

VERIFICAÇÃO GENOTÍPICA DO POLIMORFISMO RS1143634 DO GENE *IL1B* EM INDIVÍDUOS COM A DOENÇA PERIODONTAL CRÔNICA

Genotypic Verification rs1143634 polymorphism *IL1B* gene in Individuals with Chronic Periodontal Disease

João Antonio Xavier Manso³, Thiago Athayde Leite¹, Lilian de Souza Teodoro², Fernanda Ribeiro Godoy³, Emília Oliveira Alves Costa⁴, Lysa Bernardes Minasi⁶, Renato Hannum⁵, Alex Silva da Cruz⁶, Cláudio Carlos da Silva⁶, Aparecido Divino da Cruz⁶.

¹ Graduado em Ciências Biológicas Modalidade Médica pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás - PUC Goiás

² Mestranda em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás - PUC Goiás

³ Doutorandos em Biotecnologia e Biodiversidade da Universidade Federal de Goiás - UFG

⁴ Pós-doutoranda da Pontifícia Universidade Católica de Goiás - PUC Goiás

⁵ Professor pesquisador da Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas da PUC Goiás

⁶ Professores pesquisadores da Escola de Ciências Agrárias e Biológicas – PUC Goiás

Recebimento: 08/11/16 - Correção: 18/01/17 - Aceite: 15/02/17

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi verificar a frequência do polimorfismo rs1143634 do gene *IL1B* em indivíduos com a doença periodontal crônica (DPC) e a relação do mesmo com o risco de afecção. Foram analisadas 39 amostras de um grupo de indivíduos diagnosticados com DPC, sendo 77% com nível leve, 21% com o nível moderado e 3% com o nível severo, apresentando uma média de idade de 43,26. Durante o estudo foram utilizadas as técnicas de PCR e RFLP para o rastreamento do SNP (Do Inglês, *Single nucleotide polymorphism* - Polimorfismo de Núcleotídeo Único) rs1143634, verificando-se diferenças significativas ($p < 0,0001$) e uma redução absoluta de risco de 53,8% referente à presença do alelo C, indicando o alelo T como um fator de risco. No entanto, este resultado também sugere a possibilidade da participação de outros fatores, uma vez que a redução obtida foi pouco acima de 50%, e deste modo, poderia apontar para o envolvimento de elementos relacionados aos hábitos de vida (higiene bucal, tabagismo e etilismo) e/ou outros aspectos genéticos, considerando que o gene *IL1B* entre outros mediadores implicados com a patogênese da DPC possuem várias regiões polimórficas.

UNITERMOS: Interleucina-1beta, Polimorfismo Genético, Periodontite Crônica.. R Periodontia 2017; 27: 27-33.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas têm se visto a importância do papel da genética na Medicina por meio das alterações na prática médica que são influenciadas pelo esclarecimento de genomas característicos para doenças, assim como em função do uso de ferramentas para o diagnóstico e previsão de risco abrangendo enfermidades raras e comuns (Varmus, 2002). Além disto, tem sido constatado que uma parcela considerável das doenças possui uma base genética, incluindo-se entre estas a periodontite (doença periodontal crônica) e, devido a isso, conjectura-se que um maior entendimento dos fundamentos genéticos envolvidos em uma patologia possam contribuir para o aumento da compreensão dos aspectos etiológicos de uma doença

(Kinane *et al.*, 2005; Price *et al.*, 2015).

Dentre as manifestações clínicas que acometem a saúde bucal, a doença periodontal crônica (DPC) é uma das mais comuns apresentando uma classificação difícil devido à quantidade de fatores a serem observados. Estima-se que a DPC acometa entre 40 a 60% da população adulta, quando se considera o nível moderado de severidade (Preshaw *et al.*, 2012) e que a mesma, incluindo os seus três níveis de gravidade cause um impacto negativo na qualidade de vida das pessoas (Meusel *et al.*, 2015), podendo atuar como fator de risco para outras doenças (Pessoa *et al.*, 2011; Preshaw *et al.*, 2012; Braosi *et al.*, 2012).

