

ASSOCIAÇÃO ENTRE METILAÇÃO DO DNA E PERIODONTITE CRÔNICA: REVISÃO DE LITERATURA

Association between DNA methylation and chronic periodontitis: literature review

Nayágara Moreira Dias da Silva¹, Luiz Paulo Carvalho Rocha², Micena Roberta Miranda Alves e Silva³, Paula Rocha Moreira³.

¹ Bolsista de iniciação científica FAPEMIG, graduanda em Odontologia/ Faculdade de Odontologia/ Universidade Federal de Minas Gerais.

² Mestrando em Odontologia, área de concentração Periodontia/ Faculdade de Odontologia/ Universidade Federal de Minas Gerais.

³ Professora-adjunta/Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas/ Universidade Federal de Minas Gerais

Recebimento: 03/01/17 - Correção: 03/03/17 - Aceite: 02/05/17.

RESUMO

A periodontite crônica (PC) é uma doença bucal caracterizada pela presença de bactérias que promovem a inflamação dos tecidos de suporte e inserção dos dentes, como resultado de complexas interações entre patógenos periodontais e a resposta imune do hospedeiro. A PC é multifatorial e os fatores envolvidos com a regulação gênica podem interferir na predisposição ao aparecimento dos sinais e sintomas da doença. Neste contexto estão os mecanismos epigenéticos caracterizados por modificação na expressão dos genes sem afetar a sequência do DNA. As principais evidências de alterações epigenéticas na PC se relacionam à análise do perfil de metilação em genes relacionados à resposta imunoinflamatória. A metilação do DNA é um mecanismo epigenético caracterizado pela adição de um grupo metil no carbono 5' do anel de citosina, inibindo efetivamente a transcrição gênica. O objetivo do estudo foi revisar a literatura sobre a metilação do DNA na PC e avaliar sua associação com a patogênese da doença. Foi realizada uma busca na base de dados (Pubmed), sem restrição de ano e/ou idioma, utilizando os seguintes descritores: (Methylation [MeSh] OR Methylation OR DNA methylation [MeSh] OR DNA methylation) and (Chronic periodontitis [Mesh] OR Chronic periodontitis). Apesar dos estudos epigenéticos em doença periodontal ainda serem escassos, com diversos pontos a serem elucidados, os achados sugerem o envolvimento da metilação do DNA em genes da resposta imunoinflamatória na patogênese da PC.

UNITERMOS: Periodontite Crônica; Metilação de DNA; Epigenética. R Periodontia 2017; 27: 39-45.

1- INTRODUÇÃO

Periodontite crônica (PC) é considerada uma doença inflamatória de etiologia bacteriana responsável por desencadear a destruição do tecido periodontal, como resultado de complexas interações entre patógenos periodontais e a resposta imune do hospedeiro (Sanz *et al.*, 2011). Sua progressão ocorre de maneira episódica, com curtos períodos de atividade, seguida por longos períodos de quiescência (Armitage, 1999). A etiologia primária da PC consiste em bactérias, predominantemente, anaeróbias Gram-negativas responsáveis por desencadear um processo inflamatório nas células do hospedeiro (Haffajee & Socransky, 1994). Apesar da PC apresentar maior prevalência em adultos, sua ocorrência também pode ser observada

em indivíduos de menor faixa etária (Armitage, 1999; Al-Ghutaimel *et al.*, 2014).

A patogenia da PC implica em considerá-la uma infecção com microbiota virulenta e/ou um hospedeiro altamente susceptível (Borrell & Papapanou, 2005). Esta susceptibilidade pode ser referente aos fatores envolvidos com a regulação gênica, interferindo na predisposição ao aparecimento dos sinais e sintomas da doença. Neste aspecto, incluem-se os mecanismos epigenéticos envolvendo modificadores no DNA e seus impactos na regulação do gene (Gopisetty *et al.*, 2006).

Os mecanismos epigenéticos referem-se a mudanças na expressão dos genes, sem alterar a sequência de nucleotídeos do DNA (Feinberg, 2008). Os eventos epigenéticos atuam de forma complexa, envolvendo os mecanismos de metilação

do DNA, modificação de histonas e regulação gênica por RNAs não codificadores de proteínas (Bayarsaihan, 2011). Essas modificações podem ser hereditárias ou adquiridas ao longo da vida de um indivíduo, sendo influenciadas por diversos fatores como tabagismo (Smith *et al.*, 2007), diabetes (Devaskar & Thamocharan, 2007), idade (Benayoun *et al.*, 2015), obesidade (Herrera *et al.*, 2011) e toxinas (Edwards & Myers, 2007).

