



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA- UFBA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
IMUNOLOGIA



RILDO BATISTA FREIRE

**ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES *IL1B*, *IL6* E *IL10* COM
PERIODONTITE**

Salvador, Bahia
2023

RILDO BATISTA FREIRE

**ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES *IL1B*, *IL6* E *IL10* COM
PERIODONTITE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Imunologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Camila Alexandrina Figueiredo.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Tatiane de Oliveira Teixeira Muniz Carletto.

Salvador, Bahia
2023

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

F866 Freire, Rildo Batista

Associação de polimorfismos nos genes IL1B, IL6 e IL10 com
periodontite/Rildo Batista Freire. – Salvador, 2023.
52 f.: il.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Camila Alexandrina Figueiredo; Coorientadora:
Prof^a. Dr^a Tatiane de Oliveira Teixeira Muniz Carletto.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de
Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Imunologia, 2023.
Inclui referências.

1. Periodontite. 2. Interleucinas. 3. Gene candidato. I. Figueiredo, Camila
Alexandrina. II. Carletto, Tatiane de Oliveira Teixeira Muniz.
III. Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

CDU 575:616.314



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Programa de Pós-graduação em Imunologia



Nº003M/2023

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DO COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA PARA JULGAMENTO DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO INTITULADO “ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES IL1B, IL6 E IL10 COM PERIODONTITE” do mestrando **Rildo Batista Freire**.

Ao décimo terceiro dia do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e três, na sala de reunião vinculada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia da Universidade Federal da Bahia (PPGIm-UFBA), a Banca Examinadora composta pelos Professores: **Dra. Camila Alexandrina Viana de Figueiredo orientadora, Dra. Deise Souza Vilas Boas e Dr. Raimon Rios da Silva**, se reúne com a finalidade de discutir, avaliar e julgar o trabalho de dissertação intitulado: “ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES IL1B, IL6 E IL10 COM PERIODONTITE” do mestrando **Rildo Batista Freire**. Após a apresentação, arguição e comentários dos Membros da Banca Examinadora ficam determinados que as sugestões discutidas sejam implementadas na versão final da dissertação. Havendo cumprido as exigências do Programa quanto à defesa do trabalho final, a Banca Examinadora conclui que mediante a entrega do exemplar final pelo aluno com as devidas modificações no prazo de 60 dias, a Pós-Graduanda está habilitada à obtenção do título de Mestre em Imunologia. Adicionalmente, os pareceres individuais dos membros da Banca Examinadora serão anexados à ata. Nada mais havendo a tratar se encerra a sessão da qual é lavrada a presente ata que após lida e aprovada vai assinada pelos componentes da Banca examinadora, pelo mestrando e pela Coordenadora do Programa de Pós-Graduação. Salvador, treze de fevereiro de dois mil e vinte e três.

Dra. Camila Alexandrina Viana de Figueiredo
Orientador

Dr. Raimon Rios da Silva
Banca Examinadora

Dra. Deise Souza Vilas Boas Banca Examinadora

Rildo Batista Freire
Mestrando

Profa. Dra. Silvia Lima Costa
Coordenadora PPG - Imunologia
Instituto de Ciências da Saúde-UFBA

Dra. Silvia Lima Costa
Coordenadora do PPGIm
ICS-UFBA

AGRADECIMENTOS

Grato a Deus, que com sua infinita graça me alcança e me mantém de pé.

Aos meus pais, Hildonei e Dalva, por toda educação e ensinamentos, eu sou fruto do amor e carinho de vocês.

Às minhas irmãs, Laizza, Maíra e Letícia, que me impulsionam e incentivam a cada dia.

Ao ImunoBio, pela oportunidade de participar de um grupo tão organizado e coerente.

À minha orientadora, Profa. Dra. Camila Alexandrina, que me inspira de forma grandiosa, fonte inesgotável de sabedoria.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Tatiane Oliveira, pela força e inspiração, ser humano e profissional admirável.

À profa. Márcia Barrientos, que pegou em minhas mãos e mostrou o caminho.

Profa. Dra Cristal Fernandez, por ser uma inspiração e por ter me apresentado o programa de imunologia.

À profa. Aline, da secretaria do PPGIM, sempre muito atenciosa e solícita.

Aos meus professores do PPGIM, exemplos maravilhosos.

Aos meus amigos e familiares pelo incentivo de sempre.

A todos meus amigos do mestrado, em especial, Bruna, Luana e Taila. Vocês tornaram esse caminho menos árduo.

Agradecer ao passado, que me ensinou sobre força e resiliência, ao presente, que não me permitiu desistir, e que projeta no futuro a vontade de continuar.

RESUMO

FREIRE, Rildo Batista. ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES *IL1B*, *IL6* E *IL10* COM PERIODONTITE. 2023. Dissertação (Mestrado) Programa de pós-graduação em Imunologia - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia.

Introdução: A periodontite envolve a perda óssea do tecido de sustentação e consequente perda das unidades dentárias o que impacta significativamente na qualidade de vida de indivíduos de todas as camadas sociais. A presença de comunidades microbianas disbióticas e uma resposta imunológica exacerbada podem acarretar na destruição da microarquitetura do periodonto de sustentação. Fatores ambientais e genéticos estão associados ao desenvolvimento da doença, sendo necessário elucidar o papel da genética no seu desenvolvimento e progressão. **Objetivo:** Investigar a associação de polimorfismos dos genes *IL1B*, *IL6* e *IL10* com a periodontite; e determinar as frequências alélicas dos polimorfismos *IL1B*, *IL6* e *IL10* nas populações africana, americana e europeia. **Materiais e métodos:** Estudo transversal, realizado com 506 indivíduos adultos, classificados com presença (n=117) ou ausência (n=389) de periodontite, participantes da coorte do Programa de Controle da Asma da Bahia (ProAR) em Salvador/Bahia – Brasil. O DNA genômico foi extraído e genotipado utilizando-se a plataforma Illumina Multi-Ethnic Global Array (MEGA, Illumina). As plataformas NCBI, RegulomeDB, ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements), Haploview 4.2 e rSNPBase foram consultadas. A análise estatística foi realizada no software PLINK 1.9 e a regressão logística foi ajustada por idade, obesidade, hábito de respirar pela boca, uso de fio dental, asma e ancestralidade. Para controle de qualidade utilizou-se o equilíbrio de Hardy-Weinberg <0,05, taxa de genotipagem <0,98 e frequência do menor alelo (MAF) <1%. **Resultados:** Dois polimorfismos foram associados à periodontite no gene *IL1B*. O rs3136557 alelo A apresentou associação negativa com a periodontite tanto no modelo aditivo como no dominante, respectivamente (OR = 0,48; IC 95% = 0,24-0,94) e (OR = 0,48; IC 95 % = 0,24-0,97). O rs1143630 alelo T apresentou associação positiva (OR = 1,49; IC 95% = 1,02-2,18) no modelo aditivo, enquanto o modelo dominante apresentou (OR = 1,61; IC 95% = 1,02-2,53). No gene *IL6* o polimorfismo rs2069841 alelo A foi associado positivamente à periodontite no modelo aditivo (OR = 2,61; IC 95% = 1,05-6,50) e no modelo dominante (OR = 2,61; IC 95% = 1,05- 6,50). Na análise dos polimorfismos da *IL10* não foram encontradas

associações significantes com a periodontite na população estudada. A frequência do menor alelo A do rs3136557 é de 8% na população estudada de Salvador, semelhante a população americana que possui aproximadamente a mesma frequência, enquanto a população africana possui 5%. O rs1143630 (alelo T) possui frequência de 20% na população estudada, enquanto a população africana apresenta 28%, a população americana e a europeia apresentam 6%. O MAF do rs2069841 (alelo A) foi de 2% no grupo estudado, semelhante a população africana que apresentou 3%. **Conclusão:** Polimorfismos nos genes das interleucinas IL-1B e IL-6 foram associados positivamente e negativamente à periodontite. Não foram encontradas associações de polimorfismos do gene *IL 10* com a periodontite, nesta população da cidade de Salvador. A frequência alélica dos polimorfismos mostra-se semelhante àquelas encontradas em outras populações, como a africana e europeia.

Palavras-chave: Periodontite; Interleucinas; gene candidato.

ABSTRACT

FREIRE, FREIRE, Rildo Batista. ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS IN THE *IL1B*, *IL6* AND *IL10* GENES WITH PERIODONTITIS. 2023. Dissertation (Master's degree) Graduate Program in Immunology - Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia.

Introduction: Periodontitis involves bone loss of support tissue and consequent loss of dental units, which significantly impacts the quality of life of individuals from all walks of life. The presence of dysbiotic microbial communities and an exacerbated immune response may result in the destruction of the microarchitecture of the supporting periodontium. Environmental and genetic factors are associated with the development of the disease, and it is necessary to elucidate the role of genetics in its development and progression. **Objective:** To investigate the association of polymorphisms of the *IL1 B*, *IL6* and *IL10* genes with periodontitis; and to determine the allelic frequencies of *IL1 B*, *IL6* and *IL10* polymorphisms in African, American and European populations. **Materials and methods:** Cross-sectional study, conducted with 506 adult individuals, classified with presence (n=117) or absence (n=389) of periodontitis, participants in the cohort of the Bahia Asthma Control Program (ProAR) in Salvador/Bahia – Brazil. Genomic DNA was extracted and genotyped using the Illumina Multi-Ethnic Global Array (MEGA, Illumina) platform. The platforms NCBI, RegulomeDB, ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements), Haploview 4.2 and rSNPBase were consulted. Statistical analysis was performed using the PLINK 1.9 software and logistic regression was adjusted for age, obesity, mouth breathing habit, flossing, asthma and ancestry. For quality control, Hardy-Weinberg equilibrium <0.05 , genotyping rate <0.98 and frequency of the lowest allele (MAF) $<1\%$ were used. **Results:** Two polymorphisms were associated with periodontitis in the *IL1B* gene. The rs3136557 A allele showed a negative association with periodontitis in both the additive and dominant models, respectively (OR = 0.48; CI 95% = 0.24-0.94) and (OR = 0.48; CI 95 % = 0.24-0.97). The rs1143630 T allele showed a positive association (OR = 1.49; CI 95% = 1.02-2.18) in the additive model, while the dominant model presented (OR = 1.61; CI 95% = 1.02-2.53). In the *IL6* gene, the rs2069841 allele A polymorphism was positively associated with periodontitis in the additive model (OR = 2.61; CI 95% = 1.05-6.50) and in the dominant model (OR = 2.61; CI 95% = 1.05- 6.50). In the analysis of *IL10* polymorphisms, no significant associations with periodontitis were found in the

population studied. The frequency of the lowest A allele of rs3136557 is 8% in the studied population of Salvador, similar to the American population that has approximately the same frequency, while the African population has 5%. The rs1143630 (T allele) has a frequency of 20% in the population studied, while the African population presents 28%, the American and European population present 6%. The MAF of rs2069841 (A allele) was 2% in the studied group, similar to the African population that presented 3%. **Conclusion:** Polymorphisms in the genes of interleukins IL-1B and IL-6 were positively and negatively associated with periodontitis. No associations of *IL10* gene polymorphisms with periodontitis were found in this population of the city of Salvador. The allelic frequency of polymorphisms is similar to those found in other populations, such as African and European.

