



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM ORTODONTIA

MARIA AUGUSTA ANDRIGO PERIN

**ANÁLISE BIOPSISSOCIAL, CLÍNICA E
DE ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO
GENE *TNFAIP3* COM DESLOCAMENTOS DE
DISCO DA ARTICULAÇÃO
TEMPOROMANDIBULAR**

Curitiba

2022

Maria Augusta Andrigo Perin

**ANÁLISE BIOPSISSOCIAL, CLÍNICA E
DE ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO
GENE *TNFAIP3* COM DESLOCAMENTOS DE
DISCO DA ARTICULAÇÃO
TEMPOROMANDIBULAR**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Odontologia da Pontifícia
Universidade Católica do Paraná, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutora em Odontologia, Área de Concentração
em Ortodontia.**

Orientadora: Profa. Dra. Paula Cristina Trevilatto

Curitiba

2022

*Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central
Luci Eduarda Wielganczuk – CRB 9/1118*

*P445a Perin, Maria Augusta Andriago
2022 Análise biopsicossocial, clínica e de associação de polimorfismos no gene TNFAIP3 com deslocamentos de disco da articulação temporomandibular / Maria Augusta Andriago Perin ; orientadora: Paula Cristina Trevilatto. – 2022.
52 f. ; il. : 30 cm*

*Tese (doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2022
Bibliografia: f. 34-41*

*1. Ortodontia. 2. Síndrome da disfunção da articulação temporomandibular.
3. Proteína 3 induzida por fator de necrose tumoral alfa. I. Trevilatto, Paula Cristina.
II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.*

CDD. 20. ed. – 617.643



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

Escola de Medicina e Ciências da Vida


TERMO DE APROVAÇÃO

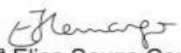
MARIA AUGUSTA ANDRIGO PERIN

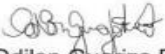
ANÁLISE BIOPSISSOCIAL, CLÍNICA E DE ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE
TNFAIP3 COM DESARRANJOS INTERNOS DA ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia
Universidade Católica do Paraná, como parte dos requisitos parciais para a obtenção do
Título de **Doutor em Odontologia**, Área de Concentração **Clínica Odontológica Integrada -
Ortodontia**.

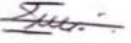
Orientador (a):


Prof. Dr^a Paula Cristina Trevilatto
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Prof^a Dr^a Elisa Souza Camargo
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Prof. Dr. Odilon Guariza Filho
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Prof. Dr. Daniel Bonotto
Curso de Pós-graduação em Disfunção Temporomandibular, UFPR


Prof. Dr. Ferdinando de Conto
Coordenador da Residência em Bucomaxilofacial, UPFRS

Curitiba, 01 de julho de 2022.

Agradecimentos especiais

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), pela oportunidade de estudar através do consentimento de bolsa de estudos.

Ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, na figura da Prof. Dra. Renata Iani Werneck, pelo acolhimento decisivo em minha trajetória acadêmica.

À Prof. Dra. Paula Cristina Trevilatto, pela oportunidade, confiança, dedicação e carinho para com seus orientados, sendo merecedora da admiração de todos. Exemplo de competência e carisma.

À Profa. Dra. Andrea Duarte Doetzer, ao Prof. Dr. Sérgio Aparecido Ignácio e aos colegas Ian Luna Parente Brasileiro, Laís Giacobbo e Neblyssa Shneider pela devoção para que esse trabalho fosse possível.

Agradecimentos

A Deus, pela dádiva de viver e desfrutar tantos momentos especiais de aprendizado e crescimento pessoal.

À minha família, em especial minha mãe Leandra e dinda Renata, agradecimento pelo apoio e possibilidade de estudar os quais sempre proporcionaram.

Ao meu marido Felipe, pelo companheirismo, paciência, ensinamentos e principalmente por seu amor e o fruto que ele gerou.

Ao meu filho Lucas Augusto, por suportar minha ausência desde muito pequeninho em prol da realização dos meus sonhos. Possa eu sempre ser motivo do seu orgulho.

Aos meus professores: Prof. Dra. Elisa S. Camargo, Prof. Dr. Odilon Guariza Filho e Prof. Dr. Orlando Tanaka, Prof. Dr. Alexandre Rezende Vieira e Prof. Dr. Daniel Bonotto pela imensa contribuição em minha formação.

Aos meus colegas da 11ª turma por toda a amizade nesse período. Foi um privilégio conviver e dividir essa conquista com vocês.

Ao grupo de pesquisa em genética da PUCPR pois aprendemos a trabalhar em equipe nós respeitando e torcendo uns pelos outros.

A todas as pessoas que fazem parte do programa de Pós-graduação PUCPR, em especial à Neide Reis Borges e Irenice Caio da Silva pela prontidão em ajudar.

A Faculdade ILAPEO, em especial às professoras Ana Cláudia Moreira Melo e Isabela Shimizu, pelo acolhimento e orientação.

Às demais pessoas que contribuíram direta ou indiretamente na elaboração deste trabalho ou participaram da minha vida, e que, por ventura, eu tenha deixado de agradecer.

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	9
2.	OBJETIVO	17
3.	MATERIAIS E MÉTODO	18
3.1	<i>Seleção da Amostra</i>	18
3.2	<i>Análise biopsicossocial e clínica</i>	19
3.3	<i>Obtenção de DNA</i>	20
3.4	<i>Análise de polimorfismos em gene candidato funcional</i>	20
3.5	<i>Análise estatística</i>	21
4.	RESULTADOS	22
4.1	<i>Poder Amostral</i>	22
4.2	<i>Análise biopsicossocial e clínica</i>	23
4.3	<i>Análise de tagSNPs no gene TNFAIP3</i>	25
4.4	<i>Análise multivariada</i>	28
5.	DISCUSSÃO	29
6.	CONCLUSÃO	35
7.	REFERÊNCIAS	36
8.	ANEXOS	44
8.1	<i>Tabelas complementares</i>	44
8.2	<i>Lista de abreviaturas e siglas</i>	44
8.3	<i>Parecer do comitê de ética</i>	48
8.4	<i>Termo de consentimento livre e esclarecido</i>	50
8.5	<i>Modelo do questionário utilizado</i>	52
8.6	<i>Atividades complementares</i>	54

RESUMO

Objetivo: Este estudo objetivou a investigação de associação de fatores biopsicossociais, clínicos e polimorfismos no gene TNFAIP3 com deslocamentos de disco (DD) da articulação temporomandibular (ATM). **Materiais e Métodos:** Variáveis sociodemográficas, clínicas, psicológicas e genéticas foram avaliadas. A amostra foi constituída de 226 pacientes do sexo feminino, com idades entre 18 e 73 anos. No grupo caso, 95 pacientes apresentaram DD da ATM (deslocamento de disco com ou sem redução) e artralgia. No grupo controle, foram alocadas 131 pacientes sem DD da ATM. O DNA foi coletado de células epiteliais bucais. Os polimorfismos do gene TNFAIP3 (rs610604, rs5029933, rs5029930 e rs58275) foram investigados pela Técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em Tempo Real. Análises univariada e multivariada foram realizadas ($p < 0,05$). **Resultados:** A média de idade foi menor no grupo caso ($31,48 \pm 11,52$) que no grupo controle ($37,57 \pm 15,57$) ($p = 0,002$). O histórico de uso de aparelho ortodôntico ($p = 0,026$) e escala de depressão ($p = 0,007$) associaram-se com DD da ATM, sendo o grau severo de depressão (52,6%) mais prevalente no grupo caso. Para as variáveis etnia ($p = 0,714$), hábito de fumo ($p = 0,331$), prática estudantil ($p = 0,504$), uso de aparelho ortodôntico ($p = 0,141$) e grau de ansiedade ($p = 0,084$), não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Nenhum dos tagSNPs estudados associaram-se com DD da ATM. No modelo multivariado o uso de aparelho ortodôntico e a menor média de idade mostraram-se associados aos DD da ATM, e a depressão associou-se de forma borderline. **Conclusão:** Menor média de idade, histórico de uso de aparelho ortodôntico e depressão, associaram-se com DD da ATM em mulheres. Os tagSNPs do gene TNFAIP3 estudados não mostraram associação de risco ou proteção para os DD da ATM.

Palavras-Chave: Disfunção temporomandibular, deslocamento de disco, TNFAIP3.

1. INTRODUÇÃO

A articulação temporomandibular (ATM) é classificada como uma articulação gínglimoartrodial de função complexa, pois realiza tanto movimentos mandibulares rotacionais como translacionais. (1) Suas estruturas anatômicas predominantes compreendem a porção escamosa do osso temporal, cabeça da mandíbula, cápsula e disco articulares e ligamentos adjacentes. (2)

Em particular, o disco articular é formado por tecido fibrocartilaginoso flexível e bicôncavo, que atua como uma zona de separação entre a cabeça da mandíbula e o osso temporal, reduzindo o atrito da articulação e distribuindo as cargas provenientes dos movimentos mandibulares. (3)

Deslocamentos de disco (DD) da ATM ocorrem quando o disco articular ocasiona um posicionamento anormal entre a relação disco, cabeça da mandíbula e eminência articular. De acordo com a Academia Americana de Dor Orofacial, os DD da ATM são classificados como uma disfunção temporomandibular (DTM) de origem articular (4), sendo a artropatia mais frequente da ATM. (5)

Os deslocamentos de disco são divididos em dois grupos: i) com redução, caracterizado por uma posição anterior do disco com retorno à sua posição normal durante a abertura bucal, e ii) o deslocamento de disco sem redução, onde não ocorre o retorno do disco à sua posição ideal no movimento de abertura bucal. (6, 7)

Estima-se que cerca de 30% da população apresente alguma DTM ou deslocamento de disco, (8, 9) sendo mais prevalente em mulheres. (10, 11) A etiologia da DTM não é totalmente esclarecida (12) e está associada à presença de fatores de risco, como: traumatismos, hábitos parafuncionais, bruxismo, condição

postural, microtraumas oclusais, pré-disposição sistêmica, alterações do sono, aspectos psicossociais e fatores genéticos. (3, 13-20)

Um aspecto primordial no desenvolvimento e agravo da DTM é a inflamação. Estudos demonstram que o processo inflamatório exacerbado está intimamente ligado à destruição das estruturas anatômicas da ATM (21) e que essas disfunções inflamatórias ocorrem com prevalência considerável de 34,2%. (22)

A inflamação é um conjunto de fenômenos homeostáticos dos tecidos vascularizados que visa a remoção de agentes lesivos e a restauração das funções fisiológicas, coordenado pela ação celular e por mediadores inflamatórios. (23) A ativação celular e de citocinas pró-inflamatórias pode estar presente nos quadros de deslocamento de disco articular, com ou sem redução. (24, 25)

O disco da ATM é avascular, (26) enquanto a camada de revestimento sinovial da cápsula articular é ricamente equipada por capilares sanguíneos, promovendo a nutrição da articulação. (27) Desse modo, na presença de DD da ATM, podemos observar considerável aumento dos capilares no tecido sinovial, hiperemia e infiltração de células inflamatórias, como células T, monócitos e macrófagos, além da abundância de mediadores inflamatórios. (27-30)

A superfamília do fator de necrose tumoral é composta por 19 membros, (31) dentre elas, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) que é considerado uma citocina pró-inflamatória essencial, descrita pela primeira vez em 1975 por Carswell e colaboradores. (32) O TNF- α participa de forma direta no epicentro da inflamação e regula múltiplos processos biológicos. (33, 34) Essa proteína é secretada por

células imunológicas ativas, tais como, macrófagos, linfócitos e monócitos, na presença de infecção, inflamação ou pós trauma. (35)

A sinalização do TNF- α acontece a partir da ligação com receptores de membrana, conhecidos como receptor 1 (TNFR1) e receptor 2 (TNFR2) do TNF- α . Esse mecanismo resulta tanto na ativação de genes específicos, quanto na produção de citocinas envolvidas na regulação e equilíbrio da apoptose e sobrevivência celular. (36, 37) (Fig. 1) Ademais, essa proteína pode promover vasodilatação, formação de edema, regulação da coagulação sanguínea e indiretamente induzir febre. (33)

O papel do TNF- α em doenças auto-imunes e inflamatórias é fortemente explorado. Síndrome de Sjögren, (38) psoríase, (39) doença de Behçet, (40) artrite reumatoide, (41) doença periodontal, (42) sinovite, dor e crepitação na ATM, (43-45) são algumas condições descritas em associação a essa citocina.

