

UFBA

Universidade Federal da Bahia
Instituto de Ciências da Saúde

PROCESSOS INTERATIVOS
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO • ICS • UFBA



SWANY SANTA LUZIA DE MOURA

INFLUÊNCIA DE VARIANTES GENÉTICAS
DOS GENES *SEPT7* e *FMN1* NA PERIODONTITE

Salvador

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS
INTERATIVOS DE ÓRGÃOS E SISTEMAS



SWANY SANTA LUZIA DE MOURA

**INFLUÊNCIA DE VARIANTES GENÉTICAS DOS GENES
SEPT7 e *FMN1* NA PERIODONTITE**

Salvador

2023

SWANY SANTA LUZIA DE MOURA

**INFLUÊNCIA DE VARIANTES GENÉTICAS NOS GENES
SEPT7 e *FMN1* NA PERIODONTITE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia, como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

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

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

Salvador

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Moura, Swany Santa Luzia de.

Influência de variantes genéticas dos gens *SEPT7* e *FMN1* na periodontite. / Swany Santa Luzia de Moura. Salvador, 2023.

59 f. : il.

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

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

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Salvador, 2023.

1. Variantes genéticas. 2. SEPT7. 3. FMN1. 4. Periodontite. I. Carletto, Tatiane de Oliveira Teixeira Muniz II. Figueiredo, Camila Alexandrina. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. IV. Título.

CDD: 617.632 21. ed.

SWANY SANTA LUZIA DE MOURA

INFLUÊNCIA DE VARIANTES GENÉTICAS NOS GENES *SEPT7* e *FMNI* NA
PERIODONTITE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Salvador, 11 de dezembro de 2023.

Banca examinadora

Profa. Dra. Tatiane de Oliveira Teixeira Muniz Carletto (Orientadora)

Doutorado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia – UFBA. Universidade Federal da Bahia (UFBA).

Prof. Dr. Ryan dos Santos Costa

Doutorado em Imunologia, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia – UFBA. Universidade Federal da Bahia (UFBA).

Profa. Dra. Ana Tereza Cerqueira de Lima

Doutorado em Imunologia, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia – UFBA.

Centro Universitário Estácio da Bahia. Salvador, Bahia.

Dedico aos meus avós paternos, Inha e Painho, que me ensinaram o verdadeiro significado do amor, respeito e companheirismo; e à Silvinha, que dedicou boa parte da sua vida para me mostrar que o conhecimento transforma e é a base de tudo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me proporcionar sabedoria, resiliência, saúde e força para chegar até aqui, assim como pelas oportunidades e pessoas incríveis presentes nessa trajetória.

Agradeço a Inha e Painho pela educação, amor, renúncias que fizeram inúmeras vezes durante os meus 29 anos para que eu pudesse galgar os melhores caminhos e ter a educação como o princípio fundamental para uma vida honesta. Sem eles nada disso seria possível. Sem o amor verdadeiro, atenção e cuidado eu não seria a pessoa que eu sou hoje.

Agradeço à Silvinha, que sempre me incentivou a estudar, com seus inúmeros deveres de casa, tabuada, conjugações verbais, resumos, “sabatinas” e redações que eu tinha que fazer toda semana. Tudo começou na alfabetização, e se manteve até meu ensino médio. Agradeço a ela por ter estimulado em mim, esse hábito de estudar desde cedo.

Agradeço à minha mãe por ter me ajudado em diversos momentos de ansiedade e desabafos e com demandas que sem a ajuda dela, atrasaria outros compromissos que não podiam ser adiados. Por compreender minha ausência em determinados momentos e por me amar mesmo “distante”.

Ao meu pai, com seu jeito brincalhão e alegre, que por vezes me tirava um sorriso mesmo diante de um dia cansativo, e por eu ser um orgulho em sua vida e ver isso em seus olhos.