Keywords: Periodontitis; Interleukins; candidate gene.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sistema de colonização de Socransky.....	16
Figura 2: Análise do Desequilíbrio de ligação entre SNPs do gene <i>IL1B</i>	36
Figura 3: Análise do Desequilíbrio de ligação entre SNPs do gene <i>IL6</i>	37

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO 1: ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES *IL1B*, *IL6* E *IL10* COM PERIODONTITE

Tabela 1: Frequências absolutas e relativas das características da amostra utilizadas neste estudo para periodontite.....33

Tabela 2: Análise funcional dos polimorfismos em *IL1B* e *IL6*.....34

Tabela 3: Associação entre polimorfismos nos genes *IL1B*, *IL6* e *IL10* e periodontite.....34

Tabela 4: Análise *in silico* dos polimorfismos em *IL1B* e *IL6*.....35

Quadro 1: Frequências alélicas entre três populações diferentes do Projeto 1000 Genomas para os marcadores genéticos do banco de dados do estudo.....38

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

A1	Alelo 1
A2	Alelo 2
ADD	Modelo aditivo
CHR	Cromossomo
DOM	Modelo dominante
HWE	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
IC	Intervalo de Confiança
IL-10	Interleucina 10
IL-1B	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
LPS	Lipopolissacarídeo
MAF	Frequência do menor alelo
OR	Odds Ratio
REC	Modelo recessivo
TNF	Fator de necrose tumoral
DP	Doença Periodontal
TCD4	Linfócitos T CD4
NK	Célula Natural Killer
TRM	Células T de Memória Residentes
NKT	Célula Natural Killer T
RANK	Receptor-Ativador do NF- κ B
RANKL	Receptor-Ativador do Fator Nuclear- κ B ligante
OPG	Osteoprotegerina
PMAPs	Padrões Moleculares Associados A Patógenos
DAMPs	Padrões Moleculares Associados a Danos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Conceito, Epidemiologia e Fisiopatologia da Periodontite	16
2.2 Interleucinas e Periodontite	22
2.3 Fatores Genéticos e a Periodontite	24
3. OBJETIVOS	26
Objetivo Geral	26
Objetivos Específicos	26
4. MANUSCRITO 1: ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES <i>IL1B</i> , <i>IL6</i> E <i>IL10</i> COM PERIODONTITE	27
4.1 INTRODUÇÃO	31
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.2.1 População do Estudo	32
4.2.2 Avaliação e Diagnóstico da Periodontite	33
4.2.5 Análises estatísticas	34
4.3 RESULTADOS	34
4.3.1 População do estudo	34
4.3.2 Associação dos Polimorfismos nos genes <i>IL1B</i> , <i>IL6</i> e <i>IL10</i> e a periodontite	35
4.3.3 Impacto Funcional dos polimorfismos associados à periodontite	37
4.3.4 Frequências alélicas dos genes <i>IL1B</i> , <i>IL6</i> e <i>IL10</i> nas populações africana, americana e europeia	39
4.4 DISCUSSÃO	41
4.5 CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46
5. CONCLUSÃO GERAL	49
REFERÊNCIAS GERAIS	50

1. INTRODUÇÃO GERAL

A doença periodontal (DP) é um problema de saúde pública tanto frequente como grave, pois é encontrada em todos os países e nas diversas camadas sociais (NAZIR *et al.*, 2020), e sua gravidade está diretamente relacionada com a perda dos elementos dentários, e consequentes sequelas estéticas, funcionais, nutricionais, fonéticas, entre outras (CALAU, 2019).

A doença periodontal é um termo genérico para classificar as doenças que acometem a gengiva e os tecidos adjacentes, como o osso alveolar e os ligamentos periodontais. É uma condição inflamatória que pode se apresentar de forma aguda ou crônica que acomete os tecidos de sustentação dos dentes. É uma das condições patológicas mais comuns da cavidade oral, sendo a doença gengival mais frequente. (KUMAR, 2019)

O desenvolvimento da doença periodontal é caracterizado por um processo de infecção e inflamação aguda ou crônica. É uma condição frequente e grave. O sangramento gengival é frequente, e acomete aproximadamente de 10 a 15% dos adultos de todo mundo. Ao mesmo tempo em que é uma doença grave sendo considerada um dos principais fatores de perda dos elementos dentários (PETERSEN, 2005).

Dentre os seus fatores etiológicos estão as condições sistêmicas, fatores comportamentais/ ambientais, biológicos e genéticos. Durante muito tempo, a literatura atribuiu o biofilme como o principal fator de desencadeamento das respostas inflamatórias periodontais, nas quais uma cascata de citocinas mediadores inflamatórios é recrutada para combater o fator irritante local. Mas, o biofilme sozinho não explica a diversidade do prognóstico da doença. Sendo atribuídas características genéticas para estas (COUSO, 2017). Diversas pesquisas estão sendo desenvolvidas para elucidar a associação do perfil genético com a doença periodontal (SHADDOX *et al.*, 2021).

É possível que fatores genéticos promovam alterações significativas na resposta do sistema imunológico, especialmente na produção e atuação de IL-1B, IL-6 e IL-10 que impactam na prevenção, desenvolvimento e progressão das doenças periodontais (INSTAVÁN, 2009; SHADDOX *et al.*, 2021). Essas alterações evidenciam repercussões relacionadas à saúde do indivíduo à prática clínica dos profissionais de saúde.

É possível que polimorfismos genéticos dos genes das interleucinas IL-1B, IL-6 e IL-10 estejam envolvidos com a severidade da resposta inflamatória, desenvolvimento e progressão da doença periodontal. Assim, esse estudo busca elucidar o impacto de polimorfismos dos genes *IL-1B*, *IL-6* e *IL-10* em pacientes com periodontite.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Conceito, Epidemiologia e Fisiopatologia da Periodontite

Estudo de Nazir e colaboradores (2020) mostrou a prevalência da doença periodontal em todo mundo, acometendo de diferentes formas as diferentes camadas sociais. Um consenso em todas as populações é que a DP aumenta conforme a idade. Nos Estados Unidos, a prevalência de doença periodontal foi de 42,2%. A DP moderada aumentou com a idade, enquanto a leve e a grave apresentaram relevância em todas as faixas etárias (EKE *et al.*, 2020). Estudos de Kvarnvik e colaboradores (2016), sobre a região asiática, evidenciou a periodontite grave em 12,9% entre os indivíduos de 30-39 anos, 52% no grupo de adultos de 40-49 anos, e 60% no grupo dos pacientes geriátricos. A população africana possui fatores genéticos que podem estar relacionados ao desenvolvimento e progressão da doença periodontal. Polimorfismos estão associados, mas sofrem influência de fatores ambientais (LIRA, 2019).

A expressão Doença Periodontal é um termo genérico utilizado para caracterizar um conjunto de alterações patológicas que acometem os tecidos de proteção e sustentação dos dentes. Ela é desencadeada por uma disbiose entre o complexo de agressão e defesa, podendo atingir somente os tecidos gengivais, e caracteriza-se como uma gengivite, e pode ou não progredir para os tecidos de sustentação dos dentes e caracterizar a periodontite (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

A gengivite é a alteração mais comum, trata-se de uma condição reversível, decorrente da disbiose do biofilme dental, que desencadeia uma resposta inflamatória branda. Porém, quando não tratada, ela funciona como uma fase inicial para o desenvolvimento da periodontite que é uma condição frequente e grave que está relacionada com a perda de tecido conjuntivo, do osso alveolar de suporte, e é um dos principais fatores de perda dos elementos dentários (SERRA, 2015; PETERSEN 2005).

Segundo a nova classificação das doenças periodontais (STEFFENS e MARCANTONIO, 2018), é dividida em três grandes grupos. O primeiro corresponde a saúde gengival ou condições gengivais que refletem sobre condições de ausência de doença ou com presença de gengivite, que é reversível. O segundo grupo

caracteriza a periodontite e suas atribuições. Enquanto o terceiro grupo faz referência às condições sistêmicas que afetam a saúde do tecido periodontal (STEFFENS e MARCANTONIO, 2018).

A fisiopatologia da periodontite é complexa, caracterizada por um processo de infecção e inflamação em resposta de um biofilme disbiótico, possuindo diversos fatores associados ao desenvolvimento e gravidade da doença (PETERSEN 2005). O processo ocorre de forma dinâmica e está relacionado com fatores intrínsecos, como influenciados pelo padrão genético da resposta imune e outros fatores do hospedeiro, como condições sistêmicas, hábitos de saúde e de higiene oral, como o uso do fio dental.

Um biofilme disbiótico é caracterizado pela formação de comunidades polimicrobianas com características patogênicas. Estas podem ser influenciadas pela associação de diversos fatores. Está relacionada a condições sistêmicas, como diabetes (REDDY E GOPALKRISHNA, 2022); a fatores ambientais, como tabagismo, higiene oral e a fatores genéticos. Sendo assim, a presença destes fatores está relacionada à composição do biofilme disbiótico, a alterações na resposta inflamatória do indivíduo (LINS, 2011), e um fenótipo característico da periodontite.

A resposta inflamatória e imunológica a um biofilme disbiótico representa uma importante característica da periodontite. Essas alterações são visíveis tanto microscopicamente quanto clinicamente, pois a gengiva se caracteriza conforme a resposta imune à microbiota do biofilme e seus metabólitos, que tentam proteger e debelar as agressões microbianas. Mas, em alguns casos essa resposta é exacerbada, e essa reação de defesa pode ter um efeito secundário, acometer células saudáveis e estruturas adjacentes ao tecido conjuntivo (RAFFAELLI, 2016).

O complexo de Socransky (1998) classifica e organiza os microrganismos presentes no biofilme subgengival, sendo observados 5 principais grandes complexos. O primeiro complexo tem a presença de *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*. O segundo registou a presença de *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens*, *Fusobacterium nucleatum/periodonticum*. O terceiro grupo temos *Streptococcus sanguis*, *S. oralis*, *S. mitis* e outros. O quarto complexo evidencia a presença de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* sorotipo a, *Capnocytophaga*, *Eikenella corrodens*. O quinto e último complexo temos a

presença dos clássicos *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Veillonella parvula*.

Posteriormente esse complexo foi dividido didaticamente em um sistema hierárquico e acompanhando de elementos de seis cores. A base da pirâmide consiste no grupo amarelo, verde, violeta e azul. O grupo amarelo apresenta elementos do tipo *Streptococcus*, verde *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotipo *a*, *Eikenella corrodens* e outros, o violeta marcado pela presença de *Veillonella parvula* e *Actinomyces odontolyticus*, e o azul com espécies de *Actinomyces*. Esses elementos constituem a base da pirâmide pois são os primeiros colonizadores e que uma vez maduros, seguidos de replicações sucessivas podem desencadear os complexos laranja e vermelho (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002).

O complexo laranja, que constitui a parte intermediária da pirâmide, é formado por um grupo de bactérias, das quais se destacam *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus constellatus* entre outras. Já o complexo vermelho, o mais agressivo, é marcado por *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002). É possível verificar a reprodução gráfica desse complexo na figura abaixo.

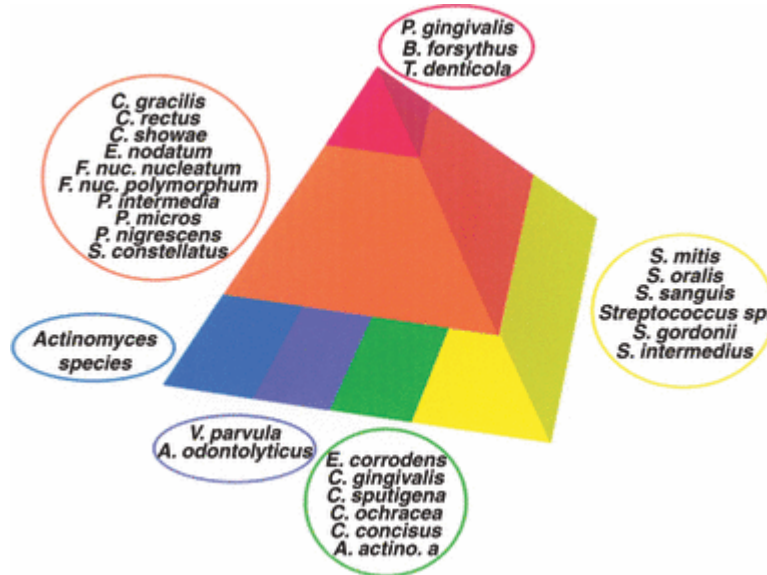


Figura 1. Sistema de colonização de Socransky, S. S., & Haffajee. Classificação e organização dos microrganismos presentes no biofilme subgengival, sendo observados 5 principais grandes complexos.

Fonte: Darby I. (2009). Non-surgical management of periodontal disease. Australian dental journal, 54 Suppl 1, S86–S95.

Geng e colaboradores (2018) avaliaram os polimorfismos em *IL10* e o desenvolvimento da doença periodontal em uma população chinesa. O estudo mostrou uma relação significativa entre o gene e o desenvolvimento da doença e com o aumento da microbiota, como por exemplo o *A. Actinomycetemcomitans*. Evidenciando uma relação do polimorfismo genético com o a microbiota no desenvolvimento da periodontite do hospedeiro.

Para combater a presença de micro-organismos presentes no biofilme bacteriano disbiótico, uma resposta imune inata é organizada, e participa ativamente do processo de instalação da periodontite. Posteriormente uma resposta imune adquirida é elaborada através das células T CD4, que possuem um papel importante no aumento exacerbado da reabsorção óssea, que caracteriza a periodontite. Em contrapartida, uma resposta humoral está sendo associada a uma proteção (BARBOSA, 2012).

Através de uma resposta inata, mesmo em condições de saúde, o sulco gengival apresenta um infiltrado imune com presença de neutrófilos, impedindo que corpos estranhos adentrem a região de sulco ou bolsa. Uma vez detectada a presença de micro-organismo patogênico na bolsa periodontal, novos neutrófilos são recrutados, à medida em que bactérias vão produzindo peptídeos quimiotáticos e citocinas, que por sua vez, intensificam ainda mais sua atividade. Se essa resposta for muito intensa, os neutrófilos desgranulam, liberando enzimas tóxicas e intensificando a defesa, que pode controlar a infecção, mas, se a atividade bacteriana do biofilme estiver alta, os neutrófilos e as células epiteliais não conseguirão sustentar uma reposta efetora (KINANE, 2001).

