

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 24/09/2022.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Thamiris Cirelli

**Investigação da suscetibilidade genética à periodontite crônica associada ao diabetes
mellitus tipo 2**

Araraquara

2020



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Thamiris Cirelli

**Investigação da suscetibilidade genética à periodontite crônica associada ao diabetes
mellitus tipo 2**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara
para obtenção do título de Doutor em Odontologia,
na Área de Periodontia

**Orientadora Profa. Dr. Raquel Mantuanelli
Scarel Caminaga**

Araraquara

2020

Cirelli, Thamiris

Investigação da suscetibilidade genética à periodontite crônica associada ao diabetes mellitus tipo 2 / Thamiris Cirelli.- Araraquara: [s.n.], 2020

118 f.; 30 cm.

Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Mantuaneli Scarel Caminaga

1. Polimorfismo genético 2. Periodontite 3. Diabetes mellitus I. Título

Thamiris Cirelli

Investigação da suscetibilidade genética à periodontite crônica associada ao diabetes mellitus tipo 2

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de doutor em Periodontia

Presidente e orientador Profa. Dra. Raquel Mantuaneli Scarel Caminaga

2º Examinador Profa. Dra. Letícia Helena Theodoro

3º Examinador Prof. Dr. Renato Corrêa Viana Casarin

4º Examinador Profa. Dra. Andreia Bufalino

5º Examinador Profa. Dra. Silvana Regina Peres Orrico

Araraquara, 24 de setembro de 2020.

DADOS CURRICULARES

Thamiris Cirelli

NASCIMENTO: 09/03/1993 – Descalvado – São Paulo

FILIAÇÃO: Jeronimo Cirelli Junior

Paula Adriana Pires Maringolo Cirelli

2011 - 2015 Curso de Graduação em Odontologia – Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr Universidade Estadual Paulista – UNESP

2017 - 2019 Curso de Especialização em Periodontia – Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr Universidade Estadual Paulista – UNESP.

2016 - 2020 Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de concentração em Periodontia – Nível Doutorado - Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr Universidade Estadual Paulista – UNESP.

Dedico este trabalho...

Aos ***meus pais***, Jeronimo Cirelli Junior e Paula Adriana Pires Maringolo Cirelli pois sem eles, NADA seria possível. Agradeço por todo amor, carinho e dedicação pela nossa família desde SEMPRE. Pela educação e ensinamento que levarei para toda minha VIDA. São exemplos de

AMOR e HUMILDADE

Aos ***meus irmãos***, Lucas Antônio Cirelli e Lívia Cirelli, por toda paciência e companheirismo, estaremos juntos para sempre.

Agradeço especialmente...

À **Deus**, por estar presente em todos os momentos da minha vida, obrigada por iluminar e guiar meu caminho e minhas escolhas.

À **Santa Josefina Bakhita** que intercede junto ao senhor para que crescamos no Seu amor. É exemplo de fé e humildade.

Aos meus pais, **Jeronimo Cirelli Junior** e **Paula Adriana Pires Maringolo Cirelli** que sempre me apoiaram e lutaram junto comigo pelas minhas escolhas, muito obrigada por ensinar o que é amor, humildade, respeito e compaixão. Hoje sou o reflexo de vocês, e sou muito grata por isso, são meus exemplos de vida, onde encontro meu porto seguro. Aos meus irmãos **Lucas A. Cirelli** e **Livia Cirelli**, que são meus companheiros desde sempre, me apoiando e me ajudando. Agradeço a Deus por ter vocês.

Meu namorado, **Arthur Galleti Lima**, por estar do meu lado em todos os momentos, escutando e apoiando todas as minhas escolhas, pelo amor e carinho, por ser essa pessoa maravilhosa que faz parte da minha vida.

A minha *Grande Família*, meus pais, irmãos e **Guilherme Boneli** e **Cíntia Belli Vischi**. Por estarem sempre comigo, apoiando minhas escolhas. Muito obrigada pelos momentos que compartilhamos juntos. Um agradecimento especial à minha sobrinha **Cecília Vischi Cirelli** que nos trouxe muito amor e alegria.

À minha orientadora **Profa. Dra. Raquel Scarel Caminaga** pela oportunidade de conhecer a pesquisa, por ter me acolhido. Obrigada por toda ajuda, atenção, paciência e principalmente por estar disposta a fazer o melhor. Agradeço e admiro sua dedicação.

Ao **Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli**, que sempre esteve de braços abertos me acolhendo e ajudando para que eu conseguisse alcançar meus objetivos de melhor forma possível.

À minha amiga-irmã, **Joaquina Santos Diniz**, simplesmente por TUDO! Por estar do meu lado desde o começo, escutando e apoiando todas as minhas escolhas (mesmo de longe). Obrigada pela amizade e por ser essa pessoa maravilhosa que fez e sempre fará parte da minha vida.

À minha amiga, **Marina Costa**, por estar do meu lado em todos os momentos. Sua amizade foi o melhor presente que a especialização me deu. Agradeço pelos momentos de alegria que compartilhamos juntas e por me escutar SEMPRE, mesmo estando longe. Tenho certeza que nossa amizade será para a vida toda.

À minha amiga, **Suzane Cristina Pigossi**, pela parceria. Por estar sempre disposta a me ajudar compartilhando seu conhecimento. Agradeço pelos momentos divertidos que passamos juntos. Que nossa amizade permaneça por muitos anos.

Ao meu amigo, **Diego Bussaneli**, por todos os momentos que passamos juntos. Admiro muito você como pessoa e profissional. Também agradeço pela sua ajuda durante todo o doutorado.

À minha amiga, **Ingra Gagno Nicchio** pela amizade e pelos momentos felizes juntas. Agradeço pelo seu companheirismo diário. Admiro a profissional que está se tornando.

À minha amiga, **Andressa Nogueira**, entrou na minha vida esse ano e se tornou uma pessoa muito especial. Agradeço pelo seu companheirismo diário e me ensinar tanto em Mainz. À minha amiga, **Camila Marcantonio**, que se tornou uma pessoa muito especial para mim. Agradeço pelos momentos que passamos juntas e por você ser essa pessoa tão carinhosa e especial.

Ao meu amigo, **Rafael Nepomuceno**, pelos momentos divertidos que passamos juntos e pela ajuda na execução deste trabalho.

A todos meus meus companheiros de laboratório de **Genética Humana**, Sâmia Tfaile, Profa. Ticiania Capote, Karen Poquechoque, Marco Hidalgo, Bruna Rodrigues, por fazerem os dias de trabalho serem mais leves e por me ajudarem sempre que preciso. Ana Cláudia Rios, Jéssica Govea, Bárbara Roque, Karina Ferreira alunas de iniciação científica que me deram a oportunidade de ensinar e aprender muito. Tenho sorte de fazer parte desse grupo de pesquisa.

Agradeço...

À ***Faculdade de Odontologia de Araraquara***, na pessoa de seu Diretor, Prof. Dr. Edson Alves de Campos e da Vice-Diretora, Profa. Dra. Patrícia P. Nordi Sasso Garcia, responsável pela minha formação e pela estrutura oferecida para a realização dessa pesquisa.

Ao ***Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Odontologia***, Área de Periodontia, Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, e a todos os ***docentes do Curso de Pós-Graduação do Programa de Periodontia***, sempre dispostos a ensinar, pela disponibilidade e dedicação ao programa e aos seus alunos.

Aos ***docentes do curso de Especialização em Periodontia***, Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio, Prof. Dr. Carlos Rossa Júnior, Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli e Prof. Dr. José Eduardo César Sampaio que me tornaram especialista e pela dedicação ao curso.

À **CAPES**:O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À **FAPESP** – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº2014/13295-1, 2016/03753-8, 2016/08070-6, 2016/18313-3, 2018/26367-1) pelo apoio financeiro para realização dessa pesquisa.

Aos ***Pacientes***, que colaboraram com a pesquisa, contribuindo com a realização dos exames clínicos e coletas e que com amabilidade compreenderam meu desafio e dividiram esta responsabilidade comigo! Muito obrigada!

Aos funcionários da Disciplina de Periodontia, ***Isabela, Claudinha e Suleima***, sempre dispostos a ajudar, pelo carinho e apoio aos alunos.

Aos ***funcionários do Departamento de Morfologia*** pelo apoio na execução desse trabalho.

Aos funcionários da ***Seção de Pós-Graduação***, pela paciência e dedicação aos alunos.

Aos ***funcionários da Biblioteca*** pela disposição de sempre.