A doença periodontal (DP) caracteriza-se como um fenômeno complexo multifatorial de etiologia microbiana envolvendo fatores genéticos e ambientais, os quais poderão

modular a infecção gengival, ocasionando um grupo de doenças inflamatórias, incluindo periodontite e gengivite, uma vez que a placa bacteriana que acumula entre os dentes, penetra o suco gengival afetando os tecidos de sustentação causando inflamações recorrentes (Socransky & Haffajee, 1992; Arora *et al.*, 2014).

Atualmente, a classificação empregada para as doenças periodontais, é a de 1999, que por sua vez abrange novas categorias como no caso das doenças gengivais, mas havendo exclusões de doenças que se sobreponham, além da renomeação de outras, como no caso da "Periodontite do Adulto", a qual passou a ser "Periodontite Crônica", que exhibe três níveis de severidade: leve, moderada e severa (Armitage, 1999; Highfield, 2009).

Em se tratando do curso do processo patológico da DPC, observa-se que a resposta clínica ao tratamento difere entre os pacientes, pois, existe uma variabilidade individual na resposta inflamatória diante do desafio microbiológico, a qual é determinada por fatores genéticos ou por sua interação com fatores ambientais, assim como aqueles relacionados com os hábitos do indivíduo, por exemplo, a higiene bucal (Offenbacher *et al.*, 2008).

As citocinas são os agentes funcionais mediadores da resposta inflamatória, contudo, reporta-se que as interleucinas (citocinas) contribuem na patogênese de diversas doenças crônicas, inclusive nos processos de reabsorção óssea, observados na periodontite, estimulando a atividade osteoclástica (Burgener *et al.*, 2010; Preshaw & Taylor, 2011). Pociot e colaboradores (1992) relataram a associação do alelo 2 (T) do gene *IL1B* (posição +3954) com o potencial aumento da produção de interleucina 1 β (IL-1 β), descrevendo uma relação entre o polimorfismo do gene que codifica a IL-1 β (+3954) e a crescente severidade da periodontite. A IL-1 β desempenha funções importantes na ativação e maturação dos osteoclastos, desencadeando ações sistêmicas em todo organismo e potencializando os efeitos da reabsorção óssea (Dewhirst *et al.*, 1985; Al-Qawasmi *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2010; Trevilatto *et al.*, 2011).

De acordo com Page (1991) o aumento do número de bactérias periodontais na superfície dento-gengival pode resultar na penetração destas e de seus subprodutos nos tecidos gengivais, provocando uma resposta inflamatória com produção de mediadores inflamatórios (Finoti *et al.*, 2013). Estudos realizados por Guzman e colaboradores (2003) confirmaram que o genótipo contendo o alelo (T) para o polimorfismo rs1143634 referente ao gene *IL1B* está associado com a DPC. Contudo esta enfermidade é considerada multifatorial e ainda não é totalmente compreendida (Page, 1991; Guzman *et al.*, 2003; Genco & Borgnakke, 2013).

Ao investigar a potencial relação entre DPC e sua susceptibilidade genética decorrente do genótipo da IL-1 β , espera-se obter resultados que permitam estabelecer tal associação. Além disso, tem-se demonstrado que a susceptibilidade da DPC poderá favorecer um indicador de prognóstico real para o paciente, proporcionando uma melhor qualidade de vida, que possibilita um atendimento customizado ao paciente (Kinane & Hart, 2003).

O objetivo deste estudo foi verificar a frequência do polimorfismo rs1143634 em indivíduos portadores da doença periodontal crônica avaliando a possibilidade de um alelo de risco para doença.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi de caráter transversal e descritivo, sendo conduzida no Núcleo de Pesquisa Replicon, Escola de Ciências Agrárias e Biológicas da Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

Descrição do grupo amostral

Referente ao delineamento, devido à dificuldade de se conseguir uma quantidade razoável de participantes que atendessem os requisitos mínimos, optou-se por uma amostragem não probabilística, constituída por amostras de conveniência oriundas de 39 indivíduos portadores da doença periodontal crônica (DPC), sendo estes, pacientes de uma clínica odontológica de Goiânia, residentes da região metropolitana da mesma cidade, que por sua vez se voluntariaram. Estes participantes foram catalogados segundo sexo e idade (30 - 55 anos), adotando a menoridade civil, o tabagismo e o diabetes como critérios de exclusão.

