pode influenciar na produção de maior ou menor quantidade de uma determinada proteína (Oliveira *et al.*, 2011). Além disso, um SNP pode também estar localizado em éxons, de forma que, dependendo do nucleotídeo variante e de sua posição, um determinado aminoácido pode ser alterado para outro, levando a uma mudança na sequência original da proteína, o que pode comprometer sua função, e, em algumas situações, causar uma alteração na proteína ou na sua expressão, podendo assim ser determinante na evolução de uma determinada doença (Guzeldemir *et al.*, 2008). É importante também destacar que as variações resultantes dos polimorfismos genéticos podem, ao contrário, funcionar de forma protetora, impedindo ou dificultando o desenvolvimento de uma determinada doença (Laine *et al.*, 2010). Contudo, estas variantes genéticas, embora presentes em uma frequência relativamente alta na população (1%), normalmente não são suficientes para causar uma doença, mas é possível que combinações de polimorfismos em alguns genes, possam alterar o risco para o desenvolvimento de determinadas doenças; dessa forma, é fundamental que se compreenda que os polimorfismos genéticos representam mecanismos pelos quais os indivíduos apresentam variações consideradas biologicamente normais (Guzmán *et al.*, 2003).

Muitos genes responsáveis pela produção de citocinas apresentam polimorfismos que podem modificar a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, TNF- α (De Freitas *et al.*, 2007) e IL-6 (Raunio *et al.*, 2009), levando a uma resposta exagerada ou deficiente do hospedeiro, resultando, em ambos os

casos, em destruição periodontal em uma idade precoce (De Freitas *et al.*, 2007; López *et al.*, 2005). As mutações pontuais e substituições de um único nucleotídeo em regiões reguladoras dos genes de citocinas podem comprometer a transcrição dessas citocinas e influenciar seu nível de produção. Consequentemente, como os níveis de expressão podem afetar a inflamação e a regulação imunológica, a diferença no alelo da citocina entre populações pode contribuir para diferenças na incidência da DP (Visentainer *et al.*, 2008), e assim, explicar as variações individuais das respostas imunes a uma agressão bacteriana (De Freitas *et al.*, 2007). Alguns estudos recentes também têm investigado o papel de variantes nos genes que codificam marcadores relacionados à resposta imune inflamatória, particularmente das citocinas inflamatórias, com um maior risco de desenvolvimento do DM (Huth *et al.*, 2006) e de suas complicações (Suchanek *et al.*, 2005). Assim, sabe-se hoje que fatores genéticos comuns podem estar envolvidos na suscetibilidade para DP e DM (Banerjee & Saxena, 2012).

2.5.1. Polimorfismos no gene IL-1 (rs1800587 e rs1143634)

Os polimorfismos rs1800587 e rs1143634 estão localizados no cromossomo 2: 113542960 e 113590390, respectivamente; e, as proteínas codificadas por esse gene são membros da família das citocinas IL-1 α e IL-1 β (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>).

Alguns estudos têm indicado que variações alélicas no agrupamento (*cluster*) do gene IL-1, que está localizado no braço longo do cromossomo 2 e que consiste no conjunto de genes IL-1 α , IL-1 β e IL-1RN, responsáveis respectivamente pela síntese de IL-1 α , IL-1 β e IL-1RA (Hodge *et al.*, 2001), podem influenciar na suscetibilidade e na progressão da DP (Moreira *et al.*, 2005; López *et al.*, 2005; De Freitas *et al.*, 2007; Struch *et al.*, 2008; Shete *et al.*, 2010). Contudo, o papel do polimorfismo no gene IL-1(rs1800587 e rs1143634) no risco para a DP é controverso pelo fato de que nem todos os estudos indicam que o polimorfismo em IL-1 α e IL-1 β estão associados com a incidência e/ou gravidade da DP, o que pode ser explicado pelas variações existentes na frequência de polimorfismos genéticos de acordo com a etnia da população de estudo ou dos diferentes critérios de diagnóstico utilizados (López *et al.*, 2005).

Um artigo de revisão publicado por Laine *et al.* (2010) evidencia que os genótipos de IL-1 parecem representar o grupo de polimorfismos genéticos mais estudados em DP, em especial os os polimorfismos no *locus* 889 de IL-1 α , no *locus* 511 de IL-1 β e no *locus* 3954 de IL-1 β (também mencionado na literatura como +3953). O alelo-R, designado como uma variante rara de IL-1 α (-889) e de IL-1 β (+3954) tem sido identificado no aumento da transcrição do gene ou dos níveis de produção da proteína, permitindo que se especule que indivíduos portadores deste alelo R, já identificados em IL-1 α e em IL-1 β de pacientes com DP, apresenta uma resposta pró-inflamatória mais pronunciada. A frequência deste alelo R em IL-1 α (-889)(+4845) e em IL-1 β (+3954) em associação com a DP parece ser mais proeminente em pacientes brancos, que em pacientes asiáticos com DP, o que sugere que os polimorfismos genéticos observados em uma determinada população podem não ser reproduzidos em outras populações por uma possível influência étnica. Tal associação dos polimorfismos em IL-1 α (C-889T) e em IL-1 β (C+3953/4T) com o desenvolvimento da DP também foi identificado no estudo de meta-análise realizado por Nikolopoulos *et al.* (2008), que, contudo, não identificou esta correlação com a influência étnica.

O papel do polimorfismo dos genes de IL-1 α e/ou IL-1 β foi avaliado em estudos de pacientes com diferentes formas clínicas de DP em populações brasileiras normoglicêmicas (Moreira *et al.*, 2005; De Freitas *et al.*, 2007; Trevilatto *et al.*, 2011), dos quais somente o polimorfismo de IL-1 β parece apresentar associação com o desenvolvimento da DP (Moreira *et al.*, 2005); associação que também foi observada em estudos envolvendo populações indiana (Massamatti *et al.*, 2012) e turca (Guzeldemir *et al.*, 2008), mas que não foi observada em estudos envolvendo populações africana, norte-americana (Walker *et al.*, 2000) e européia (Hodge *et al.*, 2001). É possível que a prevalência desses polimorfismos varie entre as diferentes etnias, como observado em estudos que avaliaram os polimorfismos de IL-1 α e de IL-1 β em indivíduos chineses e indivíduos de origem hispânica sem DP (Armitage *et al.*, 2000; Caffesse *et al.*, 2002).

López *et al.* (2005) realizaram estudo com indivíduos chilenos adultos portadores e não portadores de DP para avaliação de polimorfismo no *locus* -889 do gene IL-1 α e no *locus* +3954 do gene IL-1 β , associando estes resultados com o hábito do tabagismo e a gravidade da doença; e, observaram que houve maior

frequência de heterozigotos de IL-1 α nos pacientes com DP, mas sem diferença estatisticamente significativa, enquanto houve maior frequência de heterozigotos de IL-1 β nos pacientes com DP de forma estatisticamente significativa independente da presença ou ausência do tabagismo e do grau de severidade da doença, sugerindo assim, que este polimorfismo pode estar associado com o desenvolvimento da DP de forma independente. De forma contrária, os homozigotos para o alelo 1 da IL-1 β foram um fator protetor para o desenvolvimento da DP, no qual a prevalência do genótipo incluindo pelo menos um alelo 2 em cada locus foi estatisticamente mais observada nos pacientes com DP independente da presença ou ausência do tabagismo e do grau de severidade da doença, sendo assim, também um polimorfismo possivelmente associado com a DP de forma independente.

Guzeldemir *et al.* (2008), realizaram estudo com um grupo de pacientes adultos turcos portadores ou não de DP com o objetivo de investigar a presença de polimorfismos do gene IL-1 no *locus* +4845 de IL-1 α e no *locus* +3954 de IL-1 β na posição +3954, identificar maior prevalência de alelos heterozigotos em IL-1 α e de alelos homozigotos em IL-1 β no grupo de pacientes com DP, sendo importante destacar que o genótipo homozigoto em IL-1 β não foi observado em nenhum paciente com condição periodontal saudável. De forma similar aos resultados dos estudos supracitados, Trevilatto *et al.* (2011), realizou estudo com pacientes brasileiros adultos portadores e não portadores de DP para avaliação de polimorfismo gênico de IL-1 α (C-889T), IL-1 β (C-511T) e IL-1 β (C+3954T), e a sua relação com o grau de severidade da DP. Observaram que somente o alelo T para IL-1 β (C-511T) esteve associado ao desenvolvimento da DP, contudo, apenas no grupo de pacientes negros e mulatos, o que pode sugerir uma suscetibilidade genética a DP associada a etnia.

Como os pacientes com DM têm uma maior tendência ao desenvolvimento da DP, alguns estudos também têm sido direcionados a avaliar o polimorfismo de IL-1 em pacientes com DP portadores ou não de DM (Guzmán *et al.*, 2003; Struch *et al.*, 2008), e os resultados sugerem que os indivíduos com DM exibem um maior risco para o desenvolvimento da DP na presença do genótipo variante T em IL-1 α ou em IL-1 β (Struch *et al.*, 2008) ou apenas na presença do alelo 1 em IL-1 β (-511)

ou em IL-1 β (+3954) (Guzmán *et al.*, 2003). É importante destacar ainda que alguns estudos evidenciaram também que o polimorfismo em IL-1 β pode estar diretamente associado com o quadro de DM (Struch *et al.*, 2008).

2.5.2. Polimorfismos no gene TNF- α (rs1800629)

O polimorfismo rs1800629 está localizado no cromossomo 6: 31543031; e a proteína codificada por este gene é uma citocina pró-inflamatória multifuncional que pertence a superfamília do TNF- α (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>).

Os estudos de polimorfismos genéticos no gene que codifica TNF- α envolvem principalmente a região promotora nos *loci* -1031, -863, -857, -376, -308, -238, e a região codificadora no primeiro íntron no *locus* +489 (Pérez *et al.*, 2004; Laine *et al.*, 2010; Harms *et al.*, 2013), sendo importante destacar que a presença do gene TNF- α polimórfico no *locus* -308 é descrita como fator que eleva a atividade transcricional do gene, acarretando em aumento dos níveis de TNF- α (Guzeldemir *et al.*, 2008).

Nos últimos anos, diferentes estudos têm avaliado a associação entre os polimorfismos do gene TNF- α e a presença e/ou severidade de DP e DM (Pérez *et al.*, 2004; De Freitas *et al.*, 2007; Vitale *et al.*, 2007; Guzeldemir *et al.*, 2008; Menezes & Colombo, 2008; Trombone *et al.*, 2009; Laine *et al.*, 2010). Contudo, a maioria deles não têm identificado nenhuma associação positiva significativa entre os diferentes polimorfismos do gene TNF- α estudados e o desenvolvimento de DP e/ou DM (Pérez *et al.*, 2004; De Freitas *et al.*, 2007; Guzeldemir *et al.*, 2008; Menezes & Colombo, 2008), exceto pela associação positiva dos polimorfismos nos *loci* -1031, -857 e -863 do gene TNF- α com a DP em uma população japonesa, sugerindo uma possível relação étnica (Laine *et al.*, 2010).

Os estudos com populações brasileiras conduzidos por De Freitas *et al.* (2007) e Menezes & Colombo (2008), que avaliaram a presença de polimorfismos no *locus* -308 do gene TNF α e a sua associação com DP, identificaram proporções similares dos alelos polimórficos entre os grupos com ou sem DP, embora tenha sido possível identificar que o alelo G foi um pouco mais frequente nos pacientes com DP e o alelo A foi um pouco mais frequente nos pacientes sem DP (Menezes

& Colombo, 2008). Outro estudo similar com uma população brasileira conduzido por Trombone *et al.* (2009) identificou que a presença do alelo A no gene TNF- α (-308) pode ser considerado como fator de risco independente para o aumento dos níveis de TNF- α nos tecidos periodontais de pacientes com DP, podendo assim, ser considerado um fator determinante para a DP; particularmente se levarmos em consideração que o alelo G costuma ser o mais frequente na população brasileira (Visentainer *et al.*, 2008)

Guzeldemir *et al.* (2008) realizaram estudo com um grupo de pacientes adultos turcos que avaliou a presença de polimorfismos no *locus* -308 do gene TNF- α com o desenvolvimento da DP, e foi capaz de identificar uma maior prevalência do alelo homozigoto 1 de TNF- α no grupo sem DP quando comparado ao grupo com DP, não sendo possível, contudo, identificar uma diferença estatisticamente significativa entre estes dois grupos.

Um estudo conduzido por Pérez *et al.* (2004) com uma população chilena avaliou a influência do polimorfismo TNF α (-308) na suscetibilidade de um indivíduo desenvolver DP considerando um grupo com DP e sem DM, um grupo com DP e com DM, um grupo sem DP e com DM e um grupo sem DP e sem DM, e não identificou diferença estatisticamente significativa na distribuição dos alelos no gene TNF- α entre nenhum dos grupos de pacientes avaliados, embora a frequência dos alelos G/A ou A/A no gene TNF- α tenha sido mais comumente observada no grupo de pacientes com DP e com DM, sugerindo que a presença deste polimorfismo possa aumentar a suscetibilidade ao desenvolvimento destas doenças.

2.5.3. Polimorfismos no gene IL-6 (rs1800796)

O polimorfismo rs1800796 está localizado no cromossomo.7: 22766246; e a proteína codificada por este gene é uma citocina que funciona na inflamação e na maturação de células B e que pertence a família de IL-6 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>).

Os polimorfismos nos genes que secretam IL-6, especialmente aqueles localizados no *locus* 174, afetam os níveis séricos de circulação de IL-6. Os indivíduos portadores do alelo-R no *locus* 174 apresentam menor transcrição de IL-

6, quando comparados com indivíduos não portadores deste polimorfismo e, assim, exibem menores níveis plasmáticos de IL-6 e da atividade do gene, podendo dificultar a defesa do indivíduo contra patógenos periodontais (Fishman *et al.*, 1998; Laine *et al.*, 2010).

Estudos de meta-análise realizados por Huth *et al.* (2006) e por Shao *et al.* (2010) identificaram que o polimorfismo -572 (C/G) em IL-6 está associado com a patogênese da DP (Shao *et al.*, 2010) e que o polimorfismo -174 (G/C) em IL-6 está associado com um maior risco do paciente desenvolver DM2 (Huth *et al.*, 2006). É importante destacar ainda que foi identificado que a presença do alelo G no *locus* 174 de IL-6 pode modificar o risco para o desenvolvimento da DP em sua variante periodontite agressiva, mas não em sua variante periodontite crônica (Shao *et al.*, 2010). Adicionalmente, revisão realizada por Laine *et al.* (2010) destacou que o polimorfismo no *locus* 174 pode ser um fator de risco ao desenvolvimento da DP em pacientes brasileiros e que o polimorfismo no *locus* 572 pode ser um fator protetor ao desenvolvimento da DP.

Estudos avaliando a presença e associação de polimorfismos no *locus* 174 do gene IL-6 com o desenvolvimento e/ou severidade da DP em populações brasileiras sem interferência de fatores modificadores locais ou sistêmicos identificaram que este polimorfismo está associado com o desenvolvimento e a severidade da DP (Trevilatto *et al.*, 2003; Moreira *et al.*, 2007), em que a presença do alelo foi considerada um fator de risco para o desenvolvimento com a DP (Trevilatto *et al.*, 2003) e a ausência do alelo G foi considerada um fator de proteção e está associada a uma menor severidade da DP (Moreira *et al.*, 2007). Alguns estudos tiveram por objetivo avaliar a associação dos polimorfismos em IL-6 com o desenvolvimento da DP em pacientes com DM1 e DM2 (Raunio *et al.*, 2009; Xiao *et al.*, 2009), nos quais identificou-se que a presença de polimorfismo no *locus* 174 do gene IL-6 está associada a uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento da DP em um paciente com DM1 em um grupo de pacientes finlandeses (Raunio *et al.*, 2009), e que a presença de polimorfismo no *locus* 572 do gene IL-6 pode estar associada a uma menor suscetibilidade ao desenvolvimento da DP em um paciente com DM2 em um grupo de pacientes chineses (Xiao *et al.*, 2009).

Além dos estudos realizados para identificação da associação com a DP, Koh *et al.* (2009) investigaram a associação dos polimorfismos nos *loci* -174 (G/C),

–572(C/G), –597(G/A) e –1363(G/T) no gene IL-6 com o desenvolvimento de DM2 em uma população coreana, e demonstraram que somente o genótipo GG do SNP –572 (C/G) esteve associado a níveis séricos aumentados de IL-6 e ao risco aumentado de desenvolver o DM2.

2.5.4. Polimorfismos no gene PON-1 (rs662 e rs854560).

Os polimorfismos rs662 e rs854560 estão localizados no cromossomo 7q21.3. PON-1 hidrolisa os metabólitos tóxicos de insecticidas organofosforados e bem como agentes nervosos, além de hidrolisar os ésteres aromáticos, principalmente ácido acético (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>).

Cerca de 200 polimorfismos já foram descritos no gene PON-1, sendo alguns localizados em regiões codificadoras e outros em regiões intrônicas e reguladoras (La Du *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2011), além de alguns polimorfismos ainda não caracterizados e situados na região promotora do gene (Cataño *et al.*, 2006; Furlong *et al.*, 2006).