A **todos** que, direta ou indiretamente, colaboraram e tornaram possível a realização deste trabalho.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

Cirelli T. Investigação da suscetibilidade genética à periodontite crônica associada ao diabetes mellitus tipo 2 [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

RESUMO

Periodontite (P) e Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2) são doenças com grande prevalência na população, e o número de pacientes afetados por ambas as doenças, como comorbidades, tem se tornando cada vez maior. Além disso, a periodontite e a DM2 são doenças complexas que possuem mecanismos patogênicos comuns, mas o potencial componente genético que pode ser compartilhado entre essas doenças permanece pouco investigado. Marcadores genéticos de risco para cada uma dessas doenças foram identificados, mas devem ser avaliados em diferentes populações, para serem validados. Além disso é importante verificar se tais marcadores genéticos isolados seriam úteis na identificação da ocorrência conjunta dessas doenças como comorbidades. O objetivo deste estudo em uma população brasileira foi dividido em 2 capítulos: (i) Avaliar se os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) nos genes *IL10*, *IL1A*, *IL1B*, *IL4*, *TNFA*, *IL6*, *OPG*, *RANK* e *RANKL*, "classicamente" relacionados à periodontite, podem estar associados à suscetibilidade ao DM2 e também com ambas as doenças concomitantemente; (ii) avaliar 12 SNPs selecionados a partir de estudos de associação ampla do genoma (GWAS) e bioinformática previamente associados a DM2 ou à periodontite isoladamente, como marcadores genéticos para DM2, ou periodontite, ou ambas doenças como comorbidades. Considerando o cálculo amostral, 956 pacientes foram submetidos a exame periodontal completo, além da análise bioquímica do seu perfil glicêmico e lipídico. Foram investigados pacientes com DM2 e P (Grupo DM2+P, n=239 pacientes); e para comparação dos resultados foram considerados pacientes sem DM2 com P severa ou moderada (Grupo Periodontite, n=358), e também pacientes sem DM2 e sem P, sendo considerados saudáveis (Grupo Controle, n=356). Assim, o grupo Periodontite foi considerado controle para o DM2 e o Grupo Controle foi considerado controle para a DM2 e a P. Após exame periodontal completo e realização dos exames bioquímicos, foi obtido o bochecho de cada paciente para extração do DNA pelo método Salting-out. Ao todo, 21 polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) foram investigados por meio do sistema de genotipagem OpenArray. As associações entre SNPs e patologias foram testadas por regressões logísticas múltiplas, ajustando-se à idade, sexo e hábito de fumar. Também investigamos se houve efeito influenciado pelo sexo ou tabagismo em cada SNP na ocorrência desses fenótipos. Referente ao capítulo 1 verificou-se que o SNP rs1143634-GA (*IL1B*) apresentou probabilidade significativamente menor de desenvolver DM2+P em toda a população, mas principalmente em mulheres (OR ajustado = 0,37, IC 95% = 0,16 - 0,88, p = 0,02), enquanto mulheres portadoras do genótipo CT rs224320 (*IL4*) foram mais suscetíveis a desenvolver DM2+P (OR ajustado = 1,81, IC 95% = 1,04-3,15, p = 0,03). Homens portadores do genótipo rs1800795-CC (*IL6*) apresentaram menor probabilidade de desenvolver DM2+P (OR ajustado = 0,12, IC 95% = 0,02 - 0,70, p = 0,01). No capítulo 2, considerando a correção de Bonferroni, identificou-se que o genótipo rs7957197-TA (gene *HNF1A*) foi associado à maior suscetibilidade ao DM2+P (Periodontite versus DM2+P, OR = 1,95; IC 95% = 1,26–3,02; p = 0,003) em toda população e também para os homens comparados às mulheres. Mulheres portadoras do genótipo rs77544840-GT (gene *CDKALI*) também mostraram suscetibilidade ao DM2+P (P versus P+DM2, OR = 2,49; IC 95% = 1,41–4,42; p = 0,002). Os pacientes homocigotos para o alelo mais raro (GG) do rs7018475 (gene *CDKN2B*) mostraram suscetibilidade para desenvolverem DM2+P (todo o controle versus todos os DM2+P, OR = 3,91; IC95% = 1,76–8,70; p = 0,001), bem como para mulheres e nunca fumantes. Portanto, pode-se concluir que SNPs nos genes *IL1B*, *IL4* e *IL6* demonstraram associação influenciada

pelo sexo com periodontite concomitante ao DM2, aumentando as evidências de um componente genético comum entre essas doenças. As variantes genéticas rs7957197 (*HNF1A*) e rs77544840 (*CDKALI*) foram validadas nos brasileiros como marcadores de risco para DM2+P. O rs7018475 (*CDKN2B*) foi associado com maior risco para o desenvolvimento de periodontite juntamente com DM2 (DM2+P). Como esses achados eram específicos ao sexo, mais estudos com critérios de seleção semelhantes são necessários para confirmar os resultados observados e investigar o papel funcional desses SNPs no contexto do fenótipo de sexo e doença.

Palavras chave: Polimorfismo genético. Periodontite. Diabetes Mellitus.

Cirelli T. Investigation of genetic susceptibility to chronic periodontitis associated with type 2 diabetes mellitus [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

ABSTRACT

Periodontitis (P) and Diabetes Mellitus Type 2 (T2DM) are diseases with a high prevalence in the population, and the number of patients affected by both diseases, such as comorbidities, has been increasing. In addition, periodontitis and T2DM are complex diseases that have common pathogenic mechanisms, but the potential genetic component that can be shared between these diseases remains poorly investigated. Genetic risk markers for each of these diseases have been identified, but they must be evaluated in different populations to be validated. In addition, it is important to verify whether such isolated genetic markers would be useful in identifying the joint occurrence of these diseases as comorbidities. The objective of this study in a Brazilian population was divided into 2 publications: (i) To assess whether single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *IL10*, *IL1A*, *IL1B*, *IL4*, *TNFA*, *IL6*, *OPG*, *RANK* and *RANKL* genes, "classically" related to periodontitis, may be associated with susceptibility to T2DM and also with both diseases concomitantly; (ii) evaluate 12 SNPs selected from studies of genome wide association (GWAS) and bioinformatics previously associated with T2DM or periodontitis alone, as genetic markers for T2DM, or periodontitis, or both diseases as comorbidities. Considering the sample size, 956 patients underwent a complete periodontal examination, in addition to biochemical analysis of their glycemic and lipid profile. Patients with T2DM and P (Group T2DM+P, n=239 patients) were investigated; and for comparison of results, patients without T2DM with severe or moderate P (Periodontitis Group, n = 358) were considered, and also patients without T2DM and without P, being considered healthy (Control Group, n = 356). Thus, the Periodontitis group was considered control for T2DM and the Control Group was considered control for T2DM and P. After a complete periodontal examination and biochemical tests, each patient's mouthwash was obtained for DNA extraction using the Salting-out. The 21 single nucleotide polymorphisms (SNP) were investigated using the OpenArray genotyping system. The associations between SNPs and pathologies were tested by multiple logistic regressions, adjusting for age, sex and smoking. We also investigated whether there was an effect influenced by sex or smoking in each SNP on the occurrence of these phenotypes. Regarding publication 1, it was found that the SNP rs1143634-GA (*IL1B*) was significantly less likely to develop P+T2DM in the entire population, but mainly in women (adjusted OR = 0.37, 95% CI = 0.16 - 0.88, p = 0.02), while women with the CT rs224320 (*IL4*) genotype were more susceptible to developing P+T2DM (adjusted OR = 1.81, 95% CI = 1.04-3.15, p = 0.03). Men with the rs1800795-CC (*IL6*) genotype were less likely to develop T2DM (adjusted OR = 0.12, 95% CI = 0.02 - 0.70, p = 0.01). In publication 2, considering the Bonferroni's correction, it was found that the rs7957197-TA genotype (*HNF1A* gene) was associated with greater susceptibility to T2DM (Periodontitis versus P+T2DM, OR=1.95; 95% CI=1.26 – 3.02; p=0.003) in the entire population and also for men compared to women. Women with the rs77544840-GT genotype (*CDKAL1* gene) also showed susceptibility to T2DM (P versus P+T2DM, OR = 2.49; 95% CI = 1.41–4.42; p = 0.002). The patients homozygous for the rarer (GG) allele of rs7018475 (*CDKN2B* gene) showed susceptibility to develop P+T2DM (all control versus all P + T2DM, OR=3.91; 95% CI=1.76–8, 70; p=0.001), as well as for women and never smokers. Therefore, it can be concluded that SNPs in the *IL1B*, *IL4* and *IL6* genes demonstrated an association influenced by sex with periodontitis concomitant with T2DM, increasing the evidence of a common genetic component between these diseases. The genetic

variants rs7957197 (*HNFI1A*) and rs77544840 (*CDKALI*) have been validated in Brazil as risk markers for T2DM. Rs7018475 (*CDKN2B*) was associated with an increased risk of developing periodontitis along with T2DM (P + T2DM). As these findings were sex specific, further studies with similar selection criteria are needed to confirm the observed results and to investigate the functional role of these SNPs in the context of the sex and disease phenotype.

