

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
dissertação será disponibilizado
somente a partir de 27/03/2022



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



Ingra Gagno Nicchio

**Investigação da associação de polimorfismos em genes do metabolismo
lipídico com o estado periodontal e perfil bioquímico do paciente**

Araraquara
2020



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



Ingra Gagno Nicchio

Investigação da associação de polimorfismos em genes do metabolismo lipídico com o estado periodontal e perfil bioquímico do paciente

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araraquara, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na Área de Periodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Mantuaneli Scarel Caminaga

Coorientadora: Profa. Dra. Silvana Regina Perez Orrico

Araraquara

2020

Nicchio, Ingra Gagno

Investigação da associação de polimorfismos em genes do metabolismo lipídico com o estado periodontal e perfil bioquímico do paciente / Ingra Gagno Nicchio.-- Araraquara: [s.n.], 2020

68 f.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Mantuaneli Scarel Caminaga

Coorientadora: Profa. Dra. Silvana Regina Perez Orrico

1. Polimorfismo genético 2. Diabetes mellitus
3. Periodontite 4. Metabolismo dos lipídeos I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley C. Chiusoli Montagnoli, CRB/5646
Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

Ingra Gagno Nicchio

Investigação da associação de polimorfismos em genes do metabolismo lipídico com o estado periodontal e perfil bioquímico do paciente

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Odontologia

Presidente e Orientadora: Profa. Dra. Raquel Mantuaneli Scarel Caminaga

2º Examinador Prof. Dr. Fausto Frizzera Borges Filho

3º Examinador Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli

Araraquara, 27 de março de 2020

DADOS CURRICULARES

Ingra Gagno Nicchio

NASCIMENTO: 01/03/1994 – Colatina – Espírito Santo

FILIAÇÃO: Maxwel Fernando Nicchio e Fernanda Gagno

2012 – 2016: Curso de Graduação
Faculdades Integradas Espírito Santenses (FAESA)

2016 – 2018- Curso de Especialização em Implantodontia
Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr) – Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita de Filho” (UNESP).

2018 – 2020 - Curso de Pós-Graduação em Odontologia
Área de concentração em Periodontia –Nível Mestrado - Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr) - Universidade Estadual Paulista (UNESP).

Dedico aos meus pais,

Maxwel Fernando e Fernanda

Pela força, amor incondicional e apoio. A minha mãe pelo cuidado e que quando chegava os momentos difíceis sabia o que falar para me dar esperança para seguir. Ao meu pai que sempre me deu segurança, me aconselhou sobre a importância de vencer cada obstáculo e que compra cada sonho meu como se fosse seu. Vocês são o meu maior exemplo, o que eu faço é reflexo de tudo que vocês me ensinaram. Sem vocês a realização dessa conquista não seria possível.

AMO VOCÊS.

Agradeço Especialmente,

À **Deus** por ter permitido que mais esse sonho se concretizasse, me dando saúde e força nessa jornada.

Aos **meus pais**, por sempre desejarem o melhor para mim, pela compreensão de muitas vezes não poder estar presente em momentos importantes e pelo apoio incondicional para que eu pudesse estar aqui. Sou eternamente grata a tudo que sou e por tudo que consegui conquistar.

À minha **família**, que é sinônimo de amor e união. Obrigada por sempre acreditarem nos meus sonhos e me apoiarem incondicionalmente. Principalmente, por estarem presentes e acalentarem os corações dos meus pais quando não posso estar. Sem vocês, eu não chegaria até aqui. Obrigada!

À **Prof Dra. Raquel Mantuaneli Scarel Caminaga**, minha orientadora, pela oportunidade de realizar este trabalho. Obrigada por sua dedicação e me atender com toda paciência todas as vezes que tive dúvidas. Agradeço, por todos os ensinamentos compartilhados que me guiaram nos primeiros passos da pós graduação. E principalmente, obrigada por ter acreditado em mim.

À **Profa. Dra. Silvana Regina Perez Orrico**, pelas contribuições dadas durante todo o processo de desenvolvimento desta pesquisa.

À **Thamiris Cirelli**, minha mentora e amiga, agradeço por sempre estar disponível, disposta e paciente para me ensinar. Seu apoio foi imprescindível para que esse trabalho se tornasse realidade. Obrigada por ter tornado minha experiência nesses dois anos mais leve e agradável.

Ao meu amigo **Diego Bussanelli**, pelo companheirismo diário no laboratório e na vida. Você tornou os dias de trabalho muito mais tranquilos e divertidos. Obrigada por me ensinar e ajudar em todos os momentos que precisei. Espero poder continuar fazendo parte desta jornada junto com você. Sou muito grata!

À minha querida amiga **Amanda Favoreto**, você foi o meu primeiro contato de Araraquara, compartilhamos tantos momentos bons na especialização que com certeza fizeram a diferença quando decidi morar aqui. Poder viver essa experiência ao seu lado me motivou e alegrou nos momentos mais difíceis. Obrigada pelos conselhos e por todo apoio emocional.

