



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

FELIPE RODOLFO PEREIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS NOS GENES DAS
INTERLEUCINAS 1A, 1B, 17A E 17F COM O RISCO NO DESENVOLVIMENTO DE
PERIODONTITE: ACHADOS DE METANÁLISE**

PARNAÍBA – PI
2017

FELIPE RODOLFO PEREIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS NOS GENES DAS
INTERLEUCINAS 1A, 1B, 17A E 17F COM O RISCO NO DESENVOLVIMENTO DE
PERIODONTITE: ACHADOS DE METANÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro Reis Velloso, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas.

Área de concentração: Histologia

Orientador: Prof. Dr. Daniel Fernando Pereira Vasconcelos

PARNAÍBA – PI
2017

FELIPE RODOLFO PEREIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES DAS INTERLEUCINAS 1A, 1B,
17A E 17F COM O RISCO NO DESENVOLVIMENTO DE PERIODONTITE:
ACHADOS DE METANÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro Reis Velloso, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas.

APROVADA EM ___/___/___

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Daniel Fernando Pereira Vasconcelos _____

Universidade Federal do Piauí

Profa. Dr. Carlos da Cunha Oliveira Júnior _____

Universidade Estadual do Piauí

Profa. Dra. Karina Oliveira Drumond _____

Universidade Federal do Piauí

Prof Dr. Daniel Fernando Pereira Vasconcelos
Universidade Federal do Piauí
(Orientador)

PARNAÍBA – PI
2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade Federal do Piauí

Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba

Serviço de Processamento Técnico

S586a Silva, Felipe Rodolfo Pereira da.

Avaliação da associação entre polimorfismos nos genes das interleucinas 1a, 1b, 17a e 17f com o risco no desenvolvimento de periodontite: achados de metanálise [manuscrito] / Felipe Rodolfo Pereira da Silva. – 2017.

114 f. : il. color.

Impresso por computador (printout).

Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) – Universidade Federal do Piauí, 2017.

Orientação: Prof. Dr. Daniel Fernando Pereira Vasconcelos.

Área de concentração: Histologia

1. Periodontite. 2. Inflamação. 3. Alelos. 4. Odds Ratio. 5. Citocina. 6. Doença Periodontal. 7. Biomedicina. I. Título.

CDD: 617.632

“Todas as flores do futuro estão contidas nas sementes de hoje”

Provérbio Chinês

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Deus, à Ciência, ao pensamento, à força para trabalhar, ao amor pelo conhecimento, aos cálculos estatísticos e por fim à metanálise.

AGRADECIMENTOS

Meu sincero obrigado:

À minha família, pelo amor, pelo apoio e pelos ensinamentos que me foram passados a cada chegada do meu pai (*in memoriam*) e meus irmãos em casa sujos de cimento e areia após um dia exaustivo dia de trabalho, mas que nunca os fez perder a força.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Daniel Fernando Pereira Vasconcelos, pelo aprendizado durante todos esses anos desde quando me convidou para trabalhar ao seu lado até o presente momento, pela liberdade na escolha do tema deste trabalho, pelo apoio e confiança nas nossas metanálises, por ser amigo, orientador, exigente, compreensivo e pelo afeto paternal que ultrapassa a limitação acadêmica. Obrigado por toda a ajuda e ensinamentos.

Igualmente agradeço à sua esposa, Profa. Ma. Any Carolina Cardoso Guimarães Vasconcelos por ser incrível, encantadora, doce e uma verdadeira mãe para mim na vida acadêmica. Acho que elogios não são suficientes para expressar a gratidão e afeto que tenho por ambos!

À Universidade Federal do Piauí na pessoa de seu diretor no campus de Parnaíba, Prof. Dr. Alexandro Marinho, pela competência e compromisso na gestão. Ao Curso de Pós Graduação em Ciências Biomédicas na pessoa de seu coordenador Prof. Dr. Giovanny Rebouças Pinto pelo desempenho impecável a frente do programa e pela gentileza e cordialidade em responder todos os meus questionamentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos que auxiliou em parte a realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Renata Canalle por aceitar participar da banca de qualificação, pelas sugestões e informações que foram valiosas ao trabalho e pela sempre gentileza que a acompanha.

À Profa. Dra. Karina Oliveira Drumond por mais uma vez aceitar o convite de avaliar um trabalho meu, pelo carinho e amizade.

Ao Prof. Dr. Carlos da Cunha Oliveira Júnior por aceitar o convite de participação nesta banca de defesa de dissertação, pelo profissionalismo e rigor científico que trarão importantes contribuições ao trabalho

À Profa. Dra. Anna Carolina Toledo da Cunha Pereira por ser maravilhosa, por sempre estar de sorriso no rosto ao passar no laboratório e me enviar um beijo e por ser a Chefa!

Ao Laboratório de Análise e Processamento Histológico (LAPHIS) por toda a experiência com histologia e histopatologia que me foram bastante úteis no devido momento;

À Irlaine Vieira pelo apoio, amizade e pela grande ajuda com seu material amplo de informática que salvaram minha pele;

Aos meus amigos Larissa dos Santos Pessoa, Eveny Araújo da Costa, David di Lenardo, Luiz Felipe de Carvalho França, Joaquina dos Santos Carvalho, Fabiana Andreína da Silva Sátiro, Lucas Eduardo de Oliveira, Danilo da Silva e Bruno Almeida Arrais Landim pela valiosa ajuda que me deram a todo o momento que precisei e por terem sido providenciais em várias etapas do mestrado.

À Emanuella Lima Teixeira Barros e seu noivo, Ricardo César Alves Vieira da Silva, pelo incentivo, recepção e acolhida em Manaus e por tornarem suportável o cotidiano neste referido lugar.

À Maria Luisa Lima Barreto do Nascimento e sua irmã Hannah Jéssica Lima Barreto do Nascimento por toda a gentileza, doçura e amor que têm por mim. Por sempre me estenderem a mão e sempre estarem postas a me ajudar. Vocês foram presentes me dados pela vida!

À Creuzimar Barros, Leila Leiliane, Tamara Serique e Rômulo Fabris, funcionários do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Amazonas pela recepção, acolhida, orientação e ensinamentos que fizeram do meu local de trabalho um lugar em que eu me sinto bem e contente, *o único nessa cidade*.

Ao meu companheiro, amigo, amor e amante Weberson de Aquino Lima pelo apoio durante todo o tempo que foi preciso e também pelo amor nos momentos de angústia, tristeza, solidão e medo que se tornaram frequentes em Manaus.

RESUMO

A periodontite resulta da resposta inflamatória causada pelo acúmulo de microrganismos no periodonto. Polimorfismos genéticos em diversas citocinas tem sido relatados com papel preponderante no risco de desenvolvimento e progressão da doença, contudo há uma limitação em estudos genéticos devido seu frequente número amostral reduzido. Uma importante ferramenta estatística capaz de anular o limitado poder amostral de estudos genéticos por meio da combinação dos estudos é a metanálise. Visto tais aspectos, este estudo objetivou realizar metanálises abordando achados publicados na literatura sobre os polimorfismos -889 C/T no gene da interleucina 1A, +3954 C/T no gene da interleucina 1B, -197 A/G no gene da interleucina 17A e -7488 T/C no gene da interleucina 17F e o risco de periodontite. A identificação, seleção e análise dos dados foram realizadas seguindo um protocolo para revisões sistemáticas e metanálises. Os cálculos da metanálise foram obtidos por uso do *software* estatístico *Review Manager* versão 5.2 com cálculo de heterogeneidade (I^2) e índice *Odds Ratio* (OR) para seis diferentes modelos genéticos com base em combinações alélicas e genotípicas. Para avaliação de viés de publicação foi utilizado o *software* *Comprehensive Meta-analysis* versão 3.3070 com cálculo do teste de regressão linear de *Egger*, teste de *Begg* e assimetria no *Funnel-plot*. Os valores de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. Todos os dados dos estudos foram dados dicotômicos expressos como índice OR com 95% de intervalo de confiança (IC) para avaliar a possível associação entre polimorfismos nos genes das interleucinas mencionadas e o risco de desenvolvimento de periodontite. Como resultados três artigos de metanálise compuseram este trabalho. Na avaliação geral foram identificados um total de 21 artigos para o polimorfismo no gene da IL-1A, 54 para o polimorfismo no gene da IL-1B, e sete estudos para ambos os polimorfismos nos genes da IL-17A e IL-17F foram encontrados. Os polimorfismos -889 C/T e +3954 C/T foram associados ao elevado risco de desenvolvimento de periodontite crônica, contudo os polimorfismos nos genes da IL-17A e IL-17F não tiveram associação significativa com a doença. As análises iniciais evidenciaram que apenas o polimorfismo no gene da IL-1B foi associado à doença em população miscigenada ($P < 0,05$). Mais estudos são requeridos para melhor avaliar a influência desses polimorfismos no risco de desenvolvimento de periodontite.

Palavras-Chave: Inflamação. Alelos. Odds Ratio. Citocina. Doença Periodontal.

ABSTRACT

Periodontitis results from the inflammatory response caused by the accumulation of microorganisms in the periodontium. Genetic polymorphisms in several cytokines have been reported with a preponderant role in the risk of development and progression of the disease, however there is a limitation in genetic studies due to their frequent small sample numbers. An important statistical tool capable of overriding the limited sampling power of genetic studies through the combination of studies is the meta-analysis. In the present study, the aim of this study was to conduct meta-analyses of published findings in the literature on the -889 C/T polymorphisms in the interleukin 1A gene, +3954 C/T in the interleukin 1B gene, -197 A/G in the interleukin 17A gene, and -7488 T/C in the interleukin 17F gene and the risk of periodontitis. The identification, selection and analysis of the data were performed following a protocol for systematic reviews and meta-analyses. The meta-analyses calculations were obtained using Review Manager software version 5.2 with calculation of heterogeneity (I^2) and Odds Ratio (OR) for six different genetic models based in allelic and genotypic combinations. To evaluate publication bias, the Comprehensive Meta-analysis version 3.3070 software were used with calculation of Egger's linear regression test, Begg test and Funnel-plot asymmetry. Values of $P < 0.05$ were considered statistically significant. All data from the studies were dichotomous data expressed as OR index with 95% of confidence interval (CI) to assess the possible association between polymorphisms in the mentioned interleukin genes and the risk of development of periodontitis. As results, three articles of meta-analyses composed the results. In overall, 21 articles for the IL-1A gene polymorphism, 54 for the IL-1B gene polymorphism, and seven articles for both polymorphisms in the IL-17A and IL-17F genes have been identified. Polymorphisms -889 C / T and +3954 C / T were associated with a high risk of developing chronic periodontitis, but polymorphisms in the IL-17A and IL-17F genes were not significantly associated with the disease. Initial analyzes showed that only the polymorphism in the IL-1B gene was associated with the disease in a mixed population ($P < 0.05$). More studies are required to better to evaluate the influence of these polymorphisms on the risk of developing periodontitis.

Key words: Inflammation. Alleles. Odds Ratio. Cytokine. Periodontal Disease.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Polimorfismos genéticos nas interleucinas (IL)-1A, IL-1B, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-18, e seus possíveis mecanismos de ação, abordados em estudos de metanálise os quais podem influenciar na progressão da periodontite (representada ao centro da figura pela ilustração de um dente cortado no eixo coronal com demonstração do processo inflamatório, destruição tecidual, reabsorção óssea e aumento da profundidade de sondagem medida por instrumento específico – sonda periodontal)..... 23

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Fluxograma de seleção dos estudos inclusos na metanálise..... 40
- Figura 2. A** *Forest plot* de comparação para o alelo T no polimorfismo -889 C/T no gene da IL-1A e o risco de periodontite crônica. **B** *Forest plot* de comparação para o alelo C no polimorfismo -889 C/T no gene da IL-1A e o risco de periodontite crônica..... 44
- Figura 3.** *Funnel plot* para viés de publicação na metanálise sobre o polimorfismo -889 C/T no gene da IL-1A e o risco de periodontite crônica..... 47

CAPÍTULO III

- Figura 1.** Fluxograma de identificação, seleção e inclusão dos estudos na metanálise..... 59
- Figura 2. A** *Funnel plot* para avaliação de heterogeneidade para o alelo T no polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de periodontite crônica. **B** *Funnel plot* para avaliação de heterogeneidade para o alelo C no polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de periodontite crônica..... 62
- Figura 3.** *Forest plot* de comparação para o alelo T *versus* o alelo C no polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de periodontite crônica..... 63
- Figura 4.** *Forest plot* de comparação para o alelo C *versus* o alelo T no polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de periodontite crônica..... 64
- Figura 5. A** Valores de heterogeneidade em todos os modelos alélicos e genotípicos calculados nesta recente metanálise. **B** *Funnel plot* para viés de publicação na avaliação alélica desta recente metanálise..... 66

CAPÍTULO IV

Figura 1. Fluxograma de identificação, seleção e inclusão dos estudos na metanálise.....	83
Figura 2. A <i>Forest plot</i> de comparação para o alelo mutado <i>versus</i> o alelo selvagem no polimorfismo rs2275913 e periodontite crônica e (B) agressiva. C <i>Forest plot</i> de comparação para o alelo mutado <i>versus</i> o alelo selvagem no polimorfismo rs763780 e periodontite crônica e (D) agressiva.....	88
Figura 3. <i>Funnel plot</i> para o viés de publicação na avaliação alélica do polimorfismo rs2275913 no gene IL-17A e periodontite crônica, (B) do polimorfismo rs763780 no gene IL-17F e periodontite crônica (C) e do polimorfismo 763780 no gene IL-17F e periodontite agressiva.....	89

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Características gerais dos estudos inclusos na metanálise.....	41
Tabela 2. Metanálise do polimorfismo -889 C/T no gene da IL-1A e o risco de periodontite crônica (modelos alélicos e genotípicos).....	45
Tabela 3. Valor de heterogeneidade para todos os modelos alélicos e genotípicos na metanálise.....	46

CAPÍTULO III

Tabela 1. Características dos estudos inclusos na metanálise.....	60
Tabela 2. Metanálise de comparação entre o polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de desenvolvimento de periodontite crônica (modelos alélicos e genotípicos).....	65

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Características dos estudos incluídos na síntese quantitativa (metanálise).....	84
Tabela 2. Metanálise de associação entre o polimorfismo rs227913 no gene da IL-17A e periodontite (comparações alélicas e genotípicas e análise estratificada).....	86
Tabela 3. Metanálise de associação entre o polimorfismo rs763780 no gene da IL-17F e periodontite (comparações alélicas e genotípicas e análise estratificada).....	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IL – Interleucina

I² – Teste do qui-quadrado baseado no teste Q de Cochran ou heterogeneidade

OR – Odds Ratio

IC – Intervalo de confiança

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PMN – Polimorfonucleares neutrófilos

TNF – Fator de necrose tumoral

PGE₂ – Prostaglandina E₂

RANKL – Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa beta

RANK – Receptor ativador do fator nuclear kappa beta

OPG – Osteoprotegerina

SNPs – Polimorfismos de nucleotídeo único

Th – Célular T *helper*

IL-1R1 – Receptor celular para IL-1

HWE – Equilíbrio e *Hardy-Weinberg*

PRISMA – *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*

CP – Periodontite crônica

AgP – Periodontite agressiva

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 CAPÍTULO I.....	19
2.1 REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1.1 Periodontite e a resposta do organismo à inflamação.....	19
2.1.2 Fatores genéticos associados à periodontite.....	21
2.1.3 Interleucinas 1A e 1B.....	23
2.1.4 Interleucinas 17A e 17F.....	28
2.1.5 Metanálise em estudos genéticos.....	30
2.2 OBJETIVOS.....	32
2.2.1 Objetivo Geral.....	32
2.2.2 Objetivos Específicos.....	32
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
2.3.1 Protocolo utilizado.....	33
2.3.2 Critérios de inclusão.....	33
2.3.3 Estratégia de busca.....	33
2.3.4 Processo de coleta de dados.....	34
2.3.5 Análise estatística.....	34
3 CAPÍTULO II.....	36
3.1 ARTIGO 1.....	36
4 CAPÍTULO III.....	52
4.1 ARTIGO 2.....	52
5 CAPÍTULO IV.....	76

5.1 ARTIGO 3.....	76
6 CAPÍTULO V.....	97
6.1 Considerações finais	97
6.2 Perspectivas	97
6.3 Referências bibliográficas.....	98

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória com gradativa destruição das estruturas de suporte do dente em resposta à presença de bactérias na região periodontal (KAJIYA et al., 2010). A doença é a segunda patologia mais prevalente na clínica odontológica os quais dados epidemiológicos comprovam tal afirmativa. Um estudo realizado na população da cidade de Porto Alegre, Brasil, encontrou a taxa de prevalência de 5,5% para periodontite nesta população (SUSIN; HAAS; ALBANDAR, 2014).

Sua prevalência varia conforme o sexo - embora a influência do sexo no desenvolvimento da doença ainda permanece indeterminado (GROVER et al., 2016), além da idade o qual a periodontite atingiu cerca de 62.3% de adultos acima de 65 anos nos Estados Unidos (EKE et al., 2016), da higiene oral e também hábitos como a ingestão de álcool ou o uso de fumo (EKE et al., 2012; GENCO & BORGANAKKE, 2013). Nos Estados Unidos, por sua vez, de 2009 a 2012 cerca de 64,7 milhões de adultos tiveram periodontite, o qual 8,9% desse total desenvolveu a forma severa da doença (EKE et al., 2015). Elevada prevalência da periodontite também foi observada no norte da Itália (AIMETTI et al., 2015) sendo, portanto, considerada um importante problema de saúde pública.

Inúmeros fatores estão envolvidos no desenvolvimento da doença, dentre eles variações genéticas do próprio hospedeiro e fatores ambientais como hábito de fumar, ingestão de bebidas alcoólicas e má higiene bucal (EKE et al., 2012). Na periodontite há destruição dos tecidos ao redor das raízes dos dentes bem como maior reabsorção do osso de sustentação podendo acarretar a perda do elemento dentário (BASCONEZ-MARTINEZ et al., 2011). A intensa resposta inflamatória do organismo é o principal causador dos danos teciduais observados no curso do desenvolvimento da periodontite (SILVA et al., 2016).

Embora o acúmulo de microrganismos na região periodontal seja o fator iniciador da doença (AMAYA et al., 2013), mediadores inflamatórios incluindo citocinas, quimiocinas, metabólitos de ácido araquidônico e enzimas proteolíticas contribuem para a degradação tecidual e reabsorção de osso alveolar observadas na doença (YUCCEL-LINDBERG; BÅGE, 2013). Além disso, a variedade de fatores genéticos do hospedeiro pode influenciar a susceptibilidade individual ao desenvolvimento da doença, bem como serem capazes de determinar os aspectos clínicos e a taxa de

progressão da periodontite (VIEIRA; ALBANDAR, 2014).

A comprovação de que a periodontite é uma doença complexa de etiologia multifatorial tem levado ao desenvolvimento de pesquisas com interesse na identificação de marcadores moleculares capazes de determinar o risco de desenvolvimento da doença (STABHOLZ; SOSKOLNE; SHAPIRA, 2010).

Recentemente, investigações sobre fatores de susceptibilidade à periodontite vêm ganhando enfoque em genes de moléculas imunorregulatórias como citocinas, quimiocinas, receptores de superfície de membrana e proteínas de reconhecimento de antígenos (CARINCI et al., 2015). Determinadas citocinas como as interleucinas (IL) 4, 6, dentre outras, são consideradas fatores chave na progressão da periodontite por atuarem no recrutamento, diferenciação e ativação de linfócitos B, infiltrado neutrofílico e estimulação de osteoclastos (NAVARRETE et al., 2014).

Apesar de diversos estudos usando metodologias de determinação de frequência alélica e genotípica por reação em cadeia da polimerase (PCR) (CHAMBRONE et al., 2014; WU et al., 2013; YOSHIHARA et al., 2015) ou associação genômica (OFFENBACHER et al., 2016; DIVARIS et al., 2013) tenham buscado esclarecer a relação entre polimorfismos em citocinas ou outros mediadores inflamatórios e periodontite, os resultados mostram-se falhos pelo número amostral reduzido gerando dados falso-positivos ou falso-negativos (CARINCI et al., 2015).

Nessa perspectiva os estudos de metanálise têm sido cada vez mais empregados em análise genética pela sua maior capacidade de associação de dados anulando os chamados "efeitos curtos" acarretados por estudos com número amostral reduzido (LOHMUELLER et al., 2003). A elevada capacidade de associação de dados feita pela metanálise garante maior confiabilidade aos dados bem como resultados acurados com correto direcionamento do enfoque no desenvolvimento de marcadores moleculares para a doença.

Polimorfismos genéticos em citocinas como a IL-1A (ARMINGOHAR et al., 2014), IL-1B (MASAMATTI et al., 2012), IL-17A (CORRÊA et al., 2012) e IL-17F (ERDEMIR et al., 2015) tiveram papel preponderante no desenvolvimento e progressão da periodontite em diferentes populações. Porém resultados acurados acerca da associação entre variantes genéticas em tais mediadores inflamatórios e o risco de desenvolvimento da doença ainda permaneçam ausentes na literatura.

De fato, embora metanálises que avaliem polimorfismos em interleucinas como a IL-1B (CHEN et al., 2015; ZENG et al., 2015), IL-4 (YAN et al., 2014), IL-6 (SONG

et al., 2013), IL-18 (LI et al., 2013) e risco no desenvolvimento de periodontite estejam disponíveis na literatura; dá-se necessária a avaliação sobre polimorfismos nos genes das interleucinas 1A (-889 C/T), 1B (+3954 C/T), 17A (-197 A/G) e 17F (-7488 T/C) e o risco no desenvolvimento de periodontite por meio de diferentes abordagens que tragam maiores esclarecimentos acerca da influência destas variações genéticas e o risco de desenvolvimento da doença.

Este trabalho é dividido em cinco capítulos o qual o primeiro trata do referencial teórico, objetivos geral e específicos e a metodologia empregada nas metanálises; o segundo aborda os resultados compostos por um artigo de metanálise sobre o polimorfismo -889 C/T no gene da interleucina 1A e o risco de desenvolvimento de periodontite crônica publicado na revista *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugía Bucal*. O terceiro capítulo é composto por um artigo de metanálise sobre o polimorfismo +3954 C/T no gene da IL-1B e o risco de desenvolvimento de periodontite crônica que será submetido à revista *Oncotarget*. O quarto capítulo, por sua vez, aborda um artigo de metanálise sobre os polimorfismos -197 A/G no gene da interleucina 17A e -7488 T/C no gene da interleucina 17F e o risco de desenvolvimento da doença publicado na revista *Molecular Biology Reports*. E por fim, o quinto capítulo é composto pelas considerações finais e perspectivas do trabalho e as referências bibliográficas utilizadas.

2 CAPÍTULO I

2.1 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1.1 A periodontite e a resposta do organismo à inflamação

A periodontite é caracterizada pela reação inflamatória do organismo em resposta à presença de patógenos acumulados na região periodontal (DEO & BHOGADE, 2010; GENCO & BORGANAKKE, 2013; KIM et al., 2009), consequente destruição óssea alveolar em torno das superfícies radiculares dentais e eventual perda do dente (DERVEAU, 2010). Tal condição é causada principalmente pela colonização mista de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas no sulco subgingival que acarreta resposta do organismo por meio da produção de citocinas e outros mediadores inflamatórios pelo epitélio gengival e desenvolvimento de bolsas periodontais (ISLMAIL et al., 2013; SILVA et al., 2015).

Duas formas principais de periodontite se apresentam com elevada frequência na clínica odontológica: as formas crônica e agressiva (LÓPEZ; BAELUM, 2015). A periodontite crônica é caracterizada por uma resposta imune que ocorre de forma cíclica com períodos de estabilidade e manutenção da inflamação seguidos por períodos de rápida destruição tecidual atingindo indivíduos adultos em sua maioria (FORD; GAMONAL; SEYMOUR, 2010). Por sua vez, as manifestações clínicas da periodontite agressiva incluem rápida e extensa lesão tecidual no periodonto atingindo indivíduos mais jovens (MONTEIRO et al., 2015).

Existem poucas diferenças histopatológicas entre as formas crônica e agressiva da periodontite (KEBSCHULL et al., 2013), diferenças estas que não foram significativas no perfil de citocinas presentes no fluido gengival de pacientes com periodontite crônica comparados a pacientes com a forma agressiva da doença (DUARTE et al., 2015). Contudo, frequentemente os achados clínicos da periodontite agressiva não incluem lesão gengival, o que sugere que esta pode não seguir a mesma sequência de iniciação e progressão da periodontite crônica (FORD; GAMONAL; SEYMOUR, 2010)

Sabe-se que a periodontite possui etiologia multifatorial e embora os microrganismos detenham a função de iniciar a resposta inflamatória, fatores genéticos do próprio hospedeiro contribuem com os danos observados no periodonto (AMAYA et al., 2013; LIU; LERNER; TENG, 2010; SILVA et al., 2016). Localmente, lipopolissacarídeos (LPS) oriundos de periodontopatógenos induzem infiltrado

inflamatório com recrutamento de polimorfonucleares neutrófilos (PMN) e macrófagos (ANDIA et al., 2013; OZMERIC, 2004) que liberam fator de necrose tumoral (TNF), interleucinas (IL) 1 e 17, dentre outras, e prostaglandina E₂ (PGE₂) (CARDOSO et al., 2009; CAVALLA et al., 2014; NIBALI et al., 2009; SHAO et al., 2009). As citocinas liberadas além de modularem o curso da inflamação também atuam sobre a reabsorção óssea, sendo importantes mediadores inflamatórios na fisiopatologia da doença (ALI et al., 2011; BAKER, 2000). Essa perda de osso alveolar constitui a maior das preocupações tanto para os pacientes quanto para os clínicos onde as tentativas de tratamento se voltam para a regressão desta perda ou minimização dos danos (JAYAKUMAR et al., 2010).

Na fisiologia do tecido ósseo alveolar também é observada a ação do Ligante do Receptor Ativador do Fator Nuclear kB (RANKL), seu receptor o Receptor Ativador do Fator Nuclear kB (RANK) e de seu antagonista natural, a osteoprotegerina (OPG) (BUDUNELI; KINANE, 2011) ilustrando o mecanismo imunológico responsável pela perda óssea periodontal (PÉREZ-SAYÁNS et al., 2010). RANK/RANKL promovem a diferenciação de macrófagos em osteoclastos maduros multinucleados estimulando sua capacidade de reabsorção óssea (MORI, 2013). RANKL é produzido e secretado por diversos tipos celulares, dentre eles fibroblastos, linfócitos T e mesmo monócitos (LIU; LERNER; TENG, 2010). Estudos demonstraram que ratos com deficiência na produção de RANKL apresentaram grave osteopetrose devido a não formação de osteoclastos (BOYCE; XING, 2008).

Por outro lado, contrabalanceando a atividade do RANKL há a ação da OPG. Também produzida por fibroblastos, monócitos, além de linfócitos T e B, a OPG atua bloqueando a osteoclastogênese (HOFBAUER; SHOPPET, 2002). A expressão de RANKL assim como de OPG, em quadros fisiológicos normais, é mediada por interações célula-célula (THEOLEYRE et al., 2004). Entretanto, moléculas como a IL-1 induzem maior síntese de RANKL por células da medula óssea e conseqüentemente maior reabsorção de tecido ósseo (BOYCE; XING, 2008) além de que a IL-8, quimiotática para neutrófilos e também secretada por este tipo celular, induz a expressão de TNF- α com recrutamento de linfócitos T que ao secretarem RANKL podem trabalhar como indutores da reabsorção óssea (BAKER, 2000).

Estes achados demonstram a importância de estudos com foco na investigação sobre interleucinas bem como outros mediadores inflamatórios e variações genéticas

nestas moléculas os quais podem trazer impactos positivos na abordagem clínica de pacientes com a doença.

2.1.2 Fatores genéticos associados à periodontite

A periodontite é uma doença multifatorial e vários fatores de risco como metabólicos, genéticos e microbianos estão envolvidos na patogênese da doença (SILVA et al., 2016). A colonização de bactérias periodontais Gram-negativas incluindo as espécies *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* é indicada como iniciador da doença (FENG; WEINBERG, 2006; PUIG-SILLA et al., 2012) e ativadora das vias inflamatórias (ANDIA et al., 2013).

Foi inicialmente sugerido que a susceptibilidade à periodontite poderia ser geneticamente determinada pela resposta imune a lipopolissacarídeos bacterianos (MICHALOWICZ, 1993). No entanto, uma vez que os LPS's não são o único produto bacteriano envolvido na inflamação periodontal bem como é reportado na literatura o papel preponderante do histórico familiar no desenvolvimento da doença (ZIUKAITE et al., 2016), o fundo genético de susceptibilidade à periodontite permanece em grande parte ainda desconhecido (CARINCI et al., 2015).

A inflamação crônica e as citocinas têm sido sugeridas como detentoras de papel central nos processos destrutivos observados na periodontite (DEO; BHONGADE, 2010). Relatos de polimorfismos genéticos associados à periodontite vem crescendo recentemente na literatura e vários estudos têm mostrado que diferentes citocinas estão envolvidas na periodontite. Por exemplo, verificou-se que os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) encontrados em pelo menos 1% da população mundial (KIM; MISRA, 2007) e ocorridos em genes de citocinas tais como a IL-1A e 1B (KARIMBUX et al., 2012), IL-4 (HOLLA et al., 2008), IL-6 (KALBURGI et al., 2010), IL-8 (SCAREL-CAMINAGA et al., 2011) e IL-18 (NOACK et al., 2008), localizadas em diferentes regiões dos citados genes influenciam na fisiopatologia da periodontite sob diferentes mecanismos. Estes SNP's foram abordados em estudos de metanálise como demonstrado na figura 1 sendo sugeridos por possivelmente alterar o risco de desenvolvimento da doença em várias populações.

Yan et al. (2014) realizaram um estudo de metanálise abordando três diferentes variações genéticas no gene da IL-4 e encontraram uma associação significativa para o polimorfismo -590 C/T e a doença (Figura 1). A IL-4 tem capacidade em inibir células

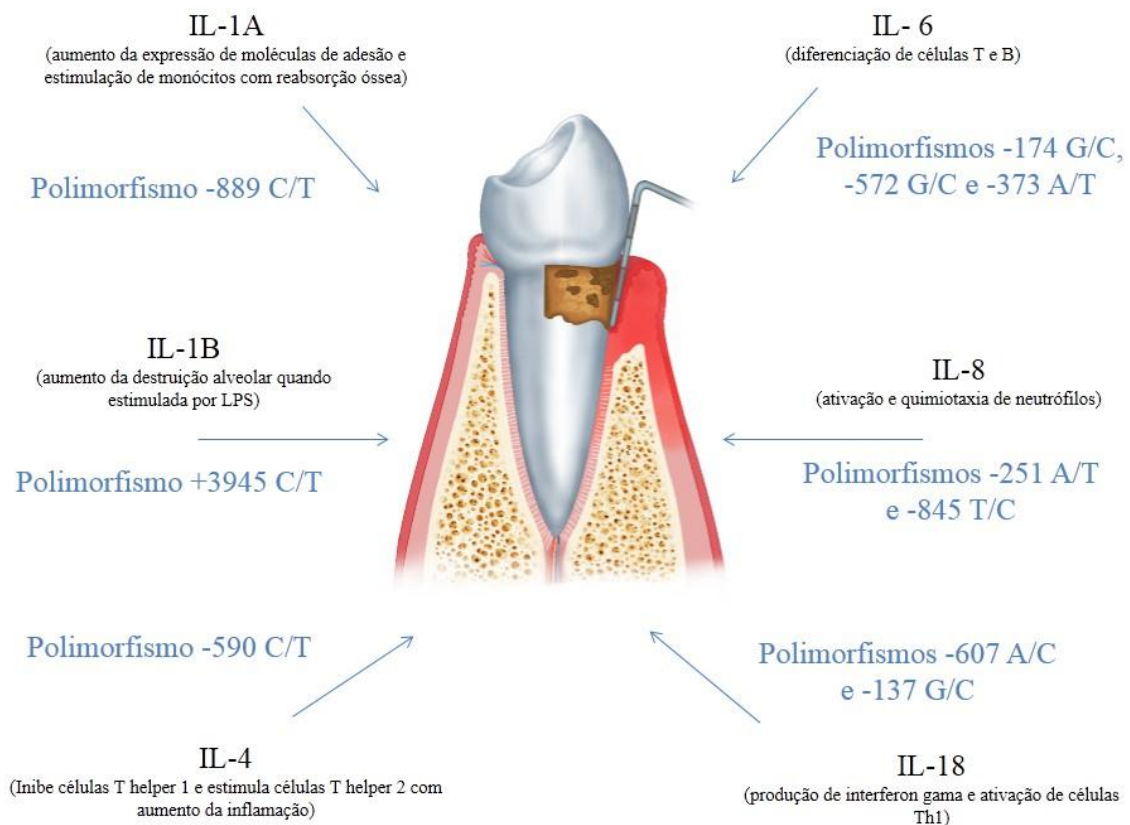
T helper 1 (Th1) enquanto estimula a resposta imune via Th2, além de afetar negativamente a atividade de macrófagos (KIDD, 2003). Esta estimulação de células Th2 é indicada como fator contribuinte para destruição tecidual observada na periodontite (GEMMELL; SEYMOUR, 2004).

A IL-6 também foi abordada em estudos de metanálise (SHAO et al., 2009; SONG et al., 2013). Esta citocina e o polimorfismo -373 A/T em seu gene estiveram associados à diminuição no risco de desenvolvimento de periodontite crônica em japoneses, bem como na redução dos níveis séricos de IL-6 nestes pacientes (KOMATSU et al., 2005). IL-6 é uma citocina envolvida na resposta inflamatória e modulação da resposta imune incluindo a diferenciação de células B e T (LOOS; JOHN; LAINE, 2005). Também, os polimorfismos -174 G/C e -572 G/C aumentaram a expressão de IL-6, os quais podem ser associados à periodontite (SONG et al., 2013) (Figura 1).

Outra metanálise disponível na literatura também trouxe informações esclarecedoras sobre os polimorfismos -251 A/T e -845 T/C no gene da IL-8 e a significativa associação com periodontite em população brasileira (CHEN et al. 2015). A IL-8 é uma importante citocina responsável pela ativação e quimiotaxia de células de defesa, especialmente neutrófilos, para os sítios inflamatórios (REMICK, 2005; SCAPINI et al., 2000) (Figura 1). Os níveis de IL-8 no fluido gengival de pacientes com periodontite agressiva e crônica foram significativamente mais elevados que nos controles saudáveis demonstrando a relação entre esta citocina e periodontite (ERTUGRUL et al., 2013).