Keywords: Genetic polymorphism. Periodontitis. Diabetes Mellitus.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 PROPOSIÇÃO.....	20
2.1 Proposição Geral.....	20
2.2 Proposições Específicas	20
3 PUBLICAÇÕES	21
3.1 Publicação 1.....	21
3.2 Publicação 2.....	52
4 DISCUSSÃO	83
5 CONCLUSÃO	91
REFERÊNCIAS	92
APÊNDICE	104
ANEXO	118

1 INTRODUÇÃO

A Doença Periodontal (DP) é a maior causa de perdas dentárias em adultos¹. A DP é caracterizada como uma doença imunoinflamatória multifatorial mediada pelo hospedeiro, que ocorre em resposta à disbiose microbiana, afetando as estruturas de suporte moles e duras que envolvem os dentes e causando destruição do tecido gengival conjuntivo, perda óssea alveolar, mobilidade e perda dentária². Assim, o fator etiológico primário da DP são micro-organismos periodontopatogênicos como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*^{3,4}.

Como já mencionado, de acordo com Page e Kornman⁵, a DP é iniciada e perpetuada por um grupo bacteriano específico. Apesar de essenciais, as bactérias sozinhas são insuficientes para que a doença ocorra. Atualmente é bem estabelecido que o dano tecidual gerado na DP é atribuído principalmente pela resposta do hospedeiro, e não pela ação bacteriana direta e de seus produtos⁴⁻⁶. A função primordial da cascata inflamatória é proteger o organismo contra agentes estranhos; porém, quando a resposta imune não é suficiente para eliminar os micro-organismos invasores, a persistência de mediadores inflamatórios pode levar a injúrias ao tecido, com consequente formação de bolsa periodontal, perda de tecido conjuntivo, destruição do ligamento periodontal e reabsorção de osso alveolar, culminando com a perda do elemento dentário⁷. Diversos fatores relacionados ao hospedeiro, como fatores ambientais (tabagismo), doenças sistêmicas e herança genética passaram a ser estudados para compreender como participam para o início e progressão da DP^{5,8}. A influência genética pode explicar, em parte, porque a DP pode se manifestar de diferentes formas clínicas na população⁹. Em um clássico estudo com gêmeos monozigóticos e dizigóticos foi constatado que o fator genético tem forte contribuição para o acometimento da DP crônica, e estima-se que esta doença possui aproximadamente 50% de hereditariedade, mesmo após ajustes para variáveis comportamentais¹⁰.

Atualmente a DP, assim como o Diabetes Mellitus (DM), tem sido considerada uma doença complexa ou multifatorial, em que fatores genéticos e ambientais exercem um papel essencial na patogênese¹⁰. Assim como a periodontite, a DM tem alto grau de herdabilidade, estimado em 72% por meio de metanálise de estudos em gêmeos¹¹. Uma característica importante das doenças complexas, como a DM e a DP, é o fato de serem poligênicas, ou seja, inúmeros genes estão envolvidos na suscetibilidade e na severidade da doença, cada qual garantindo uma pequena contribuição.

O Diabetes Mellitus é uma doença metabólica que envolve primariamente os carboidratos, seguido dos lipídeos e proteínas, sendo caracterizado pela hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina, em sua ação ou em ambos. Como resultado direto da hiperglicemia e do desequilíbrio osmótico, uma tríade clínica clássica de sintomas é desenvolvida, e inclui polifagia, polidipsia e poliúria. O aparecimento da doença está relacionado a fatores de risco genéticos, ambientais e comportamentais¹². A prevalência do diabetes mellitus aumenta em todo o mundo, sendo estimado que mais de 693 milhões de indivíduos sejam afetados até 2045¹³. Atualmente, os tipos mais comuns de DM são tipo 1 (DM1), em que as células beta do pâncreas são destruídas por autoimunidade, levando à uma deficiência absoluta de insulina, e o tipo 2 (DM2), onde há graus variados de diminuição de secreção e também da resistência à insulina¹⁴.

A periodontite pode ser reconhecida como a sexta maior complicação associada ao diabetes¹⁵, sendo que foi detectada maior extensão e severidade da doença periodontal em indivíduos portadores de diabetes do que naqueles não portadores da doença¹⁶⁻¹⁸. A inter-relação bi-direcional entre DP e DM tem sido estudada há vários anos^{19, 20}. A premissa para tal inter-relação entre DP e DM é a presença de citocinas pró-inflamatórias, bactérias e toxinas na DP que são liberadas localmente no tecido periodontal e adentram na circulação sistêmica, influenciando tecidos e órgãos à distância. Ao mesmo tempo, as citocinas pró-inflamatórias sistemicamente envolvidas no DM infiltram-se nos tecidos periodontais e agravam a condição periodontal, resultando numa relação bidirecional^{19, 21}. Assim, acredita-se que a associação entre a DP e o DM resulta de dois mecanismos distintos: 1) uma relação causal direta, na qual as complicações do DM agem como modificadores da expressão da DP; 2) ou que a presença de citocinas inflamatórias da DP possam levar a alterações no metabolismo da glicose e de lipídios²².

Considerando-se o primeiro mecanismo, há evidências de que a prevalência e a severidade da DP são maiores em indivíduos com diabetes em comparação a não diabéticos^{19, 21-24}. Foi constatado que pacientes com bom controle glicêmico são menos propensos à destruição periodontal²⁵. Estudos têm demonstrado que os produtos finais da glicação avançada (AGEs), formada como resultado da hiperglicemia e da hiperlipidemia, podem alterar o fenótipo de tipos celulares específicos por meio de um receptor de alta afinidade da superfície celular (RAGE). Isso pode alterar as funções biológicas do tecido conjuntivo periodontal por meio de interações célula-matriz²⁶, além de transformar macrófagos e polimorfonucleares em células hiper-responsivas a bactérias periodontopatogênicas, o que leva a maior secreção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF- α ²⁷. Em

concordância, segundo Kinane et al.²⁸ 2017 e Bartold et al.²⁹ 2007 o diabetes pode ser considerado mais um fator modificador da periodontite já existente do que propriamente um agente causador da doença.

O segundo mecanismo para associação entre a DP e o DM, ou seja, que a DP pode influenciar a condição sistêmica, foi demonstrado que a bacteremia e a endotoxemia associadas à DP podem elevar os níveis séricos de citocinas, como TNF- α , PGE2, IL-1 e IL-6, fomentando a periodontite. Sugere-se que o tecido conjuntivo periodontal inflamado atue como reservatório para esses mediadores, o que poderia acarretar em alterações no metabolismo da glicose e dos lipídios, induzindo à resistência insulínica³⁰.

Lembrando que o DM2 e DP são doenças multifatoriais, a carga genética pode atuar cumulativamente ou interagir com outros fatores de risco influenciando a ocorrência e a severidade de ambas as doenças. O metabolismo glicêmico sofre influência de polimorfismos em alguns genes que codificam enzimas importantes. Polimorfismos genéticos são formas variantes (alelos) de um locus específico do cromossomo, que coexistem naturalmente na população humana. São portanto, variações normais do genoma humano, no qual o alelo mais raro ocorre com uma frequência maior que 1% na população. Os polimorfismos surgem como resultado de mutações, como inserções, deleções ou substituições de bases nucleotídicas, podendo gerar uma proteína não funcional ou alterar a expressão da referida proteína. O tipo de polimorfismo mais comumente relatado na literatura é o Polimorfismo de Nucleotídeo Único (*Single Nucleotide Polimorphism - SNP*), que consiste em uma variação da identidade de um nucleotídeo singular num sítio particular do genoma³¹.