Ao meu noivo, meu porto seguro, meu confidente e meu verdadeiro amor, que diante de inúmeros momentos difíceis, sempre esteve ao meu lado, me apoiando mesmo em silêncio por não saber como me ajudar, ou o que falar, mas sua presença, seu carinho sempre foi essencial durante todo esse caminho. Sem você nada disso seria possível também, pois você acompanhou toda minha trajetória e sabe de tudo, e assim será, para sempre!

Agradeço às minhas irmãs, por também ser minhas motivações, pois é por elas, por meus pais, avós e pelo meu futuro com meu noivo que eu sigo firme nessa caminhada (às vezes não tão firme, mas sigo).

Agradeço aos nossos pais de coração (meu e do meu noivo), Dai e Bigu que acreditam em mim e nos acolheram como filhos em sua família.

À minha sogra, minha quarta mãe (porque a terceira é Silvinha), uma mulher honesta, guerreira e de uma fé indescritível.

À Jéssica, que me apresentou os óleos essenciais, literalmente essenciais nessa última etapa do meu Mestrado, me acalmando, e me ajudando a enxergar as situações com outros olhos.

Agradeço à minha orientadora Tati pela oportunidade, confiança, motivação, paciência e cuidado desde a LAFO até aqui, e sei que nossa história não acaba. Levarei a senhora por onde quer que eu for, com seus ensinamentos e desejo ser para os meus futuros orientandos, uma pessoa tão incrível quanto a senhora.

À professora Iêda Crusoé pelos conselhos, orientações e por ser minha inspiração de mulher forte, dedicada, comprometida com a Universidade assim como o futuro dos seus alunos.

Ao professor Marcelo Castellucci por me ajudar em etapas específicas com tamanha prontidão e boa vontade.

Agradeço às mulheres incríveis que compõe nosso grupo de pesquisa, Márcia, sempre disposta a nos ajudar, Jamile, Louise e Francine! Obrigada por tudo!

À Jaiza minha dupla do Mestrado, de pesquisa, de projeto desde o início. Temos o mesmo sobrenome e realmente parece que somos da mesma família por termos muito em comum. Obrigada por me ajudar, por vivenciar esse desafio da genética comigo. Crescemos muito juntas, não tenho dúvidas disso!

Agradeço a Natália Nunes por meu ouvir, pela empatia, desabaços, cuidado e prontidão em me ajudar sempre que precisei!

Agradeço aos membros da banca pela disponibilidade e compromisso em avaliar nosso trabalho com muita cautela.

Ao professor Roberto Paulo pela dedicação, compromisso e seriedade com o PIOS;

Ao PIOS e aos funcionários Carlos, Célia e Tarcísio por todo apoio em solucionar inúmeras dúvidas, obrigada por serem proativos e responsáveis conosco.

À CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado;

“Tudo antes de ser fácil é difícil”, e eu agradeço a cada um de vocês por ter me ajudado a chegar até aqui. Sei que a próxima etapa não será fácil, mas cada aprendizado que vocês me proporcionaram, levarei dentro de mim, para que minha caminhada seja mais leve.

Obrigada a todos!

MOURA, Swany Santa Luzia de. **Influência de variantes genéticas dos genes *SEPT7* e *FMN1* na periodontite.** 2023. Orientadora: Tatiane de Oliveira Teixeira Muniz Carletto. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2023.