As células natural killers (NK) também participam da ação, exercendo influências pró-inflamatórias, como a produção de citocinas, efeitos citotóxicos e reações auto imunes (SEIDEL, *et al.*, 2020).

Ainda sobre uma resposta inata, os tecidos epiteliais da mucosa possuem as células de Langerhans, que são as células dendríticas em seu estado imaturo, que posteriormente saem do seu local de origem e migram para os tecidos linfoides onde irão sofrer a diferenciação e expressar MHC de classe II, para posterior apresentação de peptídeos para as células T; evidenciando um novo formato de resposta imunológica (STEINMAN *et al.*, 1997; XIMENES FILHO, JOÃO ARAGÃO *et al.*, 2004). Através do papel das células dendríticas ocorrerá a apresentação dos antígenos, através do complexo principal de histocompatibilidade, onde aqueles

antígenos intracelulares são apresentados através da via de MHC de classe I, no qual a célula dendrítica apresenta diretamente para o linfócito T citotóxico, enquanto os antígenos extracelulares são eliminados via MHC de classe II aos linfócitos T auxiliares para efetivação de uma nova resposta imunológica (BARBOSA, 2012; BANCHEREAU E STEINMAN, 1998).

Se o sistema imunológico não conseguir debelar a infecção, a persistência do micro-organismo contribuirá para a síntese de citocinas pró-inflamatórias como a interleucina 1B e macrófagos, promovendo a destruição da microarquitetura óssea, perda do nível de inserção clínica e caracterização da periodontite (O'BEIRNE, 1996). A presença do macrófago é marcada nos quadros de gengivite e periodontite, possuindo níveis mais elevados na gengivite quando comparado com a periodontite (GARAICOA-PAZMINO *et al.*, 2019).

Essa mudança na resposta imunológica é marcada pela alteração de epitélio juncional para a presença de bolsa periodontal, desencadeando alterações clínicas. A intensidade do ataque e posterior presença de bolsa coloca o delicado sistema em exaustão, e o que antes era uma cascata organizada, passa a ser desequilibrada, onde o organismo libera as células diretamente na bolsa na tentativa de debelar a infecção, enquanto as células do epitélio enfrentam diretamente os micro-organismos do biofilme dentário, que associados ao afinamento do epitélio e ulceração perpetuam ainda mais a intensidade da resposta, ampliando as chances de invasão e necessidade de defesa (BOSSHARDT, 2018).

Já as células T de memória residentes em tecidos (Trm) representam um conjunto de células T que protegem os tecidos contra infecções. Sendo verificado um número maior de Trm em pacientes com lesões de periodontite. Por ser de memória, podem organizar uma resposta mais rápida, reativando a doença periodontal com a mesma rapidez (DELI, *et al.*, 2020).

As Células natural killer T (NKT), promovem efeitos pró-inflamatórios e imunorreguladores, com uma resposta variável podendo ser protetora através da regulação de células B e produção de imunoglobulinas, ou uma resposta destrutiva através da produção de citocinas, resposta cruzada de células dendríticas. Possuindo, dessa forma, uma função de imunomodulação (SEIDEL, *et al.*, 2020).

A perda óssea ocorre em consequência da resposta imunológica e inflamatória na tentativa de debelar o micro-organismo. Após a estimulação de

células imunológicas e inflamatórias do hospedeiro pelo conteúdo do biofilme, haverá a ativação de células B e células T, marcando o início da resposta adaptativa, que juntamente com macrófagos e neutrófilos levam a uma perda óssea através da produção exacerbada de mediadores pró-inflamatórios, com consequente mobilização da via de ativação do sistema RANK-RANKL-OPG, relacionado com aumento dos níveis de RANKL (Ligante do receptor-ativador do NF- κ B), citocina pró-osteoclastogênica, e inibição da atividade de OPG (osteoprotegerina) resultando na diferenciação e ativação dos osteoclastos, regulando as respostas celulares e reabsorção óssea, característica da periodontite (HIENZ; PALIWAL; IVANOVSKI, 2015).

O metabolismo ósseo é influenciado pela relação RANK (receptor-ativador do NF- κ B), RANKL e OPG, que podem estar relacionados com células Th17/Treg, sugerido uma relação bidirecional entre o sistema imunológico e a doença periodontal (DENG *et al.*, 2022). A microarquitetura óssea, bem como a sua reabsorção é cadenciada pela relação RANKL e OPG. RANKL é secretado por osteoblastos, fibroblastos, células T e B ativadas, em uma condição de disbiose, RANK e RANKL se ligam e participam da maturação de osteoclastos, que são responsáveis pela destruição da matriz óssea, a chamada osteoclastogênese. Entretanto, esse eixo pode ser alterado na presença de OPG, que por sua vez inibe, a relação RANK/RANKL, através de sua própria ligação com RANKL, impedindo a destruição óssea (BELIBASAKIS & BOSTANCI, 2012). O OPG atua inibindo a osteoclastogênese, sendo relacionada a uma forma protetora contra a destruição do osso periodontal (GARCÍA *et al.*, 2022).

Na resposta humoral, a predominância de plasmócitos tem sido associada a uma maior probabilidade de desenvolvimento de doença periodontal (KINANE, 2001). A presença de níveis reduzidos de células B no periodonto tem sido demonstrada como um fator de proteção contra a perda óssea em pacientes saudáveis. Em contrapartida estas células podem intensificar a resposta e gravidade da periodontite e favorecer a atuação de RANKL, levando a perda óssea (FIGUEIREDO *et al.*, 2019).

2.2 Interleucinas e Periodontite

A interleucina 1 (IL-1B) é uma citocina de origem pró-inflamatória e tem seu complexo de gene localizado no cromossomo 2. É sintetizada por fagócitos ativados, podendo ser produzida por vários grupos de células como neutrófilos, células e epiteliais (ZHU *et al.*, 2022).

Considerada como uma citocina reguladora da resposta inflamatória do hospedeiro e, a IL-1B tem um papel importante na resposta imunológica e na resistência a antígenos, tendo também sido relacionada com a exacerbação do dano, lesão tecidual aguda e doenças crônicas. A sua síntese ocorre de acordo com o estímulo e necessidade, influenciada fortemente pela presença de padrões moleculares associados a patógenos (PMAPs) e padrões moleculares associados a danos (DAMPs) (LOPEZ & BROUGH, 2011).

A doença gengival apresenta-se como um sítio de atuação e promoção da IL-1B, onde ela é produzida e liberada localmente no sítio de ação, sendo possível mensurar os níveis de inflamação tecidual e de reabsorção através de sua dosagem. Evidenciando a IL-1 como um potencial marcador de destruição óssea periodontal (MASADA *et al.*, 1990).

Durante o processo da periodontite, a IL-1B é produzida pelo hospedeiro em decorrência ao estímulo levando a inflamação do periodonto de proteção, tendo ainda sua regulação influenciada pelos inflamassomas (ARAL *et al.*, 2020).

Estudo de Bolyarova-Konova e colaboradores (2020) avaliou concentrações de IL-1B no fluido crevicular gengival e salivar. Os níveis de IL-1B foi maior no fluido crevicular gengival de pacientes com gengivite e periodontite quando comparado com pacientes saudáveis.

A interleucina 6 (IL-6) apresenta-se como uma citocina com ação pró-inflamatória na periodontite. Durante sua ação como pró-inflamatória, atua no controle do estresse oxidativo no tecido lesado, bem como, na produção de neutrófilos e proteínas da fase aguda (TERRA *et al.*, 2012). Sua síntese também pode ser influenciada por outras citocinas como a IL-1 e TNF (SOUZA *et al.*, 2013).

A IL-6 tem um papel fundamental na inflamação, pois é sintetizada de forma rápida para combater infecções teciduais, contribuindo assim para defesa do hospedeiro através da ativação das repostas de fase aguda. Todavia, sua síntese

desregulada pode desencadear um efeito patológico na inflamação crônica (TANAKA *et al.*, 2014).

A produção de IL-6, desencadeada por calprotectina nos fibroblastos gengivais humanos, pode contribuir para o desenvolvimento e progressão da periodontite em decorrência *crosstalk* existente entre fibroblastos e macrófagos (NARUISHI e NAGATA, 2018).

Índices aumentados de IL-6 foram encontrados em bolsas periodontais profundas em pacientes com composição lipídica desfavorável (HARO *et al.*, 2017). Além disso, a quantidade de IL-6 na saliva foi significativamente superior em pacientes com periodontite, quando comparados a pacientes saudáveis. Também foi evidenciada uma tendência significativa entre a presença de IL-6 e doença periodontal e perda dentária (ISOLA *et al.*, 2021).

A interleucina 10 (IL-10) apresenta-se como uma das citocinas mais importantes para a resposta anti-inflamatória (SPERTTA, 2014). Ela pode ser produzida a partir de células T, macrófagos, células dendríticas, entre outras células do sistema imune (KYTTARIS *et al.*, 2005). A IL-10 está relacionada a redução da capacidade de resposta do sistema imune pois inibe a capacidade de atuação dos macrófagos e a produção de células TCD4+, que desempenham papel importante na resposta inflamatória (JOOS *et al.*, 2000).

Extremamente importante para o sistema imunológico, a IL-10 desempenha papel na supressão de respostas pró-inflamatórias nos mais diversos tipos de respostas imunes, incluindo as respostas exacerbadas e doenças autoimunes (WEI *et al.*, 2019). Desempenha um papel anti-inflamatório, limitando a resposta imunológica, e evitando dano ao hospedeiro (Saraiva e O'Garra, 2010).

A interleucina 10 mostra-se como uma citocina importante, pois participa ativamente da imunopatogênese das doenças com características crônicas, e a resposta do organismo à periodontite é uma resposta essencialmente crônica, inclusive sendo associada a polimorfismos genéticos (CULLINAN *et al.*, 2008). Alterações genéticas no gene da IL-10 podem estar associadas a alterações imunológicas com consequente desenvolvimento de periodontite agressiva (Borilova *et al.*, 2020).

Assim, é possível que polimorfismos genéticos nos genes que codificam as interleucinas (IL-1, IL-6 e IL-10) afetem, portanto, a saúde geral desses indivíduos e suas condições periodontais.

2.3 Fatores Genéticos e a Periodontite

O papel da genética para o desenvolvimento da periodontite tem sido bastante estudado. Segundo Instaván (2009), variações genéticas possuem possibilidades de modificação de reações imunológicas para caracterizarem diferenças individuais. Dentro das variantes genéticas existentes, o polimorfismo é uma alteração encontrada em cromossomos homólogos que garantem a variabilidade na sequência de DNA, além de atuar como marcadores genéticos. Para ser considerado polimorfismo essa variação precisa ser encontrada em uma frequência superior a 1% (BALASUBRAMANIAN *et al.*, 2004). A maioria dos polimorfismos encontrados na população é denominada de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP), e são responsáveis por 90% das variações presentes no genoma humano. Essas alterações podem manifestar-se tanto na região codificante do gene, quanto na região reguladora, o que pode acarretar alterações nas posições dos aminoácidos da proteína codificada ou na síntese da proteína codificada (SALAZAR *et al.*, 2012).

Os genes candidatos que podem estar associados negativamente ou positivamente à periodontite ainda não estão totalmente definidos e podem variar de população para população. Alguns estudos já conseguiram associar alguns SNPs mas sem elucidar a relação com manejo da condição clínica (TABBA *et al.*, 2012). Toy e Usulo (2019), afirmam que a periodontite pode ser classificada como um tipo de distúrbio genético complexo que sofre influência de fatores ambientais no qual o indivíduo está inserido. Determinar o quanto uma pessoa pode ou não está susceptível ao desenvolvimento da doença, pode propor novas técnicas para diagnóstico e tratamento. A relação dos genes candidatos com a periodontia ainda é um pouco esclarecida, evidenciando a necessidade do desenvolvimento de novos estudos. A predisposição genética pode estar mais associada à periodontite aguda, quando comparada com a crônica (COUSO, 2017). É evidenciado, entretanto, que os pacientes podem expressar respostas diferentes a determinado estímulo ambiental comum, e essa expressão é regulada pelo perfil genético. No caso da periodontite, ela pode ser desencadeada por estímulos ambientais, mas sua progressão depende da resposta imunológica do indivíduo, com ênfase na resposta adquirida que é determinada pela genética. Essas respostas são orquestradas por genes que caracterizam a resposta do indivíduo, como por exemplo, os genes das

inteleucinas: IL-1, IL-6, e IL-10, que podem estar relacionadas a ativação de vias sinalizadoras de respostas imunes distintas (KOZAK, 2020).