Avaliando os níveis séricos de outra citocina pro-inflamatória em associação com periodontite, a metanálise de Li et al. (2014) abordou dois polimorfismos (-607 A/C e -137 G/C) no gene da IL-18 em nove estudos caso controle com um total de 576 pacientes com periodontite e 458 controles (Figura 1). O estudo identificou associação positiva entre elevados níveis desta citocina em pacientes portadores de ambos os polimorfismos e a doença. A IL-18 é secretada por monócitos e macrófagos o qual seu precursor, naturalmente presente em células endoteliais, queratinócitos e células do epitélio intestinal, é ativado por meio de processamento pela protease caspase-1 com indução da síntese de interferon gama e consequente ativação de vias inflamatórias as quais resultam em destruição tecidual nos quadros de periodontite (DINARELLO et al., 2013).

Figura 1. Polimorfismos genéticos nas interleucinas (IL)-1A, IL-1B, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-18, e seus possíveis mecanismos de ação, abordados em estudos de metanálise os quais podem influenciar na progressão da periodontite (representada ao centro da figura pela ilustração de um dente cortado no eixo coronal com demonstração do processo inflamatório, destruição tecidual, reabsorção óssea e aumento da profundidade de sondagem medida por instrumento específico – sonda periodontal).



Legenda: IL – interleucina, LPS – lipopolissacarídeo, Th1 – T *helper* 1

Fonte: Próprio autor

Dentre outras variantes genéticas candidatas à associação com a periodontite, os polimorfismos no gene da IL-1 (A e B) são os mais estudados sendo foco de oito metanálises (CHEN et al., 2015; DENG et al., 2013; KARIMBUX et al., 2012; MAO et al., 2013; NIKOLOPOULOS et al., 2008; SILVA et al., 2017; WANG et al., 2014; ZENG et al., 2015). Os polimorfismos -889 C/T no gene da IL-1A e +3954 C/T no gene da IL-1B tiveram associação significativa com o risco de periodontite crônica (MA et al.,

2015; SILVA et al., 2016) previamente sugeridos como marcadores moleculares para a doença (GREENSTEIN; HART, 2002; GRIGORIADOU et al., 2010) (Figura 1).

McDevitt et al. (2000) demonstraram que o genótipo positivo (CT ou TT) para o polimorfismo +3954 C/T no gene da IL-1B teve considerável valor de associação com a periodontite crônica em adultos (OR = 5,27, $P > 0,05$) quando comparado ao genótipo negativo (CC) (OR = 3,75, $P < 0,05$). Por sua vez, sobre o gene da IL-1A, Meisel et al. (2002) sugeriram a correlação positiva entre os níveis de extensão da periodontite com pacientes fumantes portadores do alelo mutado no polimorfismo -889 C/T. Contudo, tanto o polimorfismo -889 C/T quanto o +3954 C/T nos genes IL-1A e IL-1B, respectivamente, não foram associados à periodontite agressiva em população caucasiana (FIEBIG et al., 2008).

Esta divergência de achados pode ser explicada pelas diferenças nas amostras dos estudos (tamanho amostral variado, diferentes populações analisadas nos estudos ou variação metodológica no diagnóstico da doença). No entanto, observando tais limitações, os resultados mostram-se contraditórios quanto à associação de SNPs em genes de interleucinas com o risco no desenvolvimento da doença (ABU-SALEH et al., 2010).

2.1.3 Interleucinas 1A e 1B

A família das interleucinas 1, o qual detém cerca de 11 membros, foi uma das primeiras classes de interleucinas estudadas se caracterizando por terem papel principal em processos inflamatórios (DINARELLO, 2009; GABAY; LAMACCHIA; PALMER, 2010). O efeito geral da IL-1 é a estimulação do sistema nervoso central, especialmente o eixo hipotálamo-adrenal, acarretando elevação da temperatura corporal (KONSMAN; PARNET; DANTZER, 2002) e consequente aumento da migração de leucócitos (HOPKINS, 2003).

A IL-1 também promove indução da expressão de moléculas de adesão em células endoteliais que em conjunto com a liberação de outras citocinas resulta na amplificação do recrutamento de neutrófilos e resistência à infecção (GARLANDA; DINARELLO; MANTOVANI, 2013). Além disso, este mediador inflamatório também é capaz de prolongar a meia-vida e a função efetora de neutrófilos e macrófagos (MANTOVANI et al., 2011).

As citocinas IL-1A e IL-1B são codificadas por diferentes genes dentro do *cluster* da família IL-1 localizado ao longo do braço longo do cromossomo 2 (TREVILATTO et

al., 2011) e embora liguem-se ao mesmo receptor celular (IL-1R1), estas interleucinas apresentam diferenças fisiológicas que promovem distintas respostas imunes (GARLANDA; DINARELLO; MANTOVANI, 2013).

O precursor da IL-1A está presente constitutivamente em células epiteliais do trato gastrointestinal (BERSUDSKY et al., 2013), fígado (TAKEDA et al., 2004) e em queratinócitos da pele (KONG; GRANDO, 2006). Este precursor é totalmente ativo e funciona como um “alarme” molecular iniciando rapidamente a cascata inflamatória (CHEN et al., 2007). Quando ocorre formação de células necróticas, bem como em quadros de isquemia, este precursor é liberado mediando a fase inicial da inflamação (GARLANDA; DINARELLO; MANTOVANI, 2013).

A IL-1A está implicada na patogênese da inflamação periodontal por estimular a produção de mediadores secundários os quais amplificam a inflamação levando a degradação do tecido conjuntivo de suporte no periodonto (GRAVES; COCHRAN, 2003) e estimulação de monócitos com consequente reabsorção óssea (MANEY; OWENS, 2015) – visto que a relação causa e efeito entre liberação de citocinas e perda óssea alveolar já fora demonstrada (ALGATE et al., 2015; DELIMA et al., 2001; IZAWA et al., 2014). A IL-1A promoveu maior reabsorção óssea em ratos que receberam injeção subgingival de LPS das espécies bacterianas: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis* (NISHIDA et al., 2001) e também aumentou a diferenciação *in vitro* de osteoclastos (TANABE et al., 2005).

Por sua vez, ligando-se ao mesmo receptor celular, mas com diferenças fisiopatológicas, tem-se a IL-1B. Diferentemente da IL-1A, o precursor da IL-1B não está presente em estados fisiológicos sendo um produto primário da ativação de monócitos, macrófagos, células dendríticas e linfócitos B (JOOSTEN; NETEA; DINARELLO, 2013).

A IL-1B também está implicada na estimulação da reabsorção óssea em modelo animal (NISHIDA et al., 2001) bem como na fisiopatologia da doença periodontal o qual elevados níveis de IL-1B em fluido gengival foram encontrados em pacientes com periodontite severa (ENGEBRETSON et al., 2002). Estes autores identificaram maior associação entre o aumento nos parâmetros clínicos de avaliação da periodontite (medida de profundidade de sondagem e nível de perda de inserção clínica) e os níveis de IL-1B.

Embora os níveis de IL-1B em fluido gengival não diferiram quando comparou-se indivíduos fumantes com periodontite e não fumantes também com a doença

(BOSTRÖM; LINDER; BERGSTRÖM, 2000), sabe-se que hábito de fumar potencializa os danos causados pela periodontite (BOROJEVIC, 2012). Além disso, a IL-1B tem importante papel na doença periodontal o qual a associação entre elevados níveis tanto de IL-1A quanto IL-1B em fluidos corporais e inflamação são bem reportadas na literatura (DINARELLO; SIMON; VAN DER MEER, 2012; GRAUDAL et al., 2002).

Variações nos genes destas citocinas foram associadas ao elevado risco de desenvolvimento de periodontite crônica pelo aumento na produção desta citocina no fluido gengival (QUAPPE; JARA; LÓPEZ, 2004), mas os resultados mostraram-se contraditórios o qual uma nova abordagem destes estudos é requerida. Oito metanálises encontram-se disponíveis na literatura abordando os polimorfismos -889 C/T quanto o +3954 C/T nos genes IL-1A e IL-1B, respectivamente, tanto na forma agressiva quanto crônica.

A primeira metanálise publicada abordando estes polimorfismos e periodontite foi realizada por Nikolopoulos et al. (2008) e trouxe oito estudos sobre o polimorfismo -889 C/T e dezesseis estudos sobre o polimorfismo +3954 C/T. Ambos os polimorfismos foram associados à periodontite na forma crônica ($P < 0,05$) mas não à agressiva. Também, Karimbux et al. (2012) realizaram uma metanálise sobre polimorfismos na IL-1A (incluindo o polimorfismo -889 C/T) avaliando o risco de desenvolvimento da doença na forma crônica em pacientes caucasianos portadores do polimorfismo, contudo os resultados da metanálise apresentaram elevada heterogeneidade o que pode comprometer os resultados.

Mao et al. (2013) também realizaram uma metanálise com foco no polimorfismo -889 C/T e periodontite crônica, contudo analisando variadas populações. No total, esta metanálise incluiu 23 estudos os quais o alelo T foi associado à periodontite crônica (OR = 1,23, 95% IC: 1,15-1,44, $P < 0,001$), na avaliação étnica o polimorfismo foi significativamente associado ao elevado risco de desenvolvimento da doença em Caucásianos e Asiáticos mas não em população miscigenada ($P > 0,05$).

A mais recente metanálise sobre este polimorfismo foi publicada por Silva et al. (2017) e também demonstrou a não associação desta variação genética na população miscigenada. Estes autores realizaram a metanálise incluindo recentes achados na literatura publicados após o estudo de Mao et al. (2013). Tal enfoque permitiu a avaliação de estudos sobre pacientes fumantes e não fumantes os quais os resultados

demonstraram a não associação significativa do polimorfismo com estes pacientes ($P > 0,05$).

Outras importantes informações obtidas por Silva et al. (2017) sobre o polimorfismo -889 C/T e o risco de periodontite crônica foi o valor reduzido de inconsistência estatística na avaliação alélica geral dentro da metanálise ($I^2 = 15\%$, $P_{heterogeneidade} = 0,28$) com uso de um modelo estatístico mais acurado. Também, foi realizada a avaliação de outras condições presentes nos pacientes envolvidos nos estudos inclusos na análise estatística (fumantes e não fumantes) que não constou em metanálises anteriormente publicadas.

Por sua vez, sobre o polimorfismo +3954 C/T no gene da IL-1B, uma metanálise com 36 estudos caso controle demonstrou a significativa associação entre o polimorfismo e a forma crônica da doença ($OR = 1,30$, $95\% IC: 1,05-1,60$, $P < 0,0001$) (DENG et al., 2013). Esta metanálise trouxe uma avaliação estratificada com base em diferentes etnias (Caucasiana e Asiática) bem como avaliações estratificadas sobre a fonte de análise dos estudos (estudos com pacientes de rede hospitalar e pacientes da população geral) e quanto ao respeito ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE).

Embora esta metanálise seja completa em relação à análise da variação da fonte dos estudos bem como sobre a influência do HWE como potencial viés, uma metanálise abordando novos dados publicados na literatura e uma avaliação étnica que inclua população miscigenada e africana não está disponível na literatura.

Nesta perspectiva torna-se necessária a condução de um estudo de metanálise que avalie este polimorfismo no gene da IL-1B com foco em novos dados publicados na literatura e uma melhor avaliação étnica trazendo assim maior esclarecimento sobre tal variação genética e sua relação com o risco de desenvolvimento da doença em diferentes populações.

2.1.4 Interleucinas 17A e 17F

As IL-17A e IL-17F compreendem um grupo de citocinas pró-inflamatórias secretadas por um específico grupo de células T $CD4^+$, as chamadas células Th17 (GAFFEN, 2009). Existem seis tipos conhecidos de IL-17 (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E – também denominada IL-25 e IL-17F) sendo as IL-17A e F as mais bem conhecidas (JIN; DONG, 2013).

As IL-17A e IL-17F são citocinas responsáveis pelo recrutamento de neutrófilos por meio da indução de diversos mediadores pró-inflamatórios tais como

metaloproteinases de matriz, TNF- α , IL-6 e IL-8 (CHENG; HUGHES; TAAMS, 2014). Células T CD4 + expressam ambas as moléculas em sua superfície celular (LANGRISH et al., 2005). Embora apresentem papel de proteção contra microrganismos, uma disfunção na secreção destas citocinas acarreta excessiva expressão de mediadores inflamatórios com dano tecidual e ativação de autoimunidade (KOLLS; LINDÉN, 2004).

A IL-17 afeta a capacidade de diferenciação celular de culturas de células do ligamento periodontal em osteoblastos o que pode contribuir com a perda óssea alveolar na periodontite (ĐORĐEVIĆ et al., 2016). Além disso, esta citocina foi capaz de promover osteoclastogênese por meio de aumento na expressão de RANKL em células tronco mesenquimais, o que pode favorecer reabsorção óssea tanto *in vitro* quanto *in vivo* (HUANG et al., 2009).

Elevados níveis de IL-17 foram encontrados na saliva de pacientes com periodontite (AZMAN et al., 2014) e no fluido gengival de pacientes com periodontite crônica fumantes e não fumantes submetidos ao tratamento inicial para a doença (BUDUNELI; BUDUNELI; KÜTÜKÇÜLER, 2009), sendo estes níveis influenciados por outras citocinas como a IL-11 (AY et al., 2009)

Análises genéticas demonstraram que IL-17A e IL-17F são codificados por genes localizados no mesmo *locus* no cromossomo 6 (6p12.2) e separados por uma região de cerca de 43,9 kb (WANG et al., 2012). Polimorfismos nos genes IL-17A e IL-17F foram associados ao risco de desenvolvimento de nefrite decorrente de lúpus em crianças no Egito (HAMMAD et al., 2016). Dentre estes polimorfismos, dois – rs2275913 (uma mudança de adenina para guanina na posição -197 do gene da IL-17A) e rs763780 (uma mudança de timina para citosina na posição -7488 do gene da IL-17F) – foram estudados com foco na sua associação com periodontite.

O primeiro estudo publicado sobre a relação entre estes polimorfismos e periodontite foi composto por 60 participantes de população brasileira (30 indivíduos saudáveis e 30 com periodontite crônica) e demonstrou que o alelo A no polimorfismo rs2275913 e o alelo T no polimorfismo rs763780 foram associados à doença e aos maiores valores de profundidade de sondagem (CORRÊA et al., 2012).

Em contrapartida, em outro estudo posteriormente publicado também em brasileiros, o alelo A no polimorfismo rs2275913 esteve em maior frequência no grupo de pacientes saudáveis quando comparados aos pacientes com periodontite agressiva e crônica (SARAIVA et al., 2013). Saraiva et al., (2013) utilizaram uma

amostra composta por 72 indivíduos saudáveis comparados a 45 indivíduos com periodontite agressiva e 85 indivíduos com periodontite crônica.

Estes resultados divergem dos achados de um posterior estudo caso-controle sobre a associação entre este polimorfismo no gene da IL-17A e periodontite, o qual o alelo A esteve significativamente associado aos pacientes com periodontite crônica (OR = 1,59, P = 0,04) (ZACARIAS et al., 2015).

Dados conflitantes persistem sobre a associação destes polimorfismo com a periodontite. Corroborando os achados de Zacarias et al. (2015), Chaudhari et al., (2016) encontrou significante associação entre o alelo A e o risco de desenvolvimento tanto de periodontite agressiva (na forma localizada) quanto crônica. Este estudo envolvendo 70 pacientes de ambos os sexos e portadores de periodontite (35 com periodontite agressiva e 35 com periodontite crônica) e 35 controles saudáveis encontrou elevado valor de associação quando comparou-se os alelos A *versus* G entre os pacientes com periodontite agressiva e saudáveis (OR = 5,1, P<0.05) e entre os pacientes com a forma crônica da doença e saudáveis (OR = 5,1, P<0,05).

Os resultados contraditórios sobre os polimorfismos rs2275913 e rs763780 no gene da IL-17A e F, respectivamente, sugerem a necessidade de uma melhor abordagem sobre tais variações genéticas numa possível associação com a doença.

Mesmo havendo outros estudos publicados com tal enfoque não há metanálises disponíveis na literatura abordando estas variantes genéticas e o risco de desenvolvimento de periodontite. Um estudo de metanálise com maiores esclarecimentos sobre os resultados dos estudos publicados sobre ambos os polimorfismos citados torna-se portanto requerido.

2.1.5 Metanálise em estudos genéticos

Embora diversos estudos usando metodologias de determinação de frequência alélica e genotípica por reação em cadeia da polimerase (PCR) (BOUKORTT et al., 2015; CORRÊA et al., 2012) ou associação genômica (DIVARIS et al., 2013) tem buscado esclarecer a relação entre polimorfismos em citocinas ou outros mediadores inflamatórios e periodontite, os resultados mostram-se falhos pelo número amostral reduzido gerando dados falso-positivos ou falso-negativos (CARINCI et al., 2015).

Apesar de a PCR ser uma ferramenta molecular amplamente utilizada em diversos campos da odontologia (MAHEASWARI; KSHIRSAGAR; LAVANYA, 2016), existem limitações referentes ao tamanho amostral, questões éticas e custo

orçamentário os quais podem inviabilizar o desenvolvimento deste tipo de estudo. Nessa perspectiva os estudos de metanálise têm sido cada vez mais empregados em análise genética pela sua maior capacidade de associação de dados (COHN; BECKER, 2003) anulando os chamados "efeitos curtos" que estudos com número amostral reduzido acarretam (LOHMUELLER et al., 2003).

A metanálise é uma ferramenta estatística utilizada para agregar resultados de estudos tornando-se de uso comum e crescente interesse, especialmente em genética, devido à dificuldade existente em se obter resultados robustos, confiáveis e replicáveis neste tipo de estudo (MUNAFÒ; FLINT, 2004). Quando o tamanho amostral é elevado (em cerca de centenas de participantes) mesmo alelos raros podem ser identificados com sucesso (CHELLY; MANDEL, 2002).

Contudo para muitos estudos de ligação e associação, a incapacidade em fornecer evidências convincentes – como valores de *Odds Ratio* maiores que 1,5 para um polimorfismo associado à câncer de mama (PHAROAH et al., 2002), por exemplo – indica que há falhas metodológicas associadas ao tamanho amostral que podem ser anuladas pela metanálise.

A informação principal obtida por meio de metanálise em estudos de polimorfismos é o valor de *Odds Ratio* (OR) usado para quantificar a associação de dados. O cálculo de OR em metanálise de estudos genéticos pode ser obtido por meio do modelo de efeito-fixo (modelo estatístico mais confiável por assumir variação mínima entre os estudos) ou modelo de efeitos aleatórios (modelo estatístico menos confiável por assumir variados pesos entre os estudos com maior divergência estatística) (KAVVOURA; IOANNIDIS, 2008).

Contudo, outros cálculos adicionais fornecem dados relevantes à metanálise. Por exemplo, tem-se o valor de heterogeneidade estatística que define a variação estatística entre os estudos por meio do cálculo do teste do qui-quadrado baseado no teste Q de *Cochran* (I^2) (HIGGINS et al., 2002) influenciando diretamente no modelo estatístico aplicado aos dados (HUEDO-MEDINA et al., 2006).

Além desse cálculo, tem-se os valores de viés de publicação (caracterizados como erros na busca sistemática dos estudos que comporão a metanálise os quais podem invalidar os resultados) sendo obtido pelos testes de regressão linear de *Egger* (EGGER et al., 1997) e pelo teste de *Begg* (BEGG; MAZUMDAR, 1994).

Metanálises com foco em polimorfismos em genes de mediadores inflamatórios estão disponíveis na literatura trazendo informações esclarecedoras sobre a

associação destas alterações genéticas e o risco da doença (SILVA et al., 2017; SHAO et al., 2009; YAN et al., 2014). Percebe-se portanto a maior confiabilidade e acurácia de resultados devido a elevada capacidade de associação de dados feita pela metanálise com correto direcionamento do enfoque no desenvolvimento de marcadores moleculares para a doença destacando assim a importância do desenvolvimento deste tipo de estudo em análise genética.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo Geral

Avaliar a associação entre os polimorfismos -889 C/T (no gene da interleucina 1A), +3954 C/T (no gene da interleucina 1B), -197 A/G (no gene da interleucina 17A) e -7488 T/C (no gene da interleucina 17F) e o risco no desenvolvimento de periodontite por meio de metanálise.

2.2.2 Objetivos específicos

- Realizar uma busca sistemática na literatura para coleta de estudos que abordem os polimorfismos -889 C/T (no gene da interleucina 1A), +3954 C/T (no gene da interleucina 1B), -197 A/G (no gene da interleucina 17A) e -7488 T/C (no gene da interleucina 17F) com o risco de desenvolvimento de periodontite;
- Identificar os estudos que abordem a relação entre os polimorfismos -889 C/T (no gene da interleucina 1A), +3954 C/T (no gene da interleucina 1B), -197 A/G (no gene da interleucina 17A) e -7488 T/C (no gene da interleucina 17F) com o risco de desenvolvimento de periodontite;
- Calcular os valores de associação entre os polimorfismos -889 C/T (no gene da interleucina 1A), +3954 C/T (no gene da interleucina 1B), -197 A/G (no gene da interleucina 17A) e -7488 T/C (no gene da interleucina 17F) com o risco de desenvolvimento da doença em distintas populações e também incluindo pacientes fumantes e não fumantes;
- Avaliar os valores de heterogeneidade para os estudos que abordem os polimorfismos acima citados e periodontite;
- Determinar a existência de viés de publicação nas metanálises que serão calculadas com base nos estudos publicados sobre os polimorfismos -889 C/T (no gene da interleucina 1A), +3954 C/T (no gene da interleucina 1B), -197 A/G (no gene da interleucina 17A) e -7488 T/C (no gene da interleucina 17F) e periodontite.

2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1 Protocolos utilizados

As metanálises seguiram as recomendações do protocolo PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) proposto por Moher et al. (2009) e define as etapas e correto delineamento de pesquisa para metanálises. Para quantificar a qualidade dos estudos sobre os polimorfismos nos gene das IL-17 A e IL-17F, como análise complementar, foi utilizado o protocolo de Nibali et al. (2013) para revisões sistemáticas de estudos de associação genética em periodontia.

2.3.2 Critérios de inclusão

Para serem inclusos nas metanálises sobre o polimorfismo no gene da IL-1 A os estudos deveriam se enquadrar nos seguintes critérios de inclusão: [1] trouxessem avaliação dos polimorfismos anteriormente citados e o risco de desenvolvimento de periodontite; [2] estudos fossem do tipo caso/controle; [3] apresentasse as frequências genotípicas documentadas; [4] o grupo controle fosse composto por indivíduos saudáveis sem histórico prévio de doenças sistêmicas; [5] o diagnóstico de periodontite crônica nos pacientes fosse confirmado por meio de avaliação clínica e/ou achados radiográficos, bem como a determinação dos controles saudáveis; [6] os pacientes alocados na análise alélica ou genotípica não apresentassem desordens sistêmicas tais como diabetes, gravidez ou doença autoimune. Estudos que não trouxessem informações suficientes sobre as frequências alélicas ou genotípicas ou não respeitassem algum ponto dos critérios acima foram excluídos.

2.3.3 Estratégia de busca

Uma busca sistemática foi realizada em diferentes bases de dados médicos e científicos (China *DATABASE*, *Cochrane Library*, *Google Scholar*, *MEDLINE*, *PubMed* e *Web of Science*) para artigos publicados anteriormente a 2 de agosto de 2015 para o polimorfismo -889 C/T no gene da IL-1A usando as seguintes palavras-chave: (*interleukin* ou *cytokine*) e (*polymorphism* ou -889 C/T ou rs1800587) e (*periodontitis* ou *periodontal disease*). Para a busca sistemática sobre estudos abordando o polimorfismo no gene da IL-1B foram utilizadas as palavras-chave: (“*interleukin*” ou “*cytokine*” ou “*interleukin-1B*” ou “IL-1B”) e (“*genetic variation*” ou “rs1143634 *polymorphism*” ou “+3953/4 C/T *polymorphism*”) e (“*periodontitis*” ou “*periodontal*

disease” ou “*chronic periodontitis*”); sendo esta busca sistemática realizada para estudos publicados anteriormente a 29 de setembro de 2016. Por sua vez, a busca sistemática para estudos publicados anteriormente a 25 de agosto de 2016 abordando os polimorfismos nos genes da IL-17A e IL-17F foi realizada utilizando a seguinte combinação de palavras-chave: [(*interleukin* ou *cytokine* ou *interleukin 17A* ou *IL17A* ou *interleukin 17F* ou *IL-17F*) e (*genetic variation* ou *rs2275913 polymorphism* ou *-197A/G polymorphism* ou *rs763780 polymorphism* ou *-7488 T/C polymorphism* ou *His161Arg polymorphism*) e (*periodontitis* ou *periodontal disease* ou *chronic periodontitis* ou *aggressive periodontitis*)].

Não houve restrição de linguagem na estratégia de busca e todas as citações foram analisadas para identificação de possíveis estudos adicionais. Dois investigadores independentes revisaram os resultados da busca sistemática e qualquer desacordo foi resolvido pela consulta a um terceiro autor caso necessário.

2.3.4 Processo de coleta de dados

Dois investigadores independentemente revisaram todos os estudos e extraíram os dados seguindo formulário padronizado que compôs as tabelas de características dos estudos incluídas nos artigos de metanálise. Os dados foram coletados segundo autores, ano de publicação, etnia, modelo de estudo (caso/controle), número de casos e controles, idade ou média de idade e subgrupo de estudo.

2.3.5 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada com o uso do *software Review Manager* (versão 5.2, *RevMan*, *Nordic Cochrane Centre*, *The Cochrane Collaboration*, 2012) e os vieses de publicação com o *software* estatístico *Comprehensive Meta-analysis* (versão 3.3.070, 2014) disponível como na versão teste.

O teste do qui quadrado baseado no teste Q (I^2) foi usado para quantificar a presença de heterogeneidade com avaliação do *Funnel plot* para heterogeneidade os quais estudos fora do limiar do gráfico foram considerados responsáveis pelo elevado valor de I^2 . Quando os valores de I^2 não foram estatisticamente significativos ($I^2 < 50\%$, $P > 0,05$) o modelo de efeito fixo (*Fixed-effect*) foi utilizado para estimar o valor de *Odds Ratio* (OR) agrupado. Por outro lado, quando a heterogeneidade foi significativa ($I^2 > 50\%$, $P < 0,05$) o modelo de efeitos aleatórios (*Random-effects*) foi usado para

cálculo de OR. Em ambos os métodos o valor de $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Seis modelos genéticos foram avaliados considerando “M” como alelo mutado e “m” como alelo selvagem: (I) alelo M *versus* alelo m, (II) alelo m *versus* alelo M, (III) genótipo MM *versus* genótipo mm, (IV) genótipo mm *versus* genótipo MM, (V) genótipo MM *versus* genótipos mm + Mm e (VI) genótipo Mm *versus* genótipos MM + mm.

O teste de *Begg* e o teste de regressão linear de *Egger* ($P < 0,05$) foram usados para avaliar potenciais vieses de publicação das associações obtidas; a assimetria no gráfico de *Funnel plot* para viés de publicação também foi considerada sendo esta assimetria determinada pela não concentração de estudos no lado direito do gráfico. Além disso, uma análise sensível foi realizada para testar a validade dos resultados agrupados por omissão de um estudo incluso por vez para detectar efeitos individuais nas análises gerais.

Todos os dados nos estudos foram dados dicotômicos expressos como OR com 95% de intervalo de confiança (IC) para medir a associação entre os polimorfismos nos genes da IL-1A, 1B, 17A e 17F e periodontite.

3 CAPÍTULO II

3.1 ARTIGO 1

Relação entre o polimorfismo -889 C/T no gene da interleucina-1 A e o risco de periodontite crônica: evidências de uma metanálise com recentes achados publicados

Felipe-Rodolfo-Pereira da Silva^{1,3}, Any-Carolina-Cardoso Guimarães-Vasconcelos², Luiz-Felipe de-Carvalho-França¹, David di-Lenardo¹, Luana-Silva Rodrigues¹, Maria-Luísa-Lima Barreto-do-Nascimento¹, Daniel-Fernando-Pereira Vasconcelos^{1,3,4}

¹ Laboratório de Análise e Processamento Histológico (LAPHIS), Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Piauí, Brasil

² Doutorado em Biotecnologia pela Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil

³ Pós Graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Piauí, Brasil

⁴ Pós Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Piauí, Brasil

Autor Correspondente: Daniel Fernando Pereira Vasconcelos. Universidade Federal do Piauí- UFPI Campus Ministro Reis Veloso Colegiado de Biomedicina Av. São Sebastião, 2819, Reis Veloso Parnaíba - PI - Brasil, 64204-035, vasconcelos@ufpi.edu.br

Resumo

Introdução: Periodontite resulta de uma resposta inflamatória causada pelo acúmulo de microrganismos na bolsa periodontal, diversos fatores estão envolvidos na doença, por exemplo, o polimorfismo -889 C/T no gene da interleucina-1A. Esse estudo objetiva a avaliar a relação entre o polimorfismo e o desenvolvimento da periodontite crônica por meio de uma metanálise baseada em recentes achados publicados.

Material e métodos: Para isso a revisão na literatura foi realizada em bases de dados biomédicos e educacionais (*Cochrane Library, Google Scholar, MEDLINE e PubMed*) para estudos publicados anteriormente a 2 de agosto de 2015, os resumos foram avaliados e a extração de dados realizadas por dois examinadores calibrados. Os cálculos da metanálise foram obtidos através de um software estatístico: Review

manager versão 5.2, com cálculo do índice *Odds Ratio* (OR), heterogeneidade (I^2) e *Funnel plots* com $P < 0,05$.

Resultados: No total, vinte e um estudos caso/controle foram selecionados com 2.174 pacientes com periodontite crônica e 1.756 controles. A metanálise mostrou que o alelo T está ligado com a periodontite crônica (OR= 1,22, 95% IC: 1,09, 1,36, $P = 0,0004$) com um valor decrescente de heterogeneidade ($I^2 = 15\%$, $P = 0,28$) O genótipo TT foi associado aos pacientes com periodontite crônica (OR = 1,40, 95% IC: 1,07, 1,83, $P = 0,01$) Não foi encontrado nenhum viés de publicação nessa metanálise por ausência assimetria no *Funnel plot*.

Conclusão: Essa metanálise com 2.174 pacientes com periodontite crônica e 1.756 controles evidenciou que o polimorfismo -889 C/T está associado ao risco de desenvolvimento da periodontite crônica sem valor significativo para a heterogeneidade na avaliação alélica.

Palavras-chave: Alelos, odds ratio, doença periodontal, citocinas.

Introdução

A periodontite é uma doença crônico-inflamatória causada pelo acúmulo de placa bacteriana no sulco gengival e consequente resposta imune com envolvimento de processo multifatorial (TENG et al., 2003). A doença recebe várias classificações entre elas as mais comuns: periodontite agressiva e periodontite crônica.

Na fisiopatologia da periodontite crônica sérios mediadores inflamatórios contribuem com o dano no sítio periodontal bem como no tecido conjuntivo e perda de osso alveolar (AGRAWAL et al., 2006). Por exemplo, tem sido a interleucina-1 (IL-1) que tem um papel participativo no processo inflamatório encontrado na periodontite crônica com suas variantes fisiológicas: IL-1A, IL-1B e o receptor antagonista IL1.

IL-1 Facilita e amplifica a resposta inflamatória induzindo a adesão de moléculas para o infiltrado celular (GRAVES; COCHRAN, 2003) e a estimulação de monócitos com reabsorção óssea (MANEY; OWENS, 2015). Variantes genéticas no gene da IL-1A foram associadas a um elevado risco na periodontite crônica pelo elevado nível desta citocina no fluido gengival (QUAPPE, JARA, LÓPEZ, 2004), mas os resultados são contraditórios.

Três metanálises avaliando o polimorfismo -889 C/T no gene da IL-1A e periodontite crônica estão disponíveis na literatura (KARIMBUX et al., 2012; MAO et al., 2013; NIKOLOPOULOS et al., 2008) e determinaram a associação deste polimorfismo ao

risco de desenvolvimento da periodontite crônica. Metanálise é uma ferramenta estatística usada por sua capacidade de detectar associação entre estudos e anular a cobertura limitada de estudos de variabilidade genética que estudos mais simples e pequenos trazem.

Contudo, desde 2013 um significativo número de estudos foram publicados (ARMINGOHAR et al., 2014; BOUKORTT et al., 2015; LAVU et al., 2015; PURI et al., 2015; ZUCCARELLO et al., 2014), esses novos dados podem trazer outros resultados existentes na literatura.

Assim, o objetivo deste estudo foi realizar uma metanálise com achados recentes que possam esclarecer a relação entre o polimorfismo-889C/T e o risco de desenvolvimento da periodontite crônica.

Material e métodos

-Fontes de dados

Uma pesquisa sistemática na literatura foi executada por três investigadores na base de dados biomédica e educacional (*Cochran Library, Google Scholar, MEDLINE e PubMed*) para estudos publicados anteriormente a 2 de agosto de 2015 determinado a associação do polimorfismo -889C/T no gene IL-1A e o risco de desenvolvimento de periodontite crônica. A seguinte combinação de palavras chave foi usada na busca sistemática: (*interleukin* ou *cytokine*) e (*polymorphism* ou -889 C/T ou rs1800587) e (*periodontitis* ou *periodontal disease*). Nenhuma restrição de linguagem foi usada na busca e todas as citações dos artigos foram analisadas para identificação de estudos potenciais adicionais.

-Critérios de inclusão

Os artigos foram incluídos nesta metanálise caso preenchessem os seguintes critérios: [1] trouxessem avaliação do polimorfismo citado e o risco de desenvolvimento de periodontite crônica; [2] estudos fossem do tipo caso/controle; [3] apresentasse as frequências genótípicas documentadas; [4] os pacientes inclusos na pesquisa tivessem recebido diagnóstico de periodontite crônica confirmado por meio de achados radiográficos e avaliação clínica. Estudos que não trouxessem informações suficientes sobre as frequências alélicas ou genótípicas ou não respeitassem algum ponto dos critérios acima foram excluídos.

-Extração de dados

Dois investigadores independentemente revisaram todos os estudos e extraíram os dados seguindo formulário padronizado. Os dados foram coletados segundo autores, ano de publicação, etnia, *design* de estudo (caso/controle), número de casos e controles, idade e subgrupo de estudo.

-Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada com uso do *software Review Manager* versão 5.2 e com viés de publicação do *software* estatístico *Comprehensive Meta-analysis* versão 3.3.070 [2014]. O teste do qui-quadrado baseado no teste Q (I^2) foi usado para atestar a presença heterogeneidade. Quando o valor de (I^2) não foi significativo ($I^2 < 50\%$, $P > 0,05$) o modelo de efeito-fixado (*fixed-effect*) foi usado para estimar o valor de *Odds Ratio* (OR). Por outro lado, quando a heterogeneidade foi significativa ($I^2 > 50\%$, $P < 0,05$), o modelo de efeitos aleatórios (*random-effects*) foi usado para calcular o índice (OR). Em ambos os métodos o valor de $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. O teste de *Begg* e o teste de regressão linear de *Egger* foram utilizados para avaliar potencial viés de publicação com assimetria no *Funnel plot*. Todos os dados dos estudos foram dados dicotômicos expressos como índice OR com 95% de intervalos de confiança (IC) para avaliar a associação entre o polimorfismo do gene IL-1A e a periodontite.