Ao meu amigo **Jhonatan Carvalho**, obrigada por ter entrado na minha vida. Minha jornada em Araraquara não teria sido a mesma se você não fizesse parte dela. Você é meu “pé

no chão” nos momentos de tensão. Você me ensina diariamente que devo levar a vida com mais paciência, leveza e menos preocupação. Com certeza suas palavras me acalmam e me tornam uma pessoa melhor. Obrigada pelo convívio e nossa experiência diária!

À **Mônica Tinajero**, obrigada por ser por muitas vezes a minha família aqui. Não tenho como agradecer tudo que você faz por mim. Obrigada pelos conselhos, pelas “broncas” que sempre vem nos melhores momentos e da melhor forma. E, principalmente, pelos almoços e saídas durante nossos eternos finais de semana em Araraquara. Você é uma amiga maravilhosa, sou grata a você!

Ao **Gabriel Garcia**, pessoa que sabe o verdadeiro sentido de amizade. Obrigada por tornar minha jornada, distante da minha família, mais tranquila e serena, por sempre estar ali quando eu preciso, por saber colocar as palavras certas nos momentos de desespero e aflição. Você conquistou um espaço no meu coração e espero poder levar sua amizade por toda a vida.

Aos meus amigos de laboratório de genética **Marco Hidalgo, Karen Poquechoque, e Profa. Dra. Ticiane Capote**. Com certeza vocês criaram muitos momentos bons e felizes aqui. Obrigada, pelo apoio e por verdadeiramente me fazer entender o conceito de trabalhar em conjunto.

Aos **amigos** que construí em Araraquara por todos os momentos felizes que vivi e por todo o apoio. Pessoas que espero levar para o resto da vida. Obrigada!

As minhas amigas, **Aline Teixeira e Mariana Bermudes**, pessoas que me motivam e que independente de qualquer distância sempre me oferecem um ombro amigo. Obrigada por me ouvirem e me receberem sempre de volta em Vitória como se não houvesse uma distância física. Sou eternamente grata a vocês por nossa amizade.

Agradeço,

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP)**, na pessoa de sua Diretora, Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato, pelas condições oferecidas para a realização desta 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, pela excelente formação, dedicação, competência e empenho em suas atividades

.

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

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP** (Processo nº 2016/03753-8), pelo apoio financeiro.

Ao **Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq** (Processo nº 445336/2014-5 e 304570/2017-6), pelo apoio financeiro.

Aos Docentes da Disciplina de Periodontia desta faculdade, **Prof Dr. Joni Augusto Cirelli, Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior, Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio, Prof. Dr. Carlos Rossa Junior e Profa. Dra. Daniela Leal Zandim**, que colaboraram com a minha formação.

A todos os **funcionários** da Disciplina de Periodontia, em especial A Isa, Su e Claudinha cujo trabalho e dedicação possibilitou a realização desse trabalho.

Aos **funcionários** da Biblioteca, pela atenção e excelente revisão bibliográfica.

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!

“A educação é a arma mais poderosa que você pode usar para mudar o mundo”

Nelson Mandela

IG Nicchio. Investigação da associação de polimorfismos em genes do metabolismo lipídico com o estado periodontal e perfil bioquímico do paciente [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