Partindo da premissa de que o TNF- α esteja associado a doenças articulares, Suzuki e colaboradores examinaram 33 espécimes articulares de pacientes que apresentaram desarranjos internos da ATM. Seus resultados apontaram predominante frequência de TNF- α nas células e vasos sanguíneos da membrana sinovial. Assim, os autores concluíram que TNF- α pode estar envolvido no processo de desarranjos internos da ATM. (29). Esse estudo corrobora com Lin e colaboradores, pois seus achados sugerem que a expressão aumentada de TNF- α na ATM em ratos pode desempenhar um papel na patogênese da DTM. (46)

Outro mecanismo complexo e de extrema relevância correlacionado ao TNF- α é a sinalização do Fator Nuclear Kappa-Beta (NF- κ B). Essa proteína-chave da resposta imunoinflamatória (47-50) é responsável pela ativação da primeira linha

de defesa imunológica, o sistema imunológico inato. (51) Vários estudos demonstram que a quantidade elevada de NF- κ B pode resultar na deficiência de homeostase tecidual, (52, 53) presença de doenças coronarianas, (54) osteoartrite, (55) e inflamação na ATM em ratos. (56, 57)

Além da ativação positiva de genes e vias de sinalização, o TNF- α exerce um papel negativo sobre o NF- κ B, chamado de “negative loop feedback”. (58) O bloqueio da cascata inflamatória relacionada com NF- κ B acontece pela síntese da proteína A20 induzida pela NF- κ B ativo (Fig. 1). A proteína A20 desempenha função crucial na homeostase tecidual, a partir da supressão de apoptose celular e do processo inflamatório exacerbado. (59-61)

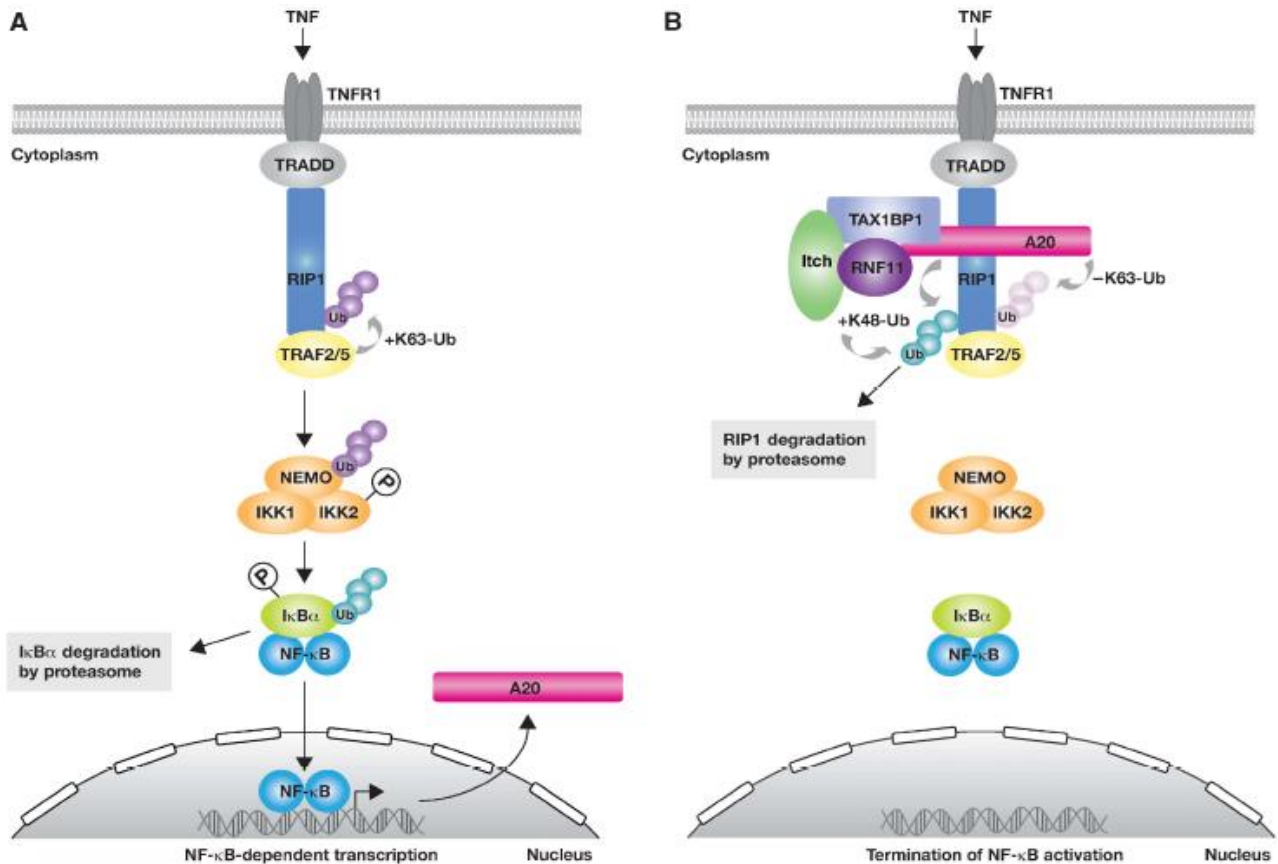


Figura 1. Regulação e sinalização do NF-κB. (A) Resposta inflamatória desencadeada a partir da ligação do TNF-α com seu receptor de membrana TNFR1, resultando na ativação do NF-κB, o qual, se transloca para o interior do núcleo celular, ativando a transcrição de genes, tal como TNFAIP3 e a síntese de proteína A20. (B) Mecanismo anti-inflamatório chamado de “negative loop feedback” induzido pela proteína A20, por meio da degradação de RIP1, processo conhecido como desubiquitinação, bloqueando a ativação do complexo NF-κB. Fonte: Jacques E, Ley SC. RNF11, a new piece in the A20 puzzle. *The EMBO Journal*. 2009;28(5):455-6. (57)

Na presença de estímulos moleculares provenientes de patógenos ou citocinas pró-inflamatórias, macrófagos ativos impactam diretamente nos níveis séricos de proteína A20. A deficiência de A20, em camundongos, mostrou-se associada com o desenvolvimento de artrite inflamatória (62) e com o agravamento de

doença periodontal em decorrência do aumento da inflamação nos tecidos gengivais.

(63)

Induzido pelo TNF- α , o gene TNFAIP3 é o responsável pela codificação da proteína A20. (64) O gene TNFAIP3 está localizado no braço longo do cromossomo 6 na posição q23.3, é constituído de 790 aminoácidos e sua massa molecular corresponde a 89614 Da.

(<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TNFAIP3>).

Polimorfismos de base única (SNPs) são variações no DNA com alteração de um único nucleotídeo na sequência do genoma, gerando alelos comuns na população, com frequência maior que 1%. (59) Um SNP localizado em uma sequência promotora ou região de éxon de um gene pode influenciar a quantidade de expressão da proteína correspondente, alterar aminoácidos e impactar a função da proteína codificada, podendo associar-se com a suscetibilidade a certas doenças. (65, 66) Assim como polimorfismos em regiões intrônicas, dependendo de sua localização, podem afetar o splicing alternativo, interferindo na codificação do genoma ou impactando na regulação da expressão gênica. (67, 68) A abundância e a grande frequência de polimorfismos no genoma humano os transformam em alvo para explicar a variabilidade genética e sua possível influência para o risco e progressão de algumas doenças e condições complexas. (69-72)

Um notável projeto iniciado em 2006, intitulado “OPPERA” (Orofacial Pain: Prospective Evaluation and Risk Assessment), vem estudando amplamente os fatores de risco à DTM. Em uma de suas publicações, foram avaliadas 2.737 pessoas sem DTM, através de um estudo de coorte prospectivo, durante um período médio de 2,8 anos, no qual 260 pessoas desenvolveram os primeiros traços de DTM.

Nessa pesquisa, 358 genes foram avaliados; entre eles, genes relacionados à inflamação. Nenhum SNP esteve associado ao desfecho; todavia, os autores sugeriram que SNPs em associação a determinados fenótipos, como dor, ansiedade, depressão e estresse, possivelmente contribuam para a incidência de DTM. (73)

Entretanto, é possível encontrar uma gama de outros estudos que descrevem associações de polimorfismos genéticos com DTM. Polimorfismos genéticos envolvidos no processo inflamatório, como o TNF α -308, apresentaram-se como fator de risco para DTM. (45) Ainda, o polimorfismo IL6-174 associou-se com a sensibilidade à dor em pacientes com DTM, (74) e o polimorfismo no gene OPG foi descrito como possível marcador associado ao risco de anquilose da ATM.(75) SNPs nos genes do receptor de hidroxitriptamina 2A (HTR2A) e catecol-O-metiltransferase (COMT), correlatos aos neurotransmissores serotonina e dopamina, também associaram-se à DTM. (76) O mesmo foi observado para o gene do receptor de dopamina D2 (DRD2), o qual associou-se ao deslocamento de disco em adolescentes brasileiros.(77) Polimorfismo no receptor de estrogênio (ESR2) foi considerado um marcador genético para DTM em mulheres adultas. (78) Também, polimorfismo no gene da metaloproteinase 1 (MMP1), responsável pela degradação de matriz celular, foi associado ao deslocamento anterior de disco com redução. (79)

A detecção de fatores predisponentes associados a respostas fisiopatológicas, bem como, a identificação de grupos de risco para determinadas patologias, mostram-se elementares no cenário científico e clínico. Portanto, a busca de marcadores genéticos que possibilitem a detecção de indivíduos propensos ao

desenvolvimento dos DD da ATM é imprescindível para a prevenção e instauração de terapêuticas individualizadas.

Autores acreditam que a crescente acessibilidade de tecnologias contemporâneas em investigações da resposta e sinalização conexas ao TNF- α permitirão uma maior contextualização nos processos imunológicos. (80) Além do mais, citocinas inflamatórias compatíveis com as disfunções articulares, se identificadas, podem estabelecer terapêuticas inovadoras. (81)

Nos últimos anos, diversos fatores clínicos e genéticos relacionados à DTM foram estudados. (45, 73-78, 82-86) Porém, até o momento não há estudos investigando a associação de DD da ATM com polimorfismos no gene TNFAIP3.

2. OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi testar a associação de fatores biopsicossociais, clínicos e dos polimorfismos rs610604, rs5029933, rs5029930 e rs582757 no gene TNFAIP3 com a presença de deslocamentos de disco da ATM.

3. MATERIAIS E MÉTODO

3.1 Seleção da Amostra

Esta pesquisa é caracterizada como estudo populacional transversal, observacional, caso-controle. O “n” amostral total foi de 226 mulheres recrutadas na Clínica de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), e do ambulatório do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (Parecer: 1.863.521). As participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, previamente à coleta de dados.

Para análise clínica e genética dos DD da ATM, as pacientes com idades entre 18 e 73 anos (n=226) foram divididas em grupo caso, composto por 95 pacientes com deslocamento de disco, com redução ou sem redução, e artralgia, e grupo controle, composto por 131 mulheres sem sinais e sintomas de DTM.

Não foram incluídas nesse estudo pacientes com mialgia sem artralgia, e também as que apresentaram condições que comprometessem a resposta imunoinflamatória, tais como: uso crônico de anti-inflamatórios, diabetes, hepatite, HIV, quimioterapia, doença maligna, doença auto-imune, gravidez ou lactação, e cirurgia prévia na ATM.