A eliminação mediante os dois últimos aspectos citados, foi adotada com a intenção de filtrar a análise, uma vez que constituem como características indutoras (Ojima & Hanioka, 2010) ou relacionadas com o risco de afecção (Preshaw *et al.*, 2012), sendo que, para este estudo uma das finalidades prioritárias foi avaliar os aspectos genéticos de modo a tentar isolá-los, embora ocorram limitações para tal tentativa, devido a impossibilidade de cancelamento de outras características, como por exemplo, o etilismo.

Os participantes deste estudo foram submetidos a avaliação do periograma, o qual foi realizado por profissional especializado em periodontia, que por sua vez utilizou uma sonda periodontal milimetrada, empregando-se o modelo de índice periodontal comunitário (IPC) (Brasil. Ministério da Saúde, 2001), sendo cada dente dos sextantes avaliados, mas priorizando os sítios de maior profundidade para diagnosticar e classificar os níveis de severidade da doença, além disso, os

voluntários também foram submetidos à coleta de sangue periférico.

No tocante aos dados descritivos, o grupo amostral apresentou uma média de idade de 43,26 (\pm 6,88), a tabela 1 exibe outras informações, referentes as variáveis: sexo, idade, nível clínico de inserção (nível de severidade).

Extração e Isolamento do DNA genômico

O DNA foi extraído através de amostras biológicas obtidas mediante a coleta de 4mL de sangue periférico em EDTA, a extração ocorreu a partir do sangue total, utilizando o *kit Illustra Blood Genomic Mini Spin®* (GE healthcare, EUA), seguindo-se as instruções do fabricante.

Descrição dos métodos de Amplificação e RFLP

O DNA isolado foi amplificado por PCR (Do inglês: *Polymerase Chain Reaction* - Reação em Cadeia da Polimerase). Os protocolos para as reações de PCR foram otimizados a partir dos métodos sugeridos na literatura (Mellati *et al.*, 2007). Depois de amplificados, os produtos de PCR foram fragmentados pelo método de RFLP (Do inglês: *Restriction Fragment Length Polymorphism* - Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição), cujos protocolos foram descritos por Drożdżik e colaboradores (2006).

As sequências dos *primers* usados para a PCR e os sítios de restrição para a RFLP utilizados neste estudo, estão presentes na Tabela 2.

TABELA 1. DISTRIBUIÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS EM RELAÇÃO AS VARIÁVEIS: SEXO, IDADE E NÍVEL CLÍNICO DE INSERÇÃO (NÍVEL DE SEVERIDADE).

Variável	N	%
Sexo		
Masculino	27	69
Feminino	12	31
Idade		
30 - 35	7	18
35 - 40	8	21
40 - 45	8	21
45 - 50	8	21
50 - 55	8	21
Nível clínico de inserção (Nível da doença)		
1 a 2mm (Leve)	30	77
3 a 4mm (Moderada)	8	21
\geq 5mm (Severa)	1	3

TABELA 2. SEQUÊNCIA DOS OLIGONUCLEOTÍDEOS INICIADORES E O SÍTIOS DE RESTRIÇÃO DO SNP RS1143634 USADO NO ESTUDO SOBRE A SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA A DPC, USANDO COMO MARCADOR O GENE *IL1B*.

<i>IL1B</i>	Sequência (5' → 3')	Fragmentos
<i>Primers</i> rs1143634	5'-CTCAGGTGTCCTCGAAGAAATCAA-3'	194pb
	5'-GCTTTTTGCTGTGAGTCCCG-3'	
RFLP	Alelo 1 TCGA	97, 85, 12 pb
	Alelo 2 TCGA	182, 12 pb

Protocolos de Amplificação da PCR e de RFLP

As reações de PCR foram realizadas, seguindo as condições: tampão de PCR (10 mM Tris-HCl [pH 8,8], 1,5 mM MgCl₂, 50 mM KCl₂, 0,1% Triton X-100); 1 mM MgCl₂; 0,2 mM de dNTPs; 2,0 U de Taq DNA polimerase e 2M de primers.

