



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE SAÚDE E BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO – BIOCÊNCIAS

KELLI FREITAS, CD

**ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE DO
FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNFA) E A
SUSCETIBILIDADE À PERIODONTITE CRÔNICA**

CURITIBA

2014

KELLI FREITAS, CD

**ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE DO
FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (*TNFA*) E A
SUSCETIBILIDADE À PERIODONTITE CRÔNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração em Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Paula Cristina Trevilatto
Co-orientador: Prof. Dr. Cleber Machado de Souza

CURITIBA

2014

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central

F866a
2014 Freitas, Kelli
Análise da associação de polimorfismos no gene do fator de necrose tumoral alfa (TNFA) e a suscetibilidade à periodontite crônica / Kelli Freitas ; orientadora, Paula Cristina Trevilatto ; co-orientador, Cleber Machado de Souza. – 2014.
40 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2014
Bibliografia: f. 25-32

1. Odontologia. 2. Periodontite crônica. 3. Fator de necrose de tumor. 4. Polimorfismo (Genética). I. Trevilatto, Paula Cristina. II. Souza, Cleber Machado de. III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. IV. Título.

CDD 20. ed. – 617.6



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Escola de Saúde e Biociências
Programa de Pós-Graduação em Odontologia

TERMO DE APROVAÇÃO

KELLI FREITAS

ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE DO FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNFA) E A SUSCETIBILIDADE À PERIODONTITE CRÔNICA

Dissertação 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 **Mestre em Odontologia**, Área de Concentração em **Biociências**.


Orientador(a): Prof.ª Dr.ª Paula Cristina Trevilatto
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Prof. Dr. Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR


Prof. Dr. Luiz Fernando Pereira
Curso de Ciências Biológicas, PUCPR

Curitiba, 12 de dezembro de 2014.

Dedico este trabalho...

Aos meus pais,

Pelo esforço que sempre fizeram para que eu tivesse as melhores oportunidades de estudo. Por orientarem minha caminhada, por acreditarem em mim e pela motivação incondicional.

Agradecimentos

Inicialmente agradeço a Deus por me permitir chegar até aqui! Por estar presente em meu dia a dia iluminando o meu caminho, guiando meus passos e sempre dando um jeitinho para que o meu caminho se cruzasse com o de algumas pessoas fantásticas, e que tiveram um papel fundamental para que todo esse sonho se concretizasse.

Aos meus pais por todo o esforço, por toda dedicação, por todo o apoio a mim dedicado nesse período. Sem o “sim” de vocês nada disso estaria acontecendo hoje.

Ao meu noivo, amigo e companheiro Thiago por sempre sonhar comigo! Por compreender as minhas ausências, minha falta de paciência... Você também foi fundamental para escrever essa história!

A Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), instituição da qual me orgulho em ter cursado a graduação e hoje concluo mais um ciclo, o mestrado, com oportunidade de bolsa integral. Essa instituição sempre será lembrada por mim com muito carinho!

Ao Coordenador do Programa de Pós-graduação em Odontologia (PPGO), Professor Sérgio Vieira, pela dedicação ao Programa.

Ao Coordenador da Área de Biociências da PUCPR, Professor Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa, pelo estímulo, pela amizade e por oferecer o seu conhecimento ao nosso programa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A minha orientadora Paula Cristina Trevilatto pela oportunidade do aprendizado, por me confiar a grandiosa tarefa de carregar para sempre o seu nome na minha formação.

O meu muito obrigado também ao meu co-orientador Cleber Machado de Souza! Só eu sei o quanto você tornou os meus dias mais simples! Obrigada pelo sorriso de sempre, pelo bom humor e por tornar os dias de verdadeiro caos bem mais fáceis de enfrentar.

Aos meus amigos da pós-graduação, em especial: Flávia, Kauê, Milena, Maria Fernanda, Dáfine e Alessandra... Pelas risadas de todos os dias, pela descontração e por muitas vezes enxugar algumas lágrimas. A caminhada até aqui foi bem mais gostosa com vocês ao meu lado!

E por último e não menos importante, meu grande mestre Luiz Fernando Pereira por ter me apresentado ao mundo científico. Por sempre guiar os meus passos desde o primeiro ano da graduação. Pelos abraços nos dias difíceis, por me fazer sorrir inúmeras vezes quando a vontade era de chorar e principalmente por nunca desistir de mim! Mais uma vez eu repito: “Se enxerguei mais longe, foi porque me apoiei nos ombros de gigantes” (Isaac Newton).

O meu muito obrigado a todos!
Essa conquista também é de vocês!
Kelli Freitas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características da amostra	33
Tabela 2 – Condições periodontais da amostra.....	34
Tabela 3 – Análise genotípica dos dois tag SNPs do gene <i>TNFA</i>	35

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Análise de tag SNPs e análise de desequilíbrio de ligação do gene <i>TNFA</i>	36
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CPOD	Dentes cariados, perdidos e obturados
DII	Doença inflamatória intestinal
DL	Desequilíbrio de ligação
EDTA	Ácido etilenodiamino tetracético
IC	Índice de cálculo
IG	Índice gengival
IgE	Imunoglobulina E
IL-11	Interleucina 11
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IP	Índice de placa
LPS	Lipopolisacarídeo
LTA	Linfotoxina alfa
LTB	Linfotoxina beta
NIC	Nível de inserção clínica
PA	Periodontite agressiva
PC	Periodontite crônica
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PS	Profundidade de sondagem
SDS	Monododecil sulfato de sódio
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo simples
tagSNPs	Polimorfismos alvo que capturam outros em alto grau de desequilíbrio de ligação
<i>TNFA</i>	Gene do fator de necrose tumoral alfa
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
Tris	Hidroximetil aminometano
YRI	População Yoruba

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	12
INTRODUÇÃO	13
OBJETIVOS	16
MATERIAL E MÉTODO.....	17
RESULTADOS.....	20
DISCUSSÃO.....	21
CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	26
TABELA 1.....	33
TABELA 2.....	34
TABELA 3.....	35
FIGURA 1.....	36
ANEXO 1 Prontuário.....	37
ANEXO 2 Parecer Consubstanciado do CEP.....	40