Resultados

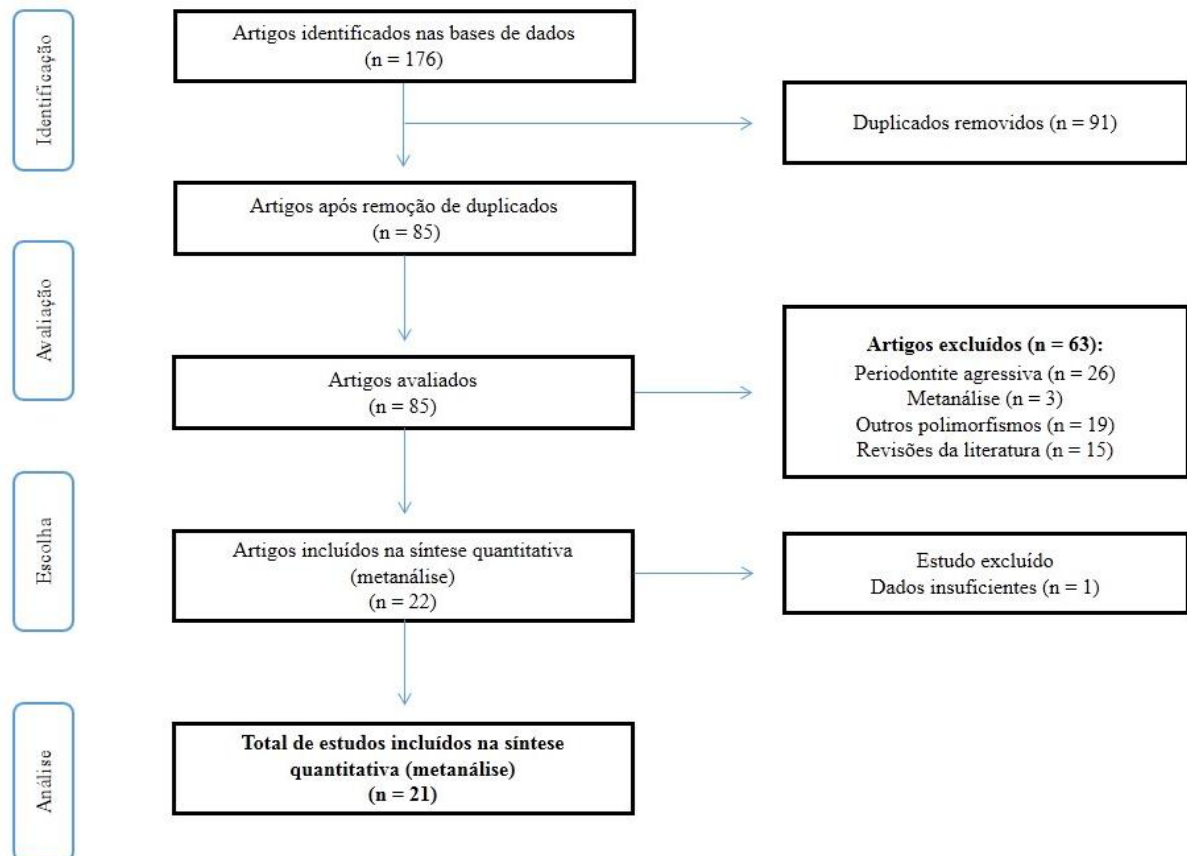
-Características dos estudos incluídos

Vinte e um estudos casos/controle (AL-HEBSHI; SHAMSA; AL-AK'HALI, 2012; ANUSAKSATHIEN et al., 2003; ARMINGOHAR et al., 2014; BOUKORRT et al., 2015; BRAOSI et al., 2012; BRETT et al., 2005; DUAN; ZHANG; ZHANG, 2002; GORE et al., 1998; KARASNEH et al., 2011; LAINE et al., 2001; LÓPEZ; JARA; VALENZUELA, 2005; LÓPEZ, VALENZUELA; JARA, 2009; PURI et al., 2015; ROGERS et al., 2002; SCHULZ; STEIN, 2011; SHIRODARIA et al., 2000; TREVILATTO et al., 2011; VAMSI et al., 2015; WAGNER et al., 2007; ZUCCARELLO et al., 2014) foram identificados no final da pesquisa na literatura e incluídos na metanálise (Figura 1). Os estudos foram publicados no intervalo de 1998 até 2015.

No geral a presente metanálise totaliza 2.174 pacientes com periodontite crônica e 1.756 controles de vários grupos étnicos (Tabela 1). Quatorze estudos foram realizados em caucasianos, quatro em população asiática e dois em população

miscigenada, três estudos realizaram uma avaliação estratificada em fumantes e não fumantes.

Figura 1. Fluxograma de seleção dos estudos inclusos na metanálise



-Resultados estatísticos

A metanálise mostrou que o polimorfismo -889 C/T no gene IL-1A está associado ao elevado risco de desenvolvimento da periodontite crônica. Na avaliação alélica, quatro estudos (ANUSAKSATHIEN et al., 2003; DUAN; ZHANG; ZHANG, 2003; HUANG; ZHANG, 2004; WAGNER et al., 2007) causaram uma elevada heterogeneidade ($I^2 = 71\%$, $P < 0,00001$) e estiveram fora dos limites no gráfico de *Funnel plot*, depois da exclusão, a heterogeneidade diminuiu tornando-se não interferente ($I^2 = 15\%$, $P = 0,28$), apesar disso, esses estudos não causaram heterogeneidade na avaliação genotípica.

Tabela 1. Características gerais dos estudos incluídos na metanálise

PRIMEIRO AUTOR	ANO	ETNIA	MODELO DE ESTUDO	TAMANHO AMOSTRAL	SUBGRUPO DE ESTUDO
Gore	1998	Caucasianos	Caso/Controle	32/32	PC – Saudáveis
Shirodaria	2000	Caucasianos	Caso/Controle	83/27	Fumantes – Não Fumantes
Laine	2001	Caucasianos	Caso/Controle	105/53	Fumantes – Não Fumantes
Duan	2002	Asiáticos	Caso/Controle	47/94	PC – Saudáveis
Rogers	2002	Caucasianos	Caso/Controle	105/60	PC – Saudáveis
Anusaksathien	2003	Asiáticos	Caso/Controle	55/43	PC – Saudáveis
Huang	2004	Asiáticos	Caso/Controle	182/89	PC – Saudáveis
Brett	2005	Caucasianos	Caso/Controle	57/100	PC – Saudáveis
López	2005	Caucasianos	Caso/Controle	330/101	Fumantes – Não Fumantes
Wagner	2007	Caucasianos	Caso/Controle	95/89	PC – Saudáveis
López	2009	Caucasianos	Caso/Controle	224/208	PC – Saudáveis
Karasneh	2011	Caucasianos	Caso/Controle	100/80	PC – Saudáveis
Schulz	2011	Caucasianos	Caso/Controle	72/89	PC – Saudáveis
Trevilatto	2011	Outra	Caso/Controle	69/44	PC – Saudáveis
Al-Hebshi	2012	Caucasianos	Caso/Controle	40/40	PC – Saudáveis
Braosi	2012	Outra	Caso/Controle	130/116	PC – Saudáveis
Armingohar	2014	Caucasianos	Caso/Controle	36/38	PC – Saudáveis
Zuccherello	2014	Caucasianos	Caso/Controle	101/105	PC – Saudáveis
Boukourt	2015	Caucasianos	Caso/Controle	91/128	PC – Saudáveis
Puri	2015	Asiáticos	Caso/Controle	20/20	PC – Saudáveis
Vamsi	2015	Asiáticos	Caso/Controle	200/200	PC – Saudáveis

PC = Periodontite crônica

Os gráficos de *forest plot* do alelo T *versus* o alelo C na análise geral e do alelo C *versus* o alelo T estão mostrados nas figuras 2A e 2B, respectivamente.

O alelo T está significativamente associado a casos (OR = 1,22, 95% IC: 1,09, 1,36, P = 0,0004) e o alelo C ao grupo controle (OR = 0,82, 95% IC: 0,73, 0,92, P = 0,0004). Em ambos os cálculos o modelo estatístico de efeito fixo foi usado para estimar o valor de OR.

Além disso o genótipo TT foi associado aos pacientes com periodontite crônica na análise geral (OR = 1,40, 95% IC: 1,07, 1,83, P = 0,01). A tabela 2 traz todos os modelos genéticos calculados assim como a análise estratificada por etnia, fumantes e não fumantes. A tabela 3 contém dados sobre a heterogeneidade em todos os modelos calculados.

-Análise sensível e viés de publicação

Para avaliar o efeito individual dos estudos, uma análise sensível foi executada omitindo cada estudo para quantificar o impacto do estudo no valor do índice OR. Nenhum estudo individualmente mudou o valor agrupado de OR, sugerindo assim que os resultados desta metanálise foram precisos.

O teste de *Begg* e o teste de regressão linear de *Egger* não revelaram viés de publicação na avaliação alélica ($P = 0,901$ e $P = 0,791$, respectivamente) como mostrado pela ausência de assimetria no *Funnel plot* na figura 3.

Discussão

A interleucina 1A é uma molécula solúvel que participa na resposta do hospedeiro contra agentes microbiológicos guiando células inflamatórias em sítios de infecção, estimulação de monócitos e reabsorção óssea (QUAPPE; JARA; LÓPEZ, 2004). Em um experimento em que células lisadas foram injetadas na cavidade periodontal de ratos em um modelo de peritonite, uma resposta inflamatória por infiltração de neutrófilos ocorreu de maneira dependente de IL-1A (EINGENBROD et al., 2008).

Como uma interleucina que modula respostas imunes por ação de monócitos, a variação desse gene pode predispor um processo inflamatório severo durante a periodontite. Tem sido relatado diversos fatores genéticos variantes no gene IL-1A associado com a periodontite, mas os resultados são inconsistentes.

Essa metanálise foi executada para avaliar a mudança do alelo C para o alelo T dentro da posição -889 do gene e demonstrou o polimorfismo associado ao elevado risco no desenvolvimento da periodontite crônica na avaliação geral com o valor não significativo de heterogeneidade. Tais achados podem ser explicados por estudos publicados há dois anos.

Zucarrello et al., (2014) demonstrou a não associação entre seus resultados sobre o polimorfismo -889 no gene IL-1A na periodontite crônica quando comparado a estudos publicados anteriormente por meio da técnica *Comparison of the Carriage-rate of the Rare Allele* (CRA). Quando comparados por metanálise, os dados são combinados com vários outros resultados aumentando o poder de associação.

O polimorfismo -889 C/T nesta citocina também foi relatado em outros processos inflamatório tais como o desenvolvimento de dermatite irritativa de contato (LANDECK et al., 2012). Uma significativa associação entre esse polimorfismo e elevados níveis de IL-1A em periodontite agressiva localizada foi identificada previamente (HAVEMOSE-POULSEN et al., 2007), mas não no risco de câncer de pulmão em população chinesa (genótipo TT – OR = 0,809, 95% CI: 0,18, 3,56, $P = 0,779$) (BAI et al., 2013).

Na avaliação estratificada por etnia o alelo T foi associado ao risco de desenvolvimento da periodontite crônica na população caucasiana (OR = 1,33, 95%

IC: 1,17, 1,50, $P < 0,000001$). Esse achado contradiz outros estudos realizados na população caucasiana feitos na Austrália (ROGERS et al., 2002) e Algéria (BOUKORRT et al., 2015).

Uma metanálise anterior avaliou o polimorfismo -889 C/T no gene da IL-1A em adultos brancos com periodontite crônica e mostrou associação entre a variação genética e a doença (KARIMBUX et al., 2012), contudo os resultados desse estudo são inconsistentes por causa da elevada heterogeneidade. Heterogeneidade prova o quanto os estudos são inconsistentes o que configura como importante fato para metanálises pois a presença ou ausência da heterogeneidade pode afetar o modelo estatístico aplicado aos dados (HIGGINS et al., 2003).

Embora um estudo demonstre que não há associação entre os genótipos TT e CC em pacientes com a doença quando comparados ao controles na população Norueguesa (ARMINGOHAR et al., 2014), esses dois genótipos são associados com pacientes com periodontite crônica na presente metanálise (Tabela 2).

Esse polimorfismo foi descrito em associação com maior frequência em pacientes com periodontite crônica (HUANG; ZHANG, 2004). Na avaliação sobre a etnia Asiática, os resultados indicaram que o polimorfismo -889 não esteve associado com a periodontite crônica em todos os modelos genéticos calculados (Tabela 2). Esse dado pode ser enviesado pela elevada heterogeneidade e uso de efeitos aleatórios (*Random-effects*) como modelo estatístico para avaliação estratificada.

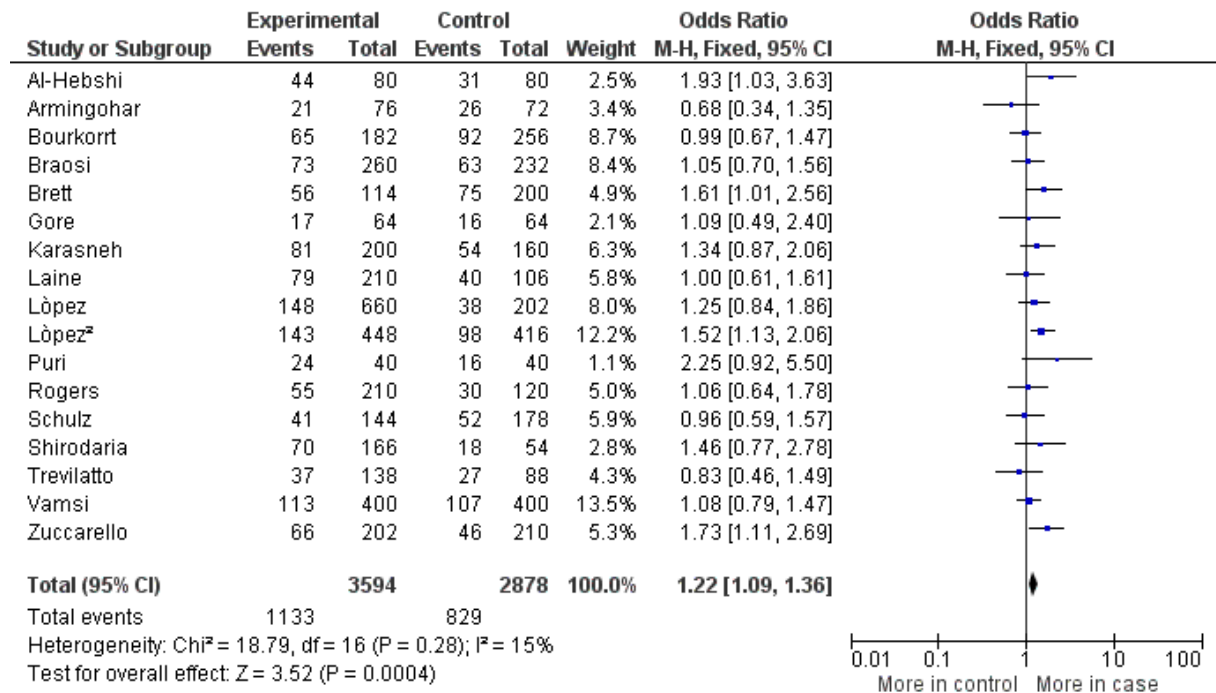
Em população miscigenada, a metanálise não mostrou associação significativa entre o polimorfismo -889 e o gene IL-1A e o risco de periodontite crônica na avaliação T versus C (OR = 0,97, 95% IC: 0,70, 1,35, $P = 0,87$), corroborando dados anteriormente encontrados sobre a população Brasileira (TREVILATTO et al., 2011). A variação racial na população Brasileira pode explicar os diferentes resultados publicados em outro estudo sobre polimorfismo (BRAOSI et al., 2012).

A avaliação sobre esse polimorfismo em fumantes e não fumantes foi realizada e não indicou associação entre a periodontite crônica. No entanto, o limitado número de estudos pode representar um viés nessa metanálise (LAINE et al., 2001; LÓPEZ; JARA; VALENZUELA, 2002; SHIRODARIA et al., 2000).

Meisel et al., (2002) sugeriram uma ligação entre as medidas de extensão de bolsas periodontais em fumantes com genótipo positivo para o polimorfismo no gene IL-1A.

Figura 2. A *Forest plot* de comparação para o alelo T no polimorfismo -889 C/T no gene da IL-1A e o risco de periodontite crônica. **B** *Forest plot* de comparação para o alelo C no polimorfismo -889 C/T no gene da IL-1A e o risco de periodontite crônica

A



B

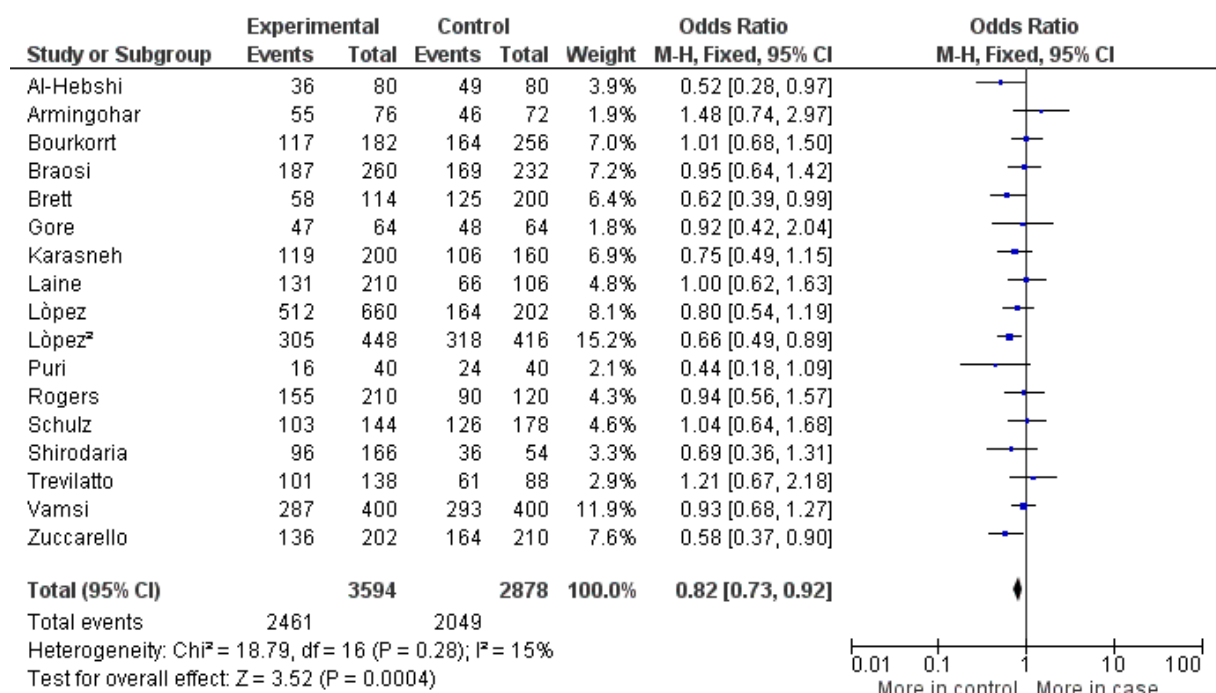


Tabela 2. Metanálise do polimorfismo -889 C/T no gene da IL-1A e o risco de periodontite crônica (modelos alélicos e genotípicos)

Variável	Comparação (n)	Caso/ Controle	M versus m		m versus M	
			OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
-889 C/T						
Geral	21	2.174/ 1.756	1,22 (1,09, 1,36)	0,0004	0,82 (0,73, 0,92)	0,0004
Caucasianos	14	1.441/ 1.119	1,33 (1,17, 1,50)	<0,00001	0,76 (0,67, 0,86)	<0,0000 1
Asiáticos	5	504/446	1,70 (0,67, 4,33)	0,27	0,59 (0,23, 1,50)	0,27
Miscigenada	2	199/160	0,97 (0,70, 1,35)	0,87	1,03 (0,74, 1,43)	0,87
Fumantes	3	229/165	1,02 (0,73, 1,41)	0,92	0,93 (0,66, 1,30)	0,66
Não Fumantes	3	289/170	1,28 (0,94, 1,74)	0,12	0,78 (0,57, 1,07)	0,12
Variável	Comparação (n)	Caso/ Controle	MM versus Mm/mm		mm versus Mm/MM	
			OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
-889 C/T						
Geral	21	2.174/ 1.756	1,22 (0,95, 1,58)	0,12	0,77 (0,67, 0,89)	0,0005
Caucasianos	14	1.441/ 1.119	1,09 (0,80, 1,48)	0,60	0,71 (0,60, 0,84)	<0,0001
Asiáticos	5	504/446	1,23 (0,59, 2,58)	0,58	0,53 (0,17, 1,66)	0,27
Miscigenada	2	199/160	0,98 (0,41, 2,32)	0,96	1,04 (0,68, 1,58)	0,86
Fumantes	3	229/165	0,75 (0,30, 1,86)	0,54	0,84 (0,55, 1,27)	0,40
Não Fumantes	3	289/170	0,77 (0,35, 1,72)	0,52	0,62 (0,42, 0,93)	0,02
Variável	Comparação (n)	Caso/ Controle	MM versus mm		mm versus Mm	
			OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
-889 C/T						
Geral	21	2.174/ 1.756	1,40 (1,07, 1,83)	0,01	0,78 (0,67, 0,91)	0,002
Caucasianos	14	1.441/ 1.119	1,67 (1,25, 2,21)	0,0004	0,74 (0,62, 0,88)	0,0006
Asiáticos	5	504/446	1,25 (0,59, 2,66)	0,56	0,53 (0,17, 1,71)	0,29
Miscigenada	2	199/160	0,96 (0,40, 2,33)	0,93	1,04 (0,67, 1,60)	0,86
Fumantes	3	229/165	0,83 (0,32, 2,15)	0,71	0,80 (0,52, 1,23)	0,31
Não Fumantes	3	289/170	1,11 (0,47, 2,64)	0,81	0,59 (0,39, 0,89)	0,01

OR = Odds Ratio, IC = Intervalo de confiança, m = alelo selvagem, M = alelo mutado, Miscigenada = Americanos e outras etnias, Valores em negrito = Modelo de efeitos aleatórios utilizados

Tabela 3. Valor de heterogeneidade para todos os modelos alélicos e genotípicos na metanálise

Variável	Comparaçã o (n)	Caso/Control e	M versus m		m versus M		MM versus mm	
			I ² (%)	P	I ² (%)	P	I ² (%)	P
-889 C/T								
Geral	21	2.174/1.756	15	0,28	15	0,28	23	0,19
Caucasiana	14	1.441/1.119	28	0,16	33	0,11	34	0,11
Asiática	5	504/446	88	<0,000 1	88	<0,000 1	NA	-
Miscigenada	2	199/160	0	0,52	0	0,52	0	0,48
Fumantes	3	229/165	0	0,55	0	0,52	0	0,58
Não Fumantes	3	289/170	0	0,78	0	0,78	0	0,81

Variável	Comparaçã o (n)	Caso/Control e	MM versus Mm/mm		mm versus Mm/MM		mm versus Mm	
			I ² (%)	P	I ² (%)	P	I ² (%)	P
-889 C/T								
Geral	21	2.174/1.756	23	0,19	0	0,65	0	0,77
Caucasiana	14	1.441/1.119	0	0,55	0	0,62	0	0,83
Asiática	5	504/446	NA	-	90	<0,00001	90	<0,0000 1
Miscigenada	2	199/160	0	0,53	0	0,59	0	0,69
Fumantes	3	229/165	0	0,69	0	0,53	0	0,61
Não Fumantes	3	289/170	0	0,82	0	0,90	0	0,87

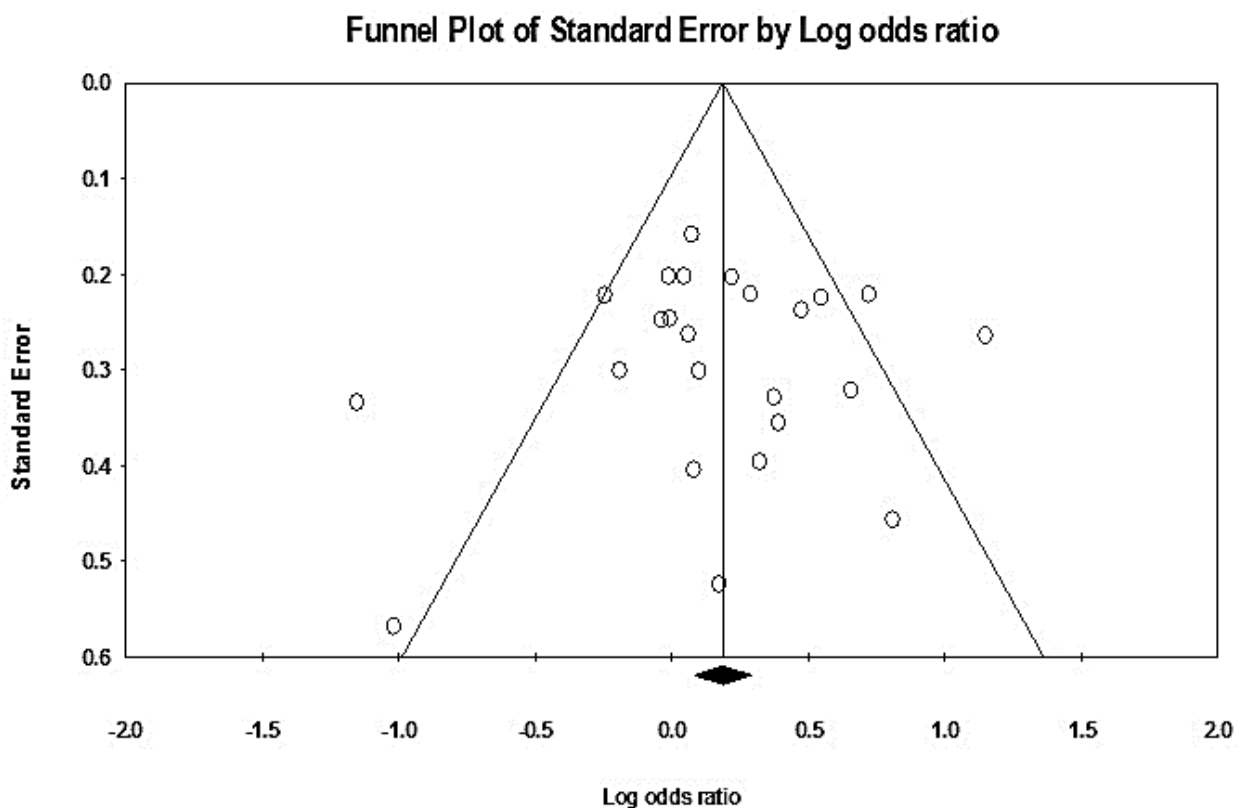
I² = Heterogeneidade, m = alelo selvagem, M = alelo mutado, Miscigenada = Americanos e outras etnias, NA = Não aplicável

Além disso, em outro estudo foi provado que o hábito de fumar aumenta a perda de inserção dental independente do genótipo IL-1A, e a interação entre o genótipo e o tabagismo causa um elevado risco de periodontite (MEISEL et al., 2004).

Nossos dados demonstraram como o alelo T predispõe ao desenvolvimento da periodontite crônica. Tais dados tornam-se mais significativos quando comparados com outro estudo com o mesmo polimorfismo, polimorfismo -889 C/T no IL-1A em

pacientes com peri-implantite ($P = 0,024$) o qual mostrou um valor elevado de associação ($OR = 10,9$) para indivíduos que apresentaram periodontite (GARCÍA-DELANEY et al., 2015). A associação dessas informações em conjunto com outros dados (CHAMBRONE et al., 2014; KARIMBUX et al., 2012; MAO et al., 2013; NIKOLOPOULOS et al., 2008; VASCONCELOS et al., 2012) pode fornecer um alerta para implantes cirúrgicos em indivíduos com histórico anterior de periodontite.

Figura 3. *Funnel plot* para viés de publicação na metanálise sobre o polimorfismo -889 C/T no gene da IL-1A e o risco de periodontite crônica



Embora esses resultados sejam robustos e essa metanálise seja a primeira a avaliar somente este polimorfismo; a metanálise apresentou algumas limitações.

Primeiro, na população asiática, a metanálise foi interferida por uma elevada heterogeneidade sendo usado modelos de efeitos aleatórios como modelo estatístico. O erro estatístico do Tipo 1 pode estar causando os resultados encontrados. Segundo, os artigos publicados após a última metanálise identificada na literatura (MAO et al., 2013) trouxe um impacto elevado para quantificar a associação entre esse polimorfismo e a periodontite com valor reduzido de heterogeneidade. No entanto mais estudos são necessários para concluir a influência do polimorfismo -889 C/T no

gene IL-1A na periodontite crônica, especialmente com foco em informações sobre o gênero dos pacientes inclusos no estudo.

Em conclusão, esta metanálise composta por vinte e um estudos em vários grupos étnicos totalizando 2.174 pacientes com periodontite crônica e 1.756 controles, mostrando o alelo T no -889 C/T foi associado ao risco do desenvolvimento da periodontite (OR = 1,22, 95% IC: 1,09, 1,36, P = 0,0004) e o alelo C foi associado ao grupo controle (OR = 0,82, 95% IC: 0,73, 0,92, P = 0,0004), ambos na análise geral.

Referências Bibliográficas

AGRAWAL, A. A. et al. Assessment of single nucleotide polymorphism at IL-1A+ 4845 and IL-1B+ 3954 as genetic susceptibility test for chronic periodontitis in Maharashtrian ethnicity. *Journal of periodontology*, v. 77, n. 9, p. 1515-1521, 2006.

AL-HEBSHI, N. N.; SHAMSAN, A. A.; AL-AK'HALI, M. S. Interleukin-1 two-locus haplotype is strongly associated with severe chronic periodontitis among Yemenis. *Molecular biology international*, v. 2012, 2012.

ANUSAKSATHIEN, O. et al. Distribution of Interleukin-1 β + 3954 and IL-1 α -889 genetic variations in a Thai population group. *Journal of periodontology*, v. 74, n. 12, p. 1796-1802, 2003.

ARMINGOHAR, Z. et al. Polymorphisms in the Interleukin-1 Gene Locus and Chronic Periodontitis in Patients with Atherosclerotic and Aortic Aneurysmal Vascular Diseases. *Scandinavian journal of immunology*, v. 79, n. 5, p. 338-345, 2014.

BAI, Lu et al. Genetic single-nucleotide polymorphisms of inflammation-related factors associated with risk of lung cancer. *Medical Oncology*, v. 30, n. 1, p. 414, 2013.

BOUKORTT, K. N. et al. Association analysis of the IL-1 gene cluster polymorphisms with aggressive and chronic periodontitis in the Algerian population. *Archives of oral biology*, v. 60, n. 10, p. 1463-1470, 2015.

BRAOSI, A. P. R. et al. Analysis of IL1 gene polymorphisms and transcript levels in periodontal and chronic kidney disease. *Cytokine*, v. 60, n. 1, p. 76-82, 2012.

BRETT, P. M. et al. Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *Journal of dental research*, v. 84, n. 12, p. 1149-1153, 2005.

CHAMBRONE, L. et al. Association of-1082 interleukin-10 gene polymorphism in Peruvian adults with chronic periodontitis. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, v. 19, n. 6, p. e569, 2014.

DUAN, H.; ZHANG, J.; ZHANG, Y. The association between IL-1 gene polymorphisms and susceptibility to severe periodontitis. *Hua xi kou qiang yi xue za zhi= Huaxi kouqiang yixue zazhi= West China journal of stomatology*, v. 20, n. 1, p. 48-51, 2002.

EIGENBROD, T. et al. Cutting edge: critical role for mesothelial cells in necrosis-induced inflammation through the recognition of IL-1 α released from dying cells. **The Journal of Immunology**, v. 181, n. 12, p. 8194-8198, 2008.

GARCÍA-DELANEY, C. et al. Clinical significance of interleukin-1 genotype in smoking patients as a predictor of peri-implantitis: A case-control study. **Medicina oral, patología oral y cirugía bucal**, v. 20, n. 6, p. e737, 2015.

GORE, E. A. et al. Interleukin-1 β + 3953 allele 2: association with disease status in adult periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 25, n. 10, p. 781-785, 1998.

GRAVES, D. T.; COCHRAN, D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. **Journal of periodontology**, v. 74, n. 3, p. 391-401, 2003.

HAVEMOSE-POULSEN, A. et al. Polymorphisms within the IL-1 gene cluster: effects on cytokine profiles in peripheral blood and whole blood cell cultures of patients with aggressive periodontitis, juvenile idiopathic arthritis, and rheumatoid arthritis. **Journal of periodontology**, v. 78, n. 3, p. 475-492, 2007.

HIGGIN, J. P. et al. Measuring inconsistency in meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 327, p. 557-560, 2003.

HUANG, H. Y.; ZHANG, J. C. Investigation on the association of interleukin-1 genotype polymorphism with chronic periodontitis. **Hua xi kou qiang yi xue za zhi= Huaxi kouqiang yixue zazhi= West China journal of stomatology**, v. 22, n. 5, p. 415-419, 2004.

KARASNEH, J. A. et al. Investigation of the interleukin-1 gene cluster polymorphisms in Jordanian patients with chronic and aggressive periodontitis. **archives of oral biology**, v. 56, n. 3, p. 269-276, 2011.

KARIMBUX, N. Y. et al. Interleukin-1 gene polymorphisms and chronic periodontitis in adult whites: a systematic review and meta-analysis. **Journal of periodontology**, v. 83, n. 11, p. 1407-1419, 2012.

LAINE, M. L. et al. Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. **Journal of Dental Research**, v. 80, n. 8, p. 1695-1699, 2001.

LANDECK, L. et al. IL1A-889 C/T gene polymorphism in irritant contact dermatitis. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 27, n. 8, p. 1040-1043, 2013.

LAVU, V. et al. Polymorphic regions in the interleukin-1 gene and susceptibility to chronic periodontitis: a genetic association study. **Genetic testing and molecular biomarkers**, v. 19, n. 4, p. 175-181, 2015.

LÓPEZ, N. J.; JARA, L.; VALENZUELA, C. Y. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. **Journal of Periodontology**, v. 76, n. 2, p. 234-243, 2005.

LÓPEZ, N. J.; VALENZUELA, C. Y.; JARA, L.. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms associated with periodontal disease in type 2 diabetes. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 10, p. 1590-1598, 2009.

MANEY, P.; OWENS, J. L. Interleukin polymorphisms in aggressive periodontitis: A literature review. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 19, n. 2, p. 131, 2015.