A atividade de PON-1 é influenciada por polimorfismos genéticos (Mohamed Ali *et al.*, 2008) e portanto, os polimorfismos da região codificadora do gene PON-1 têm sido investigados quanto aos seus efeitos sobre a eficiência de hidrólise a substratos específicos e constitui a base molecular da variabilidade interindividual, sugerindo que estes polimorfismos afetem a expressão dos níveis de PON-1 (Agachan *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2011) e que podem estar associados com um vasto número de condições fisiopatológicas (Goswani *et al.*, 2009; Hussein *et al.*, 2011).

Duas isoformas comuns do PON-1 foram estudadas devido à substituição dos aminoácidos glutamina por arginina no *locus* 192 e dos aminoácidos leucina por metionina no *locus* 55 (Adkins *et al.*, 1993; Ng *et al.*, 2005; Mohamed Ali *et al.*, 2008). O polimorfismo no *locus* 192 altera a capacidade *in vitro* da enzima PON-1 de proteger a LDL contra a oxidação e o acúmulo de peróxidos lipídicos (Mackness *et al.*, 2003; Sepahvand *et al.*, 2007), no qual o alelo R parece constituir fator de risco independente para a doença coronariana por esta menor capacidade antioxidativa (Pérez *et al.*, 2008). O polimorfismo no *locus* 55 não parece afetar a

interação da enzima PON-1 com os substratos, devido à ligação com polimorfismos na região promotora do gene (Costa *et al.*, 2003; Mackness *et al.*, 2003), mas pode afetar, mesmo que menos intensamente que o polimorfismo PON-1 (-192), os níveis plasmáticos de PON-1 (Mackness *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2004). Tais polimorfismos afetam a atividade hidrolítica das isoenzimas com relação aos peróxidos lipídicos (Mackness *et al.*, 1998, Aviram *et al.*, 1998.), aos quais a presença da arginina no *locus* 192 determina uma alta atividade de PON-1, e a presença da glutamina no *locus* 192 determina uma baixa atividade de PON-1 (Mohamed Ali *et al.*, 2008), o que, nos casos de menores níveis séricos de PON-1, pode constituir um fator de risco para doença aterosclerótica e para DM (Mackness *et al.*, 1991; Ruiz *et al.*, 1995; Blatter Garin *et al.*, 1997; Gupta, 2009).

PON-1 tem sido identificada como fator de risco independente para a doença genética vascular, especialmente em pacientes com DM2 (Ruiz *et al.*, 1995; Blatter Garin *et al.*, 1997; Odawara *et al.*, 1997; Sakai *et al.*, 1998) e, embora o mecanismo fisiopatológico ainda não esteja completamente esclarecido, considera-se ser ligado ao papel antioxidante do PON-1, o que é de grande relevância para os pacientes com DM porque há maior risco de estresse oxidativo, que supostamente contribui para uma incidência muito maior de doenças vasculares e outras complicações, incluindo a DP (Giugliano *et al.*, 1996; Baynes & Thorpe *et al.*, 1999; Ünür *et al.*, 2008). Assim, devido a esta crescente importância do papel de PON-1 como fator de risco de doença cardiovascular e do seu envolvimento potencial na proteção contra o estresse oxidativo, Agachan *et al.* (2005) avaliaram o polimorfismo nos *loci* 55 e 192 do gene PON-1 e seus efeitos sobre marcadores de peroxidação lipídica em pacientes portadores de DM2 em uma amostra da população turca, e concluíram que estes polimorfismos podem afetar significativamente a peroxidação lipídica.

A associação dos polimorfismos dos *loci* 55 e 192 do gene PON-1 com o DM2 e a presença de lesões orais, como a DP, foi investigada por Ünür *et al.* (2008), que identificaram redução da atividade de PON-1 nos pacientes com DM2 quando comparados ao grupo controle, embora esta menor atividade não tenha sido associada com a presença dos polimorfismos estudados; contudo a presença do polimorfismo do gene PON-1 (-55) exibiu um risco para o desenvolvimento de alterações gengivais e periodontais no grupo de pacientes com DM2.

A dificuldade em associar um polimorfismo gênico com a DP pode ser explicada pela falta de maior expressão de um gene para a doença porque, provavelmente, há outros genes alterando a expressão dos genes e influenciando a expressão clínica. Além disso, polimorfismos múltiplos podem ser necessários para um aumento na severidade da doença e genes específicos podem variar entre diferentes populações ou grupos étnicos na susceptibilidade a doença (De Freitas *et al.*, 2007).

Um resumo dos principais estudos avaliando a presença de polimorfismos nos genes das citocinas citadas e de PON-1 no desenvolvimento da DP e/ou DM encontra-se descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Estudos avaliando o papel dos polimorfismos dos genes IL-1, TNF- α , IL-6 e PON-1 no desenvolvimento da DP e/ou DM.

<i>Autor (ano)</i>	<i>Pacientes</i>	<i>Etnia</i>	<i>Polimorfismo</i>	<i>DP</i>	<i>DM</i>
Guzmán <i>et al.</i> (2003)	100 DP- DM+ 60 DP+ DM-	Hispanicos, afro-americanos, caribenhos, asiáticos e médio-orientais	IL1- α (+4845)	-	-
			IL1- β (+3954)	+	+
			IL1- β (-511)	+	+
Trevilatto <i>et al.</i> (2003)	36 DP- DM- 48 DP+ DM-	Brasileiros	IL-6 (174)	+	NA*
Pérez <i>et al.</i> (2004)	27 DP+ DM+ 27 DP+ DM- 27 DP- DM-	Chilenos	TNF- α (-308)	+	+
López <i>et al.</i> (2005)	330 DP+ DM- 110 DP- DM-	Chilenos	IL1- α (-889)	-	NA*
			IL1- β (+3954)	+	NA*
Moreira <i>et al.</i> (2005)	98 DP+ DM- 31 DP- DM-	Brasileiros	IL1- α (+4845)	-	NA*
Gonçalves <i>et al.</i> (2006)**	58 DP+ DM- 47 DM- DP-	Brasileiros	IL1- β (+3954)	+	NA*
			IL1- α (4845)	-	NA*
De Freitas <i>et al.</i> (2007)	70 DP- DM- 30 DP DM-	Brasileiros	IL1- α (889)	-	NA*
			TNF- α (-308)	-	NA*
Menezes & Colombo (2008)	51 DP- DM- 74 DP+ DM-	Brasileiros	TNF- α (-308)	-	NA*
Struch <i>et al.</i> (2008)	110 DP- DM+ 1437 DP- DM-	Pomeranianos	IL1- β (+3954)	+	+
			IL1- β (-511)	-	-
			IL1- α (-889)	+	+
López <i>et al.</i> (2009)	112 DP+ DM+ 224 DP+ DM- 208 DP- DM-	Chilenos	IL1- α (-889)	-	-
			IL1- β (+3954)	-	-
			IL1- β (-511)	-	-
Raunio <i>et al.</i> (2009)	80 DP DM+ 178 DP- DM-	Finlandeses	IL-6 (-174)	+	+
			TNF- α (-308)	-	-
			IL1- α (-889)	-	-
			IL1- β (+3954)	-	-
Xiao <i>et al.</i> (2009)	110 DP+ DM+ 159 DP+ DM-	Chineses	IL-6 (-174)	-	-
			IL-6 (-572)	+	+

Gupta <i>et al.</i> (2011)	88 DP- DM+ 250 DM+ e DP-	Indianos	IL-6 (-597) PON-1 (55) PON-1 (192)	- NA* NA*	- + -
Trevilatto <i>et al.</i> (2011)	44 DP- DM- 60 DP+ DM-	Brasileiros	IL1- α (889) IL1- β (511) IL1- β (3954)	+ - +	NA* NA* NA*
De Menezes <i>et al.</i> (2012)	112 DP+ DM- 51 DP- DM-	Brasileiros	TNF- α (-308)	-	NA*
Schulz <i>et al.</i> (2012)	493 DP+ DM-	Alemães	TNF- α (-308)	+	NA*
Noack <i>et al.</i> (2013)	37 DP+ DM- 67 DP+ DM+	Alemães	PON 1(192)	+	+

*NA = não avaliado; **Este estudo incluiu pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana.

3. PROPOSIÇÃO

3.1. Objetivo geral

Investigar a associação de determinados marcadores genéticos para avaliar a associação do perfil periodontal e genético de indivíduos normoglicêmicos e DM portadores de DP com o intuito de contribuir para o entendimento da etiopatogênese da DP na infância e adolescência e na idade adulta.

3.2. Objetivos específicos

- 1- Analisar os polimorfismos dos genes de IL-1 (rs1800587, rs1143634) e IL-6 (rs1800629), TNF- α (rs1800796) e paraoxonase (rs662 e 854560) entre indivíduos diabéticos e normoglicêmicos portadores ou não de DP, por meio da técnica da genotipagem pelo método de discriminação alélica com sondas fluorescentes;
- 2- Correlacionar a presença ou ausência dos polimorfismos avaliados com o desenvolvimento da DP entre indivíduos diabéticos e normoglicêmicos na presença ou ausência do DM como fator modificador.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

Todos os experimentos deste estudo foram realizados de acordo com as normas relativas à ética em pesquisa envolvendo seres humanos, após deliberação do Comitê de Ética em pesquisa do Hospital Universitário Antônio Pedro da Universidade Federal Fluminense (HUAP/UFF – processo 057/2010, anexo 1) e do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas (FOP/UNICAMP – processo 001/2012, anexo 2), e seguindo a resolução 196/06 relativa às pesquisas em seres humanos no Brasil.

4.2. Seleção da Amostra

As amostras dos pacientes foram obtidas na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal Fluminense de Nova Friburgo (FOUFF/NF), Nova Friburgo, Rio de Janeiro; na Associação dos Diabéticos de Nova Friburgo (ADINF), Nova Friburgo, Rio de Janeiro; e na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Araraquara, São Paulo.

Todos os pacientes foram submetidos à coleta de sangue para a realização dos exames laboratoriais de glicemia em jejum e hemoglobina glicada (HbA1c) para a confirmação ou exclusão do diagnóstico de DM e foram clinicamente avaliados para identificação da condição gengival e periodontal. Os parâmetros clínicos periodontais incluíram o índice de placa (IP), o índice gengival (IG) e a profundidade de sondagem (PS) da região anterior superior (dentes 11 e 21) e inferior (dentes 31 e 41) e da região posterior superior (dentes 55,65, 16 e 26) e inferior (dentes 75, 85, 36 e 46) das crianças e adolescentes de acordo com os critérios estabelecidos por Løe e Silness (1963) e Silness e Løe (1964). Nos adultos, a análise incluiu todos os dentes presentes em toda a boca e foi realizada também a análise do nível de inserção clínica (NIC) e recessão gengival (RC). A análise do IP e do IG foi avaliada por meio do método dicotômico (presença ou

ausência) e a PS realizada em quatro faces (vestibular, mesial, distal e lingual/palatina) de cada um dos dentes descritos anteriormente. Para o grupo de crianças e adolescentes, os pacientes que apresentavam valores de IG maior que 25% foram incluídos nos grupos com a presença de gengivite; e para o grupo dos adultos, o resultado foi concluído após a análise da PS, em que um somatório das mensurações foi realizado e a partir da média de cada paciente, os pacientes com valores entre 0 e 4 mm sem sangramento gengival foram incluídos no grupo sem perda óssea e os pacientes com valores acima de 4 mm ou com valores iguais a 4 mm com sangramento gengival foram incluídos no grupo compatível com perda óssea, baseando-se em parte da Classificação das Doenças Periodontais realizada em 1999 pela Academia Americana de Periodontia.

As amostras foram inicialmente divididas em 2 grupos, um de adultos incluindo 302 pacientes (grupo A), e um de crianças e adolescentes incluindo 88 pacientes (grupo B); e cada um dos grupos foi posteriormente dividido em 4 distintos subgrupos de acordo com a sua condição glicêmica e periodontal, conforme especificado nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Distribuição do grupo de 302 pacientes adultos (grupo A).

<i>Sigla</i>	<i>Condição glicêmica e periodontal</i>	<i>Total de pacientes</i>
ADM+DP	Adultos diabéticos com DP	96
ADM-DP	Adultos diabéticos com saúde periodontal	20
AN+DP	Adultos normoglicêmicos com DP	112
AN-DP	Adultos normoglicêmicos com saúde periodontal	74

Tabela 5. Distribuição do grupo de 88 pacientes crianças e adolescentes (grupo B).

<i>Sigla</i>	<i>Condição glicêmica e periodontal</i>	<i>Total de pacientes</i>
CDM+G	Crianças e adolescentes diabéticos com gengivite	11
CDM-G	Crianças e adolescentes diabéticos com saúde gengival	15
CN+G	Crianças e adolescentes normoglicêmicos com gengivite	30
CN-G	Crianças e adolescentes normoglicêmicos com saúde gengival	32

Todos os grupos e subgrupos apresentavam indivíduos sem histórico familiar de doenças sistêmicas, outras alterações descritas como modificadoras da DP que não o DM, ou qualquer alteração congênita.

4.3. Seleção dos Polimorfismos Genéticos

Seis polimorfismos genéticos foram selecionados para serem investigados neste estudo pelo fato de terem sido fortemente correlacionados ao DM1 e ao DM2, e à DP em estudos prévios (Guzeldemir *et al.*, 2008; Gupta, 2009; Xiao *et al.*, 2009; Trevilatto *et al.*, 2011; Nair *et al.*, 2011; Harmset *et al.*, 2013), por apresentarem distribuição diferencial dos alelos em diferentes populações, incluindo a brasileira. As características dos polimorfismos genéticos deste estudo estão descritas na Tabela 6.

Tabela 6. Descrição dos polimorfismos genéticos deste estudo

<i>Polimorfismo</i>	<i>Cromossomo</i>	<i>Gene</i>	<i>Alelo</i>
rs1800587	2q13	IL1 α	ANCESTRAL: C VARIANTE: T
rs1143634	2q13	IL1- β	ANCESTRAL: C VARIANTE: T
rs1800629	6p21.3	TNF- α	ANCESTRAL: G VARIANTE: A
rs1800796	7p21	IL6	ANCESTRAL: G VARIANTE: C
rs662	7q21.3	PON-1	ANCESTRAL: G VARIANTE: A
rs854560	7q21.3	PON-1	ANCESTRAL: A VARIANTE: T

Fonte: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>

4.4. Coleta das Amostras para Análise dos Polimorfismos

As amostras de células bucais foram coletadas por meio de um bochecho, por 60 s, de 5 ml de solução de sacarose a 3%. O conteúdo resultante do bochecho foi transferido para um tubo de 15 ml, contendo de 5 ml de solução 66% alcoólica contendo 17 mM Tris-HCl pH 8, 5 mM NaCl e 7 mM EDTA.

4.5. Isolamento do DNA

No laboratório, a cada tubo foi adicionada água destilada e deionizada autoclavada q.s.p. 15 ml. Após centrifugação e descarte do sobrenadante, o precipitado foi lavado em solução aquosa, contendo 17 mM Tris-HCl pH 8, 50 mM NaCl e 7 mM EDTA. O sobrenadante foi novamente descartado e o precipitado foi ressuspensionado em solução de lise contendo 10 mM Tris-HCl pH 8, 0,5% dodecil

sulfato de sódio (SDS), 5 mM EDTA, 0,2 µg de proteinase K (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e incubado a 50°C em movimento contínuo semicircular. Após 16 h de incubação, foram adicionados 500 µl de uma solução aquosa de 1 mM EDTA e 7,5 M acetato de amônio. A mistura foi centrifugada por 10 min a 12.000 x g a 4°C. O precipitado de DNA foi lavado com etanol 70%, centrifugado (12.000 x g por 5min), seco e ressuspenso em tampão Tris-EDTA (TE Buffer). A concentração e pureza das amostras foram determinadas por espectrofotometria a 260 e 280 nm (espectrofotômetro NanoDrop® 2000 - Thermocientific).

4.6. Genotipagem pelo Método de Discriminação Alélica com Sondas Fluorescentes

A análise foi realizada no equipamento StepOnePlus (Applied Biosystems) em reação de 8 µl contendo 4 µl de 2x Genotyping Master Mix, 0,2 µl da mistura de primers e sondas e 2 ng DNA, os quais foram diluídos em 3,8 µl de água livre de DNase e RNase. Os parâmetros de amplificação foram: 1 ciclo de 30 s a 60°C e 10 min a 95°C (desnaturação inicial) e 45 ciclos de 15 s a 92°C e 1 min a 60°C (estágio de amplificação), os quais foram seguidos por 1 ciclo de 30 s a 60°C. Para validação dos resultados, a reação para cada polimorfismo foi repetida em 10% das amostras que foram aleatoriamente escolhidas.

4.7. Análise Estatística

A existência de equilíbrio de Hardy-Weinberg foi verificada no grupo formado pelos indivíduos normais (Rodriguez *et al.*, 2009) (Tabela 7) e as diferenças na frequência dos alelos e genótipos nos modelos de herança não-restrito e aditivos foram comparadas pelo teste exato de Fisher. O cálculo do risco de recorrência (*odds ratio*, OR) com intervalo de confiança (IC) em 95% foi realizado para estimar o risco de cada fator na ocorrência da DP e do DM (Prism 6 for Windows, GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA). Em virtude de múltiplas comparações terem sido realizadas, o teste de correção de Bonferroni foi aplicado. Em nossas comparações, $p \leq 0,0083$ (0,05/6) foi utilizado como indicativo de diferença

estatisticamente significativa. A regressão logística ajustada para gênero e idade foi realizada para determinar a interação entre genótipos e DP e DM.

Tabela 7. Cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg para os grupos sem DM, sem DP e sem gengivite (AN-DP e CN-G).