RESUMO

A periodontite crônica (PC) é uma doença inflamatória que afeta os tecidos de suporte dentário. Sabe-se que para o desenvolvimento da doença são necessários vários fatores, incluindo os genéticos. O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) é uma citocina pró-inflamatória pleiotrópica. Essa citocina possui uma variedade de atividades biológicas que são conhecidas por causar destruição tecidual em inflamações crônicas. Neste estudo, foi realizado um mapeamento físico do gene *TNFA* com o objetivo de encontrar algum tipo de associação dos polimorfismos nesse gene com a suscetibilidade à periodontite crônica. Cento e vinte indivíduos, de ambos os sexos, com média de idade de $39,9 \pm 9,5$ anos, foram divididos em dois grupos: grupo estudo, composto por 58 indivíduos caracterizados clinicamente com PC e grupo controle, com 62 indivíduos sem PC. Após a coleta e purificação do DNA, utilizando o *International HapMap Project*, dois tag SNPs (rs2228088 e rs1800629) foram genotipados por PCR em tempo real. Após a análise multivariada por regressão logística pode-se verificar que somente o índice gengival ($p=0,020$) e número de dentes foram significativamente diferentes entre os grupos ($p=0,006$). Por fim, foi possível concluir que não foi encontrada associação estatisticamente significativa dos polimorfismos no gene *TNFA* com a suscetibilidade à periodontite crônica.

Palavras-chave: Polimorfismo de base única, tag SNP, periodontite crônica, fator de necrose tumoral alfa.

ABSTRACT

Chronic periodontitis (CP) is an inflammatory disease that affects the tissues of tooth support. To the development of the disease several factors, including genetic factors are required. The tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) is a proinflammatory pleiotropic cytokine. This cytokine has a variety of biological activities that are known to cause tissue destruction in chronic inflammation. In this study, a mapping of the *TNFA* gene aiming to investigate whether there is a relationship of polymorphisms of the gene in question with the susceptibility to chronic periodontitis. One hundred and twenty individuals of both sexes, with a mean age of 39.9 ± 9.5 years, were divided into two groups: one group consisting of 58 case subjects who were clinically characterized with CP and a study group of 62 individuals free from disease. After collecting and purifying the DNA, two tag SNPs were evaluated: rs2228088 and rs1800629, according to the International HapMap Project, by real-time PCR. After the multivariate analysis, only the gingival index ($p=0.020$) and the number of teeth ($p=0.006$) were significantly associated with CP. Finally, it was concluded that there is no relationship of polymorphisms in the *TNF* gene with susceptibility to the development of chronic periodontitis.

Key-words: Single nucleotide polymorphism, tag SNP, chronic periodontitis, tumor necrosis factor-alpha.

INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória dos tecidos de suporte dos dentes, iniciada por microrganismos específicos para o desenvolvimento da doença, que resulta na destruição progressiva do ligamento periodontal e do osso alveolar, com a formação de bolsa periodontal, recessão gengival, ou ambas. É uma doença de alta prevalência, que pode ser classificada em periodontite crônica (PC) e periodontite agressiva (PA) [1], sendo a PC a forma mais comum.

A presença de microrganismos no biofilme dental subgengival desencadeia uma resposta inflamatória caracterizada pela migração de leucócitos para a região. Os leucócitos, por sua vez, são responsáveis por liberarem citocinas pró-inflamatórias que têm um papel chave no início, na regulação e na perpetuação das respostas imunológicas do periodonto.

Citocinas são proteínas solúveis de baixa massa molar, produzidas por diferentes tipos celulares do sistema imune, cuja produção é desencadeada quando as células são ativadas por diferentes estímulos. Essas proteínas atuam na comunicação entre as células, promovendo a indução ou regulação da resposta imune [2] e estão relacionadas com mecanismos de homeostasia individual, como é o caso do metabolismo ósseo. Essas proteínas se ligam a receptores específicos em células-alvo, ativando cascatas intracelulares, muitas vezes resultando em alterações fenotípicas [3]. Elas regulam a amplitude e a duração da resposta imuno-inflamatória do hospedeiro [4]. Entre as citocinas liberadas pelos leucócitos presentes no infiltrado inflamatório, têm-se a interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), interleucina 11 (IL-11) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) [5,6].

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória [7] com ações pleiotrópicas [8] e que possui uma variedade de atividades biológicas que são conhecidas por causar a destruição tecidual em inflamações crônicas.

Em estudos envolvendo o TNF- α foi observado que, em processos inflamatórios, está envolvido no aumento da expressão de moléculas de adesão [9]. Nos processos alérgicos, o TNF- α é liberado a partir de mastócitos e macrófagos, por meio do receptor IgE [10].

Inicialmente, quando se pesquisou o TNF- α , Van der Linden et al. (1998), ao estimularem *in vitro* células do sangue total de indivíduos saudáveis

com concentrações diferentes de lipopolissacarídeos (LPS), verificaram que a produção de TNF- α , *ex-vivo*, mantinha-se apesar das diferenças laboratoriais e de variações intra-indivíduo, confirmando a hipótese de que existe um fenótipo de alta ou baixa produção dessa citocina.

Especula-se que variações no fenótipo do TNF- α estejam associadas diretamente com doenças, como: artrite reumatoide, câncer, doença de Alzheimer, infarto do miocárdio, asma e lúpus eritematoso, e associadas indiretamente com diabetes [12, 13, 14, 15, 16].

Existem também relatos na literatura que revelam que o TNF- α está diretamente associado com a progressão da periodontite [17,18].

O gene *TNFA* possui aproximadamente 250 kilobases e localiza-se no braço curto do cromossomo 6 na região 6p21, região que é denominada de “*cluster* do gene do *TNF*”. Esse gene é encontrado entre os genes de linfotóxina alfa (*LTA*) e beta (*LTB*).

Polimorfismos são variações comuns nas sequências dos nucleotídeos (bases nitrogenadas) dos genes. Essas variações no genótipo são importantes, pois promovem a variabilidade e permitem construir um perfil genético indivíduo-específico (*DNA fingerprint*), além de predispor os indivíduos diferentemente a doenças. Polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) é uma variação na sequência de DNA que afeta somente uma base (adenina, guanina, citosina ou timina) na sequência do gene. Para serem consideradas SNPs, essas variações devem ocorrer em no mínimo 1% de uma determinada população. Se a frequência do alelo mais raro for inferior a 1%, essa variação é denominada mutação [9].

Tag SNPs são polimorfismos de base única, que capturam a informação de outros polimorfismos em alto grau de desequilíbrio de ligação, e que oferecem vantagens em serem genotipados, por eliminarem a necessidade de genotipagem de todos os outros polimorfismos, reduzindo custo e tempo de mapeamento de regiões do genoma candidatas a estarem associadas com alguma doença. Os tag SNPs necessários para a cobertura completa do gene são descritos pelo projeto *HapMap* [19].