3.2 Análise biopsicossocial e clínica

As variáveis investigadas em associação aos DD da ATM foram: idade, etnia, hábito de fumo, prática estudantil, uso e histórico de uso de aparelho ortodôntico, ansiedade e depressão.

A coleta de dados e diagnóstico dos DD e artralgia foram executados por dois cirurgiões bucomaxilofaciais clínicos experientes (ADD e ILPB), com base no instrumento Research Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders (RDC/TMD) (87) e calibrados a partir do teste Kappa (Interexaminador 9,5; Intraexaminador 9,6). As pacientes responderam ao questionário autoavaliativo sobre os aspectos clínicos e psicossociais.

Para a escala de depressão, foi utilizado o questionário Patient Health Questionnaire 9 (PHQ-9), sensibilidade de 78% e especificidade de 87%. (9) Foram avaliados 09 itens respectivos ao humor deprimido. Através de escala de pontuação, a interpretação foi realizada. O escore máximo utilizado para cada item foi de 27 (Fig. 02).

Generalized Anxiety Disorder 7 (GAD-7) foi o teste utilizado para avaliar transtornos de ansiedade generalizados, apresentando sensibilidade de 89% e especificidade de 82%. (88) Humor e comportamento ansioso foram avaliados quantitativamente a partir de sete itens. O escore máximo possível foi de 21 pontos (Fig. 2).

ESCALA DE PONTUAÇÃO

	0-4	5-9	10-14	15-19	20-27
PHQ-9 Depressão		Leve	Moderada	Mod-Severa	Severa
GAD-7 Ansiedade		Leve	Moderada	Severa	

Figura 2. Escala de pontuação para interpretação dos testes PHQ-9 e GAD-7.

3.3 Obtenção de DNA

Células epiteliais foram obtidas por meio de um bochecho com solução de glicose 3% e raspagem da mucosa jugal com espátula de madeira esterilizada. O DNA foi extraído de células bucais epiteliais com acetato de amônio 10 M e EDTA 1 mM. (89, 90) A concentração e pureza do DNA foram determinadas por espectrometria por meio do equipamento NanoDrop.

3.4 Análise de polimorfismos em gene candidato funcional

Os polimorfismos selecionados do gene candidato proposto, TNFAIP3, localizados em região intrônica, são: rs610604, rs5029933, rs5029930 e rs582757 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). Os SNPs foram identificados a partir do banco de dados 1000 Genomes usando a ferramenta Ferret. (91)

TagSNPs são polimorfismos-chave que representam o gene candidato como um todo, considerando bins, blocos de desequilíbrio de ligação (DL), calculados por $r^2 > 80$. A frequência alélica mínima considerada foi de 5% na população CEU. A população CEU é composta por residentes de Utah com ancestralidade norte e oeste da Europa, consistente com a descendência europeia da população estudada. De acordo com o censo demográfico brasileiro (2010), 70% dos paranaenses são caucasianos, apesar de a população ser considerada miscigenada.

O DNA coletado e purificado foi amplificado por PCR em tempo real (Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System). A genotipagem foi realizada com a utilização da tecnologia TaqMan® Genotyping Master Mix (Applied Biosystems) (92) para a identificação dos genótipos estudados.

3.5 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no programa SPSS, versão 2.3. Odds Ratio (OR) e intervalo de confiança (IC) de 95% foram determinados quando possível. Resultados com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Variáveis nominais foram apresentadas como frequência e porcentagem. O teste qui-quadrado de Pearson foi utilizado para avaliar as diferenças entre os grupos para variáveis categóricas. Após a realização dos testes estatísticos, o teste de verossimilhança foi escolhido para os casos em que a contagem esperada fosse menor que 1. O cálculo de média de idade para os grupos caso e controle foi executado por meio do teste T de student.

Os seguintes modelos genéticos de associação entre os marcadores (tagSNPs) foram avaliados: modelos dominante e recessivo pelos testes qui-quadrado de Pearson ou verossimilhança, e o modelo aditivo, por regressão logística binária.

Para análise multivariada, foi utilizado o modelo de regressão logística binária e método Backward, incluindo variáveis independentes com valores de $p < 0,20$ na análise univariada.

4. RESULTADOS

4.1 Poder amostral

Utilizando a ferramenta *Genetic Power Calculator Tool*, (93) foi calculado o poder da amostra em torno de 80% de significância (Tabela 1).

Tabela 1. Para o estudo do poder amostral, os parâmetros adotados foram: prevalência de 30% dos DI, tamanho do efeito amostral de 1.8 a 2.2, carregando somente uma cópia do alelo de risco, e de 3.6 a 4.4 para dois alelos de risco, $D'=1$, frequência do alelo mais raro entre 0,119 a 0,495. Razão de caso e controle de 1:1.3 e nível de significância de 5%.

tagSNP	Frequência do alelo	Poder	n casos para 80% de poder
rs610604	0.05	0.0806	2838
	0.1	0.3243	329
	0.2	0.8996	71
rs5029933	0.05	0.06766	4885
	0.1	0.21	565
	0.2	0.7868	98
rs5029930	0.05	0.1791	694
	0.1	0.8422	84
rs582757	0.05	0.1122	1114
	0.1	0.5603	167
	0.2	0.9942	37

Frequência do alelo mais raro e tamanho do efeito amostral para uma e duas cópias do alelo de risco, para cada polimorfismo:

rs610604: 0,362% e 2,0/4,0

rs5029933: 0,495% e 2,2/4,4

rs5029930: 0,119% e 1,8/3,6

rs582757: 0,219% e 2,0/4,0

4.2 Análise biopsicossocial e clínica

Após a análise univariada, foi observado que a média de idade associou-se aos DD da ATM, sendo menor no grupo caso ($31,48 \pm 11,52$) que no grupo controle ($37,57 \pm 15,57$) ($p=0,002$). O histórico de uso de aparelho ortodôntico ($p=0,026$) e a escala de depressão ($p=0,007$) também associaram-se com os DI da ATM, sendo o grau severo de depressão (52,6%) o mais prevalente entre os pacientes do grupo caso (Tabela 2). Já as variáveis: etnia ($p=0,714$), hábito de fumo ($p=0,331$), prática estudantil ($p=0,504$), uso de aparelho ortodôntico ($p=0,141$) e grau de ansiedade ($p=0,084$), não obtiveram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados da análise univariada para fatores biopsicossociais e clínicos (n total=226), nos grupos caso (com DD e artralgia, n=95) e controle (sem DD e sem artralgia, n=131).

Caucasiana	Controle	Caso	Valor-p*	OR (IC 95%)
Idade				
	37,57 ± 15,57	31,48 ± 11,52	0,002[^]	0,969 (0,950 - 0,988)
Etnia^{&}				
Caucasiana	88 (67,2)	66 (69,5)	0,714	1,112 (0,630 - 1,964)
Não Caucasiana	43 (32,8)	29 (30,5)		
Hábito de fumar^{&}				
Fumantes	10 (7,8)	11 (11,6)	0,331	0,642 (0,261 - 1,580)
Não fumantes	119 (92,2)	84 (88,4)		
Estudante				
Sim	44 (33,6)	36 (37,9)	0,504	1,206 (0,696 - 2,093)
Não	87 (66,4)	59 (62,1)		
Aparelho ortodôntico^{&}				
Usa	12 (9,3)	15 (15,8)	0,141	0,547 (0,243 - 1,230)
Não usa	117 (90,7)	80 (84,2)		
Grau de depressão				
Sem depressão	3 (2,3)	0	0,007	0,225 (0,078 - 0,649)
Leve	20 (15,3)	5 (5,3)		
Moderada	63 (48,1)	40 (42,1)		
Severa	45 (34,4)	50 (52,6)		
Grau de ansiedade				
Sem ansiedade	12 (9,2)	2 (2,1)	0,084	0,179 (0,038 - 0,837)
Leve	14 (10,7)	8 (8,4)		
Moderada	47 (35,9)	31 (32,6)		
Severa	58 (44,3)	54 (56,8)		

*Teste Qui-Quadrado de Pearson

OR: Odds Ratio

IC: Intervalo de Confiança

[^]Teste T de Student

[&]Valor de n, em decorrência das omissões de respostas

4.3 Análise de tagSNPs no gene *TNFAIP3*

Usando o Software Haploview 4.2 (94), observou-se que a distribuição das frequências genotípicas dos polimorfismos dos pacientes do grupo controle estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Os polimorfismos: rs610604, rs5029933, rs5029930 e rs582757 não apresentaram sinal de associação no sentido de proteção ou suscetibilidade para os DD da ATM em nenhum dos modelos genéticos estudados (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados da análise univariada dos tagSNPs do gene TNFAIP3 para os modelos dominante, recessivo e aditivo (n=226) nos grupos caso (com DD e artralgia, n=95) e controle (sem DD e sem artralgia, n=131).

Gene	tagSNP dbSNP ^a	Modelo Genético ^{&}	Genótipos [^]	Grupos - n (%)		Valor de p	OR (IC 95%)	
				NÃO	SIM			
TNFAIP3	rs610604	Aditivo n=214	TT	55 (44,7)	35 (38,5)	0,511‡	1,336 (0,563 - 3,171)	
			GT	47 (38,2)	46 (50,5)	0,099‡	2,055 (0,873 - 4,836)	
			GG	21 (17,1)	10 (11,0)	0,164‡		
		Dominante T n=214	TT + GT	102 (82,9)	81 (89,0)	0,211*	1,668 (0,744 - 3,740)	
			GG	21 (17,1)	10 (11,3)			
		Recessivo T n=214	GT + GG	68 (55,3)	56 (61,5)	0,360*	1,294 (0,745 - 2,247)	
			TT	55 (44,7)	35 (38,5)			
		rs5029933	Aditivo n=212	AA	1 (0,8)	0	-	-
				AG	124 (99,2)	87 (100,0)		
GG	0			0				
Dominante A n=212	AA + AG			125 (100,0)	87 (100,0)	-	-	
	GG			0	0			
Recessivo A n=212	GG + AG	124 (99,2)	87 (100,0)	0,303**	-			
rs5029930	Aditivo n=217	AA	99 (78,0)	72 (80,0)	-	-		
		AC	26 (20,5)	18 (20,0)				
		CC	2 (1,6)	0				
		Dominante A n=217	AA + AC	125 (98,4)	90 (100,0)	0,142**	-	
			CC	2 (1,6)	0			
Recessivo A n=217	CC + AC	28 (22,0)	18 (20,0)	0,716*	0,884 (0,454 - 1,719)			
rs582757	Aditivo n=212	TT	74 (59,2)	45 (51,7)	-	-		
		CT	51 (40,8)	42 (48,3)				
		CC	0	0				
		Dominante T n=212	TT + CT	125 (100,0)	87 (100,0)	-	-	
			CC	0	0			
Recessivo T n=212	CC + CT	51 (40,8)	42 (48,3)	0,281*	1,354 (0,780 - 2,351)			
		TT	74 (59,2)	45 (51,7)				

^aIdentificador de SNP baseado no dbSNP do NCBI

[&]Valor de n, em decorrência de amostras não amplificadas

[^]O alelo 1 é o mais frequente no grupo caso

OR: Odds Ratio

IC: Intervalo de Confiança

‡Regressão logística binária

*Teste Qui-quadrado de Pearson

**Razão de Verossimilhança

Abaixo, encontra-se o mapa de alto desequilíbrio de ligação (DL) dos tagSNPs estudados, calculados através da ferramenta Haploview 4.1 (94) (Fig. 3).