Os polimorfismos genéticos são muito úteis em estudos da área de Genética de Populações. As frequências dos genótipos e alelos podem variar entre grupos de pacientes doentes e de saudáveis. Estudos relatam que variações alélicas, como os polimorfismos em genes que codificam citocinas, podem afetar a suscetibilidade e a progressão da DP^{7, 32-35}. O primeiro estudo demonstrando a associação entre DP e um polimorfismo genético, no caso no gene *IL1*, foi de Kornman et al.³⁶ em 1997. A partir de então, muitos estudos vêm sendo realizados com o objetivo de associar diversos polimorfismos em vários genes com a periodontite. Existem mais de 14 milhões de SNPs distribuídos no genoma que têm sido investigados em associação a doenças, mas apenas uma pequena parcela destes foi estudado em relação à DP³⁷. Os primeiros estudos investigando a suscetibilidade genética à periodontite crônica na população Brasileira são de 2002, utilizando a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) aliada à de Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição (RFLP), ou seja, a PCR-RFLP³⁸. A partir de então, várias outras pesquisas têm sido realizadas

na população Brasileira a fim de identificar marcadores genéticos que possam estar associados com a suscetibilidade ou predisposição à DP^{20, 39-41}. Nota-se até os dias atuais uma tendência mundial em identificar marcadores genéticos de suscetibilidade à DP, principalmente focando-se em genes relacionados ao sistema imunoinflamatório.

Em estudos de varredura ampla do genoma, ou seja (genome wide association study – GWAS) enfocando DM2 em mais de 4 mil pacientes europeus investigando simultaneamente milhares de SNPs, foi verificada associação dos polimorfismos E23K (rs5219) no gene *KCNJ11* e rs7903146 no gene *TCF7L2* com forte susceptibilidade ao DM2^{42, 43}. Estudos enfocando genes do sistema imune foram realizados investigando a suscetibilidade genética à DP juntamente com DM2, em grupos amostrais pequenos, mas mesmo assim mostraram resultados interessantes. Em um estudo realizado em 100 pacientes com DM2, verificou-se que aqueles que apresentavam o genótipo C/T ou T/T para o polimorfismo +3954 no gene *IL1B* tinham um risco 3,8 vezes aumentado de desenvolver DP²³. Outro polimorfismo em gene de citocina, no caso o gene *IL6*, foi associado ao DM, pois o genótipo GG do polimorfismo –174 foi um forte fator de suscetibilidade para DP entre os pacientes com DM1⁴⁴.

Como as frequências dos alelos polimórficos variam entre as diferentes etnias, resultados de associação de polimorfismos genéticos com suscetibilidade a doenças também costumam variar^{45, 46}. Portanto, um determinado polimorfismo que tenha sido previamente associado à uma doença precisa ser validado na nossa população. No caso da possível relação com o DM, é necessário incluir a avaliação rigorosa do controle glicêmico (e também lipídico) à avaliação periodontal. Para que um polimorfismo possa ser efetivamente considerado um marcador genético, é necessário realizarem-se estudos com populações maiores e de diferentes etnias utilizando critérios clínicos padronizados. Somente isso poderá permitir comparações de resultados e efetivamente esclarecer se um determinado polimorfismo teria poder preditivo para uma doença em uma determinada população²⁰. Subsequentemente, quando um determinado alelo está associado com a doença, estudos enfocando a genética funcional podem ser realizados para investigar a possível influência do referido polimorfismo na expressão do gene e seu papel na etiologia e patogênese da doença^{47,48}. Afinal, um polimorfismo pode influenciar no nível de secreção de uma determinada proteína, provocando variações nas respostas imunológica e inflamatória individuais frente a uma agressão bacteriana⁴⁹.

Para otimizar a análise de vários SNPs, atualmente tem sido empregadas tecnologias de alto desempenho, como *microarrays*. A partir de 2009 surgiram as primeiras publicações

utilizando-se um protocolo baseando em uma tecnologia de alto desempenho e rendimento de genotipagem por PCR em tempo real, conhecido como Plataforma de Genotipagem TaqMan® OpenArray® da empresa Life Technologies⁵⁰. Tal tecnologia atua por meio de um chip contendo sondas para detecção de alelos de diferentes SNPs, assim esse chip de genotipagem permite a análise simultânea de no mínimo 16 e máximo 256 SNPs. Uma das principais vantagens desse método é que o pesquisador escolhe os SNPs que deseja investigar, comunicando-se com a empresa que desenvolverá o chip de modo “customizado”. O chip assemelha-se a uma lâmina que contém os ensaios em nano-cavidades, requerendo apenas a adição da amostra quantificada de DNA dos pacientes. A manipulação e distribuição das amostras no chip de OpenArray® é realizada por um pipetador automático, o que aumenta a precisão e diminui erros de pipetagem. Apesar de aparentemente mais caro, na verdade, em comparação a técnicas de genotipagem convencionais (onde cada SNP é investigado de cada vez), o uso da plataforma OpenArray® é mais econômica quando pretende-se analisar diversos polimorfismos⁵¹. Tal tecnologia está em processo de difusão, constando desde 2007, 40 trabalhos publicados empregando essa tecnologia. Em um estudo realizado em uma população brasileira, a plataforma de genotipagem OpenArray® provou ser altamente eficaz (taxa de precisão de 96,99%) para a genotipagem de SNPs suspeitos de estarem relacionados à perda auditiva⁵¹. O resultado de genotipagem com o OpenArray foi validado por meio de outras técnicas como sequenciamento direto, PCR multiplex e PCR-RFLP.

Apesar de existirem vários estudos enfocando a associação de polimorfismos genéticos com a Periodontite, revisões da literatura e mais recentemente, meta-análises, mais estudos ainda se fazem necessários, pois:(i) a maioria dos estudos investigaram SNPs em genes relacionados ao sistema imune, de modo que outros genes com funções biológicas importantes foram pouco ou nunca investigados; (ii) Polimorfismos em genes que codificam enzimas costumam influenciar o perfil metabólico do paciente, que pode relacionar-se à sua condição periodontal; e existem poucos estudos que investigaram a condição metabólica sistêmica do paciente em associação com a condição periodontal, principalmente relacionando-se à potencial influência da sua carga genética.

5 CONCLUSÃO

- Houve associação entre o SNP rs1143634 no gene *IL1B* e menores chances de desenvolver a Periodontite concomitantemente com a DM2, para toda a população avaliada, bem como quando a comparação evidenciou as mulheres. Sugerindo que tal associação pode ser influenciada pelo sexo.
- O SNP rs2243250 (gene *IL4*) demonstrou que mulheres com genótipo CT tem maior suscetibilidade à periodontite juntamente com a D2M como comorbidades, sendo também influenciada pelo sexo.
- Para o rs1800795 no gene *IL6*, homens com genótipo CC apresentam menores chances de desenvolver o DM2.
- Houve uma fraca associação entre os rs5219 e rs5215 no gene *KCNJ11*, rs6712932 no gene *GPR45*, rs1531343 no gene *RPSAP52*, rs352140 no gene *TLR9* com presença da periodontite.
- Os SNPs rs5215 no gene *KCNJ11*, rs7957197 no gene *HNF1A*, rs7903146-*TCF7L2* no gene *TLR9*, e rs7903146 no gene *TCF7L2* foram associados com a presença conjunta da periodontite e da DM2.
- As variantes genéticas rs7957197 (*HNF1A*), rs77544840 (*CDKALI*) e rs7018475 (*CDKN2B*) foram validadas nos brasileiros como marcadores de risco para DM2.

REFERÊNCIAS*

1. Baelum V, Lopez R. Periodontal epidemiology: towards social science or molecular biology? *Community Dent Oral Epidemiol.* 2004; 32(4): 239-49.
2. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol.* 2018; 45 Suppl 20: S149-S61.
3. Andriankaja OM, DeNardin E, Dunford R, Dorn J, Trevisan M. The association between metabolic syndrome and periodontal disease. *Aust Dent J.* 2006; 163(11): S30-S.
4. Haffajee AD, Socransky SS, Patel MR, Song X. Microbial complexes in supragingival plaque. *Oral Microbiol Immunol.* 2008; 23(3): 196-205.
5. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000.* 1997; 14: 9-11.
6. Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves DT. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol.* 1998; 160(1): 403-9.
7. Franch-Chillida F, Nibali L, Madden I, Donos N, Brett P. Association between interleukin-6 polymorphisms and periodontitis in Indian non-smokers. *J Clin Periodontol.* 2010; 37(2): 137-44.
8. Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol.* 2006; 77(8): 1289-303.
9. Susin C, Dalla Vecchia CF, Oppermann RV, Haugejorden O, Albandar JM. Periodontal attachment loss in an urban population of Brazilian adults: Effect of demographic, behavioral, and environmental risk indicators. *J Clin Periodontol.* 2004; 75(7): 1033-41.
10. Michalowicz BS, Diehl SR, Gunsolley JC, Sparks BS, Brooks CN, Koertge TE, et al. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *J Periodontol.* 2000; 71(11): 1699-707.
11. Willemsen G, Ward KJ, Bell CG, Christensen K, Bowden J, Dalgard C, et al. The Concordance and Heritability of Type 2 Diabetes in 34,166 Twin pairs from international twin registers: the discordant twin (DISCOTWIN) consortium. *Twin Res Hum Genet.* 2015; 18(6): 762-71.
12. King GL, Shiba T, Oliver J, Inoguchi T, Bursell SE. Cellular and molecular abnormalities in the vascular endothelium of diabetes mellitus. *Annu Rev Med.* 1994; 45: 179-88.
13. Cho, N, Shaw, JE, Karuranga, S, Huang Y, da Rocha Fernandes, Ohlrogge AW, et al. IDF diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018; 138: 271-281.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

14. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* 1998; 15(7): 539-53.
15. Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1993; 16(1): 329-34.
16. Lu HK, Yang PC. Cross-sectional analysis of different variables of patients with non-insulin dependent diabetes and their periodontal status. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2004; 24(1): 71-9.
17. Mealey BL, Oates TW, American Academy of P. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol.* 2006; 77(8): 1289-303.
18. Papapanou PN. Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol.* 1996; 1(1): 1-36.
19. Taylor HG, Yeates KO, Wade SL, Drotar D, Stancin T, Burant C. Bidirectional child-family influences on outcomes of traumatic brain injury in children. *J Int Neuropsychol Soc.* 2001; 7(6): 755-67.
20. Oliveira RN CS, Bastos AS, Orrico SRP, Scarel-Caminaga RM. Doença periodontal em pacientes com Diabetes Mellitus: influência de polimorfismos genéticos? *Rev Odontol UNESP.* 2011; 40(4): 187-94.
21. Xiao LM, Yan YX, Xie CJ, Fan WH, Xuan DY, Wang CX, et al. Association among interleukin-6 gene polymorphism, diabetes and periodontitis in a Chinese population. *Oral Dis.* 2009; 15(8): 547-53.
22. Correia D, Alcoforado G, Mascarenhas P. Influência da diabetes mellitus no desenvolvimento da doença periodontal. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac* 2010; 51: 167-76
23. Guzman S, Karima M, Wang HY, Van Dyke TE. Association between interleukin-1 genotype and periodontal disease in a diabetic population. *J Periodontol.* 2003; 74(8): 1183-90.
24. Struch F, Dau M, Schwahn C, Biffar R, Kocher T, Meisel P. Interleukin-1 gene polymorphism, diabetes, and periodontitis: results from the Study of Health in Pomerania (SHIP). *J Periodontol.* 2008; 79(3): 501-7.
25. Engebretson SP, Hey-Hadavi J, Ehrhardt FJ, Hsu D, Celenti RS, Grbic JT, et al. Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1beta and glycemic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2004; 75(9): 1203-8.
26. Lazenby MG, Crook MA. The innate immune system and diabetes mellitus: the relevance of periodontitis? A hypothesis. *Clin Sci (Lond).* 2010; 119(10): 423-9.
27. Bascones-Martinez A, Matesanz-Perez P, Escribano-Bermejo M, Gonzalez-Moles MA, Bascones-Ilundain J, Meurman JH. Periodontal disease and diabetes-review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011; 16(6): e722-9.
28. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers.* 2017; 3: 17038.
29. Kinane DF, Bartold PM. Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontol 2000.* 2007; 43: 278-93.

30. Verardi G, Lupatini A, Beltrame J, Trentin M, Oliveira Da Silva S, De Carli J. Doença periodontal e diabete melito tipo 2. *Rev. Odonto.* 2009; 17: 93-9.
31. Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT. Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2004; 35: 158-82.
32. Grigoriadou ME, Koutayas SO, Madianos PN, Strub JR. Interleukin-1 as a genetic marker for periodontitis: review of the literature. *Quintessence Int.* 2010; 41(6): 517-25.
33. Kim YJ, Viana AC, Curtis KMC, Orrico SRP, Cirelli JA, Scarel-Caminaga RM. Lack of association of a functional polymorphism in the interleukin 8 gene with susceptibility to periodontitis. *DNA Cell Biol.* 2009; 28(4): 185-90.
34. Lopez NJ, Jara L, Valenzuela CY. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. *J Periodontol.* 2005; 76(2): 234-43.
35. Tervonen T, Raunio T, Knuuttila M, Karttunen R. Polymorphisms in the CD14 and IL-6 genes associated with periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2007; 34(5): 377-83.
36. Kornman KS, Crane A, Wang HY, diGiovine FS, Newman MG, Pirk FW, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(1): 72-7.
37. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature.* 2001; 409(6822): 928-33.
38. Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB, Line SR. Frequencies of the -330 (T --> G) IL-2 and -590 (T --> C) IL-4 gene polymorphisms in a population from south-eastern Brazil. *Eur J Immunogenet.* 2002; 29(4): 293-6.
39. Astolfi CM, Shinohara AL, da Silva RA, Santos MCLG, Line SRP, de Souza AP. Genetic polymorphisms in the MMP-1 and MMP-3 gene may contribute to chronic periodontitis in a Brazilian population. *J Clin Periodontol.* 2006; 33(10): 699-703.
40. Moreira PR, Costa JE, Gomez RS, Gollob KJ, Dutra WO. The IL1A (-889) gene polymorphism is associated with chronic periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *J Periodontal Res.* 2007; 42(1): 23-30.
41. Pontes CC, Gonzales JR, Novaes AB, Jr., Taba Junior M, Grisi MF, Michel J, et al. 'Interleukin-4 gene polymorphism and its relation to periodontal disease in a Brazilian population of African heritage'. *J Dent.* 2004; 32(3): 241-6.
42. Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, Frayling TM, Elliott KS, Lango H, et al. Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science.* 2007; 316(5829): 1336-41.
43. Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, Willer CJ, Li Y, Duren WL, et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science.* 2007; 316(5829): 1341-5.
44. Raunio T, Knuuttila M, Hiltunen L, Karttunen R, Vainio O, Tervonen T. IL-6(-174) genotype associated with the extent of periodontal disease in type 1 diabetic subjects. *J Clin Periodontol.* 2009; 36(1): 11-7.

45. Stabholz A, Soskolne WA, Shapira L. Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2010; 53: 138-53.
46. Holla LI, Fassmann A, Stejskalova A, Znojil V, Vanek J, Vacha J. Analysis of the interleukin-6 gene promoter polymorphisms in Czech patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2004; 75(1): 30-6.
47. Schafer AS, Jepsen S, Loos BG. Periodontal genetics: a decade of genetic association studies mandates better study designs. *J Clin Periodontol*. 2011; 38(2): 103-7.
48. Vijayalakshmi R, Geetha A, Ramakrishnan T, Emmadi P. Genetic polymorphisms in periodontal diseases: an overview. *Indian J Dent Res*. 2010; 21(4): 568-74.
49. Kornman KS, di Giovine FS. Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann Periodontol*. 1998; 3(1): 327-38.
50. Reid ME. Transfusion in the age of molecular diagnostics. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009 (1): 171-7.
51. Martins FTA, Ramos PZ, Svidnicki MCCM, Castilho AM, Sartorato EL. Optimization of simultaneous screening of the main mutations involved in non-syndromic deafness using the TaqMan (R) OpenArray (TM) Genotyping Platform. *BMC Med Genet*. 2013; 14: 112
52. Singh MM, Mathur R, Bedi RS. Genetic variants in periodontal diseases: Impact on disease susceptibility and severity. *Adv Med Biol*. 70: 55-91.
53. Baioni CS, de Souza CM, Ribeiro Braosi AP, Luczyszyn SM, Dias da Silva MA, Ignacio SA, et al. Analysis of the association of polymorphism in the osteoprotegerin gene with susceptibility to chronic kidney disease and periodontitis. *J Periodontal Res*. 2008; 43(5): 578-84.
54. Kaul N, Ali S. Genes, Genetics, and Environment in Type 2 Diabetes: implication in personalized medicine. *DNA Cell Biol*. 2016; 35(1): 1-12.
55. Polak D, Shapira L. An update on the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Clin Periodontol*. 2018; 45(2): 150-66.
56. Zhou X, Zhang W, Liu X, Zhang W, Li Y. Interrelationship between diabetes and periodontitis: role of hyperlipidemia. *Arch Oral Biol*. 2015; 60(4): 667-74.
57. Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K, et al. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*. 2012; 55(1): 21-31.
58. Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1997; 24(1): 72-7.
59. da Silva FRP, Vasconcelos A, de Carvalho Franca LF, Di Lenardo D, Nascimento HMS, Vasconcelos DFP. Association between the rs1143634 polymorphism in interleukin-1B and chronic periodontitis: Results from a meta-analysis composed by 54 case/control studies. *Gene*. 2018; 668: 97-106.
60. Karimbux NY, Saraiya VM, Elangovan S, Allareddy V, Kinnunen T, Kornman KS, et al. Interleukin-1 gene polymorphisms and chronic periodontitis in adult whites: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. 2012; 83(11): 1407-19.