As condições de termociclagem da PCR foram de um ciclo de desnaturação inicial de 95°C (368, 15K) por 5 minutos (300 segundos), 35 ciclos de desnaturação a 94°C (367, 15K) por

30 segundos, anelamento a 55°C (328, 15K) por 30 segundos, extensão a 72°C (345, 15K) por 30 segundos, uma extensão final de 72°C (345, 15K) por 5 minutos (300 segundos).

Os produtos de PCR foram avaliados submetendo-se o *amplicom* a separação em campo elétrico constante de 10V/cm em um gel de agarose a 1,5% em Tri-Acido-Bórico-EDTA (TBE). A visualização do DNA foi possível mediante a coloração do gel em solução de brometo de etídio a 5µg/mL (0,005kg/

m³). As imagens foram capturadas com a utilização do sistema de vídeo-documentação-VDS[®] (Amersham Bioscience, EUA). Os produtos da PCR foram submetidos a reação de RFLP, digeridos com TaqI[®] (Invitrogen, EUA) a 65°C (338,15K) por 1 hora (3600 segundos). Os produtos resultantes de 12pb + 85pb + 97pb (alelo 1) e 12pb + 182pb (alelo 2) foram separados por eletroforese em gel de poliácridamida a 8%, corados com nitrato de prata.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (Nº de protocolo: 201210267001140). As pessoas que concordaram voluntariamente em participar, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

As frequências foram obtidas por meio de contagem direta, posteriormente, os dados foram avaliados através do teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg e do teste de Risco Relativo utilizando o software BioEstat 5.3[®].

RESULTADOS

Neste estudo, todos os amplicons apresentaram-se de acordo com o tamanho esperado. A Figura 1 mostra o conjunto de 12 indivíduos participantes do estudo, e os

resultados da PCR.

Durante este estudo, 39 amostras foram amplificadas por PCR, em duplicatas. Após a PCR, as amostras foram submetidas à reação de RFLP, para a identificação do polimorfismo rs1143634 (C/T) do gene *IL1B* (IL-1β). Os produtos resultantes desta reação, 12pb + 85pb + 97pb (Alelo 1 corresponde à C selvagem) e 12pb + 182pb (Alelo 2 corresponde à T mutante) podem ser observados conforme a Figura 2.

Após a reação de RFLP, as 39 amostras apresentaram fragmentos conforme o esperado para ambos os alelos, porém, com a exceção do fragmento de 12pb, o qual não pode ser observado devido ao estabelecimento de uma otimização mínima para genotipagem, que por sua vez permitiu o reconhecimento dos alelos, de forma legítima, sem a necessidade de obter todos os fragmentos de restrição, uma vez que os fragmentos de 97pb e 85pb do alelo 1 e o fragmento de 182 do alelo 2 já eram suficientes para a distinção entre as formas alternativas do gene *IL1B*.

As frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs1143634 (C/T) da interleucina 1β estão descritas na Tabela 3, estando consistentes com a hipótese de equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE). A Tabela 4 apresenta a distribuição alélica e