Pelo menos oito variantes clássicas foram identificadas no promotor do *TNFA*, nas posições -1031T/C, -863C/A, - 857C/T, -575G/A, -376G/A, -308G/A, -244G/A e -238G/A, relativas ao ponto inicial de transcrição [14]. O

polimorfismo *TNFA* (308G/A) tem sido estudado em pacientes com doença inflamatória intestinal (DII) e especula-se que a presença desse polimorfismo possa estar associada ao aumento dos níveis circulantes do TNF- α , ao aumento da suscetibilidade à DII e a uma resposta alterada à terapia [20, 21, 22]. O indivíduo que apresenta o polimorfismo na região -308 do *TNFA*, independentemente se homocigoto ou heterocigoto para o alelo A, apresenta quantidades aumentadas de TNF- α secretadas pelas células do sistema imune [23]. Além disso, polimorfismos na região -308 G \rightarrow A e -1031 T \rightarrow C foram associados com complicações cerebrais da malária causada por *Plasmodium falciparum* [24, 25], e ao risco aumentado de desenvolvimento de anemia grave em crianças recém nascidas no Quênia que foram infectadas pelo protozoário [26].

Estudos epidemiológicos indicam que a doença periodontal crônica apresenta alta prevalência na população brasileira [27]. O mRNA transcrito do gene *TNFA* foi significativamente mais frequente em biópsias gengivais de indivíduos que apresentavam a periodontite crônica se comparado ao grupo controle [28], sugerindo um papel desta citocina no desenvolvimento da PC. O aumento dos níveis de TNF- α nos tecidos periodontais foi associado com os genótipos que carregavam o alelo A [29].

Devido aos vários estudos inconclusivos sobre a associação entre a doença periodontal crônica e os polimorfismos no gene *TNFA*, este estudo teve por objetivo realizar a cobertura física completa do gene *TNFA* e investigar a possibilidade da associação de polimorfismos no gene *TNFA* com a doença periodontal crônica em indivíduos do sul do Brasil.

OBJETIVOS

Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi investigar a associação de variáveis no gene do fator de necrose tumoral alfa (*TNFA*) com a doença periodontal, por meio da análise de tag SNPs.

Objetivos específicos

Investigar a associação:

- de variáveis clínicas com a periodontite crônica.
- de polimorfismos (tag SNPs) no gene do fator de necrose tumoral alfa (*TNFA*) com a periodontite crônica.

MATERIAL E MÉTODO

População de estudo

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), no qual todos os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, após serem informados da natureza do estudo (aprovado sob nº CAAE 25141813.4.0000.0020). Uma amostra de 120 indivíduos do sul do Brasil, de ambos os sexos, média de idade de $39,9 \pm 9,5$ anos, foi selecionada na Clínica Odontológica da PUCPR, dividida em um grupo controle de 62 indivíduos, caracterizados clinicamente como livres de PC, e um grupo estudo, composto por 58 indivíduos com PC. O diagnóstico de PC foi feito com base nos parâmetros clínicos profundidade de sondagem (PS) e perda de inserção clínica (NIC), ambos observados em quatro pontos ao redor de cada dente. Indivíduos com $NIC \geq 5$ mm em pelo menos três dentes, em pelo menos dois quadrantes, foram considerados com doença periodontal crônica [30]. O grupo controle foi composto por indivíduos sem sinais de periodontite, conforme determinado pela ausência de perda de inserção clínica, e sem locais com $PS > 3$ mm [31]. Os parâmetros clínicos da população estudada são encontrados na tabela 1. Pacientes não foram incluídos se apresentassem uso crônico de anti-inflamatórios, histórico de diabetes, hepatite ou HIV, em tratamento quimioterápico, infecção sistêmica, gravidez, lactação, doenças bucais (exceto cárie ou doença periodontal), uso de aparelhos ortodônticos e presença de doença periodontal necrosante.

Parâmetros clínicos

Os indivíduos da amostra responderam questionários pessoais, história médica e odontológica, autorrelatando sexo, idade, etnia e tabagismo (Tabela 1). As variáveis: frequência de visitas ao dentista, frequência de escovação e uso de fio dental encontram-se na tabela 2. O exame clínico forneceu informações sobre profundidade de sondagem (PS), perda de inserção clínica (NIC), índice gengival (IG) [32], índice de placa (IP) [33], índice de cálculo (IC) [34], mobilidade dentária, número de dentes, CPOD (dentes cariados, perdidos e obturados) e dentes perdidos (Tabela 2).

Coleta de DNA

Os indivíduos que aceitaram participar da pesquisa realizaram bochecho durante um minuto com solução de glicose 3%. Após o bochecho, uma espátula de madeira esterilizada foi utilizada para raspar a mucosa jugal [19]. A ponta da espátula foi então agitada dentro da solução de bochecho retida. Células epiteliais bucais foram sedimentadas por centrifugação a 2000 rpm durante 10 min. O sobrenadante foi rejeitado e o sedimento celular ressuspenso em 1300 µL de tampão de extração [10 mM Tris-HCl (pH 7.8), 5 mM EDTA, 0,5% SDS]. Posteriormente, 10 µL de proteinase K (20 mg/ml) foram adicionados à solução, sendo deixados durante a noite a 65°C. O DNA foi purificado por adição de acetato de amônio a 10 M, precipitado com isopropanol e etanol 70% e finalmente ressuspenso com 50 µl de Tris 10mM (pH 7,6) e EDTA 1 mM [35].