RESUMO

Introdução: A periodontite é uma doença de caráter inflamatório, causada pela interação entre o biofilme bacteriano disbiótico e a resposta imune do hospedeiro que afeta os tecidos de suporte do dente e pode levar à perda da unidade dental. Por ser uma doença complexa, multifatorial e de caráter poligênico, podem estar envolvidos aspectos genéticos, ambientais e sistêmicos. Variantes genéticas podem influenciar na resposta imunológica e em outros mecanismos, como os que podem ser regulados por variantes dos genes *SEPT7* e *FMN1*. Genes relacionados ao processo de divisão celular através da dinâmica dos microtúbulos e filamentos de actina. **Objetivo:** Investigar a associação de variantes genéticas nos genes *SEPT7* e *FMN1* com a periodontite. **Métodos:** Estudo transversal desenvolvido com 506 participantes do Programa para Controle de Asma na Bahia, classificados com presença (n=117) ou ausência (n=389) de periodontite. Realizou-se uma entrevista para obtenção de dados e um exame oral completo. Para o diagnóstico de periodontite, os indivíduos apresentavam pelo menos 4 dentes com ≥ 1 sítio com profundidade de sondagem ≥ 4 mm; nível de inserção clínica ≥ 3 mm e sangramento ao estímulo no mesmo local. A genotipagem foi realizada utilizando o kit Illumina Infinium Multi-Ethnic AMR/AFR-8. A análise de associação foi elaborada no software Plink 1.9 através da regressão logística multivariada ajustada para covariáveis idade, obesidade, respiração bucal, uso de fio dental, asma e ancestralidade. As plataformas NCBI, RegulomeDB, Haploview 4.2, rSNPBase e Gtex foram usadas para as análises *in silico*. **Resultados:** 5 SNV do gene *SEPT7* foram associados positivamente à periodontite e, dos 15 SNV do gene *FMN1*, 8 foram associados positivamente e 7 negativamente. Foram observados desfechos relacionados a idade e ao uso de fio dental, no qual possuir determinado SNV pode estar associado de forma positiva ou negativa ao desenvolvimento da periodontite. As citocinas IL-5 e a IL-13 foram associadas aos SNV do *SEPT7* (rs12532523 e rs6462629); e variantes do *FMN1* foram associadas às citocinas interferon-gama, IL-17A, IL-10 e IL-5. **Discussão:** Primeiro estudo de associação de variantes dos genes candidatos *SEPT7* e *FMN1* com a periodontite. Variantes genéticas desses genes foram associados à periodontite em um estudo de ampla varredura genômica (GWAS) em uma população brasileira, com limitações no que se refere a comparações com outros estudos por conta da escassez de relatos sobre esses genes e a doença em questão. A análise de interação gene-ambiente revelou que existe uma relação entre variantes genéticas estudadas e o desenvolvimento de periodontite baseado em covariáveis como idade e uso de fio dental. **Conclusão:** Variantes nos genes *SEPT7* e *FMN1* apresentaram associação com periodontite, reforçando a influência da genética no desenvolvimento da periodontite e a necessidade de novos estudos que corroborem com os dados encontrados.

Palavras-chave: Variante genética, periodontite, *SEPT7*, *FMN1*.

MOURA, Swany Santa Luzia de. **Influência de variantes genéticas dos genes *SEPT7* e *FMN1* na periodontite.** 2023. Orientadora: Tatiane de Oliveira Teixeira Muniz Carletto. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2023.