RESUMO

Globalmente continua-se a buscar evidências de suscetibilidade genética à periodontite (P), pois as variações genéticas entre as diferentes etnias costumam influenciar em tal suscetibilidade. Também há grande interesse em compreender melhor as inter-relações da periodontite com patologias como o Diabetes Mellitus tipo 2 (T2DM, *type 2 Diabetes Mellitus*) e a Dislipidemia. Devido a similaridades na etiopatogenia dessas doenças, levantamos a hipótese que genes do metabolismo lipídico estão associados com o desenvolvimento da P e do T2DM. O objetivo deste estudo foi investigar polimorfismos em genes do metabolismo lipídico relacionando-os com o estado periodontal e perfil glicêmico e lipídico do paciente para avaliar se estes estão associados com a P na presença ou não de T2DM. Considerando o cálculo amostral, foram investigados: pacientes com T2DM e periodontite severo ou moderada (Grupo T2DM_P, n=205 pacientes); pacientes sem T2DM com periodontite severo ou moderada (Grupo Periodontitis, n=345); e pacientes sem T2DM e sem periodontite, ou seja, sistemicamente e periodontalmente saudáveis (Grupo Healthy, n=343). Assim, o Grupo Periodontitis foi considerado controle para o T2DM e o Grupo Healthy foi considerado controle para a T2DM e P. Após o exame periodontal completo, aos participantes deste estudo foi oferecida a realização de exames bioquímicos (perfil glicêmico e lipídico), mesmo para os pacientes diagnosticados pelo seu médico como afetados pelo T2DM. Foram obtidas células da mucosa bucal de cada paciente para extração do DNA pelo método de *salting-out*. Foram investigados nove polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) nos genes *LPL*, *HNF4A*, *APOE*, *ABCC8*, *HNF1A* por meio do sistema de genotipagem *TaqMan* utilizando PCR em tempo real. Os dados periodontais e genéticos foram comparados entre os grupos, realizando análises de regressão logística múltipla buscando-se ajustar os resultados a variáveis como idade, sexo e tabagismo. Correlações do estado periodontal com o perfil glicêmico e lipídico foram feitas. Como principais resultados, foi observado que pacientes com genótipo CT para o SNP rs1800961 (gene *HNF4A*) tiveram maior suscetibilidade ao T2DM, principalmente mulheres. Evidenciou-se que indivíduos do sexo masculino carregando o genótipo CC do SNP rs13702 (gene *LPL*) apresentaram maior suscetibilidade a P na presença de T2DM, enquanto que aqueles carregando o SNP rs6544718-CT (gene *ABCC8*) mostraram menor chance de desenvolvimento de ambas as doenças. Também homens carregando o genótipo CT do SNP rs285 (gene *LPL*) foram menos suscetíveis ao desenvolvimento de P isoladamente. Conclui-se que na população estudada foram observados SNPs em importantes genes do metabolismo lipídico, como rs285 (gene *LPL*) que foi associado à P, o rs1800961 (gene *HNF4A*) que foi associado ao T2DM, enquanto que rs6544718 (gene *ABCC8*) e rs13702 (gene *LPL*) foram associados à P na presença de T2DM.

Palavras chave: Polimorfismo Genético. Diabetes Mellitus. Periodontite. Metabolismo dos lipídeos.

Nicchio IG. Investigation of the association of polymorphisms in genes of lipid metabolism with the periodontal condition and biochemical profile of the patient [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

ABSTRACT

Globally, we continue to seek detection of genetic susceptibility to periodontitis (P), as genetic changes between different ethnicities tend to influence susceptibility. Also, there is a strong interest from the scientific community to better understand interrelationships between periodontitis and conditions such as Diabetes Mellitus Type 2 (T2DM) and Dyslipidemia. Due to similarities in the etiopathogenesis of these diseases, we hypothesized that genes of lipid metabolism are associated with the development of P and T2DM. This study aimed to investigate polymorphisms in the lipid metabolism genes, relating them to the periodontal state and the patient's glycemic and lipid profile to assess whether these are associated with a presence or not of T2DM. For sample calculation, we investigated: patients with T2DM and severe or moderate periodontitis (T2DM_P Group, n = 205 patients); patients without T2DM with severe or moderate periodontitis (Periodontitis Group, n = 345); and patients without T2DM and without periodontitis, or periodontally healthy (Group Healthy, n = 343), which are systemically and periodontally healthy. Thus, the Periodontitis Group was considered control for T2DM and the Healthy Group was considered control for T2DM and P. After a complete periodontal exam of the contributors, they were offered biochemical exams (glycemic and lipid profiles) even for those patients that were diagnosed by their doctor as affected by T2DM. Oral mucosa cells were obtained from each patient for DNA extraction using the method of salting out. Single Nucleotide polymorphisms (SNP) of the *LPL*, *HNF4A*, *APOE*, *ABCC8*, *HNF1A* genes were investigated by Taqman genotyping using real-time PCR. Periodontal and genetic results were compared, and multiple logistic regression analysis was performed using the PLINK and STATA programs to adjust the results to variables such as age, gender, smoking and biochemical profile. Correlations among lipid and glycemic profile with the periodontal status were made. As a result, it was observed that patients with CT genotype for the SNP rs1800961 (gene *HNF4A*) showed a higher chance of T2DM, mainly in women. It became evident that for male patients who carried the CC genotype for SNP rs13702 (gene *LPL*) showed susceptibility for P+T2DM whereas those patients with rs6544718 (gene *ABCC8*) showed less chance to develop both diseases. Also, male patients carrying CT genotype in SNP rs285 (gene *LPL*) were less susceptible to develop P. Therefore, it was concluded that important SNPs related to lipid and glycemic metabolism, such as rs285 (*LPL*) was related to P, rs1800961 (*HNF4A*) was related to T2DM, and rs6544718 (*ABCC8*) and rs13702 (*LPL*) were associated to P in the presence of T2DM.