MAO, M. et al. Interleukin-1 α - 899 (+ 4845) C \rightarrow T polymorphism increases the risk of chronic periodontitis: Evidence from a meta-analysis of 23 case-control studies. **Gene**, v. 532, n. 1, p. 121-126, 2013.

MEISEL, P. et al. Dose-effect relation of smoking and the interleukin-1 gene polymorphism in periodontal disease. **Journal of periodontology**, v. 75, n. 2, p. 236-242, 2004.

MEISEL, P. et al. Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1 β , IL-1 α , and IL-1RN) in patients with periodontal disease. **Journal of periodontology**, v. 73, n. 1, p. 27-32, 2002.

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**, v. 35, n. 9, p. 754-767, 2008.

PURI, K. et al. Association of interleukin-1 α (-889) gene polymorphism in patients with generalized aggressive and chronic periodontitis. **Dental research journal**, v. 12, n. 1, p. 76, 2015.

QUAPPE, L.; JARA, L.; LÓPEZ, N. J. Association of interleukin-1 polymorphisms with aggressive periodontitis. **Journal of periodontology**, v. 75, n. 11, p. 1509-1515, 2004.

ROGERS, M. A. et al. Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants?. **Journal of periodontal research**, v. 37, n. 1, p. 37-41, 2002.

SCHULZ, S. et al. Single nucleotide polymorphisms in interleukin-1 gene cluster and subgingival colonization with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in patients with aggressive periodontitis. **Human immunology**, v. 72, n. 10, p. 940-946, 2011.

SHIRODARIA, S. et al. Polymorphisms in the IL-1A gene are correlated with levels of interleukin-1 α protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. **Journal of Dental Research**, v. 79, n. 11, p. 1864-1869, 2000.

TENG, H.-C. et al. Lifestyle and psychosocial factors associated with chronic periodontitis in Taiwanese adults. **Journal of periodontology**, v. 74, n. 8, p. 1169-1175, 2003.

TREVILATTO, P. C. et al. Association of IL1 gene polymorphisms with chronic periodontitis in Brazilians. **Archives of oral biology**, v. 56, n. 1, p. 54-62, 2011.

VASCONCELOS, D. F. P. et al. Lymphotoxin-Alpha Gene Polymorphism. **ISRN dentistry**, v. 2012, 2012.

WAGNER, J. et al. Prevalence of OPG and IL-1 gene polymorphisms in chronic periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 34, n. 10, p. 823-827, 2007.

ZUCCARELLO, D. et al. Role of familiarity versus interleukin-1 genes cluster polymorphisms in chronic periodontitis. **Gene**, v. 535, n. 2, p. 286-289, 2014.

4 CAPÍTULO III

4.1 ARTIGO 2

Associação entre o polimorfismos rs1143634 na interleucina 1B e periodontite crônica: resultados de uma metanálise composta por 54 estudos caso/controle

Felipe Rodolfo Pereira da Silva^{1,3}, Any Carolina Cardoso Guimarães Vasconcelos², Luiz Felipe de Carvalho França¹, David Di Lenardo¹, Joaquina dos Santos Carvalho¹, Daniel Fernando Pereira Vasconcelos^{1,3,4*}.

¹ Laboratório de Análise e Processamento Histológico (LAPHIS), Universidade Federal do Piauí, Parnaíba-Piauí, Brasil;

² Escola de Medicina, Instituto de Educação Superior do Vale do Parnaíba (IESVAP), Parnaíba-Piauí, Brasil;

³ Pós Graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Piauí, Brasil

⁴ Pós Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Piauí, Brasil

Running Title: Interleukin 1B and chronic periodontitis

Endereço de correspondência:

Daniel Fernando Pereira Vasconcelos

Universidade Federal do Piauí – UFPI;

Campus Ministro Reis Veloso;

Colegiado de Biomedicina;

Av. São Sebastião, 2819, Reis Veloso;

Parnaíba - PI – Brasil, 64204-035.

Phone: +55 86 3323 5297

Fax: +55 86 3323 5444

E-mail: vasconcelos@ufpi.edu.br

Palavras-chave: variação genética; doença periodontal; citocinas; Odds Ratio, alelo

Resumo

Objetivo: Diversos fatores estão envolvidos na periodontite com resposta do hospedeiro por meio de citocinas bem como pela influência de polimorfismos em genes de citocinas. Dentre os polimorfismos nos genes de citocinas associados com periodontite existe o polimorfismo rs1143634 no gene da interleucina-1B. A literatura traz vários estudos com abordagem sobre a associação entre o polimorfismo e a doença, no entanto, os resultados permaneceram contraditórios. Metanálises anteriores objetivaram esclarecer esta associação, no entanto outros estudos estão disponíveis na literatura os quais podem trazer novas informações neste campo. Assim, este estudo objetivou avaliar o polimorfismo rs1143634 no gene da interleucina-1B, um gene de citocina, e o risco de periodontite crônica com a realização de uma metanálise baseada em estudos atuais na literatura com foco na etnia.

Métodos: Uma revisão na literatura foi realizada em diversas bases de dados para estudos publicados anteriormente a 29 de setembro de 2016. Os dados foram extraídos por dois examinadores calibrados e os cálculos da metanálise foram obtidos por meio dos *softwares* estatísticos *Review Manager* versão 5.2 com cálculo de *Odds Ratio* (OR) e *Funnel plot* ($P < 0,05$) para heterogeneidade, e *Comprehensive Meta-analysis* versão 3.3.070 para quantificar o viés de publicação por meio dos testes de *Egger* e *Begg*.

Resultados: 54 estudos caso/controle compuseram a metanálise. O alelo T foi associado aos pacientes caso (OR = 1,35, 95% CI: 1,24, 1,48, $P < 0,00001$) na análise geral. A análise estratificada mostrou que o polimorfismo rs1143634 teve associação significativa com a doença em populações Caucasiana, Asiática e miscigenada, mas não na etnia Africana ($P > 0,05$). Nenhum viés de publicação foi encontrado na análise alélica.

Conclusões: Esta metanálise com 9.376 pacientes em 54 estudos caso/controle revelou que o polimorfismo rs1143634 foi associado ao elevado risco de periodontite crônica na análise geral bem como em Caucasianos, Asiáticos e população miscigenada.

Introdução

Doenças periodontais são um grupo de desordens inflamatórias que afetam os tecidos ao redor dos dentes como resposta a presença de biofilme nos sítios subgengivais

(CHAPPLE; MILWARD; DIETRICH, 2007). A doença atingiu cerca de 64,7 milhões de pessoas nos Estados Unidos da América entre 2009 e 2012 (EKE et al., 2015) com considerável prevalência no norte da Itália (AIMETTI et al., 2015) e em população Brasileira (SUSIN; HAAS; ALBANDAR, 2014).

As doenças periodontais recebem diversas classificações clínicas os quais as formas crônica e agressiva são as mais comuns na odontologia. Periodontite crônica é caracterizada pela resposta imune do hospedeiro contra a infecção bacteriana com destruição dos tecidos ao redor dos dentes de forma irreversível (HONG et al., 2015). Embora as bactérias sejam responsáveis por iniciar a reação inflamatória no periodonto, a resposta do hospedeiro tem importante papel na destruição tecidual mediada por citocinas (GRAVES, 2008). Sendo uma doença multifatorial, diversos polimorfismos genéticos em genes de citocinas foram indicados por predispor ao elevado dano nos sítios periodontais evidenciando o papel da variabilidade genética na patogênese da periodontite crônica (LI et al., 2012; SCAREL-CAMINAGA et al., 2004; ZHANG et al., 2014).

Dentre as citocinas estudadas na fisiopatologia da periodontite crônica tem-se a interleucina (IL) 1B. Esta citocina é codificada por um *cluster* que expressa três diferentes moléculas inflamatórias: IL-1A, IL-1B e o receptor antagonista da IL-1 (GARLANDA; DINARELLO; MANTOVANI, 2013). IL-1B promove destruição tecidual incluindo intensa perda óssea alveolar, especialmente quando estimulada por leucotixinas liberadas de bactérias gram-negativas envolvidas na periodontite crônica (AUERKARI et al., 2013). Além disso, IL-1B é produzida por diversos tipos celulares incluindo monócitos, macrófagos, células epiteliais e fibroblastos com modificação da resposta do hospedeiro para o dano tecidual e inflamação (BIGILDEEV et al., 2013). Polimorfismos na IL-1B tais como rs16944 e rs1143634 foram relatadas com a forma agressiva da periodontite (HU et al., 2015; MASAMATTI et al., 2012). Por outro lado, os resultados sobre o polimorfismo rs1143634 e sua influência sobre a periodontite crônica são contraditórios e necessitam de uma melhor abordagem. Uma metanálise anterior com 36 estudos caso/controle indicou forte associação entre o polimorfismo citado com periodontite crônica (DENG et al., 2013). Porém, desde esse ano, vários outros estudos foram publicados em populações Caucásica (BALDINI et al., 2013), Africana (WAGAIYU et al., 2014; WAGAIYU et al., 2015) e Brasileira (BRAOSI et al., 2012; MENDONÇA et al., 2015), bem como em outras populações (ISAZA-GUZMÁN

et al., 2016) os quais podem trazer outros resultados com maior poder de associação. Assim, uma melhor avaliação destes dados e etnia é requerida.

Além disso, embora haja uma outra metanálise publicada apenas há um ano com informações sobre o polimorfismo rs1143634 na IL-1B e periodontite crônica em população asiática (MA et al., 2015), uma nova metanálise com mais informações sobre outra etnias composta por recentes estudos não está disponível na literatura.

Portanto, este estudo objetivou avaliar a influência do polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de desenvolvimento de periodontite crônica por meio de uma metanálise com abordagem étnica incluindo resultados de recentes dados disponíveis na literatura.

Materiais e Métodos

Esta metanálise seguiu as recomendações do protocolo PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) (MOHER et al., 2009).

Critérios de escolha

Os artigos foram inclusos nessa recente metanálise caso se encontrassem em todos os seguintes critérios: (1) Avaliassem o polimorfismo citado e o risco de desenvolvimento de periodontite crônica; (2) Estudos fossem do tipo caso/controle; (3) O grupo controle fosse composto por indivíduos saudáveis sem histórico prévio de doenças sistêmicas; (4) A frequência genotípica fosse documentada; (5) O diagnóstico de periodontite crônica nos pacientes fosse confirmado por meio de avaliação clínica e/ou achados radiográficos, bem como a determinação dos controles saudáveis. Estudos que não trouxessem informações suficientes sobre as frequências alélicas e genotípicas ou que não respeitaram qualquer um dos pontos acima citados foram excluídos.

Estratégia de busca

Uma busca sistemática na literatura foi realizada por três investigadores em bancos de dados biomédicos e educacionais (China *DATABASE*, *Cochrane Library*, *Google Scholar*, *MEDLINE* e *PubMed*) para estudos publicados anteriormente a 29 de setembro de 2016 e abordando a associação do polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de desenvolvimento de periodontite. As seguintes palavras chaves combinadas foram usadas na busca na literatura: (“*interleukin*” ou “*cytokine*” ou “*interleukin-1B*” ou “IL-1B”) e (“*genetic variation*” ou “rs1143634 *polymorphism*” ou “+3953/4 C/T *polymorphism*”) e (“*periodontitis*” ou “*periodontal disease*” ou “*chronic*

periodontitis”). Nenhuma restrição de linguagem foi usada na busca e todas as citações dos estudos foram escanadas para identificação de possíveis estudos adicionais. Dois investigadores independentes reviram os resultados da busca sistemática e qualquer desacordo foi resolvido pela consulta a um terceiro autor quando necessário.

Processo de coleta dos dados

Dois investigadores independentes revisaram todos os estudos e extraíram os dados usando um formulário padronizado. Os dados foram coletados sobre os autores, ano de publicação, etnia, modelo de estudo (caso, controle), número de casos e controles, média de idade e subgrupos de estudo.

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada com o uso do *software Review Manager* (versão 5.2, *RevMan, Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2012*) e os viés de publicação com o *software* estatístico *Comprehensive Meta-analysis* (versão 3.3.070, 2014) disponível como na versão teste.

O teste do qui quadrado baseado no teste Q (I^2) foi usado para quantificar a presença de heterogeneidade com avaliação do *Funnel plot* para heterogeneidade. Quando os valores de I^2 não foram estatisticamente significativos ($I^2 < 50\%$, $P > 0,05$) o modelo de efeito fixo foi utilizado para estimar o valor de *Odds Ratio* (OR) agrupado. Por outro lado, quando a heterogeneidade foi significativa ($I^2 > 50\%$, $P < 0,05$) o modelo de efeitos aleatórios foi usado para cálculo de OR. Em ambos os métodos o valor de $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Seis modelos genéticos foram avaliados considerando “M” como alelo mutado e “m” como alelo selvagem: (I) alelo M *versus* alelo m, (II) alelo m *versus* alelo M, (III) genótipo MM *versus* genótipo mm, (IV) genótipo mm *versus* genótipo MM, (V) genótipo MM *versus* genótipos mm + Mm e (VI) genótipo Mm *versus* genótipos MM + mm. O teste de *Begg* e o teste de regressão linear de *Egger* ($P < 0,05$) foram usados para avaliar potenciais viés de publicação das associações tragas e a assimetria no gráfico de *Funnel plot* também foi considerada. Além disso, uma análise sensível foi realizada para testar a validade dos resultados agrupados por omissão de um estudo incluso por vez para detectar efeitos individuais nas análises gerais. Todos os dados nos estudos foram dados dicotômicos expressos como OR com 95% de intervalo de confiança (IC) para medir a associação entre o polimorfismo no gene da IL-1B e periodontite crônica.

Resultados

Características dos estudos

55 estudos caso/controle forma identificados ao final da busca na literature, um estudo foi excluído da análise devido dados insuficientes (KORNMAN et al., 1997). Assim, cinquenta estudos foram incluídos na metanálise (AL-HEBSHI et al., 2012; AMIRISETTY et al., 2015; ANUSAKSATHIEN et al., 2003; ARCHANA et al., 2012; ARMINGOHAR et al., 2014; BALDINI et al., 2013; BASCONES-MARTINEZ et al., 2012; BOUKORRT et al., 2015; BRAOSI et al., 2012; BRETT et al., 2005; DAING et al., 2015; DROZDZIK et al., 2006; DUAN et al., 2002; ROGERS et al., 2002; FERREIRA et al., 2008; GALBRAITH et al., 1999; LAINE et al., 2001; LIN; PAN; YIN, 2003; GARLET et al., 2012; GAYATHRI et al., 2011; GONÇALVES et al., 2009; GORE et al., 1998; GUSTAFSSON et al., 2006; HAN; CHEN; LI, 2009; HUANG; ZHANG, 2004; ISAZA-GUZMÁN et al., 2016; JANSON et al., 2006; KAARTHIKEYAN et al., 2009; KARASNEH et al., 2011; KOBAYASHI et al., 2007; KOBAYASHI et al., 2009; LAVU et al., 2015; LIN et al., 2003; LÓPEZ; JARA; VALENZUELA, 2005; LÓPEZ; VALENZUELA; JARA, 2009; MA et al., 2011; MASAMATTI, et al., 2012; MENDONÇA et al., 2015; MOREIRA et al., 2005; AGRAWAL et al., 2006; PRAKASH; VICTOR, 2010; SAKELLARI et al., 2003; SAKELLARI, 2006; SCHULZ et al., 2011; SHETE et al., 2010; SOGA et al., 2003; TIAN et al., 2006; TREVILATTO et al., 2003; TREVILATTO et al., 2011; WAGAIYU et al., 2014; WAGAIYU et al., 2015; WAGNER et al., 2007; YANG et al., 2011; ZHONG et al., 2002; ZUCCARRELLO et al., 2014.) como informado na figura 1 e publicados no intervalo de 1998 a 2016 (Tabela 1). No geral, esta recente metanálise incluiu 4.924 pacientes com periodontite crônica representados pelo grupo caso e 4.452 pacientes saudáveis encontrados no grupo controle. Os estudos foram realizados em vários grupo étnicos: vinte e um deles foram realizados em Caucasianos, vinte e dois em Asiáticos, nove em população Miscigenada e dois em Africanos.

Metanálise

A metanálise mostrou que o polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B está associado ao elevado risco de desenvolvimento de periodontite crônica. Na avaliação alélica, treze estudos (ARCHANA et al., 2012; BASCONES-MARTÍNEZ et al., 2012; BALDINI et al., 2013; DUAN et al., 2002; HUANG; ZHANG, 2004; ISAZA-GUZMÁN et al., 2016; LÓPEZ; JARA; VALENZUELA, 2005; LÓPEZ; VALENZUELA; JARA, 2009;

PRAKASH; VICTOR, 2010; SHETE et al., 2010; WAGAIYU et al., 2014; WAGNER et al., 2007; YANG et al., 2011) causaram elevada heterogeneidade ($I^2 = 70\%$, $P < 0,00001$ para ambas as avaliações alélicas) e estiveram fora do limite no gráfico de *Funnel plot* (Figura 2). Após exclusão houve decréscimo no valor de heterogeneidade ($I^2 = 27\%$, $P = 0,06$).

Estes estudos não causaram heterogeneidade nas avaliações genotípicas; portanto, eles permaneceram na metanálise. O gráficos de *Forest plot* para o alelo T versus o alelo C na análise geral e para o alelo C versus o alelo T foram mostrados na figuras 3 e 4, respectivamente. O alelo T foi significativamente associado aos pacientes caso ($OR = 1,35$, 95%, IC: 1,24, 1,48, $P < 0,00001$) e o alelo C foi significativamente associado aos grupo controle ($OR = 0,74$, 95% IC: 0,68, 0,81, $P < 0,00001$).

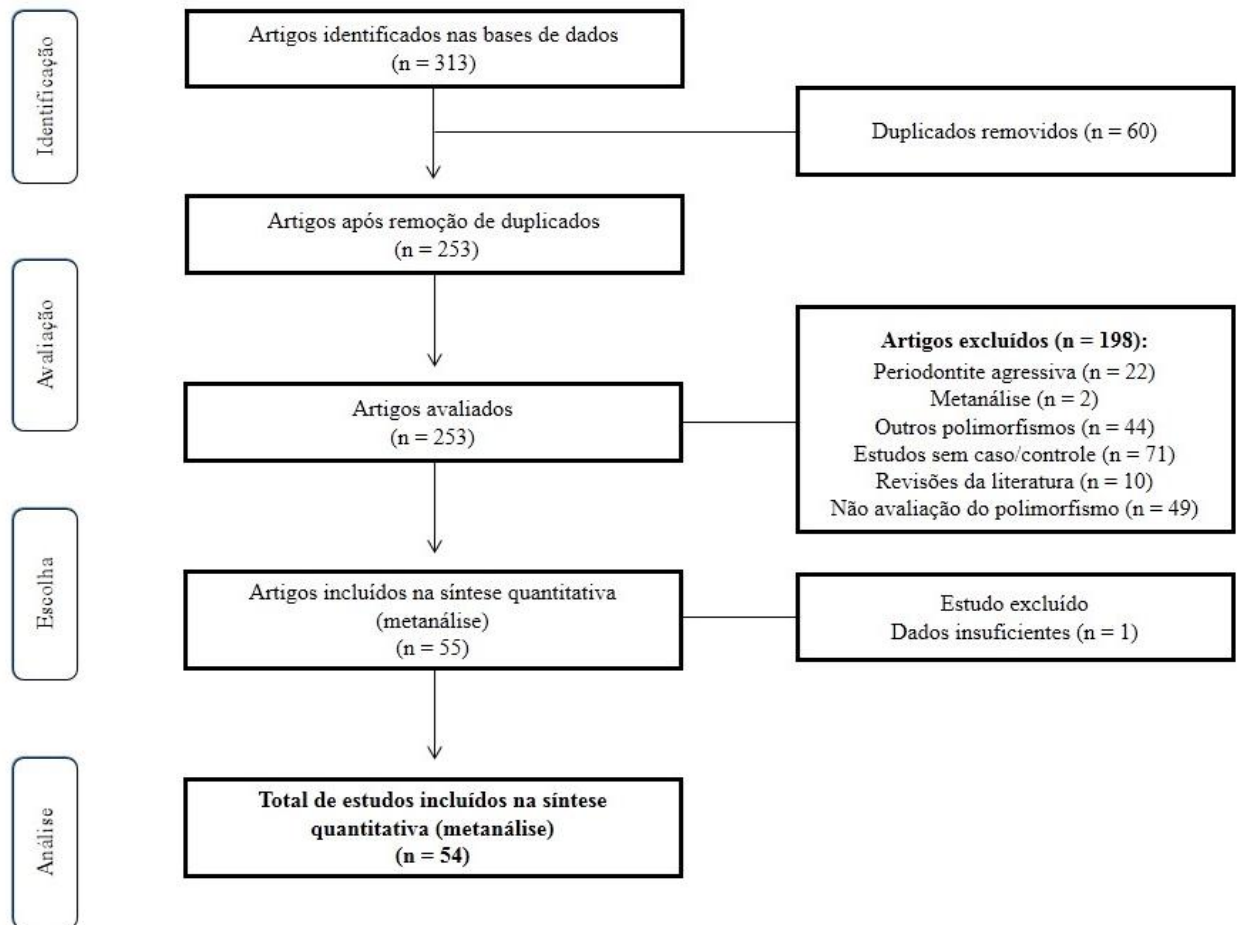
Em ambos os cálculos, o modelo estatístico de efeito fixo foi usado para calcular o valor de *Odds Ratio* agrupado. Quando comparado com o alelo C, o alelo T foi significativamente associado ao elevado risco de desenvolvimento da doença em Caucasianos, Asiáticos e população Miscigenada ($OR = 1,25$, 95% IC: 1,10, 1,43, $P = 0,0009$; $OR = 1,65$, 95% IC: 1,40, 1,94, $P < 0,00001$; $OR = 1,27$, 95% IC: 1,09, 1,49, $P = 0,002$, respectivamente).

Por outro lado, o alelo T não foi significativamente associado ao risco de periodontite crônica na etnia Africana ($P = 0,76$). A tabela 2 traz todos os modelos genéticos calculados bem como a análise estratificada por etnia; a figura 5A contém dados sobre heterogeneidade em todos os modelos calculados.

Análise sensitiva e viés de publicação

Para avaliar o efeitos individual dos estudos, uma análise sensitive foi realizada omitindo cada um dos estudos por vez para medir o seu impacto no valor de OR agrupado. Nenhum estudo em particular mudou o valor de OR agrupado, o que sugere que os resultados desta metanálise são acurados. O teste de *Begg* e o teste de regressão linear de *Egger* não revelaram qualquer indicação de viés de publicação na avaliação alélica ($P = 0,154$ e $P = 0,236$, respectivamente) como mostrado pela ausência de assimetria no *Funnel plot* na figura 5B.

Figura 1. Fluxograma de identificação, seleção e inclusão dos estudos na metanálise



Discussão

Nossos resultados incluem 54 estudos caso/controle com 4.924 pacientes e 4.452 controles evidenciando o papel do polimorfismo rs1143634 na IL-1B e o risco de desenvolvimento de periodontite. Assim, para avaliar a influência deste polimorfismo no gene da IL-1B e o risco de desenvolvimento de periodontite crônica nós realizamos uma metanálise.

O alelo T no polimorfismo rs1143634 foi significativamente associado a periodontite em pacientes diabéticos portadores de uma ou duas cópias desse alelo, aumento o risco da doença (OR = 3,84, 95% IC: 1,20, 10,9, P = 0,03). (STRUCH et al., 2008). Contudo, nossos resultados sobre o alelo T e o elevado risco de periodontite crônica diferem de um estudo anterior o qual o alelo C foi associado aos pacientes com periodontite juvenil (PARKHIL et al., 2000).

Tabela 1. Características dos estudos incluídos na metanálise

PRIMEIRO AUTOR	ANO	ETNIA	MODELO DE ESTUDO	TAMANHO AMOSTRAL	IDADE (ANOS)	SUBGRUPO DE ESTUDO
Gore	1998	Caucasianos	C/Cc	32/32	43,3 ± 10,6/41,9 ± 10,1	PC-Saudáveis
Galbraith	1999	Caucasianos	C/Cc	40/45	48,4 ± 9,2	PC-Saudáveis
Laine	2001	Caucasianos	C/Cc	105/53	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Duan	2002	Asiáticos	C/Cc	54/94	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Rogers	2002	Caucasianos	C/Cc	119/60	66/42	PC-Saudáveis
Zhong	2002	Asiáticos	C/Cc	145/92	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Anusaksathien	2003	Asiáticos	C/Cc	55/43	46,9 ± 7,7/34,2 ± 12,2	PC-Saudáveis
Lin	2003	Asiáticos	C/Cc	124/172	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Sakellari	2003	Caucasianos	C/Cc	45/110	55,19 ± 9,9/25,46 ± 5,34	PC-Saudáveis
Soga	2003	Asiáticos	C/Cc	64/64	50,5 ± 7,0/42,6 ± 16,0	PC-Saudáveis
Trevilatto	2003	Miscigenada	C/Cc	69/44	43,6 ± 14,4/43,2 ± 14,0	PC-Saudáveis
Huang	2004	Asiáticos	C/Cc	182/89	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Brett	2005	Caucasianos	C/Cc	216/100	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
López	2005	Caucasianos	C/Cc	330/101	30,23 ± 5,25/29,33 ± 5,47	Fumantes-Não Fumantes
Moreira	2005	Miscigenada	C/Cc	98/31	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Agrawal	2006	Asiáticos	C/Cc	90/30	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Drozdik	2006	Caucasianos	C/Cc	32/52	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Gustafsson	2006	Caucasianos	C/Cc	13/13	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Janson	2006	Caucasianos	C/Cc	20/21	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Sakellari	2006	Caucasianos	C/Cc	204/90	50,70 ± 9,21/43,86 ± 1,2	PC-Saudáveis
Tian	2006	Asiáticos	C/Cc	36/36	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Kobayashi	2007	Asiáticos	C/Cc	200/100	50,8 ± 1,1/50,9 ± 1,3	PC-Saudáveis
Wagner	2007	Caucasianos	C/Cc	97/97	55(46-60)/50(41-57)	PC-Saudáveis
Ferreira	2008	Miscigenada	C/Cc	117/175	46,4 ± 7,46/41,5 ± 7,38	PC-Saudáveis
Gonçalves	2009	Miscigenada	C/Cc	58/47	DADOS NÃO MOSTRADOS	HIV-soronegativo-
Han	2009	Asiáticos	C/Cc	66/50	DADOS NÃO MOSTRADOS	HIVsoropositivo PC-Saudáveis

...Continuação...

C – Caso, Cc – Controle, PC – Periodontite crônica

Tabela 1. Continuação

PRIMEIRO AUTOR	ANO	ETNIA	MODELO DE ESTUDO	TAMANHO AMOSTRAL	IDADE (ANOS)	SUBGRUPO DE ESTUDO
Kaarthikeyan	2009	Asiáticos	C/Cc	30/31	37,00 ± 5,79/37,45 ± 5,72	Homens-Mulheres
Kobayashi	2009	Asiáticos	C/Cc	270/108	52,8 ± 0,9/51,2 ± 1,2	PC-Saudáveis
López	2009	Caucasianos	C/Cc	336/208	55,05±9,20/52,2±7,80	Com diabetes-Sem diabetes
Prakash	2010	Asiáticos	C/Cc	25/50	DADOS NÃO MOSTRADOS	Fumantes-Não Fumantes
Shete	2010	Asiáticos	C/Cc	97/101	35,21	PC-Saudáveis
Gayathri	2011	Asiáticos	C/Cc	51/52	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Karasneh	2011	Caucasianos	C/Cc	180/80	40,43 ± 11,25/22,28 ± 5,43	PC-Saudáveis
Ma	2011	Asiáticos	C/Cc	96/104	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Schulz	2011	Caucasianos	C/Cc	159/89	49,1 ± 9,4/46,2 ± 10,8	PC-Saudáveis
Trevilatto	2011	Miscigenada	C/Cc	69/44	43,6 ± 14,4/43,2 ± 14,0	PC-Saudáveis
Yang	2011	Asiáticos	C/Cc	215/219	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Al-Hebshi	2012	Caucasianos	C/Cc	40/40	43,40 ± 7,06/42,95± 5,27	PC-Saudáveis
Archana	2012	Asiáticos	C/Cc	45/15	35	PC-Saudáveis
Bascones-Martinez	2012	Caucasianos	C/Cc	25/25	41,96 ± 8,31/36,56 ±6,75	PC-Saudáveis
Braosi	2012	Miscigenada	C/Cc	182/64	53,4 ± 12,2/38,1 ± 9,3	PC-Saudáveis
Garlet	2012	Miscigenada	C/Cc	390/218	49,54 ± 6,47/47,48 ± 5,96	PC-Saudáveis
Masamatti	2012	Asiáticos	C/Cc	60/30	5,96	PC-Saudáveis
Baldini	2013	Caucasianos	C/Cc	42/39	44,4 ± 7,6/26 ± 4,7 ± 9,55 ± 15	PC-Saudáveis
Wagaiyu	2013	Africanos	C/Cc	100/100	DADOS NÃO MOSTRADOS	PC-Saudáveis
Armingohar	2014	Caucasianos	C/Cc	36/38	67,8 ± 6,9/71,5 ± 8,0	PC-Saudáveis
Zuccarrello	2014	Caucasianos	C/Cc	101/105	53(25-75)/25(20-59)	PC-Saudáveis
Boukorr	2015	Caucasianos	C/Cc	151/128	37,36 ± 8,82/ 26,69 ± 7,52	PC-Saudáveis
Daing	2015	Asiáticos	C/Cc	28/47	45,21 ± 13,51/45,38 ± 14,38	PC-Saudáveis
Mendonça	2015	Miscigenada	C/Cc	134/213	35	PC-Saudáveis
Wagaiyu	2015	Africanos	C/Cc	94/94	37,88 ± 3,29	PC-Saudáveis
Amirisetty	2015	Asiáticos	C/Cc	29/31	41,3 / 41,8	PC-Saudáveis
Lavu	2015	Asiáticos	C/Cc	200/200	38,16 ± 8,4/29,64 ± 5,5	PC-Saudáveis
Isaza-Guzmán	2016	Miscigenada	C/Cc	124/81	48,48 ± 10,37/31,22 ± 11,23	PC-Saudáveis

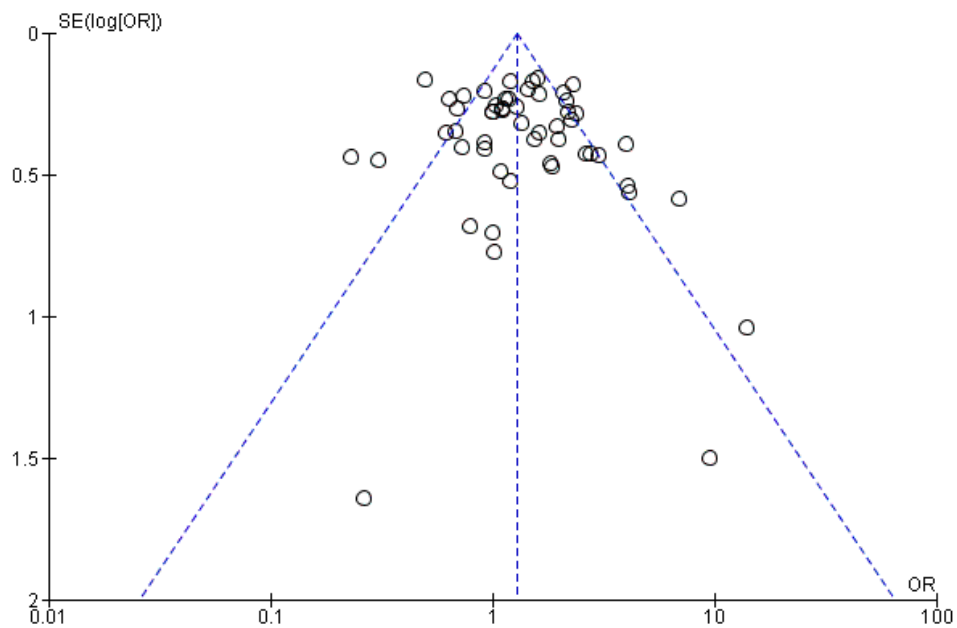
C – Caso, Cc – Controle, PC – Periodontite crônica

Além disso, evidências de uma metanálise avaliando o polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de periodontite agressiva sugeriu a não associação entre esta variação genética e o essa forma da doença (avaliação alélica de T *versus* C: OR = 0,99, P = 0,91) (CHEN et al., 2015).

Um estudo avaliando o polimorfismo rs1143634 e a ocorrência e severidade da reabsorção radicular externa inflamatória demonstra que o polimorfismo não está associado com a doença (BASTOS et al., 2015).