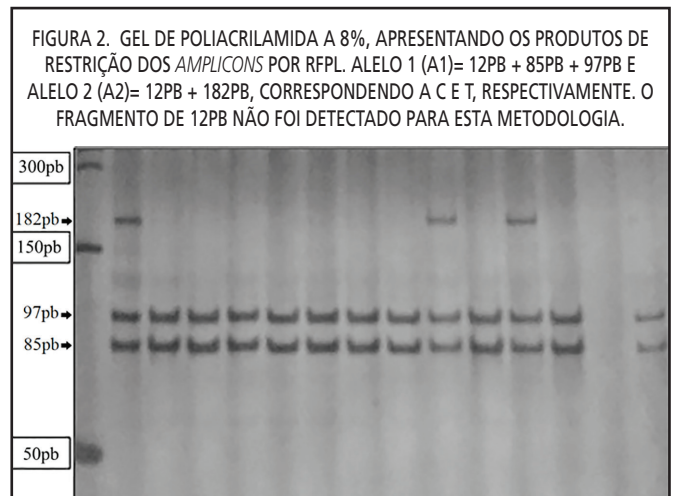
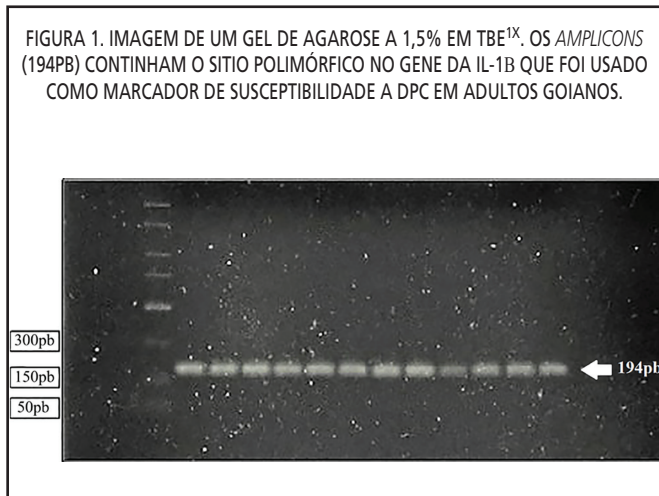


TABELA 3. FREQUÊNCIA ALÉLICA, GENOTÍPICA E VALOR DE p OBTIDO ATRAVÉS DO TESTE QUI-QUADRADO (χ²) EMPREGADO NA ANÁLISE DE HWE.

Fr. Alélica		Fr. Genotípica			HWE
C	T	CC	CT	TT	p
60/78 (77%)	18/78 (23%)	22/39 (56%)	16/39 (41%)	1/39 (3%)	0,33

Legenda: HWE – equilíbrio de Hardy-Weinberg, p – valor de p

TABELA 4. ANÁLISE DA FREQUÊNCIA ALÉLICA SEGUNDO O TESTE DE RISCO RELATIVO.

Alelos	Eventos	Total	RR	IC	RAR	p
T	18	78	0,30	0,20-0,46	53,84%	<0,0001
C	60					

Legenda: RR – risco relativo, IC – intervalo de confiança, RAR – redução absoluta do risco, p – valor de p

a análise do *Risco Relativo* (RR).

A análise de RR demonstrou diferenças significativas ($p < 0,0001$), apresentando uma redução absoluta do risco (RAR) 53,84% referente a presença do alelo C na região polimórfica para ao SNP rs1443634, ou seja, indivíduos portadores do alelo 1 (C) apresentam um fator de proteção para desenvolvimento da DPC, sugerindo uma possível susceptibilidade a DPC para as pessoas que possuem o alelo 2 (T) em seu genótipo.

DISCUSSÃO

Por se tratar de uma doença multifatorial e complexa a associação de um marcador genético de susceptibilidade a DPC contribui para os indivíduos em função dos alelos polimórficos. Segundo Morsani e colaboradores (2011), indivíduos homocigotos para o alelo T produzem quatro vezes mais IL-1 β em suas células fagocitárias, sendo duas vezes mais em heterocigotos (CT) em relação aos indivíduos homocigotos para o alelo C. Deste modo, o polimorfismo rs1443634 pode estar relacionado com a progressão e severidade da DPC.

Os estudos de Archana e colaboradores (2012) demonstraram que o alelo 2 (T) da IL-1 β (rs1143634) está relacionado com os níveis de agressividade sendo estatisticamente significativos entre os genótipos avaliados na população no Sul da Índia em 60 Indivíduos com DPC. Em outros países, estudos populacionais demonstraram que a prevalência do polimorfismo rs1443634 em relação à susceptibilidade a DPC apresenta ampla variação nas populações, sendo menos frequente, por exemplo, a incidência deste SNP na população chinesa do que na população europeia (Armitage *et al.*, 2000; Hodge *et al.*, 2001).