Keywords: Polymorphisms. Genetic. Diabetes Mellitus. Periodontitis. Lipid metabolism.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Periodontite	13
1.2 Diabetes Mellitus Tipo 2 (T2DM) e Dislipidemia.....	14
1.3 Inter-relação entre Periodontite, T2DM e Dislipidemia.....	15
1.4 Polimorfismos Genéticos.....	16
 2 PROPOSIÇÃO	 19
 3 PUBLICAÇÃO.....	 20
3.1 Artigo	20
 4 CONCLUSÃO	 53
 REFERÊNCIAS	 54
APÊNDICE A - Material e Métodos	59
ANEXO A - Certificado do Comitê de Ética	68

1 INTRODUÇÃO

Esta introdução foi dividida em seções abordando a Periodontite, Diabetes tipo 2, Dislipidemia, Inter-relação de todas estas doenças e Polimorfismos Genéticos.

1.1 Periodontite

A doença periodontal (DP) denominada neste trabalho como Periodontite (P) possui natureza multifatorial que envolve a interação da resposta imunoinflamatória do hospedeiro em conjunto a um eventual desequilíbrio bacteriano e influência de fatores ambientais. Em resposta a isso ocorre a migração apical do epitélio juncional, perda das fibras do ligamento periodontal e osso alveolar^{1,2}. Dessa forma, o fator etiológico primário da P é a infecção do periodonto por microrganismos do biofilme dental³.

As perdas dentárias em adultos estão altamente associadas à periodontite, perfazem aproximadamente 10% da população sendo que 30% dos indivíduos acima dos 50 anos manifestam periodontite severa citado por Brown, Oliver, & Loe, 1990; Gjermo, 1998. A DP é iniciada por uma gengivite, ou seja, inflamação gengival induzida por bactérias do biofilme dentário, que quando não tratada pode progredir para uma P. Somente a resposta ao biofilme bacteriano costuma não ser suficiente para a patogênese da P; ou seja, a P ocorre quando é perdido o equilíbrio entre biofilme bacteriano e resposta imunoinflamatória do hospedeiro, manifestando um dano tecidual ao periodonto por uma reação exagerada do sistema imunológico à presença microbiana⁴.

A função primordial da cascata inflamatória é proteger o organismo contra agentes estranhos; porém, quando a resposta imune não é suficiente para eliminar os microrganismos 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 dentário⁵.

Embora fatores microbianos e outros fatores ambientais iniciem e modulem a P, sabe-se que ocorre uma resposta diferente entre os indivíduos frente aos mesmos estímulos. Essa resposta diferencial é influenciada por diversos fatores relacionados ao hospedeiro, como o tabagismo, doenças sistêmicas e herança genética, que tem sido extensivamente estudados para compreender sua participação para o início e progressão da P^{6, 7}. Evidências apontam para a existência de uma base genética para a maioria das doenças, incluindo a P⁸. Estudos de genética clássica incluindo gêmeos monozigóticos e dizigóticos mostram a importância dos

efeitos e fatores genéticos em doenças comuns. Um dos principais estudos na área desenvolvido por Michalowicz e colaboradores⁹ que avaliaram a influência genética e ambiental da P usando dados clínicos de uma amostra independente de gêmeos adultos, incluindo variáveis como higiene oral, tabagismo e outros comportamentos que poderiam influenciar a ocorrência da P. Foi constatado que a P possui aproximadamente 50% de hereditariedade, já considerando o ajuste para variáveis comportamentais. Ainda são necessários mais estudos para compreender a influência genética na P para permitir um melhor entendimento da etiologia, diagnóstico e tratamento¹⁰ da doença. Pode explicar, em parte também, porque a P pode se manifestar de diferentes formas clínicas na população¹¹.

1.2 Diabetes Mellitus Tipo 2 (T2DM) e Dislipidemia

O Diabetes Mellitus (DM) 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 ambos¹². Como resultado direto da hiperglicemia e do desequilíbrio osmótico, uma tríade clínica clássica de sintomas é desenvolvida, e inclui polifagia, polidipsia e poliúria⁶. O DM possui causa multifatorial e pode ser agravada por diversos fatores, como: fatores genéticos, ambientais¹² e comportamentais¹³.

A prevalência do DM para todas as faixas etárias em 2000 foi de 2,8%. Essa doença acomete cada vez mais pacientes a cada ano, o que é justificado também pelo aumento de pessoas com 65 anos ou mais¹⁴. É previsto em 2030 que o número de pessoas com essa doença aumente de 171 milhões para 366 milhões.¹⁵

Aproximadamente 90% da população que possuem DM, tem o tipo 2 (T2DM)¹⁶. Fatores importantes para a severidade do T2DM são a falta de atividade física, obesidade, consumo excessivo de álcool e estresse, os quais são modificáveis pelo paciente.