Segundo Couso (2017), o biofilme é o fator etiológico primário para o desenvolvimento da doença, mas apenas sua presença não consegue explicar a enorme variação da doença na população. É necessário o estudo do padrão hereditário, pois o desdobramento de algumas desordens genéticas pode ajudar a elucidar o papel dos fatores genéticos e desenvolvimento da doença periodontal. No caso da periodontite estima-se que exista aproximadamente 50% de envolvimento de fatores genéticos. É necessário estabelecer um sistema de estratégia e vigilância para identificar e mensurar a prevenção, controle e progresso da doença periodontal no mundo (PETERSEN, 2005).

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Investigar a associação de polimorfismos nos genes *IL1B*, *IL6* e *IL10* e a periodontite.

Objetivos Específicos

Estabelecer a associação da periodontite com polimorfismos nos genes *IL1 B*, *IL6* e *IL10*;

Avaliar o impacto funcional *in silico* dos polimorfismos genéticos estudados em *IL1 B*, *IL,6* e *IL10* no estudo de associação com a periodontite.

Comparar frequências alélicas dos polimorfismos nos genes *IL1 B*, *IL,6* e *IL10* entre três populações (africana, americana e europeia).

4. MANUSCRITO 1: ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES *IL1B*, *IL6* E *IL10* COM PERIODONTITE

Autores: Freire, Rildo Batista; Cruz, Álvaro A.S; Barrientos, Marcia Otto; Gomes-Filho, Isaac Suzart; Trindade, Soraya Castro Teixeira; Costa, Ryan dos Santos; Figueiredo, Camila A; Oliveira, Tatiane Teixeira. M.C.

Introdução: A periodontite envolve a perda óssea do tecido de sustentação e consequente perda das unidades dentárias o que impacta significativamente na qualidade de vida de indivíduos de todas as camadas sociais. A presença de comunidades microbianas disbióticas e uma resposta imunológica exacerbada podem acarretar na destruição da microarquitetura do periodonto de sustentação. Fatores ambientais e genéticos estão associados ao desenvolvimento da doença, sendo necessário elucidar o papel da genética no seu desenvolvimento e progressão. **Objetivo:** Investigar a associação de polimorfismos dos genes *IL1B*, *IL6* e *IL10* com a periodontite; e determinar as frequências alélicas dos polimorfismos *IL1B*, *IL6* e *IL10* nas populações africana, americana e europeia. **Materiais e métodos:** Estudo transversal, realizado com 506 indivíduos adultos, classificados com presença (n=117) ou ausência (n=389) de periodontite, participantes da coorte do Programa de Controle da Asma da Bahia (ProAR) em Salvador/Bahia – Brasil. O DNA genômico foi extraído e genotipado utilizando-se a plataforma Illumina Multi-Ethnic Global Array (MEGA, Illumina). As plataformas NCBI, RegulomeDB, ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements), Haploview 4.2 e rSNPBase foram consultadas. A análise estatística foi realizada no software PLINK 1.9 e a regressão logística foi ajustada por idade, obesidade, hábito de respirar pela boca, uso de fio dental, asma e ancestralidade. Para controle de qualidade utilizou-se o equilíbrio de Hardy-Weinberg <0,05, taxa de genotipagem <0,98 e frequência do menor alelo (MAF) <1%. **Resultados:** Dois polimorfismos foram associados à periodontite no gene *IL1B*. O rs3136557 alelo A apresentou associação negativa com a periodontite tanto no modelo aditivo como no dominante, respectivamente (OR = 0,48; IC 95% = 0,24-0,94) e (OR = 0,48; IC 95 % = 0,24-0,97). O rs1143630 alelo T apresentou associação positiva (OR = 1,49; IC 95% = 1,02-2,18) no modelo aditivo, enquanto o modelo dominante apresentou (OR = 1,61; IC 95% = 1,02-2,53). No gene *IL6* o polimorfismo rs2069841 alelo A foi associado positivamente à periodontite no modelo aditivo (OR = 2,61; IC 95% = 1,05-6,50) e no modelo dominante (OR = 2,61; IC 95%

= 1,05- 6,50). Na análise dos polimorfismos da *IL10* não foram encontradas associações significantes com a periodontite na população estudada. A frequência do menor alelo A do rs3136557 é de 8% na população estudada de Salvador, semelhante a população americana que possui aproximadamente a mesma frequência, enquanto a população africana possui 5%. O rs1143630 (alelo T) possui frequência de 20% na população estudada, enquanto a população africana apresenta 28%, a população americana e a europeia apresentam 6%. O MAF do rs2069841 (alelo A) foi de 2% no grupo estudado, semelhante a população africana que apresentou 3%. **Conclusão:** Polimorfismos nos genes das interleucinas IL-1B e IL-6 foram associados positivamente e negativamente à periodontite. Não foram encontradas associações de polimorfismos do gene *IL10* com a periodontite, nesta população da cidade de Salvador. A frequência alélica dos polimorfismos mostra-se semelhante às aquelas encontradas em outras populações, como a africana e europeia.

Palavras-chave: Periodontite; Interleucinas; gene candidato;

ABSTRACT

ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS IN THE *IL1B*, *IL6* AND *IL10* GENES WITH PERIODONTITIS.

Introduction: Periodontitis involves bone loss of support tissue and consequent loss of dental units, which significantly impacts the quality of life of individuals from all walks of life. The presence of dysbiotic microbial communities and an exacerbated immune response may result in the destruction of the microarchitecture of the supporting periodontium. Environmental and genetic factors are associated with the development of the disease, and it is necessary to elucidate the role of genetics in its development and progression. **Objective:** To investigate the association of polymorphisms of the *IL1 B*, *IL6* and *IL10* genes with periodontitis; and to determine the allelic frequencies of *IL1 B*, *IL6* and *IL10* polymorphisms in African, American and European populations. **Materials and methods:** Cross-sectional study, conducted with 506 adult individuals, classified with presence (n=117) or absence (n=389) of periodontitis, participants in the cohort of the Bahia Asthma Control Program (ProAR) in Salvador/Bahia – Brazil. Genomic DNA was extracted and genotyped using the Illumina Multi-Ethnic Global Array (MEGA, Illumina) platform. The platforms NCBI, RegulomeDB, ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements), Haploview 4.2 and rSNPBase were consulted. Statistical analysis was performed using the PLINK 1.9 software and logistic regression was adjusted for age, obesity, mouth breathing habit, flossing, asthma and ancestry. For quality control, Hardy-Weinberg equilibrium <0.05 , genotyping rate <0.98 and frequency of the lowest allele (MAF) $<1\%$ were used. **Results:** Two polymorphisms were associated with periodontitis in the *IL1B* gene. The rs3136557 A allele showed a negative association with periodontitis in both the additive and dominant models, respectively (OR = 0.48; CI 95% = 0.24-0.94) and (OR = 0.48; CI 95 % = 0.24-0.97). The rs1143630 T allele showed a positive association (OR = 1.49; CI 95% = 1.02-2.18) in the additive model, while the dominant model presented (OR = 1.61; CI 95% = 1.02-2.53). In the *IL6* gene, the rs2069841 allele A polymorphism was positively associated with periodontitis in the additive model (OR = 2.61; CI 95% = 1.05-6.50) and in the dominant model (OR = 2.61; CI 95% = 1.05- 6.50). In the analysis of *IL10* polymorphisms, no significant associations with periodontitis were found in the population studied. The frequency of the lowest A allele of rs3136557 is 8% n the

studied population of Salvador, similar to the American population that has approximately the same frequency, while the African population has 5%. The rs1143630 (T allele) has a frequency of 20% in the population studied, while the African population presents 28%, the American and European population present 6%. The MAF of rs2069841 (A allele) was 2% in the studied group, similar to the African population that presented 3%. **Conclusion:** Polymorphisms in the genes of interleukins IL-1B and IL-6 were positively and negatively associated with periodontitis. No associations of *IL10* gene polymorphisms with periodontitis were found in this population of the city of Salvador. The allelic frequency of polymorphisms is similar to those found in other populations, such as African and European.

Keywords: Periodontitis; Interleukins; candidate gene;

4.1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma condição inflamatória considerada como uma das patologias que mais comprometem a saúde oral, podendo levar à perda de unidades dentárias (JUIZ *et al.*, 2010). Caracterizada pelo acometimento dos tecidos de proteção e sustentação dos dentes, com perda da microarquitetura óssea alveolar e inserção conjuntiva, decorrente da interação de múltiplos fatores relacionados com a resposta imunológica e a presença de um biofilme disbiótico (FERREIRA *et al.*, 2013; Antonini *et al.*, 2013; LINDHE, 2010). O processo ocorre de forma dinâmica e está relacionado tanto com fatores intrínsecos, como influenciado pelo padrão genético da resposta imune e outros fatores do hospedeiro, como condições sistêmicas e hábitos de saúde e de higiene oral, como o uso do fio dental.

Para Costa e colaboradores (2021) a compreensão da doença periodontal vai além da relação biofilme dependente, pois existe um papel imunológico extremamente importante, uma diversidade de resposta imunológica, que a depender do estímulo pode influenciar na homeostasia do osso alveolar. Essa resposta imunológica em estágio inicial é liderada por uma imunidade inata, quando o organismo não consegue debelar a infecção, faz-se necessária uma resposta adaptativa, que prolongada, ativa exacerbadamente linfócitos que induzem a destruição óssea.

A ação bacteriana e seus componentes, como o lipopolissacarídeo, modula uma resposta imunoinflamatória exacerbada, que desencadeia o metabolismo osteoclástico e posterior perda óssea. Sendo assim, esses indivíduos apresentam níveis elevados de proteínas da fase aguda, como a proteína C reativa e citocinas como Fator de Necrose Tumoral e interleucinas como interleucina (IL) 1, IL-2 e IL-6 (HEGDE e AWAN, 2019).

A IL-1B tem sido associada ao desenvolvimento da periodontite, visto que sua produção é desencadeada por células envolvidas, como por exemplo, os linfócitos e monócitos (FRÓES *et al.*, 2020). Além disso, existe um aumento de IL-6 durante o processo de desenvolvimento da doença, sendo essa citocina de possível verificação no tecido periodontal e na saliva dos portadores da condição (HOBBS *et al.*, 2017). A presença de IL-6 evidencia-se como um indicador de doença periodontal, podendo essa ser associada a presença de sangramento, e aumento da profundidade de sondagem (GEIVELIS *et al.*, 1993). Os níveis de IL-10 aumentam

com a terapia periodontal (ROSALEM *et al.*, 2011). O que sugere um papel na recuperação do paciente, visto que essa é uma citocina anti-inflamatória.

Couso (2017) aponta que fatores com o biofilme disbiótico, isoladamente, não é capaz de explicar a variação de doença periodontal na população. Os fatores genéticos possuem relevância, pois modulam a resposta inflamatória podendo tornar o indivíduo mais susceptível ou resistente ao desenvolvimento da doença (ALBUQUERQUE *et al.*, 2013). Alguns fatores genéticos estão sendo observados e indicados com potencial de alterar a resposta inflamatória e infecciosa, o que torna o perfil genético valioso, pois elucidar essa relação pode contribuir para o desenvolvimento de novas formas de diagnóstico e terapêutica (MASMOUDI, 2020).

O papel da genética no desenvolvimento da periodontite tem sido bastante estudado, porém os genes candidatos para determinar a susceptibilidade ainda não estão totalmente definidos e podem variar entre as populações. Alguns estudos já conseguiram associar alguns SNPs mas sem elucidar a relação com manejo da condição clínica (TABA *et al.*, 2012).

Diante do exposto, deve-se considerar a relevância de conhecer as características dos polimorfismos e suas ligações com a periodontite na população deste estudo.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 População do Estudo

Foi realizado um estudo transversal com 506 indivíduos adultos, participantes de uma coorte do Programa de Controle da Asma da Bahia (ProAR) em Salvador/Bahia – Brasil. Os dados para o estudo foram coletados de janeiro de 2013 a novembro de 2014. Os indivíduos foram subdivididos em dois grupos, indivíduos diagnosticados com periodontite e indivíduos sem o diagnóstico de periodontite conforme classificação descrita no item 4.2.2. Como critérios de inclusão foram selecionados pacientes do sexo biológico masculino e feminino e residentes da cidade de Salvador. Como critérios de exclusão, aqueles pacientes que apresentaram comorbidades, consanguinidade, ausência dentária total ou inferior a 4 unidades. Nesse estudo todos os participantes responderam a um questionário estruturado, por meio de entrevistas, com informações relacionadas às

características socioeconômicas e demográficas, estilo de vida, história médica e tratamentos bucais anteriores (Soledade-Marques et al., 2018). O consentimento Livre e Esclarecido foi obtido de todos os participantes. Esta pesquisa segue os requisitos éticos e aprovada pela CONEP e pelo Comitê de Ética em Pesquisa Comitê da Maternidade Climério de Oliveira, CAAE: 25000.013834/2010-96.