Seleção dos marcadores e genotipagem

Marcadores tag SNPs, capturando toda a informação do gene *TNFA*, foram selecionados de acordo com a informação disponível no *site* do *International HapMap Project* [36] usando como base o *release 24/phase 2-Nov08* (Hapmap.org, 2009). Para a seleção dos tag SNPs, o grau de desequilíbrio de ligação foi $r^2 \geq 0,8$ e a frequência alélica mínima de 5% (FAM=5%), na população Africana Yoruba (YRI). A escolha da população africana se deve ao fato de que, de modo geral, os haplótipos encontrados fora do continente africano são subconjunto da grande variabilidade haplotípica encontrada em africanos, sugerindo reduções sucessivas no tamanho das populações que emigraram da África e se estabeleceram na América [37]. Isso quer dizer que, o poder de captura de variabilidades genéticas pode ser maior, se utilizarmos a população ancestral como base de mapas de desequilíbrio de ligação, uma vez que uma parte do *background* genético das populações brasileiras é africana. De acordo com o modelo de origem africana recente, as populações humanas se expandiram a partir da África há aproximadamente 100 mil anos atrás e substituíram completamente formas arcaicas do gênero *Homo* [38, 39, 40]. Após a aplicação dos critérios acima, 2 tag SNPs (rs2228088 e rs1800629), que capturam toda a informação do gene *TNFA*, foram selecionados para genotipagem. Os tag SNPs selecionados foram

genotipados pela técnica de PCR em tempo real (Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System), com o uso de TaqMan™ Genotyping Master Mix technology (Applied Biosystems) [41].

Análise estatística

A versão SPSS 20.0 (Inc., Chicago, IL, USA.) foi usada para as análises estatísticas e o *software* Haploview 4.2 (Broad Institute, Cambridge, MA, USA.) foi utilizado para estimar o equilíbrio de Hardy-Weinberg. O teste não-paramétrico de Mann-Whitney foi usado para variáveis quantitativas. Variáveis categóricas foram analisadas pelo teste qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. Para a análise multivariada, o modelo de regressão logística binária foi ajustado, para analisar as frequências genotípicas, incluindo variáveis com significância de $p < 0,20$.

RESULTADOS

Parâmetros clínicos

As variáveis idade, sexo, etnia, tabagismo, frequência de visitas ao dentista, escovação, uso do fio dental, índice de cálculo e mobilidade dental não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (Tabelas 1 e 2). Após a análise univariada as seguintes variáveis foram incluídas no modelo de regressão logística: idade, uso de fio dental, profundidade de sondagem, perda de inserção clínica (NIC), índice gengival (IG), índice de placa (IP), mobilidade, número de dentes, CPOD e número de dentes perdidos. Após análise multivariada, pelo modelo de regressão logística, foi verificado que somente os parâmetros índice gengival ($p=0,020$) e número de dentes ($p=0,006$) apresentaram valores significativamente diferentes entre os grupos.

Análise genética

As frequências genótípicas dos marcadores testados estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A distribuição das frequências genótípicas para os polimorfismos estudados está apresentada na tabela 3. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na distribuição das frequências dos marcadores entre os grupos. A análise do desequilíbrio de ligação confirmou independência entre os marcadores (Fig. 1).

DISCUSSÃO

A periodontite crônica é uma doença multifatorial, iniciada por microrganismos anaeróbios gram-negativos. Dois fatores são decisivos na patogênese da doença: a presença de microrganismos que irão promover a destruição dos tecidos periodontais através da produção de produtos tóxicos e a resposta do hospedeiro frente aos patógenos, pela liberação de mediadores inflamatórios (citocinas, interleucinas e metaloproteinases) envolvidos na progressão da doença.

Estudos epidemiológicos têm mostrado a associação entre a periodontite e outras doenças sistêmicas. A periodontite agressiva, a artrite reumatóide e a artrite juvenil idiopática, por exemplo, revelaram diversas características clínicas e patogênicas em comum, incluindo a desregulação da resposta imunoinflamatória. Acredita-se que essa desregulação seja responsável por contribuir para a suscetibilidade e progressão dessas doenças [42].

Para o diagnóstico clínico da periodontite anteriormente eram preconizadas as medições de perda de inserção/perda óssea, entretanto, após a realização do quinto seminário europeu de periodontia foi firmada a necessidade de uma análise adicional, como o índice gengival [43]. Ao analisar o índice gengival, a amostra estudada apresentou $p=0,020$. A significância deste parâmetro pode ser explicada devido à presença de inflamação e indica também a ulceração do epitélio juncional. A presença do sangramento gengival tem sido utilizada para indicar a presença de tecidos inflamados, além de servir como indicador dos sítios de atividade da doença periodontal [44, 45]. Em nosso estudo um menor número de dentes e um maior CPOD associaram-se com a periodontite crônica, o que já era esperado, uma vez que a cárie e a PC são as principais causas que levam à perda dentária [46, 47, 48]. Resultados semelhantes foram encontrados também em pesquisas que avaliavam as tendências globais nas mudanças de prevalência da periodontite nos últimos 30 anos [43].

Não há uma clara relação entre o índice de placa (IP) e a severidade da doença. Em nosso estudo, quando analisado o IP, verificou-se que dos 58 pacientes diagnosticados com periodontite, 54% apresentavam placa bacteriana visível no exame clínico. Entretanto, a análise multivariada de nossos resultados não revelou valores significativos para o índice de placa em

nenhum dos marcadores (rs2228088 e rs1800629). Nesse contexto, fatores de risco genéticos do hospedeiro, incluindo os genes que codificam as citocinas [49], poderiam desempenhar um papel importante no controle da suscetibilidade à periodontite. Polimorfismos genéticos podem em parte explicar a associação entre a periodontite e doenças sistêmicas de base imuno-inflamatória [50].

Estudos envolvendo o gene *TNFA* encontraram alta variação inter-individual nos níveis de mRNA, que pode ser resultado da presença de polimorfismos genéticos em resposta à presença de periodontopatógenos [29]. Alguns pesquisadores [51, 52] sugeriram o SNP no *locus* -308 G→A do *TNFA* como um fator de risco para a periodontite. Mais recentemente, Han e colaboradores, em 2010, verificaram que polimorfismos no gene *TNFA*, mais especificamente na região promotora -308, poderiam interferir no aumento da quantidade da produção desta citocina pró-inflamatória. Em concordância com o exposto anteriormente, em um experimento foi observado que o aumento ocorreu em até cinco vezes *in vitro*, contribuindo para a suscetibilidade individual [29].

A realização de outro estudo verificou que a presença do alelo A do polimorfismo -308 do gene *TNFA* e periodontopatógenos do complexo vermelho, quando analisados isoladamente, estiveram associados com o aumento dos níveis de TNF- α em tecidos doentes de indivíduos não fumantes portadores de periodontite crônica e, conseqüentemente, maior quantidade dessa citocina poderia ser determinante na evolução da doença [29]. De maneira semelhante, outros estudos mostraram que o genótipo positivo para o alelo A do *TNFA* -308 apresentou um aumento significativo no grupo de adultos que apresentavam periodontite moderada e avançada, se comparados ao grupo controle [54].