<i>Polimorfismo</i>	<i>Adultos normais</i>		<i>Crianças e adolescentes normais</i>	
	<i>(AN-DP)</i>		<i>(CN-G)</i>	
	χ^2 valor de p		χ^2 valor de p	
rs1800587	0,76	0,38	0,13	0,72
rs1143634	0	1	0,74	0,39
rs1800629	1,09	0,29	0,48	0,49
rs1800796	6,12	0,01	1,25	0,26
rs662	1,25	0,26	0,69	0,41
rs854560	0,32	0,57	0,76	0,38

5. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados separadamente de acordo com cada um dos grupos de estudo, A (adultos) e B (crianças e adolescentes).

5.1 Características gerais do grupo A (adultos).

As características gerais do grupo A constituído por 302 adultos podem ser observadas na Tabela 8. O grupo A, como um todo, apresenta uma idade média de $49,6 \pm 11$ anos (variação entre 20 e 80 anos) e inclui 172 indivíduos do sexo feminino (57%) e 130 indivíduos do sexo masculino (43%). O subgrupo ADM+DP tem uma idade média de 52,1 anos e foi composto principalmente por indivíduos do sexo feminino (54; 56,2%); o subgrupo ADM-DP tem uma idade média de 57,8 anos e foi composto principalmente de indivíduos do sexo feminino (11; 55%); o subgrupo AN+DP tem uma idade média de 48,4 anos e foi composto principalmente de indivíduos do sexo feminino (63; 56,3%); e o subgrupo AN-DP tem uma idade média de 47,6 anos e foi composto principalmente por indivíduos do sexo feminino (44; 59,5%).

Tabela 8. Distribuição por sexo e idade do grupo A (adultos).

<i>Variáveis</i>	<i>ADM+DP</i>	<i>ADM-DP</i>	<i>AN+DP</i>	<i>AN-DP</i>
	<i>n = 96</i>	<i>n = 20</i>	<i>n = 112</i>	<i>n = 74</i>
	<i>n (%)</i>	<i>n (%)</i>	<i>n (%)</i>	<i>n (%)</i>
Sexo				
Feminino	54 (56,2)	11 (55)	63 (56,3)	44 (59,5)
Masculino	42 (43,7)	9 (45)	49 (43,8)	30 (40,5)
Idade				
Média $\pm$ DP	52,1 $\pm$ 10,7	57,8 $\pm$ 1,5	48,4 $\pm$ 9,6	47,6 $\pm$ 11,7
Variação	24 – 80	40 – 77	23 – 76	20-72

5.2. Frequência Alélica e Genotípica dos Polimorfismos do Grupo A (adultos)

Do total de 6 polimorfismos em potencial nos genes de interleucinas e de uma enzima oxidativa associados a DP e/ou ao DM analisados no grupo de pacientes adultos deste estudo, identificou-se significância estatística para os polimorfismos: rs1143634 do gene IL1, rs1800796 do gene IL6 e rs1800629 do gene TNF α . As demais regiões polimórficas não demonstraram variações na população brasileira estudada e a frequência dos genótipos no grupo controle estava de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Os polimorfismos identificados com significância estatística serão apresentados na sequência, e a distribuição alélica e genotípica de todos os polimorfismos estudados no grupo A encontra-se resumida nas Tabelas 9, 10, 11, 12, 13 e 14.

5.2.1. Polimorfismo rs1143634 no gene IL1- β

Os três genótipos possíveis do polimorfismo rs1143634 (c.315 C>T), o qual resulta na substituição de uma citosina por uma timina, foram identificados na população deste estudo (Tabela 10).

O alelo C foi mais frequentemente identificado no grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) (67,9%) ou com saúde periodontal (AN-DP) (83%); enquanto o alelo T foi mais frequentemente identificado no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) (75,3%) ou com saúde periodontal (ADM-DP) (60%). Seguindo este padrão, o genótipo homozigoto CC foi mais frequentemente identificado no grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) (55,4%) ou com saúde periodontal (AN-DP) (69%); enquanto o genótipo homozigoto TT foi mais frequentemente identificado no grupo de indivíduos diabéticos com doença periodontal (ADM+DP) (60%) ou com saúde periodontal (ADM-DP) (45%).

Na análise comparativa entre os indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) e os indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP), a presença do alelo T, que foi mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP), é

sugestiva de ser um fator de risco para o DM nos pacientes com DP gerando um OR de 6,43 (95%IC: 4,03-10,26; $p<0,0001$). Da mesma forma, na análise comparativa entre os indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e os indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP), a presença do alelo T, que foi mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP), é sugestiva de ser um fator de risco para o DM e para a DP gerando um OR de 14,9 (95%IC: 8,6-25,9; $p<0,0001$). Tais afirmativas foram reforçadas pela presença do genótipo heterozigoto CT, que foi significativamente mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) em comparação com o grupo de indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP) gerando um OR de 7,8 (95%IC: 3,17-19,6; $p<0,0001$), e que foi também significativamente mais frequente no grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (ADM+DP) em comparação com o grupo de indivíduos diabéticos com DP (AN-DP), gerando um OR de 4,16 (95%IC: 1,80 – 9,60; $p=0,0006$); e pela presença do genótipo homozigoto TT, que foi significativamente mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) em comparação com o grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) gerando um OR de 49,6 (95%IC: 5,42-25,88; $p<0,0001$), e que foi também significativamente mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) em comparação com o grupo de indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP) gerando um OR de 45,5 (95%IC: 31,9-75,2; $p<0,0001$).

Adicionalmente, a análise do modo dominante (CC *versus* CT+TT) revelou significância estatística na comparação entre o grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e o grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) com uma maior frequência do genótipo CC no segundo grupo (AN+DP) e um OR de 11,85 (95%IC: 5,42-25,8; $p<0,0001$); e na comparação entre o grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e o grupo de indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP) com uma maior frequência do genótipo CC no segundo grupo (AN-DP) e um OR de 21,2 (95%IC: 9,08-49,86; $p<0,0001$). A análise do modo recessivo (CC+CT *versus* TT) também revelou significância estatística na comparação entre o grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e o grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) com uma maior frequência do genótipo TT no primeiro grupo (ADM+DP) e um OR de 22, 5 (95%IC: 19,2-35,4; $p<0,0001$); e na comparação entre o grupo de indivíduos diabéticos com DP

(ADM+DP) e o grupo de indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP) com uma maior frequência do genótipo CC no primeiro grupo (ADM+DP) e um OR de 15,7 (95% IC: 11,9-23,3; $p < 0,0001$).

A distribuição dos genótipos para o polimorfismo rs1143634 respeitou o equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabela 7).

5.2.2 Polimorfismo rs1800629 no gene TNF- α

Os genótipos GG e GA do polimorfismo rs1800629 (c.488 G>A), o qual resulta na substituição de uma guanina por uma adenosina, foram identificados na população deste estudo, mas o genótipo AA não foi identificado no grupo de indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP) (Tabela 11).

O alelo G foi o mais frequentemente identificado em todos os 4 grupos de estudo, no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) (74%) ou com saúde periodontal (ADM-DP) (82,5%), e no grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) (86,6%) ou com saúde periodontal (AN-DP) (89,1%). Seguindo este padrão, o genótipo homozigoto GG foi o mais frequentemente identificado em todos os 4 grupos de estudo, no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) (59,4%) ou com saúde periodontal (ADM-DP) (70%), e no grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) (74,1%) ou com saúde periodontal (AN-DP) (78,4%); enquanto o genótipo homozigoto AA foi identificado somente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) (11,4%), no grupo de indivíduos diabéticos com saúde periodontal (ADM-DP) (5%), e no grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) (0,9%).

Na análise comparativa entre os indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e os indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP), a presença do alelo A, que foi mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP), é sugestiva de ser um fator de risco para o DM nos pacientes com DP gerando um OR de 22,7 (95%IC: 6,9-74,5; $p < 0,0001$). Da mesma forma, na análise comparativa entre os indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e os indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP), a presença do alelo A, que foi mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP), é sugestiva de ser um fator de risco

para o DM e para a DP gerando um OR de 2,9 (95%IC: 1,57-5,35; $p=0,0005$). Tais afirmativas foram reforçadas pela presença do genótipo homozigoto AA, que foi significativamente mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) em comparação com o grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) gerando um OR de 16,02 (95%IC: 2,01-127,06; $p=0,0002$).

Adicionalmente, a análise do modo recessivo (GG+GA *versus* AA) revelou significância estatística na comparação entre o grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e o grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) com uma maior frequência do genótipo AA no primeiro grupo (ADMN+DP) e um OR de 4,36 (95%IC: 1,81-11,3; $p=0,0015$).

A distribuição dos genótipos para o polimorfismo rs1800629 respeitou o equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabela 7).

5.2.3. Polimorfismo rs1800796 no gene IL6

Os genótipos GG e GC do polimorfismo rs1800796 (c.636 G>C), o qual resulta na substituição de uma guanina por uma citosina, foram identificados na população deste estudo, mas o genótipo CC não foi identificado no grupo de indivíduos diabéticos com saúde periodontal (ADM-DP) (Tabela 12).

O alelo G foi mais frequentemente identificado no grupo de indivíduos diabéticos com saúde periodontal (ADM-DP) (95%), e no grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) (70%) ou com saúde periodontal (AN-DP) (73,8%); enquanto o alelo C foi mais frequentemente identificado no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) (50,5%). Seguindo este padrão, o genótipo homozigoto GG foi mais frequentemente identificado no grupo de indivíduos diabéticos com saúde periodontal (ADM-DP) (90%) e no grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) (64,3%); enquanto o genótipo homozigoto CC foi mais frequentemente identificado no grupo de indivíduos diabéticos com doença periodontal (ADM+DP) (38,6%). É importante destacar que o genótipo heterozigoto GC foi mais frequentemente identificado no grupo de indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP) (50,7%).

Na análise comparativa entre os indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e os indivíduos diabéticos com saúde periodontal (ADM-DP), a presença do alelo C, que foi mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP), é sugestiva de ser um fator de risco para a DP nos pacientes com DM gerando um OR de 9,4 (95%IC: 4,55-8,27; $p < 0,0001$). Na análise comparativa entre os indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e os indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP), a presença do alelo C, que foi mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP), é sugestiva de ser um fator de risco para o DM nos pacientes com DP gerando um OR de 2,38 (95%IC: 1,61-3,5; $p < 0,0001$). Da mesma forma, na análise comparativa entre os indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e os indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP), a presença do alelo C, que foi mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP), é sugestiva de ser um fator de risco para o DM e para a DP gerando um OR de 2,87 (95%IC: 1,79-4,5; $p < 0,0001$). Tais afirmativas foram reforçadas pela presença do genótipo homozigoto CC, que foi significativamente mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) em comparação com o grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) gerando um OR de 9,7 (95%IC: 8,43-16,2; $p < 0,0001$), e que foi também significativamente mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) em comparação com o grupo de indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP) gerando um OR de 34,9 (95%IC: 4,5-26,9; $p < 0,0001$).

Adicionalmente, a análise do modo dominante (GG *versus* GC+CC) revelou significância estatística na comparação entre o grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e o grupo de indivíduos diabéticos com saúde periodontal (ADM-DP) com uma maior frequência do genótipo GG no primeiro grupo (ADM+DP) e um OR de 4,5 (95%IC: 3,2-6,8; $p < 0,0001$); e na comparação entre o grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e o grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) com uma maior frequência do genótipo GG no segundo grupo (AN+DP) e um OR de 3 (95%IC: 1,70-5,28; $p = 0,0002$). A análise do modo recessivo (GG+GC *versus* CC) também revelou significância estatística na comparação entre o grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e o grupo de indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP) com uma maior frequência do genótipo CC no primeiro grupo (ADM+DP) e um OR de 34,5 (95%IC: 8,02-145,2;

$p < 0,0001$); e na comparação entre o grupo de indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e o grupo de indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP) com uma maior frequência do genótipo CC no primeiro grupo (ADM+DP) e um OR de 1,3 (95% IC: 5,84-32,9; $p < 0,0001$).

A distribuição dos genótipos para o polimorfismo rs1800796 respeitou o equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabela 7).

Tabela 9. Distribuição alélica do polimorfismo rs1800587 no gene IL1- α e sua frequência genotípica no grupo A (adultos) individualmente e comparativamente.

<i>GRUPO</i>	<i>Alelo C</i> (<i>ancestral</i>)		<i>Alelo T</i> (<i>variante</i>)		<i>Genótipo CC</i>		<i>Genótipo CT</i>		<i>Genótipo TT</i>	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
ADM+DP	131	70,4	55	29,6	50	53,8	31	33,3	12	12,9
ADM-DP	29	72,5	11	27,5	10	50	9	45	1	5
AN+DP	147	66,2	75	33,8	45	40,5	57	51,3	9	8,2
AN-DP	106	76,6	40	23,4	37	50,7	32	43,8	4	5,5

<i>COMPARAÇÕES</i>	<i>OR_{alelo} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Het} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Hom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Dom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Rec} (95%IC) p</i>
ADM+DP x ADM-DP	1,01 (0,51-2,37) 0,85	0,68 (0,25-1,88) 0,60	2,4 (0,27-20,6) 0,67	0,86 (0,32-2,26) 0,80	1,52 (0,45-5,1) 0,56
AN+DP x AN-DP	1,35 (0,85-2,13) 0,20	1,46 (0,79-2,70) 0,27	1,85 (0,52-6,49) 0,38	1,50 (0,83-2,73) 0,22	2,81 (0,34-2,3) 0,45
ADM+DP x AN+DP	0,82 (0,54-1,2) 0,39	0,48 (0,27-0,88) 0,02	1,2 (0,46-3,1) 0,81	0,58 (0,33-1,02) 0,06	1,67 (0,67-4,18) 0,35
ADM+DP x AN-DP	1,11 (0,68-1,80) 0,71	0,71 (0,37-1,37) 0,32	2,2 (0,66-7,43) 0,26	0,88 (0,47-1,63) 0,75	2,55 (0,78-8,28) 0,12

Tabela 10. Distribuição alélica do polimorfismo rs1143634 no gene IL1- β e sua frequência genotípica no grupo A (adultos) individualmente e comparativamente.

<i>GRUPO</i>	<i>Alelo C</i> (<i>ancestral</i>)		<i>Alelo T</i> (<i>variante</i>)		<i>Genótipo CC</i>		<i>Genótipo CT</i>		<i>Genótipo TT</i>	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
ADM+DP	47	24,7	143	75,3	9	9,5	29	30,5	57	60
ADM-DP	16	40	24	60	5	25	6	30	9	45
AN+DP	110	67,9	52	32,1	62	55,4	48	42,8	2	1,8
AN-DP	118	83	24	17	49	69	20	28,2	2	2,8

<i>COMPARAÇÕES</i>	<i>OR_{alelo} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Het} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Hom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Dom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Rec} (95%IC) p</i>
ADM+DP x ADM-DP	2,02 (0,99-4,14) 0,053	2,68 (0,66-10,92) 0,25	3,5 (0,95-12,9) 0,062	3,18 (0,93-10,8) 0,067	1,83 (0,69-4,8) 0,22
AN+DP x AN-DP	2,32 (1,34-4,02) 0,0023	1,89 (0,99-3,6) 0,058	0,79 (0,10-5,81) 1	1,79 (0,96-3,35) 0,087	0,62 (0,08-4,55) 0,64
ADM+DP x AN+DP	6,43 (4,03-10,26) <0,0001	4,16 (1,80-9,60) 0,0006	49,6 (40,6-94,7) <0,0001	11,85 (5,42-25,88) <0,0001	22,5 (19,2-35,4) <0,0001
ADM+DP x AN-DP	14,9 (8,6-25,9) <0,0001	7,8 (3,17-19,6) <0,0001	45,5 (31,9-75,2) <0,0001	21,2 (9,08-49,86) <0,0001	15,7 (11,9-23,3) <0,0001

Tabela 11. Distribuição alélica do polimorfismo genético rs1800629 no gene TNF- α e frequência genotípica investigados no grupo A (adultos) individualmente e comparativamente.

<i>GRUPO</i>	<i>Alelo G (ancestral)</i>		<i>Alelo A (variante)</i>		<i>Genótipo GG</i>		<i>Genótipo GA</i>		<i>Genótipo AA</i>	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
ADM+DP	142	74	50	26	57	59,4	28	29,2	11	11,4
ADM-DP	33	82,5	7	17,5	14	70	5	25	1	5
AN+DP	194	86,6	30	13,4	83	74,1	28	25	1	0,9
AN-DP	132	89,1	16	10,9	58	78,4	16	21,6	0	0

<i>COMPARAÇÕES</i>	<i>OR_{alelo} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Het} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Hom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Dom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Rec} (95%IC) p</i>
ADM+DP x ADM-DP	1,66 (0,69-3,99) 0,31	1,37 (0,45-4,20) 0,78	2,70 (0,32-22,7) 0,68	1,60 (0,56-4,51) 0,45	2,45 (0,29-20,2) 0,68
AN+DP x AN-DP	1,27 (0,66-2,43) 0,52	1,22 (0,60- 2,46) 0,60	NA*	1,26 (0,63-2,54) 0,60	NA*
ADM+DP x AN+DP	22,7 (6,96-74,5) <0,0001	1,45 (0,78- 2,71) 0,06	16,02 (2,01-127,6) 0,0002	2,02 (1,12-3,66) 0,023	4,36 (1,81-11,3) 0,0015
ADM+DP x AN-DP	2,9 (1,57-5,35) 0,0005	1,78 (0,87-3,6) 0,15	NA*	2,48 (1,24-4,90)0,012	NA*

*NA = não aplicável.