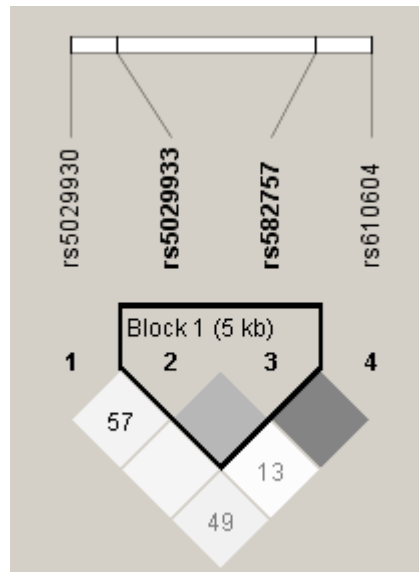


Figura 3. Mapa de desequilíbrio de ligação entre os tagSNPs do gene TNFAIP3. Os números dentro dos quadrados indicam a % em DL, e a intensidade de cor reflete o grau de DL entre dois loci, sendo a mais escura o maior DL entre os SNPs.

4.4 Análise multivariada

Foram consideradas as variáveis clínicas e genéticas estudadas em relação aos DI da ATM que obtiveram valor de $p < 0,20$ na análise univariada: idade ($p = 0,002$), uso de aparelho ortodôntico ($p = 0,141$), histórico de uso de aparelho ortodôntico ($p = 0,026$), escala de depressão ($p = 0,007$), escala de ansiedade ($p = 0,084$), rs610604/TNFAIP3 no modelo aditivo (GT, $p = 0,099$; GG $p = 0,164$) e no modelo dominante para A ($p = 0,142$). (Tabela 2 e 3)

As variáveis que associaram aos DI da ATM, após a análise multivariada, foram a idade ($p = 0,001$, OR 0,961 e IC 0,939 - 0,984), e o uso de aparelho ortodôntico ($p = 0,035$, OR 0,321 e IC 0,112 - 0,922). A variável depressão apresentou uma associação borderline com os DI da ATM ($p = 0,053$, OR 0,534 e IC 0,283 - 1,009).

5. DISCUSSÃO

As DTMs, incluindo o deslocamento de disco com e sem redução, acometem de forma expressiva a população (8, 9), sendo considerada um problema de saúde pública. Fatores clínicos, comportamentais e genéticos (3, 13-19) são descritos em associação a essa condição; entretanto, a etiologia da DTM é, até o momento, pouco esclarecida. (12)

Na literatura ainda não há um consenso absoluto sobre a idade como fator de predisposição ao surgimento da DTM.(95) Neste estudo, a média de idade foi menor no grupo caso ($31,48 \pm 11,52$) que no grupo controle ($37,57 \pm 15,57$) ($p=0,002$). Um possível fator relacionado à idade e o surgimento da DTM podem ser as oscilações hormonais que ocorrem em toda a vida da mulher. (96) KÜchler et al (2020) forneceram evidências de que polimorfismos no gene do receptor 2 de estrogênio (ESR2) estão associados à DTM em mulheres adultas, entre 18 e 50 anos; e, em adolescentes, entre 10 e 14 anos, há uma maior ocorrência de deslocamento de disco da ATM. (15) Por outro lado, uma revisão bibliográfica realizada em bases de dados até 2017, explana sobre a quebra do paradigma em relação ao desenvolvimento de DTM em mulheres com idade reprodutiva, expondo que a prevalência de DTM atinge pico após idade fértil entre 45 e 64 anos. (11)

Este estudo não demonstrou associação entre DD da ATM e tabagismo, corroborando com um estudo coorte longitudinal com acompanhamento de 6 anos. (97) Entretanto, o risco de DTM em mulheres tabagistas com idades entre 18 e 29 anos foi descrito, (98) assim como, sintomas de DTM em pacientes tabagistas jovens de ambos os sexos. (99)

Nossos resultados corroboram com outras pesquisas, as quais não encontraram associação isolada do uso de aparelho ortodôntico e oclusão dentária, (100) como fator causal (101) ou como forma de tratamento para DTM. (102, 103) O uso do aparelho ortodôntico mostrou-se associado aos DI quando estudado de forma conjunta com outras variáveis genéticas e clínicas, no modelo multivariado, reafirmando a etiologia multifatorial dos desarranjos internos na ATM. (3, 13-19)

Já o histórico de uso do aparelho ortodôntico mostrou-se associado aos DI da ATM. Assim, vale ressaltar que a estabilidade ortopédica e oclusal pode interferir no funcionamento fisiológico do sistema estomatognático. Uma oclusão ideal com contatos dentários simultâneos e uniformes possibilita adequado posicionamento da cabeça da mandíbula (mais superior e anterior à fossa glenoide) com o disco articular interposto, garantindo funcionamento e proteção às estruturas adjacentes. Nesse trabalho não foram coletados dados do tratamento ortodôntico realizado nem histórico pré-tratamento. Assim, a avaliação do histórico de uso de aparelho ortodôntico é considerada limitante, uma vez que, os DD poderiam estar presentes previamente ao tratamento, e uma ortodontia mal conduzida pode ou não associar-se com às DTM (104, 105)

Sójka et al (2019) realizaram uma pesquisa na Universidade de Ciências Médicas de Poznań, Polônia, e descreveram a ocorrência de DTM, sintomas de angústia, ansiedade e depressão em estudantes. (16) A condição de ser estudante, neste trabalho, não apresentou associação com DI da ATM, assim como a ansiedade; porém, o grau de depressão, isoladamente, mostrou-se associado à DTM. Já é conhecido que depressão e ansiedade são fatores predisponentes para a disfunção temporomandibular, especialmente, pelos hábitos parafuncionais e baixa

qualidade de vida (106) os quais acompanham tais condições psicológicas. (17, 18) Todas as pacientes desta amostra diagnosticadas com DD da ATM apresentaram algum grau de depressão, sendo o nível de depressão severa a mais expressiva entre as pacientes (52,6%). Lin et al (2017), concluíram que o deslocamento de disco articular foi prevalente na população que se encontra abalada psicologicamente em nível de pensamento suicida. (19)

Todas as pacientes do grupo caso, com DD da ATM, apresentavam dor (artralgia). O mecanismo TNF- α /NF- κ B na indução da COX-2 já foi associado ao quadro de dor (109, 110) e inflamação da ATM. (111) Certas semelhanças em nível estrutural são encontradas entre disco da ATM e o disco vertebral. (112) Acredita-se que os processos inflamatórios, exacerbados pelo TNF- α , sejam eventos críticos na degeneração do disco vertebral e que a sua inibição tem o potencial de aliviar dores decorrentes. (113) Além disso, a ativação do TNFAIP3 aponta redução expressiva da degeneração tecidual no disco intervertebral, minimizando os impactos inflamatórios negativos, podendo ser considerado alvo terapêutico estratégico para o tratamento de doenças degenerativas. (114) Esses estudos descrevem o papel da proteína A20 na neutralização dos efeitos exacerbados do TNF- α e ativação do NF- κ B. Outro mecanismo envolvendo a proteína A20 e do disco vertebral cervical diz respeito ao efeito autoprotetor desencadeado pela proteína no processo natural de envelhecimento celular induzido por TNF- α , chamado senescência. (115)

Uma vasta gama de evidências tem sido explorada sobre TNF- α e o gene TNFAIP3. O despertar do interesse sobre esse mecanismo e locus específico deve-se à sua participação na síntese da proteína A20 e na expressiva participação na regulação tecidual, prevenindo o agravamento de danos pela sinalização da

apoptose celular. (33) Citocinas inflamatórias como o TNF- α quando secretadas em abundância no líquido sinovial da ATM estão envolvidas na exacerbação das respostas biológicas. (81) Ademais, Tanaka e colaboradores afirmam que os distúrbios da ATM não se originam do processo inflamatório primário isolado e sim de acometimentos inflamatório sobrepostos, como trauma, estresse, e acometimentos sistêmicos e psicológicos, podendo motivar episódios de inflamação intensificados e DD da ATM. (10)

Michalowicz et al (2000), ao estudarem gêmeos monozigóticos e dizigóticos, excluíram a hipótese de que fatores genéticos influenciariam no desenvolvimento das disfunções temporomandibulares, acreditando, exclusivamente, que fatores ambientais eram os possíveis determinantes.(116) Entretanto, há uma sucessão de artigos relacionando fatores genéticos com DTM. (45, 74-76) Os deslocamentos de disco, com ou sem redução, apareceram associados ao polimorfismo rs1643821 do gene receptor 1 de estrogênio ESR1, (30) polimorfismo-1607 do gene MMP1, (79) e ao gene do receptor de dopamina D2 (DRD2), o qual associou-se ao deslocamento de disco em adolescentes brasileiros. (77) Já o polimorfismo rs1800629/TNF- α , estudado por Dalewski et al (2020), na população caucasiana europeia, não mostrou associação com pacientes com deslocamento de disco sem redução. (30) Esse resultado diverge de Furquim et al (2016), no qual o mesmo polimorfismo, estudado na população brasileira, foi positivamente associado a distúrbios na ATM. (45)

Nenhum dos polimorfismos estudados nesta amostra: rs610604, rs5029933, rs5029930 e rs582757 do gene TNFAIP3 associaram-se ao risco ou proteção para os desajustes internos da ATM. Nossos resultados corroboram os primeiros achados do projeto OPPERA, o qual não encontrou associação de DTM com polimorfismos

genéticos em diferentes genes, incluindo TNF. (73) Entretanto, com o avançar das pesquisas do projeto OPERA, em um artigo mais recente, seis polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) foram descritos como fatores de risco para a DTM crônica, dentre eles então os genes dos receptores de glicocorticoide, serotonina, proteína G e reguladores de interferon 1. (20)

Dois marcadores do gene TNFAIP3, explorados nesta pesquisa, também foram analisados em doenças autoimunes e inflamatórias. O polimorfismo rs610604 esteve associado ao risco à psoríase, (117) diferentemente do rs582757, o qual não se associou ao desfecho. (118) Entretanto, o rs582757 mostrou-se associado com artrite reumatoide, doença que afeta as membranas sinoviais de múltiplas articulações. (119) Dentre as artrites inflamatórias, a artrite psoriática é considerada a principal comorbidade associada à psoríase, (120) acometendo a grande maioria desses pacientes. (121) O TNFAIP3 foi considerado gene candidato para o aumento da suscetibilidade à artrite psoriática. (122)

Todos os polimorfismos estudados encontram-se em região intrônica do DNA (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). Uma extensa análise realizada por meio da metodologia genome-wide association study (GWAS) investigou variantes genéticas em mais de 80 doenças e identificou que 88% dos loci associados às doenças encontram-se em regiões não codificadoras do DNA (45% em íntrons e 43% em regiões intergênicas). (123) Ademais, SNPs em região de íntron do gene TNFAIP3 foram descritos em associação a doenças autoimunes, como esclerose sistêmica, na população caucasiana francesa - rs5029939 (124) e artrite reumatoide - rs10499194, rs6920220 e rs13207033, na população norte americana. (125)

O “n” amostral, calculado por meio da ferramenta Genetic Power Calculator Tool, demonstrou poder estatístico satisfatório e cobertura populacional. No entanto, um “n” amostral pequeno limita a possibilidade de detecção de efeitos genéticos de baixa incidência. (73) Essa mesma tese foi apresentada pelo projeto OPPERA, no qual pequeno número de participantes desenvolveu DTM. Na prática, estudos com SNPs geram razões de probabilidade muito pequenas em estudos de associação para doenças consideradas complexas. (72)

Os tagSNPs analisados não acusaram um alto desequilíbrio de ligação ($r^2 > 80$), sugerindo que para próximos estudos os quatro marcadores sejam genotipados para a captura total de informações do gene TNFAIP3. Todavia, Nititham et al (2015), realizaram uma meta-análise com pacientes descendentes de europeus diagnosticados com psoríase e descreveram alto DL entre os polimorfismos rs610604 e rs582757 ($r^2 = 0,80$) do gene TNFAIP3. (118)

Este trabalho é o primeiro a investigar a associação de polimorfismos no gene TNFAIP3 com DD da ATM. Mesmo que os achados desse estudo não demonstrem efeito genético de associação com os DD da ATM, o gene TNFAIP3 é um candidato em potencial para o desenvolvimento de condições relacionadas ao processo inflamatório, uma vez que polimorfismos nesse locus genômico foram associados a múltiplas doenças inflamatórias e autoimunes, incluindo lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide, doença de Crohn e psoríase. (126)