Nossos achados são corroborados em relatos de outros autores que revelaram a falta de associação entre polimorfismos no gene *TNFA* e a suscetibilidade ao desenvolvimento da periodontite, seja na forma crônica ou agressiva [49]. Da mesma forma, outro estudo verificou que na amostra analisada a presença de polimorfismos no gene *TNFA* não se associou com a progressão da doença periodontal crônica, em uma população de mulheres idosas brasileiras [55].

Até o momento, não há uma concordância sobre a existência de associação entre polimorfismos do gene *TNFA* e a periodontite [56, 57, 58, 59, 60, 23]. Foi verificado que a frequência do polimorfismo -308 no gene *TNFA* não foi significativamente diferente entre os grupos controle e com a periodontite crônica, apesar da maior frequência do alelo A no grupo com a doença [29].

O estudo do gene *TNFA* esteve muito concentrado, até o momento, na análise de polimorfismos funcionais, mais particularmente o SNP -308 (G/A), localizado no promotor do gene, e com resultados controversos. Por isso, nosso estudo realizou a análise completa do gene que codifica o TNF- α , por meio da abordagem de tag SNPs, que captura a informação de todo o gene por meio da análise de polimorfismos em alto grau de desequilíbrio de ligação, buscando a identificação de um marcador genético de associação com a periodontite crônica. Esse tipo de estudo investiga o gene completamente em termos de variabilidade e potencial de associação com a suscetibilidade a doenças, permitindo menor custo, trabalho e tempo, uma vez que elimina a necessidade de genotipar todos os polimorfismos do gene, para a obtenção da informação completa em termos de variabilidade genética.

O uso de métodos de biologia molecular e ensaios genéticos para diagnóstico e prognóstico de doenças vêm se destacando como importante ferramenta de uso laboratorial, com potencial de ampla aplicação em um futuro próximo. Entretanto, antes do desenvolvimento de novos ensaios, as bases moleculares envolvidas no controle da suscetibilidade às doenças complexas precisam ser melhor compreendidas.

Embora estudos tenham demonstrado um forte componente genético controlando a suscetibilidade do hospedeiro a fenótipos variados da doença periodontal, pouco se tem avançado na investigação das bases genéticas e moleculares no controle da ocorrência de periodontite crônica. A perspectiva em médio prazo será o desenvolvimento de métodos laboratoriais, visando um melhor prognóstico para a doença periodontal e o acompanhamento do paciente. Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de novos estudos genéticos e, posteriormente, a replicação dos achados em populações independentes, confirmando assim, a importância e o impacto de fatores genéticos na determinação do fenótipo da doença periodontal.

CONCLUSÃO

Dois parâmetros clínicos foram associados à periodontite crônica nesse estudo: índice gengival e número de dentes. No entanto, não houve associação de polimorfismos no gene *TNFA* com a suscetibilidade à periodontite crônica na população estudada.

REFERÊNCIAS

- [1] FLEMMING, T.F. **Periodontitis**. *Annals of Periodontology*. 1999; 4:32–8.
- [2] BILATE, A.M.B. **Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações terapêuticas**. *Temas de Reumatologia Clínica*. 2007; 8(2):47-57.
- [3] PRESHAW, P.M.; TAYLOR, J.J. **How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis?** *Journal of Clinical Periodontology*. Mar.2011; 38 Suppl 11:60-84.
- [4] GEMMELL, E.; MARSHALL, R.I.; SEYMOUR, G.J. **Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease**. *Periodontology 2000*. Jun.1997; 14:112-43.
- [5] NAGASAWA, T. et al. **Roles of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) and osteoponin in periodontal health and disease**. *Periodontology 2000*. 2007; 43: 65-84.
- [6] COTTI, E. et al. **Can a chronic dental infection be considered a cause of cardiovascular disease? A review of the literature**. *International Journal of Cardiology*. 2011;148 (1): 4-10.
- [7] ZHANG, L. et al. **TNF-alpha contributes to spinal cord synaptic plasticity and inflammatory pain: Distinct role of TNF receptor subtypes 1 and 2**. *PAIN*. 2011; 152(2): 419-427.
- [8] CAMINERO, A.; COMABELLA, M.; MONTALBAN, X. **Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), anti-TNF- α and demyelination revisited: An ongoing story**. *Journal of Neuroimmunology*. 2011; 234 (1–2):1-6.

- [9] VIGNAL, A. et al. **A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics.** Genetics Selection Evolution. 2002; 34: 275-305.
- [10] OHKAWARA, Y. et al. **Human lung mast cells and pulmonary macrophages produce tumor necrosis factor-alpha in sensitized lung tissue after IgE receptor triggering.** American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 1992;7:385-92.
- [11] VAN DER LINDEN, M.W. et al. **Determinations of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 production in a whole blood stimulation system: assessment of laboratory error and individual variation.** Journal of Immunological Methods. 1998; 218: 63-71.
- [12] KINANE, D.F. et al. **Analysis of genetic polymorphisms at the interleukin-10 and tumour necrosis factor loci in early-onset periodontitis.** Journal of Periodontal Research. Oct.1999; 34(7):379-386.
- [13] SHIAU, M.Y. et al. **TNF-alpha polyorphisms and type 2 diabetes mellitus in Taiwanese patients.** Tissue Antigens 2003; 61: 393-7.
- [14] GENOV, I.R.; SOLÉ, D. **Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e asma: metanálise é a saída?** Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia. 2007; 30(1):2-8.
- [15] CHERKASHINA, I.I. et al. **The specific features of TNF-alpha gene polymorphism in asthmatic patients and their relatives.** Problemy Tuberkuleza i Bolezney Legkikh. 2009;(8):51-6.
- [16] BONA, D.D. et al. **Systematic review by meta-analyses on the possible role of TNF-alpha polymorphisms in association with Alzheimer's disease.** Brain Research Reviews. 2009; 61:60-68.