ABSTRACT

Introduction: Periodontitis is an inflammatory disease caused by the interaction between the dysbiotic bacterial biofilm and the host immune response that affects the tissues of dental support, which can lead to loss of dental unit. As it is a complex, multifactorial, and polygenic disease, genetic, environmental, and systemic aspects may be involved. Genetic variants can influence the immune response and other mechanisms, such as those that can be regulated by variants of the SEPT7 and FMN1 genes. These genes participate in the process of cell division, microtubule dynamics, and actin filaments. **Goal:** To investigate the association of genetic variants in the SEPT7 and FMN1 genes with periodontitis. **Methods:** A cross-sectional study developed with 506 participants in the Asthma Control Program in Bahia, classified as presence (n=117) or absence (n=389) of periodontitis. An interview was carried out to obtain data and a complete oral examination. For the diagnosis of periodontitis, individuals had at least 4 teeth with ≥ 1 site with probing depth ≥ 4 mm; clinical attachment level ≥ 3 mm, and bleeding on stimulus in the same location. Genotyping was performed by using the Illumina Infinium Multi-Ethnic AMR/AFR-8 kit. The association analysis was carried out by using the Plink 1.9 software using multivariate logistic regression adjusted for the covariates of age, obesity, mouth breathing, dental flossing, asthma, and ancestry. The NCBI, RegulomeDB, Haploview 4.2, rSNPBase, and Gtex platforms were analyzed in silico analyses. **Results:** 5 SNVs from the SEPT7 gene were positively associated with periodontitis, and of the 15 SNVs from the FMN1 gene, 8 were positively associated and 7 negatively. Outcomes related to age and flossing were observed, in which having a certain SNV may be positively or negatively associated with the development of periodontitis. The cytokines IL-5 and IL-13 were associated with SEPT7 SNVs (rs12532523 and rs6462629); and FMN1 variants were associated with the cytokines' interferon-gamma, IL-17A, IL-10, and IL-5. **Discussion:** First association study of variants of the SEPT7 and FMN1 candidate genes with periodontitis. Genetic variants of these genes were associated with periodontitis in a genome-wide scanning study (GWAS) in a Brazilian population, with limitations regarding comparisons with other studies due to the scarcity of reports on these genes and the disease in question. Gene-environment interaction analysis revealed that there is a relationship between studied genetic variants and the development of periodontitis based on covariates such as age and dental floss use. **Conclusion:** Variants in the SEPT7 and FMN1 genes were associated with periodontitis, reinforcing the influence of genetics on the development of periodontitis and the need for new studies with a larger sample size that corroborate the data found.

Keywords: Genetic variant, periodontitis, SEPT7, FMN1.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Anatomia dos tecidos periodontais. Fonte: Adaptado de Lindhe e Lang (44)..... 18
- Figura 2:** Representação de mecanismos inflamatórios envolvidos na fisiopatologia da destruição tecidual e perda óssea da periodontite. A interação entre bactérias e células do hospedeiro que ocasiona a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF-alfa, IL-23 e IL-17). Fonte: Traduzido e modificado de Abdulkareem et al (18).
..... 20
- Figura 3:** Associação entre espécies subgengivais (adaptado de Socransky), no qual a base da pirâmide apresenta os primeiros colonizadores, em seguida o complexo laranja, que estabelece a união entre os primeiros colonizadores com o complexo vermelho, predominante no biofilme nos estágios avançados da periodontite. Fonte: Traduzido de Abdulkareem et al (18)..... 21
- Figura 4:** Análise da rede de interação funcional de proteínas codificadas pelos genes candidatos *FMNI* e *SEPT7* à periodontite, usando STRING v10.0. A cor da linha indica o tipo de evidência de interação entre os genes- interações conhecidas: roxo- interações determinadas experimentalmente; preta- coexpressão e verde claro. 25
- Figura 5:** Análise do desequilíbrio de ligação (DL) realizada no programa Haploview usando o R^2 para os SNV associados no gene *SEPT7* (Figura 1A) e *FMNI* (Figura 1B, SNVs com significância no desequilíbrio de ligação; e 1C, panorama geral do desequilíbrio de ligação). A intensidade da cor e o valor no quadrado, considerado valores de r^2 em uma escala em que quadrados sólidos em preto ($r^2 \geq 0,8$) expressam correlação alta, em escala de cinza expressam correlação intermediária e em branco mostram correlação baixa, representando o grau de confiança no valor de R^2 e o quanto os SNV estão em desequilíbrio de ligação. 38
- Figura 6:** Influência de variantes dos genes *SEPT7* e *FMNI* com a produção de citocinas(pg/mL). Produção de citocina de acordo com os genótipos: IL-13 (A) rs6462629, IL-5 (B) rs12532523, IFN γ (C) rs61123978, IL-10 (D) rs61123978, IL-17A (E) rs74011985, IFN γ (F) rs345800, IL-5(G) rs79009592, IL-17A (H) rs1871362. 44
- Figura 7:** Análise *in silico* da expressão dos SNV de *SEPT7* no sangue total, em outros tecidos com fibroblastos e osteoblastos primários elaborado por meio do programa HaploReg 4.2. Fonte: Dados do estudo – Autoria. 45

Figura 8: Análise *in silico* da expressão dos SNV de *FMNI* no sangue total, em outros tecidos com fibroblastos e osteoblastos primários elaborado por meio do programa HaploReg 4.2.