6. CONCLUSÃO

Em relação aos DD da ATM em mulheres, pode-se concluir que:

- 1) A menor média de idade ($31,48 \pm 11,52$) e o histórico de uso de aparelho ortodôntico, associaram-se com DD da ATM.*
- 2) A depressão associou-se aos DD, principalmente o nível severo;*
- 3) Nenhum dos tagSNPs do gene TNFAIP3 estudados (rs610604, rs5029933, rs5029930 e rs582757) associaram-se com os DD da ATM.*
- 4) No modelo multivariado, o uso de aparelho ortodôntico e a menor média de idade mostraram-se associados aos DD da ATM, e a depressão associou-se de forma borderline.*

7. REFERÊNCIAS

1. Wadhwa S, Kapila S. TMJ disorders: future innovations in diagnostics and therapeutics. *Journal of dental education*. 2008;72(8):930-47.
2. Piette E. Anatomy of the human temporomandibular joint. An updated comprehensive review. *Acta stomatologica Belgica*. 1993;90(2):103-27.
3. Ferreira FM, Cezar Simamoto-Junior P, Soares CJ, Ramos A, Fernandes-Neto AJ. Effect of Occlusal Splints on the Stress Distribution on the Temporomandibular Joint Disc. *Brazilian dental journal*. 2017;28(3):324-9.
4. De Leeuw R. *Dor orofacial: guia de avaliação, diagnóstico e tratamento*. São Paulo: Quintessence. 2010;315.
5. Loreto C, Galanti C, Almeida LE, Leonardi R, Pannone G, Musumeci G, et al. Expression and localization of aquaporin-1 in temporomandibular joint disc with internal derangement. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2012;41(8):642-7.
6. Cai B. [Physical therapy for temporomandibular joint anterior disc displacement without reduction]. *Zhonghua kou qiang yi xue za zhi = Zhonghua kouqiang yixue zazhi = Chinese journal of stomatology*. 2017;52(3):166-70.
7. Miernik M, Wieckiewicz W. The Basic Conservative Treatment of Temporomandibular Joint Anterior Disc Displacement Without Reduction--Review. *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University*. 2015;24(4):731-5.
8. Valesan LF, Da-Cas CD, Réus JC, Denardin ACS, Garanhani RR, Bonotto D, et al. Prevalence of temporomandibular joint disorders: a systematic review and meta-analysis. *Clinical oral investigations*. 2021;25(2):441-53.
9. Katzberg RW, Westesson PL, Tallents RH, Drake CM. Anatomic disorders of the temporomandibular joint disc in asymptomatic subjects. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 1996;54(2):147-53; discussion 53-5.
10. Tanaka E, Detamore MS, Mercuri LG. Degenerative disorders of the temporomandibular joint: etiology, diagnosis, and treatment. *Journal of dental research*. 2008;87(4):296-307.
11. Yadav S, Yang Y, Dutra EH, Robinson JL, Wadhwa S. Temporomandibular Joint Disorders in Older Adults. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2018;66(6):1213-7.
12. Chisnoiu AM, Picos AM, Popa S, Chisnoiu PD, Lascu L, Picos A, et al. Factors involved in the etiology of temporomandibular disorders - a literature review. *Clujul medical (1957)*. 2015;88(4):473-8.
13. Manfredini D, Guarda-Nardini L, Marchese-Ragona R, Lobbezoo F. Theories on possible temporal relationships between sleep bruxism and obstructive sleep apnea events. An expert opinion. *Sleep & breathing = Schlaf & Atmung*. 2015;19(4):1459-65.
14. Prasad SR, Kumar NR, Shruthi HR, Kalavathi SD. Temporomandibular pain. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*. 2016;20(2):272-5.
15. Kùchler EC, Meger MN, Ayumi Omori M, Gerber JT, Carneiro Martins Neto E, Silva Machado NCD, et al. Association between oestrogen receptors and female temporomandibular disorders. *Acta odontologica Scandinavica*. 2020;78(3):181-8.
16. Sójka A, Stelcer B, Roy M, Mojs E, Pryliński M. Is there a relationship between psychological factors and TMD? *Brain and behavior*. 2019;9(9):e01360.
17. Fillingim RB, Ohrbach R, Greenspan JD, Knott C, Diatchenko L, Dubner R, et al. Psychological factors associated with development of TMD: the OPPERA prospective cohort study. *The journal of pain*. 2013;14(12 Suppl):T75-90.

18. Paulino MR, Moreira VG, Lemos GA, Silva P, Bonan PRF, Batista AUD. Prevalence of signs and symptoms of temporomandibular disorders in college preparatory students: associations with emotional factors, parafunctional habits, and impact on quality of life. *Ciencia & saude coletiva*. 2018;23(1):173-86.
19. Lin SL, Wu SL, Huang HT, Lung FW, Chi TC, Yang JW. Can a 10-Minute Questionnaire Identify Significant Psychological Issues in Patients With Temporomandibular Joint Disease? *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2017;75(9):1856-65.
20. Slade GD, Ohrbach R, Greenspan JD, Fillingim RB, Bair E, Sanders AE, et al. Painful Temporomandibular Disorder: Decade of Discovery from OPPERA Studies. *Journal of dental research*. 2016;95(10):1084-92.
21. Malemud CJ, Goldberg VM. Future directions for research and treatment of osteoarthritis. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. 1999;4:D762-71.
22. Manfredini D, Guarda-Nardini L, Winocur E, Piccotti F, Ahlberg J, Lobbezoo F. Research diagnostic criteria for temporomandibular disorders: a systematic review of axis I epidemiologic findings. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2011;112(4):453-62.
23. Rahmati M, Mobasheri A, Mozafari M. Inflammatory mediators in osteoarthritis: A critical review of the state-of-the-art, current prospects, and future challenges. *Bone*. 2016;85:81-90.
24. Ulmner M, Sugars R, Naimi-Akbar A, Suslu S, Reseland JE, Kruger-Weiner C, et al. Synovial tissue cytokine profile in disc displacement of the temporomandibular joint. *Journal of oral rehabilitation*. 2020;47(10):1202-11.
25. de Alcântara Camejo F, Azevedo M, Ambros V, Caporal KST, Doetzer AD, Almeida LE, et al. Interleukin-6 expression in disc derangement of human temporomandibular joint and association with osteoarthrosis. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 2017;45(5):768-74.
26. Wink CS, St Onge M, Zimny ML. Neural elements in the human temporomandibular articular disc. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 1992;50(4):334-7.
27. Borrelli J, Jr., Olson SA, Godbout C, Schemitsch EH, Stannard JP, Giannoudis PV. Understanding Articular Cartilage Injury and Potential Treatments. *Journal of orthopaedic trauma*. 2019;33 Suppl 6:S6-s12.
28. Akutsu M, Ogura N, Ito K, Kawashima M, Kishida T, Kondoh T. Effects of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α on macrophage inflammatory protein-3 α production in synovial fibroblast-like cells from human temporomandibular joints. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2013;42(6):491-8.
29. Suzuki T, Segami N, Nishimura M, Nojima T. Co-expression of interleukin-1beta and tumor necrosis factor alpha in synovial tissues and synovial fluids of temporomandibular joint with internal derangement: comparison with histological grading of synovial inflammation. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2002;31(9):549-57.
30. Dalewski B, Kamińska A, Białkowska K, Jakubowska A, Sobolewska E. Association of Estrogen Receptor 1 and Tumor Necrosis Factor α Polymorphisms with Temporomandibular Joint Anterior Disc Displacement without Reduction. *Disease markers*. 2020;2020:6351817.
31. Lubrano di Ricco M, Ronin E, Collares D, Divoux J, Grégoire S, Wajant H, et al. Tumor necrosis factor receptor family costimulation increases regulatory T-cell activation and function via NF- κ B. *European journal of immunology*. 2020;50(7):972-85.

32. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1975;72(9):3666-70.
33. Zelová H, Hošek J. TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society [et al]*. 2013;62(7):641-51.
34. Zhang C, Zhang G, Sun N, Zhang Z, Zhang Z, Luo Y, et al. Comprehensive molecular analyses of a TNF family-based signature with regard to prognosis, immune features, and biomarkers for immunotherapy in lung adenocarcinoma. *EBioMedicine*. 2020;59:102959.
35. Bellamri N, Viel R, Morzadec C, Lecureur V, Joannes A, de Latour B, et al. TNF- α and IL-10 Control CXCL13 Expression in Human Macrophages. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2020;204(9):2492-502.
36. Faustman DL, Davis M. TNF Receptor 2 and Disease: Autoimmunity and Regenerative Medicine. *Frontiers in immunology*. 2013;4:478.
37. Kishore R, Tkebuchava T, Sasi SP, Silver M, Gilbert HY, Yoon YS, et al. Tumor necrosis factor- α signaling via TNFR1/p55 is deleterious whereas TNFR2/p75 signaling is protective in adult infarct myocardium. *Advances in experimental medicine and biology*. 2011;691:433-48.
38. Qin B, Wang J, Liang Y, Yang Z, Zhong R. The association between TNF- α , IL-10 gene polymorphisms and primary Sjögren's syndrome: a meta-analysis and systemic review. *PloS one*. 2013;8(5):e63401.
39. Wang L, Zhou H. A Meta-Analysis of the Relationship between Tumor Necrosis Factor- α Polymorphisms and Psoriasis. *Dermatology (Basel, Switzerland)*. 2021;237(1):39-45.
40. van der Houwen T, van Laar J. Behçet's Disease, and the Role of TNF- α and TNF- α Blockers. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(9).
41. Chen L, Huang Z, Liao Y, Yang B, Zhang J. Association between tumor necrosis factor polymorphisms and rheumatoid arthritis as well as systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*. 2019;52(3):e7927.
42. Chen J, Yu M, Li X, Sun QF, Yang CZ, Yang PS. Progranulin promotes osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells via tumor necrosis factor receptors to inhibit TNF- α sensitized NF- κ B and activate ERK/JNK signaling. *Journal of periodontal research*. 2020;55(3):363-73.
43. Ogura N, Tobe M, Sakamaki H, Nagura H, Abiko Y, Kondoh T. Tumor necrosis factor-alpha increases chemokine gene expression and production in synovial fibroblasts from human temporomandibular joint. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2005;34(6):357-63.
44. Kroese JM, Kopp S, Lobbezoo F, Alstergren P. TMJ Pain and Crepitus Occur Early Whereas Dysfunction Develops Over Time in Rheumatoid Arthritis. *Journal of oral & facial pain and headache*. 2020;34(4):398-405.
45. Furquim BD, Flamengui LM, Repeke CE, Cavalla F, Garlet GP, Conti PC. Influence of TNF- α -308 G/A gene polymorphism on temporomandibular disorder. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics : official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics*. 2016;149(5):692-8.
46. Lin X, Kong J, Wu Q, Yang Y, Ji P. Effect of TLR4/MyD88 signaling pathway on expression of IL-1 β and TNF- α in synovial fibroblasts from temporomandibular joint exposed to lipopolysaccharide. *Mediators of inflammation*. 2015;2015:329405.
47. Hayden MS, Ghosh S. Regulation of NF- κ B by TNF family cytokines. *Seminars in immunology*. 2014;26(3):253-66.