A metilação do DNA é o evento epigenético mais frequente nas células humanas. Esse processo altera a expressão dos genes sem modificar a sequência de bases do DNA (Richardson, 2003). Isso significa que mudanças significativas podem ocorrer na atividade gênica sem que seja necessária a mutação genética. A metilação do DNA tem sido descrita como um evento comum no câncer e há indícios de que possa estar relacionada à patogênese de várias doenças com perfil inflamatório, como a periodontite (Feinberg, 2008; Offenbacher *et al.*, 2008; Gomez *et al.*, 2009).

O objetivo deste trabalho foi revisar a literatura referente aos estudos de metilação na PC e avaliar a associação deste mecanismo epigenético na patogênese da doença.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizada uma busca na base de dados (Pubmed), sem restrição de ano e/ou idioma, utilizando os seguintes descritores: (Methylation [MeSh] OR Methylation OR DNA methylation [MeSh] OR DNA Methylation) and (Chronic periodontitis [Mesh] OR Chronic periodontitis). Após a busca foram obtidos 25 artigos.

Os títulos foram analisados por dois examinadores independentes que avaliaram os artigos com relação aos critérios de inclusão:

- Estudos envolvendo indivíduos com PC
- Artigos disponíveis online
- Artigos com enfoque na metilação do DNA como evento epigenético na PC

Após a busca, 8 artigos que não apresentaram relevância para o tema proposto foram excluídos.

3 - REVISÃO DA LITERATURA

3.1 - Metilação do DNA

A metilação do DNA é caracterizada pela adição de um grupo metil (CH₃) a citosinas em regiões denominadas ilhas CpG. As ilhas são regiões do DNA ricas em dinucleotídeos CpG (citosina-fosfato-guanina), normalmente presentes nos promotores dos genes. Esse evento epigenético impede que a maquinaria de transcrição interaja nas regiões promotoras

e que o gene seja expresso (Sanders, 2006).

O promotor gênico pode estar hipermetilado, quando existe um aumento da metilação nas ilhas CpGs, com consequente inibição da transcrição gênica; e hipometilado, caracterizado por um decréscimo da quantidade de metil ligado ao DNA e um aumento na expressão gênica (Feinberg, 2008). O perfil de metilação pode variar de acordo com o tipo celular, o que implica que um mesmo indivíduo pode apresentar para o mesmo gene, padrões de metilação diferentes dependendo do tipo celular e dos estímulos presentes. O processo de metilação é fisiológico, e potencialmente reversível, ocorrendo no núcleo das células de todo o organismo, inativando ou não o gene (Shaw, 2006).

3.2 - Metilação na Periodontite Crônica

No genoma estão codificadas todas as informações necessárias para o pleno funcionamento e desenvolvimento do organismo. A dinâmica epigenética que controla o “liga-desliga” dos genes tem importante impacto nos processos inflamatórios (Adcock *et al.*, 2007). Na PC, a maioria dos estudos tem investigado a metilação do DNA em genes relacionados com a resposta inflamatória, uma vez que a produção de mediadores inflamatórios pode causar modificações nas respostas celulares que direcionarão o desfecho dos processos inflamatórios. Estudos sobre metilação na PC estão destacados na Tabela 1.

De Souza *et al.* (2014) avaliaram o padrão de metilação e o nível de RNAm de um total de 12.309 genes relacionados com a resposta imunoinflamatória (n = 5422), ciclo celular (n = 4538) e genes com expressão estável (genes com expressão consistente em diferentes tecidos e estados fisiológicos) (n = 2349) em biópsias gengivais de indivíduos com periodonto saudável e com PC. O objetivo do estudo foi verificar a presença e a influência da metilação nos diferentes grupos de genes e seu impacto na patogênese da PC. Os resultados mostraram alterações significativas no padrão de metilação e expressão gênica nos genes relacionados com a resposta imunoinflamatória. O papel da metilação do DNA na transcrição gênica mostrou-se mais evidente nos genes imuno-regulatórios (30,9%) quando comparado ao de genes do ciclo celular (8,9%) e estavelmente expressos (2,7%), o que revela o papel crucial da metilação nos processos inflamatórios periodontais.