Fonte: Dados do estudo – Aatoria. 46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização da população de estudo. Descrição dos participantes com e sem periodontite quanto à parâmetros demográficos, presença de morbididades e saúde bucal.	33
Tabela 2 : Associações estatisticamente significantes entre variantes do gene <i>SEPT7</i> e a periodontite.....	35
Tabela 3 : Associações estatisticamente significantes entre variantes do gene <i>FMNI</i> e a periodontite.....	35
Tabela 4 : Descrição genética e funcional das variantes dos genes <i>SEPT7</i> e <i>FMNI</i>	37
Tabela 5 : Análise de interação entre genótipos de variantes genéticas do gene <i>SEPT7</i> associados à periodontite e uso de fio dental.....	40
Tabela 6 : Análise de interação entre genótipos de variantes genéticas do gene <i>FMNI</i> associados à periodontite e idade.	41
Tabela 7 - Análise de interação entre um alelo de risco de cada um dos 2 genes juntos que formam os haplótipos associados à periodontite.	41
Tabela 8 : Influência de variantes no gene <i>SEPT7</i> e <i>FMNI</i> com a produção de citocinas.	42

LISTA DE ABREVIATURAS, NOTAÇÕES E SIGLAS

A1	Alelo 1
A2	Alelo 2
ADD	Aditivo
REC	Recessivo
DOM	Dominante
DL	Desequilíbrio de ligação
HWE	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
IC	Intervalo de confiança
IL	Interleucina-1
IL-17	Interleucina 17
IFN-gama	Interferon gama
LPS	Lipopolissacarídeo
MAF	Frequência de menor alelo
OR	<i>Odds ratio</i>
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único
SNV	Variante de nucleotídeo único
MMP	Metaloproteinases de matriz
RANK	Receptor-ativador do NF- κ B
RANK-L	Ligante do Receptor-ativador do NF- κ B
OPG	Osteoprotegerina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 FISIOPATOLOGIA DA PERIODONTITE.....	17
2.2 FATORES DE RISCO PARA A PERIODONTITE	21
2.3 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA PERIODONTITE	23
2.4 GENES <i>SEPT7</i> E <i>FMNI</i> E VARIANTES GENÉTICAS	24
2.4.1 Gene <i>SEPT7</i>	25
2.4.2 Gene <i>FMNI</i>	25
3 OBJETIVOS	26
3.1 OBJETIVO GERAL	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4 ARTIGO: ASSOCIAÇÃO DE VARIANTES GENÉTICAS EM <i>SEPT7</i> E <i>FMNI</i> À PERIODONTITE.....	27
1 INTRODUÇÃO.....	29
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
2.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO E APROVAÇÕES ÉTICAS	30
2.2 AVALIAÇÃO E DIAGNÓSTICO PERIODONTAL	30
2.3 EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO E GENOTIPAGEM.....	31
2.4 ANÁLISE FUNCIONAL <i>IN SILICO</i>	31
2.5 ANÁLISE DE CITOCINAS.....	32
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	32
3 RESULTADOS	33
3.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO	33
3.2 ASSOCIAÇÃO ENTRE VARIANTES DO <i>SEPT7</i> E <i>FMNI</i> E A PERIODONTITE	34
3.3 DESCRIÇÃO DE FREQUÊNCIA E IMPACTO FUNCIONAL DAS VARIANTES ESTUDADAS ASSOCIADAS À PERIODONTITE	37
3.4 ANÁLISE DO DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO	38
3.5 ANÁLISE DE INTERAÇÃO GENE-AMBIENTE.....	38
3.6 ANÁLISE DE INTERAÇÃO GENE-SCORE	41
3.7 INFLUÊNCIA DE VARIANTES NOS GENES <i>SEPT7</i> E <i>FMNI</i> NA PRODUÇÃO DE CITOCINAS.....	42
3.8 ANÁLISE <i>IN SILICO</i> DA EXPRESSÃO DOS SNV DE <i>SEPT7</i> E <i>FMNI</i>	45