Estima-se também que 2/3 dos pacientes que possuam T2DM mostrem alterações nas taxas em lipídios e lipoproteínas¹⁷. O T2DM pode ocorrer em conjunto com outras alterações sistêmicas, como a Dislipidemia, uma vez que existe uma relação direta entre os índices glicêmicos e alterações quantitativas e qualitativas de lipídeos no sangue¹⁸. Lipoproteínas são moléculas capazes de transportar esses lipídeos, visto que eles não se misturam facilmente com o plasma sanguíneo. O excesso de colesterol no sangue prejudica a captação das lipoproteínas levando a uma oxidação e formação de placas lipídicas, também conhecida como ateroma¹⁹. Essa desordem quando não tratada pode levar a obstrução de vasos sanguíneos e consequentemente à chance de ataques cardíacos, infartos, acidente vascular

cerebral, aterosclerose e outras.¹⁹⁻²¹ Como algumas das principais características clínicas da Dislipidemia estão a elevada taxa de triglicérides em jejum, redução de lipoproteína de alta densidade (HDL) e elevada taxa de lipoproteínas de baixa densidade (LDL)¹⁸.

Assim como o T2DM, a Dislipidemia pode ter causa genética e/ou ambiental. Entre as causas genéticas estão: hiperlipidemia combinada, defeito na Apolipoproteína B100, hipercolesterolemia familiar, entre outras. Dentre as causas ambientais pode-se incluir: dietas pouco saudáveis, falta de prática de atividades físicas, estresse, entre outros²². A Dislipidemia representa uma séria ameaça à saúde global; portanto o seu controle promove diretamente a diminuição na taxa de mortalidade e morbidade das doenças cardiovasculares²³.

1.3 Inter-relação entre Periodontite, T2DM e Dislipidemia

As doenças inflamatórias, como a P tem sido associada a distúrbios do metabolismo lipídico e glicêmico. Pacientes com DM tem maior chance de desenvolver a P e aumentar sua severidade quando estes não controlam os níveis de hemoglobina glicada (HbA1c)²⁴. Atualmente a P, assim como o T2DM, tem sido consideradas doenças complexas ou multifatoriais, em que fatores genéticos e ambientais exercem papel essencial na sua patogênese⁹. Uma característica importante das doenças complexas, como a T2DM e a P, 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.

A periodontite pode ser reconhecida como a sexta maior complicação associada ao DM²⁵, sendo que foi detectada maior prevalência e severidade da doença periodontal em pessoas diabéticas do que naqueles não portadores da doença²⁶⁻²⁸. A inter-relação bidirecional entre P e T2DM tem sido estudada há vários anos, sendo que a premissa para esta é a resposta inflamatória exacerbada e desregulada^{29,30}. Acredita-se que a relação bidirecional entre a P e o T2DM resulta de: 1) uma relação causal direta, na qual o estado hiperglicêmico e as complicações do T2DM impactam os tecidos periodontais e agem como modificadores da expressão da P; 2) a presença de citocinas inflamatórias da P possam levar a alterações no metabolismo da glicose e de lipídios^{29,31,32,33}. Isso é demonstrado pela bacteremia e endotoxemia associadas à P que elevam os níveis séricos de citocinas, como TNF- α , PGE2, IL-1 e IL-6, fomentando a DM. O tecido conjuntivo periodontal inflamado pode atuar como reservatório para esses mediadores, o que acarretaria em alterações no metabolismo da glicose e dos lipídios, induzindo à resistência insulínica³⁴.

A inter-relação entre P e Dislipidemia tem sido alvo de intensas pesquisas nos últimos

anos. O tratamento periodontal pode reduzir a inflamação sistêmica e melhorar o perfil lipídico. Uma meta-análise demonstrou que pacientes com P apresentaram níveis significativamente mais altos de LDL e Triglicérides, e níveis séricos reduzidos de HDL ³⁵.

A Dislipidemia e T2DM são causas importantes para a morbidade e mortalidade em pacientes com doenças cardiovasculares³⁶, que causaram mais de 18 milhões de mortes em todo o mundo, sendo que 44% dessas ocorreram em pessoas com menos de 60 anos de idade, e 80% em países de baixa renda²⁵. A dislipidemia contribui para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, tendo em vista que o ateroma é formado pela acúmulo focal de lipídeos, através do processo de peroxidação, modificando as paredes dos vasos ^{27,28}. A P permite a entrada de bactérias na corrente sanguínea ativando a resposta imune do hospedeiro por múltiplos mecanismos. Essa resposta favorece a formação, maturação e exacerbação de ateroma

1.4 Polimorfismos Genéticos

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 população³⁷. 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 Polymorphism - SNP*), que consiste em uma variação da identidade de um nucleotídeo singular num sítio particular do genoma ³⁷.

O primeiro estudo demonstrando a associação entre P e um polimorfismo genético, no caso no gene *IL1*, foi de Kornman e colaboradores³⁸ em 1997. A partir de então, centenas de estudos vêm sendo realizados com o objetivo de verificar se há associação de polimorfismos em diversos genes candidatos com a P, principalmente genes do sistema imunoinflamatório ^{5, 39-42}. Na última década vem sendo realizados estudos englobando todo o genoma, o Genome-Wide Association Study (GWAS), que mostrou da P associação com genes com funções metabólicas pouco exploradas. Considera-se esse tipo de estudo como uma estratégia livre de hipóteses⁴³.