Estudos selecionados nesta revisão analisaram a metilação do DNA em alguns mediadores que participam da resposta imunoinflamatória na PC. Na análise da interleucina IL-8, uma quimiocina de destaque para o recrutamento de neutrófilos, foram avaliados pacientes com PC, com periodonto saudável, fumantes e não fumantes. Os resultados indicaram que

TABELA 1- VISÃO GERAL DOS ESTUDOS SOBRE METILAÇÃO E PERIODONTITE CRÔNICA.

Estudo	Genes alvo	Amostra	Método	Resultados principais
De Souza <i>et al.</i> , 2014	Genes relacionados ao sistema imune, ciclo celular	Biópsias gengivais	Microarray chip	Variações no perfil de metilação do DNA são maiores em genes relacionados ao processo inflamatório na PC comparado aos indivíduos saudáveis.
Oliveira <i>et al.</i> , 2009	IL-8	Sangue periférico e biópsias gengivais	MSP	Maior porcentagem de hipometilação do gene IL-8 nos tecidos gengivais de PC comparada aos indivíduos saudáveis
Stefani <i>et al.</i> , 2013	IL-6	Biópsias gengivais	MSP	Perfil parcialmente metilado do gene IL-6 nos tecidos gengivais tanto de indivíduos saudáveis quanto com PC.
Ishida <i>et al.</i> , 2012	IL-6	Sangue periférico	Sequenciamento	Hipometilação em CpG específico do gene IL-6 em PC comparado ao controle
Zhang <i>et al.</i> , 2013	TNF- α	Biópsias gengivais	MSP Pirosequenciamento	Hipermetilação em sítios específicos do gene TNFA no grupo PC comparado ao controle.
Zhang <i>et al.</i> , 2010	IFN- γ	Biópsias gengivais	Pirosequenciamento	Hipometilação do gene IFN- γ na PC comparado ao controle.
Viana <i>et al.</i> , 2011	IFN- γ IL-10	Biópsias gengivais	MSP e sequenciamento	Metilação parcial do gene IFN- γ tanto na PC quanto no controle. Metilação total e parcial foram detectadas no IL-10 em ambos os grupos.
Andia <i>et al.</i> , 2015	SOCS 1 SOCS 3 LINE-1	Biópsias gengivais	MS-HRM	Perfil hipometilado tanto na periodontite quanto controle
Loo <i>et al.</i> , 2010	COX-2 E-caderina	Sangue de saudáveis e biópsias gengivais de PC	MSP	Hipermetilação dos genes COX-2 e E-caderina na PC comparado ao controle
De Oliveira <i>et al.</i> , 2011	TLR-2 TLR-4	Biópsias gengivais	Enzimas de restrição e PCR	Hipometilação no gene TLR4 tanto em PC quanto controle. No gene TLR2 foi observado um mosaico de sítios metilados e não metilados em ambos os grupos.
De Faria Amormino <i>et al.</i> , 2013	TLR-2	Biópsias gengivais	qPCR (Methyl profiler DNA methylation)	Hipermetilação do gene TLR2 associado aos baixos níveis de transcrição gênica e à profundidade de sondagem na PC.

MSP: methylation specific PCR; MS-HRM : Methylation-sensitive high resolution melting

no tecido gengival dos indivíduos com PC, independente do hábito de fumar, houve uma maior porcentagem de hipometilação do gene IL-8 comparada ao de indivíduos saudáveis (Oliveira *et al.*, 2009).

Em relação a IL-6, citocina pró-inflamatória associada à destruição dos tecidos ósseo e conjuntivo (Taylor *et al.*, 2014), observou-se um perfil parcialmente metilado no tecido

gengival tanto de indivíduos saudáveis quanto de pacientes com PC (Stefani *et al.*, 2013). Embora uma elevada expressão de IL-6 tenha sido observada nos tecidos de indivíduos com a forma clínica PC, a transcrição gênica não foi associada com o estado de metilação das amostras (Stefani *et al.*, 2013). Contudo, Ishida *et al.* (2012) concluíram que a metilação de DNA de um sítio único de uma ilha CpG pode influenciar

a produção da citocina e, portanto, o desenvolvimento e a progressão da doença.