Entre outros estudos, não foi possível demonstrar a associação entre os polimorfismos alélicos da IL-1 β e o desenvolvimento da DPC, sobretudo para periodontite apical. Alguns destes estudos foram conduzidos em pacientes brasileiros (Moreira *et al.*, 2005; Sakellari *et al.*, 2006; Trevalatto *et al.*, 2011). No entanto, o estudo de Morsani e colaboradores (2011) relatou diferenças estatisticamente significativas na distribuição dos polimorfismos genéticos da IL-1 β entre os pacientes com periodontite apical crônica (70,6%) e os controles com periápice saudável (24,6%) para a população estadunidense avaliada.

Assim, como observado no presente estudo, outras pesquisas têm corroborado com resultados que atribuem o envolvimento do alelo 2 (T) para o polimorfismo rs1443634, encontrando diferenças significativas na distribuição alélica e genotípica, em populações brasileiras e estrangeiras (Galbraith

et al., 1999; Moreira *et al.*, 2005; Lavu *et al.*, 2015).

Alguns pesquisadores têm atribuído as discrepâncias nos resultados ao perfil étnico das populações, uma vez que a ausência de sobreposição dos dados é observada entre muitos dos trabalhos publicados. Acredita-se que tais discordâncias sejam oriundas da miscigenação exclusiva de cada população, uma vez que são pertencentes a áreas geográficas distintas (Greenstein & Hart, 2002; Godinho *et al.*, 2008; Ebadian *et al.*, 2013). Deste modo, considera-se que um ou mais elementos atuem individualmente como fator de risco em cada população, de modo a elucidar a distribuição desigual da DPC e embora a IL-1 β tenha um papel relevante na patogenia, compreende-se que fatores ambientais e sociais, hábitos de vidas e a ausência de atendimento odontológico especializado, colaborem para o aumento da suscetibilidade individual e severidade da doença. É importante ainda ressaltar que há uma variedade de genes que podem estar envolvidos nos mecanismos fisiopatológicos da DPC, estando alguns no cluster do gene da IL-1 β e também que a doença pode ser uma patogenia poligênica (Trevalatto *et al.*, 2011).

CONCLUSÃO

Em conclusão, este estudo indica o alelo T (rs1443634) como possível fator de risco para DPC, uma vez que a constatação da redução do risco relativo foi atribuída à presença do alelo C. Acredita-se que outros genes, assim como, diferentes polimorfismos, estejam envolvidos na patogênese da DPC, devido à existência de diversos mediadores atuando nos processos inflamatórios.

Agradecimentos

Aos Professores, funcionários e alunos do laboratório Núcleo de Pesquisas Replicon da PUC Goiás, pela colaboração no desenvolvimento desta pesquisa e por disponibilizar os equipamentos e o espaço para o desenvolvimento deste estudo; ao coordenador do projeto, Prof. Renato Hannum, M.Sc., pela iniciativa desta pesquisa e demais contribuições; Aos pacientes que participaram deste estudo; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás – FAPEG, pelo fomento desta pesquisa.

ABSTRACT

The current work aimed to determine the allelic frequency regarding the SNP rs1443634 in the *IL1B* gene of individuals with chronic periodontal disease (CPD) and the potential to predict the relative risk for the condition. Thus, 39 patients,

with a mean age of 43.26, diagnosed with CPD were clinically distributed according the level of disease in low level (77%), moderate (21%), and severe (3%). In order to genotype the SNP, PCR and RFLP methodologies were used. Allele C in rs1143634 was related to an absolute relative risk reduction of 53.8%, showing statistically significant difference ($p < 0.0001$). On the other hand, the presence of T in rs1143634 can be considered a risk factor for CPD. Additional to the results

from the current study, the participation of other factors, since reduction obtained was slightly above 50%, suggested to involvement others elements including and life style (oral hygiene, smoking, and alcoholism) and the genetic risk when considering the roll of *IL1B* gene in the pathogenesis of CPD.