- [17] ASSUMA, R. et al. **IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis.** The Journal of Immunology. 1998; 160:403-409.
- [18] IWAMOTO, Y. et al. **Antimicrobial periodontal treatment decreases serum C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, but not adiponectin levels in patients with chronic periodontitis.** Journal of Periodontology. 2003; 74 (8):1231–1236.
- [19] TREVILATTO, P.C.; LINE, S.R. **Use of buccal epithelial cells for PCR amplification of large DNA fragments.** The Journal of Forensic Odonto-Stomatology. 2000 Jun;18(1):6-9.
- [20] LEVINE, A. et al. **A polymorphism in the TNFA promoter gene is associated with pediatric onset and colonic location of Crohn's disease.** The American Journal of Gastroenterology. 2005;100 (2):407-13.
- [21] SÝKORA, J. et al. **Cytokine tumor necrosis factor-alpha A promoter gene polymorphism at position -308 G-->A and pediatric inflammatory bowel disease: implications in ulcerative colitis and Crohn's disease.** Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 2006;42:479-87.
- [22] LU, Z. et al. **Effect of the polymorphism of tumor necrosis factor- α -308 G/A gene promoter on the susceptibility to ulcerative colitis: a meta-analysis.** Digestion 2008; 78:44-51.
- [23] GATTI, S. et al. **Presença do polimorfismo do gene TNFA em pacientes com doença de Crohn e com periodontite crônica.** Braz J Periodontol. 2012 Jun 22(2):63-69.
- [24] UBALÉE, R. et al. **Strong association of a tumor necrosis factor-alpha promoter allele with cerebral malaria in Myanmar.** Tissue Antigens. 2001; 58:407-410.

- [25] SINHA, S. et al. **Polymorphisms of TNF- enhancer and gene for FcgmmaRlla correlate with the severity of *falciparum* malaria in the ethnicacally diverse Indian population.** Malar J. [internet] 2008 Jan 14 [cited 2013 Aug 29]; 7: Article 13 [11p.].Available from: <http://www.malariajournal.com/content/pdf/1475-2875-7-13.pdf>
- [26] AIDOO, M. et al. **Tumor necrosis factor-alpha promoter variant 2 (TNF2) is associated with pre-term delivery, infant mortality, and malaria morbidity in western Kanya: Asembo Bay Cohort Project IX.** Genetic Epidemiology. 2001; 21(3): 201-11.
- [27] Brasil. Ministério da saúde. Secretaria de atenção à saúde. Departamento de atenção básica. **Projeto SB Brasil 2010: pesquisa nacional de saúde bucal- resultados principais.** Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
- [28] ROBERTS, F.A. et al. **Quantitative assessment of inflammatory cytokine gene expression in chronic adult periodontitis.** Oral Microbiology and Immunology. 1997;12:336-44.
- [29] TROMBONE, A.P.F. et al. **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; 44: 598–608.
- [30] LINDHE, J. et al. **Consensus report: chronic periodontitis.** The American Academy of Periodontology. Ann Periodontol. 1999;4:38.
- [31] CARRANZA, F.A. **Periodontia Clínica.** Rio de Janeiro: Elsevier ;2007.
- [32] LOE, H. **The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems.** Journal of Periodontology. Nov-Dec .1967;38(6):Suppl:610-6.

- [33] SILNESS, J.; LOE, H. **Periodontal Disease in Pregnancy. II. Correlation between Oral Hygiene and Periodontal Condition.** Acta Odontologica Scandinavica. 1964 Feb;22:121-35.
- [34] GREENE, J.C.; VERMILLION, J.R. **The Simplified Oral Hygiene Index.** Journal of the American Dental Association (1939). 1964 Jan;68:7-13.
- [35] AIDAR, M.; LINE, S.R. **A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells.** Brazilian Dental Journal. 2007;18(2):148-52.
- [36] THORISSON, G.A. et al. **The International HapMap Project Web site.** Genome Research. 2005 Nov;15(11):1592-3.
- [37] RAMACHANDRAN, S.; DESHPAND et al. **Support from the relationship of genetic and geographic distance in human population for a serial founder effect originating in Africa.** Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2005 Nov; 102(44): 15942-7.
- [38] STRINGER, C.B.; ANDREWS, P. **Genetic and fossil evidence for the origin of modern humans.** Science. 1988 Mar; 239 (4845): 1263-8.
- [39] GIBBONS, A. **Human anthropology. Modern men trace ancestry to African migrants.** Science. 2001 May, 292 (5519): 1051-2.
- [40] TISHKOFF, S.S.; KIDD, K.K. **Implications of biogeography of human populations for 'race' and medicine.** Nature Genetics. 2004 Nov; 36(11): s21-7.
- [41] LEE, H.J. et al. **Fracture, bone mineral density, and the effects of calcitonin receptor gene in postmenopausal Koreans.** Osteoporosis International. 2010 Aug;21(8):1351-60.

- [42] SORENSEN, L.K. et al. **Aggressive Periodontitis and Chronic Arthritis: Blood Mononuclear Cell Gene Expression and Plasma Protein Levels of Cytokines and Cytokine Inhibitors.** Journal of Periodontology. Feb. 2009; 80 (2):282-289.
- [43] HUGOSON, A.; NORDERYD, O. **Has the prevalence of periodontitis changed during the last 30 years?** Journal of Clinical Periodontology. 2008; 35 (Suppl. 8): 338–345.
- [44] CHAVES, E.S. et al. **Relação de "sangramento à sondagem" e "sangramento índice gengival" como parâmetros clínicos de inflamação gengival.** Journal of Clinical Periodontology. 1993; 20 :. 139-43.
- [45] ARMITAGE, G.C. **As doenças periodontais: Diagnóstico.** Annals of Periodontology. 1996; 1 : 37-215.
- [46] GUIMARÃES, M.M.; BADEIA, M. **Perda de dente relacionada a razões clínicas segundo a classe social.** Revista do CROMG. 1995 agos-dez; 1(2):54-61.
- [47] MOURA, W.L.; EUGÊNIO, M.J.E.; SILVA, E.F. **Causas determinantes de exodontias na clínica cirúrgica do curso de odontologia da Universidade Federal do Piauí.** Revista Associação Saúde Pública do Piauí. 1998; 1(1): 71-83.
- [48] FRAZÃO, P.; ANTUNES, J.L.F.; NARVAI, P.C. **Perda dentária precoce em adultos de 35 a 44 anos de idade. Estado de São Paulo, Brasil, 1998.** Revista Brasileira de Epidemiologia. 2003; 6(1):49-57.
- [49] NIKOLOPOULOS, G.K. et al. **Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls.** Journal of Clinical Periodontology. 2008 Sep;35(9):754-67.