Tabela 12. Distribuição alélica do polimorfismo genético rs1800796 no gene IL6 e frequência genotípica investigados no grupo A (adultos) individualmente e comparativamente.

<i>GRUPO</i>	<i>Alelo G</i> (<i>ancestral</i>)		<i>Alelo C</i> (<i>variante</i>)		<i>Genótipo GG</i>		<i>Genótipo GC</i>		<i>Genótipo CC</i>	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
ADM+DP	95	49,5	97	50,5	36	37,5	23	23,9	37	38,6
ADM-DP	38	95	2	5	18	90	2	10	0	0
AN+DP	182	70	78	30	72	64,3	38	33,9	2	1,8
AN-DP	104	73,8	37	26,2	34	47,9	36	50,7	1	1,4

<i>COMPARAÇÕES</i>	<i>OR_{alelo} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Het} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Hom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Dom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Rec} (95%IC) p</i>
ADM+DP x ADM-DP	9,4 (4,55-8,27) <0,0001	5,75 (1,21-27,1) 0,02	NA*	15 (3,2-6,8) <0,0001	NA*
AN+DP x AN-DP	1,20 (0,76-1,90) 0,48	0,49 (0,27-0,91) 0,29	0,94 (0,08-0,79) 1	0,51 (0,27-0,93) 0,0032	1,27 (0,11-14,31) 1
ADM+DP x AN+DP	2,38 (1,61-3,5) <0,0001	1,21 (0,62-2,32) 0,61	9,7 (8,43-16,2) <0,0001	3 (1,70-5,28) 0,0002	34,5 (8,02-145,2) <0,0001
ADM+DP x AN-DP	2,87 (1,79-4,5) <0,0001	0,60 (0,29-1,21) 0,21	4,9 (4,53-26,9) <0,0001	1,53 (0,83-2,85) 0,20	13,9 (5,84-32,9) <0,0001

*NA = não aplicável.

Tabela 13. Distribuição alélica do polimorfismo genético rs662 do gene PON-1 e frequência genotípica investigados no grupo (adultos) individualmente e comparativamente.

<i>GRUPO</i>	<i>Alelo G (ancestral)</i>		<i>Alelo A (variante)</i>		<i>Genótipo GG</i>		<i>Genótipo GA</i>		<i>Genótipo AA</i>	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
ADM+DP	79	41,2	113	58,8	18	18,8	43	44,8	35	36,4
ADM-DP	19	47,5	21	52,5	5	25	9	45	6	30
AN+DP	97	43	127	57	21	18,8	55	49,1	36	32,1
AN-DP	56	38,3	90	61,7	13	17,8	30	41,1	30	41,1

<i>COMPARAÇÕES</i>	<i>OR_{alelo} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Het} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Hom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Dom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Rec} (95%IC) p</i>
ADM+DP x ADM-DP	1,20 (0,62-2,56) 0,48	0,32 (0,39-4,5) 0,75	1,6 (0,43-6,04) 0,50	1,80 (0,56-5,77) 0,33	1,33 (0,47-3,79) 0,79
AN+DP x AN-DP	0,81 (0,53-1,20) 0,38	1,13 (0,49-2,58) 0,83	0,74 (0,31-1,72) 0,52	0,93 (0,43-2,01) 1	0,67 (0,36-1,25) 0,27
ADM+DP x AN+DP	1,09 (0,73-1,61) 0,69	0,91 (0,43-1,92) 0,85	1,13 (0,51-2,48) 0,84	1 (0,49-2,01) 1	1,21 (0,68-2,15) 0,55
ADM+DP x AN-DP	0,89 (0,57-1,38) 0,60	1,03 (0,44-2,42) 1	0,85 (0,35-2,00) 0,82	0,93 (0,42-2,00) 0,13	0,82 (0,44-1,53) 0,63

Tabela 14. Distribuição alélica do polimorfismo genético rs854560 do gene PON-1 e frequência genotípica investigados no grupo A (adultos) individualmente e comparativamente.

<i>GRUPO</i>	<i>Alelo A (ancestral)</i>		<i>Alelo C (variante)</i>		<i>Genótipo AA</i>		<i>Genótipo AC</i>		<i>Genótipo CC</i>	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
ADM+DP	123	64,7	67	35,3	41	43,2	41	43,2	13	13,6
ADM-DP	25	62,5	15	37,5	8	32	9	36	8	32
AN+DP	131	64,2	73	37,7	41	36,6	49	43,8	22	19,6
AN-DP	95	65,1	51	34,9	32	43,8	31	42,5	10	13,7

<i>COMPARAÇÕES</i>	<i>OR_{alelo} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Het} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Hom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Dom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Rec} (95%IC) p</i>
ADM+DP x ADM-DP	0,87 (0,40-1,86) 0,84	0,88 (0,31-2,5) 1	0,31 (0,09-1,01) 0,062	0,61 (0,24-1,57) 0,36	0,33 (0,12-0,93) 0,04
AN+DP x AN-DP	1,03 (0,66-1,61) 0,91	1,71 (0,71-4,13) 0,28	1,23 (0,64 - 2,31) 0,62	1,35 (0,74-2,46) 0,35	1,54 (0,68-3,4) 0,32
ADM+DP x AN+DP	0,97 (0,64-1,47) 0,91	1,86 (0,94-3,66) 0,09	0,83 (0,45-1,52) 0,64	0,76 (0,43-1,33) 0,39	0,64 (0,30-1,37) 0,27
ADM+DP x AN-DP	1,01 (0,64-1,59) 1	3,2 (1,39-7,35) 0,067	1,03 (0,53-1,99) 1	1,02 (0,55-1,90) 1	1,01 (0,41-2,46) 1

5.3 Características gerais do grupo B (crianças e adolescentes).

As características gerais do grupo B constituído por 88 crianças e adolescentes podem ser observadas na Tabela 15. O grupo B, como um todo, apresenta uma idade média de $10,34 \pm 1$ ano (variação entre 5 e 19 anos) e inclui 50 indivíduos do sexo feminino (56,8%) e 38 indivíduos do sexo masculino (43,2%). O subgrupo CDM+G tem uma idade média de 11,8 anos e foi composto principalmente por indivíduos do sexo feminino (6; 54,5%); o subgrupo CDM-G tem uma idade média de 9,9 anos e foi composto principalmente de indivíduos do sexo feminino (8; 53,3%); o subgrupo CN+G tem uma idade média de 11,2 anos e foi igualmente composto por indivíduos do sexo feminino e do sexo masculino (15 cada; 50%); e o subgrupo CN-G tem uma idade média de 9,4 anos e foi composto principalmente por indivíduos do sexo feminino (21; 65,6%).

Tabela 15. Distribuição por sexo e idade do grupo B (crianças e adolescentes).

<i>Variáveis</i>	<i>CDM+G</i>	<i>CDM-G</i>	<i>CN+G</i>	<i>CN-G</i>
	<i>n = 11</i>	<i>n = 15</i>	<i>n = 30</i>	<i>n = 32</i>
	<i>n (%)</i>	<i>n (%)</i>	<i>n (%)</i>	<i>n (%)</i>
Sexo				
Feminino	6 (54,5)	8 (53,3)	15 (50)	21 (65,6)
Masculino	5 (45,5)	7 (46,7)	15 (50)	11 (34,4)
Idade				
Média $\pm$ DP	11,8 $\pm$ 3,7	9,9 $\pm$ 2,2	11,2 $\pm$ 2,6	9,4 $\pm$ 3,2
Variação	7-19	5-15	7-17	5-17

5.4. Frequência Alélica e Genotípica dos Polimorfismos do Grupo B (crianças e adolescentes)

Do total de 6 polimorfismos em potencial nos genes de interleucinas e de uma espécie reativa do oxigênio associados a DP e/ou ao DM analisados no grupo de pacientes crianças e adolescentes deste estudo, identificou-se significância estatística apenas para o rs1800796 do gene IL6 . As demais regiões polimórficas não demonstraram variações na população brasileira estudada e a frequência dos genótipos no grupo controle estava de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Os polimorfismos identificados com significância estatística serão apresentados na sequência, e a distribuição alélica e genotípica de todos os polimorfismos estudados no grupo A encontra-se resumida nas Tabelas 16, 17, 18, 19, 20 e 21.

5.4.1. Polimorfismo rs1800796 no gene IL6

Os genótipos GC e CC do polimorfismo rs1800796 (c.636G>C), o qual resulta na substituição de uma guanina por uma citosina, foram identificados na população deste estudo, mas o genótipo GG não foi encontrado no grupo de indivíduos diabéticos com gengivite (CDM+G) e com saúde gengival (CDM-G) (Tabela 19).

O alelo G foi mais frequentemente identificado no grupo de indivíduos normoglicêmicos com saúde gengival (CN-G) (90,5%); enquanto o alelo C foi mais frequentemente identificado no grupo de indivíduos diabéticos com gengivite (CDM+G) (91,6%) ou com saúde gengival (CDM-G) (89,3%), e no grupo de indivíduos normoglicêmicos com gengivite (92,7%). Sem seguir este padrão, o genótipo homozigoto CC foi o mais frequentemente identificado em todos os 4 grupos de estudo, no grupo de indivíduos diabéticos com gengivite (CDM+G) (90,9%) e com saúde gengival (CDM-G) (78,6%), e no grupo de indivíduos normoglicêmicos com gengivite (CN+G) (85,7%) ou com saúde gengival (CN-G) (81,3%).

Na análise comparativa entre os indivíduos normoglicêmicos com gengivite (CN+G) e os indivíduos normoglicêmicos com saúde gengival (CN-G), a presença do alelo C, que foi mais frequente no grupo de indivíduos normoglicêmicos com gengivite (CN+G), é sugestiva de ser um fator de risco para o desenvolvimento da gengivite nos pacientes normoglicêmicos gerando um OR de 121,1 (95%IC: 32,3-145,3; $p<0,0001$). Da mesma forma, na análise comparativa entre os indivíduos diabéticos com gengivite (CDM+G) e os indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (CN-G), a presença do alelo C, que foi mais frequente no grupo de indivíduos diabéticos com gengivite (CDM+G), é sugestiva de ser um fator de risco para o DM e para a gengivite gerando um OR de 104 (95%IC: 11,4-136,6; $p<0,0001$).

A distribuição dos genótipos para o polimorfismo rs1800796 respeitou o equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabela 7).

Tabela 16. Distribuição alélica do polimorfismo genético rs1800587 do gene IL1- α e frequência genotípica investigados no grupo B (crianças e adolescentes) individualmente e comparativamente.

<i>GRUPO</i>	<i>Alelo C</i> (<i>ancestral</i>)		<i>Alelo T</i> (<i>variante</i>)		<i>Alelo CC</i>		<i>Alelo CT</i>		<i>Alelo TT</i>	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
CDM+G	15	78,9	4	21,1	6	60	3	30	1	10
CDM-G	21	72,4	8	27,6	7	46,7	7	46,7	1	6,6
CN+G	35	58,4	25	41,6	9	30	17	56,7	4	13,3
CN-G	28	57,1	21	42,9	14	43,7	15	46,9	3	9,4

<i>COMPARAÇÕES</i>	<i>OR_{alelo} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Het} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Hom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Dom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Rec} (95%IC) p</i>
CDM+G x CDM-G	0,7 (0,17-2,7) 0,73	0,5 (0,08-2,8) 0,6	1,16 (0,05-22,9) 1	0,58 (0,11-2,95) 0,68	1,55 (0,8-28,17) 1
CN+G x CN-G	0,95 (0,44-2,0) 1	1,76 (0,59-5,2) 0,41	2,07 (0,37-11,53) 0,6	1,81 (0,63-5,17) 0,30	1,48 (0,30-7,27) 0,7
CDM+G x CN+G	0,37 (0,11-1,26) 1	0,26 (0,05-1,31) 0,12	0,37 (0,03-4,2) 0,61	0,28 (0,06-1,26) 0,13	0,80 (0,07-8,1) 1
CDM+G x CN-G	0,35 (0,10-1,22) 0,16	0,46 (0,09-2,23) 0,45	0,77 (0,06-9,08) 1	0,51 (0,12-2,2) 0,47	1,07 (0,09-11,65) 1

Tabela 17. Distribuição alélica do polimorfismo genético rs1143634 do gene IL1- β e frequência genotípica investigados no grupo B (crianças e adolescentes) individualmente e comparativamente.

<i>GRUPO</i>	<i>Alelo C</i> (<i>ancestral</i>)		<i>Alelo T</i> (<i>variante</i>)		<i>Genótipo CC</i>		<i>Genótipo CT</i>		<i>Genótipo TT</i>	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
CDM+G	10	100	0	0	10	100	0	0	0	0
CDM-G	14	100	0	0	14	100	0	0	0	0
CN+G	40	71,4	16	28,6	14	50	12	42,8	2	7,2
CN-G	40	64,5	22	34,5	14	45,2	12	38,7	5	16,1
<i>COMPARAÇÕES</i>	<i>OR_{alelo} (95%IC) p</i>		<i>OR_{Het} (95%IC) p</i>		<i>OR_{Hom} (95%IC) p</i>		<i>OR_{Dom} (95%IC) p</i>		<i>OR_{Rec} (95%IC) p</i>	
CDM+G x CDM-G	NA*		NA*		NA*		NA*		NA*	
CN+G x CN-G	0,72 (0,33-1,58) 0,43		1,0 (0,33-2,97) 1		2,5 (0,41-15,12) 0,41		0,82 (0,29-2,3) 0,8		0,4 (0,07-2,25) 1	
CDM+G x CN+G	NA*		NA*		NA*		NA*		NA*	
CDM+G x CN-G	NA*		NA*		NA*		NA*		NA*	

*NA = não aplicável.

Tabela 18. Distribuição alélica do polimorfismo genético rs1800629 do gene TNF- α e frequência genotípica investigados no grupo B (crianças e adolescentes) individualmente e comparativamente.

<i>GRUPO</i>	<i>Alelo G</i> (<i>ancestral</i>)		<i>Alelo A</i> (<i>variante</i>)		<i>Genótipo GG</i>		<i>Genótipo GA</i>		<i>Genótipo AA</i>	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
CDM+G	20	90,9	2	9,1	9	81,8	2	18,2	0	0
CDM-G	23	85,2	4	14,8	10	71,5	3	21,4	1	7,1
CN+G	43	71,7	17	28,3	13	43,3	17	56,7	0	0
CN-G	57	89	7	11	25	78,1	7	21,9	0	0

<i>COMPARAÇÕES</i>	<i>OR_{alelo} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Het} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Hom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Dom} (95%IC) p</i>	<i>OR_{Rec} (95%IC) p</i>
CDM+G x CDM-G	0,57 (0,09-3,4) 0,67	4,3 (0,99-19,1) 4,3	NA*	0,55 (0,08-3,9) 0,66	NA*
CN+G x CN-G	3,21 (1,22-8,45) 0,02	4,6 (1,54-14,12) 0,0086	NA*	4,6 (1,54-14,1) 0,086	NA*
CDM+G x CN+G	0,25 (0,005-1,2) 0,081	0,16 (0,03-0,92) 0,038	NA*	0,16 (0,03-0,92) 0,038	NA*
CDM+G x CN-G	0,81 (0,15-4,20) 1	0,79 (0,13-4,55) 1	NA*	0,79 (0,13-4,55) 1	NA*

*NA = não aplicável.

Tabela 19. Distribuição alélica do polimorfismo genético rs1800796 do gene IL6 e frequência genotípica investigados no grupo B (crianças e adolescentes) individualmente e comparativamente.

GRUPO	Alelo G (ancestral)		Alelo C (variante)		Genótipo GG		Genótipo GC		Genótipo CC	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
CDM+G	1	8,4	11	91,6	0	0	1	9,1	10	90,9
CDM-G	3	10,7	25	89,3	0	0	3	21,4	11	78,6
CN+G	4	7,3	51	92,7	1	3,6	3	10,7	24	85,7
CN-G	57	90,5	6	9,5	1	3,1	5	15,6	26	81,3

COMPARAÇÕES	OR_{alelo} (95%IC) p	OR_{Het} (95%IC) p	OR_{Hom} (95%IC) p	OR_{Dom} (95%IC) p	OR_{Rec} (95%IC) p
CDM+G x CDM-G	1,32 (0,12-14,15) 1	NA*	NA*	NA*	2,72 (0,24-30,6) 0,60
CN+G x CN-G	121,1 (32,3-145,3) <0,0001	0,11 (0,006-2,13) 0,22	0,87 (0,05-14,6) 1	0,87 (0,05-14,6) 1	0,79 (0,23- 2,69) 0,76
CDM+G x CN+G	0,36 (0,10-1,21) 0,10	NA*	NA*	NA*	1,66 (0,16-16,8) 1
CDM+G x CN-G	104 (11,4-136,6) <0,0001	NA*	NA*	NA*	2,3 (0,24-21,6) 0,65

*NA = não aplicável.

Tabela 20. Distribuição alélica do polimorfismo genético rs662 do gene PON-1 e frequência genotípica investigados no grupo B (crianças e adolescentes) individualmente e comparativamente.