Esses estudos de GWAS indicaram que muitos outros genes, além dos envolvidos na resposta imunoinflamatória, podem ter papel relevante para a ocorrência da P. Considerando evidências como a meta-análise que demonstrou associação da P com níveis alterados do

perfil lipídico ³⁵, observamos que há importantes genes do metabolismo lipídico que foram pouco ou nunca explorados com relação à P, como: *APOE* (OMIM: 107741 - *Apolipoprotein E*), *LPL* (OMIM: 609708 - *Lipoprotein Lipase*), *ABCC8* (OMIM: 600509 - *ATP- Binding Casset, Subfamily C, Member 8*), *HNF4A* (OMIM: 600281 - *Hepatocyte Nuclear Factor 4-Alpha*) e *HNF1A* (OMIM: 14210 - *Hepatocyte Nuclear Factor 1-Alpha*).

A *Apolipoprotein E* (*APOE*) pertence a uma classe de apolipoproteínas encontradas em quilomicron e em lipoproteínas de densidade intermediária (LDLs), sendo essencial para o catabolismo normal de lipoproteínas ricas em triglicerídeos ("Entrez Gene: *APOE* apolipoprotein E"). *APOE* é produzida principalmente pelo fígado e macrófagos, mediando o metabolismo de lipoproteínas, que envolve sua ligação ao receptor do LDL (*LDLR*), tendo também importância reconhecida na doença cardiovascular ⁴⁴. O gene *APOE* localiza-se no braço longo do cromossomo 19, sendo que mutações resultam em disbetalipoproteinemia familiar ou hiperlipoproteinemia tipo III (HLP III), em que o aumento do colesterol plasmático e triglicerídeos são a consequência do metabolismo prejudicado de quilomícrons, VLDL e LDL ⁴⁵.

O gene *LPL* atua como um ligante de *LDLR* para a endocitose de VLDL e LDL. O gene *LPL* localiza-se no cromossomo 8, sendo que mutações mais graves nesse gene causam hiperlipoproteinemia tipo I, enquanto mutações menos extremas em *LPL* estão ligadas a muitas doenças do metabolismo de lipoproteínas ⁴⁶.

A proteína *ABCC8* (OMIM: 600509 - *ATP Binding Cassette Subfamily C Member 8*) atua como um modulador de ATP-sensível a canais de potássio liberando insulina, interagindo com *PPARG* (*Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma*) e *HNF4A* (*Hepatocyte Nuclear Factor 4 Alpha*) ⁴⁷. Mutações e deficiências nesta proteína têm sido observadas em pacientes com hipoglicemia hiperinsulinêmica da infância, uma doença autossômica recessiva relacionada à secreção desregulada de insulina. Polimorfismos no gene *ABCC8* têm sido associados com a T2DM em vários estudos ⁴⁸⁻⁵¹.

O gene *HNF4A* codifica um fator de transcrição que atua em células beta pancreáticas regulando a expressão do gene da insulina, bem como de genes que codificam proteínas envolvidas no transporte de glicose e metabolismo mitocondrial, todos os quais estão ligados a secreção de insulina ⁵². Barroso et al., ⁵³ (2003) identificou um haplótipo no gene *HNF4A* significativamente associado com o risco reduzido de T2DM. É plausível que variantes neste gene aumentem os níveis de expressão da proteína *HNF4A* levando ao aumento da capacidade de secreção de insulina e a proteção contra o desenvolvimento do T2DM ⁵³. Um SNP

rs1884614 na região promotora do gene *HNF4A* pode influenciar a secreção de insulina em indivíduos japoneses não-obesos com T2DM⁵⁴, bem como em Chineses⁵⁵ e Ingleses do Reino Unido⁵³. O gene *HNF4A* também controla a expressão de vários genes, como o *HNF1A* que tem como função codificar proteínas ligadas principalmente ao fígado. Polimorfismos nesse gene estão associados ao desenvolvimento de DM em idades jovens e a diminuição de expressão de Apolipoproteína M (ApoM), um importante componente do HDL⁵⁶. Steele et al. associou que pacientes que tinham DM associadas ao gene *HNF1A* poderiam ter maiores chances de problemas cardiovasculares⁵⁷.

Mediante a importância dos genes do metabolismo lipídico *LPL*, *HNF4A*, *HNF1A*, *APOE* e *ABCC8*, do fato de existem milhares de genes com funções metabólicas diferentes que podem ter influência ainda não conhecida com a P, e com o intuito de compreender melhor a inter-relação da P com doenças sistêmicas como a T2DM, nossa hipótese é que SNPs nesses genes possam estar associados com a suscetibilidade ou predisposição à P, seja esta como uma doença isolada, ou conjunta ao T2DM (T2DM_P).