- [50] D'AIUTO, F. et al. **Gene polymorphisms in pro-inflammatory cytokines are associated with systemic inflammation in patients with severe periodontal infections.** Cytokine. 2004; 28:29-34.
- [51] SHAPIRA, L. et al. **Genetic polymorphism of the tumor necrosis factor (TNF)-alpha promoter region in families with localized early-onset periodontitis.** Journal of Periodontal Research. 2001; 36: 183–6.
- [52] FASSMANN, A. et al. **Polymorphisms in the +252 (A/G) lymphotoxin alpha and the -308 (A/G) tumor necrosis factor alpha genes and susceptibility to chronic periodontitis in a Czech population.** Journal of Periodontal Research. 2003; 38: 394– 399.
- [53] HAN, Z. et al. **Meta-analysis: polymorphisms in TNF-alpha gene promoter and Crohn's disease.** Aliment Pharmacol Ther. 2010 ;32(2):159-70.
- [54] LIN, L.; PAN, Y.P.; YIN, L.Y. **Study on the correlation of cytokine gene polymorphism with chronic periodontitis.** Shanghai Kou Qiang Yi Xue. 2003; 12:456-459.
- [55] COSTA, A.M. et al. **Interleukin-6 (G-174C) and tumour necrosis factor-alpha (G-308A) gene polymorphisms in geriatric patients with chronic periodontitis.** Gerodontology. 2010 Mar; 27(1):70-5.
- [56] DONATI, M. et al. **Association of the -159 CD14 gene polymorphism and lack of association of the -308 TNFA and Q551R IL-4RA polymorphisms with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians.** Journal of Clinical Periodontology. 2005 May;32(5):474-479.
- [57] SAKELLARI, D. et al. **No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population.** Journal of Clinical Periodontology. 2006 Nov;33(11):765-770.

[58] FREITAS, N.M. et al. **Analysis of IL-1A(-889) and TNFA(-308) gene polymorphism in Brazilian patients with generalized aggressive periodontitis.** European Cytokine Network. 2007 Sep;18(3):142-147.

[59] MOREIRA, P.R. et al. **TNFA and IL10 Gene Polymorphisms are not Associated with Periodontitis in Brazilians.** The Open Dentistry Journal. 2009; 7:184-190.

[60] MOREIRA, P.R. et al. **Interleukin-6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals.** Clinical and Experimental Immunology. 2010 Apr;148(1):119-26.

Tabela 1 – Características da amostra.

Variável	Padrão	Controle (n=62)	Estudo (n=58)	Valor de p	OR (IC 95%)
Idade^a	Média ± DP	38,69 ± 9,59	41,25 ± 9,31	0,089	-
Gênero^b	Frequência (%)				
Masculino		18 (47,4)	20 (52,6)		
Feminino		44 (53,7)	38 (46,3)	0,521	0,77 (0,36 – 1,68)
Grupo Étnico^b	Frequência (%)				
Branco		49 (52,1)	45 (47,9)		
Mulato/Negro		13 (50,0)	13 (50,0)	0,848	1,08 (0,45 – 2,59)
Hábito de Fumar^c	Frequência (%)				
Sim		5 (62,5)	3 (37,5)		
Não		57 (50,9)	55 (49,1)	0,718	1,60 (0,36 – 7,05)

DP: Desvio Padrão; OR: *Odds Ratio*; IC: Intervalo de confiança. (a) Teste U de Mann-Withney (b) Teste qui-quadrado (c) Teste exato de Fisher.

Tabela 2 – Condições periodontais da amostra.

Variáveis	Padrão	Controle (n=62)	Estudo (n=58)	Valor de p	OR (IC 95%)
Frequência de Visita ao Dentista^a	Frequência (%)				
Trimestral/Semestral		7 (38,9)	11 (61,1)		
Anualmente/raramente		55 (53,9)	47 (46,1)	0,239	0,54 (0,19 – 1,51)
Escovação diária ≤ 3 vezes^a	Frequência (%)				
Sim		46 (52,3)	42 (47,7)		
Não		16 (50,0)	16 (50,0)	0,826	1,09 (0,48 – 2,46)
Uso de Fio Dental^a	Frequência (%)				
Sim		42 (56,8)	32 (43,2)		
Não		20 (43,5)	26 (56,5)	0,157	1,70 (0,81 – 3,58)
Profundidade de sondagem (PS)^b	Média ± DP	1,69 ± 0,34	1,82 ± 0,48	0,013	-
Perda de inserção clínica (NIC)^b	Média ± DP	1,8 ± 0,60	2,10 ± 0,87	0,014	-
Índice Gingival (IG)^a	Frequência (%)				
≥ 2		10 (35,7)	18 (64,3)		
< 2		52 (56,5)	40 (43,5)	0,054	2,34 (0,97 – 5,61)
Índice de Placa (IP)^a	Frequência (%)				
=0		22 (66,7)	11 (33,3)		
>0		40 (46,0)	47 (54,0)	0,043	2,35 (1,01 – 5,43)
Índice de Cálculo (IC)^a	Frequência (%)				
> 1		7 (38,9)	11 (61,1)		
≤ 1		55 (53,9)	47 (46,1)	0,239	1,83 (0,66 – 5,12)
Mobilidade^a	Frequência (%)				
Sim		10 (38,5)	16 (61,5)		
Não		52 (55,3)	42 (44,7)	0,128	0,50 (0,20 – 1,22)
Número de dentes^b	Média ± DP	26,82 ± 3,05	25,14 ± 4,24	0,020	-
CPOD	Média ± DP	15,66 ± 7,33	18,31 ± 6,24	0,032	-
Dentes perdidos	Média ± DP	4,52 ± 4,13	6,81 ± 6,86	0,063	-

DP: Desvio Padrão; OR: *Odds Ratio*; IC: Intervalo de confiança; NIC: Perda de inserção clínica; IG: Índice gengival; IP: Índice de placa; IC: Índice de cálculo. (a) Teste qui-quadrado (b) Teste U de Mann-Whitney

*IP foi classificado como =0 quando o biofilme dental não era visível ao exame clínico e classificado como >0 quando o biofilme dental era visível.

Tabela 3. Análise genotípica no modelo aditivo dos tag SNPs do gene *TNFA*.

dbSNP*	Amostra	Genótipos			Valor-p	OR** (IC 95%)
		GG	GT	TT		
rs2228088	Controle	61 (51,7)	1 (50,0)	0 (0,0)	0,962	-
	Estudo	57 (48,3)	1 (50,0)	0 (0,0)		
rs1800629	Controle	52 (53,1)	9 (42,9)	0 (0,0)	0,398	-
	Estudo	46 (46,9)	12 (57,1)	0 (0,0)		

* Teste Qui- quadrado de Pearson; **OR: *Odds Ratio*; IC: Intervalo de confiança.