GRUPO	Alelo G (ancestral)		Alelo A (variante)		Genótipo GG		Genótipo GA		Genótipo AA	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
CDM+G	6	27,3	16	72,7	0	0	6	54,5	5	45,5
CDM-G	7	24,1	22	75,9	1	6,6	6	40	8	53,4
CN+G	35	58,3	25	41,7	12	40	11	36,6	7	23,4
CN-G	25	39,1	39	60,9	6	18,8	13	40,6	13	40,6

COMPARAÇÕES	OR_{alelo} (95%IC) p	OR_{Het} (95%IC) p	OR_{Hom} (95%IC) p	OR_{Dom} (95%IC) p	OR_{Rec} (95%IC) p
CDM+G x CDM-G	0,84 (0,23-3,01) 1	3 (0,1-88,2) 1	NA*	NA*	0,72 (0,15-3,47) 1
CN+G x CN-G	0,45 (0,22-0,93) 0,047	0,42 (0,11-1,5) 0,22	0,26 (0,07-1,03) 0,10	0,34 (0,10-1,09) 0,093	0,44 (0,14-1,33) 0,18
CDM+G x CN+G	3,73 (1,28-10,88) 0,023	NA*	NA*	NA*	2,7 (0,63-11,7) 0,24
CDM+G x CN-G	1,70 (0,58-4,9) 0,44	NA*	NA*	NA*	1,21 (0,30-0,48) 1

*NA = não aplicável.

Tabela 21. Distribuição alélica do polimorfismo genético rs854560 do gene PON-1 e frequência genotípica investigados no grupo B (crianças e adolescentes) individualmente e comparativamente.

GRUPO	Alelo A (ancestral)		Alelo C (variante)		Genótipo AA		Genótipo AC		Genótipo CC	
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
CDM+G	12	54,5	10	45,5	3	27,3	6	54,5	2	18,2
CDM-G	11	39,3	17	60,7	5	35,7	7	50	2	14,3
CN+G	46	77,9	13	22,1	17	56,7	12	40	1	3,3
CN-G	41	64	23	36	12	37,5	17	53,1	3	9,4

COMPARAÇÕES	OR_{alelo} (95%IC) p	OR_{Het} (95%IC) p	OR_{Hom} (95%IC) p	OR_{Dom} (95%IC) p	OR_{Rec} (95%IC) p
CDM+G x CDM-G	0,53 (0,17-1,67) 0,39	1,42 (0,23-8,64) 1	1,66 (0,14-18,8) 1	1,48 (0,26-8,2) 1	1,33 (0,15-11) 1
CN+G x CN-G	0,5 (0,22-1,12) 0,11	0,49 (0,17-1,41) 0,21	0,23 (0,02-2,54) 0,30	0,45 (0,16-1,26) 0,2	0,33 (0,03-3,4) 0,61
CDM+G x CN+G	2,94 (1,04-8,35) 0,05	2,83 (0,58-13,6) 0,26	11,3 (0,76-16,8) 0,10	3,48 (0,76-15) 0,15	6,4 (0,52-79,6) 0,170
CDM+G x CN-G	1,48 (0,55-3,96) 0,45	1,41 (0,29-6,79) 1	2,66 (0,29-23,8) 0,55	1,6 (0,35-7,2) 0,71	2,1 (0,3-14,9) 0,58

6. DISCUSSÃO

A DP é uma doença inflamatória complexa, associada à infecção bacteriana e de etiologia multifatorial (Stabholz *et al.*, 2000; Correia *et al.*, 2010; Correa *et al.*, 2010; Vieira *et al.*, 2010; Hernández *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2011). DM é caracterizado por deficiência parcial ou total na produção de insulina ou por resistência à sua ação, levando a uma anormalidade nos metabolismos glicídico, protéico e lipídico, que resulta em hiperglicemia capaz de induzir múltiplas anormalidades sistêmicas (Alvez *et al.*, 2007; Ünür *et al.*, 2008; Chang & Lim, 2012; Pinheiro *et al.*, 2012) e representar um importante fator de risco para a gengivite e a DP (Aspriello *et al.*, 2011).

DP e DM são doenças crônicas com uma grande prevalência e inter-relacionadas por meio dos mecanismos patológicos que as caracterizam (Scannapieco *et al.*, 2010; Vieira *et al.*, 2010). Os fatores etiológicos associados a um aumento da prevalência e/ou severidade da DP em indivíduos de todas as faixas etárias com DM envolvem a combinação de infecções bacterianas específicas, também responsáveis pelas alterações dos níveis metabólicos e lipídicos no DM, e uma resposta imunológica alterada frente à agressão destes patógenos existentes no biofilme dental (Grossi & Genco, 1998; Guzmán *et al.*, 2003; Pérez *et al.*, 2004; Lalla *et al.*, 2007; Struck *et al.*, 2008; Raunio *et al.*, 2009; Xiao *et al.*, 2009; Correia *et al.*, 2010; Vieira *et al.*, 2010).

Tanto DP quanto DM são doenças multifatoriais, em que a carga genética do indivíduo pode atuar cumulativamente ou interagir com outros fatores de risco, influenciando a ocorrência e a severidade de ambas as doenças. Pelo fato das frequências dos alelos polimórficos variarem entre as diferentes etnias e o resultado da associação de polimorfismos genéticos com a suscetibilidade as diferentes doenças também variarem (Stabholz *et al.*, 2000; Holla *et al.*, 2004; López *et al.*, 2011), o desequilíbrio de citocinas comuns, incluindo a IL1- β e o TNF- α , podem representar um mecanismo patogênico comum para estas doenças (Grossi *et al.*, 2001; Lacopino, 2001).

O presente estudo avaliou a presença de 6 polimorfismos em potencial nos genes de citocinas e de uma enzima oxidativa que pudessem estar envolvidos nos mecanismos etiopatogênicos da DP e/ou do DM como uma das características fenotípicas em uma população adulta e outra de crianças e adolescentes brasileiros, notou-se a presença de 3 polimorfismos genéticos como marcadores de risco para a DP e/ou DM no grupo de adultos (rs1143634 do gene IL1- β , rs1800629 do gene TNF- α e rs1800796 do gene IL6) e 1 polimorfismo genético como marcador de risco para a DP e/ou DM no grupo de crianças e adolescentes (rs1800796 do gene IL6).

A IL1 está diretamente envolvida na degradação da matriz extracelular óssea e dos tecidos periodontais em resposta a uma inflamação exagerada na DP ativa (Loos *et al.*, 2005; Moreira *et al.*, 2005; De Freitas *et al.*, 2007; Moreira *et al.*, 2007; Guzeldemir *et al.*, 2008; Struch *et al.*, 2008), sendo também bem estabelecido o seu papel de facilitador da degranulação de neutrófilos, o que também colabora com este processo ao inibir a síntese de colágeno (Greenstein & Hart, 2002; Grigoriadou *et al.*, 2010). Adicionalmente, a hiperglicemia no DM é considerada um estado pró-inflamatório que resulta em aumento dos níveis circulantes de citocinas, incluindo IL1- α e IL1- β (Raunio *et al.*, 2009; Grisham *et al.*, 2012), este último já identificado no fluido crevicular gengival e nos tecidos gengivais de pacientes com DP, especialmente nos pacientes portadores de DM2 em estado de hiperglicemia (Díaz-Romero & Ovadía, 2007; Struch *et al.*, 2008).

O papel do polimorfismo no gene de IL1 na avaliação de risco para a DP é controverso visto que alguns estudos destacaram que os polimorfismos no gene IL1 estão associados a uma maior severidade de DPs (Kornman *et al.*, 1997; Papapanou *et al.*, 2001), enquanto outros não encontraram associação entre estes polimorfismos e a incidência, o início ou a severidade da DP (Rogers *et al.*, 2002; López *et al.*, 2005). Estes resultados conflitantes podem ser justificados pelas variações na frequência de polimorfismos genéticos de acordo com a etnia ou os critérios de diagnóstico utilizados para a DP (Greenstein & Hart, 2002; Kinane & Hart, 2003; López *et al.*, 2005).

No presente estudo, embora no grupo de pacientes adultos, o genótipo CT tenha sido observado em maior frequência nos indivíduos normoglicêmicos com DP

(AN+DP), não foi identificada uma associação polimórfica do gene IL1- α (-889) com a DP e/ou o DM em ambos os grupos; de forma similar a outros estudos que analisaram este mesmo polimorfismo em uma população adulta normoglicêmica com e sem DP de origem chilena (López *et al.*, 2005), em uma população adulta mista com indivíduos normoglicêmicos com DP e indivíduos diabéticos sem DP de origem hispânica, afro-americana, caribenha, asiática e médio-oriental (Guzmán *et al.*, 2003), e em uma população adulta normoglicêmica com e sem DP de origem brasileira (De Freitas *et al.*, 2007). Mas, em contraposição aos resultados obtidos no estudo conduzido por Struch *et al.* (2008) com indivíduos pomerianos normoglicêmicos e diabéticos, que identificou uma associação entre este polimorfismo e o risco aumentado para o desenvolvimento da DP em pacientes portadores de DM2; e no estudo conduzido por Trevilatto *et al.* (2011) com indivíduos brasileiros normoglicêmicos, que identificou uma associação entre este polimorfismo e o risco para a DP.

A associação do polimorfismo de IL1- β com DP e DM foi descrita no trabalho realizado por López *et al.* (2009), que avaliou em uma população chilena a importância do papel desta citocina na patogenia da DP pelo fato de estar envolvida em muitos mecanismos patogênicos importantes para o desenvolvimento da DP. Neste estudo, foi identificada uma associação significativa entre o genótipo homozigoto TT e o genótipo heterozigoto CT com DM e DP, o que também foi observado no grupo de indivíduos adultos de nosso estudo, no qual não apenas a presença do genótipo variante TT foi mais frequente em indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP), mas também a presença do alelo T foi considerada um possível fator de risco para o DM em pacientes com DP, para a DP em indivíduos normoglicêmicos, e para o DM e para a DP em pacientes considerados normais, assim como para a DP em indivíduos normoglicêmicos.

Estes resultados também estão em concordância com os resultados obtidos por Moreira *et al.* (2005), em um estudo conduzido com uma população brasileira, que também identificaram a presença do genótipo variante TT mais frequentemente em indivíduos com DP, sugerindo que o polimorfismo no gene IL1- β (+3954) é um fator de risco para a DP em indivíduos normoglicêmicos; e com os resultados obtidos por

Struch *et al.* (2008), em um estudo conduzido com uma população pomeriana, que também identificaram uma associação significativa entre o polimorfismo no gene IL- β (3954) e a DP e o DM, em que os indivíduos diabéticos que apresentavam o genótipo heterozigoto CT ou o genótipo homozigoto TT, apresentaram um risco de 3,84 vezes para o desenvolvimento da DP. Em nosso estudo, ao compararmos indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) e indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP), os indivíduos portadores dos genótipos CT e TT apresentaram um risco de 51,7 vezes para o DM e a DP. Não identificamos associação polimórfica do gene IL1- β no grupo de crianças e adolescentes, o que pode representar uma ausência de associação verdadeira ou pode ser justificado pelo tamanho limitado de nossa amostra.

Assim como IL1- β , a citocina TNF- α é considerada um importante mediador químico da inflamação (Guzeldemir *et al.*, 2008), que pode estar presente na resposta inflamatória observada na DP (Pérez *et al.*, 2004). TNF- α estimula a produção de derivados de mediadores inflamatórios, resultando em maior grau de inflamação (Bradley, 2008; Laine *et al.*, 2009) ao induzir a secreção de colagenase, prostaglandina E2 e IL-6 em fibroblastos e em células ósseas para estimular também a reabsorção e remodelação óssea pelos osteoclastos (De Freitas *et al.*, 2007; Guzeldemir *et al.*, 2008; Schett, 2011); assim, sua desregulação pode estar associada com a patogenese da DP (Dhadse *et al.*, 2010; Deo & Bhongade 2010; Andrukhov *et al.*, 2011; Preshaw & Taylor, 2011) e do DM (Spranger *et al.*, 2003; Goldberg, 2009), e ela tem sido identificada em níveis elevados no fluido gengival e no soro de pacientes com gengivite e com DP (Pérez *et al.*, 2004; De Freitas *et al.*, 2007; Nikolopoulos *et al.*, 2008), e também no soro de pacientes com DM, podendo levar a alterações no metabolismo lipídico e a hiperlipidemia (Hotamisligil *et al.*, 1993; Dandona *et al.*, 1998; Aguillón *et al.*, 2002; Hotamisligil, 2003; Pérez *et al.*, 2004).

Diferentes estudos têm avaliado a associação entre os polimorfismos do gene TNF- α e a presença e/ou severidade da DP e do DM (Pérez *et al.*, 2004; De Freitas *et al.*, 2007; Vitale *et al.*, 2007; Guzeldemir *et al.*, 2008; Menezes & Colombo, 2008; Trombone *et al.*, 2009; Laine *et al.*, 2010), porém, a maioria deles não têm identificado

nenhuma associação entre os diferentes polimorfismos do gene TNF- α estudados e o desenvolvimento da DP e/ou DM (Pérez *et al.*, 2004; De Freitas *et al.*, 2007; Guzeldemir *et al.*, 2008; Menezes & Colombo, 2008), exceto pela associação positiva dos polimorfismos nos *loci* -1031, -857 e -863 do gene TNF- α com a DP em uma população japonesa, sugerindo uma possível relação étnica (Laine *et al.*, 2010). Nossos resultados demonstraram ausência de associação polimórfica do gene TNF- α (-308) no grupo de crianças e adolescentes, contudo, no grupo de indivíduos adultos, foi possível identificar que a presença do alelo variante A pode ser considerada um fator de risco para o DM em indivíduos com DP em um risco de 22,7 vezes e um fator de risco para o DM e a DP em indivíduos considerados normais em um risco de 2,9 vezes. No estudo conduzido por Menezes e Colombo (2008), que também analisaram uma população adulta brasileira, a presença do alelo variante A foi mais frequente em indivíduos com DP quando comparado aos indivíduos sem DP, mas não foi observada associação entre o polimorfismo do gene TNF- α e a DP; uma associação que também não foi observada no estudo conduzido por Pérez *et al.* (2004) com indivíduos adultos chilenos normoglicêmicos e diabéticos com e sem DP. Além disso, no presente estudo, encontramos o genótipo homozigoto AA mais frequentemente em indivíduos diabéticos com DP (ADM+DP) quando comparado aos indivíduos normoglicêmicos com DP (AN+DP), sugerindo que este genótipo possa ser um fator de risco para DM em pacientes com DP em um risco de 16,02 vezes. É importante destacar que a presença deste genótipo homozigoto AA não foi encontrada em nenhum indivíduo normoglicêmico com saúde periodontal em nosso estudo. Outro estudo realizado com uma população brasileira identificou que a presença do alelo A no gene TNF- α (-308) pode ser considerado um fator de risco independente para o aumento dos níveis de TNF- α nos tecidos periodontais de pacientes com DP, podendo assim, ser também considerada um fator de risco para DP (Trombone *et al.*, 2009).

A IL6 é uma citocina pleiotrópica encontrada em níveis elevados no fluido crevicular de pacientes com DP e é responsável pelo estímulo de osteoclastos associados à reabsorção óssea (Correia *et al.*, 2010), e também é encontrada em níveis elevados em pacientes obesos e com DM2, provavelmente por estar associada com a resistência à insulina e ao DM2 (Senn *et al.*, 2002).

Estudos na literatura demonstraram a associação entre os polimorfismos no gene IL6 com a progressão da DP e do DM (Holla *et al.*, 2004; Illig *et al.*, 2004; Brett *et al.*, 2005; Hamid *et al.*, 2005), sugerindo, assim, que estes polimorfismos possam desempenhar funções na progressão da DP agravada pelo DM (Xiao *et al.*, 2009). Nosso estudo destacou que o genótipo CC não foi identificado no grupo de indivíduos adultos diabéticos com saúde periodontal (ADM-DP) e que a presença do alelo variante C pode ser considerada um fator de risco de 2,38 vezes para o DM em pacientes com DP, um fator de risco de 1,94 vezes para a DP em pacientes diabéticos, e um fator de risco de 2,87 vezes para a DP e o DM em pacientes normoglicêmicos e com saúde periodontal. Além disso, foi possível também identificar que o alelo ancestral G foi mais frequente nos indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (AN-DP), de forma similar ao estudo de Trevilato *et al.* (2003) com indivíduos brasileiros adultos. Neste contexto, é importante destacar os estudos conduzidos por Raunio *et al.* (2009) e por Herbert *et al.* (2005), que identificaram a presença do genótipo homozigoto GG como um polimorfismo potencialmente protetor para a DP e para o DM, respectivamente.

Estudos de meta-análise, realizados por Huth *et al.* (2006) e por Shao *et al.* (2010), identificaram que o polimorfismo -572 (C/G) no gene IL6 está associado com a patogênese da DP (Shao *et al.*, 2010) e que o polimorfismo -174 (G/C) no gene IL6 está associado com um maior risco para o desenvolvimento do DM2 (Huth *et al.*, 2006), resultados que não foram compartilhados por Xiao *et al.* (2009) em um trabalho desenvolvido com indivíduos chineses e que não encontrou associação significativa entre o polimorfismo no gene IL6 (-174) e a DP e o DM, embora este grupo de autores tenha identificado um genótipo no gene IL6 (-572) único para o grupo de indivíduos diabéticos com DP associado a presença do alelo C. Revisão realizada por Laine *et al.* (2010) destacou que o polimorfismo no *locus* 174 do gene IL6 pode ser um fator de risco para o desenvolvimento da DP em pacientes brasileiros e que o polimorfismo no *locus* 572 do gene IL6 pode ser um fator protetor ao desenvolvimento da DP. Além dos estudos realizados para identificação da associação dos polimorfismos do gene IL6 com a DP, é importante ressaltar que Koh *et al.* (2009) investigaram a associação destes polimorfismos com o desenvolvimento do DM2 em um grupo de indivíduos

coreanos e identificaram que somente o genótipo GG do SNP –572 (C/G) do gene IL6 estava associado com risco aumentado de desenvolver DM2.