Outro mediador pró-inflamatório avaliado foi TNF- α , que induz o processo de reabsorção óssea além de estimular a secreção de colagenases no periodonto (Gomes *et al.*, 2016). Zhang *et al.* (2013), ao investigarem o padrão de metilação de TNF- α em tecidos gengivais saudáveis e de indivíduos com PC, notaram um perfil hipermetilado nas amostras de pacientes com PC, resultando na diminuição da sua expressão gênica. Ao tratar *in vitro* as células THP 1 com um agente demetilante (5-aza-desoxicidina) observou-se o aumento da expressão dessa citocina.

O nível de metilação do gene codificador de interferon gama (IFN- γ), responsável por estimular a defesa celular contra vírus, microorganismos e células tumorais, foi investigado em dois estudos Zhang *et al.* (2010) tiveram como objetivo investigar as modificações epigenéticas na região promotora de IFN- γ e suas associações com a transcrição em diferentes fases das doenças periodontais. Os resultados mostraram uma hipometilação nas amostras de tecidos gengivais de paciente com PC comparado ao paciente saudável, relacionando esse resultado ao aumento na transcrição do IFN- γ . Entretanto, Viana *et al.* (2011) relataram um nível semelhante de metilação de IFN- γ e, também, do gene da citocina imunomodulatória IL-10 nos tecidos gengivais de pacientes com PC comparado aos pacientes com ausência de doença periodontal, sugerindo que as evidências da metilação em ambos os genes são características comuns em tecidos periodontais.

No trabalho de Andia *et al.* (2015) foram avaliadas duas proteínas da família SOCS, SOCS 1 e SOCS 3, responsáveis por diminuir a expressão de citocinas no processo inflamatório. A metilação foi verificada em biópsias gengivais de indivíduos com ausência da doença periodontal e indivíduos com PC. Para cada biópsia foram avaliados os tecidos epitelial e conjuntivo, separadamente. Os dados obtidos mostraram que os genes das proteínas da família SOCS apresentavam um perfil hipometilado em ambos os grupos de indivíduos e tecidos. Segundo os autores, a hipometilação das SOCS pode estar relacionada à expressão dessas proteínas na doença periodontal, exercendo o papel de controlar a produção de citocinas inflamatórias.

Além da influência no mecanismo de expressão de citocinas, a metilação também pode alterar outras moléculas envolvidas no processo inflamatório e na patogênese da doença periodontal. A enzima COX-2, responsável pela produção de prostaglandinas que promovem o processo inflamatório pelo aumento da permeabilidade vascular e da quimiotaxia, tem sua expressão modificada pela metilação (Loo *et al.*, 2010). No estudo desenvolvido por Loo *et al.*

(2010), o promotor gênico da COX-2 foi avaliado em amostras de sangue de indivíduos saudáveis e biópsias gengivais de pacientes com PC, verificando a hipermetilação do gene no grupo PC. Adicionalmente, os autores examinaram o perfil de metilação no promotor do gene da E-caderina, molécula responsável pela adesão celular e relacionada à progressão da bolsa periodontal, observando maiores níveis de metilação da E-caderina na PC quando comparados aos do grupo sem a doença.

É relevante destacar que os perfis de metilação gênica de alguns receptores também foram investigados. Os receptores toll-like (TLRs) quando ativados por estímulos bacterianos desencadeiam vias de transdução de sinal culminando com a liberação de mediadores inflamatórios (Uehara & Takada, 2007; Beklen *et al.*, 2009). De Oliveira *et al.* (2011) analisaram o padrão de metilação na região promotora dos genes *TLR-2* e *TLR-4* em tecidos gengivais de indivíduos com presença e ausência da doença periodontal, fumantes e não fumantes. Os resultados revelaram uma hipometilação no gene *TLR4* nas amostras de ambos os grupos caso e controle, enquanto que para os genes *TLR2* não houve diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos analisados. De Faria Amormino *et al.* (2013), por sua vez, constataram uma hipermetilação do gene *TLR2* associado aos baixos níveis de transcrição gênica e à profundidade de sondagem nas amostras gengivais de pacientes com PC.

3.3- Fatores moduladores da metilação do DNA na Periodontite Crônica

As modificações epigenéticas são reversíveis, e podem ser induzidas ou alteradas por fatores ambientais, como bactérias, fumo, idade, inflamação; apresentando uma ligação entre o genoma herdado e o ambiente em que se vive (Barros & Offenbacher, 2009). Estudos têm buscado as bases moleculares e genéticas para elucidar a interação dos fatores externos ao hospedeiro com a patogênese da PC.