Figura 2. **A** *Funnel plot* para avaliação de heterogeneidade para o alelo T no polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de periodontite crônica. **B** *Funnel plot* para avaliação de heterogeneidade para o alelo C no polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de periodontite crônica

A



B

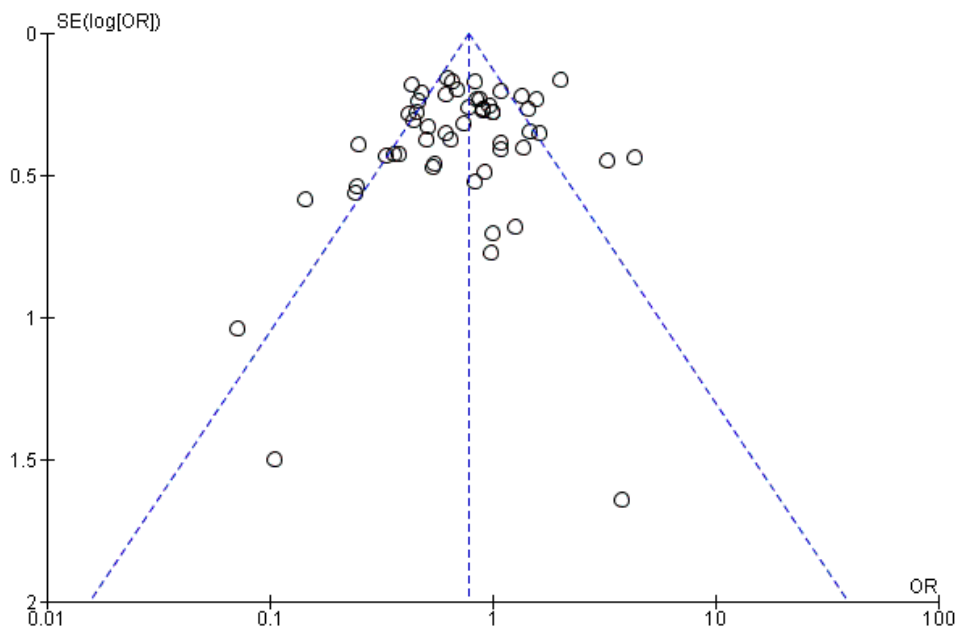


Figura 3. Forest plot de comparação para o alelo T versus o alelo C no polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de periodontite crônica

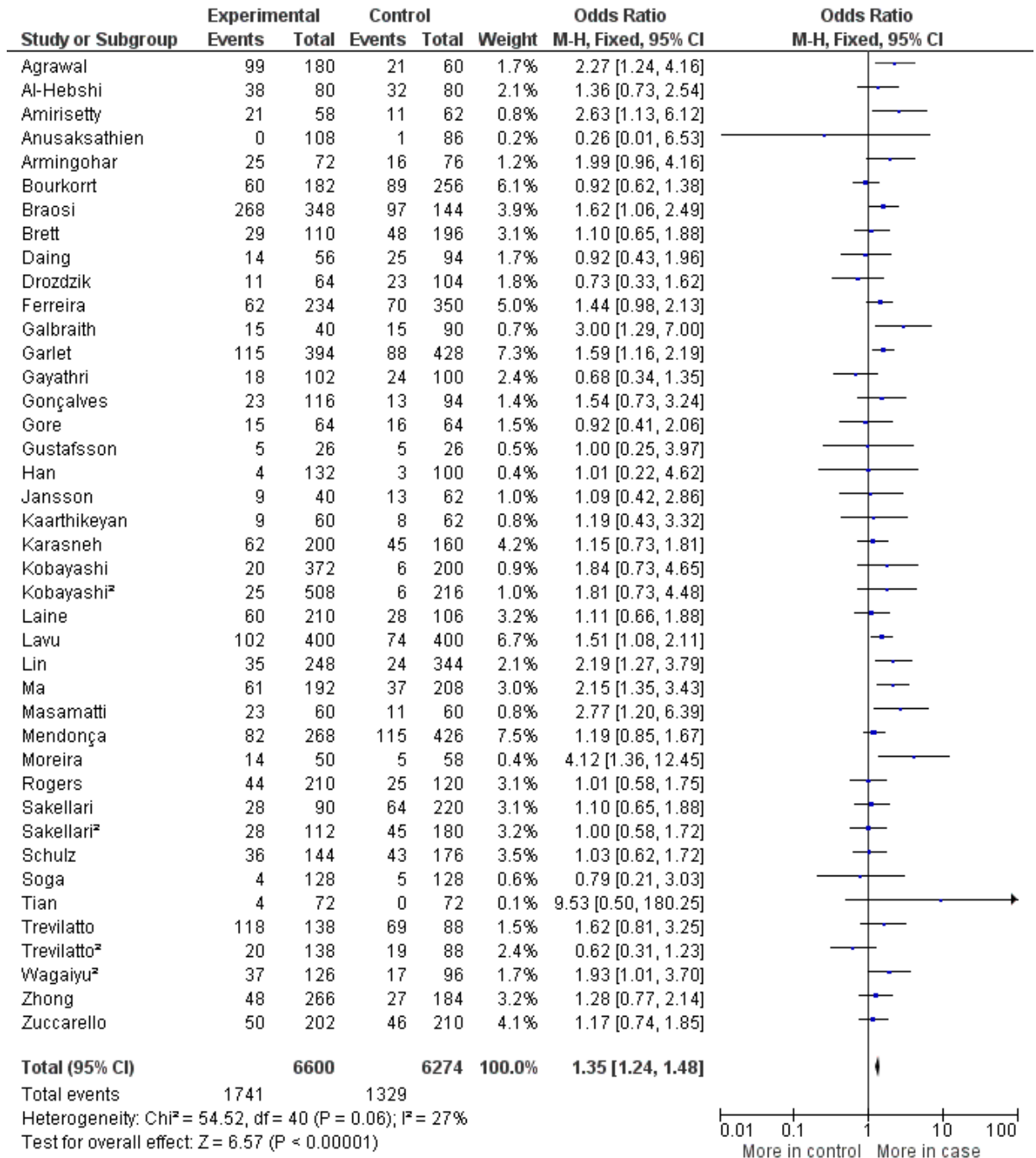


Figura 4. Forest plot de comparação para o alelo C versus o alelo T no polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de periodontite crônica.

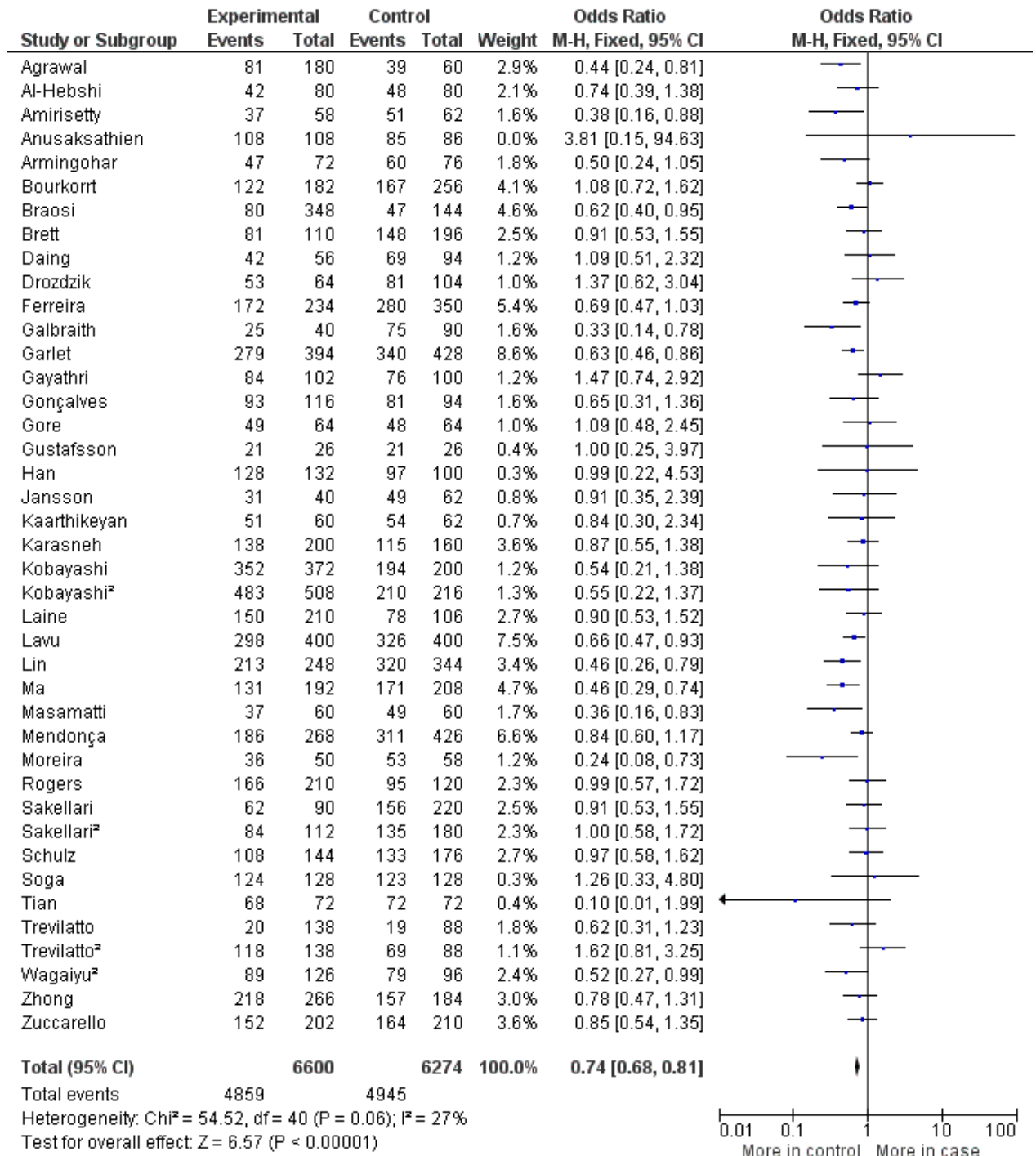


Tabela 2. Metanálise de comparação entre o polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco de desenvolvimento de periodontite crônica (modelos alélicos e genotípicos)

Variável	Comparação (n)	Caso/ Controle	M versus m		m versus M	
			OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral	54	4.924/ 4.452	1,35 (1,24, 1,48)	<0,00001	0,72 [0,68, 0,81]	<0,00001
Caucasianos	21	1.712/ 1.603	1,25 (1,10, 1,43)	0,0009	0,80 (0,70, 0,91)	0,0009
Asiáticos	22	2.138/ 1.753	1,65 (1,40, 1,94)	<0,00001	0,78 (0,69, 0,88)	<0,0001
Miscigenada	9	923/963	1,27 (1,09, 1,49)	0,002	0,79 (0,67, 0,92)	0,002
Africanos	2	151/133	1,16 (0,45, 2,96)	0,76	0,86 (0,34, 2,21)	0,76
Variável	Comparação (n)	Caso/ Controle	MM versus mm		mm versus MM	
			OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral	54	4.924/ 4.452	1,70 (1,42, 2,03)	<0,00001	0,77 (0,70, 0,85)	<0,00001
Caucasianos	21	1.712/ 1.603	1,79 (1,36, 2,37)	<0,0001	0,56 (0,42, 0,73)	0,0009
Asiáticos	22	2.138/ 1.753	1,35 (0,97, 1,89)	0,07	0,74 (0,53, 1,03)	<0,0001
Miscigenada	9	923/963	1,45 (1,06, 1,98)	0,02	0,69 (0,50, 0,94)	0,002
Africanos	2	151/133	1,17 (0,70, 1,93)	0,86	0,73 (0,17, 3,03)	0,76
Variável	Comparação (n)	Caso/ Controle	MM versus Mm/mm		Mm versus mm/MM	
			OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral	54	4.924/ 4.452	1,39 (1,19, 1,63)	<0,0001	1,03 (0,85, 1,25)	0,74
Caucasianos	21	1.712/ 1.603	1,63 (1,25, 2,12)	0,0003	1,07 (0,79, 1,45)	0,66
Asiáticos	22	2.138/ 1.753	1,24 (0,88, 1,73)	0,22	1,41 (1,21, 1,64)	<0,0001
Miscigenada	9	923/963	1,40 (1,05, 1,86)	0,02	1,09 (0,78, 1,52)	0,63
Africanos	2	151/133	0,90 (0,48, 1,68)	0,73	1,54 (0,81, 2,89)	0,55

OR = Odds Ratio, IC = Intervalo de confiança, m = alelo selvagem, M = alelo mutado, Miscigenada = Americanos e outras etnias, Valores em negrito = Modelo de efeitos aleatórios utilizado

Estes achados podem ser explicados pelos diferentes aspectos fisiopatológicas para estas classificações da doença quando comparadas com a periodontite crônica. Além disso, é importante destacar que os resultados desta recente metanálise, na avaliação alélica, são acurados pela heterogeneidade não significativa e o uso do modelo estatístico de efeito fixo para cálculo do valor de OR (Tabela 2 e Figura 5A). Nesta metanálise, uma avaliação para comparações genotípicas foi realizada e revelou que o genótipo TT foi associado ao risco de periodontite crônica na análise geral ($P < 0,00001$). O genótipo positivo para o alelo T neste polimorfismo foi também associado ao elevado número de sítios de supuração em pacientes com peri-

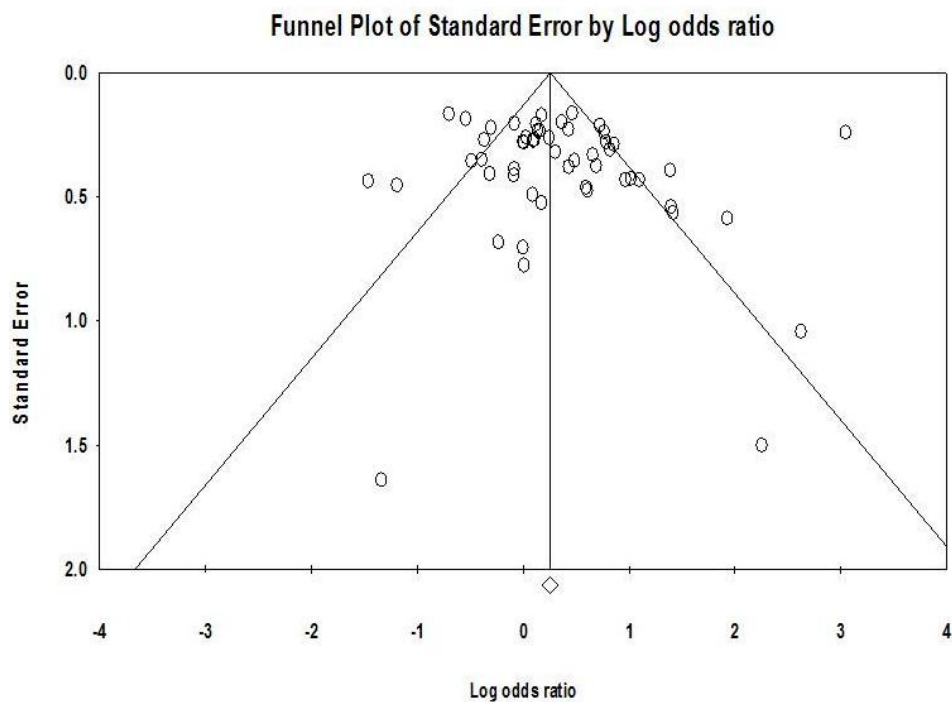
implantite mostrando uma susceptibilidade aumentada ao danos nos tecidos periodontais (HAMDY; EBRAHEM, 2011) e, por outro lado, ao elevado risco de câncer gástrico em população chinesa (WEN et al., 2014).

Figura 5. A Valores de heterogeneidade em todos os modelos alélicos e genotípicos calculados nesta recente metanálise. **B** *Funnel plot* para viés de publicação na avaliação alélica desta recente metanálise.

A

Variável	Comparison (n)	M versus m		m versus M		MM versus mm	
		I ² (%)	P	I ² (%)	P	I ² (%)	P
Geral	54	27	0,06	27	0,06	13	0,24
Caucasianos	21	27	0,14	27	0,14	4	0,40
Asiáticos	22	31	0,11	31	0,11	58	0,005
Miscigenada	9	49	0,07	49	0,07	0	0,57
Africanos	2	83	0,02	83	0,02	68	0,08
Variável	Comparison (n)	MM versus Mm/mm		mm versus Mm/MM		mm versus Mm	
		I ² (%)	P	I ² (%)	P	I ² (%)	P
Geral	54	20	0,12	19	0,14	73	<0,00001
Caucasianos	21	4	0,40	6	0,38	71	<0,00001
Asiáticos	22	28	0,07	36	0,11	13	0,65
Miscigenada	9	0	0,57	0	0,58	55	0,02
Africanos	2	68	0,08	53	0,14	10	0,29

B



Para um melhor entendimento da relação entre este polimorfismo e periodontite crônica, uma análise estratificada foi realizada com base nas características étnicas dos pacientes envolvidos nos estudos selecionados. Diferenças entre raças demonstraram influenciar os níveis séricos de anticorpos e concentração de IL-1B em pacientes com periodontite juvenil (ALBANDAR et al., 2002).

Quatro grupos étnicos compuseram essa metanálise (Tabela 1). O grupo Caucasiano representa vinte e um do total de estudos incluídos nos resultados. Uma significativa associação entre o polimorfismo no gene da IL-1B e o risco de desenvolvimento de periodontite crônica foi encontrado ($P < 0,0009$) com o alelo T apresentando elevado valor de associação (Tabela 2). Apesar dessa associação significativa, resultados contraditórios foram encontrados por Armingohar et al. (2014) e Sakellari et al. (2003). A possível explicação para estes dados é o maior poder de associação da metanálise. O polimorfismo rs1143634 também foi associado ao elevado risco de desenvolvimento de periodontite crônica na etnia Asiática (Tabela 2). O alelo T neste polimorfismo mostrou elevada frequência em população coreana com valor de frequência genotípica de 91,6% (PYO et al., 2003) e o genótipo CT neste polimorfismo foi associado ao maior risco de câncer gástrico em população chinesa (ZHANG et al., 2005).

Uma metanálise anterior objetivando avaliar a associação entre o polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e periodontite crônica em população asiática trouxe 20 estudos caso/controle e mostrou que este polimorfismo aumenta o risco de desenvolvimento da doença (MA et al., 2015). Contudo, os autores utilizaram o modelo de efeitos aleatórios para cálculo de OR devido elevada heterogeneidade.

Heterogeneidade prova o quanto os estudos são inconsistentes o que é um importante fato, porque a presença ou ausência de heterogeneidade pode interferir no modelo estatístico aplicado aos dados (HUEDO-MEDINA et al., 2006). O uso de efeitos aleatórios em cálculos de metanálise também resulta em maior peso para estudos contendo um tamanho amostral reduzido, o que pode não ser totalmente confiável (KAVVOURA; IOANNIDIS, 2008).

Na presente metanálise, a avaliação na etnia asiática foi composta por 22 estudos caso/controle com mais participantes inclusos. Portanto, os dados trouxeram maior significância estatística e menor valor de heterogeneidade (Figura 5A).

Uma significativa associação entre o polimorfismo mencionado e o risco de periodontite crônica também foi encontrado em dados estratificados pela população

miscigenada (Tabela 2). Oito dos nove estudos inclusos na análise quantitativa (metanálise) foram realizados em população Brasileira. Um estudo genético usando 28 diferentes marcadores informativos de ancestralidade esclareceram o perfil genético heterogêneo de Brasileiros com maior contribuição da população Europeia (LINS et al., 2010), isso pode explicar os resultados similares observados na etnia caucasiana e população miscigenada. Entretanto, uma significativa heterogeneidade foi observada na avaliação alélica nos resultados apresentados (Figura 5A), assim estes achados devem ser considerados com cautela.

Esta é a primeira metanálise a avaliar o polimorfismo citado e periodontite crônica na etnia Africana. Dois estudos foram incluídos na análise e relevaram uma não associação significativa entre o polimorfismo e o risco da doença nem na análise alélica nem na genotípica. Contudo, o pequeno número de estudos incluídos na análise estratificada pode representar uma limitação.

Esta recente metanálise tem algumas vantagens tais como: (1) ausência de viés de publicação, validando os resultados; (2) um número considerável de estudos foram incluídos com elevado poder estatístico de associação e assim, resultados robustos e acurados; (3) Quando comparada com metanálises anteriores acerca do polimorfismo rs1143634 e periodontite crônica com 36 estudos caso/controle (DENG et al., 2013) e 20 estudos caso/controle (MA et al., 2015), nossos resultados trazem mais dados sobre as etnias Caucasiana, Asiática, Africana e população miscigenada com melhor avaliação na análise estratificada com 54 estudos caso/controle na análise geral; (4) O cálculo agrupado na metanálise encontrado na análise geral pode ser influenciado pelas diferenças na distribuição genotípica entre diferentes etnias, contudo, a análise estratificada observada na nossa metanálise anula possíveis interferências causadas pelas diferentes etnias.

Contudo, algumas limitações deve ser notadas. Primeiro, os autores observaram elevada heterogeneidade em algumas comparações aqui apresentadas. Além da heterogeneidade estatística, houve também a heterogeneidade clínica. A periodontite e seu diagnóstico são caracterizados por variações desde a severidade e formas da doença até o diagnóstico, o que podem ser um potencial viés nos estudos. Uma análise focando nessas variáveis não é possível devido dados insuficientes nos estudos. Segundo, uma análise de haplótipos pode fornecer informações precisas com maior poder de avaliação que a análise de um único polimorfismo. Essa avaliação de haplótipo não foi realizada devido a avaliação ter ocorrido em apenas um

polimorfismo. Terceiro, uma análise estratificada focando no histórico prévio de doenças sistêmicas nos pacientes do grupo caso não foi realizada devido os dados limitados disponíveis nos estudos. Quarto, a análise em etnia Africana foi mostrada como inconclusiva devido o número limitado de estudos nessa população. Mais estudos são requeridos para determinar a influência do polimorfismo rs1143634 no gene da IL-1B e o risco da doença na etnia Africana e também com relação a fumantes e não fumantes, graus da doença e gênero.

Em conclusão, esta metanálise composta por 54 estudos caso/controle em 9.376 pacientes revelou que o alelo T foi significativamente associado aos pacientes caso (OR = 1,35, 95% IC: 1,24, 1,48, P<0,00001) na análise geral sem valor significativo de heterogeneidade e também na análise estratificada em etnias Caucasiana e Asiática, população miscigenada mas com exceção da etnia Africana.

Referências Bibliográficas

- AGRAWAL, A. A. et al. Assessment of single nucleotide polymorphism at IL-1A+ 4845 and IL-1B+ 3954 as genetic susceptibility test for chronic periodontitis in Maharashtrian ethnicity. **Journal of periodontology**, v. 77, n. 9, p. 1515-1521, 2006.
- AIMETTI, M. et al. Prevalence of periodontitis in an adult population from an urban area in North Italy: findings from a cross-sectional population-based epidemiological survey. **Journal of clinical periodontology**, v. 42, n. 7, p. 622-631, 2015.
- ALBANDAR, J. M. et al. Associations of serum concentrations of IgG, IgA, IgM and interleukin-1 β with early-onset periodontitis classification and race. **Journal of clinical periodontology**, v. 29, n. 5, p. 421-426, 2002.
- BALDINI, D. D. S. et al. Association between periodontal disease and Interleukin-1 [beta]+ 3953 and vitamin D receptor Taq1 genetic polymorphisms in an Italian caucasian population. **Annali di stomatologia**, v. 4, n. 2, p. 191, 2013.
- AL-HEBSHI, N. N.; SHAMSAN, A. A.; AL-AK'HALI, M. S. Interleukin-1 two-locus haplotype is strongly associated with severe chronic periodontitis among Yemenis. **Molecular biology international**, v. 2012, 2012.
- AMIRISETTY, R. et al. Interleukin 1 β (+ 3954, - 511 and - 31) polymorphism in chronic periodontitis patients from North India. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 73, n. 5, p. 343-347, 2015.
- ANUSAKSATHIEN, O. et al. Distribution of Interleukin-1 β + 3954 and IL-1 α -889 genetic variations in a Thai population group. **Journal of periodontology**, v. 74, n. 12, p. 1796-1802, 2003.

- ARCHANA, P. M. et al. Association between interleukin-1 gene polymorphism and severity of chronic periodontitis in a south Indian population group. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 16, n. 2, p. 174, 2012.
- ARMINGOHAR, Z. et al. Polymorphisms in the Interleukin-1 Gene Locus and Chronic Periodontitis in Patients with Atherosclerotic and Aortic Aneurysmal Vascular Diseases. **Scandinavian journal of immunology**, v. 79, n. 5, p. 338-345, 2014.
- AUERKARI, E. I. et al. CRP and IL-1B gene polymorphisms and CRP in blood in periodontal disease. **The open dentistry journal**, v. 7, p. 88, 2013.
- BASCONES-MARTÍNEZ, A. et al. Interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal status in a Spanish population. **Age (years)**, v. 41, n. 1.66, p. 43.00, 2012.
- BASTOS, J. V. et al. A study of the interleukin-1 gene cluster polymorphisms and inflammatory external root resorption in replanted permanent teeth. **International endodontic journal**, v. 48, n. 9, p. 878-887, 2015.
- BIGILDEEV, A. E. et al. Interleukin-1 beta is an irradiation-induced stromal growth factor. **Cytokine**, v. 64, n. 1, p. 131-137, 2013.
- BOUKORTT, K. N. et al. Association analysis of the IL-1 gene cluster polymorphisms with aggressive and chronic periodontitis in the Algerian population. **Archives of oral biology**, v. 60, n. 10, p. 1463-1470, 2015.
- BRAOSI, A. P. R. et al. Analysis of IL1 gene polymorphisms and transcript levels in periodontal and chronic kidney disease. **Cytokine**, v. 60, n. 1, p. 76-82, 2012.
- BRETT, P. M. et al. Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. **Journal of dental research**, v. 84, n. 12, p. 1149-1153, 2005.
- CHEN, H. et al. Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context. **Human molecular genetics**, v. 15, n. 4, p. 519-529, 2006.
- CHEN, Y-J. et al. Interleukin-1 β rs1143634 polymorphism and aggressive periodontitis susceptibility: a meta-analysis. **International journal of clinical and experimental medicine**, v. 8, n. 2, p. 2308, 2015.
- SILVA, F. R. P. et al. Relationship between-889 C/T polymorphism in interleukin-1A gene and risk of chronic periodontitis: Evidence from a meta-analysis with new published findings. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 22, n. 1, p. e7-e14, 2017.
- DENG, J-S. et al. Association between interleukin-1 β C (3953/4) T polymorphism and chronic periodontitis: evidence from a meta-analysis. **Human immunology**, v. 74, n. 3, p. 371-378, 2013.
- DROŹDZIK, A. et al. Polymorphism in interleukin-1beta gene and the risk of periodontitis in a Polish population. **Advances in medical sciences**, v. 51, p. 13-17, 2005.

DUARTE, P. M. et al. Do subjects with aggressive and chronic periodontitis exhibit a different cytokine/chemokine profile in the gingival crevicular fluid? A systematic review. **Journal of periodontal research**, v. 50, n. 1, p. 18-27, 2015.

EKE, P. I. et al. Update on prevalence of periodontitis in adults in the United States: NHANES 2009 to 2012. **Journal of periodontology**, v. 86, n. 5, p. 611-622, 2015.

FARHAT, S. B. et al. Complete physical mapping of IL6 reveals a new marker associated with chronic periodontitis. **Journal of periodontal research**, v. 52, n. 2, p. 255-261, 2017.

FERREIRA, S. B. et al. An interleukin-1 β (IL-1 β) single-nucleotide polymorphism at position 3954 and red complex periodontopathogens independently and additively modulate the levels of IL-1 β in diseased periodontal tissues. **Infection and Immunity**, v. 76, n. 8, p. 3725-3734, 2008.

GARLANDA, C.; DINARELLO, C. A.; MANTOVANI, A. The interleukin-1 family: back to the future. **Immunity**, v. 39, n. 6, p. 1003-1018, 2013.

GARLET, G. P. et al. The use of chronic gingivitis as reference status increases the power and odds of periodontitis genetic studies—a proposal based in the exposure concept and clearer resistance and susceptibility phenotypes definition. **Journal of clinical periodontology**, v. 39, n. 4, p. 323-332, 2012.

GAYATHRI, R. et al. Allele, genotype, and composite genotype effects of IL-1A+ 4845 and IL-1B+ 3954 polymorphisms for chronic periodontitis in an Indian population. **Indian Journal of Dental Research**, v. 22, n. 4, p. 612, 2011.

GORE, E. A. et al. Interleukin-1 β + 3953 allele 2: association with disease status in adult periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 25, n. 10, p. 781-785, 1998.

GUSTAFSSON, A. et al. Hyper-reactive mononuclear cells and neutrophils in chronic periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 33, n. 2, p. 126-129, 2006.

HAMDY, A. A. E-M. M.; EBRAHEM, M. A. E-M. The Effect of Interleukin-1 Allele 2 Genotype (IL-1a- 889 and IL-1b+ 3954) on the Individual's Susceptibility to Peri-Implantitis: Case-Control Study. **Journal of Oral Implantology**, v. 37, n. 3, p. 325-334, 2011.

HENDLEY, T. M. et al. Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 26, n. 11, p. 705-709, 1999.

HONG, K-W. et al. Genomewide association study on chronic periodontitis in Korean population: results from the Yangpyeong health cohort. **Journal of clinical periodontology**, v. 42, n. 8, p. 703-710, 2015.

HU, Y-Y. et al. Association between Interleukin-1 β Gene-511C> T/+ 3954C> T Polymorphisms and Aggressive Periodontitis Susceptibility: Evidence from a Meta-Analysis. **Medical Science Monitor**, v. 21, p. 1617-1624, 2015.

HUANG, H. Y.; ZHANG, J. C. Investigation on the association of interleukin-1 genotype polymorphism with chronic periodontitis. **Hua xi kou qiang yi xue za zhi= Huaxi**

kouqiang yixue zazhi= West China journal of stomatology, v. 22, n. 5, p. 415-419, 2004.

HUEDO-MEDINA, T. B. et al. Assessing heterogeneity in meta-analysis: Q statistic or I² index?. **Psychological methods**, v. 11, n. 2, p. 193, 2006.

ISAZA-GUZMÁN, D. M. et al. Determination of NLRP3 (rs4612666) and IL-1B (rs1143634) genetic polymorphisms in periodontally diseased and healthy subjects. **Archives of oral biology**, v. 65, p. 44-51, 2016.

JANSSON, H. et al. Analysis of the interleukin-1 and interleukin-6 polymorphisms in patients with chronic periodontitis. A pilot study. **Swedish dental journal**, v. 30, n. 1, p. 17-23, 2005.

JI, S.; CHOI, Y. S.; CHOI, Y. Bacterial invasion and persistence: critical events in the pathogenesis of periodontitis?. **Journal of periodontal research**, v. 50, n. 5, p. 570-585, 2015.

KAIMENYI, J. T. et al. Interleukin-1 polymorphisms and chronic periodontitis in a rural Kenyan population. 2015.

KARASNEH, J. A. et al. Investigation of the interleukin-1 gene cluster polymorphisms in Jordanian patients with chronic and aggressive periodontitis. **archives of oral biology**, v. 56, n. 3, p. 269-276, 2011.

KAVVOURA, F. K.; IOANNIDIS, J. P. A. Methods for meta-analysis in genetic association studies: a review of their potential and pitfalls. **Human genetics**, v. 123, n. 1, p. 1-14, 2008.

KOBAYASHI, T. et al. Cytokine gene polymorphisms associated with rheumatoid arthritis and periodontitis in Japanese adults. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 5, p. 792-799, 2009.

KOBAYASHI, T. et al. The interleukin-1 and Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with rheumatoid arthritis and periodontitis. **Journal of periodontology**, v. 78, n. 12, p. 2311-2318, 2007.

KORNMAN, K. S. et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. **Journal of clinical periodontology**, v. 24, n. 1, p. 72-77, 1997.

LAINE, M. L. et al. Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. **Journal of Dental Research**, v. 80, n. 8, p. 1695-1699, 2001.

LAVU, V. et al. Polymorphic regions in the interleukin-1 gene and susceptibility to chronic periodontitis: a genetic association study. **Genetic testing and molecular biomarkers**, v. 19, n. 4, p. 175-181, 2015.

LI, G. et al. Association of matrix metalloproteinase (MMP)-1, 3, 9, interleukin (IL)-2, 8 and cyclooxygenase (COX)-2 gene polymorphisms with chronic periodontitis in a Chinese population. **Cytokine**, v. 60, n. 2, p. 552-560, 2012.

LIN, L.; PAN, Y. P.; YIN, L. Y. Study on the correlation of cytokine gene polymorphism with chronic periodontitis. **Shanghai kou qiang yi xue= Shanghai journal of stomatology**, v. 12, n. 6, p. 456-459, 2003.

LINS, T. C. et al. Genetic composition of Brazilian population samples based on a set of twenty-eight ancestry informative SNPs. **American Journal of Human Biology**, v. 22, n. 2, p. 187-192, 2010.

LÓPEZ, N. J.; JARA, L.; VALENZUELA, C. Y. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. **Journal of Periodontology**, v. 76, n. 2, p. 234-243, 2005.

LÓPEZ, N. J.; VALENZUELA, C. Y.; JARA, L. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms associated with periodontal disease in type 2 diabetes. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 10, p. 1590-1598, 2009.

MA, L. et al. Interleukin-1 β (3953/4) C \rightarrow T polymorphism increases the risk of chronic periodontitis in Asians: evidence from a meta-analysis of 20 case-control studies. **Archives of medical science: AMS**, v. 11, n. 2, p. 267, 2015.

MA, M. et al. Correlation study on polymorphisms of the Interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha gene in Hui patients with chronic periodontitis in Ningxia. **Journal of Modern Stomatology**, v. 25, p. 94-97, 2011.

MASAMATTI, S. S. et al. Evaluation of interleukin-1B (+ 3954) gene polymorphism in patients with chronic and aggressive periodontitis: a genetic association study. **Contemporary clinical dentistry**, v. 3, n. 2, p. 144, 2012.

MENDONÇA, S. A. et al. Study of the association between the interleukin-1 β c. 3954C \rightarrow T polymorphism and periodontitis in a population sample from Bahia, Brazil. **Contemporary clinical dentistry**, v. 6, n. 2, p. 176, 2015.

MOHER, D. et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. **PLoS med**, v. 6, n. 7, p. e1000097, 2009.

MOREIRA, P. R. et al. The IL1A (- 889) gene polymorphism is associated with chronic periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. **Journal of periodontal research**, v. 42, n. 1, p. 23-30, 2007.

PARKHILL, J. M. et al. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with early-onset periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 27, n. 9, p. 682-689, 2000.

PRAKASH, P. S. G.; VICTOR, D. J. Interleukin-1b gene polymorphism and its association with chronic periodontitis in South Indian population. **International Journal of Genetics and Molecular Biology**, v. 2, n. 8, p. 179-183, 2010.

PYO, C-W. et al. Polymorphisms of IL-1B, IL-1RN, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, and IFN- γ genes in the Korean population. **Human immunology**, v. 64, n. 10, p. 979-989, 2003.

ROGERS, M. A. et al. Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants?. **Journal of periodontal research**, v. 37, n. 1, p. 37-41, 2002.

- SAKELLARI, D. et al. No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population. **Journal of clinical periodontology**, v. 33, n. 11, p. 765-770, 2006.
- SAKELLARI, D. et al. Prevalence of IL-1A and IL-1B polymorphisms in a Greek population. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 30, n. 1, p. 35-41, 2003.
- SCHULZ, S. et al. Single nucleotide polymorphisms in interleukin-1 gene cluster and subgingival colonization with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in patients with aggressive periodontitis. **Human immunology**, v. 72, n. 10, p. 940-946, 2011.
- SHETE, A. R. et al. Association of single nucleotide gene polymorphism at interleukin-1 β + 3954,- 511, and- 31 in chronic periodontitis and aggressive periodontitis in Dravidian ethnicity. **Journal of periodontology**, v. 81, n. 1, p. 62-69, 2010.
- SOGA, Y. et al. Tumor necrosis factor-alpha gene (TNF- α)- 1031/- 863,- 857 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are associated with severe adult periodontitis in Japanese. **Journal of clinical periodontology**, v. 30, n. 6, p. 524-531, 2003.
- STRUCH, F. et al. Interleukin-1 gene polymorphism, diabetes, and periodontitis: results from the Study of Health in Pomerania (SHIP). **Journal of periodontology**, v. 79, n. 3, p. 501-507, 2008.
- SUSIN, C.; HAAS, A. N.; ALBANDAR, J. M. Epidemiology and demographics of aggressive periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 65, n. 1, p. 27-45, 2014.
- TIAN, Y. G. et al. The relationship of IL-1beta expressed in buccal cells and the polymorphisms of IL-1beta (+ 3953) with chronic periodontitis. **Shanghai kou qiang yi xue= Shanghai journal of stomatology**, v. 15, n. 5, p. 456-460, 2006.
- TREVILATTO, P. C. et al. Association of IL1 gene polymorphisms with chronic periodontitis in Brazilians. **Archives of oral biology**, v. 56, n. 1, p. 54-62, 2011.
- TREVILATTO, P. C. et al. Polymorphisms in the IL-1a and IL-1b genes are not associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Brazilian population. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, v. 2, n. 7, p. 348-352, 2015.
- VIJAYALAKSHMI, R. et al. Genetic polymorphisms in periodontal diseases: an overview. **Indian Journal of Dental Research**, v. 21, n. 4, p. 568, 2010.
- WAGAIYU, E. G.; BULIMO, W. D. Genetic polymorphisms in IL-1A and IL-1B isoforms and their associations with chronic periodontitis in the Swahili people of Kenya. **IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)**, v. 1, n. 13, p. 7-15, 2014.
- WAGNER, J. et al. Prevalence of OPG and IL-1 gene polymorphisms in chronic periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 34, n. 10, p. 823-827, 2007.
- YANG, L. et al. A study of association between the interleukin-1 single nucleotide polymorphism and risk of chronic periodontitis among the Hui and Dongxiang minorities in Gansu province. **Hua xi kou qiang yi xue za zhi= Huaxi kouqiang yixue zazhi= West China journal of stomatology**, v. 29, n. 4, p. 365-368, 2011.