48. Onizawa M, Oshima S, Schulze-Topphoff U, Osés-Prieto JA, Lu T, Tavares R, et al. The ubiquitin-modifying enzyme A20 restricts ubiquitination of the kinase RIPK3 and protects cells from necroptosis. *Nature immunology*. 2015;16(6):618-27.
49. Liu Y, Liu K, Huang Y, Sun M, Tian Q, Zhang S, et al. TRIM25 Promotes TNF- α -Induced NF- κ B Activation through Potentiating the K63-Linked Ubiquitination of TRAF2. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2020;204(6):1499-507.
50. Mitchell JP, Carmody RJ. NF- κ B and the Transcriptional Control of Inflammation. *International review of cell and molecular biology*. 2018;335:41-84.
51. Jha P, Das H. KLF2 in Regulation of NF- κ B-Mediated Immune Cell Function and Inflammation. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(11).
52. Ruland J. Return to homeostasis: downregulation of NF- κ B responses. *Nature immunology*. 2011;12(8):709-14.
53. Varfolomeev E, Vucic D. Intracellular regulation of TNF activity in health and disease. *Cytokine*. 2018;101:26-32.
54. Chen T, Zhang X, Zhu G, Liu H, Chen J, Wang Y, et al. Quercetin inhibits TNF- α induced HUVECs apoptosis and inflammation via downregulating NF- κ B and AP-1 signaling pathway in vitro. *Medicine*. 2020;99(38):e22241.
55. Choi MC, Jo J, Park J, Kang HK, Park Y. NF- κ B Signaling Pathways in Osteoarthritic Cartilage Destruction. *Cells*. 2019;8(7).
56. Ou F, Huang Y, Sun J, Su K, He Y, Zeng R, et al. Yohimbine Ameliorates Temporomandibular Joint Chondrocyte Inflammation with Suppression of NF- κ B Pathway. *Inflammation*. 2021;44(1):80-90.
57. de Sousa LM, Dos Santos Alves JM, da Silva Martins C, Pereira KMA, Goes P, Gondim DV. Immunoexpression of canonical Wnt and NF- κ B signaling pathways in the temporomandibular joint of arthritic rats. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society [et al]*. 2019;68(10):889-900.
58. Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D. 30 Years of NF- κ B: A Blossoming of Relevance to Human Pathobiology. *Cell*. 2017;168(1-2):37-57.
59. Priem D, van Loo G, Bertrand MJM. A20 and Cell Death-driven Inflammation. *Trends in immunology*. 2020;41(5):421-35.
60. Malynn BA, Ma A. A20: A multifunctional tool for regulating immunity and preventing disease. *Cellular immunology*. 2019;340:103914.
61. Martens A, van Loo G. A20 at the Crossroads of Cell Death, Inflammation, and Autoimmunity. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2020;12(1).
62. Polykratis A, Martens A, Eren RO, Shirasaki Y, Yamagishi M, Yamaguchi Y, et al. A20 prevents inflammasome-dependent arthritis by inhibiting macrophage necroptosis through its ZnF7 ubiquitin-binding domain. *Nature cell biology*. 2019;21(6):731-42.
63. Li Y, Mooney EC, Holden SE, Xia XJ, Cohen DJ, Walsh SW, et al. A20 Orchestrates Inflammatory Response in the Oral Mucosa through Restraining NF- κ B Activity. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2019;202(7):2044-56.
64. Ting AT, Bertrand MJM. More to Life than NF- κ B in TNFR1 Signaling. *Trends in immunology*. 2016;37(8):535-45.
65. Koberle B, Koch B, Fischer BM, Hartwig A. Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes and putative cancer risk. *Arch Toxicol*. 2016;90(10):2369-88.
66. Smith GD, Ebrahim S. 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? *International journal of epidemiology*. 2003;32(1):1-22.

67. Liu X, Mertz JE. Sequence of the polypyrimidine tract of the 3'-terminal 3' splicing signal can affect intron-dependent pre-mRNA processing in vivo. *Nucleic acids research*. 1996;24(9):1765-73.
68. Tazi J, Bakkour N, Stamm S. Alternative splicing and disease. *Biochimica et biophysica acta*. 2009;1792(1):14-26.
69. Ramirez-Bello J, Jimenez-Morales M. [Functional implications of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in protein-coding and non-coding RNA genes in multifactorial diseases]. *Gaceta medica de Mexico*. 2017;153(2):238-50.
70. Zhang F, Lupski JR. Non-coding genetic variants in human disease. *Human molecular genetics*. 2015;24(R1):R102-10.
71. Ray JP, de Boer CG, Fulco CP, Lareau CA, Kanai M, Ulirsch JC, et al. Prioritizing disease and trait causal variants at the TNFAIP3 locus using functional and genomic features. *Nature communications*. 2020;11(1):1237.
72. Slade GD, Smith SB, Zaykin DV, Tchivileva IE, Gibson DG, Yuryev A, et al. Facial pain with localized and widespread manifestations: separate pathways of vulnerability. *Pain*. 2013;154(11):2335-43.
73. Smith SB, Mir E, Bair E, Slade GD, Dubner R, Fillingim RB, et al. Genetic variants associated with development of TMD and its intermediate phenotypes: the genetic architecture of TMD in the OPPERA prospective cohort study. *The journal of pain*. 2013;14(12 Suppl):T91-101.e1-3.
74. Pinto Fiamengui LMS, Furquim BD, De la Torre Canales G, Fonseca Carvalho Soares F, Poluha RL, Palanch Repeke CE, et al. Role of inflammatory and pain genes polymorphisms in temporomandibular disorder and pressure pain sensitivity. *Archives of oral biology*. 2020;118:104854.
75. Corso P, Meger MN, Petean IBF, Souza JF, Brancher JA, da Silva LAB, et al. Examination of OPG, RANK, RANKL and HIF1A polymorphisms in temporomandibular joint ankylosis patients. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 2019;47(5):766-70.
76. Brancher JA, Bertoli FMP, Michels B, Lopes-Faturri A, Pizzatto E, Losso EM, et al. Is catechol-O-methyltransferase gene associated with temporomandibular disorders? A systematic review and meta-analysis. *International journal of paediatric dentistry*. 2021;31(1):152-63.
77. Franco GB, Faturri AL, Meger MN, de Paiva Bertoli FM, Wambier LM, Scariot R, et al. Dopamine receptor D2 and ankyrin repeat domain containing one in temporomandibular disorder of adolescents. *International journal of paediatric dentistry*. 2019;29(6):748-55.
78. de Freitas LV, Lopes AC, Piatto VB, Maniglia JV. Association of temporomandibular dysfunction with the 102T-C polymorphism in the serotonin receptor gene in Brazilian patients. *Archives of medical science : AMS*. 2013;9(6):1013-8.
79. Rosales AS, Rodríguez EAV, González CLL, Arellano EDR, Rubio SAG, Cobián TAG. Association Between -1607 1G/2G Polymorphism of MMP1 and Temporomandibular Joint Anterior Disc Displacement with Reduction. *Brazilian dental journal*. 2020;31(2):152-6.
80. Jacobson EC, Jain L, Vickers MH, Olins AL, Olins DE, Perry JK, et al. TNF- α Differentially Regulates Cell Cycle Genes in Promyelocytic and Granulocytic HL-60/S4 Cells. *G3 (Bethesda, Md)*. 2019;9(8):2775-86.
81. Ibi M. Inflammation and Temporomandibular Joint Derangement. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 2019;42(4):538-42.
82. Scariot R, Corso P, Sebastiani AM, Vieira AR. The many faces of genetic contributions to temporomandibular joint disorder: An updated review. *Orthodontics & craniofacial research*. 2018;21(4):186-201.
83. List T, Jensen RH. Temporomandibular disorders: Old ideas and new concepts. *Cephalalgia : an international journal of headache*. 2017;37(7):692-704.

84. Melis M, Di Giosia M. The role of genetic factors in the etiology of temporomandibular disorders: a review. *Cranio : the journal of craniomandibular practice*. 2016;34(1):43-51.
85. Munzenmaier DH, Wilentz J, Cowley AW, Jr. Genetic, epigenetic, and mechanistic studies of temporomandibular disorders and overlapping pain conditions. *Molecular pain*. 2014;10:72.
86. Wang DD, Gan YH, Ma XC, Meng JH. [Association between ADAMTS14 gene polymorphism and the temporomandibular joint osteoarthritis in Chinese Han females]. *Beijing da xue xue bao Yi xue ban = Journal of Peking University Health sciences*. 2018;50(2):279-83.
87. Schiffman E, Ohrbach R, Truelove E, Look J, Anderson G, Goulet JP, et al. Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders (DC/TMD) for Clinical and Research Applications: recommendations of the International RDC/TMD Consortium Network* and Orofacial Pain Special Interest Group†. *Journal of oral & facial pain and headache*. 2014;28(1):6-27.
88. Simoen L, Van den Berghe L, Jacquet W, Marks L. Depression and anxiety levels in patients with temporomandibular disorders: comparison with the general population. *Clinical oral investigations*. 2020;24(11):3939-45.
89. Aidar M, Line SR. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J*. 2007;18(2):148-52.
90. Trevilatto PC, Line SR. Use of buccal epithelial cells for PCR amplification of large DNA fragments. *The Journal of forensic odonto-stomatology*. 2000;18(1):6-9.
91. Limou S, Taverner AM, Winkler CA. Ferret: a user-friendly Java tool to extract data from the 1000 Genomes Project. *Bioinformatics (Oxford, England)*. 2016;32(14):2224-6.
92. Shen GQ, Abdullah KG, Wang QK. The TaqMan method for SNP genotyping. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*. 2009;578:293-306.
93. Purcell S, Cherny SS, Sham PC. Genetic Power Calculator: design of linkage and association genetic mapping studies of complex traits. *Bioinformatics (Oxford, England)*. 2003;19(1):149-50.
94. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics (Oxford, England)*. 2005;21(2):263-5.
95. Berger M, Szalewski L, Bakalczuk M, Bakalczuk G, Bakalczuk S, Szkutnik J. Association between estrogen levels and temporomandibular disorders: a systematic literature review. *Przegląd menopauzalny = Menopause review*. 2015;14(4):260-70.
96. Robinson JL, Johnson PM, Kister K, Yin MT, Chen J, Wadhwa S. Estrogen signaling impacts temporomandibular joint and periodontal disease pathology. *Odontology*. 2020;108(2):153-65.
97. Wänman A. Temporomandibular disorders among smokers and nonsmokers: a longitudinal cohort study. *Journal of orofacial pain*. 2005;19(3):209-17.
98. Sanders AE, Maixner W, Nackley AG, Diatchenko L, By K, Miller VE, et al. Excess risk of temporomandibular disorder associated with cigarette smoking in young adults. *The journal of pain*. 2012;13(1):21-31.
99. Miettinen O, Anttonen V, Patinen P, Pääkilä J, Tjäderhane L, Sipilä K. Prevalence of Temporomandibular Disorder Symptoms and Their Association with Alcohol and Smoking Habits. *Journal of oral & facial pain and headache*. 2017;31(31):30-6.
100. Manfredini D, Lombardo L, Siciliani G. Temporomandibular disorders and dental occlusion. A systematic review of association studies: end of an era? *Journal of oral rehabilitation*. 2017;44(11):908-23.
101. Mohlin B, Axelsson S, Paulin G, Pietilä T, Bondemark L, Brattström V, et al. TMD in relation to malocclusion and orthodontic treatment. *The Angle orthodontist*. 2007;77(3):542-8.
102. Luther F, Layton S, McDonald F. Orthodontics for treating temporomandibular joint (TMJ) disorders. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2010(7):Cd006541.
103. Kim MR, Graber TM, Viana MA. Orthodontics and temporomandibular disorder: a meta-analysis. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics : official publication of the*

American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics. 2002;121(5):438-46.

104. Okeson JP. Evolution of occlusion and temporomandibular disorder in orthodontics: Past, present, and future. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics : official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics.* 2015;147(5 Suppl):S216-23.

105. Manfredini D, Stellini E, Gracco A, Lombardo L, Nardini LG, Siciliani G. Orthodontics is temporomandibular disorder-neutral. *The Angle orthodontist.* 2016;86(4):649-54.

106. Resende C, Rocha L, Paiva RP, Cavalcanti CDS, Almeida EO, Roncalli AG, et al. Relationship between anxiety, quality of life, and sociodemographic characteristics and temporomandibular disorder. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology.* 2020;129(2):125-32.