4 DISCUSSÃO	47
5 CONCLUSÃO.....	50
REFERÊNCIAS.....	51
REFERÊNCIAS DO ARTIGO	54
ANEXO A- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	58

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os dentes representam órgãos fundamentais do sistema estomatognático, e são protegidos pelo periodonto de proteção (conhecido também por revestimento ou marginal) e inserção ou sustentação, formado pelo ligamento periodontal, osso alveolar e cemento (1). O ligamento periodontal, formado por um tecido conjuntivo e localizado entre o cemento e o osso alveolar, permite uma mobilidade fundamental para as funções, como conectar as fibras do ligamento periodontal ao cemento, fixando o dente no alvéolo a fim de reduzir as tensões geradas pelas forças oclusais (2, 3).

Os fibroblastos, restos epiteliais de Malassez, células ectomesenquimais indiferenciadas, vasos sanguíneos e fibras específicas penetram em uma porção do osso alveolar assim como no cemento, exercendo a função de sustentação do osso ao dente, segurando-o e evitando que forças de intrusão, extrusão e lateralidade removam o dente do alvéolo (2,4). A alteração dessas estruturas de proteção e inserção pode estar relacionada à alguma mobilidade dentária, por inflamação desses tecidos, por exemplo, que geralmente inicia-se com a gengivite e pode evoluir para uma periodontite, trauma, ou movimentação ortodôntica. (1, 2).

A periodontite é resultado de interações significativas entre a resposta imune inflamatória e o biofilme, causando uma inflamação exacerbada dos tecidos adjacentes responsáveis pela sustentação dos dentes (4, 5). É uma doença de origem polimicrobiana, que acomete o periodonto, proporcionando perda de inserção, destruição do osso alveolar e consequente perda óssea, fator que influencia diretamente na oclusão dental do indivíduo e, dessa maneira, a sua qualidade de vida (6). Sendo a principal causa de perda dentária na população mundial (7, 8). Aspectos ambientais e genéticos estão relacionados com o grau de susceptibilidade do indivíduo desenvolver a periodontite, uma vez que algumas variações genéticas são associadas à resposta do hospedeiro ao biofilme dental disbiótico (5, 6).

A inflamação se inicia com o desafio bacteriano de um biofilme disbiótico e se amplifica com a resposta imunológica exacerbada, iniciada por meio do reconhecimento de patógenos bacterianos através das células dendríticas, conhecidas como células apresentadoras de antígenos (9). Alguns fatores estão relacionados com o estímulo para a produção de citocinas, entre eles fatores genéticos, que podem proporcionar alterações nos níveis de expressão dessas citocinas, assim como nas suas funções relacionadas à resposta imune inata e adaptativa; e a

influência dessas no desenvolvimento e gravidade de doenças inflamatórias, como a periodontite (10).

Fatores ambientais e comportamentais, como hábitos de higiene oral, dieta, tabagismo e outros, podem estar associados com o desenvolvimento da doença (11). Adicionalmente, a periodontite pode estar relacionada a doenças sistêmica e até influenciar no curso destas. Diante dos altos índices da doença, surge a necessidade de verificação e estudos sobre fatores associados, com o objetivo de avaliar propostas voltadas para a prevenção de forma global, levando a uma redução no número de perdas dentárias, comprometimento sistêmico e estético, assim como melhoria na qualidade de vida dos indivíduos acometidos.