A DP é uma das numerosas complicações do DM em adultos, porém é menos esclarecida em crianças com a mesma doença (Oliver e Ternoven, 1994), embora, de um modo geral, seja esperado que crianças portadoras de DM tenham maior chance de desenvolverem um quadro de gengivite (Al-Khabbaz *et al.*, 2013). O estudo destes polimorfismos genéticos na amostra deste estudo, a amostra de crianças e adolescentes apresenta certas limitações pelo seu tamanho reduzido, embora os estudos que avaliem a associação de polimorfismos genéticos com a DP e/ou DM sejam escassos e geralmente incluem também um número limitado de indivíduos (Dashash *et al.*, 2006; Dashash *et al.*, 2007; Holla *et al.*, 2008a; Al-Khabbaz *et al.*, 2013). Ainda assim, em nosso estudo, a presença do alelo C foi mais frequente em todos os grupos exceto no grupo de indivíduos normoglicêmicos com saúde gengival, e a sua presença pôde ser fortemente associada com a gengivite levando a um fator de risco de 121,1 vezes de um indivíduo normoglicêmico desenvolver gengivite e a um fator de risco de 104 vezes para o desenvolvimento do DM e da gengivite em indivíduos considerados normais. O estudo conduzido por Holla *et al.* (2008 a) com um grupo de crianças normoglicêmicas de origem tcheca identificou que a presença do alelo C foi significativamente maior nos indivíduos com gengivite, sendo sugerido que a presença do alelo C seja um fator de risco para a gengivite independentemente da presença de placa bacteriana e que o genótipo CC estava presente com maior frequência nos indivíduos com inflamação gengival, indicando que o polimorfismo no gene IL-6 poderia desempenhar um importante papel na patogênese da gengivite em crianças.

Sabe-se que a atividade da PON-1 é influenciada por polimorfismos genéticos, portanto, os polimorfismos da região codificadora do gene PON-1 têm sido comumente investigados (Mohamed Ali *et al.*, 2008). A enzima paraoxonase tem sido identificada como um fator de risco independente para as doenças genéticas vasculares especialmente no DM2 (Ruiz *et al.*, 1995, Blatter Garin *et al.*, 1997; Odawara *et al.*, 1997; Mackness *et al.*, 1991; Sakai *et al.*, 1998), mas também tem

surgido como um fator de risco independente em indivíduos normoglicêmicos (Serrato e Marian, 1995).

Neste estudo, não foi encontrada associação polimórfica com DP e DM e o gene PON-1-192 e PON-1-55 em nenhum dos grupos avaliados. Em estudo recente realizado por Noack *et al.* (2012), com um grupo de indivíduos alemães, foi sugerida uma associação entre a baixa atividade da enzima PON-1 e o risco de DP em indivíduos portadores de DM2. Seguindo esta linha, o trabalho conduzido por Ünür *et al.* (2008) com um grupo de indivíduos indianos para investigação da associação dos polimorfismos dos *loci* 55 e 192 do gene PON-1 com o DM2 e a presença de lesões orais, como a DP, identificou que a atividade de PON-1 estava bastante reduzida nos pacientes com DM2 quando comparados ao grupo de pacientes normoglicêmicos, embora esta menor atividade não tenha sido associada com a presença de nenhum dos polimorfismos estudados; contudo, a presença do polimorfismo do gene PON-1 (-55) exibiu um risco para o desenvolvimento de alterações gengivais e periodontais no grupo de pacientes com DM2. Outros estudos de PON-1 em pacientes diabéticos tem demonstrado o decréscimo na atividade da enzima neste grupo particular de pacientes (James *et al.*, 2000; Agachan *et al.*, 2005). É importante destacar que, ainda são poucos os estudos da enzima PON-1 e os resultados são ainda incipientes; e, além disso, seu papel e função na patogênese da DP e do DM ainda não foram completamente elucidados.

Embora seja bem estabelecido que DP e DM reflitam a ação de fatores genéticos e ambientais, este estudo limitou-se a analisar somente a possível influência genética nestas doenças, excluindo a influência dos fatores ambientais coexistentes, o que pode limitar nossos achados. Além disso, mesmo levando em consideração que todos os polimorfismos genéticos estudados já foram avaliados e identificados em outros estudos, o tamanho de nossas amostras, particularmente no grupo de crianças e adolescentes, pode também representar outro fator limitador dos nossos resultados, uma vez que efeitos pequenos podem ter sido perdidos.

Em resumo, nosso estudo está de acordo com outros estudos que demonstraram a associação ou não entre os polimorfismos nos genes das citocinas

IL1, IL6, TNF- α e enzima PON-1, enfatizando que tais alterações possam participar de um contexto genético único com contribuições etiológicas específicas. Ainda, nosso estudo deve incentivar a aplicação de uma abordagem semelhante em amostras maiores e que abriguem populações miscigenadas, como a brasileira, para aumentar a atual compreensão e eventos genéticos que contribuem para estas duas doenças tão complexas.

7. Conclusão

1. Para o polimorfismo rs1143634 no gene IL1- β , foi possível concluir que, no grupo de pacientes adultos, a presença do alelo T pode ser considerada um fator de risco para o DM em indivíduos com DP, para a DP em indivíduos normoglicêmicos, e para o DM e a DP em indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal (controles); e que a presença do genótipo homozigoto TT pode estar associada ao DM e à DP.
2. Para o polimorfismo rs1800629 no gene TNF- α , foi possível concluir que, no grupo de pacientes adultos, a presença do alelo A pode ser considerada um fator de risco para o DM em indivíduos com DP e para o DM e a DP em pacientes normoglicêmicos com saúde periodontal (controles).
3. Para o polimorfismo rs1800796 no gene IL6, foi possível concluir que, no grupo de pacientes adultos, a presença do alelo C pode ser considerada um fator de risco para o DM em indivíduos com DP, para a DP em indivíduos diabéticos, e para o DM e a DP em indivíduos normoglicêmicos com saúde periodontal.
4. Para os polimorfismos rs1800587 no gene IL1- α , rs662 do gene PON-1 e rs854560 do gene PON-1 não foi possível identificar nenhuma associação significativa com o DM e/ou a DP na população de adultos estudada.
5. No grupo de crianças e adolescentes, somente o polimorfismo rs1800796 no gene IL6 apresentou associação polimórfica com o DM e a gengivite.

Referências

- Adkins S, Gan KN, Mody M, La Du BN. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase. glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. *Am J Hum Genet.* 1993 Mar; 52(3): 598–608.
- Agachan B, Yilmaz H, Ergen H.A, Karaali ZE, Isbir T. Paraoxonase (PON-1) 55 and 192 Polymorphism and Its Effects to Oxidant-Antioxidant System in Turkish Patients with Type 2 Diabetes Mellitus . *Physiol. Res.* 2005; 54(3): 287-293.
- Aguillón JC, Cruzat A, Cuenca J, Cuchacovich T. El polimorfismo genético del factor de necrosis tumoral alfa como factor de riesgo en patología. *Rev Méd Chile.* 2002 Sep; 130 (9): 1043-50.
- Al-Khabbaz AK, Al-Shammari KF, Hasan A, Abdul-Rasoul M. Periodontal Health of Children with Type 1 Diabetes Mellitus in Kuwait: A Case-Control Study. *Med Princ Pract.* 2013 Oct; 22(2):144–149.
- Altuner D, Suzen SH, Ates I, Koc GV, Aral Y, Karakaya A. Are PON-1 Q/R 192 and M/L 55 polymorphisms risk factors for diabetes complications in Turkish population? *Clinical Biochemistry.* 2011 Apr; 44(5-6): 372–376.
- Alves C, Andion J, Brandão M, Meneze R. Mecanismos Patogênicos da Doença Periodontal Associada ao Diabetes Melito. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2007; 51(7): 1050-1057.
- American Diabetes Association. Position Statement. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2009; 32: S62-S67.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2010; 33 (Suppl. 1): S62 – S69.

Andrukhov O, Ulm C, Reischl H, Nguyen P Q, Matejka M, Rausch-Fan X. Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load. J Periodontol. 2011 Jun; 82(6):885-892.

Armitage GC, Wu Y, Wang HY, Sorrell J, Di Giovine FS, Duff GW. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. J Periodontol 2000. 2000 Feb; 71(2): 164-171.

Armitage GC. Diagnosis of periodontal disease. J Periodontol. 2003 Aug; 74 (8): 1237-1247.

Aspriello SD, Zizzi A, Tirabassi G, Buldreghini E, Biscotti T, Faloia E, *et al*. Diabetes mellitus-associated periodontitis: differences between type 1 and type 2 diabetes mellitus. J Periodontal Res. 2011 Apr; 46 (2):164–169.

Aviram M, Ronsenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein and preserves its functions: a possible peroxidative role for paraoxonase. J Clin Invest.1998 Apr; 101(8): 1581-1590.

Bajaj S, Prasad S, Gupta A, Singh VB. Oral manifestations in type 2 diabetes and related complications. Indian Journal Endocrinology and Metabolism. 2012 Sep; 16(5): 777-779.

Banerjee M, Saxena M. Interleukin-1 (IL-1) family of cytokines: Role in Type 2 Diabetes. Clinica Chimica Acta. 2012 Aug; 413(15-16): 1163–1170.

Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. Diabetes. 1999 Jan; 48(1): 1-9.

Beck JD, Slade G, Offenbacher S. Oral disease, cardiovascular disease and systemic inflammation. Periodontology 2000. 2000 Jun; 23(1): 110–120.

Bickel M, Axtelius B, Solioz C, Attström R. Cytokine gene expression in chronic periodontitis: Cytokine gene expression in chronic periodontitis. J Clin Periodontol. 2001 Sep; 28 (9): 840–847.

Blatter Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanche H, Passa P, Froguel P, *et al.* Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *J Clin Invest.* 1997 Jan; 99(1): 62–66.

Bradley, J. R. TNF-mediated inflammatory disease. *Journal of Pathology.* 2008 Jan; 214(2): 149 – 160.

BRASIL: Secretaria de Vigilância em Saúde. A Vigilância, o controle e a prevenção de doenças crônicas não transmissíveis: DCNT no controle do Sistema Único de Saúde Brasileiro. Brasília, 2005.

Brett PM, Zygogianni P, Griffiths GS, Tomaz M, Parkar M, D’Aiuto F *et al.* Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2005 Dec; 84: 1149–1153.

Bullon P, Morillo JM, Ramirez-Tortosa MC, Quiles JL, Newman HN, Battino M. Metabolic syndrome and periodontitis: Is oxidative stress a common link? *J Dent Res.* 2009 Jun; 88 (6): 503-518.

Caffesse RG, De LaRosa MR, De LaRosa, Mota LF. Prevalence of interleukin 1 periodontal genotype in a Hispanic dental population. *Quintessence Int.* 2002 Mar; 33(3): 190-194.

Cataño HC, Cueva JL, Cardenas AM, Izaguirre V, Zavaleta AI, Carranza E, *et al.* Distribution of Paraoxonase-1 gene polymorphism and Enzyme activity in a peruvian population. *Environ Mol Mutagen.* 2006 Dec; 47(9): 699-706.

Chang PC, Lim LP. Interrelationships of periodontitis and diabetes: A review of the current literature. *Journal of dental Sciences.* 2012 Sep; 7(3): 272-282.

Correia D, Alcoforado G, Mascarenhas P. Influência da Diabetes Mellitus no Desenvolvimento da Doença Periodontal. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2010; 51(3):167-176.

Costa LG, Cole TB, Jarvik GP, Furlong CE. Functional genomics of the paraoxonase (PON 1) polymorphism. Effects on pesticide sensitivity, cardiovascular disease and drug metabolism. *Annu Rev Med*. 2003 Dec; 54: 371-392.

Costa LG, Giordano G, Furlong CE. Pharmacological and dietary modulators of paraoxonase 1 (PON-1) activity and expression: the hunt goes on. *Biochem Pharmacol*. 2011 Feb; 81 (3): 337-444.

Covani U, Marconcini S, Giacomelli L, Sivozhelevov V, Barone A, Nicoline C. Bioinformatic prediction of leader genes in human periodontitis. *J Periodontol*. 2008 Oct; 79(10): 1974-1983.

Cruz NG, Sousa LP, Sousa MO, Pietrani NT, Fernandes AP, Gomes KB, *et al*. The linkage between inflammation and Type2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2012 Feb; 2(99): 85-92.

Dandona P, Weinstock R, Thusu K, Abdel-Rahman E, Aljada A, Wadden T. Tumor necrosis factor- α in sera of obese patients: fall with weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998 Aug; 83(8):2907-10.

Dashash M, Drucker DB, Blinkhorn AS. Interleukin-10 haplotype frequencies in children with gingivitis. *J Periodontol*. 2006 Sep; 77(9):1503-9.

Dashash M, Drucker DB, Hutchinson IV, Bazrafshani MR, Blinkhorn AS. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and gingivitis in children. Oral Dis. 2007 May; 13(3):308-13.

Davies HG, Richter RJ, Keifer M, Broomfield CA, Sowalla J, Furlong CE. The effect of the human serum Paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nat Genet*. 1996 Nov; 14(3): 334–336.

De Freitas NM, Imbronito AV, Neves AC, Nunes FD, Pustiglione FE, Lotufo RFM. Analysis of IL-1A (-889) and TNFA (-308) gene polymorphism in Brazilian patients with generalized aggressive periodontitis. *Eur. Cytokine Netw*. 2007 Sep; 18(3): 142-147.

Deo V, Bhongade M. L. Pathogenesis of periodontitis: role of cytokines in host response. *Dentistry Today*. 2010 Sep; 29(9): 60-66.

Dhadse P, Gattani D, Mishra R. The link between periodontal disease and cardiovascular disease: how far we have come in last two decades? *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2010 Jul; 14(3): 148-154.

Díaz-Romero R M, Ovadía R. Diabetes and periodontal disease: bidirectional relationship. *Medicine and Biology*. 2007; 14(1): 6-9.

Diehl SR, Wang YF, Brooks CN, Burmeister JÁ, Califano JV, Wang S, *et al*. Linkage Disequilibrium of Interleukin-1 genetic polymorphisms with early-onset periodontitis. *J Periodontol*. 1999 Apr; 70(4): 418-430.

Ding J, Cheung CY, Ikram MK, Zheng YF, Cheng CY, Lamoureux EL. Early retinal arteriolar changes and peripheral neuropathy in diabetes. *Diabetes Care* 2012 May; 35(5): 1098–104.

Dinarello CA. Immunological and Inflammatory Functions of the Interleukin-1 Family. *Annu Rev Immunol*. 2009; 27:519-550.

Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, Osawa Y, Sunahara R, La Du BN. Human paraoxonases (PON-1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J. Lipid Res*. 2005 Jun; 46(6): 1239-1247.

Duarte PM, Miranda TS, Lima JÁ, Gonçalves TED, Santos VR, Bastos MF, *et al*. Expression of Immune-Inflammatory Markers in Sites of Chronic Periodontitis in Patients With Type 2 Diabetes. *J Periodontol*. 2012 Apr; 83(4): 426-434.

Duarte PM, Neto JBC, Casati MZ, Salum EA, Nociti Jr FH. Diabetes modulates gene expression in the gingival tissues of patients with chronic periodontitis. *Oral Diseases*. 2007 Nov; 13(6): 594–599.

Farbstein D, Levy AP. The Genetics of Vascular Complications in Diabetes Mellitus. *Cardiol Clin*. 2010 Aug; 28(3): 477–496.

Feldmeyer L, Werner S, French LE, Beeret HD. Interleukin-1, inflammasomes and the skin. *Eur J Cell Biol.* 2010 Sep; 89(9): 638–644.

Ferretti G, Bacchetti T, Marchionni C, Caldarelli L, Curatola G. Effect of glycation of high density lipoproteins on their physicochemical properties and on paraoxonase activity. *Acta Diabetol.* 2001 Dec; 38(4): 163-169.

Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest.* 1998 Oct; 102 (7): 1369–1376.

Franch-Chillida F, Nibali L, Madden I, Donos N, Brett P. Association between interleukin-6 polymorphisms and periodontitis in Indian non-smokers. *J Clin Periodontol.* 2010 Feb; 37(2): 137-144.

Frigo LF, Silva RM, Mattos KM, Boeira GS, Manfi F, Piaia E, Mendes TG. Ação educativa interdisciplinar para pacientes com diabetes na atenção básica: uma revisão bibliográfica. *Rev Epidemiol Control Infect.* 2012; 2(4): 141-143.

Furlong CE, Holland N, Richter RJ, Bradman A, Ho A, Eskenazi B. PON-1 status of farmworker mothers and children as a predictor of organophosphate sensitivity. *Pharmacogenet Genomics.* 2006 Mar; 16(3): 183-190.

Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y. A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol.* 2005 Nov; 76 suppl 11: 2075-2084.

Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care.* 1996 Mar; 19(3): 257-267.

Goldberg RB. Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its

complications. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2009 Sep; 94 (9): 3171–3182.

Gonçalves LS, Ferreira SM, Souza CO, Colombo APV. IL-1 gene polymorphism and periodontal status of HIV Brazilians on highly active antirretroviral therapy. Aids. 2006 Aug; 20(13): 1779–1784.

Goswani B, Tayal D, Gupta N, Malika V. Paraoxonase: A multifaceted biomolecule. Clin Chim Act. 2009 Dec; 410(1-2): 1-12.

Greenstein G, Hart TC. A critical assessment of interleukin-1 (IL-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. J Periodontol. 2002 Feb; 73(2): 231-247.

Gregghi SLA, Brito MCT, Oliveira MR, Guimarães MCM. Relação entre diabetes mellitus e doença periodontal. Rev APCD. 2002 (Jul/Ago); 56 (4): 265-269.

Grigoriadou ME, Koutayas SO, Madianos PN, Strub JR. Interleukin-1 as a genetic marker for periodontitis: review of the literature. Quintessence Int. 2010 Jun; 41(6): 517-525.

Grishman KE, White PC, Savani RC. Toll-like receptors, the NLRP3 inflammasome, and interleukin-1 β in the development and progression of type 1 diabetes. Pediatric Research. 2012 Jun; 71(6): 626–632.

Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE, *et al.* Assessment of risk for periodontal disease. Risk indicators for attachment loss. J Periodontol. 1994 Mar; 65(3): 260-267.

Gupta N, Gill S, Singh S. Paraoxonases: structure, gene polymorphism & role in coronary disease. Indian J Med Res. 2009 Oct; 130 (4): 361-368.

Gupta N, Binukumar BK, Singh S, Sunkaria A, Kandimalla R, Bhansali A, *et al.* Serum paraoxonase-1 (PON-1) activities (PONase/AREase) and polymorphisms in patients with type 2 diabetes mellitus in a North-West Indian population. Gene. 2011 Nov; 487(1):88-95.

Gurav AN. Periodontal therapy na adjuvante for glycemic control. Diabetes & Metabolic Syndrome. Clin Res Ver. 2012 Oct-Dec; 6(4): 218–223.

Guzeldemir E, Gunhan M, Ozcelik O, Tastan H. Interleukin-1 and tumor necrosis factor- α gene polymorphisms in Turkish patients with localized aggressive periodontitis. Journal of Oral Science. 2008 Jun; 50(2): 151-159.

Guzmán S, Karima M, Wang HY, Dyke TEV. Association between interleukin-1 genotype and periodontal disease in diabetic population. J Periodontol. 2003 Aug; 74 (8): 1183-1190.

Hamid YH, Rose CS, Urhammer SA, Glümer C, Nolsoe R, Kristiansen OP, *et al.* Variations of the interleukin-6 promoter are associated with features of the metabolic syndrome in Caucasian Danes. Diabetologia. 2005 Feb, 48(2): 251-260.

Harel M, Aharoni A, Gaidukov L. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and antiatherosclerotic enzymes. Nat Struct Mol Biol. 2004 May; 11(5): 412-419.

Hassel TM, Harris EL. Genetic influences in caries and periodontal diseases. Crit Rev Oral Biol Med 1995; 6(4): 319.

Harms K C, Kapitza K P, Pahl L, Tran A, Volkmann L, Buers D, *et al.* Association of TNF- α polymorphism rs1800629 with multisystemic disorder in a group of German patients and healthy controls: An explorative study. Cytokine. 2013 Feb; 61(2): 389-393.

Herbert A, Liu C, Karamohamed S, Schiller J, Liu Q J, Yang PWF, *et al.* The – 174 IL-6 GG genotype is associated with a reduced risk of type 2 diabetes mellitus in a family sample from the National Heart, Lung and Blood Institute's Framingham Heart Study. Diabetologia. 2005 Aug; 48(8): 1492-1495.

Hernández M, Dutzan N, García-Sesnich J, Abusleme L, Dezerega A, Silva N, *et al.* Host-Pathogen Interactions in Progressive chronic Periodontitis. J Dent Res. 2011 Oct; 90 (10): 1164-1170.

Herring ME, Shah SK. Periodontal disease and control of diabetes mellitus. J Am Osteopath Assoc. 2006 Jul; 106(6): 416-421.

Hettne KM, Weeber M, Laine ML, Ten Cate H, Boyer S, Kors JA, , *et al.* Automatic mining of the literature to generate new hypotheses for the possible link between periodontitis and atherosclerosis: Lipopolysaccharide as a case study. J Clin Periodontol. 2007 Dec; 34 (12): 1016-1024.

Hodge PJ, Riggio MP, Kinane DF. Failure to detect an association with IL1 genotypes in European Caucasians with generalized early onset periodontitis. J Clin Periodontol. 2001; 28(5): 430-436.

Holla LI, Fassmann A, Stejskalová A, Znojil V, Vaněk J, Vacha J. Analysis of the interleukin-6 gene promoter polymorphisms in Czech patients with chronic periodontitis. J Periodontol. 2004 Jan;75(1):30-36.

Holla LI, Musilova K, Vokurka J, Klapusová L, Pantuckova P, Kukletova M, *et al.* Association of interleukin-6 (IL-6) haplotypes with plaque-induced gingivitis in children. Acta Odontol Scand. 2008(a) Apr;66(2):105-12.

Holla LI, Fassmann A, Augustin P, Halabala T, Znojil V, Vanek J. The Association of Interleukin-4 Haplotypes With Chronic Periodontitis in a Czech Population. J Periodontol. 2008(b) Oct; 79(10):1927-1933

Holland N, Furlong C, Bastaki M, Ritcher R, Bradman A, Huen K, *et al.* Paraoxonase polymorphism, haplotypes, and enzyme activity in Latino mothers and newborns. Environ Health Perspect. 2006 Jul; 114(7): 985-991.

Hotamisligil GS, S Hargill NS, S Piegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. Science. 1993 Jan; 259 (5091): 87-91.

Hotamisligil GS. Inflammatory pathways and insulin action. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 Dec; 27(suppl 3) : S53-S55.

Hussein YM, Gharib AF, Etewa RL, Elsayy WH. Association of L55M and Q192R polymorphism in paraoxonase 1 (PON-1) gene with breast cancer risk and their clinical significance. *Mol Cell Biochem*. 2011 May; 351(1): 117-123.

Huth C, Heid IM, Vollmert C, Gieger C, Grallert H, Wolford JK, *et al*. IL6 gene promoter polymorphisms and type 2 diabetes: joint analysis of individual participants' data from 21 studies. *Diabetes*. 2006 Oct, 55(10): 2915-2921.

Illig T, Bongardt F, Schöpfer A, Müller-Scholze S, Rathmann W, Koenig W, *et al*. Significant association of the interleukin-6 gene polymorphisms C-174G and A-598G with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 Oct; 89(10): 5053–5058.

International Expert Committee. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2009; 32: 1327-1334.

James RW, Leviev I, Ruiz J, Passa P, Froguel P, Garin MC. Promoter polymorphism T (-107)C of the paraoxonase PON-1 gene is a risk factor for coronary heart disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2000 Aug; 49 (8): 1390-1393.

James RW. A long and winding road: defining the biological role and clinical importance of paraoxonases. *Clin Chem Lab Med*. 2006; 44(9): 1052-1059.

Javed F, Al-Askar M, Al-Hezaimi K. Cytokine Profile in the Gingival Crevicular Fluid of Periodontitis Patients With and Without Type 2 Diabetes: A Literature Review. *J Periodontol*. 2012 Feb; 83(2): 156-161.

Karasneh JA, Ababneh KT, Taha AH, Al-Abbadi MS, Ollier W. Investigation of the interleukin-1 gene cluster polymorphisms in Jordanian patients with chronic and aggressive periodontitis. *Arch Oral Biol*. 2011 Mar; 56(3): 269-276.

Kardeşler L, Buduneli N, Çetinkalp S, Lappin D, Kinane DF. Gingival crevicular fluid IL-6, tPA, PAI-2, albumin levels following initial eriodontal treatment in chronic periodontitis patients with or without type 2 diabetes. *Inflam Res*. 2011 Feb; 60 (2): 143-151.

Khersonsky O, Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON-1 suggest that its native activity is lactonase. *Biochemistry*. 2005 Apr; 44(16): 6371-6382.

Kim YJ, Viana AC, Curtis KMC, Orrico SRP, Cirelli JA, Mendes-Junior CT, *et al*. Association of haplotypes in the IL8 gene with susceptibility to chronic periodontitis in a Brazilian population. *Clinica Chimica Acta*. 2010 Sep; 411(17-18): 1264-1268.

Kinane DF, Hart TC. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14(6):430-449.

Kinane DF, Shiba H, Hart TC. The genetic basis of periodontitis. *Periodontol* 2000. 2005; 39:91-117.

Kishimoto T, Bingham CO. Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine. The pathogenesis of rheumatoid arthritis: pivotal cytokines involved in bone degradation and inflammation. *J Reum*. 2002; 29 suppl 65:3-9.

Kobayashi T, Nagata T, Murakami S, Takashiba S, Kurihara H, Izumi Y, *et al*. Genetic risk factors for periodontitis in a Japanese population. *J Dent Res*. 2009 Dec; 88(12): 1137-1141.

Koh SJ, Jang Y, Hyun YJ, Park JY, Song YD, Shin KK, *et al*. Interleukin-6 (IL-6) 572C>G promoter polymorphism is associated with type 2 diabetes risk in Koreans. *Clin Endocrinol*. 2009 Feb; 70(12): 238-244.

Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, *et al*. The interleukin 1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997 Jan; 24(1):72-77.

Kornman KS, Di Giovine FS. Genetic Variations in Cytokine Expression: A Risk Factor for Severity of Adult Periodontitis. *Ann Periodontol*. 1998 Jul; 3(1): 327-38.

Kristiansen OP e Mandrup-Poulsen. Interleukin-6 and Diabetes. The Good, the Bad, or the Indifferent? *Diabetes*. 2005 Dec; 54 supl 2: S114-S124.

La Du BN. Human serum paraoxonase/arylesterase. In: *Pharmacogenetics of Drug Metabolism*. W Kalow (ed), Pergamon Press, New York. 1992: 51-91.

La Du BN. Future studies of low activity PON-1 phenotype subjects may reveal how PON-1 protects cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Aug; 23(8): 1317-1318.

Laine ML, Loos BG, Crielaard W. Review Article: Gene Polymorphisms in Chronic Periodontitis. *International Journal of Dentistry*. 2010; 2010:1-22.

Lalla E, Cheng B, Lal S, Kaplan S, Softness B, Greenberg E, *et al*. Diabetes mellitus promotes periodontal destruction in children. *J Clin Periodontol*. 2007 Apr; 34(4): 294–298.

Lerario AC, Coretti FMLM, Oliveira SF, Betti RTB, Bastos MSCB, Ferri LAF, *et al*. Avaliação da prevalência do diabetes e da hiperglicemia de estresse no infarto agudo do miocárdio. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2008 Abr; 52(3): 465-472.

Lescai F, Marchegiani F, Franceschi C. PON-1 is a longevity gene:results of a meta-analysys. *Ageing Res Ver*. 2009 Oct; 8(4): 277-284.

Liu R, Desta T, He H, Graves D. Diabetes alters the response to bacteria by enhancing fibroblast apoptosis. *Endocrinology*. 2004 Jun; 145(6): 2997–3003.

Loos BG, John RP, Laine ML. Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action. *J Clin Periodontol*. 2005; 32 Supl 6: 159-179.

López NJ, Jara L, Valenzuela CY. Association of Interleukin-1 Polymorphisms with Periodontal Disease. *J Periodontol* 2005 Feb; 76(2): 234-243.

López NJ, Valenzuela CY, Jara L. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms associated with periodontal disease in type 2 diabetes. *J Periodontol*. 2009 Oct; 80(10): 1590-1598.

Mackness B, Durrigton P, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol*. 1998 Sep; 31(3): 329-336.

Mackness B, Durrigton P, Mcelduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, *et al*. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation*. 2003 Jun; 107(22): 2775-2779

Mackness B, Mackness M. Anti-inflammatory properties of paraoxonase-1 in atherosclerosis. *Adv Exp Med Biol*. 2010; 660:143-151.

Mackness MI, Arrol S, Durrigton PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett*. 1991 Nov; 292(1-2): 307.

Mackness MI, Arrol S, Abbott CA, Durrigton PN. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993 Dec. 104(1-2): 129-135.

Marchegiani F, Marra M, Olivieri F, Cardelli M, James RW, Boemi M, *et al*. Paraoxonase 1: genetics and activities during aging. *Rejuvenation Res*. 2008 Feb; 11(1):113-127.

Marsillach J, Aragonès G, Mackness B, Mackness M, Rull A, Beltrán-Debón R, *et al*. Decreased paraoxonase-1 activity is associated with alterations of high-density lipoprotein particles in chronic liver impairment. *Lipids in Health and Disease*. 2010 May; 14: 9 46.

Mealey BL, Oates TW. American Academy of Periodontology. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol*. 2006 Aug; 77(8):1289-1303.

Menezes NG, Colombo APV. Lack of association between the TNF- α -308 (G/A) genetic polymorphism and periodontal disease in Brazilians. *Braz Oral Res*. 2008 Oct-Dec; 22 (4): 322-327.

Michalowicz BS, Diehl SR, Gunsolley JC, Sparks BS, Brooks CN, Koertge TE, *et al.* Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *J Periodontol.* 2000 Nov; 71(11): 1699-1707.

Mohamed Ali S, Chia SE. Interethnic variability of plasma paraoxonase (PON-1) activity towards organophosphates and PON-1 polymorphism among asian populations- a short review. *Ind Health.* 2008 Aug; 46(4): 309-317.

Moreira PR, de Sá AR, Xavier GM, Costa JE, Gomez RS, Gollob KJ, *et al.* A functional interleukin 1 β gene polymorphism is associated with chronic periodontitis in a sample of Brazilian individuals. *J Periodontal Res.* 2005 Aug; 40(4): 306-311.

Moreira PR, Lima PMA, Sathler KOB, Imanishi SAW, Costa JE, Gomez RS, *et al.* Interleukin- 6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *British Society for immunology, Clinical and Experimental Immunology.* 2007 Apr; 148(1): 119–126.

Ng CJ, Shih DM, Hama Sy, Villa N, Navab M, Reddy ST. The paraoxonase gene Family and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med.* 2005 Jan; 38(2): 153-163.

Nikolopoulos GK, Dimou NL, Hamodrakas SJ, Bagos PG. Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. *J Clin Periodontol.* 2008 Sep; 35(9): 754–767.

Noack B, Aslanhan Z, Boue´J, Petig C, Teige M, Schaper F, *et al.* Potential Association of Paraoxonase-1, Type 2 Diabetes Mellitus and Periodontitis. *J Periodontol.* 2013 May; 84(5): 614-623.

Odawara M, Tachi Y, Yamashita K. Paraoxonase polymorphism (Gln192-Arg) is associated with coronary heart disease in Japanese non-insulin-dependent diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 Jul; 82(7): 2257-2260.

Offenbacher S. Periodontal diseases: Pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996 Nov; 1(1): 821-878.

Okada H M. Cytokine expression. In periodontal health and disease. Crit Ver Oral Biol Med.1998; 9(3): 248-266.

Oliveira AS, Mansur AP, Ribeiro CC, Ramires JAF, Annichino-Bizzacchi JM. PON-1 M/L55 mutation protects high-risk patients against coronary artery disease. Int J Cardiol. 2004 Mar; 94(1): 73-77.

Oliveira RN, Corbi SCT, Bastos AS, Orrico SRP, Scarrel-Caminaga RM. Doença periodontal em pacientes com Diabetes Mellitus: influência de polimorfismos genéticos? Rev Odontol UNESP. 2011; 40(4): 187-194.

Oliver RC, Tervonem T. Diabetes: a risk factor for periodontitis in adults? J Periodontol .1994 May; 65 (5 suppl): 530-538.

Orbak R, Simsek S, Orbak Z, Kavrut F, Cola K M. The influence of type-1 diabetes mellitus on dentition and oral health in children and adolescents. Yonsei Med J. 2008 Jun; 49(3): 357-765.

Papapanou PN, Neiderud AM, Sandros J, Dahlén G. Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. A case control study. J Clin Periodontol 2001 May; 28(5):389-396.

Pérez C, González FE, Pavez V, Araya AV, Aguirre A, Cruzat A, et al. The -308 polymorphism in the promoter region of the tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) gene and ex vivo lipopolysaccharide-induced TNF- α expression in patients with aggressive periodontitis and/or type 1 diabetes mellitus. Eur Cytokine Netw. 2004 Dec; 15(4): 364-370.

Peruzzo DC, Benatti BB, Ambrosano GM, Nogueira-Filho GR, Sallum EA, Casati MZ, et al. A systematic review of stress and psychological factors as possible risk factors for periodontal disease. J Periodontol. 2007 Aug; 78(8): 1491–1504.

Précout LP, Amre D, Denis MC, Lavoie JC, delvin E, Sildman E, *et al.* The three-gene paraoxonase family: physiologic roles, actions and regulation. *Atherosclerosis*. 2011 Jan; 214(1): 20-36.

Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *J Clin Periodontol*. 2011 Mar; 38 Supl 11: 60-84.