107. Louca Jounger S, Christidis N, Svensson P, List T, Ernberg M. Increased levels of intramuscular cytokines in patients with jaw muscle pain. *The journal of headache and pain.* 2017;18(1):30.

108. Jasim H, Ernberg M, Carlsson A, Gerdle B, Ghafouri B. Protein Signature in Saliva of Temporomandibular Disorders Myalgia. *International journal of molecular sciences.* 2020;21(7).

109. Ke J, Long X, Liu Y, Zhang YF, Li J, Fang W, et al. Role of NF-kappaB in TNF-alpha-induced COX-2 expression in synovial fibroblasts from human TMJ. *Journal of dental research.* 2007;86(4):363-7.

110. Morisugi T, Tanaka Y, Kawakami T, Kirita T. Mechanical stretch enhances NF-kappaB-dependent gene expression and poly(ADP-ribose) synthesis in synovial cells. *Journal of biochemistry.* 2010;147(5):633-44.

111. Xue XT, Kou XX, Li CS, Bi RY, Meng Z, Wang XD, et al. Progesterone attenuates temporomandibular joint inflammation through inhibition of NF-kB pathway in ovariectomized rats. *Scientific reports.* 2017;7(1):15334.

112. Behzadi F, Mandell JC, Smith SE, Guenette JP. Temporomandibular joint imaging: current clinical applications, biochemical comparison with the intervertebral disc and knee meniscus, and opportunities for advancement. *Skeletal radiology.* 2020;49(8):1183-93.

113. Risbud MV, Shapiro IM. Role of cytokines in intervertebral disc degeneration: pain and disc content. *Nature reviews Rheumatology.* 2014;10(1):44-56.

114. Chen J, Ma Y, Yang Z, Lan H, Liu G, Zhang Y, et al. TNFAIP3 ameliorates the degeneration of inflammatory human nucleus pulposus cells by inhibiting mTOR signaling and promoting autophagy. *Aging.* 2020;12(23):24242-54.

115. Peng X, Zhang C, Bao JP, Zhu L, Shi R, Xie ZY, et al. A20 of nucleus pulposus cells plays a self-protection role via the nuclear factor-kappa B pathway in the inflammatory microenvironment. *Bone & joint research.* 2020;9(5):225-35.

116. Michalowicz BS, Pihlstrom BL, Hodges JS, Bouchard TJ, Jr. No heritability of temporomandibular joint signs and symptoms. *Journal of dental research.* 2000;79(8):1573-8.

117. Gong HB, Gao ST, Pu XM, Kang XJ, Wu XJ. Association of rs610604 in TNFAIP3 and rs17728338 in TNIP1 gene polymorphisms with psoriasis susceptibility: a meta-analysis of case-control studies. *BMC medical genetics.* 2020;21(1):103.

118. Nititham J, Taylor KE, Gupta R, Chen H, Ahn R, Liu J, et al. Meta-analysis of the TNFAIP3 region in psoriasis reveals a risk haplotype that is distinct from other autoimmune diseases. *Genes and immunity.* 2015;16(2):120-6.

119. Dieguez-Gonzalez R, Calaza M, Perez-Pampin E, Balsa A, Blanco FJ, Cañete JD, et al. Analysis of TNFAIP3, a feedback inhibitor of nuclear factor-kappaB and the neighbor intergenic 6q23 region in rheumatoid arthritis susceptibility. *Arthritis research & therapy.* 2009;11(2):R42.

120. Scher JU, Ogdie A, Merola JF, Ritchlin C. Preventing psoriatic arthritis: focusing on patients with psoriasis at increased risk of transition. *Nature reviews Rheumatology.* 2019;15(3):153-66.

121. Solmaz D, Eder L, Aydin SZ. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of psoriatic arthritis. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2018;32(2):295-311.
122. Bowes J, Orozco G, Flynn E, Ho P, Brier R, Marzo-Ortega H, et al. Confirmation of TNIP1 and IL23A as susceptibility loci for psoriatic arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2011;70(9):1641-4.
123. Hindorff LA, Sethupathy P, Junkins HA, Ramos EM, Mehta JP, Collins FS, et al. Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(23):9362-7.
124. Dieudé P, Guedj M, Wipff J, Ruiz B, Riemekasten G, Matucci-Cerinic M, et al. Association of the TNFAIP3 rs5029939 variant with systemic sclerosis in the European Caucasian population. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010;69(11):1958-64.
125. Plenge RM, Cotsapas C, Davies L, Price AL, de Bakker PI, Maller J, et al. Two independent alleles at 6q23 associated with risk of rheumatoid arthritis. *Nature genetics*. 2007;39(12):1477-82.
126. Vereecke L, Beyaert R, van Loo G. Genetic relationships between A20/TNFAIP3, chronic inflammation and autoimmune disease. *Biochemical Society transactions*. 2011;39(4):1086-91.

8. ANEXOS

8.1 Tabelas complementares

Tabela 4. Resultados da análise univariada dos tagSNPs do gene *TNFAIP3* para os modelos dominante, recessivo e aditivo (*n* total=207) nos grupos caso (deslocamento de disco com redução – DDCR, *n*=76) e controle (sem DD, *n*=131)

Gene	tagSNP dbSNP ^a	Modelo Genético ^{&}	Genótipos [^]	Grupos - n (%)		Valor de <i>p</i>	OR (IC 95%)
				Controle	DDCR		
<i>TNFAIP3</i>	rs610604	Aditivo <i>n</i> =230	TT	55 (44,7)	29 (40,3)	0,393‡	1,519 (0,582 - 3,964)
			GT	47 (38,2)	36 (50,0)	0,171‡	1,943 (0,750 - 5,034)
			GG	21 (17,1)	7 (9,7)	0,366‡	
	Dominante T <i>n</i> =230	TT + GT	102 (82,9)	65 (90,3)	0,158*	1,722 (0,697 - 4,253)	
			GG	21 (17,1)	7 (9,7)		
	Recessivo T <i>n</i> =230	GT + GG	68 (55,3)	43 (59,7)	0,546*	1,102 (0,615 - 1,974)	
			TT	55 (44,7)	29 (40,3)		
	rs5029933	Aditivo <i>n</i> =228	AA	1 (0,8)	0	-	-
			AG	124 (99,2)	68 (100,0)		
			GG	0	0		
		Dominante A <i>n</i> =228	AA + AG	140 (100,0)	66 (100,0)	-	-
				GG	0	0	
Recessivo A <i>n</i> =228	GG + AG	124 (99,2)	68 (100,0)	0,351**	-		
rs5029930	Aditivo <i>n</i> =235	AA	99 (78,0)	57 (80,3)	0,759‡	-	
		AC	26 (20,5)	14 (19,7)	0,943‡	-	
		CC	2 (1,6)	0	0,604‡		
	Dominante A <i>n</i> =235	AA + AC	125 (98,4)	71 (100,0)	0,181**	-	
			CC	2 (1,6)	0		
	Recessivo A <i>n</i> =235	CC + AC	28 (22,0)	14 (80,3)	0,701*	0,895 (0,441 - 1,817)	
			AA	99 (78,0)	57 (80,3)		
rs582757	Aditivo <i>n</i> =229	TT	74 (59,2)	35 (52,9)	-	-	
		CT	51 (40,8)	32 (47,1)			
		CC	0	0			
	Dominante T <i>n</i> =229	TT + CT	125 (100,0)	68 (100,0)	-	-	
			CC	0	0		
	Recessivo T <i>n</i> =229	CC + CT	51 (40,8)	32 (47,1)	0,401*	1,134 (0,631 - 2,037)	
	TT	74 (59,2)	36 (52,9)				

^aIdentificador de SNP baseado no dbSNP do NCBI

[&]Valor de *n*, em decorrência de amostras não amplificadas

[^]O alelo 1 é o mais frequente no grupo caso

OR: Odds Ratio

‡Regressão logística binária

**Razão de Verossimilhança

IC: Intervalo de Confiança

*Teste Qui-quadrado de Pearson

Tabela 5. Resultados da análise univariada dos tagSNPs do gene TNFAIP3 para os modelos dominante, recessivo e aditivo (n total=150) nos grupos caso (deslocamento de disco sem redução – DDSR, n=19) e controle (sem DD, n=131)

tagSNP dbSNP ^a	Modelo Genético ^{&}	Genótipos [^]	Grupos - n (%)		Valor de p	OR (IC 95%)
			Controle	DDSR		
rs610604	Aditivo n=142	TT	55 (44,7)	6 (31,6)	0,720‡	0,764 (0,175 - 3,335)
		GT	47 (38,2)	10 (52,6)	0,574‡	1,489 (0,371 - 5,974)
		GG	21 (17,1)	3 (15,8)	0,473‡	
	Dominante T n=142	TT + GT	102 (82,9)	16 (84,2)	0,889*	1,098 (0,293 - 4,109)
		GG	21 (17,1)	3 (15,8)		
	Recessivo T n=142	GT + GG	68 (55,3)	13 (68,4)	0,282*	1,752 (0,625 - 4,912)
	TT	55 (44,7)	6 (31,6)			
rs5029933	Aditivo n=144	AA	1 (0,8)	0	-	-
		AG	124 (99,2)	19 (100,0)	-	-
		GG	0	0	-	-
	Dominante A n=144	AA + AG	125 (100,0)	19 (100,0)	-	-
		GG	0	0		
	Recessivo A n=144	GG + AG	124 (99,2)	19 (100,0)	0,594**	-
	AA	1 (0,8)	0			
rs5029930	Aditivo n=146	AA	99 (78,0)	15 (78,9)	-	-
		AC	26 (20,4)	4 (21,1)	-	-
		CC	2 (1,6)	0	-	-
	Dominante A n=146	AA + AC	125 (98,4)	19 (100,0)	0,454**	-
		CC	2 (1,6)	0		
	Recessivo A n=146	CC + AC	28 (22,0)	4 (21,1)	0,922*	0,943 (0,290 - 3,068)
	AA	99 (78,0)	15 (78,9)			
rs582757	Aditivo n=144	TT	74 (59,2)	9 (47,4)	-	0,620 (0,235 - 1,634)
		CT	51 (40,8)	10 (52,6)		
		CC	0	0		
	Dominante T n=144	TT + CT	125 (100,0)	19 (100,0)	-	-
		CC	0	0		
	Recessivo T n=144	CC + CT	51 (40,8)	10 (52,6)	0,334*	1,612 (0,612 - 4,247)
	TT	74 (59,2)	9 (47,4)			

^aIdentificador de SNP baseado no dbSNP do NCBI

[&]Valor de n, em decorrência de amostras não amplificadas

[^]O alelo 1 é o mais frequente no grupo caso

OR: Odds Ratio

IC: Intervalo de Confiança

‡Regressão logística binária

*Teste Qui-quadrado de Pearson

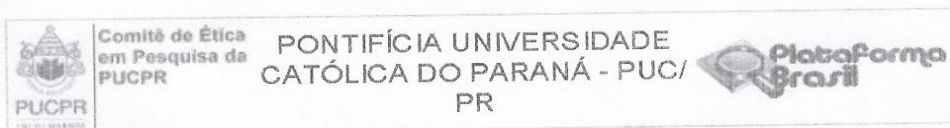
**Razão de Verossimilhança

8.2 Lista de abreviaturas e siglas

<i>ATM</i>	<i>Articulação temporomandibular</i>
<i>DD</i>	<i>Deslocamentos de disco</i>
<i>DTM</i>	<i>Disfunção temporomandibular</i>
<i>TNF-α</i>	<i>Fator de necrose tumoral alfa</i>
<i>TNFAIP3</i>	<i>Fator de necrose tumoral</i>
<i>TNFR1</i>	<i>Receptor 1 do fator de necrose tumoral</i>
<i>TNFR2</i>	<i>Receptor 2 do fator de necrose tumoral</i>
<i>NF-κB</i>	<i>Fator nuclear Kappa-Beta</i>
<i>Da</i>	<i>Dalton</i>
<i>SNPs</i>	<i>Polimorfismos de base única</i>
<i>OPPERA</i>	<i>Orofacial Pain: Prospective Evaluation and Risk Assessment</i>
<i>HTR2A</i>	<i>Receptor de hidroxitriptamina 2^a</i>
<i>COMT</i>	<i>Catecol-O-metiltransferase</i>
<i>DRD2</i>	<i>Receptor de dopamina D2</i>
<i>ESR1</i>	<i>Receptor de estrogênio 1</i>
<i>ESR2</i>	<i>Receptor de estrogênio 2</i>
<i>MMP1</i>	<i>Gene codificador da metaloproteinase 1</i>
<i>HIV</i>	<i>Vírus da imunodeficiência humana</i>
<i>RDC/TMD</i>	<i>Research Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders</i>
<i>ADD</i>	<i>Andrea Duarte Doetzer</i>
<i>ILPB</i>	<i>Ian Luna Parente Brasileiro</i>