Dessa forma, acreditamos que poderemos contribuir para o estudo da inter-relação de T2DM e P, e da possível relação destas com a Dislipidemia. Para isso é necessário incluir a avaliação rigorosa do controle glicêmico e lipídico à avaliação periodontal.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que polimorfismos relacionados a importantes genes do metabolismo lipídico e glicêmico como *HNF4A* (rs1800961), *LPL* (rs13702), *LPL* (rs285), *LPL* (rs3735964) e *ABCC8* (rs6544718), estão associados à periodontite na presença ou não ao DM2 após análise de regressão logística múltipla ajustada para idade, sexo e tabagismo. Correlações significativas foram encontradas mostrando associações entre perfil bioquímico e parâmetros periodontais. Quando feita a estratificação da amostra, em relação ao grau de doença periodontal, do controle metabólico e dislipidêmico foi visto resultados significativos, confirmando a associação entre SNPs e as doenças na população estudada.

REFERÊNCIAS*

1. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J Periodontol*. 2018; 89 Suppl 1: S9-S16.
2. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018; 89 Suppl 1: S159-S72.
3. Haffajee AD, Socransky SS, Patel MR, Song X. Microbial complexes in supragingival plaque. *Oral Microbiol Immunol*. 2008; 23(3): 196-205.
4. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3: 17038.
5. 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.
6. Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol*. 2006; 77(8): 1289-303.
7. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*. 1997; 14: 9-11.
8. Kinane DF, Peterson M, Stathopoulou PG. Environmental and other modifying factors of the periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2006; 40: 107-19.
9. 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.
10. Kinane DF, Shiba H, Hart TC. The genetic basis of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2005; 39: 91-117.
11. 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 Periodontol*. 2004; 75(7): 1033-41.
12. Tamayo T, Rosenbauer J, Wild SH, Spijkerman AM, Baan C, Forouhi NG, et al. Diabetes in Europe: an update. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014; 103(2): 206-17.
13. 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.

* 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. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 2004; 27(5): 1047-53.
15. 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.
16. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol*. 2018; 14(2): 88-98.
17. Arca M, Pigna G, Favoccia C. Mechanisms of diabetic dyslipidemia: relevance for atherogenesis. *Curr Vasc Pharmacol*. 2012; 10(6): 684-6.
18. Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2009; 5(3): 150-9.
19. Rana K, Reid J, Rosenwasser JN, Lewis T, Sheikh-Ali M, Choksi RR, et al. A spotlight on alirocumab in high cardiovascular risk patients with type 2 diabetes and mixed dyslipidemia: a review on the emerging data. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2019; 12: 1897-911.
20. Kopin L, Lowenstein C. Dyslipidemia. *Ann Intern Med*. 2017; 167(11): ITC81-ITC96.
21. Wu L, Parhofer KG. Diabetic dyslipidemia. *Metabolism*. 2014; 63(12): 1469-79.
22. Franssen R, Monajemi H, Stroes ES, Kastelein JJ. Obesity and dyslipidemia. *Med Clin North Am*. 2011; 95(5): 893-902.
23. Zhang FL, Xing YQ, Wu YH, Liu HY, Luo Y, Sun MS, et al. The prevalence, awareness, treatment, and control of dyslipidemia in northeast China: a population-based cross-sectional survey. *Lipids Health Dis*. 2017; 16(1): 61.
24. Kocher T, Konig J, Borgnakke WS, Pink C, Meisel P. Periodontal complications of hyperglycemia/diabetes mellitus: Epidemiologic complexity and clinical challenge. *Periodontol 2000*. 2018; 78(1): 59-97.
25. Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1993; 16(1): 329-34.
26. 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.
27. Mealey BL, Oates TW, American Academy of P. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *Journal of Periodontology*. 2006; 77(8): 1289-303.
28. Papapanou PN. Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol*. 1996; 1(1): 1-36.

29. Taylor HG, Yeates KO, Wade SL, Drotar D, Stancin T, Burant C. Bidirectional child-family influences on outcomes of traumatic brain injury in children. *Journal of the International Neuropsychological Society*. 2001; 7(6): 755-67.
30. 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.
31. 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 Diseases*. 2009; 15(8): 547-53.
32. 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.
33. 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
34. Verardi G, Lupatini A, Beltrame J, Trentin M, Oliveira Da Silva S, De Carli J. Doença periodontal e diabete melito tipo 2. *Revista Odonto*. 2009; 17: 93-9.
35. Nepomuceno R, Pigossi SC, Finoti LS, Orrico SRP, Cirelli JA, Barros SP, et al. Serum lipid levels in patients with periodontal disease: A meta-analysis and meta-regression. *J Clin Periodontol*. 2017; 44(12): 1192-207.
36. American Diabetes A. Standards of medical care in diabetes--2013. *Diabetes Care*. 2013; 36 Suppl 1: S11-66.
37. Trevilatto PC, Werneck RI. *Genética Odontológica*: Artes Médicas; 2013.
38. 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.
39. Grigoriadou ME, Koutayas SO, Madianos PN, Strub JR. Interleukin-1 as a genetic marker for periodontitis: Review of the literature. *Quintessence International*. 2010; 41(6): 517-25.
40. 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 and Cell Biology*. 2009; 28(4): 185-90.
41. Lopez NJ, Jara L, Valenzuela CY. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. *J Periodontol*. 2005; 76(2): 234-43.
42. 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.