O fumo é considerado um importante fator de risco para a perda do osso alveolar e desenvolvimento das doenças periodontais (Chaffee *et al.*, 2014). Referente à sua influência em mecanismos epigenéticos, pesquisas denotam o seu papel modificador nos padrões de metilação observados em doenças inflamatórias crônicas, tais como doença pulmonar obstrutiva crônica e artrite reumatóide (Klein & Gay, 2015; Zong *et al.*, 2015). Em relação à doença periodontal, De Oliveira *et al.* (2011), ao verificarem o impacto do fumo na metilação do *TLR2* nos tecidos gengivais, detectaram um perfil hipometilado do gene em todos os indivíduos fumantes, com presença ou ausência da PC.

Outros fatores externos atualmente avaliados são os

periodonto patógenos e sua interação com os eventos epigenéticos do hospedeiro. Benakanakere *et al.* (2015) verificaram, em um modelo de infecção crônica em cultura de células gengivais humanas estimuladas por *Porphyromonas gingivalis*, que o perfil de metilação do gene do TRL2 encontrava-se hipermetilado e com baixos níveis de expressão. Segundo os autores, o perfil de metilação pode ser explicado pela interação do epitélio gengival com a *P. gingivalis* que causa um decréscimo na expressão desse receptor, favorecendo a persistência da inflamação. Além disso, o lipopolissacarídeo (LPS) produzido por esse periodonto patógeno também foi descrito como um estímulo que provocaria uma diminuição nos níveis da expressão das DNA metiltransferases em queratinócitos humanos (de Camargo Pereira *et al.*, 2013). Pesquisas adicionais revelaram a influência do periodonto patógeno *Treponema denticola* na metilação do DNA. Miao *et al.* (2014) mostraram que culturas de células do ligamento periodontal tiveram o gene da metaloproteinase de matriz 2 (MMP-2), enzima relacionada à degradação de matriz e reabsorção óssea, hipometilado quando recebiam o estímulo do *Treponema denticola*.

4- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos envolvendo metilação do DNA e PC são recentes e algumas limitações devem ser consideradas na interpretação dos resultados observados. Como a metilação é um evento local, específico de cada tecido e tipo celular, a comparação entre os dados obtidos deve ser feita com cautela. Além disso, atualmente existem diversas metodologias para verificar os padrões de metilação dos genes, gerando resultados qualitativos, quantitativos, ou permitindo a identificação de metilação em CpGs específicos. Resultados contraditórios podem ser detectados em virtude de diferentes metodologias empregadas, dificultando a comparação entre os trabalhos.

Outro ponto que merece atenção são os critérios de inclusão e exclusão das amostras. Até o presente momento não sabemos todos os fatores ambientais que podem influenciar a dinâmica da epigenética, dificultando especificar exatamente qual fator alterará a expressão gênica. Destaca-se, ainda, que pesquisas de bases moleculares, como os estudos epigenéticos, dependem de metodologias que possuem alto custo e de amostras teciduais locais específicas, que podem dificultar, em parte, estudos amplos de bases populacionais.

Apesar das limitações apresentadas, os estudos de mecanismos epigenéticos representam uma área promissora dentro da periodontia. Acredita-se que a sua investigação permitirá uma melhor compreensão sobre a patogênese das

doenças periodontais, apontando para novas perspectivas comprováveis aplicabilidades na clínica odontológica, uma vez que a metilação é um evento reversível e passível de alteração.

5- AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG - Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais e CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Os autores informam que não há conflitos de interesse relacionados com este estudo.

ABSTRACT

Chronic periodontitis (CP) is an oral disease characterized by the presence of bacteria that promote inflammation of the supporting tissues of the teeth, as a result of complex interactions between periodontal pathogens and the host immune response. The CP is multifactorial and the factors involved in gene regulation may interfere with the predisposition on the appearance of the signs and symptoms of the disease. In this context it has been observed the epigenetic mechanism characterized by change in gene expression without affecting the sequence of DNA. The main evidence of epigenetic changes in CP are related to the analysis of the methylation profile in genes involved with the immune response. DNA methylation is an epigenetic mechanism characterized by the addition of a methyl group on the 5' carbon of the cytosine ring, effectively inhibiting the gene transcription. The aim of this study was to review the literature on DNA methylation in CP and evaluate its association with the pathogenesis of the disease. The search was performed in the database (Pubmed) without year or language restriction, using the following key words: (Methylation [MeSh] OR Methylation OR DNA methylation [MeSh] OR DNA methylation) and (Chronic periodontitis [Mesh] OR Chronic periodontitis). Despite the epigenetic studies on periodontal disease are still scarce, with several points to be elucidated, the findings suggest the involvement of DNA methylation in immune response genes in the pathogenesis of CP.