<i>PHQ-9</i>	<i>Patient Health Questionnaire 9</i>
<i>GAD-7</i>	<i>Generalized Anxiety Disorder 7</i>
<i>μl</i>	<i>Microlitro</i>
<i>et al</i>	<i>E colaboradores</i>
<i>DNA</i>	<i>Ácido Desoxirribonucleico</i>
<i>tagSNPs</i>	<i>SNPs chave representativos de um gene</i>
<i>bins</i>	<i>Blocos de desequilíbrio de ligação</i>
<i>DL</i>	<i>Desequilíbrio de Ligação</i>
<i>rpm</i>	<i>Rotações por minuto</i>
<i>mM</i>	<i>Milimolar</i>
<i>M</i>	<i>Molar</i>
<i>EDTA</i>	<i>Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético</i>
<i>Tris</i>	<i>Hidroximetil aminometano</i>
<i>PH</i>	<i>Potencial hidrogeniônico</i>
<i>SDS</i>	<i>Sodium dodecyl sulfate</i>
<i>FAM</i>	<i>Frequência alélica mínima</i>
<i>CEU</i>	<i>Residentes de Utah com ancestralidade norte e oeste da Europa</i>
<i>rs</i>	<i>Referente ao SNP</i>
<i>PCR</i>	<i>Reação em Cadeia da Polimerase</i>
<i>OR</i>	<i>Odds Ratio</i>
<i>IC</i>	<i>Intervalo de Confiança</i>
<i>NCBI</i>	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
<i>dbSNP</i>	<i>Banco de dados de SNPs</i>
<i>GWAS</i>	<i>Genome-wide association study</i>

8.3 Parecer do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE CLÍNICA, GENÉTICA, IMUNO-HISTOQUÍMICA, PROTEÔMICA E SOROLÓGICA DE FATORES POSSIVELMENTE LIGADOS A ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR (ATM) HUMANA COM DESARRANJOS INTERNOS

Pesquisador: andrea duarte doetzer

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa na qual esteja prevista a dissociação irreversível dos dados dos participantes da pesquisa.);

Versão: 1

CAAE: 55535716.8.0000.0100

Instituição Proponente: Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Patrocinador Principal: fundação para o desenvolvimento científico e tecnologico da odontologia

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.533.139

Apresentação do Projeto:

É um estudo de associação e de caso-controle, cuja hipótese desta pesquisa é a de que fatores hormonais e inflamatórios ainda não identificados estejam envolvidos no desarranjo interno da articulação temporomandibular.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O objetivo do presente trabalho é investigar a associação de alterações em vias inflamatória e hormonal através de análise clínica, sorológica, imuno-histoquímica, proteômica e genética em pacientes com e sem disfunção da articulação temporomandibular.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

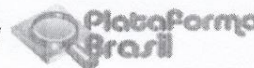
Os possíveis riscos deste estudo incluem: diagnóstico de alterações psicológicas como causa da disfunção de articulação temporomandibular, além de constrangimento para responder o questionário. Caso identificada alguma alteração psicológica ou clínica, medidas serão tomadas

Endereço: Rua Imaculada Conceição - 1155 - 3º andar
Bairro: Prado Velho **CEP:** 80.215-901
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3271-2103 **Fax:** (41)3271-2103 **E-mail:** nep@pucpr.br



Comitê de Ética
em Pesquisa da
PUCPR

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO PARANÁ - PUC/
PR



Continuação do Parecer: 1.533.139

para sua redução, tais como encaminhar para a equipe que trate tal condição.

Benefícios:

Este estudo poderá trazer os seguintes benefícios para os participantes: identificação de causas da disfunção de articulação temporomandibular, podendo direcionar o tratamento de acordo com os resultados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto de pesquisa relevante, metodologicamente adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE claro, objetivo, preserva o sujeito de pesquisa.

TCUD claro e objetivo com período bem definidos de consulta aos prontuários

Recomendações:

Nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

O presente projeto, seguiu nesta data para análise da CONEP e só tem o seu início autorizado após a aprovação pela mesma.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_673296.pdf	27/04/2016 07:19:42		Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	27/04/2016 07:19:18	andrea duarte doetzer	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Termo_Compromisso_Utilizacao_Dados.pdf	03/03/2016 16:46:42	andrea duarte doetzer	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_CONEP_DTM.pdf	03/03/2016 16:45:57	andrea duarte doetzer	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LVRE_ESCLARECIDO.pdf	03/03/2016 16:42:49	andrea duarte doetzer	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Rua Imaculada Conceição - 1155 - 3º andar
 Bairro: Prado Velho CEP: 80.215-901
 UF: PR Município: CURITIBA
 Telefone: (41)3271-2103 Fax: (41)3271-2103 E-mail: nep@pucpr.br

8.4 Termo de consentimento livre e esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.)

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do estudo “Análise clínica, genética, imuno-histoquímica, proteômica e sorológica de fatores possivelmente ligados a articulação temporomandibular (ATM) humana com desarranjos internos”, e que tem como objetivo avaliar investigar a associação de alterações em vias inflamatória e hormonal através de análise clínica, sorológica, imuno-histoquímica, proteômica e genética em pacientes com e sem disfunção da articulação temporomandibular. Acreditamos que ela seja importante porque poderá contribuir para identificar as possíveis causas da DTM, podendo melhorar a qualidade do tratamento.

PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

A minha participação no referido estudo será de responder ao questionário, autorizar pesquisa a ser realizada com material coletado durante procedimento cirúrgico (quando indicado para tratamento), avaliação de resultados dos exames de sangue já coletados e coleta de DNA através de bochecho com saliva.

RISCOS E BENEFÍCIOS

Fui alertado de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como identificação de causas da DTM, podendo direcionar o tratamento de acordo com os resultados. Recebi, também que é possível que aconteçam os seguintes desconfortos ou riscos como diagnóstico de alterações psicológicas como causa da DTM. Dos quais medidas serão tomadas para sua redução, tais como encaminhar para a equipe que trate tal condição.

SIGILO E PRIVACIDADE

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, será mantido em sigilo. Os pesquisadores se responsabilizam pela guarda e confidencialidade dos dados, bem como a não exposição dos dados de pesquisa.

AUTONOMIA

É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação. Também fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo.

No entanto, caso eu tenha qualquer despesa decorrente da participação na pesquisa, tais como transporte, alimentação entre outros, haverá ressarcimento dos valores gastos na forma seguinte:

depósito em conta corrente. De igual maneira, caso ocorra algum dano decorrente da minha participação no estudo, serei devidamente indenizado, conforme determina a lei.

CONTATO

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são Dr. Ian Luna Parente Brasileiro e Profa. Dra. Paula Cristina Trevilatto e com eles poderei manter contato pelos telefones **41 997359929**. O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) é composto por um grupo de pessoas que estão trabalhando para garantir que seus direitos como participante de pesquisa sejam respeitados. Ele tem a obrigação de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética. Se você achar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma forma, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR (CEP) pelo telefone (41) 3271-2292 entre segunda e sexta-feira das 08h00 as 17h30 ou pelo e-mail nep@pucpr.br.

DECLARAÇÃO

Declaro que li e entendi todas as informações presentes neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tive a oportunidade de discutir as informações deste termo. Todas as minhas perguntas foram respondidas e eu estou satisfeito com as respostas. Entendo que receberei uma via assinada e datada deste documento e que outra via assinada e datada será arquivada nos pelo pesquisador responsável do estudo.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

Dados do participante da pesquisa	
Nome:	
Telefone:	
e-mail:	

Local, ____ de _____ de ____.

Assinatura do participante da pesquisa

Assinatura do Pesquisador

USO DE IMAGEM

Autorizo o uso de minha imagem para fins da pesquisa, sendo seu uso restrito a fins publicação em área de pesquisa ou didático.

8.4 Modelo do questionário utilizado

Questionário sociodemográfico

Nome:..... Idade.....
Data de nascimento:..... Raça:branconegro..... Asiático.....
Telefone..... Escolaridade.....
Profissão:..... Fuma:.....
Usa aparelho ortodôntico..... Já usou.....

Questionário de saúde

1-Tem alguma doença?..... Se sim, o quê

2-Você toma algum medicamento:.....

3-Você já tentou algum tipo de tratamento para o seu problema?

Qual:placas oclusaisfisioterapiamedicamentos psicólogo
.....cirurgia na ATM.....Outros:.....

4-História de trauma envolvendo a região mandibular

5-História de alteração hormonal

Questionário de saúde emocional

1- Você sente prazer ou interesse em fazer as coisas: Sim..... Às vezes.....
Nunca.....

2- Se sente em depressão, sem esperança: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

3- Dorme demais: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

4- Não consegue dormir: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

5- Está sempre cansado ou com pouca energia: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

6- Come muito pouco ou demais: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

7- Se sente mal com você mesmo: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

8- Não consegue se concentrar: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

9- Está fazendo as coisas bem devagar: Sim..... Às vezes Nunca.....

GAD-7 nas últimas duas semanas:

1- Se sente nervoso ou ansioso: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

2- Não para de se preocupar: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

3- Se preocupa demais com coisas diferentes: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

4- Não consegue relaxar: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

5- Não consegue ficar parado: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

6- Fica facilmente irritado: Sim..... Às vezes..... Nunca.....

7- Tem medo (ficar sozinho, escuro, animais, multidão): Sim..... Às vezes.....
Nunca.....

RDC/TMD Formulário para Exame Clínico:

- 1-Oclusão: *cl I.....Cl II.....Cl III..... Balanceada?.....*
- 2-Edêntulo superior..... edêntulo inferior..... parcialmente edêntulo..... dentes ausentes:.....
- 3-Overjet
- 4-Overbite.....
- 5- Desvio linha média superior.....desvio linha média inferior.....
- 6-abertura bucal: reta..... desvia durante: D/E..... desvia até o fim.....D/E
- 7-Abertura bucal sem dor.....mm
- 8-Abertura bucal paciente forçando.....mm
- 9-Abertura bucal forçado por profissional.....mm
- Músculo dolorido durante abertura: masseter, temporal, ATM, outro músculo.....
- Click D/E
- Crepitação D/E
- 10-Lateralidade direita.....mm
- 11-Lateralidade esquerda.....mm
- 12- Protrusão.....mm
- Músculo dolorido durante abertura: masseter, temporal, ATM, outro músculo.....
- Click D/E
- Crepitação D/E

8.6 Atividades complementares

Coautoria nos projetos:

- *Análise de associação de polimorfismo no gene BRINP3 com língua geográfica; (submetido)*
- *Análise de associação de polimorfismos nos genes RANK/RANKL/OPG com a perda de mini-implantes ortodônticos. (publicado)*
- *Análise de associação de polimorfismo no gene BRINP3 com desarranjos internos da ATM;*

Apresentação painel SBPqO 2021;

Orientação de aluna de PIBIC bolsista (2020/202) e apresentação SEMIC.