UNITERMS: Interleukin-1beta, Polymorphism, Genetic, Chronic Periodontitis

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Varmus H. Getting ready for gene-based medicine. *N Engl J Med.* 2002 Nov 7;347(19):1526–7.
- 2- Kinane DF, Shiba H, Hart TC. The genetic basis of periodontitis. *Periodontol 2000.* 2005 Jan;39:91–117.
- 3- Price AL, Spencer CCA, Donnelly P. Progress and promise in understanding the genetic basis of common diseases. *Proc R Soc B.* 2015;1–10.
- 4- Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K, et al. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia.* 2012 Jan 6;55(1):21–31.
- 5- Meusel DRDZ, Ramacciato JC, Motta RHL, Brito Junior RB, Florio FM. Impact of the severity of chronic periodontal disease on quality of life. *J Oral Sci.* 2015;57(2):87–94.
- 6- Pessoa L, Galvão V, Santos-Neto L. Periodontal disease as a risk factor for cardiovascular disease: Suggestion of a further link in systemic lupus erythematosus. *Med Hypotheses.* Elsevier Ltd; 2011;77(2):286–9.
- 7- Braosi APR, de Souza CM, Luczyszyn SM, Dirschnabel AJ, Claudino M, Olandoski M, et al. Analysis of IL1 gene polymorphisms and transcript levels in periodontal and chronic kidney disease. *Cytokine.* Elsevier Ltd; 2012 Oct;60(1):76–82.
- 8- Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol.* 1992 Apr;63(4 Suppl):322–31.
- 9- Arora N, Mishra A, Chugh S. Microbial role in periodontitis: Have we reached the top? Some unsung bacteria other than red complex. *J Indian Soc Periodontol.* 2014 Jan;18(1):9–13.
- 10- Armitage GC. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4(1):1–6.
- 11- Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Aust Dent J.* 2009;11–26.
- 12- Offenbacher S, Barros SP, Beck JD. Rethinking periodontal inflammation. *J Periodontol.* 2008 Aug;79(8 Suppl):1577–84.
- 13- Burgener B, Ford AR, Situ H, Fayad MI, Hao JJ, Wenckus CS, et al. Biologic Markers for Odontogenic Periradicular Periodontitis. *J Endod.* 2010 Aug 7;36(8):1307–10.
- 14- Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *J Clin Periodontol.* 2011;38(SUPPL. 11):60–84.
- 15- Pociot F, Mølviig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 β (IL-1 β) gene correlates with IL-1 β secretion in vitro. *Eur J Clin Invest.* 1992 Jun;22(6):396–402.
- 16- Dewhirst FE, Stashenko PP, Mole JE, Tsurumachi T. Purification and partial sequence of human osteoclast-activating factor: identity with interleukin 1 beta. *J Immunol.* 1985; 135: 2562-2568.
- 17- Al-Qawasmi RA, Hartsfield KJ, Everett ET, Flury L, Liu L, Foroud TM, et al. Genetic predisposition to external apical root resorption in orthodontic patients: linkage of chromosome-18 marker. *J Dent Res.* 2003;82(5):356–60.
- 18- Lee Y-M, Fujikado N, Manaka H, Yasuda H, Iwakura Y. IL-1 plays an important role in the bone metabolism under physiological conditions. *Int Immunol.* 2010 Oct 1;22(10):805–16.
- 19- Trevilatto PC, De Souza Pardo AP, Scarel-Caminaga RM, De Brito RB, Alvim-Pereira F, Alvim-Pereira CC, et al. Association of IL1 gene polymorphisms with chronic periodontitis in Brazilians. *Arch Oral Biol.* Elsevier Ltd; 2011;56(1):54–62.
- 20- Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol Res.* 1991 May;26(3):230–42.
- 21- Finoti LS, Anovazzi G, Pigossi SC, Corbi SCT, Teixeira SRL, Braidó GV V, et al. Periodontopathogens levels and clinical response to periodontal therapy in individuals with the interleukin-4 haplotype associated with susceptibility to chronic periodontitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013 Dec 8;32(12):1501–9.
- 22- Guzman S, Karima M, Wang H-Y, Dyke TE Van. Association Between Interleukin-1 Genotype and Periodontal Disease in a Diabetic Population. *J Periodontol.* 2003 Aug;74(8):1183–90.
- 23- Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2013 Jun;62(1):59–94.