ZEGGINI, E.; IOANNIDIS, J. P. A. Meta-analysis in genome-wide association studies. **Pharmacogenomics**, v. 10, n. 2, p. 191-201, 2009.

ZHANG, H.-Y. et al. The association of IL-6 and IL-6R gene polymorphisms with chronic periodontitis in a Chinese population. **Oral diseases**, v. 20, n. 1, p. 69-75, 2014.

ZHANG, W-H et al. Association of interleukin-1B (IL-1B) gene polymorphisms with risk of gastric cancer in Chinese population. **Cytokine**, v. 30, n. 6, p. 378-381, 2005.

ZHONG, L. et al. The association of interleukin-1 gene polymorphisms with the susceptibility to chronic periodontitis in Uighur. **Zhonghua yi xue yi chuan xue za zhi= Zhonghua yixue yichuanxue zazhi= Chinese journal of medical genetics**, v. 19, n. 5, p. 405-408, 2002.

ZUCCARELLO, D. et al. Role of familiarity versus interleukin-1 genes cluster polymorphisms in chronic periodontitis. **Gene**, v. 535, n. 2, p. 286-289, 2014.

5 CAPÍTULO IV

5.1 ARTIGO 3

Felipe Rodolfo Pereira da Silva¹, Larissa dos Santos Pessoa¹, Any Carolina Cardoso Guimarães Vasconcelos^{1,2}, Weberson de Aquino Lima³, Even Herlany Pereira Alves¹, Daniel Fernando Pereira Vasconcelos¹.

Polimorfismos nos genes das interleucinas 17A e 17F e peridontite: resultados de uma metanálise

¹ Laboratório de Análise e Processamento Histológico (LAPHIS), Universidade Federal do Piauí, Parnaíba-Piauí, Brasil;

² Escola de Medicina, Instituto de Educação Superior do Vale do Parnaíba (IESVAP), Parnaíba-Piauí, Brasil;

³ Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Currais Novos, RN, Brasil;

Autor correspondente: Daniel Fernando Pereira Vasconcelos, Universidade Federal do Piauí – UFPI, Campus Ministro Reis Veloso, Colegiado de Biomedicina, Av. São Sebastião, 2819, Reis Veloso, Parnaíba - PI – Brazil, 64204-035. Phone: +55 86 3323 5248. Fax: +55 86 3323 5444. Email: vasconcelos@ufpi.edu.br.

Resumo

Background: Polimorfismos em mediadores inflamatórios tais como as interleucinas 17A e 17F são associadas ao risco de desenvolvimento de periodontite, contudo os resultados permanecem contraditórios. Assim, o objetivo deste estudo foi realizar uma metanálise focando em dois polimorfismos (rs2275913 e rs763780) nas interleucinas 17A e 17F, respectivamente, na periodontite crônica (CP) e periodontite agressiva (AgP).

Métodos e Resultados: Uma revisão na literatura foi realizada em diversas bases de dados para estudos publicados anteriormente a 25 de setembro de 2016. A metanálise foi obtida por meio do *software* estatístico *Review Manager* (versão 5.2) com cálculo de *Odds Ratio* (OR) e *Funnel plot* ($P < 0,05$) para heterogeneidade, bem como o *software* *Comprehensive Meta-analysis* (versão 3.3.070) para medir o viés de publicação. Sete artigos com 1.540 participantes compuseram os resultados o qual o alelo mutado no polimorfismo rs2275913 não apresentou associação significativa com o risco de CP ou AgP (OR = 1,56, 95% IC: 0,77, 3,15, $P = 0,21$; OR = 1,12, 95% IC: 0,05, 23,44, $P = 0,94$, respectivamente) e o alelo mutado no polimorfismo rs763780 não foi associado nem à CP (OR = 1,19, 95% IC: 0,80, 1,76, $P = 0,39$) nem à AgP (OR = 1,07, 95% IC: 0,63, 1,84, $P = 0,79$). Nenhum viés de publicação foi observado pelos testes de *Egger* e *Begg* em nenhuma avaliação alélica.

Conclusões: Esta metanálise mostrou a não associação significativa entre os dois polimorfismos nas interleucinas citadas e CP ou AgP na avaliação alélica.

Palavras chave: citocina; periodontite crônica; periodontite agressiva; genética; genômica; fatores de risco.

INTRODUÇÃO

A periodontite é uma desordem autoimune com elevada prevalência que afeta os tecidos de suporte ao redor do dente acarretando perda parcial ou completa do elemento dentário devido intensa resposta inflamatória (JIANG et al., 2014). A doença recebe diversas classificações na clínica odontológica, sendo a periodontite crônica (CP) e agressiva (AgP) as formas mais comuns (LÓPEZ; BAELUM, 2015).

Embora a periodontite seja causada pela presença de bactérias nos sítios periodontais, sendo responsável pelo início da resposta imune do hospedeiro, fatores genéticos estão envolvidos na patogênese e progressão da periodontite permitindo marcar pacientes para prevenção com diagnóstico precoce (GENCO; BORGNAKKE, 2013). Entre os diversos fatores genéticos relatados com a periodontite, existem principalmente genes associados a moléculas imunoregulatórias e também os tipos de colonização bacteriana nos sítios periodontais (CARINCI et al., 2015; FABRIZI et al., 2013).

Variações genéticas tem sido intensivamente estudadas com relato de diversos recentes dados na literatura sobre alguma possível associação entre citocinas tais como: polimorfismos nos genes das IL-1 (DENG et al., 2013; SILVA et al., 2017), IL-6 (SONG et al., 2013) e IL-18 (LI et al., 2013). Todas essas avaliações foram feitas por meio de metanálise. A metanálise é considerada uma ferramenta para combinação de estudos com resultados divergentes para solucionar problemas de amostras de tamanho reduzido em estudos genéticos (MUNAFÒ; FLINT, 2004).

Um outro exemplo de variação genética em citocina associada a periodontite são os polimorfismos no gene da família das interleucinas-17 (IL-17). Este grupo de citocinas compreendem uma família de seis diferentes moléculas (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F) o qual a IL-17A (também conhecida como IL-17) e IL-17F são os mediadores inflamatórios melhor conhecidos (JIN; DONG, 2013). Células CD4+T auxiliares produzem ambos as interleucinas tendo papel central na patogênese de doenças inflamatórias, autoimunes, dentre outras (WANG et al., 2016).

A IL-17 é um iniciador da inflamação contribuindo com a liberação de diversos mediadores inflamatórios em fibroblastos, macrófagos, células endoteliais e epiteliais (BENEDITTI; MIOSSEC, 2014). Um experimento *in vitro* com cultura celular de fibroblastos e células do ligamento periodontal de pacientes saudáveis demonstrou que a IL-17 aumenta a resposta inflamatória induzida por uma chaperona obtida da espécie de periodontopatógeno *Tannerella forsythia* (JUNG et al., 2016). Este autores

mostraram que a chaperona promove reabsorção óssea em sinergismo a IL-17. Além disso, a IL-17 foi relatada em elevada expressão celular em pacientes com deficiência de adesão leucocitária tipo I em conjunto a periodontite bem como perda óssea inflamatória em camundongos (MOUTSOPOULOS et al., 2016).

Elevados níveis de IL-17 foram encontrados na saliva de pacientes com periodontite (AZMAN et al., 2014) e no fluido gengival de pacientes fumantes e não fumantes com CP submetidos ao tratamento periodontal inicial (BUDUNELI; BUDUNELI; KÜTÜKÇÜLER, 2009).

A hiper-regulação da IL-17 e consequente produção aberrante dessa citocina contribuem com condições inflamatórias (KRAMER; GAFFEN, 2007) sendo sugestivo como possível candidato a marcador durante a inflamação periodontal (LIUKKONEN et al., 2016). Contudo, outros estudos trazem achados divergentes em que níveis menores de IL-17 foram encontrados na saliva de pacientes com CP do que os controles (OZÇAKA et al., 2011; PRAKASAM; SRINIVASAN, 2014). Uma recente metanálise (LEE; BAE, 2017) sugeriu que os elevados níveis de IL-17A e IL-17F foram associados a artrite reumatoide indicando o papel dessas citocinas na doença inflamatória. Além disso, esta metanálise encontrou significativa associação entre o polimorfismo rs763780 na IL-17F e a doença.

Estudos avaliando variações genéticas dentro da família dos genes da IL-17 são necessários por estas interleucinas serem possíveis mediadores chave na inflamação periodontal. Na literatura existem estudos focando em dois polimorfismos (rs2275913 – G197A, e rs763780 – T7488C) ocorridos na IL-17A e IL-17F, respectivamente, e pacientes com CP (BORILOVA LINHARTOVA et al., 2016; CORRÊA et al., 2012; CHAUDHARI et al., 2016; ERDEMIR et al., 2015; JAIN et al., 2013; SARAIVA et al., 2013; ZACARIAS et al., 2015), AgP (ERDEMIR et al., 2015; JAIN et al., 2013; SARAIVA et al., 2013) e a forma agressiva localizada (LAgP) (CHAUDHARI et al., 2016). Contudo até o presente momento não há nenhuma metanálise abordando estes polimorfismos nos pacientes com a doença.

Este polimorfismo também foi associado com a severidade de artrite reumatoide em um estudo caso controle anterior (PARADOWSKA-GARYCKA et al., 2010) bem como os polimorfismos rs2275913 no gene da IL-17A e rs3748067 no gene da IL-17F acarretando elevado risco de câncer gástrico em pacientes chineses com infecção por *Helicobacter pylori* (ZHANG et al., 2014). O exato papel destes polimorfismos em doenças inflamatórias ou periodontite permanece desconhecido. Contudo, estas

associações indicam a possível influência destas variações genéticas na expressão molecular da IL-17.

Também, os resultados acerca dos polimorfismos nos genes das IL-17A e IL-17F e o risco de periodontite são contraditórios necessitando de uma melhor abordagem. Portanto, devido à falta dessa informação, o presente estudo objetivou realizar uma metanálise para avaliar a associação entre o polimorfismo rs2275913 na IL-17A e o polimorfismo rs763780 na IL-17F e a periodontite.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esta metanálise seguiu as recomendações do protocolo PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) (MOHER et al., 2009).

Critérios de escolha

Os artigos foram inclusos nessa recente metanálise caso se encontrassem em todos os seguintes critérios: (1) Avaliação dos polimorfismos nos genes da IL-17A e IL-17F e periodontite; (2) Estudos fossem do tipo caso/controle; (3) Os pacientes caso receberem diagnóstico de periodontite crônica ou agressiva e o grupo controle fosse composto por indivíduos com periodonto saudável; (4) A frequência genotípica fosse documentada; (5) O diagnóstico de periodontite crônica nos pacientes fosse confirmado por meio de achados radiográficos e manifestação clínica como descrito anteriormente (PAGE; EKE, 2007) e; (6) Os pacientes alocados na análise alélica ou genotípica não apresentassem gravidez ou desordens sistêmicas tais como diabetes ou doença autoimune.

Estratégia de busca

Uma busca na literatura foi realizada por dois investigadores para estudos que abordassem a associação entre os polimorfismos rs2275913 e rs76780 nos genes das interleucinas 17A e 17F com doença periodontal. China DATABASE, *Google Scholar*, *PubMed* e *Web of Science* foram as bases de dados médicas e científicas usadas na busca. A seguinte combinação de palavras ou descritores (MeSH) foram usados: [(*interleukin* ou *cytokine* ou *interleukin 17A* ou *IL17A* ou *interleukin 17F* ou *IL-17F*) e (*genetic variation* ou *rs2275913 polymorphism* ou *-197A/G polymorphism* ou *rs763780 polymorphism* ou *-7488 T/C polymorphism* ou *His161Arg polymorphism*) e (*periodontitis* ou *periodontal disease* ou *chronic periodontitis* ou *aggressive periodontitis*)]. Não houve restrição de linguagem na estratégia de busca que abordou estudos publicados anteriormente a 25 de agosto de 2016. Os resumos dos estudos

encontrados, bem como suas referências, foram avaliadas pelos investigadores para identificar potenciais estudos adicionais.

Processo de coleta dos dados

Dois investigadores independentes revisaram todos os estudos e extraíram os dados usando um formulário padronizado. Os dados foram coletados sobre o primeiro autor, ano de publicação, etnia, país, modelo de estudo, polimorfismo ou polimorfismos avaliados, se as frequências alélicas e genótípicas estavam de acordo com o Equilíbrio de *Hardy Weinberg* (HWE) e subgrupos de estudo. Para medir a qualidade dos estudos inclusos, os protocolos para revisões sistemáticas em estudos de associação genética em periodontia propostos por Nibali (2013) foram usados, estudos com menos de 10 escores de pontuação foram excluídos.

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada com o uso do *software Review Manager* (versão 5.2, *RevMan*, *Nordic Cochrane Centre*, *The Cochrane Collaboration*, 2012) e os vies de publicação com o *software* estatístico *Comprehensive Meta-analysis* (versão 3.3.070, 2014) disponível como na versão teste.

O teste do qui quadrado baseado no teste Q (I^2) foi usado para quantificar a presença de heterogeneidade com avaliação do *Funnel plot* para heterogeneidade. Quando os valores de I^2 não foram estatisticamente significativos ($I^2 < 50\%$, $P > 0,05$) o modelo de efeito fixo foi utilizado para estimar o valor de *Odds Ratio* (OR) agrupado. Por outro lado, quando a heterogeneidade foi significativa ($I^2 > 50\%$, $P < 0,05$) o modelo de efeitos aleatórios foi usado para cálculo de OR. Em ambos os métodos o valor de $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Seis modelos genéticos foram avaliados considerando “M” como alelo mutado e “m” como alelo selvagem: (I) alelo M *versus* alelo m, (II) alelo m *versus* alelo M, (III) genótipo MM *versus* genótipo mm, (IV) genótipo mm *versus* genótipo MM, (V) genótipo MM *versus* genótipos mm + Mm e (VI) genótipo Mm *versus* genótipos MM + mm. O teste de *Begg* e o teste de regressão linear de *Egger* ($P < 0,05$) foram usados para avaliar potenciais vies de publicação das associações tragas e a assimetria no gráfico de *Funnel plot* também foi considerada. Além disso, uma análise sensitiva foi realizada para testar a validade dos resultados agrupados por omissão de um estudo incluso por vez para detectar efeitos individuais nas análises gerais. Todos os dados nos estudos foram dados dicotômicos expressos como OR com 95% de intervalo de confiança (IC) para medir a associação entre os polimorfismos nos genes das IL-17A e IL-17F e periodontite.

RESULTADOS

Busca sistemática na literatura e características dos estudos incluídos

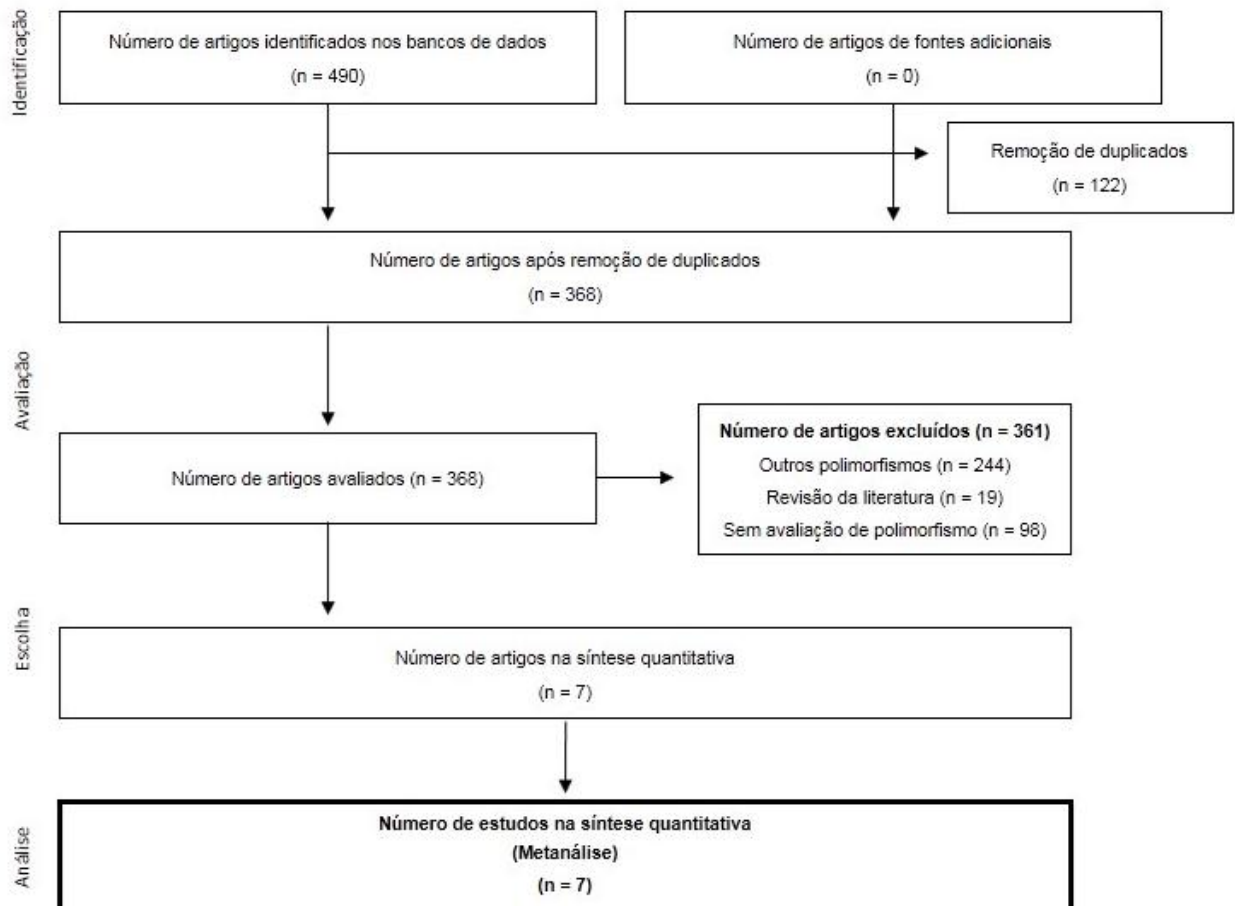
Ao final da busca sistemática na literatura, sete artigos com dez estudos (BORILOVA LINHARTOVA et al., 2016; CHAUDHARI et al., 2016; CORRÊA et al., 2012; ERDEMIR et al., 2015; JAIN et al., 2013; SARAIVA et al., 2013; ZACARIAS et al., 2015) foram identificados conforme mostrados na figura 1. 885 pacientes caso (697 pacientes diagnosticados com periodontite crônica e 188 pacientes diagnosticados com periodontite agressiva) e 655 pacientes controle estão envolvidos na síntese quantitativa (metanálise). Os artigos foram publicados entre 2012 e 2016 e avaliaram os polimorfismos em das formas da periodontite: a periodontite crônica e/ou a periodontite agressiva. Quatro artigos (CHAUDHARI et al., 2016; ERDEMIR et al., 2015; JAIN et al., 2013; SARAIVA et al., 2013) avaliaram ambas as formas da doença e apenas três avaliaram a periodontite crônica (BORILOVA LINHARTOVA et al., 2016; CORRÊA et al., 2012; ZACARIAS et al., 2015). Três artigos (CORRÊA et al., 2012; SARAIVA et al., 2013; ZACARIAS et al., 2015) foram compostos da análise realizada em população miscigenada, mais especificamente em Brasileiros e três artigos (BORILOVA LINHARTOVA et al., 2016; SARAIVA et al., 2013; ZACARIAS et al., 2015) dividiram seus participantes em grupos de fumantes e não fumantes; nenhum dos estudos estratificou os pacientes por gênero. Setes estudos estiveram de acordo com o HWE, e por outro lado, três estiveram fora do HWE. A tabela 1 mostra as principais características dos estudos e a quantificação dos scores de qualidade dos estudos inclusos (NIBALI, 2013). Todos os artigos se encontraram na medida mínima de escore de qualidade (10), contudo nenhum deles atingiu o escore máximo (20) nesta escala binária. Três artigos (CORRÊA et al., 2012; SARAIVA et al., 2013; ZACARIAS et al., 2015) analisaram ambos os polimorfismos nos genes IL-17A e IL-17F totalizando dois diferentes estudos em cada. Portanto, sete artigos com dez estudos compuseram a metanálise.

Metanálise do polimorfismo rs2275913 no gene da IL-17A e periodontite

Cinco artigos (BORILOVA LINHARTOVA et al., 2016; CHAUDHARI et al., 2016; CORRÊA et al., 2012; SARAIVA et al., 2013; ZACARIAS et al., 2015) focaram na avaliação do polimorfismo rs2275913 no gene da IL-17A e periodontite. Os resultados evidenciaram a não associação significativa entre o alelo mutado e o risco de CP ou

AgP como mostrado nas figuras 2A e 2B (OR = 1,56, 95% IC: 0,77, 3,15, P=0,21; OR = 1,12, 95% IC: 0,05, 23,44, P=0,94, respectivamente).

Figura 1. Fluxograma para identificação e seleção dos estudos incluídos nesta recente metanálise



Para ambos os resultados, o modelo estatístico de efeitos aleatórios foi usado para cálculo de OR devido elevada heterogeneidade ($I^2 = 88\%$, $P < 0,00001$ e $I^2 = 96\%$, $P < 0,00001$, respectivamente). Na população miscigenada, não houve associação significativa entre o polimorfismo rs2275913 no gene da IL-17A e CP na avaliação do alelo mutado ($P = 0,60$). A tabela 2 mostra os cálculos obtidos da metanálise para o polimorfismo anteriormente citado e periodontite em todas as avaliações alélicas e genotípicas, bem como na análise estratificada por população e condição de fumante.

Tabela 1. Características dos estudos incluídos na síntese quantitativa (metanálise)

Primeiro Autor e Referência	Ano	Etnia	País	Modelo de Estudo	Tamanho amostral
Corrêa	2012	Miscigenada	Brasil	C/Cc	30/30 (CP)
Jain	2013	Asiáticos	Índia	C/Cc	63/101 (CP) 61/101 (AgP)
Saraiva	2013	Miscigenada	Brasil	C/Cc	85/72 (CP) 45/72 (AgP)
Erdemir	2015	Caucasianos	Turquia	C/Cc	90/90 (CP) 57/90 (AgP)
Zacarias	2015	Miscigenada	Brasil	C/Cc	140/173 (CP)
Borilova Linhartova	2016	Caucasianos	República Tcheca	C/Cc	244/154 (CP)
Chaudhari	2016	Asiáticos	India	C/Cc	35/35 (CP) 35/35 (AgP)
Primeiro Autor e Referência	Polimorfismo	HWE	Idade	Subgrupo de Estudo	Escore
Corrêa	rs2275913 rs763780	Não Sim	40.5±8.1/45.5±8.7 37.56/Dados ausentes	CP-Saudável	14
Jain	rs763780	Sim	25.29/Dados ausentes	CP-Saudável AgP-Saudáveis	13
Saraiva	rs2275913 rs763780	Sim Sim	49/31 34/31	CP-*Saudáveis AgP-Saudáveis	14
Erdemir	rs763780	Sim	47.3±2.3/34.7±1.2 39.6±1.8/34.7±1.2	CP-Saudáveis AgP-Saudáveis	12
Zacarias	rs2275913 rs763780	Sim Não	47.0±9.2/45.6±9.2	*CP-Saudáveis	14
Borilova Linhartova	rs2275913	Sim	52.5±9.8/48.5±10.7	*CP-Saudável	13
Chaudhari	rs2275913	Não	21.2±4.6/37.2±4.2	CP-Saudáveis AgP-Saudáveis	13

* Estudo com fumantes-não fumantes, Miscigenada – Brasileiros e outras etnias, C – Caso, Cc – Controle, CP – Periodontite crônica, AgP – Periodontite agressiva, HWE – Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Metanálise do polimorfismo rs763780 no gene da IL-17F e periodontite

Avaliando a influência do polimorfismo rs763780 no gene da IL-17F e a doença, cinco artigos (CORRÊA et al., 2012; ERDEMIR et al., 2015; JAIN et al., 2013; SARAIVA et al., 2013; ZACARIAS et al., 2015) foram incluídos na metanálise. A tabela 2 mostra a análise estratificada do polimorfismo por periodontite crônica e periodontite agressiva. Não houve associação significativa entre o polimorfismo rs763780 no gene da IL-17F e CP (Figura 2C) (OR = 1,19, 95% IC: 0,80, 1,76, P=0,39) ou AgP (Figura 2D) (OR = 1,07, 95% IC: 0,63, 1,84, P=0,79), o modelo estatístico de efeito fixo foi usado para cálculo de OR devido os menores valores de heterogeneidade e a não significância estatística ($I^2 = 13\%$, $P=0,33$ e $I^2 = 0\%$, $P=0,94$). A tabela 3 traz todos os cálculos

alélicos e genotípicos para o polimorfismo rs763780 no gene da IL-17F e periodontite com avaliação estratificada por forma da doença, população e fumantes.

Viés de publicação e análise sensítiva

Para avaliar o efeitos individual dos estudos, uma análise sensitive foi realizada omitindo cada um dos estudos por vez para medir o seu impacto nos valores de OR agrupados. Nenhum estudo em particular mudou o valor de OR agrupado, o que sugere que os resultados desta metanálise são acurados. Nenhum viés de publicação foi encontrado nesta metanálise pelo teste de *Begg* e pelo teste de regressão linear de *Egger* para a avaliação alélica no polimorfismo rs2275913 e CP ($P=0,462$ e $P=0.332$, respectivamente) e no polimorfismo rs763780 e CP ($P=0.806$ e $P=0.786$, respectivamente) ou AgP ($P=1.000$ e $P=0.910$, respectivamente). De fato, não houve assimetria no gráfico de *Funnel plot* validando os testes realizados (Figura 3). A avaliação de viés de publicação para o polimorfismo rs2275913 e AgP/LAgP não foi possível devido o pequeno número de estudos incluídos na análise ($n = 2$).

DISCUSSÃO

Variações genéticas em citocinas são responsáveis por mudanças no padrão de expressão gênica destes mediadores inflamatórios (LAINE; CRIELAARD; LOOS, 2012). Por exemplo, uma metanálise focada na IL-10 e mostrou informação importante sobre um polimorfismo dentro do gene desta citocina e a susceptibilidade a periodontite (ALBUQUERQUE et al., 2012). Um pequeno número de estudos focaram na avaliação dos polimorfismo rs2275913 e rs763780 em pacientes com doença periodontal. Consequentemente, devido a inconsistência nos resultados e alguns limitados estudos disponíveis, esta metanálise foi realizada. Apesar do limitado número de estudos inclusos, o uso dos protocolos pra avaliação dos estudos sugeridos demonstraram a aceitável qualidade dos estudos nesta metanálise (tabela 1).

Tabela 2. Metanálise de associação entre o polimorfismo rs227913 no gene da IL-17A e rs763780 no gene da IL-17 e periodontite (comparações alélicas e genotípicas e análise estratificada)

Variável	Comparação	Caso/ Controle	M versus m		m versus M	
rs2275913	(n)		OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral (CP)	5	411/396	1.56 (0.77, 3.15)	0.21	0.64 (0.32, 1.29)	0.21
Geral (AgP)	2	60/85	1.12 (0.05, 23.44)	0.94	0.89 (0.04, 18.69)	0.94
Miscigenada (CP)	3	132/207	1.31 (0.47, 3.61)	0.60	0.76 (0.28, 2.11)	0.60
Fumantes (CP)	3	179/102	0.93 (0.45, 1.90)	0.84	1.08 (0.53, 2.22)	0.84
Variável	Comparação	Caso/ Controle	MM versus mm		mm versus MM	
rs2275913	(n)		OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral (CP)	5	411/396	1.73 (1.13, 2.65)	0.01	0.58 (0.38, 0.89)	0.01
Geral (AgP)	2	60/85	2.53 (1.05, 6.05)	0.04	0.40 (0.17, 0.95)	0.04
Miscigenada (CP)	3	132/207	1.82 (0.93, 3.55)	0.80	0.55 (0.28, 1.08)	0.80
Fumantes (CP)	3	179/102	0.91 (0.18, 4.52)	0.91	1.10 (0.22, 5.42)	0.91
Variável	Comparação	Caso/ Controle	MM versus Mm/mm		Mm versus mm/MM	
rs2275913	(n)		OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral (CP)	5	411/396	1.60 (1.06, 2.39)	0.02	0.86 (0.65, 1.15)	0.32
Geral (AgP)	2	60/85	1.74 (0.75, 4.03)	0.20	1.07 (0.51, 2.24)	0.85
Miscigenada (CP)	3	132/207	1.60 (0.84, 3.04)	0.15	0.85 (0.55, 1.32)	0.47
Fumantes (CP)	3	179/102	0.95 (0.42, 2.17)	0.90	0.83 (0.50, 1.36)	0.45

CP – Periodontite crônica, AgP – Periodontite agressiva, Miscigenada – Brasileiros e outras etnias, M – alelo mutado, m – alelo selvagem, OR – Odds Ratio, IC – Intervalo de confiança, Valores em negrito – modelo de efeitos aleatórios utilizado

Devido o número limitado de estudos nas etnias Caucasiana e Asiática para cada polimorfismo (n=1) uma análise estratificada baseada nestas populações não pode ser realizada bem como a análise estratificada considerando as formas agressiva e agressiva localizada na variação o gene da IL-17 A. Portanto, os estudos compostos por ambas estas formas de periodontite, levando em consideração o aspecto agressivo da doença, foram agregados na metanálise.

A frequência do alelo raro (MAF) do polimorfismo rs2275913 (alelo selvagem) foi descrito com valor de 0.38, 0,38 e 0,216 na etnia Caucasiana, população do sul da Ásia e Americanos, respectivamente. De fato, a frequência do alelo A no polimorfismo rs2275913 foi significativamente baixa ($P < 0,05$) quando comparado ao alelo G em um anterior estudo em pacientes caucasianos da Noruega com artrite reumatoide (NORDANG et al., 2009) e periodontite (ZACARIAS et al., 2015).

Por outro lado, no polimorfismo rs763789, a MAF (alelo mutado) foi descrito com valor de 0,058, 0,091 e 0,061 na na etnia Caucasiana, população do sul da Ásia e

Americanos, respectivamente. Saraiva et al. (2013) trouxeram resultados similares acerca da frequência alélica deste polimorfismo na IL-17F em pacientes brasileiros com periodontite. Mais estudos de genética populacional são requeridos para melhor analisar estes polimorfismos dentro de diversos grupos étnicos.