UNITERMS: Chronic periodontitis; DNA methylation; Epigenetic.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Sanz M, Van Winkelhoff AJ, Working Group 1 of the Seventh European Workshop. Periodontal infections: understanding the complexity – Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol* 2011; 38 (11): 3–6.
- 2- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999; 4(1):1-6.
- 3- Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol* 2000 1994; 5 (1): 78-111.
- 4- Al-Ghutaimel H, Riba H, Al-Kahtani S, Al-Duhaimi S. Common periodontal diseases of children and adolescents. *Int J Dent* 2014; 7p.
- 5- Borrell LN, Papananou PN. Analytical epidemiology of periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2005;32:132–158.
- 6- Gopisetty G, Ramachandran K, Singal R. DNA methylation and apoptosis. *Mol Immunol* 2006;43(11):1729-1740.
- 7- Feinberg AP. Epigenetics at the epicenter of modern medicine. *JAMA* 2008;299(11):1345-1350.
- 8- Bayarsaihan D. Epigenetic mechanisms in inflammation. *J Dent Res* 2011;90(1):9-17.
- 9- Smith IM, Mydlarz WK, Mithani SK, Califano JA. DNA global hypomethylation in squamous cell head and neck cancer associated with smoking, alcohol consumption and stage. *Int J Cancer* 2007;121(8):1724-1728.
- 10- Devaskar SU, Thamocharan M. Metabolic programming in the pathogenesis of insulin resistance. *Rev Endocr Metab Disord*. 2007;8(2):105-113.
- 11- Benayoun BA, Pollina EA, Brunet A. Epigenetic regulation of ageing: linking environmental inputs to genomic stability. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015; 16(10):593-610.
- 12- Herrera BM, Keildson S, Lindgren CM. Genetics and epigenetics of obesity. *Maturitas*. 2011; 69(1):41-49
- 13- Edwards TM, Myers JP. Environmental exposures and gene regulation in disease etiology. *Environ Health Perspect* 2007; 115:1264-1270.
- 14- Richardson B. DNA methylation and autoimmune disease. *Clin Immunol* 2003; 109(1):72-79.
- 15- Offenbacher S, Barros SP, Beck JD. Rethink Periodontal Inflammation. *J Periodontol* 2008;79:1577-1584.
- 16- Gomez RS, Dutra WO, Moreira PR. Epigenetics and periodontal disease: future perspectives. *Inflamm Res* 2009;58:625–629.
- 17- Sanders VM. Epigenetic regulation of Th1 and Th2 cell development. *Brain Behav Immun* 2006;20(4):317-324.
- 18- Shaw R. The epigenetics of oral cancer. *Int J Oral Maxillo fac Surg* 2006;35(2):101-108.
- 19- Adcock IM, Tsaprouni L, Bhavsar P, Ito K. Epigenetic regulation of airway inflammation. *Curr Opin Immunol* 2007;19(6):694-700.
- 20- De Souza AP, Planello AC, Marques MR, De Carvalho DD, Line SR. High-throughput DNA analysis shows the importance of methylation in the control of immune inflammatory gene transcription in chronic periodontitis. *Clin Epigenetics* 2014; 6(1):15.
- 21- Oliveira NF, Damm GR, Andia DC, Salmon C, Nociti FH JR, Line SR *et al*. DNA methylation status of the IL8 gene promoter in oral cells of smokers and non-smokers with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2009;36(9):719-725.
- 22- Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT. Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. *Periodontology* 2000 2004;158-182.
- 23- Stefani FA, Viana MB, Dupim AC, Brito JA, Gomez RS, Da Costa JE *et al*. Expression, polymorphism and methylation pattern of interleukin-6 in periodontal tissues. *Immunobiology* 2013;218(7):1012-1017.
- 24- Ishida K, Kobayashi T, Ito S. Interleukin-6 gene promoter methylation in rheumatoid arthritis and chronic periodontitis. *J Periodontol* 2012; 83(7): 917-925.
- 25- Gomes FI, Aragão MG, Barbosa FC, Bezerra MM, de Paulo Teixeira Pinto V, Chaves HV. Inflammatory Cytokines Interleukin-1 and Tumour Necrosis Factor- α - Novel Biomarkers for the Detection of Periodontal Diseases: a Literature Review. *J Oral Maxillo fac Res* 2016; 7(2):e2.
- 26- Zhang S, Barros SP, Moretti AJ, Yu N, Zhou J, Preisser JS *et al*. Epigenetic regulation of TNFA expression in periodontal disease. *J Periodontol* 2013; 84(11):1606-1616.
- 27- Zhang S, Crivello A, Offenbacher S, Moretti A, Paquette DW, Barros SP. Interferon-gamma promoter hypomethylation and increased expression in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2010;37(11):953-961.
- 28- Viana MB, Cardoso FP, Diniz MG, Costa FO, Da Costa JE, Gomez R *Set al*. Methylation pattern of IFN- γ and IL-10 genes in periodontal tissues. *Immunobiology* 2011;216(8):936-941.
- 29- Andia DC, Planello AC, Portinho D, Silva RA, Salmon CR, Sallum EA *et al*. DNA methylation analysis of SOCS1, SOCS3, and LINE-1 in microdissected gingival tissue. *Clin Oral Investig* 2015;19(9):2337-2344.
- 30- Loo WT, Jin L, Cheung MN, Wang M, Chow LW. Epigenetic change in E-cadherin and COX-2 to predict chronic periodontitis. *J Transl Med* 2010; 8:110.
- 31- Uehara A, Takada H. Functional TLRs and NODs in human gingival fibroblasts. *J Dent Res* 2007;86:249–254.
- 32- Beklen A, Sorsa T, Kontinen Y. Toll-like receptors 2 and 5 in human gingival epithelial cells co-operate with T-cell cytokine interleukin-17. *Oral Microbiol Immunol* 2009;24(1):38-42.