- 24- Kinane DF, Hart TC. Genes and Gene Polymorphisms Associated With Periodontal Disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003 Nov 1;14(6):430–49.
- 25- Ojima M, Hanioka T. Destructive effects of smoking on molecular and genetic factors of periodontal disease. *Tob Induc Dis.* 2010;(Table 1):1–8.
- 26- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Área Técnica de Saúde Bucal. Projeto SB 2000: condições de saúde bucal da população brasileira no ano 2000: manual do examinador/ Secretaria de políticas de Saúde, Departamento de Atenção Básica, Área Técnica de Saúde Bucal. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.
- 27- Mellati E, Arab HR, Tavakkol-Afshari J, EbadianAR, Radvar M. Analysis of -1082 IL-10 gene polymorphism in Iranian patients with generalized aggressive periodontitis. *Med Sci Monit.* 2007; 13(11): CR510–R514.
- 28- Drożdżik a, Kurzawski M, Safronow K, Banach J. Polymorphism in interleukin-1beta gene and the risk of periodontitis in a Polish population. *Adv Med Sci.* 2006;51 Suppl 1:13–7.
- 29- Morsani JM, Aminoshariae A, Han YW, Montagnese TA, Mickel A. Genetic Predisposition to Persistent Apical Periodontitis. *J Endod.* 2011 Apr;37(4):455–9.
- 30- Archana P, Kumar TSS, Panishankar K, Salman Aa, Saraswathi P, Kumarasamy P. Association between interleukin-1 gene polymorphism and severity of chronic periodontitis in a south Indian population group. *J Indian Soc Periodontol.* 2012;16(2):174.
- 31- Armitage GC, Wu Y, Wang H-Y, Sorrell J, di Giovine FS, Duff GW. Low Prevalence of a Periodontitis-Associated Interleukin-1 Composite Genotype in Individuals of Chinese Heritage. *J Periodontol.* 2000 Feb;71(2):164–71.
- 32- Hodge PJ, Riggio MP, Kinane DF. Failure to detect an association with IL1 genotypes in European Caucasians with generalized early onset periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2001;28:430–436.
- 33- Moreira PR, De Sá AR, Xavier GM, Costa JE, Gomez RS, Gollob KJ, et al. A functional interleukin-1 β gene polymorphism is associated with chronic periodontitis in a sample of Brazilian individuals. *J Periodontol Res.* 2005;40:306–11.
- 34- Sakellari D, Katsares V, Georgiadou M, Kouvatsi A, Arsenakis M, Konstantinidis A. No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population. *J Clin Periodontol.* 2006;33:765–70.
- 35- Siqueira JF, Rôças IN, Provenzano JC, Daibert FK, Silva MG, Lima KC. Relationship Between Fc γ Receptor and Interleukin-1 Gene Polymorphisms and Post-treatment Apical Periodontitis. *J Endod.* 2009 Sep;35(9):1186–92.
- 36- Galbraith GM, Hendley TM, Sanders JJ, Palesch Y, Pandey JP. Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1999;26(1996):705–9.
- 37- Lavu V, Venkatesan V, Venkata Kameswara Subrahmanya Lakka B, Venugopal P, Paul SFD, Rao SR. Polymorphic Regions in the Interleukin-1 Gene and Susceptibility to Chronic Periodontitis: A Genetic Association Study. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2015 Apr;19(4):175–81.
- 38- Greenstein G, Hart TC. A critical assessment of interleukin-1 (IL-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2002;73(February):231–47.
- 39- Godinho NMO, Gontijo CC, Diniz MECG, Falcão-Alencar G, Dalton GC, Amorim CEG, et al. Regional patterns of genetic admixture in South America. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser.* 2008 Aug;1(1):329–30.
- 40- Ebadian AR, Radvar M, Afshari JT, Sargolzaee N, Brook A, Ganjali R, et al. Gene Polymorphisms of TNF- α and IL-1 β Are Not Associated with Generalized Aggressive Periodontitis in an Iranian Subpopulation. *Iran J Allergy, Asthma Immunol.* 2013;12(December):345–51.

Endereço para correspondência:
Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Av. Universitária, 1069 – Leste Universitário
CEP: 74605010 – Goiânia – GO – Brasil
E-mail: joao.xm@hotmail.com