4.2.2 Avaliação e Diagnóstico da Periodontite

A avaliação odontológica foi realizada por um único profissional especialista e calibrado que realizou todos os exames periodontais (SOLEDADE-MARQUES et al., 2018). Foram examinados seis locais de cada dente, excluindo os terceiros molares, e foram avaliados: recessão, profundidade de sondagem, nível de inserção clínica e sangramento à sondagem. Os indivíduos com periodontite apresentavam pelo menos quatro dentes com um ou mais sítios com profundidade de sondagem ≥ 4 mm, nível de inserção clínica ≥ 3 mm e sangramento à sondagem em um mesmo local (GOMES-FILHO et al., 2018).

4.2.3 Extração de DNA e Genotipagem

Para a realização da extração do DNA foram utilizadas amostras de sangue periférico seguindo o protocolo do kit Gentra® Puregene® Blood Kit (Quiagen). O DNA genômico extraído foi genotipado utilizando-se a plataforma Multi-Ethnic Global Array, o Infinium Multi-Ethnic AMR/AFR-8 Bead Chip. As informações genéticas dos polimorfismos dos genes estudados foram extraídas nas posições: gene *IL1B*:113587328-113594356 (GRCh37), no cromossomo 2; gene *IL6*: 22766819 – 2277161 (GRCh37), cromossomo 7. E para o gene *IL10*: localização 206940947-206945839 (GRCh37), cromossomo 1 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

4.2.4 Análise *in silico*

A análise de cada SNP foi obtida através do banco de dados do National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov) e ENSEMBL (<https://www.ensembl.org>). As funções regulatórias no genoma humano foram analisadas no RegulomeDB (www.regulomedb.org) e ENCODE (Encyclopedia of

DNA Elements). A obtenção dos dados da frequência dos alelos em outras populações foi coletada através da plataforma HaploReg 4.0. que utiliza informações do projeto *1000 Genomas*, desenvolvido a partir de amostras que envolvem populações de quatro continentes (Americano, Africano, Asiático e Europeu).

4.2.5 Análises estatísticas

Para investigar a associação dos polimorfismos genéticos nos genes *IL1B*, *IL6* e *IL10* e a periodontite, foram realizadas análises com banco de dados imputados através do painel CAAPA, Michigan Imputation Server (<https://imputationserver.sph.umich.edu>). O software PLINK foi utilizado para estabelecimento das análises das associações dos polimorfismos genéticos e a periodontite através de regressão logística nos modelos dominantes, recessivos e aditivos, com ajustes para idade, obesidade, asma, respiração bucal, uso do fio dental pelo menos uma vez ao dia e ancestralidade. O Desequilíbrio de ligação foi considerado para determinar a associação não aleatória dos alelos em *locos* distintos pelo software Haploview 4.2, para calcular o valor r^2 . Para o controle de qualidade foram utilizados equilíbrio de Hardy-Weinberg $<0,05$, taxa de genotipagem $<0,98$ e frequência do menor alelo (MAF) $<1\%$. Os valores de p foram considerados estatisticamente significativos quando $<0,05$, e p permutado em 10.000 vezes também menor que $<0,05$.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 População do estudo

A população do estudo foi composta por 506 indivíduos ($n=506$), sendo 421 mulheres (83,2%) e 85 homens (16,8%). Classificados como grupo com presença de periodontite ($n=117$), segundo a classificação de Gomes Filho e colaboradores (2018); e grupo sem o diagnóstico de periodontite ($n=389$). A tabela 1 apresenta informações sobre as características da amostra utilizada neste estudo.

Tabela 1: Frequências absolutas e relativas das características da amostra utilizadas neste estudo para periodontite.

Características	Classificação	N	(%)	Presença Periodontite 117	Ausência Periodontite 389
Idade	> 39 anos	341	67,4	88 (75,2)	253 (65,0)
Sexo	Mulher	421	83,2	94 (80,3)	327 (84,1)
Escolaridade	≤ 4 anos	405	80	80 (68,4)	325 (83,5)
Raça autorreferida	Preto/Pardo	421	83,2	93 (79,5)	328 (84,3)
Obesidade	IMC > 30	149	29,4	47 (40,2)	102 (26,2)
Asma	Presença	314	62,1	95 (81,2)	219 (56,3)
Fumante	Sim	176	34,8	47 (40,2)	129 (33,2)
Respira pela boca	Sim	319	63,0	91 (77,8)	228 (58,6)
Visita o dentista com frequência	Sim	252	49,8	50 (42,7)	202 (51,9)
Utilização do fio dental	Sim	266	52,5	45 (38,5)	221 (56,8)

4.3.2 Associação dos Polimorfismos nos genes *IL1B*, *IL6* e *IL10* e a periodontite

Foram encontrados 3 SNPs significativos para periodontite. No gene *IL1B* foram observados 24 SNPs, sendo dois polimórficos: rs3136557 (alelo A) e rs1143630 (alelo T). Após atualização no NCBI o rs57171133 passou a ser denominado o rs1143630. O rs3136557 alelo A (*IL1B*) foi negativamente associado à periodontite nos modelos aditivo (OR 0,48, IC 95% 0,24-0,94) e dominante (OR 0,48, IC 95% 0,24-0,97). Neste mesmo gene, o rs1143630 alelo T foi positivamente associado à doença periodontal nos modelos aditivo (OR 1,49, IC 95% 1,02-2,18) e dominante (OR 1,61, IC 95% 1,02-2,53).

No polimorfismo rs1143630 temos a presença do alelo T no modelo aditivo atribuindo um aumento da susceptibilidade de 49% para o desenvolvimento da periodontite. Quando observado o modelo dominante esse valor é superior, podendo chegar a 61% a predisposição ao desenvolvimento da doença periodontal.

No *IL6* foi encontrado um total de 32 SNPs, um polimórfico rs2069841 (alelo A) foi associado positivamente à periodontite nos modelos aditivo e dominante, pois o alelo polimórfico (A) apresenta susceptibilidade de 161% de desenvolvimento da doença tanto no modelo aditivo quanto no modelo dominante, (ambas apresentaram OR =2,61). Já no modelo recessivo não foram verificadas associações significantes.

No gene *IL10* foram encontrados 23 SNPs, mas, não foram verificadas associações significantes.

As associações significantes dos polimorfismos dos genes *IL1B* e *IL6* e a periodontite estão apresentadas na Tabela 3.

Todos os SNPs associados são intrônicos e estão relacionados com o controle da expressão gênica. Os polimorfismos do *IL1B* obtiveram uma pontuação de 5; e o rs206984, do *IL6*, pontuação de 4 de acordo com o banco de dados do RegulomeDB. A tabela 2 apresenta a análise funcional em *IL1B* e *IL6*.

Tabela 2: Análise funcional dos polimorfismos em *IL1B* e *IL6*.

SNP <i>IL1B</i>	MAF	A1	A2	função	Regulome DB Rank (escore)	HWE*
rs3136557	0.084	A	G	Intron	5 (0.13454)	0.35
rs1143630	0.204	T	G	Intron	5 (0.13454)	1

SNP <i>IL6</i>	MAF**	A1	A2	função	Regulome DB Rank (escore)	HWE*
rs2069841	0.023	A	G	Intron	4 (0.60906)	1

Nota: SNP: Polimorfismo de nucleotídeo único. MAF: frequência do alelo menor. A1: alelo menor. A2: alelo ancestral. DBSNP: função em DBSNP. Previsão para SNP do RegulomeDB. HWE: Equilíbrio de Hardy Weinberg (*HWE<0.05, excluído **MAF>0.01).

Tabela 3: Associações significantes entre polimorfismos nos genes *IL1B*, *IL6* e *IL10* e periodontite.

SNP <i>IL1B</i>	Modelo	Genotipo	Controle (%)	Caso (%)	OR	IC95%	valor p	p Perm	
rs3136557	A/G	ADD	GG	320(63,2%)	106(21%)	0.48	0.24-0.94	0.031	0.028
			GA	64 (12,6%)	11(2,1%)				
			AA	5(1%)	0				
	A/G	DOM	GG	320(63,2%)	106(20,9%)	0.48	0.24-0.97	0.042	0.043
GA+AA	69(13,6%)	11(2,1%)							
rs1143630	T/G	ADD	GG	255(50,3%)	68(13,4%)	1.49	1.02-2.18	0.037	0.041
			GT	117(23,1%)	43(8,4%)				
			TT	17(3,3%)	6(1,1%)				
	T/G	DOM	GG	255(50,3%)	68(13,4%)	1.61	1.02-2.53	0.040	0.037
GT+TT	134(26,4%)	49(9,6%)							

SNP <i>IL6</i>	A1/A2	Modelo	Genotipo	Controle (%)	Caso (%)	OR	IC95%	valor p	p Perm
rs2069841	A/G	ADD	GG	376(74,3%)	107(21,1%)	2.61	1.05-6.50	0.040	0.021
			GA	13 (2,5%)	10(1,9%)				
			AA	0	0				
	A/G	DOM	GG	376(74,3%)	107(21,1%)	2.61	1.05-6.50	0.040	0.021
GA+AA	13(2,5%)	10(1,9%)							

Nota 1: Para a regressão logística foi realizado ajuste por idade, obesidade, hábito de respirar pela boca, uso de fio dental (pelo menos uma vez ao dia), asma e principal componente de ancestralidade da amostra. Nota 2: A1/A2- alelo polimórfico/alelo selvagem; ADD- modelo aditivo; modelo DOM-dominante; OR- razão de chances; IC95%-intervalo de confiança- 95%, valor p significância estatística $p < 0,05$; perm-p valor p permutacional em 10.000 vezes.

4.3.3 Impacto Funcional dos polimorfismos associados à periodontite

A tabela 04 apresenta os 03 SNPs associados a periodontite. Todos eles possuem função intrônica, e estão presentes em múltiplos tecidos. A maioria apresenta múltiplos motifs changed, e apenas o rs3136557 não apresentou motifs.

Tabela 4: Análise regulatória *in silico* dos polimorfismos em *IL1B* e *IL6*.

GENE	SNP	A1/A2	Annotation	GERP	Regulome DB Rank (score)	Epigenomics (Promoter)	Epigenomics (Enhancer)	Epigenomics (DNase I)	Motifs changed
<i>IL1B</i>	rs3136557	A/G	Intron	-1.15	5 (0.13454)	BLD	7 TISSUES	7 TISSUES	NO DATA
<i>IL1B</i>	rs1143630	T/G	Intron	-2.11	5 (0.13454)	BLD	8 TISSUES	BLD, SKIN, BLD	FOXA_disc1; LXR_2; LXR_3; PPAR_3; TCF12_disc2
<i>IL6</i>	rs2069841	A/G	Intron	-2.35	4 (0.60906)	LNG	ESDR, MUS, SKIN	BLD	BHLHE40, Rad21, ZBTB33

Nota 1: A1/A2- alelo polimórfico/alelo selvagem; Nota 2: BLD- blood; LNG - lung; MUS – Muscle; Skin – Skin; ESDR - embryonic stem cells derived; LXR - Liver X Receptor; PPAR - Peroxisome Proliferator Activated Receptor; TCF12 - Transcription Factor 12; BHLHE40- Basic Helix-Loop-Helix Family Member E40; RAD21 - Cohesin Complex Component; ZBTB33- Zinc Finger And BTB Domain Containing 33;

O grau de desequilíbrio de ligação foi calculado para os SNP dos genes *IL1B* e *IL6*. Foi encontrado um alto valor do D' entre os SNP do gene *IL1B* rs1143630 e rs3136557; e entre esses SNP e outros do gene, considerando $D'=1$ como forte desequilíbrio de ligação. Os valores encontrados foram apresentados nas figuras 1 e 2.



Figura 1: Análise do Desequilíbrio de ligação em pares nos genes *IL1B*. Haplview utilizando o D' onde a intensidade da cor dos quadrados e o valor mostram a força dos valores de D' .