Raunio T, Knuuttila M, Hiltunen L, Karttunen R, Vainio O, Tervonen T. IL-6 -174 genotype associated with the extent of periodontal disease in type 1 diabetic subjects. *J Clin Periodontol*. 2009 Jan; 36(1): 11-17.

Ribeiro FV, Mendonça AC, Santos VR, Bastos MF, Figueiredo LC, Duarte PM. Cytokines and Bone-Related Factors in Systemically Healthy Patients With Chronic Periodontitis and Patients With Type 2 Diabetes and Chronic Periodontitis. *J Periodontol*. 2011 Aug; 82(8): 1187-1196.

Rogers MA, Figliomeni L, Baluchova K, Tan AE, Davies G, Henry PJ, *et al.* Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants? *J Periodontal Res* 2002 Feb; 37(1):37-41.

Ruiz J, Blanché H, James RW, Blatter-Garin MC, Vaisse C, Charpentier G, *et al.* The polymorphism (Gln-Arg192) of the high-density lipoprotein-bound enzyme paraoxonase is an independent cardiovascular risk factor in non-insulin dependent diabetic patients. *Lancet*. 1995 Sep; 346 (8979): 869–872.

Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, *et al.* A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*. 2001 Feb; 409(6822): 928-933.

Sakai T, Matsuura B, Onji M. Serum paraoxonase activity and genotype distribution in Japanese patients with diabetes mellitus. *Intern Med*. 1998 Jul; 37(7): 581-584.

Salvi GE, Beck JD, Offenbachert S. PGE2, IL-1 β , and TNF- α Responses in Diabetics as Modifiers of Periodontal Disease Expression. *Annals of Periodontology*. 1998 Jul; 3(1): 40-50.

Santos VR, Lima JA, Mendonça AC, Maximo MBB, Faveri M, Duarte PM. Effectiveness of Full-Mouth and Partial-Mouth Scaling and Root Planing in Treating Chronic Periodontitis in Subjects With Type 2 Diabetes . *J Periodontol*. 2009 Aug; 80(8): 1237-1245.

Santos VR, Ribeiro FV, Lima JA, Napimoga MH, Bastos MF, Duarte PM. Cytokine levels in sites of chronic periodontitis of poorly controlled and well-controlled type 2 diabetic subjects. *J Clin Periodontol*. 2010 Dec; 37(12): 1049-1058.

Scannapieco FA, Dasanayake AP, Chhun N. 'Does Periodontal Therapy Reduce the Risk for Systemic Diseases?' *Dent Clin N Am*. 2010 Jan; 54(1): 163-181.

Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB Jr, Line SRP. Investigation of an IL-2 polymorphism in patients with different levels of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2002 Jul; 29(7): 587–591.

Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, Mooney RA. Interleukin-6 induces cellular insulin resistance in hepatocytes. *Diabetes*. 2002 Dec; 51(12):3391-3399.

Sepahvand F, Rahimi-Moghaddam P, Shafiei M, Ghaffari SM, Rostam-Shirazi M, Mahmoudian M. Frequency of paraoxonase 192/55 polymorphism in na Iranian population. *J Toxicol Env Heal A*. 2007 Jul; 70(13): 1129-2007.

Serrato M, Marian AL. A variant of human paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary heart disease. *J Clin Invest*. 1995 Dec; 96(6): 3005-3008.

Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop T, Khalil A. Study os factors influencing the descrease HDL associated PON-1 activity with aging. *Exp. Gerontol*. 2004 Jan; 39(1): 59-66.

Shao M, Huang P, Cheng R, Hu T. Interleukin-6 polymorphisms modify the risk of periodontitis: a systematic review and meta-analysis. J Zhejiang Univ Sci B. 2009 Dec; 10(12): 920-927.

Shete AR, Joseph R, Vijayan NN, Srinivas L, Banerjee M. Association of single nucleotide gene polymorphism at interleukin-1beta +3954, -511, and 31 in chronic periodontitis and aggressive periodontitis in Dravidian ethnicity. J Periodontol. 2010 Jan; 81(1): 62-69.

Schett G. Effects of inflammatory and anti-inflammatory cytokines on the bone. Eur J Clin Invest. 2011 Dec;41(12):1361-6.

Sima C, Glogauer M. Diabetes Mellitus and Periodontal Diseases. Curr Diab Rep. 2013 Jun; 13(3): 445-452.

Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. Itapevi, SP: A. Araújo Silva Farmacêutica, 3ed. 2009.

Spranger J, Kroke A, Mohlig M, Hoffmann K, Bergmann M M, Ristow M, *et al.* Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. Diabetes. 2003 Mar; 52(3): 812-817.

Stabholz A, Soskolne WA, Shapira L. Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. Periodontol 2000. 2010 Jun; 53(1): 138-153.

Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol: modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. N Engl J Med. 1989 Apr; 320(14): 915-924.

Struch F, Dau M, Schwahn C, Biffa RR, Kocher T, Meisel P. Interleukin-1 Gene Polymorphism, Diabetes, and Periodontitis: Results From the Study of Health in Pomerania (SHIP) . J Periodontol. 2008 Mar; 79(3): 501-507.

Suchanek H, Mysliwska J, Siebert J, *et al.* High serum interleukin-18 concentrations in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus. *Eur Cytokine Netw.* 2005 Sep; 16(3): 177–185.

Sun WL, Chen LL, Zhang SZ, Wu YM, Ren YZ, Qin GM. Inflammatory Cytokines, Adiponectin, Insulin Resistance and Metabolic Control after Periodontal Intervention in Patients with Type 2 Diabetes and Chronic Periodontitis. *Intern Med.* 2011 Aug; 50(15): 1569-1574.

Takahashi K, Takashiba S, Nagai A, Takigawa M, Myoukai F, Kurihara H, *et al.* Assessment of Interleukin-6 in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *J Periodontol.* 1994 Feb; 65(2): 147-153.

Taubman MA, Valverde P, Han X, Kawai. Immune Response: The Key to Bone Resorption in Periodontal Disease *J Periodontol.* 2005; 76 suppl 11: 2033-2041.

Taylor GW. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Ann Periodontol.* 2001 Dec; 6(1): 99-112.

Taylor GW, Borgnakke WS. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. *Oral Dis.* 2008 Apr; 14(3): 191–203.

Terry CT, Loukaci V, Green FR. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *J Biol Chem.* 2000 Jun; 275(24): 18138-18144.

Testa R, Olivieri F, Bonfigli AR, Sirolla C, Boemi M, Marchegiani F, *et al.* Interleukin-6-174 G > C polymorphism affects the association between IL-6 plasma levels and insulin resistance in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006 Mar; 71(3): 299-305.

Thompson & Thompson. *Genética Médica.* 6ª Edição. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro, RJ. 2002:76-78.

Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, de Brito RB Jr, de Souza AP, Line SRP. Polymorphism at position 174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic

periodontitis in a Caucasian Brazilian population. J Clin Periodontol. 2003 May; 30(5): 438–442.

Trevilatto PC, Pardo APS, Scarel-Caminaga RM, Brito Jr. RB, Pereira FA, Pereira CCA, *et al.* Association of IL1 gene polymorphisms with chronic periodontitis in Brazilians. Arch of Oral Biol. 2011 Jan; 56(1): 54-62.

Trombone APF, Cardoso CR, Repeke E, Ferreira Jr SB, Martins Jr W, Campanelli A P. Tumor necrosis factor-alpha 308G/A single nucleotide polymorphism and red-complex periodontopathogens are independently associated with increased levels of tumor necrosis factor-a in diseased periodontal tissues. J Periodont Res. 2009 Oct; 44(5): 598-608.

Ünür M, Demirez E, Agaçhan B, Gömüs U, Ergen A, Dalan B, *et al.* The relationship of oral disturbances of diabetes mellitus patients with paraoxonase gene polymorphisms. Cell Biochem Funct. 2008 Dec; 26 (8): 870–873.

Van Dyke TE, Lester MA, Shapira L. The role of the host response in periodontal disease progression. J Periodontol. 1993 Aug; 64(8): 792-806.

Vernillo AT. Dental considerations for the treatment of patients with diabetes mellitus. J Am Dental Assoc. 2003 Oct; 134: 24S-33S.

Vieira TR, Péret ACA, Péret Filho L. Periodontal problems associated with systemic diseases in children and adolescentes. Rev Paul Pediatr. 2010 Jun; 28(2): 237-243.

Visentainer JEL, Sell AM, Da Silva JC, Cavichioli ADG, Franceschi DSA, Lieber SR, *et al.* TNFA, INFG, IL6, IL10 and TGFB1 gene polymorphisms in South and Southeast Brazil. Int J Immuno. 2008 Aug; 35(4-5): 287-293.

Vitale RF, Ribeiro FAQR. O papel do Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) no processo de erosão óssea presente no colesteatoma adquirido da orelha média. Rev Bras Otorrinolaringol. 2007 Fev; 73(1): 123-127.

Walker SJ, Van Dyke TE, Rich S, Kornman KS, di Giovine FS, Hart TC. Genetic polymorphism of the IL-1a and IL-1b genes in African-American LJP patients and an Africa-American control population. J Periodontol. 2000 May; 71(5): 723-728.

Wehba C, Rodrigues AS, Soares FP. Diabetes e doença periodontal: uma relação bidirecional. In: Brunette CM. Periodontia Médica: Uma abordagem integrada. São Paulo: Senac, 2004. pp. 172-195.

Wiedermann FJ. Anti-inflammatory effects of the antibiotics ceftazidime and tobramycin in porcine endotoxin shock: are they really anti-inflammatory? Crit Care. 2004 Jan; 8(2): 140.

Wild S, Roglic G, Green AA, Sicree R, King H. Global Prevalence of Diabetes Estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care. 2004 May; 27(5): 1047-1053.

World Health Organization. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. In: WHO Press, 2006.

Xiao LM, Yan YX, Xie CJ, Fan WH, Xuan DY, Wang CX, *et al.* Association among interleukin-6 gene polymorphism diabetes and periodontitis in a Chinese population. Oral Dis. 2009 Nov; 15(8): 547-553.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>

Anexos

Anexo 1: Certificado do Comitê de ética em Pesquisa envolvendo seres humanos FOP-Unicamp

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa **"Análise da relação entre a condição periodontal e o polimorfismo nos genes das citocinas IL-1, IL-6 e TNF-alfa e da enzima paraoxonase em indivíduos portadores ou não de diabetes melito tipo I e II"**, protocolo nº 001/2012, dos pesquisadores Ana Camila Pereira Messetti, Rebeca de Souza Azevedo e Ricardo Della Coletta, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 22/03/2012.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project **"Analysis of the relationship between periodontal status and gene polymorphism in IL-1, IL-6 and TNF-alfa cytokines and paraoxonase enzyme in patients with and without type I and type II diabetes mellitus"**, register number 001/2012, of Ana Camila Pereira Messetti, Rebeca de Souza Azevedo and Ricardo Della Coletta, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 03/22/2012.

Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta
Secretária
CEP/FOP/UNICAMP

Prof. Dr. Jacks Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.

Anexo 2: Certificado do Comitê de ética em Pesquisa envolvendo seres humanos UFF.



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina / Hospital Universitário Antônio Pedro

Herbert Praxedes - **Coordenador Geral**
Representante Comunidade Científica

Alair Augusto Santos / Maria Lúcia Santos
Faculdade de Medicina - Depto Radiologia

Maria Nazareth C. Pinto / Alberto Esteves Gemal
Faculdade de Medicina - Depto Cirurgia

Renato Augusto M. Sá / Selma Maria A. Sias
Faculdade de Medicina - Depto Materno Infantil

Regina Helena S. Peralta / Andréa Alice da Silva
Faculdade de Medicina - Depto Patologia

Jano Alves de Souza / Pedro Ferreira M. Filho
Faculdade de Medicina - Depto Medicina Clínica

José Carlos Carraro Eduardo
Faculdade de Medicina - Repr. Colegiado

Carlos Dimas M. Ribeiro/Marcos Antônio A. Senna
Instituto de Saúde da Comunidade

Sérvio Túlio / Rogério Dutra
Faculdade de Direito

Ana Paula Black Veiga
Hospital Universitário Antônio Pedro

Rosângela Arrabal Thomaz
Faculdade de Medicina

José Plácido / Lígia Lobato
Representantes da Comunidade Usuária

Tereza C. A. Graça / Theresa C.L. Coutinho
Faculdade de Odontologia

Thelma B. Machado / Sabrina C. Elias
Faculdade de Farmácia

Denise Mafra / Daniele M. Ferreira
Faculdade de Nutrição

Valdecyr Herdy Alves / Luiz dos Santos
Faculdade de Enfermagem

Dilvani Oliveira Santos / Luiz G. Gawryszewski
Faculdade de Biologia

Tatiana Rangel Reis / Sulamita B. de Lima
Escola de Serviço Social

Luís Antônio C. Ribeiro / Gilvan Hansen
Instituto de Ciências Sociais - Depto Filosofia

Josemberg M. Andrade / Elton H. Matsushima
Instituto de Ciências Sociais - Depto Psicologia

Licínio E. Silva / Ana Beatriz M. Fonseca
Instituto de Matemática

CEP CMM/HUAP nº 057/2010

CAAE nº 0042.0.258.000-10

Do: Coordenador do CEP CMM/HUAP
A(o) Sr.(a) Pesquisador(a):

Assunto: Parecer sobre Projeto de Pesquisa

Sr.(a) Pesquisador(a)

Informo a V.Sª. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina / Hospital Universitário Antônio Pedro, constituído nos termos da Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao protocolo de pesquisa e seu respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme abaixo discriminado:

Título do Projeto:

"Avaliação clínica, microbiológica, imunológica e genética de crianças portadoras ou não de diabetes melito tipo I"

Pesquisadora Responsável:

Profª. Drª. Cristiane Duque

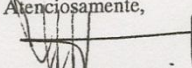
Pesquisadores Colaboradores:

Profª. Drª. Apocena de Aguiar Ribeiro, Profª. Drª. Rebeca de Souza Azevedo, Profª. Drª. Gabriela Alessandra da Cruz, Profª. Drª. Michelle Mikhael Ammari

Data: 11/06/2010

Parecer: Aprovado

Atenciosamente,


Prof. Herbert Praxedes
Coordenador



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina / Hospital Universitário Antônio Pedro

Herbert Praxedes - **Coordenador Geral**
Representante Comunidade Científica

Alair Augusto Santos / Maria Lúcia Santos
Faculdade de Medicina - Depto Radiologia

Maria Nazareth C. Pinto / Alberto Esteves Gemal
Faculdade de Medicina - Depto Cirurgia

Renato Augusto M. Sá / Selma Maria A. Sias
Faculdade de Medicina - Depto Materno Infantil

Regina Helena S. Peralta / Andréa Alice da Silva
Faculdade de Medicina - Depto Patologia

Mauro Diniz Morcira / Sérgio Setúbal
Faculdade de Medicina - Depto Medicina Clínica

José Carlos Carraro Eduardo
Faculdade de Medicina - Repr. Colegiado

Carlos Dimas M. Ribeiro/Marcos Antônio A.Senna
Instituto de Saúde da Comunidade

Sérvio Túlio / Rogério Dultra
Faculdade de Direito

Ana Paula Black Veiga
Hospital Universitário Antônio Pedro

Rosângela Arrabal Thomaz
Faculdade de Medicina

José Plácido / Lígia Lobato
Representantes da Comunidade Usuária

Tereza C. A. Graça / Theresa C.L. Coutinho
Faculdade de Odontologia

Thelma B. Machado / Sabrina C. Elias
Faculdade de Farmácia

Denise Mafra / Daniele M. Ferreira
Faculdade de Nutrição

Valdecyr Herdy Alves / Luiz dos Santos
Faculdade de Enfermagem

Dilvani Oliveira Santos / Luiz G. Gawryszewski
Faculdade de Biologia

Tatiana Rangel Reis / Sulamita B. de Lima
Escola de Serviço Social

Luís Antônio C. Ribeiro / Gilvan Hansen
Instituto de Ciências Sociais - Depto Filosofia

Abrahão Santos / Elton H. Matsushima
Instituto de Ciências Sociais - Depto Psicologia

Licínio E. Silva / Ana Beatriz M. Fonseca
Instituto de Matemática

CEP CMM/HUAP nº 057/2010

CAAE nº 0042.0.258.000-10

Do: Coordenador do CEP CMM/HUAP

A(o) Sr.(a) Pesquisador(a):

Assunto: Parecer sobre Projeto de Pesquisa

Sr.(a) Pesquisador(a)

Informo a V.Sª. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina / Hospital Universitário Antônio Pedro, constituído nos termos da Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre **ADENDO** ao protocolo de pesquisa e seu respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme abaixo discriminado:

Título do Projeto:

"Avaliação clínica, microbiológica, imunológica e genética de crianças portadoras ou não de diabetes melito tipo I"

Pesquisadora Responsável:

Profª. Drª. Cristiane Duque

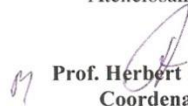
Pesquisadores Colaboradores:

Profª. Drª. Apoena de Aguiar Ribeiro, Profª. Drª. Rebeca de Souza Azevedo, Profª. Drª. Gabriela Alessandra da Cruz, Profª. Drª. Michelle Mikhael Ammari, Aline Peçanha Muzy Dias.

Data: 06/05/2011

Parecer: *Aprovado o adendo em anexo*

Atenciosamente,


Prof. Herbert Praxedes
Coordenador

Renato A. Moreira da Sá
CRM 5251923-2