Tabela 3. Metanálise de associação entre o polimorfismo rs763780 no gene da IL-17 e periodontite (comparações alélicas e genotípicas e análise estratificada)

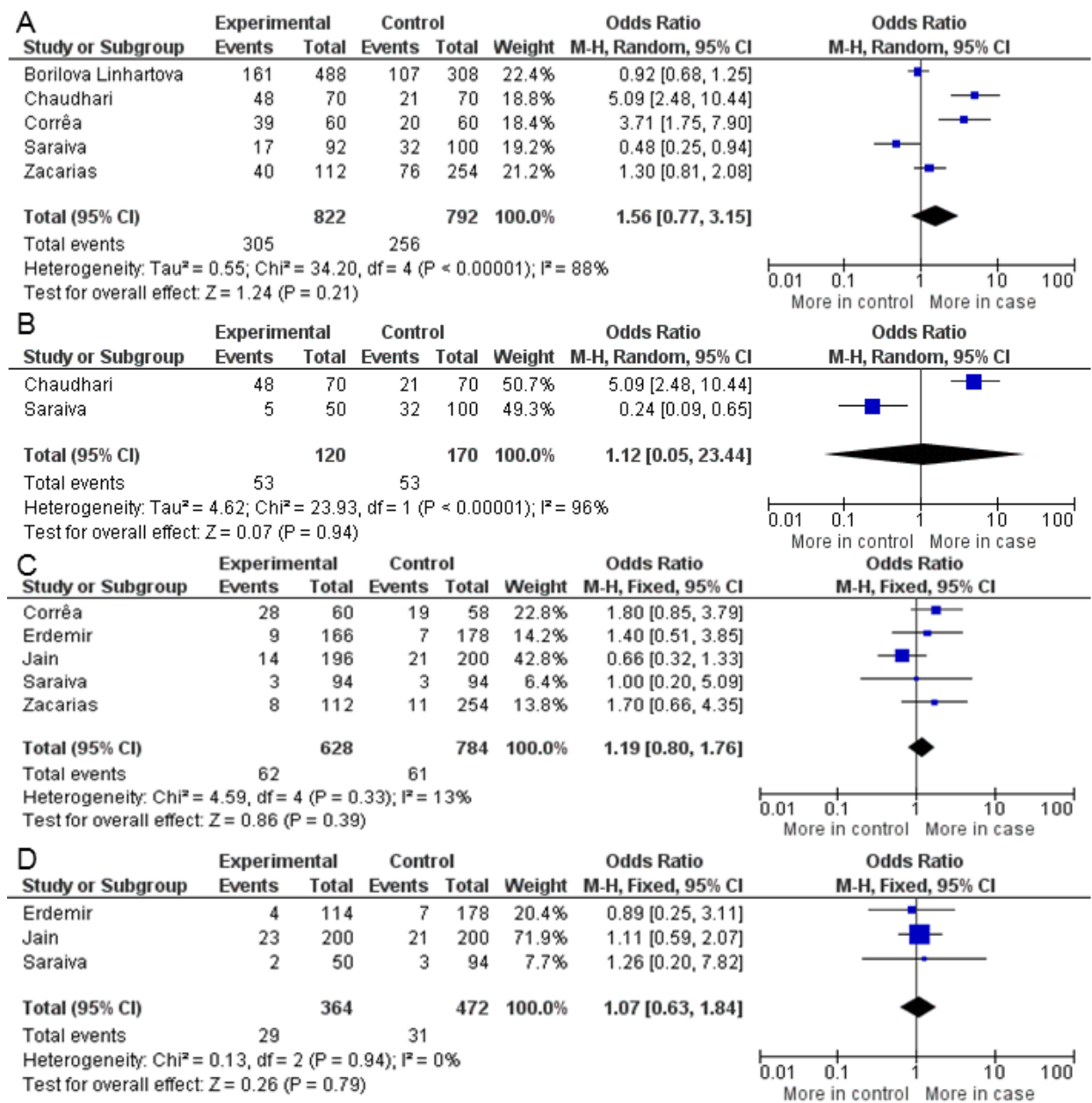
Variável	Comparação	Caso/ Controle	M versus m		m versus M	
rs763780	(n)		OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral (CP)	5	314/392	1.19 (0.80, 1.76)	0.39	0.84 (0.57, 1.25)	0.39
Geral (AgP)	3	182/236	1.07 (0.63, 1.84)	0.79	0.93 (0.54, 1.59)	0.79
Miscigenada (CP)	3	133/203	1.65 (0.95, 2.85)	0.08	0.61 (0.35, 1.05)	0.08
Fumantes (CP)	2	115/58	0.89 (0.32, 2.50)	0.82	1.13 (0.40, 3.17)	0.82
Variável	Comparação	Caso/ Controle	MM versus mm		mm versus MM	
rs763780	(n)		OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral (CP)	5	314/392	2.17 (0.78, 6.03)	0.14	0.46 (0.17, 1.28)	0.14
Geral (AgP)	3	182/236	0.52 (0.02, 13.01)	0.69	1.92 (0.08, 48.06)	0.69
Miscigenada (CP)	3	133/203	2.42 (0.80, 7.29)	0.12	0.41 (0.14, 1.25)	0.12
Fumantes (CP)	2	115/58	NO	-	NO	-
Variável	Comparação	Caso/ Controle	MM versus Mm/mm		Mm versus mm/MM	
rs763780	(n)		OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral (CP)	5	314/392	0.66 (0.37, 1.16)	0.15	1.28 (0.69, 2.39)	0.44
Geral (AgP)	3	182/236	0.51 (0.02, 12.81)	0.68	1.27 (0.42, 3.81)	0.67
Miscigenada (CP)	3	133/203	0.65 (0.34, 1.26)	0.20	1.19 (0.57, 2.48)	0.65
Fumantes (CP)	2	115/58	0.47 (0.05, 4.53)	0.52	1.31 (0.44, 3.90)	0.62

CP – Periodontite crônica, AgP – Periodontite agressiva, Miscigenada – Brasileiros e outras etnias, M – alelo mutado, m – alelo selvagem, OR – Odds Ratio, IC – Intervalo de confiança, Valores em negrito – modelo de efeitos aleatórios utilizado, NO – Não obtido por limitação estatística

O polimorfismo rs2275913 no gene da IL-17A foi indicado como fator de proteção contra periodontite crônica em população Brasileira (SARAIVA et al., 2013). Entretanto, um recente estudo também avaliou este polimorfismo e trouxe resultados contraditórios em que o alelo A foi associado a periodontite crônica nesta população

(ZACARIAS et al., 2015). Corroborando com este achado, a metanálise mostrou que o genótipo AA para o polimorfismo no gene da IL-17A foi associado ao elevado risco de periodontite crônica (OR = 1,73, 95% IC: 1,13, 2,65, P=0,01).

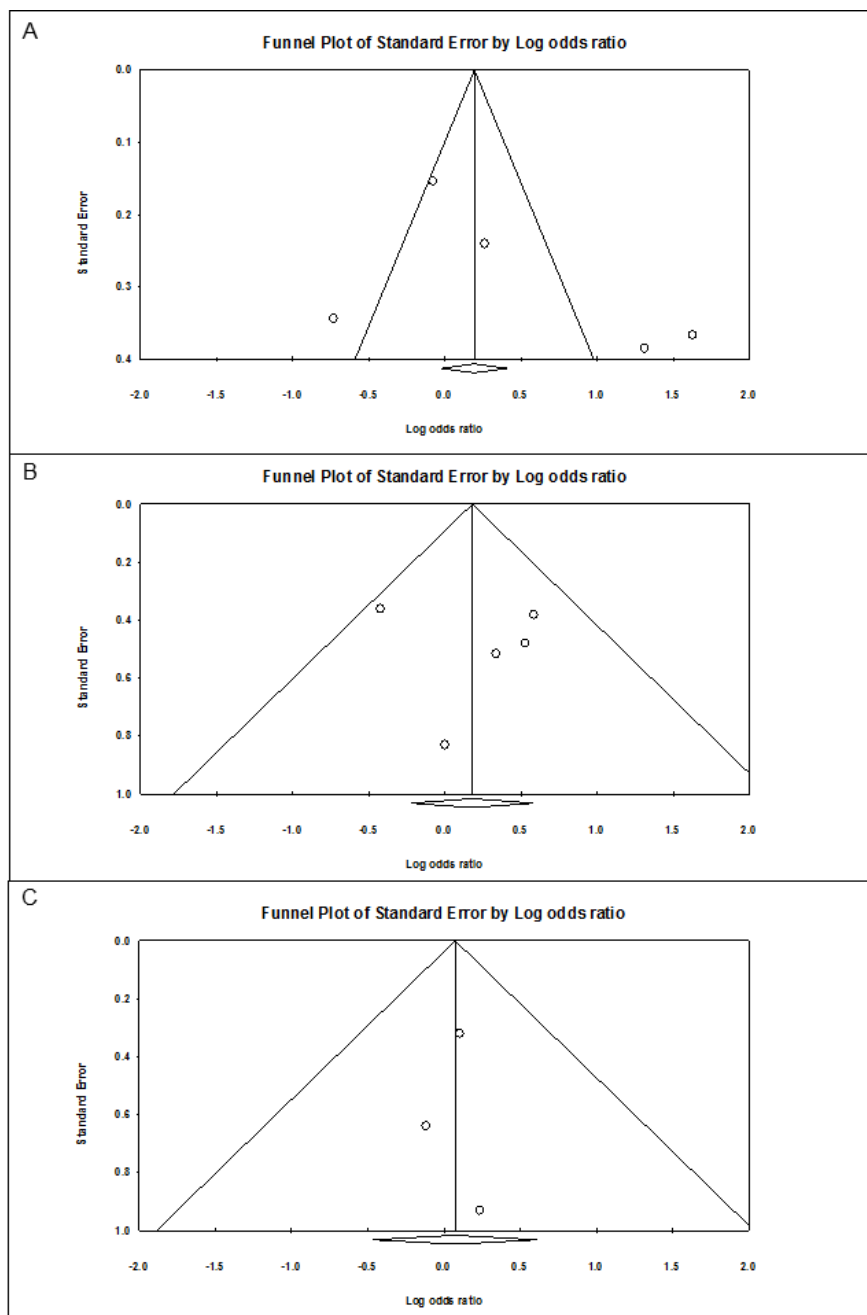
Figura 2. **A** *Forest plot* de comparação para o alelo mutado *versus* o alelo selvagem no polimorfismo rs2275913 e periodontite crônica e **(B)** agressiva. **C** *Forest plot* de comparação para o alelo mutado *versus* o alelo selvagem no polimorfismo rs763780 e periodontite crônica e **(D)** agressiva



O possível papel das IL-17A e IL17F foi explorado em resultados em que estas interleucinas demonstraram ser responsáveis pelo recrutamento de neutrófilos por

meio da indução de diversos mediadores inflamatórios tais como metaloproteinases de matriz, fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-6 e interleucina-8 (CHENG et al., 2014). Células T CD4⁺ expressam ambas as moléculas em sua superfície celular (LANGRISH et al., 2005).

Figura 3. (A) *Funnel plot* para viés de publicação na avaliação alélica do polimorfismo rs2275913 no gene IL-17A e periodontite crónica, (B) do polimorfismo rs763780 no gene IL-17F e periodontite crónica (C) e do polimorfismo 763780 no gene IL-17F e periodontite agressiva.



Além disso, a expressão de IL-17A foi mais elevada em lesões periodontais localizadas adjacentes ao sítio de reabsorção óssea que em controles ($P=0,0077$) (OHYAMA et al., 2009), com a perda óssea sendo orquestrada por estimulação de IL-17 (SATO et al., 2006). A produção de IL-17 foi estimulada por *Porphyromonas gingivalis* em cultura de células dependentes da sinalização de IL-1B, indicando que periodontopatógenos podem ativar células inflamatórias por aumento na secreção de IL-17 na periodontite (CHENG et al., 2016). Polimorfismos nesses genes podem influenciar na progressão da periodontite.

Ao avaliar o polimorfismo rs763780 no gene da IL-17F e periodontite, os resultados também demonstraram uma não associação significativa entre o polimorfismo e a doença em nenhuma comparação calculada (Tabela 3). Para calcular o valor de Odds Ratio agrupado na análise, o modelo estatístico de efeito fixo foi usado devido a não interferência de heterogeneidade ($I^2 < 50\%$, $P_{\text{heterogeneidade}} > 0,05$) em oposição à avaliação alélica no polimorfismo rs2275913 e periodontite crônica que foi calculada pelo modelo de efeitos aleatórios. O modelo de efeito fixo assume que todos os estudos compartilham o mesmo efeito de tamanho amostral e, por outro lado, o modelo de efeitos aleatórios permite diferentes efeitos de tamanho (BORENSTEIN et al., 2010).

De fato, o uso dos efeitos aleatórios nos cálculos de metanálise podem resultar em maior peso para estudos contendo pequeno tamanho amostral, o que pode não ser totalmente confiável (KAVVOURA; IOANNIDIS, 2008). Portanto o uso de efeito fixo torna os resultados acurados.

Na avaliação da forma agressiva da periodontite, nem o polimorfismo na IL-17A nem o polimorfismo na IL-17F foram significativamente associados com a doença (Tabela 2 e Tabela 3). Os resultados podem ser sido influenciados por viés quanto ao limitado número de estudos incluídos na síntese quantitativa. Elevados níveis de IL-17 em pacientes com periodontite agressiva foram relatados na literatura, bem como decréscimo nos valores dos níveis dessa interleucina após tratamento periodontal por métodos não cirúrgicos (CIFCIBASI et al., 2015).

O valor de associação entre o genótipo AA no polimorfismo rs2275913 e o risco de periodontite foi significativamente elevado (OR = 2,53, 95% IC: 1,05, 6,05, $P=0,04$) corroborando com estudos que demonstraram uma significativa associação com o alelo A neste polimorfismo e a forma agressiva da doença (CHAUDHARI et al., 2016).

Uma análise estratificada sobre etnia foi realizada e os resultados na população miscigenada revelaram uma significativa associação entre os polimorfismos avaliados e o risco de periodontite em qualquer comparação ($P > 0,05$). É importante notar que a população mista nessa análise foi composta exclusivamente por Brasileiros. Variações na população Brasileira foram claramente descritas na literatura com alto grau de miscigenação de ancestrais ameríndios, africanos e/ou europeus (GIOLO et al., 2012). Um pequeno número de estudos inclusos nessa análise pode representar uma limitação para o cálculo de OR agrupado, embora esses resultados sejam acurados pelo uso do modelo de efeito fixo em resposta ao decréscimo no valor de I^2 . Para melhor entendimento sobre os polimorfismos rs2275913 e rs763780 nos genes da IL-17A e IL-17F respectivamente, uma análise abordando a condição de fumante evidenciou uma associação não significativa com a periodontite crônica (Tabela 2 e Tabela 3). Estes resultados estão de acordo com um estudo anterior que prova uma correlação negativa entre a quantidade de cigarros fumados por dia e os níveis de IL-17A em amostras de tecido gengival de fumantes com periodontite crônica ($-0,13$, $P_{Pearson} < 0,05$) (SOUTO et al., 2014).

A presente metanálise é a primeira a abordar esses polimorfismos na IL-17A e IL-17F com periodontite. Contudo, algumas limitações devem ser notadas. Primeiro, o número limitado de estudos inclusos pode ser a razão da não associação significativa encontrado nos cálculos de OR agrupado, mais estudos são necessários com aumento no número total de pacientes caso e controles que tragam resultados robustos e assim validem os dados. Além disso, o valor não significativo de P nem sempre representa relevância clínica (CHAMBRONE; ARMITAGE, 2016), assim, estes valores devem ser considerados com cautela. Segundo, o pequeno número de estudos avaliando a forma agressiva da periodontite impediu a análise completa sobre viés de publicação para o polimorfismo rs2275913 (Tabela 3). Terceiro, a periodontite é uma doença imune complexa com a combinação de diversos fatores tais como: idade, gênero, higiene oral, uso de bebidas alcoólicas, etnia e variação genética. Uma completa análise estratificada considerando outros fatores com influência sobre o desenvolvimento, progresso e dano da periodontite não foi possível devido os limitados dados fornecidos pelos estudos. A abordagem desses fatores com esclarecer a influência dos polimorfismos nos genes da IL-17A e IL-17F e o risco de periodontite.

Em conclusão, esta metanálise com sete artigos em 697 pacientes diagnosticados com periodontite crônica, 188 pacientes diagnosticados com periodontite agressiva e 655 pacientes controles totalizando 1.540 participantes mostrou a associação não significativa entre o polimorfismo rs2275913 no gene da IL-17A e o polimorfismo rs763780 no gene da IL-17F e o risco de periodontite crônica ($P=0,21$; $P=0,39$, respectivamente), de periodontite agressiva ($P=0,94$; $P=0,79$, respectivamente), em população miscigenada ($P=0,60$; $P=0,08$, respectivamente) e em fumantes com periodontite crônica ($P=0,84$; $P=0,82$, respectivamente) em todas as avaliações alélicas, bem como nas demais comparações ($P>0,05$).

AGREDECIMENTOS

A Universidade Federal do Piauí apoiou este estudo (UFPI – Edital PIBIC 2014/2015), CNPq (455104/2014-0)

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

FRPS, ACCGV, WAL E DFPV contribuíram na ideia, modelo, coleta dos dados, análise estatística e elaboração do manuscrito. Todos os autores aprovaram a versão final da submissão.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declararam não haver conflito de interesse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, C. M. et al. Association of the IL-10 polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 10, p. 9319-9329, 2012. APA

AZMAN, R. et al. Clinical associations between IL-17 family cytokines and periodontitis and potential differential roles for IL-17A and IL-17E in periodontal immunity. **Inflammation Research**, v. 63, n. 12, p. 1001-1012, 2014.

BENEDETTI, G.; MIOSSEC, P. Interleukin 17 contributes to the chronicity of inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis. **European journal of immunology**, v. 44, n. 2, p. 339-347, 2014.

BORENSTEIN, M. et al. A basic introduction to fixed-effect and random-effects models for meta-analysis. **Research Synthesis Methods**, v. 1, n. 2, p. 97-111, 2010.

- BORILOVA LINHARTOVA, P. et al. Interleukin-17A gene variability in patients with Type 1 diabetes mellitus and chronic periodontitis: its correlation with IL-17 levels and the occurrence of periodontopathic bacteria. **Mediators of inflammation**, v. 2016, 2016.
- BUDUNELI, N.; BUDUNELI, E.; KÜTÜKÇÜLER, N.. Interleukin-17, RANKL, and osteoprotegerin levels in gingival crevicular fluid from smoking and non-smoking patients with chronic periodontitis during initial periodontal treatment. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 8, p. 1274-1280, 2009.
- CARINCI, F. et al. Genetic Risk Assessment of Periodontal Disease in Healthy Patients. **Journal of Forensic Research**, v. 6, n. 1, p. 1, 2015.
- CHAMBRONE, L.; ARMITAGE, G. C. Commentary: Statistical Significance Versus Clinical Relevance in Periodontal Research: Implications for Clinical Practice. **Journal of periodontology**, v. 87, n. 6, p. 613-616, 2016.
- CHAUDHARI, H. L. et al. Association of Interleukin-17 polymorphism (-197G/A) in chronic and localized aggressive periodontitis. **Brazilian oral research**, v. 30, n. 1, 2016.
- CHENG, W-C. et al. Periodontitis-associated pathogens *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* activate human CD14+ monocytes leading to enhanced Th17/IL-17 responses. **European Journal of Immunology**, v. 46, n. 9, p. 2211-2221, 2016.
- CHENG, W-C.; HUGHES, F. J.; TAAMS, L. S. The presence, function and regulation of IL-17 and Th17 cells in periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 41, n. 6, p. 541-549, 2014.
- CIFCIBASI, E. et al. Evaluation of local and systemic levels of interleukin-17, interleukin-23, and myeloperoxidase in response to periodontal therapy in patients with generalized aggressive periodontitis. **Inflammation**, v. 38, n. 5, p. 1959-1968, 2015.
- CORRÊA, J. D. et al. Association between polymorphisms in interleukin-17A and-17F genes and chronic periodontal disease. **Mediators of inflammation**, v. 2012, 2012.
- SILVA, F. R. P. et al. Relationship between-889 C/T polymorphism in interleukin-1A gene and risk of chronic periodontitis: Evidence from a meta-analysis with new published findings. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 22, n. 1, p. e7-e14, 2017.
- DENG, J-S. et al. Association between interleukin-1 β C (3953/4) T polymorphism and chronic periodontitis: evidence from a meta-analysis. **Human immunology**, v. 74, n. 3, p. 371-378, 2013.
- ERDEMIR, E. et al. Interleukin (IL)-17F (H161R) and IL-23R (R381Q) Gene Polymorphisms in Turkish Population with Periodontitis. **Journal of Research in Medical and Dental Science**, v. 3, n. 2, p. 104-108, 2017.

- FABRIZI, S. et al. Variability of the fimA gene in Porphyromonas gingivalis isolated from periodontitis and non-periodontitis patients. **Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal**, v. 18, n. 1, p. e100, 2013.
- GENCO, R. J. Current view of risk factors for periodontal diseases. **Journal of periodontology**, v. 67, n. 10s, p. 1041-1049, 1996.
- GIOLO, S. R. et al. Brazilian urban population genetic structure reveals a high degree of admixture. **European Journal of Human Genetics**, v. 20, n. 1, p. 111-116, 2012.
- JAIN, N. et al. Association of interleukin-4 and interleukin-17F polymorphisms in periodontitis in Dravidian ethnicity. **Indian journal of human genetics**, v. 19, n. 1, p. 58, 2013.
- JIANG, L. et al. Association between cyclooxygenase-2 gene polymorphisms and risk of periodontitis: a meta-analysis involving 5653 individuals. **Molecular biology reports**, v. 41, n. 7, p. 4795-4801, 2014.
- JIN, W.; DONG, C.. IL-17 cytokines in immunity and inflammation. **Emerging microbes & infections**, v. 2, n. 9, p. e60, 2013.
- JUNG, Y.-J. et al. Tannerella forsythia GroEL induces inflammatory bone resorption and synergizes with interleukin-17. **Molecular Oral Microbiology**, 2016.
- KAVVOURA, F K.; IOANNIDIS, J. P. A. Methods for meta-analysis in genetic association studies: a review of their potential and pitfalls. **Human genetics**, v. 123, n. 1, p. 1-14, 2008.
- KRAMER, J. M.; GAFFEN, S. L. Interleukin-17: a new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy. **Journal of periodontology**, v. 78, n. 6, p. 1083-1093, 2007.
- LAINE, M. L.; CRIELAARD, W.; LOOS, B. G. Genetic susceptibility to periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 58, n. 1, p. 37-68, 2012.
- LANGRISH, C. L. et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. **Journal of Experimental Medicine**, v. 201, n. 2, p. 233-240, 2005.
- LEE, Y. H.; BAE, S-C. Associations between circulating IL-17 levels and rheumatoid arthritis and between IL-17 gene polymorphisms and disease susceptibility: a meta-analysis. **Postgraduate Medical Journal**, p. postgradmedj-2016-134637, 2017.
- LI, Zhi-Gang et al. Interleukin-18 promoter polymorphisms and plasma levels are associated with increased risk of periodontitis: a meta-analysis. **Inflammation Research**, v. 63, n. 1, p. 45-52, 2014.
- LIUKKONEN, J. et al. Salivary Concentrations of Interleukin (IL)-1 β , IL-17A, and IL-23 Vary in Relation to Periodontal Status. **Journal of Periodontology**, v. 87, n. 12, p. 1484-1491, 2016.
- LÓPEZ, R.; BAELUM, V. Periodontal disease classifications revisited. **European journal of oral sciences**, v. 123, n. 6, p. 385-389, 2015.

- MOHER, D. et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. **PLoS med**, v. 6, n. 7, p. e1000097, 2009.
- MOUTSOPOULOS, N. M. et al. Defective neutrophil recruitment in leukocyte adhesion deficiency type I disease causes local IL-17–driven inflammatory bone loss. **Science translational medicine**, v. 6, n. 229, p. 229ra40-229ra40, 2014.
- MUNAFÒ, M. R.; FLINT, J.. Meta-analysis of genetic association studies. **TRENDS in Genetics**, v. 20, n. 9, p. 439-444, 2004.
- NIBALI, L. Suggested guidelines for systematic reviews of periodontal genetic association studies. **Journal of clinical periodontology**, v. 40, n. 8, p. 753-756, 2013.
- NORDANG, G. B. N. et al. Association analysis of the interleukin 17A gene in Caucasian rheumatoid arthritis patients from Norway and New Zealand. **Rheumatology**, v. 48, n. 4, p. 367-370, 2009.
- OHYAMA, H. et al. The involvement of IL-23 and the Th17 pathway in periodontitis. **Journal of Dental Research**, v. 88, n. 7, p. 633-638, 2009.
- ÖZÇAKA, Ö.; NALBANTSOY, A.; BUDUNELI, N. Interleukin-17 and interleukin-18 levels in saliva and plasma of patients with chronic periodontitis. **Journal of periodontal research**, v. 46, n. 5, p. 592-598, 2011.
- PAGE, R. C.; EKE, P. I. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. **Journal of periodontology**, v. 78, n. 7S, p. 1387-1399, 2007.
- PARADOWSKA-GORYCKA, A. et al. Association between IL-17F Gene Polymorphisms and Susceptibility to and Severity of Rheumatoid Arthritis (RA). **Scandinavian journal of immunology**, v. 72, n. 2, p. 134-141, 2010.
- SARAIVA, A. M. et al. Evaluation of IL17A expression and of IL17A, IL17F and IL23R gene polymorphisms in Brazilian individuals with periodontitis. *Human Immunology*, v. 74, n. 2, p. 207-214, 2013.
- SATO, K. et al. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. **Journal of Experimental Medicine**, v. 203, n. 12, p. 2673-2682, 2006.
- SONG, G. G. et al. Association between tumor necrosis factor- α promoter- 308 A/G, -238 A/G, interleukin-6- 174 G/C and- 572 G/C polymorphisms and periodontal disease: a meta-analysis. **Molecular biology reports**, v. 40, n. 8, p. 5191-5203, 2013.
- SOUTO, G. R. et al. Effect of smoking on immunity in human chronic periodontitis. **Immunobiology**, v. 219, n. 12, p. 909-915, 2014.
- ZACARIAS, J. M. V. et al. The influence of interleukin 17A and IL17F polymorphisms on chronic periodontitis disease in Brazilian patients. **Mediators of inflammation**, v. 2015, 2015.
- ZHANG, X. et al. Analysis of the association of interleukin-17 gene polymorphisms with gastric cancer risk and interaction with Helicobacter pylori infection in a Chinese population. **Tumor Biology**, v. 35, n. 2, p. 1575-1580, 2014.

6. CAPÍTULO V

6.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão este trabalho composto por três artigos de metanálise com oitenta e dois estudos caso controle e 14.846 participantes demonstrou que ambos os polimorfismos -889 C/T no gene da IL-1 A e +3954 C/T no gene da IL-1B foram associados ao elevado risco de desenvolvimento de periodontite crônica na análise geral, sem valor significativo de heterogeneidade. O polimorfismo -889 C/T no gene IL-1A foi associado ao elevado risco da doença em população caucasiana mas não em asiáticos ou população miscigenada. Por sua vez o polimorfismo no gene da IL-1B foi significativamente associado ao elevado risco de desenvolvimento da doença nestas populações citadas, exceto em população africana. Não foram encontrados valores significantes de associação entre o polimorfismo no gene da IL-1A e pacientes fumantes ou não fumantes na maioria das comparações calculadas. Também não foi observada associação significativa entre os polimorfismos nos genes das IL-17 A e IL-17F e o risco de periodontite crônica ou agressiva em pacientes fumantes e não fumantes, bem como a ausência de viés de publicação em todas as metanálises calculadas.

6.2 Perspectivas

Este trabalho pode ser considerado uma pesquisa de base para o desenvolvimento de marcadores moleculares com foco no risco de desenvolvimento de periodontite. Futuramente, quando os testes genéticos tornarem-se mais acessíveis à população e mais voltados à clínica médica e odontológica, pacientes oriundos de população caucasiana, asiática e miscigenada (Brasileiros e outras etnias) poderão realizar testes genéticos para os polimorfismos que tiveram associação significativa nas presentes metanálises com a determinação do possível risco da doença e assim uma apropriada abordagem preventiva ou terapêutica. Com os resultados destas metanálises também é possível determinar o foco de futuros estudos genéticos tomando como base as limitações observadas como a não associação significativa entre o polimorfismo no gene da IL-1B e a periodontite crônica em população africana, bem como os resultados não significativos observados nos polimorfismos no gene da IL-17A e F.

6.3 Referências bibliográficas

- ABU-SALEH, T. Interleukin-1 composite polymorphism as a risk factor for chronic periodontitis: a review. **SADJ: journal of the South African Dental Association = tydskrif van die Suid-Afrikaanse Tandheelkundige Vereniging**, v. 65, n. 4, p. 160-2, 164-6, 2010.
- ADIBRAD, M. et al. Signs of the presence of Th17 cells in chronic periodontal disease. **Journal of periodontal research**, v. 47, n. 4, p. 525-531, 2012.
- AGRAWAL, A. A. et al. Assessment of single nucleotide polymorphism at IL-1A+ 4845 and IL-1B+ 3954 as genetic susceptibility test for chronic periodontitis in Maharashtrian ethnicity. **Journal of periodontology**, v. 77, n. 9, p. 1515-1521, 2006.
- AIMETTI, M. et al. Prevalence of periodontitis in an adult population from an urban area in North Italy: findings from a cross-sectional population-based epidemiological survey. **Journal of clinical periodontology**, v. 42, n. 7, p. 622-631, 2015.
- ALBANDAR, J. M. et al. Associations of serum concentrations of IgG, IgA, IgM and interleukin-1 β with early-onset periodontitis classification and race. **Journal of clinical periodontology**, v. 29, n. 5, p. 421-426, 2002.
- ALBANDAR, J. M. Underestimation of periodontitis in NHANES surveys. **Journal of periodontology**, v. 82, n. 3, p. 337-341, 2011.
- ALBUQUERQUE, C. M. et al. Association of the IL-10 polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 10, p. 9319-9329, 2012.
- ALGATE, K. et al. The effects of tumour necrosis factor- α on bone cells involved in periodontal alveolar bone loss; osteoclasts, osteoblasts and osteocytes. **Journal of periodontal research**, 2015.
- AL-HEBSHI, N. N.; SHAMSAN, A. A.; AL-AK'HALI, M. S.. Interleukin-1 two-locus haplotype is strongly associated with severe chronic periodontitis among Yemenis. **Molecular biology international**, v. 2012, 2012.
- ALI, J. et al. Autoimmune responses in periodontal diseases. **Autoimmunity Reviews**, v. 10, n. 7, p. 426-431, 2011.
- AMAYA, M. P. et al. Polymorphism of pro-inflammatory cytokine genes and the risk for acute suppurative or chronic nonsuppurative apical periodontitis in Colombian population. **Internacional Endodontic Journal**, v. 46, n. 1, p. 71-78, 2013.
- AMIRISETTY, R. et al. Interleukin 1 β (+3954, -511 and -31) polymorphism in chronic periodontitis patients from North India. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 73, n. 5, p. 343-347, 2015.
- ANDIA, D. C. et al. Genetic analysis of the IL8 gene polymorphism (rs4073) in generalized aggressive periodontitis. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 2, p. 211-217, fev. 2013.
- ANUSAKSATHIEN, O. et al. Distribution of Interleukin-1 β + 3954 and IL-1 α -889 genetic variations in a Thai population group. **Journal of periodontology**, v. 74, n. 12, p. 1796-1802, 2003.

- ARCHANA, P. M. et al. Association between interleukin-1 gene polymorphism and severity of chronic periodontitis in a south Indian population group. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 16, n. 2, p. 174, 2012.
- ARMINGOHAR, Z. et al. Polymorphisms in the Interleukin-1 Gene Locus and Chronic Periodontitis in Patients with Atherosclerotic and Aortic Aneurysmal Vascular Diseases. **Scandinavian journal of immunology**, v. 79, n. 5, p. 338-345, 2014.
- AUERKARI, E. I. et al. CRP and IL-1B gene polymorphisms and CRP in blood in periodontal disease. **The open dentistry journal**, v. 7, p. 88, 2013.
- AY, Z. Y. et al. The impact of the IL-11: IL-17 ratio on the chronic periodontitis pathogenesis: a preliminary report. **Oral diseases**, v. 15, n. 1, p. 93-99, 2009.
- AZMAN, R. et al. Clinical associations between IL-17 family cytokines and periodontitis and potential differential roles for IL-17A and IL-17E in periodontal immunity. **Inflammation Research**, v. 63, n. 12, p. 1001-1012, 2014.
- BAI, L. et al. Genetic single-nucleotide polymorphisms of inflammation-related factors associated with risk of lung cancer. **Medical Oncology**, v. 30, n. 1, p. 414, 2013.
- BAKER, P. J. The role of immune responses in bone loss during periodontal disease. **Microbes and Infection**, v. 2, n. 10, p. 1181-1192, 2000.
- BALDINI A. et al. Association between periodontal disease and Interleukin-1 [beta]+3953 and vitamin D receptor Taq1 genetic polymorphisms in an Italian caucasian population. **Annali di stomatologia**, v. 4, n. 2, p. 191, 2013.
- BASCONES-MARTÍNEZ, A. et al. Interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal status in a Spanish population. **Age (years)**, v. 41, n. 1, p. 1335-1339, 2012.
- BASCONEZ-MARTINEZ, A. et al. Periodontal disease and diabetes-review of literature. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirurgia Bucal**, v. 16, n. 6, p. e722-729, set. 2011.
- BASTOS, J. V. et al. A study of the interleukin-1 gene cluster polymorphisms and inflammatory external root resorption in replanted permanent teeth. **International endodontic journal**, v. 48, n. 9, p. 878-887, 2015.
- BAZZI, M. D. et al. Interleukin 17A and F and Asthma in Saudi Arabia: Gene Polymorphisms and Protein Levels. **Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology**, v. 21, n. 7, p. 551, 2011.
- BEGG, C. B.; MAZUMDAR, M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. **Biometrics**, p. 1088-1101, 1994.
- BERSUDSKY, M et al. Non-redundant properties of IL-1 α and IL-1 β during acute colon inflammation in mice. **Gut**, p. gutjnl-2012-303329, 2013.
- BIGILDEEV, A. E. et al. Interleukin-1 beta is an irradiation-induced stromal growth factor. **Cytokine**, v. 64, n. 1, p. 131-137, 2013.
- BORENSTEIN, M. et al. A basic introduction to fixed-effect and random-effects models for meta-analysis. **Research Synthesis Methods**, v. 1, n. 2, p. 97-111, 2010.
- BORILOVA LINHARTOVA, P. et al. Interleukin-17A gene variability in patients with Type 1 diabetes mellitus and chronic periodontitis: its correlation with IL-17 levels and

the occurrence of periodontopathic bacteria. **Mediators of inflammation**, v. 2016, 2016.

BOROJEVIC, T. Smoking and periodontal disease. **Materia socio-medica**, v. 24, n. 4, p. 274, 2012.

BOSTRÖM, L.; LINDER, L. E.; BERGSTRÖM, J.. Smoking and GCF levels of IL-1 β and IL-1ra in periodontal disease. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 27, n. 4, p. 250-255, 2000.

BOUKORTT, K. N. et al. Association analysis of the IL-1 gene cluster polymorphisms with aggressive and chronic periodontitis in the Algerian population. **Archives of oral biology**, v. 60, n. 10, p. 1463-1470, 2015.

BOYCE, B.F.; XING, L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 473, n. 2, p. 139-146, 2008.

BRAOSI, A. P. R. et al. Analysis of IL1 gene polymorphisms and transcript levels in periodontal and chronic kidney disease. **Cytokine**, v. 60, n. 1, p. 76-82, 2012.

BRETT, P. M. et al. Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. **Journal of dental research**, v. 84, n. 12, p. 1149-1153, 2005.

BUDUNELI, N.; BUDUNELI, E.; KÜTÜKÇÜLER, N. Interleukin-17, RANKL, and osteoprotegerin levels in gingival crevicular fluid from smoking and non-smoking patients with chronic periodontitis during initial periodontal treatment. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 8, p. 1274-1280, 2009.

BUDUNELI, N.; KINANE, D. F. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 38, n. s11, p. 85-105, 2011.

CARDOSO, C. R. *et al.* Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 24, p.1-6, 2009.

CARINCI, F. et al. Genetic Risk Assessment of Periodontal Disease in Healthy Patients. **Journal of Forensic Research**, v. 6, n. 1, p. 1, 2015.

CAVALLA, F. et al. Cytokine networks regulating inflammation and immune defense in the oral cavity. **Current Oral Health Reports**, v. 1, n. 2, p. 104-113, jun. 2014.

CHAMBRONE, L. et al. Association of -1082 interleukin-10 gene polymorphism in Peruvian adults with chronic periodontitis. **Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal**, v. 19, n. 6, p. e569, 2014.

CHAMBRONE, L.; ARMITAGE, G. C. Commentary: Statistical Significance Versus Clinical Relevance in Periodontal Research: Implications for Clinical Practice. **Journal of periodontology**, v. 87, n. 6, p. 613-616, 2016.

CHAPPLE, I. L. C.; MILWARD, M. R.; DIETRICH, T. The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. **The Journal of nutrition**, v. 137, n. 3, p. 657-664, 2007.

CHAUDHARI, H. L. et al. Association of Interleukin-17 polymorphism (-197G/A) in

chronic and localized aggressive periodontitis. **Brazilian oral research**, v. 30, n. 1, 2016.

CHELLY, J.; MANDEL, J-L. Monogenic causes of X-linked mental retardation. **Nature Reviews Genetics**, v. 2, n. 9, p. 669-680, 2001.