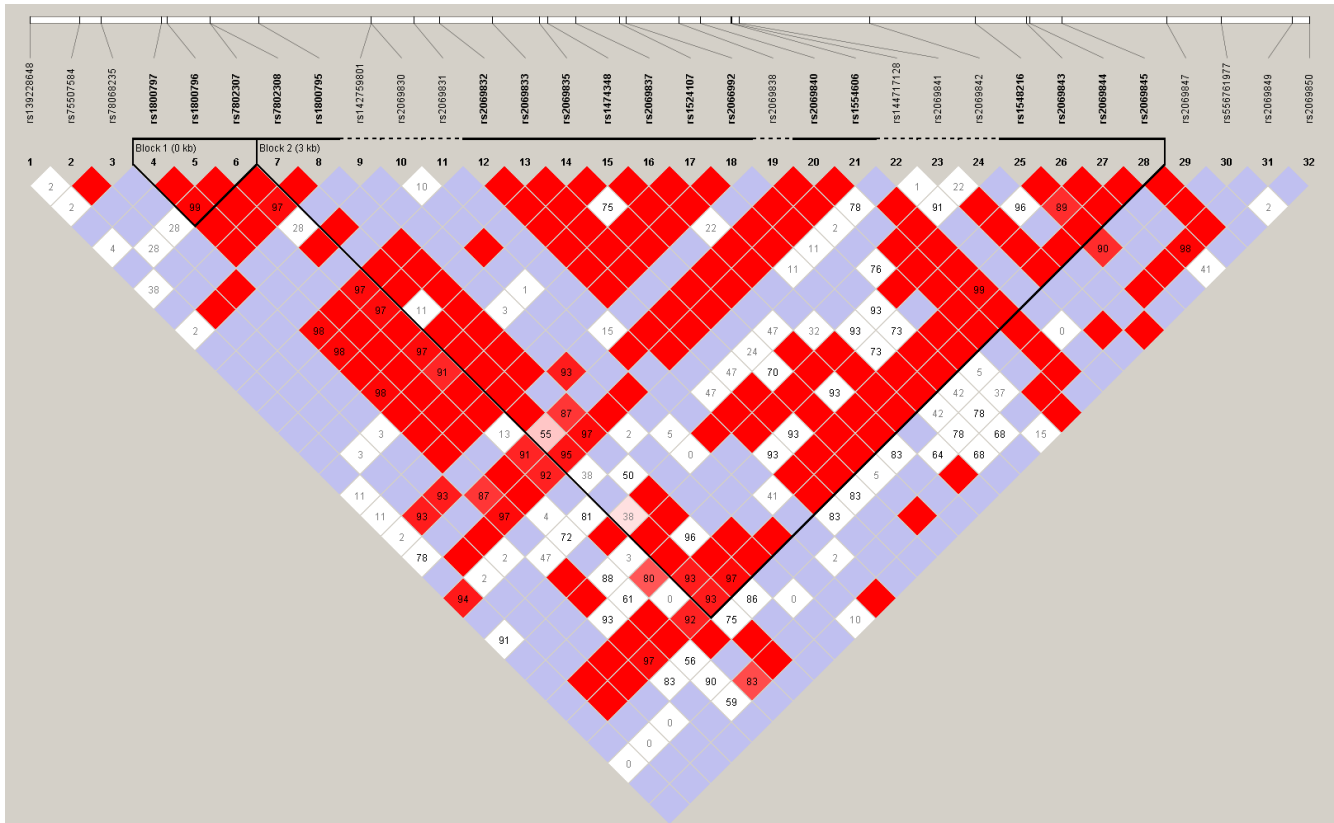


Figura 2: Análise do Desequilíbrio de ligação em pares nos genes *IL6*. Haploview utilizando o D' onde a intensidade da cor dos quadrados e o valor mostram a força dos valores de D' .

4.3.4 Frequências alélicas dos genes *IL1B*, *IL6* e *IL10* nas populações africana, americana e europeia

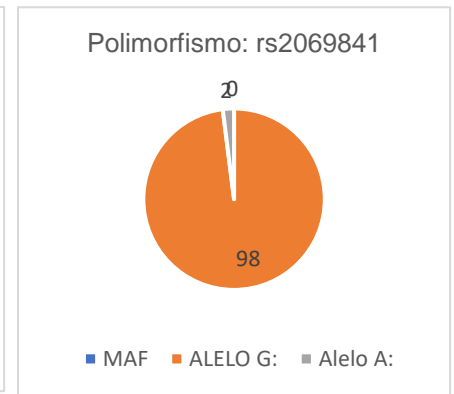
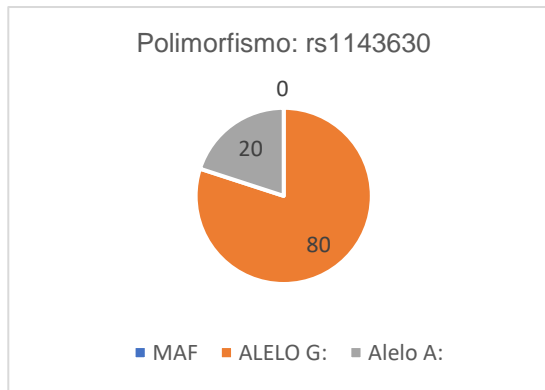
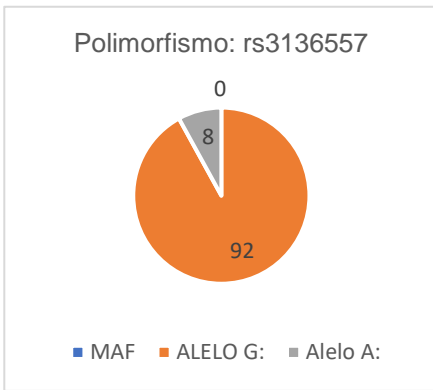
Quando observamos o rs3136557 verificamos que o MAF alelo (A) está presente em 8% da população de Salvador. Esse resultado é semelhante ao de toda população americana que apresenta o mesmo número de 8%. Números bem próximos são encontrados na população africana que possui frequência de 5% no alelo (A), enquanto na população europeia esse número é de 18%.

O rs1143630 evidencia frequência de menor alelo (T) de 20% na população estudada, enquanto a população africana que apresenta 28%. Em contrapartida esse número é distinto quando comparado a toda população americana e europeia, que apresentam a frequência do alelo (T) de 6%.

O rs2069841 da interleucina-6, apresenta frequência de menor alelo (A) de 2% na população de Salvador. Quando comparado a outras populações existe uma semelhança com a população africana que apresenta 3%, e a população americana que apresenta 0%. Não foram encontrados dados sobre a população europeia. A frequência alélica nas populações pode ser verificada conforme Quadro 1.

Quadro 1: Frequências alélicas entre três populações diferentes do Projeto 1000 Genomas para os marcadores genéticos do banco de dados do estudo.

INTELEUCINA 1B: Polimorfismo rs3136557			INTELEUCINA 1B: Polimorfismo rs1143630			INTELEUCINA 6: Polimorfismo rs2069841		
População	Alelo	Alelo	População	Alelo	Alelo	População	Alelo	Alelo
AFR	G: 95%	A: 5%	AFR	T: 28%	G:72%	AFR	G: 97%	A:3%
AMR	G: 92%	A: 8%	AMR	T: 6%	G:94%	AMR	G:100%	A:0% no data
EUR	G: 82%	A:18%	EUR	T: 6%	G:94%	EUR	G:100%	A:1%
ALL	G: 91%	A: 9%	ALL	T: 16%	G:84%	ALL	G: 99%	A:1%
SALVADOR G:92% A:8%			SALVADOR G:80% T:20%			SALVADOR G:98% A:2%		



4.4 DISCUSSÃO

O presente trabalho foi o primeiro a demonstrar a associação da periodontite com os polimorfismos rs3136557 e rs1143630 no gene da *IL1B*, rs2069841 no gene *IL6* em Salvador, Bahia, Brasil. A periodontite é uma doença complexa, possuindo diversos fatores associados ao desenvolvimento e gravidade; dentre eles, a interação de múltiplos fatores relacionados com a resposta imunológica, presença de um biofilme disbiótico, e outros fatores do hospedeiro.

Estudos de Fróes (2020), relacionaram a *IL1B* com a progressão da doença periodontal, pois o recrutamento de células para o local da inflamação, eleva os níveis dessa citocina, devendo essa está relacionada como aumento do sangramento e profundidade de sondagem. No nosso estudo o alelo T do rs1143630 no modelo aditivo aumenta em 49% a susceptibilidade do indivíduo desenvolver doença periodontal em um indivíduo heterozigoto, e 98% de probabilidade de desenvolvimento da doença periodontal em um indivíduo homozigoto, enquanto no modelo dominante essa predisposição pode chegar a 61%.

Brodzikowska e colaboradores (2019) em uma meta-análise avaliaram a relação da *IL1* com a periodontite, e verificaram que os polimorfismos rs1800587 e rs1143634 estão relacionados com o desenvolvimento da periodontite, sendo positivamente associado a doença.

Brodzikowska e colaboradores (2022) associaram a *IL1B* e a periodontite em uma população polonesa. Onde o genótipo 3953 C/T localizado em *IL1B* foi descrito como sendo mais frequente nos indivíduos com periodontite, quando comparado ao grupo sem periodontite. Verificaram também que a presença de pelo menos um alelo T do 3953 da *IL1B* está relacionada uma alta prevalência em indivíduos com

periodontite. Enquanto os pacientes que apresentaram genótipo C/C, apresentaram baixa susceptibilidade ao desenvolvimento da doença periodontal.

Estudos de Caetano (2022) sobre a expressão de genes com susceptibilidade para o desenvolvimento da periodontite, apresenta a *IL1B* como a principal citocina relacionada a atividade macrófagos no sulco gengival.

Da Silva e colaboradores (2018) incluíram 54 estudos em uma meta-análise na qual investigaram a relação do rs1143634 no *IL1B* e periodontite crônica. Totalizaram um número de 4924 pacientes no grupo caso e 4452 no grupo controle, e evidenciaram uma associação positiva para o desenvolvimento de periodontite crônica em uma população asiática, caucasiana e miscigenada.

Um estudo que relacionou o polimorfismo *IL1B* 3954 (rs1143634) com as bactérias do complexo vermelho da periodontite, evidenciando uma associação independente entre as bactérias e os sítios de periodontite (PANI *et al.*, 2021).

Segundo Mashhadiabbas (2021) o polimorfismo *IL1* 0592 C>A está associado positivamente ao desenvolvimento da periodontite em populações estudadas, sendo evidenciado como uma ferramenta útil na identificação de pacientes com risco ou não. O polimorfismo em questão não foi analisado em nosso estudo.

Estudo de polimorfismos nos genes *IL1B* e *IL6* foi realizado em Goiânia, com uma amostra de 152 pacientes, sendo esses 101 controles e 51 casos. Foram avaliados os rs1143634 no gene da *IL1B* e rs1800795 e rs1800796 no *IL6*. O rs1143634 em *IL1B* e rs1800796 em *IL6* foram associadas a susceptibilidade para o desenvolvimento da periodontite (MANSO, 2020). Nosso estudo analisou o rs1143634 no *IL1B*, mas não foram verificadas associações. De forma semelhante no *IL6*, rs1800795, foi avaliado no nosso estudo, mas nenhuma associação significativa foi encontrada.

Liu e Li (2022) através de uma revisão sistemática e meta-análise de múltiplos polimorfismos de citocinas no desenvolvimento da periodontite, destacaram a IL1-B como uma das principais citocinas no desenvolvimento e avanço da periodontite, enquanto a *IL6* conferiu uma espécie de proteção aos indivíduos estudados. Os polimorfismos no *IL1B* 511 C/T (rs16944) e 3954 C/T (rs1143634) foram associados a periodontite. Já o modelo 174G/CG da *IL6* foi associado à prevenção da doença.

Uma meta análise sobre polimorfismos da Interleucina 6, demonstrou que o polimorfismo -174 G/C (rs1800795) apresentou uma associação negativa com periodontite (ZHAO e LI, 2018).

Mehar e colaboradores (2021) investigaram o polimorfismo da interleucina-6 174GC em uma população brasileira através de uma meta-análise. Foi verificado que o alelo C *IL6* 174GC está negativamente associado a periodontite na população brasileira.

Chatzopoulos e colaboradores (2018) avaliaram polimorfismos nos genes *IL6* e *IL10* através de uma coorte prospectiva. Foi observado que no gene *IL10* o rs1800872 foi associado ao aumento da chance de desenvolvimento e progressão da periodontite. Enquanto o rs1800796 no gene da *IL6* e o rs1800872 na *IL10*, não foram associados com a periodontite. O rs1800872 localizado no gene da *IL10*, não foi analisado nesse estudo, enquanto o rs1800796 localizado no gene da *IL-6* também não foi associada significativamente a periodontite em nosso estudo.

Nosso estudo não verificou associação de polimorfismos no gene da *IL-10* e periodontite. Em contrapartida uma meta-análise de 26 estudos, evidenciou uma associação positiva para periodontite nos rs1800871 e rs1800872 em uma população latino-americana. Já no rs1800896 não foram verificadas associações (YANG E HUANG, 2019).