43. Munz M, Richter GM, Loos BG, Jepsen S, Divaris K, Offenbacher S, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies of aggressive and chronic periodontitis identifies two novel risk loci. *Eur J Hum Genet*. 2019; 27(1): 102-13.
44. Curtiss LK, Boisvert WA. Apolipoprotein E and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2000; 11(3): 243-51.
45. GeneCards - The Human Gene data base - *APOE*. Gene Cards; 2019 [citado 2019 Setembro 20]; Disponível em (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=APOE&keywords=APOE>).
46. Gene Cards - The Human Gene data base *LPL*. Gene Cards; 2019 [citado 2019 Setembro 15]; Disponível em: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=LPL>.
47. Wang F, Han XY, Ren Q, Zhang XY, Han LC, Luo YY, et al. Effect of genetic variants in KCNJ11, ABCC8, PPARG and HNF4A loci on the susceptibility of type 2 diabetes in Chinese Han population. *Chin Med J (Engl)*. 2009; 122(20): 2477-82.
48. Inoue H, Ferrer J, Welling CM, Elbein SC, Hoffman M, Mayorga R, et al. Sequence variants in the sulfonylurea receptor (SUR) gene are associated with NIDDM in Caucasians. *Diabetes*. 1996; 45(6): 825-31.
49. Hansen T, Echwald SM, Hansen L, Moller AM, Almind K, Clausen JO, et al. Decreased tolbutamide-stimulated insulin secretion in healthy subjects with sequence variants in the high-affinity sulfonylurea receptor gene. *Diabetes*. 1998; 47(4): 598-605.
50. 't Hart LM, Stolk RP, Dekker JM, Nijpels G, Grobbee DE, Heine RJ, et al. Prevalence of variants in candidate genes for type 2 diabetes mellitus in the Netherlands: The Rotterdam study and the Hoorn study. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1999; 84(3): 1002-6.
51. Barroso I, Luan J, Wheeler E, Whittaker P, Wasson J, Zeggini E, et al. Population-specific risk of type 2 diabetes conferred by HNF4A P2 promoter variants: a lesson for replication studies. *Diabetes*. 2008; 57(11): 3161-5.
52. Fajans SS, Bell GI, Polonsky KS. Mechanisms of disease: Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *New England journal of medicine*. 2001; 345(13): 971-80.
53. Barroso I, Luan J, Middelberg RPS, Harding AH, Franks PW, Jakes RW, et al. Candidate gene association study in type 2 diabetes indicates a role for genes involved in beta-cell function as well as insulin action. *Plos Biology*. 2003; 1(1): 41-55.
54. Tokunaga A, Horikawa Y, Fukuda-Akita E, Okita K, Iwahashi H, Shimomura I, et al. A common P2 promoter polymorphism of the hepatocyte nuclear factor-4alpha gene is associated with insulin secretion in non-obese Japanese with type 2 diabetes. *Endocr J*. 2008; 55(6): 999-1004.

55. Li T, Wu X, Zhu X, Li J, Pan L, Li P, et al. Association analyses between the genetic polymorphisms of HNF4A and FOXO1 genes and Chinese Han patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem*. 2011; 353(1-2): 259-65.
56. Richter S, Shih DQ, Pearson ER, Wolfrum C, Fajans SS, Hattersley AT, et al. Regulation of apolipoprotein M gene expression by MODY3 gene hepatocyte nuclear factor-1alpha: haploinsufficiency is associated with reduced serum apolipoprotein M levels. *Diabetes*. 2003; 52(12): 2989-95.
57. Steele AM, Shields BM, Shepherd M, Ellard S, Hattersley AT, Pearson ER. Increased all-cause and cardiovascular mortality in monogenic diabetes as a result of mutations in the HNF1A gene. *Diabet Med*. 2010; 27(2): 157-61.
58. Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*. 2007; 78(7 Suppl): 1387-99.
59. American Diabetes A. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care*. 2019; 42(Suppl 1): S13-S28.
60. 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.
61. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975; 25(4): 229-35.
62. Muhlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta*. 1971; 15(2): 107-13.
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. 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.
65. 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. *Eur Heart J*. 2016; 37(25): 1944-58.
66. 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.
67. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. 2005; 21(2): 263-5.