- 33- De Oliveira NF, Andia DC, Planello AC, Pasetto S, Marques MR, Nociti FH JR *et al.* TLR2 and TLR4 gene promoter methylation status during chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2011;38(11):975-983.
- 34- De Faria Amormino SA, Arão TC, Saraiva AM, Gomez RS, Dutra WO, Da Costa JE *et al.* Hypermethylation and low transcription of TLR2 gene in chronic periodontitis. *Hum Immunol* 2013;74:1231-1236.
- 35- Barros SP, Offenbacher S. Epigenetics: connecting environment and genotype to phenotype and disease. *J Dent Res* 2009; 88(5): 400–408.
- 36- Chaffee BW, Couch ET, Essex G, Walsh MM. Smoking: Tobacco trends. *Br Dent J* 2014;216(6):266.
- 37- Klein K, Gay S. Epigenetics in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2015;27(1):76-82.
- 38- Zong DD, Ouyang RY, Cheng P. Epigenetic mechanisms in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Ver Med Pharmacol Sci* 2015;19(5):844-856.
- 39- Benakanakere M, Abdolhosseini M, Hosur K, Finoti LS, Kinane DF. TLR2 Promoter Hypermethylation Creates Innate Immune Dysbiosis. *J Dent Res* 2015; 94(1): 183–191.
- 40- De Camargo Pereira G, Guimarães GN, Planello AC, Santamaria MP, De Souza AP, Line SR *et al.* Porphyromonas gingivalis LPS stimulation down regulates DNMT1, DNMT3a, and JMJD3 gene expression levels in human HaCaT keratinocytes. *Clin Oral Investig* 2013;17(4):1279-1285.
- 41- Miao D, Godovikova V, Qian X, Seshadrinathan S, Kapila YL, Fenno JC. Treponema denticola up regulates MMP-2 activation in periodontal ligament cells: interplay between epigenetics and periodontal infection. *Arch Oral Biol* 2014;59(10):1056-1064.

Endereço para correspondência:
Av. Antônio Carlos, 6627 – Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Morfologia – Pampulha
CEP: 31270-901 – Belo Horizonte – MG – Brasil
E-mail: paularocha@ufmg.br