Não foram verificados estudos associando os polimorfismos rs3136557 e rs1143630 no gene da *IL1B* com a periodontite. De forma semelhante, nenhum estudo foi encontrado avaliando o SNP rs2069841 do gene *IL6* e periodontite, evidenciando-as como novas possibilidades no auxílio da elucidação do perfil genético no desenvolvimento da periodontite.

4.5 CONCLUSÃO

Polimorfismos nos genes das interleucinas IL-1B e IL-6 foram associados positivamente e negativamente à periodontite. Não foram encontradas associações de polimorfismos do gene *IL10* e a periodontite, nesta população da cidade de Salvador. A frequência alélica dos polimorfismos reflete a miscigenação da população estudada.

REFERÊNCIAS

1. ALBUQUERQUE, Carlos Manuel Ramos et al. Doença Periodontal Suscetibilidade Genética e Implicações Sistêmicas. Dissertação de Mestrado. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto, Porto, Portugal. 2014
2. Antonini, Rafaela; Kizzy Cancellier, Gabriela Kozuchovski Ferreira, Giselli Scaini, Emilio Luiz Streck. FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL. Revista Inova Saúde, Criciúma, vol. 2, n. 2,. ISSN 2317-2460 nov. 2013. <<http://periodicos.unesc.net/Inovasaude/article/view/1240>> Acesso jun 2022
3. Brodzikowska, A., Górska, R., & Kowalski, J. (2019). Interleukin-1 Genotype in Periodontitis. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 67(6), 367–373. <https://doi.org/10.1007/s00005-019-00555-4>
4. Brodzikowska, A., Górski, B., & Bogusławska-Kapała, A. (2022). Association between IL-1 Gene Polymorphisms and Stage III Grade B Periodontitis in Polish Population. *International journal of environmental research and public health*, 19(22), 14687. <https://doi.org/10.3390/ijerph192214687>
5. Caetano, A. J., D'Agostino, E. M., Sharpe, P., & Nibali, L. (2022). Expression of periodontitis susceptibility genes in human gingiva using single-cell RNA sequencing. *Journal of periodontal research*, 57(6), 1210–1218. <https://doi.org/10.1111/jre.13057>
6. Chatzopoulos, G., Doufexi, A. E., Wolff, L., & Kouvatsi, A. (2018). Interleukin-6 and interleukin-10 gene polymorphisms and the risk of further periodontal disease progression. *Brazilian oral research*, 32, e11. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0011>
7. COSTA, K. D. D. M.; NETO, I. C. V. .; BORBA, T. O. D. S. . ABORDAGEM DAS RESPOSTAS IMUNOLÓGICAS DA DOENÇA PERIODONTAL: UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 64, 2021. DOI: 10.51161/rem/1014. Disponível em: <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rem/article/view/1014>. Acesso em: 16 jun. 2022
8. Couso, Maria Libertad Cruz. A genética na Doença Periodontal. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Universitário de Ciências da Saúde. <http://hdl.handle.net/20.500.11816/2901>. Disponível em https://repositorio.cespu.pt/bitstream/handle/20.500.11816/2901/MIMD_RE_22186_libertadcruz.pdf?sequence=1&isAllowed=y
9. da Silva, F., Vasconcelos, A., de Carvalho França, L. F., Di Lenardo, D., Nascimento, H., & Vasconcelos, D. (2018). Association between the rs1143634 polymorphism in interleukin-1B and chronic periodontitis: Results from a meta-analysis composed by 54 case/control studies. *Gene*, 668, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.05.067>
10. Ferreira , Adriane Cristina Richa, Ana Paula Grimião Queiroz, Gabriela Palmer Pamponet, Carolina Rios Costa, Izadora Cândido Belizário, Kizzy Esteves Ferreira, Letícia Rodrigues Rocha, Vania Filippi Goulart Carvalho Pereira; DOENÇA PERIODONTAL: UM MAL QUE PODE SER EVITADO?. Revista Periodontia Braz J Periodontol - September 2013 - volume 23 - issue 03 - 23(3):15-23
11. FRÓES, AC; PASQUINELLI, F.; QUINTELA, M. de M.; PIMENTEL, AC; ROMAN-TORRES, CVG O papel da interleucina-1beta na fisiopatologia da

- doença periodontal: uma revisão da literatura. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, [S. l.], v. 9, n. 7, pág. e674974773, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i7.4773. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/4773>. Acesso em: 16 jun. 2022.
12. Geivelis, M., Turner, D. W., Pederson, E. D., & Lamberts, B. L. (1993). Measurements of interleukin-6 in gingival crevicular fluid from adults with destructive periodontal disease. *Journal of periodontology*, 64(10), 980–983. <https://doi.org/10.1902/jop.1993.64.10.980>
 13. Hegde, R., & Awan, K. H. (2019). Effects of periodontal disease on systemic health. *Disease-a-month : DM*, 65(6), 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2018.09.011>
 14. Hobbins, S., Chapple, I. L., Sapey, E., & Stockley, R. A. (2017). Is periodontitis a comorbidity of COPD or can associations be explained by shared risk factors/behaviors?. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*, 12, 1339–1349. Ano 2017. <https://doi.org/10.2147/COPD.S127802>
 15. Hong, S. J., Kang, S. W., Kim, S. K., Kim, Y. S., & Ban, J. Y. (2018). Lack of Association between Interleukin-1B Gene Polymorphism (rs16944) and Chronic Periodontitis: From a Case-Control Studies to an Updated Meta-Analysis. *Disease markers*, 2018, 8287026. <https://doi.org/10.1155/2018/8287026>
 16. Juiz, Paulo J. L., Alves, Reinaldo J. C. e Barros, Tânia F. Uso de produtos naturais como coadjuvante no tratamento da doença periodontal. *Revista Brasileira de Farmacognosia* [online]. 2010, v. 20, n. 1 [Acessado 15 Junho 2022], pp. 134-139. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010000100026>>. Epub 26 Abr 2010. ISSN 1981-528X. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010000100026>.
 17. Lindhe, Jan; LANG, Niklaus P.. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. ISBN: 978-85-277-3290-1 1292 p. 2018
 18. Lira-Júnior, Ronaldo; Ribeiro, Magali Silveira Monteiro; Macedo, Jacyara Maria Brito; Fischer, Ricardo Guimarães. Papel da interleucina-10 na patogênese da doença periodontal: revisão da literatura. *lil-707603*.;23(2):39-44, 2013. <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=Ink&exprSearch=707603&indexSearch=ID> acesso em 16 jun. 2022
 19. Liu, X., & Li, H. (2022). A Systematic Review and Meta-Analysis on Multiple Cytokine Gene Polymorphisms in the Pathogenesis of Periodontitis. *Frontiers in immunology*, 12, 713198. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.713198>
 20. MANSO, J. A. X. Polimorfismos de genes de interleucinas contribuem para a susceptibilidade genética na doença periodontal crônica. 2020. 72 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade em Rede Pro-Centro-Oeste) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020.
 21. Mashhadiabbas, F., Dastgheib, S. A., Hashemzahi, A., Bahrololoomi, Z., Asadian, F., Neamatzadeh, H., Zare-Shehneh, M., & Daliri, K. (2021). Association of IL-10 -1082A>G, -819C>T, and -592C>A polymorphisms with susceptibility to chronic and aggressive periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Inflammation research : official journal of the European*

- Histamine Research Society ... [et al.]*, 70(5), 509–524.
<https://doi.org/10.1007/s00011-021-01448-z>
22. Masmoudi, Mehdi Edmundo Fouad. O papel dos polimorfismos genéticos na periodontite. Dissertação de mestrado. Instituto Universitário Egas Moniz, Almada, Portugal. 2020. DOI. <http://hdl.handle.net/10400.26/33869>
 23. Mehar, R., Swarnakar, S., Lakkakula, S., Verma, H. K., & Bhaskar, L. (2021). Interleukin-6 gene -174G>C promoter polymorphism reduces the risk of periodontitis in Brazilian populations: A meta-analysis. *Journal of oral biosciences*, 63(4), 388–393. <https://doi.org/10.1016/j.job.2021.08.003>
 24. Pani, P., Tsilioni, I., McGlennen, R., Brown, C. A., Hawley, C. E., Theoharides, T. C., & Papathanasiou, E. (2021). IL-1B(3954) polymorphism and red complex bacteria increase IL-1B (GCF) levels in periodontitis. *Journal of periodontal research*, 56(3), 501–511. <https://doi.org/10.1111/jre.12850>
 25. Rosalem, W., Rescala, B., Teles, R. P., Fischer, R. G., Gustafsson, A., & Figueredo, C. M. (2011). Effect of non-surgical treatment on chronic and aggressive periodontitis: clinical, immunologic, and microbiologic findings. *Journal of periodontology*, 82(7), 979–989. <https://doi.org/10.1902/jop.2011.100579>
 26. Yang, S. L., & Huang, S. J. (2019). Interleukin-10 polymorphisms (rs1800871, rs1800872 and rs1800896) and periodontitis risk: A meta-analysis. *Archives of oral biology*, 97, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.10.012>
 27. Zhao, B., & Li, R. (2018). The association between periodontitis and interleukin-6 genetic polymorphism -174 G/C: A meta-analysis. *Archives of oral biology*, 96, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.08.007>

5. CONCLUSÃO GERAL

A literatura brasileira e internacional converge no diz respeito ao estabelecimento do papel do perfil genético no desenvolvimento e progressão da periodontite, da mesma forma mostram-se favoráveis aos estudos que elucidem essas vias.

No gene *IL1B* foram verificados 2 SNPs: rs3136557 (alelo A) e rs1143630 (alelo T). No primeiro foi evidenciado uma associação negativa ao desenvolvimento da periodontite, tanto no modelo aditivo quanto no modelo dominante. Já no segundo, é evidenciado um aumento da susceptibilidade no modelo aditivo e dominante. O modelo recessivo não mostrou associação.

O Gene da *IL6* rs2069841 (alelo A) foi associado positivamente a periodontite nos modelos aditivo e dominante. O modelo recessivo não mostrou associação.

Não foram encontradas associações de polimorfismos no gene *IL10* com a periodontite, nesta população da cidade de Salvador.

REFERÊNCIAS GERAIS

1. Aral K, Milward MR, Kapila Y, Berdeli A, Cooper PR. Inflammasomes and their regulation in periodontal disease: A review. *J Periodontal Res*. 2020 Aug;55(4):473-487. doi: 10.1111/jre.12733. Epub 2020 Jan 20. PMID: 31960443.
2. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*. 1998 Mar 19;392(6673):245-52. doi: 10.1038/32588. PMID: 9521319.
3. Barbosa, Kevan Guilherme Nóbrega; Ricardo Dias de Castro; Fabíola Galbiatti de Carvalh¹; Yanna Nunes Cabral. A Participação das respostas imunológicas nas doenças periodontais. *Odontol. Clín.-Cient.* (Online) vol.11 no.1 Recife Jan./Mar. 2012
4. Belibasakis, G. N., & Bostanci, N. (2012). The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 39(3), 239–248. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01810.x>
5. Bolyarova-Konova T, Petkova S, Mihaylova H, Velikova T, Ivanova-Todorova E, Tumangelova-Yuzeir K, Todorova D. Concentrations of Interleukin-1 β in Gingival Crevicular Fluid and Saliva - a Potential Diagnostic Biomarker of Periodontal Diseases. *Folia Med (Plovdiv)*. 2020 Dec 31;62(4):825-830. doi: 10.3897/folmed.62.e49872. PMID: 33415925.
6. Borilova Linhartova P, Danek Z, Deissova T, Hromcik F, Lipovy B, Szaraz D, Janos J, Fassmann A, Bartova J, Drizhal I, Izakovicova Holla L. Interleukin Gene Variability and Periodontal Bacteria in Patients with Generalized Aggressive Form of Periodontitis. *Int J Mol Sci*. 2020 Jul 2;21(13):4728. doi: 10.3390/ijms21134728. PMID: 32630798; PMCID: PMC7370291.
7. Bosshardt DD. The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences. *Periodontol 2000*. 2018 Feb;76(1):43-50. doi: 10.1111/prd.12153. Epub 2017 Nov 30. PMID: 29194796.
8. BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Saúde: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal. 1a edição: Brasil: ANS; 2012; Disponível em https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pesquisa_nacional_saude_bucal.pdf último acesso: Jul. 2021
9. Calau, Inês de Sousa Costa Diz (2019). Sequelas da periodontite e o seu tratamento. Dissertação Mestrado. Instituto Universitário Egas Moniz. EM - IUEM - Medicina Dentária. <http://hdl.handle.net/10400.26/29746>
10. Couso, Maria Libertad Cruz. A genética na Doença Periodontal. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Universitário de Ciências da Saúde. <http://hdl.handle.net/20.500.11816/2901> Disponível em https://repositorio.cespu.pt/bitstream/handle/20.500.11816/2901/MIMD_RE_22186_libertadacruz.pdf?sequence=1&isAllowed=y
11. Cullinan MP, Westerman B, Hamlet SM, Palmer JE, Faddy MJ, Seymour GJ, Middleton PG, Taylor JJ. Progression of periodontal disease and interleukin-10 gene polymorphism. *J Periodontal Res*. 2008 Jun;43(3):328-33. doi: 10.1111/j.1600-0765.2007.01034.x. PMID: 18447856.
12. Darby I. (2009). Non-surgical management of periodontal disease. *Australian dental journal*, 54 Suppl 1, S86–S95. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2009.01146.x>