CHEN, C-J. et al. Identification of a key pathway required for the sterile inflammatory response triggered by dying cells. **Nature medicine**, v. 13, n. 7, p. 851-856, 2007.

CHEN, H. et al. Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context. **Human molecular genetics**, v. 15, n. 4, p. 519-529, 2006.

CHEN, Y. et al. Interleukin-1 β rs1143634 polymorphism and aggressive periodontitis susceptibility: a meta-analysis. **International journal of clinical and experimental medicine**, v. 8, n. 2, p. 2308, 2015.

CHEN, Y-J. et al. Interleukin-1 β rs1143634 polymorphism and aggressive periodontitis susceptibility: a meta-analysis. **International journal of clinical and experimental medicine**, v. 8, n. 2, p. 2308, 2015.

CHENG, W-C. et al. Periodontitis-associated pathogens *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* activate human CD14⁺ monocytes leading to enhanced Th17/IL-17 responses. **European Journal of Immunology**, v. 46, n. 9, p. 2211-2221, 2016.

CHENG, W-C.; HUGHES, F. J.; TAAMS, L. S. The presence, function and regulation of IL-17 and Th17 cells in periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 41, n. 6, p. 541-549, 2014.

CIFCIBASI, E. et al. Evaluation of local and systemic levels of interleukin-17, interleukin-23, and myeloperoxidase in response to periodontal therapy in patients with generalized aggressive periodontitis. **Inflammation**, v. 38, n. 5, p. 1959-1968, 2015.

COHN, L. D.; BECKER, B. J. How meta-analysis increases statistical power. **Psychological methods**, v. 8, n. 3, p. 243, 2003.

CORRÊA, J. D. et al. Association between polymorphisms in interleukin-17A and-17F genes and chronic periodontal disease. **Mediators of inflammation**, v. 2012, 2012.

CORRÊA, J. D. et al. Association between polymorphisms in interleukin-17A and-17F genes and chronic periodontal disease. **Mediators of inflammation**, v. 2012, 2012.

DAING, A. et al. Single nucleotide polymorphisms at interleukin (IL)-1 β + 3954 and vitamin D receptor (VDR) TaqI in chronic periodontitis patients: A pilot study in North Indian population. **Journal of the International Clinical Dental Research Organization**, v. 7, n. 1, p. 18, 2015.

DARVEAU, R. P. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 7, p. 481-490, 2010.

DELIMA, A. J. et al. Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 28, n. 3, p. 233-240, 2001.

DENG, J.-S. et al. Association between interleukin-1 β C (3953/4) T polymorphism and

chronic periodontitis: evidence from a meta-analysis. **Human immunology**, v. 74, n. 3, p. 371-378, 2013.

DEO, V.; BHONGADE, M. L. Pathogenesis of periodontitis: role of cytokines in host response. **Dentistry Today**, v. 29, n. 9, p. 60-62, 2010.

DINARELLO, C. A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. **Annual review of immunology**, v. 27, p. 519-550, 2009.

DINARELLO, C. A.; SIMON, A.; VAN DER MEER, J. W. M. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. **Nature reviews Drug discovery**, v. 11, n. 8, p. 633-652, 2012.

DINARELLO, C. et al. Interleukin-18 and IL-18 binding protein. **Frontiers in immunology**, v. 4, p. 289, 2013.

DIVARIS, K. et al. Exploring the genetic basis of chronic periodontitis: a genome-wide association study. **Human molecular genetics**, v. 22, n. 11, p. 2312-2324, 2013.

ĐORĐEVIĆ, I. O. et al. The inhibition of periodontal ligament stem cells osteogenic differentiation by IL-17 is mediated via MAPKs. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 71, p. 92-101, 2016.

DROŹDZIK, A. et al. Polymorphism in interleukin-1beta gene and the risk of periodontitis in a Polish population. **Advances in medical sciences**, v. 51, p. 13-17, 2005.

DUAN, H.; ZHANG, J.; ZHANG, Y. The association between IL-1 gene polymorphisms and susceptibility to severe periodontitis. **Hua xi kou qiang yi xue za zhi= Huaxi kouqiang yixue zazhi= West China journal of stomatology**, v. 20, n. 1, p. 48-51, 2002.

DUARTE, P. M. et al. Do subjects with aggressive and chronic periodontitis exhibit a different cytokine/chemokine profile in the gingival crevicular fluid? A systematic review. **Journal of periodontal research**, v. 50, n. 1, p. 18-27, 2015.

EGGER, M. et al. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. **Bmj**, v. 315, n. 7109, p. 629-634, 1997.

EIGENBROD, T. et al. Cutting edge: critical role for mesothelial cells in necrosis-induced inflammation through the recognition of IL-1 α released from dying cells. **The Journal of Immunology**, v. 181, n. 12, p. 8194-8198, 2008.

EKE, P. I. et al. Periodontitis prevalence in adults \geq 65 years of age, in the USA. **Periodontology 2000**, v. 72, n. 1, p. 76-95, 2016.

EKE, P. I. et al. Prevalence of periodontitis in adults in United States: 2009 and 2010. **Journal of Dentistry Research**, v. 91, n. 10, p. 914-920, 2012.

EKE, P. I. et al. Update on prevalence of periodontitis in adults in the United States: NHANES 2009 to 2012. **Journal of periodontology**, v. 86, n. 5, p. 611-622, 2015.

ENGEBRETSON, S. P. et al. GCF IL-1 β profiles in periodontal disease. **Journal of clinical periodontology**, v. 29, n. 1, p. 48-53, 2002.

ERDEMIR, E. O. et al. Interleukin (IL)-17F (H161R) and IL-23R (R381Q) Gene Polymorphisms in Turkish Population with Periodontitis. **Journal of Research in Medical and Dental Science**, v. 3, n. 2, p. 104-108, 2015.

ERTUGRUL, A. S. et al. Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1 β and tumor necrosis factor-alpha in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. **Journal of periodontal research**, v. 48, n. 1, p. 44-51, 2013.

FABRIZI, S. et al. Variability of the fimA gene in Porphyromonas gingivalis isolated from periodontitis and non-periodontitis patients. **Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal**, v. 18, n. 1, p. e100, 2013.

FENG, Z.; WEINBERG, A. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. **Periodontology 2000**, v. 40, n. 1, p. 50-76, 2006.

FERREIRA, S. B. et al. An interleukin-1 β (IL-1 β) single-nucleotide polymorphism at position 3954 and red complex periodontopathogens independently and additively modulate the levels of IL-1 β in diseased periodontal tissues. **Infection and Immunity**, v. 76, n. 8, p. 3725-3734, 2008.

FIEBIG, A. et al. Polymorphisms in the interleukin-1 (IL1) gene cluster are not associated with aggressive periodontitis in a large Caucasian population. **Genomics**, v. 92, n. 5, p. 309-315, 2008.

FORD, Pauline J.; GAMONAL, Jorge; SEYMOUR, Gregory J. Immunological differences and similarities between chronic periodontitis and aggressive periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 53, n. 1, p. 111-123, 2010.

GABAY, C.; LAMACCHIA, C.; PALMER, G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 6, n. 4, p. 232-241, 2010.

GAFFEN, S. L. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. **Nature Reviews Immunology**, v. 9, n. 8, p. 556-567, 2009.

GALBRAITH, G.M. et al. Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v.26, p. 705-709, 1999.

GARCÍA-DELANEY, C. et al. Clinical significance of interleukin-1 genotype in smoking patients as a predictor of peri-implantitis: A case-control study. **Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal**, v. 20, n. 6, p. e737, 2015.

GARLANDA, C.; DINARELLO, C. A.; MANTOVANI, A. The interleukin-1 family: back to the future. **Immunity**, v. 39, n. 6, p. 1003-1018, 2013.

GARLET, G. P. et al. The use of chronic gingivitis as reference status increases the power and odds of periodontitis genetic studies—a proposal based in the exposure concept and clearer resistance and susceptibility phenotypes definition. **Journal of clinical periodontology**, v. 39, n. 4, p. 323-332, 2012.

GAYATHRI, R. et al. Allele, genotype, and composite genotype effects of IL-1A+ 4845 and IL-1B+ 3954 polymorphisms for chronic periodontitis in an Indian population. **Indian Journal of Dental Research**, v. 22, n. 4, p. 612, 2011.

GEMMELL, E.; SEYMOUR, G. J. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. **Periodontology 2000**, v. 35, n. 1, p. 21-41, 2004.

GENKO, R. J.; BORGNACKE, W. S. Risk factors of periodontal disease. **Periodontology** 2000, v. 62, p. 59-94, 2013.

GIOLO, S. R. et al. Brazilian urban population genetic structure reveals a high degree of admixture. **European Journal of Human Genetics**, v. 20, n. 1, p. 111-116, 2012.

GONÇALVES, L. S. et al. Influence of IL-1 gene polymorphism on the periodontal microbiota of HIV-infected Brazilian individuals. **Brazilian oral research**, v. 23, n. 4, p. 452-459, 2009.

GORE, E. A. et al. Interleukin-1 β + 3953 allele 2: association with disease status in adult periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 25, n. 10, p. 781-785, 1998.

GRAUDAL, N. A. et al. Autoantibodies against interleukin 1 α in rheumatoid arthritis: association with long term radiographic outcome. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 61, n. 7, p. 598-602, 2002.

GRAVES, D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. **Journal of periodontology**, v. 79, n. 8S, p. 1585-1591, 2008.

GRAVES, D. T.; COCHRAN, D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. **Journal of periodontology**, v. 74, n. 3, p. 391-401, 2003.

GREENSTEIN, G.; HART, T. C. A critical assessment of interleukin-1 (IL-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. **Journal of periodontology**, v. 73, n. 2, p. 231-247, 2002.

GRIGORIADOU, M. E. et al. Interleukin-1 as a genetic marker for periodontitis: review of the literature. **Quintessence international**, p. 517, 2010.

GROVER, V. et al. The Gender Bender effect in Periodontal Immune Response. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)**, v. 16, n. 1, p. 12-20, 2016.

GUSTAFSSON, A. et al. Hyper-reactive mononuclear cells and neutrophils in chronic periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 33, n. 2, p. 126-129, 2006.

HAJISHENGALLIS, G. et al. Neutrophil homeostasis and inflammation: novel paradigms from studying periodontitis. **Journal of leukocyte biology**, p. jlb. 3VMR1014-468R, 2014.

HAMDY, A. A. E-M. M.; EBRAHEM, M. A. E-M. The Effect of Interleukin-1 Allele 2 Genotype (IL-1a- 889 and IL-1b+ 3954) on the Individual's Susceptibility to Peri-Implantitis: Case-Control Study. **Journal of Oral Implantology**, v. 37, n. 3, p. 325-334, 2011.

HAMMAD, A. et al. Interleukin-17A rs2275913, Interleukin-17F rs763780 and rs2397084 gene polymorphisms as possible risk factors in Juvenile lupus and lupus related nephritis. **Autoimmunity**, v. 49, n. 1, p. 31-40, 2016.

HAN, B.; CHEN, X.; LI, S. B. Association between IL-1 β + 3954/Taq I gene polymorphisms and chronic periodontitis. **Academic Journal of Xia'n Jiaotong University**, vol. 30, p. 489-491, 2009.

HAVEMOSE-POULSEN, A. et al. Polymorphisms within the IL-1 gene cluster: effects on cytokine profiles in peripheral blood and whole blood cell cultures of patients with

aggressive periodontitis, juvenile idiopathic arthritis, and rheumatoid arthritis. **Journal of periodontology**, v. 78, n. 3, p. 475-492, 2007.

HIGGINS, J. P. T et al. Measuring inconsistency in meta-analyses. **Bmj**, v. 327, n. 7414, p. 557-560, 2003.

HOFBAUER, L. C.; SCHOPPER, M. Osteoprotegerin gene polymorphism and the risk of osteoporosis and vascular disease. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 87, p. 4078-4079, 2002.

HOLLA, L. I. et al. The association of interleukin-4 haplotypes with chronic periodontitis in a Czech population. **Journal of periodontology**, v. 79, n. 10, p. 1927-1933, 2008.

HONG, K-W. et al. Genome wide association study on chronic periodontitis in Korean population: results from the Yangpyeong health cohort. **Journal of clinical periodontology**, v. 42, n. 8, p. 703-710, 2015.

HOPKINS, S. J. The pathophysiological role of cytokines. **Legal Medicine**, v. 5, p. S45-S57, 2003.

HU, Y-Y. et al. Association between Interleukin-1 β Gene-511C> T/+ 3954C> T Polymorphisms and Aggressive Periodontitis Susceptibility: Evidence from a Meta-Analysis. **Medical Science Monitor**, v. 21, p. 1617-1624, 2015.

HUANG, H. et al. IL-17 stimulates the proliferation and differentiation of human mesenchymal stem cells: implications for bone remodeling. **Cell Death & Differentiation**, v. 16, n. 10, p. 1332-1343, 2009.

HUANG, H. Y.; ZHANG, J. C. Investigation on the association of interleukin-1 genotype polymorphism with chronic periodontitis. **Hua xi kou qiang yi xue za zhi= Huaxi kouqiang yixue zazhi= West China journal of stomatology**, v. 22, n. 5, p. 415-419, 2004.

HUEDO-MEDINA, T. B. et al. Assessing heterogeneity in meta-analysis: Q statistic or I² index?. **Psychological methods**, v. 11, n. 2, p. 193, 2006.

ISAZA-GUZMÁN, D. M. et al. Determination of NLRP3 (rs4612666) and IL-1B (rs1143634) genetic polymorphisms in periodontally diseased and healthy subjects. **Archives of oral biology**, v. 65, p. 44-51, 2016.

IZAWA, A. et al. Inflammatory bone loss in experimental periodontitis induced by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in interleukin-1 receptor antagonist knockout mice. **Infection and immunity**, v. 82, n. 5, p. 1904-1913, 2014.

JAIN, N. et al. Association of interleukin-4 and interleukin-17F polymorphisms in periodontitis in Dravidian ethnicity. **Indian journal of human genetics**, v. 19, n. 1, p. 58, 2013.

JANSSON, H. et al. Analysis of the interleukin-1 and interleukin-6 polymorphisms in patients with chronic periodontitis. A pilot study. **Swedish dental journal**, v. 30, n. 1, p. 17-23, 2005.

JAYAKUMAR, A. *et al.* Horizontal alveolar bone loss: A periodontal orphan. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 14, n. 3, p. 181, 2010.

JIANG, L. et al. Association between cyclooxygenase-2 gene polymorphisms and risk of periodontitis: a meta-analysis involving 5653 individuals. **Molecular biology**

reports, v. 41, n. 7, p. 4795-4801, 2014.

JIN, W.; DONG, C. IL-17 cytokines in immunity and inflammation. **Emerging microbes & infections**, v. 2, n. 9, p. e60, 2013.

JOOSTEN, L. AB; NETEA, M. G.; DINARELLO, C. A. Interleukin-1 β in innate inflammation, autophagy and immunity. In: **Seminars in immunology**. Academic Press, 2013. p. 416-424.

KAARTHIKEYAN, G. et al. Analysis of the association between interleukin-1 β (+ 3954) gene polymorphism and chronic periodontitis in a sample of the south Indian population. **Indian Journal of Dental Research**, v. 20, n. 1, p. 37, 2009.

KADKHODAZADEH, M. et al. IL-17 gene polymorphism is associated with chronic periodontitis and peri-implantitis in Iranian patients: a cross-sectional study. **Immunological investigations**, v. 42, n. 2, p. 156-163, 2013.

KAJIYA, M. et al. Role of periodontal pathogenic bacteria in RANKL-mediated bone destruction in periodontal disease. **Journal of Oral Microbiology**, v. 2, p. 5532, nov. 2010.

KALBURGI, N. B. et al. Interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) in Indian patients with chronic periodontitis. **Journal of oral science**, v. 52, n. 3, p. 431-437, 2010.

KARASNEH, J. A. et al. Investigation of the interleukin-1 gene cluster polymorphisms in Jordanian patients with chronic and aggressive periodontitis. **archives of oral biology**, v. 56, n. 3, p. 269-276, 2011.

KARIMBUX, N. Y. et al. Interleukin-1 gene polymorphisms and chronic periodontitis in adult whites: a systematic review and meta-analysis. **Journal of periodontology**, v. 83, n. 11, p. 1407-1419, 2012.

KAVVOURA, F. K.; IOANNIDIS, J. P. A. Methods for meta-analysis in genetic association studies: a review of their potential and pitfalls. **Human genetics**, v. 123, n. 1, p. 1-14, 2008.

KEBSCHULL, M. et al. Molecular differences between chronic and aggressive periodontitis. **Journal of dental research**, v. 92, n. 12, p. 1081-1088, 2013.

KIDD, P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. **Alternative Medicine Review**, v. 8, n. 3, p. 223-246, 2003.

KIM, S.; MISRA, A. SNP genotyping: technologies and biomedical applications. **Annu. Rev. Biomed. Eng.**, v. 9, p. 289-320, 2007.

KOBAYASHI, T. et al. The interleukin-1 and Fc γ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with rheumatoid arthritis and periodontitis. **Journal of periodontology**, v. 78, n. 12, p. 2311-2318, 2007. KOBAYASHI, T. et al. Cytokine gene polymorphisms associated with rheumatoid arthritis and periodontitis in Japanese adults. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 5, p. 792-799, 2009.

KOLLS, J. K.; LINDÉN, A. Interleukin-17 family members and inflammation. **Immunity**, v. 21, n. 4, p. 467-476, 2004.

KOMATSU, Y. et al. Interleukin-6 (IL-6) -373 A9T11 allele is associated with reduced susceptibility to chronic periodontitis in Japanese subjects and decreased serum IL-6

level. **Tissue Antigens**, v. 65, n. 1, p. 110-114, 2005.

KONG, J.; GRANDO, S. A.; LI, Y. C. Regulation of IL-1 family cytokines IL-1 α , IL-1 receptor antagonist, and IL-18 by 1, 25-dihydroxyvitamin D3 in primary keratinocytes. **The Journal of Immunology**, v. 176, n. 6, p. 3780-3787, 2006.

KONSMAN, J. P.; PARNET, P.; DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications. **Trends in neurosciences**, v. 25, n. 3, p. 154-159, 2002.

KORNMAN, K. S. et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. **Journal of clinical periodontology**, v. 24, n. 1, p. 72-77, 1997.

LAINE, M. L. et al. Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. **Journal of Dental Research**, v. 80, n. 8, p. 1695-1699, 2001.

LAINE, Marja L.; CRIELAARD, Wim; LOOS, Bruno G. Genetic susceptibility to periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 58, n. 1, p. 37-68, 2012.

LANDECK, L. et al. IL1A-889 C/T gene polymorphism in irritant contact dermatitis. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 27, n. 8, p. 1040-1043, 2013.

LANGRISH, C. L. et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. **The Journal of experimental medicine**, v. 201, n. 2, p. 233-240, 2005.

LANGRISH, C. L. et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. **Journal of Experimental Medicine**, v. 201, n. 2, p. 233-240, 2005.

LAVU, V. et al. Polymorphic regions in the interleukin-1 gene and susceptibility to chronic periodontitis: a genetic association study. **Genetic testing and molecular biomarkers**, v. 19, n. 4, p. 175-181, 2015.

LI, G. et al. Association of matrix metalloproteinase (MMP)-1, 3, 9, interleukin (IL)-2, 8 and cyclooxygenase (COX)-2 gene polymorphisms with chronic periodontitis in a Chinese population. **Cytokine**, v. 60, n. 2, p. 552-560, 2012.

LI, Z-G. et al. Interleukin-18 promoter polymorphisms and plasma levels are associated with increased risk of periodontitis: a meta-analysis. **Inflammation Research**, v. 63, n. 1, p. 45-52, 2014.

LIN, Li; PAN, Y. P.; YIN, L. Y. Study on the correlation of cytokine gene polymorphism with chronic periodontitis. **Shanghai kou qiang yi xue= Shanghai journal of stomatology**, v. 12, n. 6, p. 456-459, 2003.

LINS, T. C. et al. Genetic composition of Brazilian population samples based on a set of twenty-eight ancestry informative SNPs. **American Journal of Human Biology**, v. 22, n. 2, p. 187-192, 2010.

LIU, R. K. et al. Polymorphonuclear neutrophils and their mediators in gingival tissues from generalized aggressive periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 72, n. 11, p. 1545-1553, nov. 2001.

- LIU, Y. C. G.; LERNER, U. H.; TENG, Y. T. A. Cytokines responses against periodontal infection: protective and destructive roles. **Periodontology** 2000, v. 52, p. 163-206, 2010.
- LOHMUELLER, K. E. et al. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. **Nature genetics**, v. 33, n. 2, p. 177-182, 2003.
- LOOS, B. G.; JOHN, R. P.; LAINE, M. L. Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action. **Journal of clinical periodontology**, v. 32, n. s6, p. 159-179, 2005.
- LÓPEZ, N. J.; JARA, L.; VALENZUELA, C. Y. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. **Journal of Periodontology**, v. 76, n. 2, p. 234-243, 2005.
- LÓPEZ, N. J.; VALENZUELA, C. Y.; JARA, L. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms associated with periodontal disease in type 2 diabetes. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 10, p. 1590-1598, 2009.
- LÓPEZ, R.; BAELUM, V. Periodontal disease classifications revisited. **European journal of oral sciences**, v. 123, n. 6, p. 385-389, 2015.
- LUO, Zhenhua et al. Clinical significance of IL-23 regulating IL-17A and/or IL-17F positive Th17 cells in chronic periodontitis. **Mediators of inflammation**, v. 2014, 2014.
- MA, L. et al. Interleukin-1 β (3953/4) C \rightarrow T polymorphism increases the risk of chronic periodontitis in Asians: evidence from a meta-analysis of 20 case-control studies. **Archives of medical science: AMS**, v. 11, n. 2, p. 267-273, 2015.
- MA, M. et al. Correlation study on polymorphisms of the Interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha gene in Hui patients with chronic periodontitis in Ningxia. **Journal of Modern Stomatology**, v. 25, p. 94-97, 2011.
- MAHEASWARI, R.; KSHIRSAGAR, J. T.; LAVANYA, N. Polymerase chain reaction: A molecular diagnostic tool in periodontology. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 20, n. 2, p. 128, 2016.
- MANEY, P.; OWENS, J. L. Interleukin polymorphisms in aggressive periodontitis: A literature review. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 19, n. 2, p. 131, 2015.
- MANTOVANI, A. et al. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 8, p. 519-531, 2011.
- MAO, M. et al. Interleukin-1 α - 899 (+ 4845) C \rightarrow T polymorphism increases the risk of chronic periodontitis: Evidence from a meta-analysis of 23 case-control studies. **Gene**, v. 532, n. 1, p. 121-126, 2013.
- MASAMATTI, S. S. et al. Evaluation of interleukin-1B (+ 3954) gene polymorphism in patients with chronic and aggressive periodontitis: a genetic association study. **Contemporary clinical dentistry**, v. 3, n. 2, p. 144, 2012.
- MEISEL, P. et al. Dose-effect relation of smoking and the interleukin-1 gene polymorphism in periodontal disease. **Journal of periodontology**, v. 75, n. 2, p. 236-242, 2004.

- MEISEL, P. et al. Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1 β , IL-1 α , and IL-1RN) in patients with periodontal disease. **Journal of periodontology**, v. 73, n. 1, p. 27-32, 2002.
- MENDONÇA, S. A. et al. Study of the association between the interleukin-1 β c. 3954C> T polymorphism and periodontitis in a population sample from Bahia, Brazil. **Contemporary clinical dentistry**, v. 6, n. 2, p. 176, 2015.
- MICHALOWICZ, B. Genetics and inheritance considerations in periodontal disease. **Curr Opin Periodontol**, v. 1, p. 11-176, 1993.
- MOHER, D. et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. **PLoS med**, v. 6, n. 7, p. e1000097, 2009.
- MOREIRA, P. R. et al. A functional interleukin-1 β gene polymorphism is associated with chronic periodontitis in a sample of Brazilian individuals. **Journal of periodontal research**, v. 40, n. 4, p. 306-311, 2005.
- MORI, G. et al. The interplay between the bone and the immune system. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2013, 2013.
- MUNAFÒ, M. R.; FLINT, J. Meta-analysis of genetic association studies. **TRENDS in Genetics**, v. 20, n. 9, p. 439-444, 2004.
- NAVARRETE, M. et al. Interferon- γ , interleukins-6 and-4, and factor XIII-A as indirect markers of the classical and alternative macrophage activation pathways in chronic periodontitis. **Journal of periodontology**, v. 85, n. 5, p. 751-760, 2014.
- NIBALI, L. et al. Association between periodontitis and common variants in the promoter of the interleukin-6 gene. **Cytokine**, v. 45, p. 50-54, 2009.
- 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**, v. 35, n. 9, p. 754-767, 2008.
- NISHIDA, E. et al. Bone resorption and local interleukin-1 α and interleukin-1 β synthesis induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide. **Journal of periodontal research**, v. 36, n. 1, p. 1-8, 2001.
- NOACK, B. et al. TLR4 and IL-18 gene variants in aggressive periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 35, n. 12, p. 1020-1026, 2008.
- OFFENBACHER, S. et al. Genome-wide association study of biologically-informed periodontal complex traits offers novel insights into the genetic basis of periodontal disease. **Human molecular genetics**, p. ddw069, 2016.
- OHYAMA, H. et al. The involvement of IL-23 and the Th17 pathway in periodontitis. **Journal of Dental Research**, v. 88, n. 7, p. 633-638, 2009.
- OZMERIC, N. Advances in periodontal diseases marker. **Clinica Chimica Acta**, v. 343, n. 1, p. 1-16, 2004.

- PARKHILL, J. M. et al. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with early-onset periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 27, n. 9, p. 682-689, 2000.
- PÉREZ-SAYÁNS, M. et al. RANK/RANKL/OPG role in distraction osteogenesis. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 109, n. 5, p. 679-686, 2010.
- PHAROAH, P. D. P et al. Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention. **Nature genetics**, v. 31, n. 1, p. 33-36, 2002.
- PRAKASH, P. S. G.; VICTOR, D. J. Interleukin-1b gene polymorphism and its association with chronic periodontitis in South Indian population. **International Journal of Genetics and Molecular Biology**, v. 2, n. 8, p. 179-183, 2010.
- PUIG-SILLA, M. et al. Prevalence of fimA genotypes of Porphyromonas gingivalis and other periodontal bacteria in a Spanish population with chronic periodontitis. **Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal**, v. 17, n. 6, p. e1047, 2012.
- PURI, K. et al. Association of interleukin-1 α (-889) gene polymorphism in patients with generalized aggressive and chronic periodontitis. **Dental research journal**, v. 12, n. 1, p. 76, 2015.
- PYO, C-W. et al. Polymorphisms of IL-1B, IL-1RN, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, and IFN- γ genes in the Korean population. **Human immunology**, v. 64, n. 10, p. 979-989, 2003.
- QUAPPE, L.; JARA, L.; LÓPEZ, N. J. Association of interleukin-1 polymorphisms with aggressive periodontitis. **Journal of periodontology**, v. 75, n. 11, p. 1509-1515, 2004.
- REMICK, D. G. Interleukin-8. **Critical care medicine**, v. 33, n. 12, p. S466-S467, 2005.
- ROGERS, M. A. et al. Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants?. **Journal of periodontal research**, v. 37, n. 1, p. 37-41, 2002.
- SAKELLARI, D. et al. No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population. **Journal of clinical periodontology**, v. 33, n. 11, p. 765-770, 2006.
- SAKELLARI, D. et al. Prevalence of IL-1A and IL-1B polymorphisms in a Greek population. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 30, n. 1, p. 35-41, 2003.
- SARAIVA, A. M. et al. Evaluation of IL17A expression and of IL17A, IL17F and IL23R gene polymorphisms in Brazilian individuals with periodontitis. **Human Immunology**, v. 74, n. 2, p. 207-214, 2013.
- SATO, K. et al. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. **Journal of Experimental Medicine**, v. 203, n. 12, p. 2673-2682, 2006.
- SCAPINI, P. et al. The neutrophil as a cellular source of chemokines. **Immunological reviews**, v. 177, n. 1, p. 195-203, 2000.
- SCAREL-CAMINAGA, R. M. et al. Haplotypes in the interleukin 8 gene and their association with chronic periodontitis susceptibility. **Biochemical genetics**, v. 49, n. 5-6, p. 292-302, 2011.

SCAREL-CAMINAGA, R. M. et al. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 31, n. 6, p. 443-448, 2004.

SCHULZ, S. et al. Single nucleotide polymorphisms in interleukin-1 gene cluster and subgingival colonization with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in patients with aggressive periodontitis. **Human immunology**, v. 72, n. 10, p. 940-946, 2011.

SHAO, M-Y. et al. Interleukin-6 polymorphisms modify the risk of periodontitis: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 10, n. 12, p. 920-927, 2009.

SHAO, M-Y. et al. Interleukin-6 polymorphisms modify the risk of periodontitis: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 10, n. 12, p. 920-927, 2009.

SHETE, A. R. et al. Association of single nucleotide gene polymorphism at interleukin-1 β + 3954,- 511, and- 31 in chronic periodontitis and aggressive periodontitis in Dravidian ethnicity. **Journal of periodontology**, v. 81, n. 1, p. 62-69, 2010.

SHIMIZU, R. R. et al. Genetic variant of interleukin-1 [alpha] in elderly with periodontal disease. **ConScientiae Saúde**, v. 12, n. 4, p. 505, 2013.

SHIRODARIA, S. et al. Polymorphisms in the IL-1A gene are correlated with levels of interleukin-1 α protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. **Journal of Dental Research**, v. 79, n. 11, p. 1864-1869, 2000.

SILVA, F. R. P. et al. Bromelain: A potential strategy for the adjuvant treatment of periodontitis. **Dental Hypotheses**, v. 7, n. 3, p. 88, 2016.

SILVA, F. R. P. et al. Relationship between-889 C/T polymorphism in interleukin-1A gene and risk of chronic periodontitis: Evidence from a meta-analysis with new published findings. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 22, n. 1, p. e7-e14, 2017.

SILVA, N. et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. **Journal of Applied Oral Science**, v. 23, n. 3, p. 329-355, 2015.

SOGA, Y. et al. Tumor necrosis factor-alpha gene (TNF- α)- 1031/- 863,- 857 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are associated with severe adult periodontitis in Japanese. **Journal of clinical periodontology**, v. 30, n. 6, p. 524-531, 2003.

SONG, G. G. et al. Association between tumor necrosis factor- α promoter- 308 A/G,- 238 A/G, interleukin-6- 174 G/C and- 572 G/C polymorphisms and periodontal disease: a meta-analysis. **Molecular biology reports**, v. 40, n. 8, p. 5191-5203, 2013.

SOUTO, G. R. et al. Effect of smoking on immunity in human chronic periodontitis. **Immunobiology**, v. 219, n. 12, p. 909-915, 2014.

STRUCH, F. et al. Interleukin-1 gene polymorphism, diabetes, and periodontitis: results from the Study of Health in Pomerania (SHIP). **Journal of periodontology**, v. 79, n. 3, p. 501-507, 2008.

SUSIN, C.; HAAS, A. N.; ALBANDAR, J. M. Epidemiology and demographics of aggressive periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 65, n. 1, p. 27-45, 2014.

TAKEDA, Y. et al. Adhesion dependent release of hepatocyte growth factor and interleukin-1 receptor antagonist from human blood granulocytes and monocytes: evidence for the involvement of plasma IgG, complement C3 and $\beta 2$ integrin. **Inflammation Research**, v. 53, n. 7, p. 277-283, 2004.

TANABE, N. et al. IL-1 α stimulates the formation of osteoclast-like cells by increasing M-CSF and PGE 2 production and decreasing OPG production by osteoblasts. **Life sciences**, v. 77, n. 6, p. 615-626, 2005.

TENG, H-C. et al. Lifestyle and psychosocial factors associated with chronic periodontitis in Taiwanese adults. **Journal of periodontology**, v. 74, n. 8, p. 1169-1175, 2003.

THEOLEYRE, S. et al. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 15, n. 6, p. 457-475, 2004.

THEOLEYRE, S. et al. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 15, n. 6, p. 457-475, 2004.

TIAN, Y. G. et al. The relationship of IL-1beta expressed in buccal cells and the polymorphisms of IL-1beta (+ 3953) with chronic periodontitis. **Shanghai kou qiang yi xue= Shanghai journal of stomatology**, v. 15, n. 5, p. 456-460, 2006.

TREVILATTO, P. C. et al. Association of IL1 gene polymorphisms with chronic periodontitis in Brazilians. **Archives of oral biology**, v. 56, n. 1, p. 54-62, 2011.

TREVILATTO, P. C. et al. Association of IL1 gene polymorphisms with chronic periodontitis in Brazilians. **Archives of oral biology**, v. 56, n. 1, p. 54-62, 2011.

TREVILATTO, P. C. et al. Polymorphisms in the IL-1a and IL-1b genes are not associated with susceptibility to chronic periodontitis in a brazilian population. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, v. 2, n. 7, p. 348-352, 2015.

VASCONCELOS, D. F. P. et al. Lymphotoxin-Alpha Gene Polymorphism +252 A/G (rs909253, A/G) is associated with susceptibility to chronic periodontitis. **ISRN dentistry**, v. 2012, 2012.

VIEIRA, A. R.; ALBANDAR, J. M. Role of genetic factors in the pathogenesis of aggressive periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 65, n. 1, p. 92-106, 2014.

WAGAIYU, E. G.; BULIMO, W. D. Genetic polymorphisms in IL-1A and IL-1B isoforms and their associations with chronic periodontitis in the Swahili people of Kenya. **IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)**, v. 1, n. 13, p. 7-15, 2014.

WAGAIYU, E. G.; BULIMO, W. D.; WANZALA, P. N.; KAIMENYI, J. T. Interleukin - 1 polymorphisms and chronic periodontitis In a rural kenyan population. **Dental and Medical Sciences**, v. 14, p. 36-43, 2015.

WAGNER, J. et al. Prevalence of OPG and IL-1 gene polymorphisms in chronic periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 34, n. 10, p. 823-827, 2007.

WANG G. et al. Th17 cytokines and barrier functions. **Mediators of inflammation**, vol. 2016, 2016.

ZHONG, L. et al. The association of interleukin-1 gene polymorphisms with the susceptibility to chronic periodontitis in Uighur. **Zhonghua yi xue yi chuan xue za zhi= Zhonghua yixue yichuanxue zazhi= Chinese journal of medical genetics**, v. 19, n. 5, p. 405-408, 2002.

ZIUKAITE, L. et al. Family history of periodontal disease and prevalence of smoking status among adult periodontitis patients: a cross-sectional study. **International journal of dental hygiene**, 2016.

ZUCCARELLO, D. et al. Role of familiarity versus interleukin-1 genes cluster polymorphisms in chronic periodontitis. **Gene**, v. 535, n. 2, p. 286-289, 2014.