61. Borilova Linhartova P, Poskerova H, Tomandlova M, Bartova J, Kankova K, Fassmann A, et al. Interleukin-1 gene variability and plasma levels in czech patients with chronic periodontitis and diabetes mellitus. *Int J Dent*. 2019; 2019: 6802349.
62. Lavu V, Venkatesan V, Venugopal P, Lakkakula BV, Paul SF, Peria K, et al. Clinical relevance of cytokines gene polymorphisms and protein levels in gingival cervical fluid from chronic periodontitis patients. *Iran J Immunol*. 2017; 14(1): 51-8.
63. Divaris K, Monda KL, North KE, Olshan AF, Reynolds LM, Hsueh WC, et al. Exploring the genetic basis of chronic periodontitis: a genome-wide association study. *Hum Mol Genet*. 2013; 22(11): 2312-24.
64. Lauener RP, Goyert SM, Geha RS, Vercelli D. Interleukin 4 down-regulates the expression of CD14 in normal human monocytes. *Eur J Immunol*. 1990; 20(11): 2375-81.
65. Gonzales JR, Mann M, Stelzig J, Bodeker RH, Meyle J. Single-nucleotide polymorphisms in the IL-4 and IL-13 promoter region in aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2007; 34(6): 473-9.
66. Kara N, Keles GC, Sumer P, Gunes SO, Bagci H, Koprulu H, et al. Association of the polymorphisms in promoter and intron regions of the interleukin-4 gene with chronic periodontitis in a Turkish population. *Acta Odontol Scand*. 2007; 65(5): 292-7.
67. Donati M, Berglundh T, Hytonen AM, Hahn-Zoric M, Hanson LA, Padyukov L. Association of the -159 CD14 gene polymorphism and lack of association of the -308 TNFA and Q551R IL-4RA polymorphisms with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(5): 474-9.
68. Hooshmand B, Hajilooi M, Rafiei A, Mani-Kashani KH, Ghasemi R. Interleukin-4 (C-590T) and interferon-gamma (G5644A) gene polymorphisms in patients with periodontitis. *J Periodontal Res*. 2008; 43(1): 111-5.
69. Anovazzi G, Kim YJ, Viana AC, Curtis KM, Orrico SR, Cirelli JA, et al. Polymorphisms and haplotypes in the interleukin-4 gene are associated with chronic periodontitis in a Brazilian population. *J Periodontol*. 2010; 81(3): 392-402.
70. Jia XW, Yuan YD, Yao ZX, Wu CJ, Chen X, Chen XH, et al. Association between IL-4 and IL-4R polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. *Dis Markers*. 2017; 2017: 8021279.
71. Anovazzi G, Medeiros MC, Pigossi SC, Finoti LS, Mayer MP, Rossa CJ, et al. Functional haplotypes in interleukin 4 gene associated with periodontitis. *PLoS One*. 2017; 12(1): e0169870.
72. Alsaid A, El-Missiry M, Hatata el S, Tarabay M, Settin A. Association of IL-4-590 C>T and IL-13-1112 C>T gene polymorphisms with the susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Dis Markers*. 2013; 35(4): 243-7.
73. Završnik M, Letonja J, Makuc J, Seruga M, Cilensek I, Petrovic D. Interleukin-4 (IL4) -590C/T (rs2243250) gene polymorphism is not associated with diabetic nephropathy (DN) in Caucasians with type 2 diabetes mellitus (T2DM). *Bosn J Basic Med Sci*. 2018; 18(4): 347-51.
74. Babel N, Cherepnev G, Babel D, Tropmann A, Hammer M, Volk HD, et al. Analysis of tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, IL-6, and interferon-gamma gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2006; 77(12): 1978-83.

75. Moreira PR, Lima PM, Sathler KO, Imanishi SA, Costa JE, Gomes RS, et al. Interleukin-6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *Clin Exp Immunol.* 2007; 148(1): 119-26.
76. Costa AM, Guimaraes MC, de Souza ER, Nobrega OT, Bezerra AC. Interleukin-6 (G-174C) and tumour necrosis factor-alpha (G-308A) gene polymorphisms in geriatric patients with chronic periodontitis. *Gerodontology.* 2010; 27(1): 70-5.
77. Nibali L, Ready DR, Parkar M, Brett PM, Wilson M, Tonetti MS, et al. Gene polymorphisms and the prevalence of key periodontal pathogens. *J Dent Res.* 2007; 86(5): 416-20.
78. Nibali L, Griffiths GS, Donos N, Parkar M, D'Aiuto F, Tonetti MS, et al. Association between interleukin-6 promoter haplotypes and aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(3): 193-8.
79. Nibali L, D'Aiuto F, Donos N, Griffiths GS, Parkar M, Tonetti MS, et al. Association between periodontitis and common variants in the promoter of the interleukin-6 gene. *Cytokine.* 2009; 45(1): 50-4.
80. Zhao B, Li R. The association between periodontitis and interleukin-6 genetic polymorphism -174 G/C: A meta-analysis. *Arch Oral Biol.* 2018; 96: 13-20.
81. Zhu J, Guo B, Fu M, Guo W, Yuan Y, Yuan H, et al. Interleukin-6-174G/C Polymorphism contributes to periodontitis susceptibility: an updated meta-analysis of 21 case-control studies. *Dis Markers.* 2016; 2016: 9612421.
82. Saxena M, Agrawal CG, Srivastava N, Banerjee M. Interleukin-6 (IL-6)-597 A/G (rs1800797) & -174 G/C (rs1800795) gene polymorphisms in type 2 diabetes. *Indian J Med Res.* 2014; 140(1): 60-8.
83. Plataki MN, Zervou MI, Samonis G, Daraki V, Goulielmos GN, Kofteridis DP. Association of the interleukin-6 rs1800795 polymorphism with Type 2 diabetes mellitus in the population of the island of crete, Greece. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2018; 22(7): 448-52.
84. Gholami M, Sharifi F, Shahriari S, Khoshnevisan K, Larijani B, Amoli MM. Association of interleukin-6 polymorphisms with obesity: a systematic review and meta-analysis. *Cytokine.* 2019; 123: 154769.
85. Marangon AV, Colli CM, Cardozo DM, Visentainer JEL, Sell AM, Guimaraes F, et al. Impact of SNPs/Haplotypes of IL10 and IFNG on the development of diffuse large B-Cell lymphoma. *J Immunol Res.* 2019; 2019: 2137538.
86. Banescu C, Tripon F, Trifa AP, Crauciuc AG, Moldovan VG, Boglis A, et al. Cytokine rs361525, rs1800750, rs1800629, rs1800896, rs1800872, rs1800795, rs1800470, and rs2430561 SNPs in relation with prognostic factors in acute myeloid leukemia. *Cancer Med.* 2019; 8(12): 5492-506.
87. Freitag-Wolf S, Dommisch H, Graetz C, Jockel-Schneider Y, Harks I, Staufenbiel I, et al. Genome-wide exploration identifies sex-specific genetic effects of alleles upstream NPY to increase the risk of severe periodontitis in men. *J Clin Periodontol.* 2014; 41(12): 1115-21.
88. Rinn JL, Snyder M. Sexual dimorphism in mammalian gene expression. *Trends Genet.* 2005; 21(5): 298-305.