13. Deli F, Romano F, Gualini G, Mariani GM, Sala I, Veneziano F, Bertero L, Cassoni P, Aimetti M. Resident memory T cells: Possible players in periodontal disease recurrence. *J Periodontol Res.* 2020 Apr;55(2):324-330. doi: 10.1111/jre.12709. Epub 2019 Nov 2. PMID: 31677275.
14. Deng, J., Lu, C., Zhao, Q., Chen, K., Ma, S., & Li, Z. (2022). The Th17/Treg cell balance: crosstalk among the immune system, bone and microbes in periodontitis. *Journal of periodontal research*, 57(2), 246–255. <https://doi.org/10.1111/jre.12958>
15. Eke PI, Borgnakke WS, Genco RJ. Recent epidemiologic trends in periodontitis in the USA. *Periodontol 2000.* 2020 Feb;82(1):257-267. doi: 10.1111/prd.12323. PMID: 31850640.
16. Figueredo CM, Lira-Junior R, Love RM. T and B Cells in Periodontal Disease: New Functions in A Complex Scenario. *Int J Mol Sci.* 2019 Aug 14;20(16):3949. doi: 10.3390/ijms20163949. PMID: 31416146; PMCID: PMC6720661.
17. Garaicoa-Pazmino C, Fretwurst T, Squarize CH, Berglundh T, Giannobile WV, Larsson L, Castilho RM. Characterization of macrophage polarization in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2019 Aug;46(8):830-839. doi: 10.1111/jcpe.13156. Epub 2019 Jun 25. PMID: 31152604.
18. García-Parra, M. I., Jiménez-Coello, M., Carrillo-Ávila, B. A., Hernández-Cortázar, I., Chávez-Cortez, G., & Martínez-Aguilar, V. M. (2022). Quantification of Osteoprotegerin Plasma Levels in Patients with Periodontitis. *Puerto Rico health sciences journal*, 41(1), 5–8.
19. Geng, Y., Li, L., Wang, X., He, F., Zhou, Y., Yang, M., & Xu, Y. (2018). Interleukin-10 polymorphisms affect the key periodontal pathogens in Chinese periodontitis patients. *Scientific reports*, 8(1), 9068. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26236-4>
20. Gera I, Vári M. A fogágybetegség genetikai háttere. II. Genetikai polimorfizmus. *Irodalmi összefoglaló [Genetic background of periodontitis. Part II. Genetic polymorphism in periodontal disease. A review of literature]. Fogorv Sz.* 2009 Aug;102(4):131-40. Hungarian. PMID: 19803285.
21. Gomes-Filho IS, Soledade-Marques KR, Seixas da Cruz S, de Santana Passos-Soares J, Trindade SC, Souza-Machado A, et al. Does Periodontal Infection Have an Effect on Severe Asthma in Adults? *J Periodontol.* 2014; 85(6):179-187
22. Haro A, Saxlin T, Suominen AL, Jula A, Knuuttila M, Ylöstalo P. Serum lipids modify periodontal infection - interleukin-6 association. *J Clin Periodontol.* 2017 Mar;44(3):275-282. doi: 10.1111/jcpe.12688. Epub 2017 Feb 2. PMID: 28032903.
23. Hienz SA, Paliwal S, Ivanovski S. Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. *J Immunol Res.* 2015;2015:615486. doi: 10.1155/2015/615486. Epub 2015 May 3. PMID: 26065002; PMCID: PMC4433701.
24. Isola G, Lo Giudice A, Polizzi A, Alibrandi A, Murabito P, Indelicato F. Identification of the different salivary Interleukin-6 profiles in patients with periodontitis: A cross-sectional study. *Arch Oral Biol.* 2021 Feb;122:104997. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104997. Epub 2020 Nov 30. PMID: 33291049.
25. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2001;25:8-20. doi: 10.1034/j.1600-0757.2001.22250102.x. PMID: 11155179.

26. KOZAK, Małgorzata et al. "Cytokines and Their Genetic Polymorphisms Related to Periodontal Disease." *Journal of clinical medicine* vol. 9,12 4045. 14 Dec. 2020, doi:10.3390/jcm9124045
27. Kumar S. (2019). Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and Periodontitis. *Dental clinics of North America*, 63(1), 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2018.08.005>
28. Kvarnvik C, Söljgård E, Charalampakis G, Suksu-Art N, Dahlén G. Periodontal disease in a remote Asian population: association between clinical and microbiological parameters. *J Investig Clin Dent*. 2016 Aug;7(3):246-53. doi: 10.1111/jicd.12156. Epub 2015 Apr 28. PMID: 25918901.
29. LINS, Ruthineia Diógenes Alves Uchôa et al. **Ocorrência da doença periodontal e da sua relação com as maloclusões.** *Odontol. Clín.-Cient. (Online)* [online]. 2011, vol.10, n.3, pp. 251-254. ISSN 1677-3888.
30. LIRA, Karla Beatriz de Freitas. A influência das diferenças étnicas na manifestação e prevalência das doenças periodontais: uma revisão sistemática.2019. 29f. Trabalho de conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Departamento de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.
31. Lopez-Castejon G, Brough D. Understanding the mechanism of IL-1B secretion. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2011 Aug;22(4):189-95. doi: 10.1016/j.cytogfr.2011.10.001. Epub 2011 Oct 22. PMID: 22019906; PMCID: PMC3714593.
32. Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*. 1990 May;25(3):156-63. doi: 10.1111/j.1600-0765.1990.tb01038.x. PMID: 2141875.
33. Naruishi K, Nagata T. Biological effects of interleukin-6 on Gingival Fibroblasts: Cytokine regulation in periodontitis. *J Cell Physiol*. 2018 Sep;233(9):6393-6400. doi: 10.1002/jcp.26521. Epub 2018 Mar 25. PMID: 29574949.
34. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *ScientificWorldJournal*. 2020 May 28;2020:2146160. doi: 10.1155/2020/2146160. PMID: 32549797; PMCID: PMC7275199.
35. Nazir, M., Al-Ansari, A., Al-Khalifa, K., Alhareky, M., Gaffar, B., & Almas, K. (2020). Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *TheScientificWorldJournal*, 2020, 2146160. <https://doi.org/10.1155/2020/2146160>
36. O'Beirne, G., Johnson, RH, Persson, GR e Spektor, MD (1996), Eficácia de uma escova de dentes sônica na inflamação e profundidade de sondagem na periodontite adulta. *Jornal de Periodontologia*, 67: 900-908. <https://doi.org/10.1902/jop.1996.67.9.900>
37. OLIVEIRA, Mylena Rafhaele Gomes de; OLIVEIRA, Marcia Rosana Farias de; RODRIGUES, Jussira Élcia Gomes e DUARTE FILHO, Eduardo Sérgio Donato. RPS (REGISTRO PERIODONTAL SIMPLIFICADO): MÉTODO RÁPIDO E SIMPLES NA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DA DOENÇA PERIODONTAL. *Odontol. Clín.-Cient. (Online)* [online]. 2015, vol.14, n.1, pp. 554-558. ISSN 1677-3888.

38. Petersen PE, Ogawa H. Strengthening the prevention of periodontal disease: the WHO approach. *J Periodontol*. 2005 Dec;76(12):2187-93. doi: 10.1902/jop.2005.76.12.2187. PMID: 16332229.
39. RAFFAELLI, Marcelo de Paiva. Etiologia da doença periodontal: revisão de literatura. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Dentária. Repositório Institucional da Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2016. <http://hdl.handle.net/10284/5583>
40. Salazar-Peláez, L., R. F. Grisales, Oscar Eduardo Zulúaga Yepes, Katiana Osorno Vargas and D. T. Calle. "Polimorfismos genéticos da interleucina-1 e o risco de periodontite periapical crônica numa população de Antioquia, Colômbia." (2012).
41. Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol*. 2010 Mar;10(3):170-81. doi: 10.1038/nri2711. Epub 2010 Feb 15. PMID: 20154735.
42. Seidel A, Seidel CL, Weider M, Junker R, Gözl L, Schmetzer H. Influence of Natural Killer Cells and Natural Killer T Cells on Periodontal Disease: A Systematic Review of the Current Literature. *Int J Mol Sci*. 2020 Dec 21;21(24):9766. doi: 10.3390/ijms21249766. PMID: 33371393; PMCID: PMC7767411.
43. Seidel A, Seidel CL, Weider M, Junker R, Gözl L, Schmetzer H. Influence of Natural Killer Cells and Natural Killer T Cells on Periodontal Disease: A Systematic Review of the Current Literature. *Int J Mol Sci*. 2020 Dec 21;21(24):9766. doi: 10.3390/ijms21249766. PMID: 33371393; PMCID: PMC7767411.
44. SERRA, Beatriz Patrício. Identificação de biomarcadores salivares de doença periodontal em pacientes com gengivite. Dissertação de Mestrado em Medicina Dentária. Repositório Institucional da Universidade Católica Portuguesa. 2015 <http://hdl.handle.net/10400.14/18718>
45. Shaddox LM, Morford LA, Nibali L. Periodontal health and disease: The contribution of genetics. *Periodontol 2000*. 2021 Feb;85(1):161-181. doi: 10.1111/prd.12357. Epub 2020 Nov 23. PMID: 33226705.
46. Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (2002). Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000*, 28, 12–55. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2002.280102.x>
47. Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C., & Kent, R. L., Jr (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology*, 25(2), 134–144. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x>
48. STEFFENS, João Paulo e MARCANTONIO, Rosemary Adriana Chiérici Classificação das Doenças e Condições Periodontais e Peri-implantares 2018: guia Prático e Pontos-Chave. *Revista de Odontologia da UNESP [online]*. 2018, v. 47, n. 4 [Acessado 1 Agosto 2021], pp. 189-197. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1807-2577.04704>>. Epub Jul-Aug 2018. ISSN 1807-2577. <https://doi.org/10.1590/1807-2577.04704>.
49. Steinman RM, Pack M, Inaba K. Dendritic cells in the T-cell areas of lymphoid organs. *Immunol Rev*. 1997 Apr;156:25-37. doi: 10.1111/j.1600-065x.1997.tb00956.x. PMID: 9176697.
50. Taba Jr, Mario, Souza, Sergio Luis Scombatti de and Mariguela, Viviane Casagrande Periodontal disease: a genetic perspective. *Brazilian Oral Research [online]*. 2012, v. 26, n. spe1 [Accessed 1 August 2021], pp. 32-

38. Available from: <<https://doi.org/10.1590/S1806-83242012000700006>>. Epub 10 Jan 2013. ISSN 1807-3107. <https://doi.org/10.1590/S1806-83242012000700006>.
51. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014 Sep 4;6(10):a016295. doi: 10.1101/cshperspect.a016295. PMID: 25190079; PMCID: PMC4176007.
52. TERRA, R. et al. Efeito do exercício no sistema imune: resposta, adaptação e sinalização celular. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v. 18, n. 3, p. 208- 214, maio/jun. 2012.
53. Toy, V. E., & Uslu, M. O. (2019). Do genetic polymorphisms affect susceptibility to periodontal disease? A literature review. *Nigerian journal of clinical practice*, 22(4), 445–453. https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_462_18
54. Wei H, Li B, Sun A, Guo F. Interleukin-10 Family Cytokines Immunobiology and Structure. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1172:79-96. doi: 10.1007/978-981-13-9367-9_4. PMID: 31628652.
55. Ximenes Filho, João Aragão et al. Células de Langerhans no epitélio da prega vocal humana: estudo imunoistoquímico. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia* [online]. 2004, v. 70, n. 5 [Acessado 2 Julho 2022] , pp. 584-588. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0034-72992004000500002>>. Epub 22 Nov 2004. ISSN 0034-7299. <https://doi.org/10.1590/S0034-72992004000500002>.
56. Zhu, H., Hu, S., Li, Y., Sun, Y., Xiong, X., Hu, X., Chen, J., & Qiu, S. (2022). Interleukins and Ischemic Stroke. *Frontiers in immunology*, 13, 828447. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.828447>