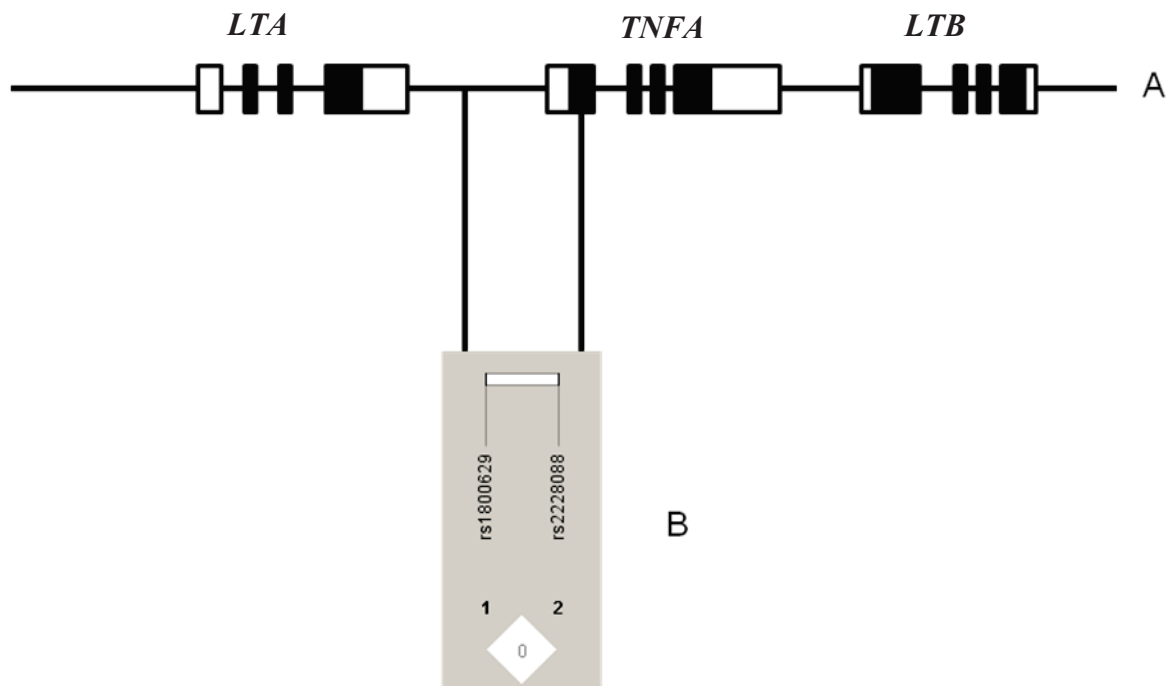


Figura 1. Análise de tag SNPs e análise de desequilíbrio de ligação do gene *TNFA*. (A) Os tag SNPs do gene *TNFA*. Os éxons estão indicados por caixas pretas e a região promotora e 3'-UTR estão demonstradas por caixas brancas. A posição e a identificação dos polimorfismos estão indicadas com linhas. (B) Representação esquemática do mapa de desequilíbrio de ligação (r^2) entre os dois tag SNPs do gene *TNFA*.

Pressão arterial:

Hipertensão:

Desmaios/Convulsões:

**Neoplasias malignas:

**Já realizou tratamento anti-neoplásico (Quimio/Radioterapia)?

**Doenças auto-imunes:

**Estado de imunossupressão:

*Antiinflamatório crônico? Qual? Há quanto tempo?

**Antibiótico nos últimos três meses? Qual?

**Corticosteróide? Qual? Há quanto tempo?

É alérgico a algum medicamento?

Fumante? Quanto tempo? Quantos cigarros por dia?

Álcool:

**Está grávida ou amamentando?

Está fazendo terapia de reposição hormonal?

Está usando pílula anticoncepcional?

Restrição alimentar:

Suplemento alimentar:

História Odontológica

Dieta cariogênica:

Hábitos parafuncionais:

Xerostomia (hipossalivação)/Ardência bucal:

Na sua última visita ao dentista o senhor lembra qual foi o motivo?

Freqüência de visitas ao dentista?

Já apresentou infecções sérias nos dentes e nas gengivas?

Suas gengivas sangram com facilidade?

Já perdeu algum dente por motivo periodontal (“dente ficou mole”)?

Já realizou algum tratamento periodontal? Qual?

Há quanto tempo tem doença periodontal?

Apresenta história familiar de doença periodontal?

****GUN/PUN:**

Presença de defeitos esmalte (fluorose, amelogênese imperfeita, etc):



Presença de fraturas, erosões, atrição, perimólise:

Freq. Escovação: <3x /dia () >3x/dia ()

Fio-Dental: sim () não ()

Uso de Flúor: sim () não ()

ANEXO 2

 <p>Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR</p>	ASSOCIAÇÃO PARANAENSE DE CULTURA - PUCPR	
---	---	---

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO GENÉTICA E A SUSCETIBILIDADE À DOENÇA RENAL E A DOENÇA PERIODONTAL

Pesquisador: CLEBER MACHDO DE SOUZA

Área Temática: Genética Humana;

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 3

CAAE: 25141813.4.0000.0020

Instituição Proponente: Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR

Patrocinador Principal: Associação Paranaense de Cultura - PUCPR

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 554.900

Data da Relatoria: 12/03/2014

Apresentação do Projeto:

A emenda inclui os genes Intercueínas (1, 4, 6, 8, 10, 12 e 17), do fator de necrose tumoral (TNF) e de Interferons (IFN) para que estes possam ser avaliados quanto a sua associação com a doença renal crônica (DRC) e com a doença periodontal (DP), já que os mesmos estão envolvidos na resposta imune e inflamatória nestas duas doenças.

Esta emenda está vinculada ao projeto principal.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O objetivo do presente trabalho é investigar a associação entre polimorfismos nos genes das Intercueínas (1, 4, 6, 8, 10, 12 e 17), do fator de necrose tumoral (TNF) e de Interferons (IFN), que estão envolvidos na resposta imune e inflamatória na doença renal crônica e a doença periodontal

Endereço: Rua Imaculada Conceição 1155	CEP: 80.215-901
Bairro: Prado Velho	
UF: PR	Município: CURITIBA
Telefone: (41) 3071-2292	Fax: (41) 3071-2292
	E-mail: inep@pucpr.br