89. Meisel P, Krause T, Cascorbi I, Schroeder W, Herrmann F, John U, et al. Gender and smoking-related risk reduction of periodontal disease with variant myeloperoxidase alleles. *Genes Immun.* 2002; 3(2): 102-6.
90. Lee DJ, Wu L, Shimono M, Piao Z, Green DW, Lee JM, et al. Differential mechanism of periodontitis progression in postmenopause. *Front Physiol.* 2018; 9: 1098.
91. Steffens JP, Wang X, Starr JR, Spolidorio LC, Van Dyke TE, Kantarci A. Associations between sex hormone levels and periodontitis in men: results from NHANES III. *J Periodontol.* 2015; 86(10): 1116-25.
92. Uhlen MM, Stenhagen KR, Dizak PM, Holme B, Mulic A, Tveit AB, et al. Genetic variation may explain why females are less susceptible to dental erosion. *Eur J Oral Sci.* 2016; 124(5): 426-32.
93. Vieira AR, Bayram M, Seymen F, Sencak RC, Lippert F, Modesto A. In vitro acid-mediated initial dental enamel loss is associated with genetic variants previously linked to caries experience. *Front Physiol.* 2017; 8: 104.
94. Vieira AR, McHenry TG, Daack-Hirsch S, Murray JC, Marazita ML. Candidate gene/loci studies in cleft lip/palate and dental anomalies finds novel susceptibility genes for clefts. *Genet Med.* 2008; 10(9): 668-74.
95. Ye Z, Wang Z, Hou Y. Does Bonferroni correction "rescue" the deviation from Hardy-Weinberg equilibrium? *Forensic Sci Int Genet.* 2020; 46: 102254.
96. Zhan Y, Zhang R, Lv H, Song X, Xu X, Chai L, et al. Prioritization of candidate genes for periodontitis using multiple computational tools. *J Periodontol.* 2014; 85(8): 1059-69.
97. Rojo-Botello NR, Garcia-Hernandez AL, Moreno-Fierros L. Expression of toll-like receptors 2, 4 and 9 is increased in gingival tissue from patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2012; 47(1): 62-73.
98. Kajita K, Honda T, Amanuma R, Domon H, Okui T, Ito H, et al. Quantitative messenger RNA expression of Toll-like receptors and interferon-alpha1 in gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2007; 22(6): 398-402.
99. Holla LI, Vokurka J, Hrdlickova B, Augustin P, Fassmann A. Association of Toll-like receptor 9 haplotypes with chronic periodontitis in Czech population. *J Clin Periodontol.* 2010; 37(2): 152-9.
100. Ashok N, Warad S, Kalburgi NB, Bilichodmath S, Prabhakaran PS, Tarakji B. Toll-like receptor 9 gene polymorphism in chronic and aggressive periodontitis patients. *J Indian Soc Periodontol.* 2014; 18(6): 723-7.
101. Sahingur SE, Xia XJ, Gunsolley J, Schenkein HA, Genco RJ, De Nardin E. Single nucleotide polymorphisms of pattern recognition receptors and chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2011; 46(2): 184-92.
102. Liu F, Lu W, Qian Q, Qi W, Hu J, Feng B. Frequency of TLR 2, 4, and 9 gene polymorphisms in Chinese population and their susceptibility to type 2 diabetes and coronary artery disease. *J Biomed Biotechnol.* 2012; 2012: 373945.
103. Wifi MA, Assem M, Elsherif RH, El-Azab HA, Saif A. Toll-like receptors-2 and -9 (TLR2 and TLR9) gene polymorphism in patients with type 2 diabetes and diabetic foot. *Medicine (Baltimore).* 2017; 96(17): e6760.

104. Neighbors M, Xu X, Barrat FJ, Ruuls SR, Churakova T, Debets R, et al. A critical role for interleukin 18 in primary and memory effector responses to *Listeria monocytogenes* that extends beyond its effects on Interferon gamma production. *J Exp Med.* 2001; 194(3): 343-54.
105. Leung BP, Culshaw S, Gracie JA, Hunter D, Canetti CA, Campbell C, et al. A role for IL-18 in neutrophil activation. *J Immunol.* 2001; 167(5): 2879-86.
106. Tanaka K, Miyake Y, Hanioka T, Furukawa S, Miyatake N, Arakawa M. The IL18 promoter polymorphism, rs1946518, is associated with the risk of periodontitis in Japanese Women: the kyushu okinawa maternal and child health study. *Tohoku J Exp Med.* 2017; 243(3): 159-64.
107. Martelli FS, Mengoni A, Martelli M, Rosati C, Fanti E. IL-18 gene promoter polymorphisms are only moderately associated with periodontal disease in Italian population. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2012; 9(3): 153-6.
108. Li ZG, Li JJ, Sun CA, Jin Y, Wu WW. Interleukin-18 promoter polymorphisms and plasma levels are associated with increased risk of periodontitis: a meta-analysis. *Inflamm Res.* 2014; 63(1): 45-52.
109. Haghvirdizadeh P, Mohamed Z, Abdullah NA, Haghvirdizadeh P, Haerian MS, Haerian BS. KCNJ11: genetic polymorphisms and risk of diabetes mellitus. *J Diabetes Res.* 2015; 2015: 908152.
110. Timpson NJ, Lindgren CM, Weedon MN, Randall J, Ouwehand WH, Strachan DP, et al. Adiposity-related heterogeneity in patterns of type 2 diabetes susceptibility observed in genome-wide association data. *Diabetes.* 2009; 58(2): 505-10.
111. Suzuki K, Akiyama M, Ishigaki K, Kanai M, Hosoe J, Shojima N, et al. Identification of 28 new susceptibility loci for type 2 diabetes in the Japanese population. *Nat Genet.* 2019; 51(3): 379-86.
112. Zeggini E, Scott LJ, Saxena R, Voight BF, Marchini JL, Hu T, et al. Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes. *Nat Genet.* 2008; 40(5): 638-45.
113. Chavali S, Mahajan A, Tabassum R, Dwivedi OP, Chauhan G, Ghosh S, et al. Association of variants in genes involved in pancreatic beta-cell development and function with type 2 diabetes in North Indians. *J Hum Genet.* 2011; 56(10): 695-700.
114. Liu Z, Zhang YW, Feng QP, Li YF, Wu GD, Zuo J, et al. [Association analysis of 30 type 2 diabetes candidate genes in Chinese Han population]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao.* 2006; 28(2): 124-8.
115. Sakamoto Y, Inoue H, Keshavarz P, Miyawaki K, Yamaguchi Y, Moritani M, et al. SNPs in the KCNJ11-ABCC8 gene locus are associated with type 2 diabetes and blood pressure levels in the Japanese population. *J Hum Genet.* 2007; 52(10): 781-93.
116. Koo BK, Cho YM, Park BL, Cheong HS, Shin HD, Jang HC, et al. Polymorphisms of KCNJ11 (Kir6.2 gene) are associated with Type 2 diabetes and hypertension in the Korean population. *Diabet Med.* 2007; 24(2): 178-86.
117. Hotta K, Kitamoto A, Kitamoto T, Mizusawa S, Teranishi H, So R, et al. Association between type 2 diabetes genetic susceptibility loci and visceral and subcutaneous fat area as determined by computed tomography. *J Hum Genet.* 2012; 57(5): 305-10.

118. Odgerel Z, Lee HS, Erdenebileg N, Gandbold S, Luvsanjamba M, Sambuughin N, et al. Genetic variants in potassium channels are associated with type 2 diabetes in a Mongolian population. *J Diabetes*. 2012; 4(3): 238-42.
119. Heni M, Ketterer C, Thamer C, Herzberg-Schafer SA, Guthoff M, Stefan N, et al. Glycemia determines the effect of type 2 diabetes risk genes on insulin secretion. *Diabetes*. 2010; 59(12): 3247-52.
120. Abdelhamid I, Lasram K, Meiloud G, Ben Halim N, Kefi R, Samb A, et al. E23K variant in KCNJ11 gene is associated with susceptibility to type 2 diabetes in the Mauritanian population. *Prim Care Diabetes*. 2014; 8(2): 171-5.
121. Hu C, Zhang R, Wang C, Wang J, Ma X, Lu J, et al. PPARG, KCNJ11, CDKAL1, CDKN2A-CDKN2B, IDE-KIF11-HHEX, IGF2BP2 and SLC30A8 are associated with type 2 diabetes in a Chinese population. *PLoS One*. 2009; 4(10): e7643.
122. Sesti G, Federici M, Hribal ML, Lauro D, Sbraccia P, Lauro R. Defects of the insulin receptor substrate (IRS) system in human metabolic disorders. *FASEB J*. 2001; 15(12): 2099-111.
123. Rung J, Cauchi S, Albrechtsen A, Shen L, Rocheleau G, Cavalcanti-Proenca C, et al. Genetic variant near IRS1 is associated with type 2 diabetes, insulin resistance and hyperinsulinemia. *Nat Genet*. 2009; 41(10): 1110-5.
124. Haghani K, Bakhtiyari S. The study on the relationship between IRS-1 Gly972Arg and IRS-2 Gly1057Asp polymorphisms and type 2 diabetes in the Kurdish ethnic group in West Iran. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012; 16(11): 1270-6.
125. Li Q, Qiao Y, Wang C, Zhang G, Zhang X, Xu L. Associations between two single-nucleotide polymorphisms (rs1801278 and rs2943641) of insulin receptor substrate 1 gene and type 2 diabetes susceptibility: a meta-analysis. *Endocrine*. 2016; 51(1): 52-62.
126. Salonen JT, Uimari P, Aalto JM, Pirskanen M, Kaikkonen J, Todorova B, et al. Type 2 diabetes whole-genome association study in four populations: the DiaGen consortium. *Am J Hum Genet*. 2007; 81(2): 338-45.
127. Diabetes Genetics Initiative of Broad Institute of H, Mit LU, Novartis Institutes of BioMedical R, Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science*. 2007; 316(5829): 1331-6.
128. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*. 2007; 445(7130): 881-5.
129. Voight BF, Scott LJ, Steinthorsdottir V, Morris AP, Dina C, Welch RP, et al. Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. *Nat Genet*. 2010; 42(7): 579-89.
130. Tuerxunyiming M, Mohemaiti P, Wufuer H, Tuheti A. Association of rs7754840 G/C polymorphisms in CDKAL1 with type 2 diabetes: a meta-analysis of 70141 subjects. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8(10): 17392-405.
131. Noury AE, Azmy O, Alsharnoubi J, Salama S, Okasha A, Gouda W. Variants of CDKAL1 rs7754840 (G/C) and CDKN2A/2B rs10811661 (C/T) with gestational diabetes: insignificant association. *BMC Res Notes*. 2018; 11(1): 181.

132. Guo F, Long W, Zhou W, Zhang B, Liu J, Yu B. FTO, GCKR, CDKAL1 and CDKN2A/B gene polymorphisms and the risk of gestational diabetes mellitus: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet.* 2018; 298(4): 705-15.
133. Liang Z, Wang L, Liu H, Chen Y, Zhou T, Heianza Y, et al. Genetic susceptibility, lifestyle intervention and glycemic changes among women with prior gestational diabetes. *Clin Nutr.* 2019; 39(7): 2144-2150.
134. Huang J, Ellinghaus D, Franke A, Howie B, Li Y. 1000 Genomes-based imputation identifies novel and refined associations for the Wellcome Trust Case Control Consortium phase 1 Data. *Eur J Hum Genet.* 2012; 20(7): 801-5.
135. Sanghera DK, Blakett PR. type 2 diabetes genetics: beyond GWAS. *J Diabetes Metab.* 2012; 3(198): 6948
136. Schaefer AS, Richter GM, Dommisch H, Reinartz M, Nothnagel M, Noack B, et al. CDKN2BAS is associated with periodontitis in different European populations and is activated by bacterial infection. *J Med Genet.* 2011; 48(1): 38-47.
137. Huang KW, Reebye V, Czysz K, Ciriello S, Dorman S, Reccia I, et al. Liver activation of hepatocellular nuclear factor-4alpha by small activating RNA rescues dyslipidemia and improves metabolic profile. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2019; 19: 361-70.
138. Jang W, Park J, Kwon A, Choi H, Kim J, Lee GD, et al. CDKN2B downregulation and other genetic characteristics in T-acute lymphoblastic leukemia. *Exp Mol Med.* 2019; 51(1): 4.
139. Triggs-Raine BL, Kirkpatrick RD, Kelly SL, Norquay LD, Cattini PA, Yamagata K, et al. HNF-1alpha G319S, a transactivation-deficient mutant, is associated with altered dynamics of diabetes onset in an Oji-Cree community. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002; 99(7): 4614-9.
140. Ostoft SH, Bagger JI, Hansen T, Pedersen O, Faber J, Holst JJ, et al. Glucose-lowering effects and low risk of hypoglycemia in patients with maturity-onset diabetes of the young when treated with a GLP-1 receptor agonist: a double-blind, randomized, crossover trial. *Diabetes Care.* 2014; 37(7): 1797-805.
141. Andersen G, Hansen T, Pedersen O. Genetics of common forms of glycaemia with pathological impact on vascular biology: are we on the right track? *Curr Mol Med.* 2005; 5(3): 261-74.
142. Saxena R, Elbers CC, Guo Y, Peter I, Gaunt TR, Mega JL, et al. Large-scale gene-centric meta-analysis across 39 studies identifies type 2 diabetes loci. *Am J Hum Genet.* 2012; 90(3): 410-25.
143. Jonsson A, Ladenvall C, Ahluwalia TS, Kravic J, Krus U, Taneera J, et al. Effects of common genetic variants associated with type 2 diabetes and glycemic traits on alpha- and beta-cell function and insulin action in humans. *Diabetes.* 2013; 62(8): 2978-83.
144. Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100(1): 177-82.
145. Alves-Silva J, da Silva Santos M, Guimaraes PE, Ferreira AC, Bandelt HJ, Pena SD, et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet.* 2000; 67(2): 444-61.
146. Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol.* 2007; 78(7 Suppl): 1387-99.

147. American Diabetes A. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2019. *Diabetes Care*. 2019; 42(Suppl 1): S13-S28.
148. American Diabetes A. 6. Glycemic targets: standards of medical care in diabetes-2019. *Diabetes Care*. 2019; 42(Suppl 1): S61-S70.
149. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods*. 2007; 39(2): 175-91.
150. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975; 25(4): 229-35.
151. Muhlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta*. 1971; 15(2): 107-13.
152. Teumer A, Holtfreter B, Volker U, Petersmann A, Nauck M, Biffar R, et al. Genome-wide association study of chronic periodontitis in a general German population. *J Clin Periodontol*. 2013; 40(11): 977-85.
153. Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, Kolovou G, Baum H, Bruckert E, et al. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points—a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem*. 2016; 37(25): 1944-58.
154. Aidar M, Line SR. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J*. 2007; 18(2): 148-52.
155. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. 2005; 21(2): 263-5.
156. Mao M, Zeng XT, Ma T, He W, Zhang C, Zhou J. Interleukin-1alpha -899 (+4845) C->T polymorphism increases the risk of chronic periodontitis: evidence from a meta-analysis of 23 case-control studies. *Gene*. 2013; 532(1): 114-9.
157. Nikolopoulos GK, Dimou NL, Hamodrakas SJ, Bagos PG. Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. *J Clin Periodontol*. 2008; 35(9): 754-67.
158. Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res*. 1993; 28(6 Pt 2): 500-10.
159. Javed F, Al-Hezaimi K, Salameh Z, Almas K, Romanos GE. Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Cytokine*. 2011; 53(1): 8-12.
160. Song GG, Choi SJ, Ji JD, Lee YH. Association between tumor necrosis factor-alpha promoter -308 A/G, -238 A/G, interleukin-6 -174 G/C and -572 G/C polymorphisms and periodontal disease: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2013; 40(8): 5191-203.
161. Fonseca JE, Santos MJ, Canhao H, Choy E. Interleukin-6 as a key player in systemic inflammation and joint destruction. *Autoimmun Rev*. 2009; 8(7): 538-42.
162. de Waal Malefyt R, Yssel H, Roncarolo MG, Spits H, de Vries JE. Interleukin-10. *Curr Opin Immunol*. 1992; 4(3): 314-20.

163. Albuquerque CM, Cortinhas AJ, Morinha FJ, Leitao JC, Viegas CA, Bastos EM. Association of the IL-10 polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2012; 39(10): 9319-29.
164. Zhong Q, Ding C, Wang M, Sun Y, Xu Y. Interleukin-10 gene polymorphisms and chronic/aggressive periodontitis susceptibility: a meta-analysis based on 14 case-control studies. *Cytokine.* 2012; 60(1): 47-54.
165. Silva I, Branco JC. Rank/Rankl/opg: literature review. *Acta Reumatol Port.* 2011; 36(3): 209-18.
166. Vaithilingam RD, Safii SH, Baharuddin NA, Ng CC, Cheong SC, Bartold PM, et al. Moving into a new era of periodontal genetic studies: relevance of large case-control samples using severe phenotypes for genome-wide association studies. *J Periodontal Res.* 2014; 49(6):683-95.
167. Rhodin K, Divaris K, North KE, Barros SP, Moss K, Beck JD, et al. Chronic periodontitis genome-wide association studies: gene-centric and gene set enrichment analyses. *J Dent Res.* 2014; 93(9): 882-90.
168. Zhan Y, Zhang R, Lv H, Song X, Xu X, Chai L, et al. Prioritization of candidate genes for periodontitis using multiple computational tools. *J Periodontol.* 2014; 85(8):1059-69.
169. Okamura H, Tsutsui H, Kashiwamura S, Yoshimoto T, Nakanishi K. Interleukin-18: a novel cytokine that augments both innate and acquired immunity. *Adv Immunol.* 1998; 70: 281-312.
170. Ozcaka O, Nalbantsoy A, Buduneli N. Interleukin-17 and interleukin-18 levels in saliva and plasma of patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2011; 46(5): 592-8.
171. Pomeroy R, Duncan G, Sunar-Reeder B, Ortenberg E, Ketchum M, Wasiluk H, et al. A low-cost, high-throughput, automated single nucleotide polymorphism assay for forensic human DNA applications. *Anal Biochem.* 2009; 395(1): 61-7.