A identificação dos fatores genéticos relacionados às doenças e o estudo dos genes *SEPT7* e *FMN1*, associados com diversos mecanismos fisiológicos (5, 12), podem ser determinantes para o estudo e avaliação do risco clínico significativo de cada paciente. Pesquisadores têm estudado as alterações genéticas que ocorrem em inflamações, infecções e câncer, como, por exemplo, os polimorfismos genéticos e frequências alélicas em genes específicos relacionados às doenças em distintas populações. Com isso, tem surgido grande interesse no reconhecimento de polimorfismos de genes que podem ser utilizados para identificar uma relação de proteção, risco e/ou gravidade de diversas doenças, inclusive as inflamatórias (13). Abordagens atuais sobre sequenciamento de genomas tornam-se comuns por meio de anotações descritivas que fornecem a utilização de dados para análises de fenótipos e doenças, assim como mutações que podem ou não afetar o gene (14). Atualmente, existem poucos estudos sobre os genes *SEPT7* e o *FMN1* e a relação destes com doenças nas diferentes populações. Mensurar a influência de variantes genéticas nos genes *SEPT7* e *FMN1* na periodontite é um desafio, dado que é preciso avaliar a frequência desses SNVs em populações específicas, principalmente brasileiras, que são populações miscigenadas e predominantemente negras, para que seja analisado por meio de métodos estatísticos precisos e confiáveis e, deste modo, determinar a influência com base em parâmetros significativos.

Nosso grupo realizou um GWAS para periodontite em indivíduos de Salvador-BA (manuscrito em preparação para submissão) e os genes *SEPT7* e *FMN1* foram sugestivamente associados à periodontite. Além disso, através de uma análise de interação funcional foi observado forte ligação entre os genes. Sendo assim, esses genes foram selecionados para este estudo. Dentro desse contexto, foram realizados 2 estudos inéditos até o momento na literatura mundial, com variantes nos genes *SEPT7* e o *FMN1* e associação de variantes com a periodontite. O primeiro estudo, sobre variantes dos genes *SEPT7* e o *FMN1*, já foi publicado

e caracteriza e avalia a frequência alélica e o potencial regulatório desses SNV, além de relacionar, através de uma busca na literatura, variantes nestes genes com doenças em outras populações (15). O segundo estudo, abordado nesta dissertação, investigou a associação entre variantes genéticas nos genes *SEPT77* e *FMN1* e a periodontite em uma população brasileira.

A periodontite é uma doença que interfere negativamente na qualidade de vida do indivíduo, uma vez que compromete a cavidade bucal de forma significativa, prejudicando as relações sociais e a autoestima do paciente, e proporciona o desenvolvimento de outras comorbidades. Dessa forma, um melhor entendimento dos componentes genéticos relacionados a periodontite pode explicar a diversidade de fenótipos clínicos entre grupos populacionais, bem como susceptibilidade à doença. Isso nos permitirá direcionarmos novas estratégias que contribuirão para a identificação de parâmetros clínicos auxiliando na identificação precoce da doença, controle de hábitos e fatores de risco ambientais, tratamentos mais precisos com base em informações genéticas viabilizando ao indivíduo uma melhor qualidade de vida, inclusive para indivíduos que já apresentem comorbidades.

Uma vez estabelecido o tratamento, é fundamental a regularidade das consultas de acompanhamento e o estabelecimento de terapias específicas para cada grau da periodontite. Em determinados indivíduos, por vezes, há uma ausência significativa de resultados satisfatórios no tratamento, que podem ser por conta de uma resposta imunológica exacerbada, ou uma supressão de determinados mecanismos de defesas relacionados a variantes genéticas ou regulada por fatores ambientais. Nesse sentido, espera-se que, em um futuro próximo, o conhecimento sobre a relação das variantes genéticas e a periodontite possa auxiliar no diagnóstico, prognóstico e no direcionamento de um tratamento mais personalizado, permitindo mais segurança e eficácia no tratamento dos pacientes.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 FISIOPATOLOGIA DA PERIODONTITE

A periodontite é caracterizada por um processo inflamatório que compromete estruturas essenciais do arcabouço dentário como a gengiva, osso e ligamento periodontal de indivíduos

por meio da interação entre um biofilme dental disbiótico e respostas imunológicas do hospedeiro (16).

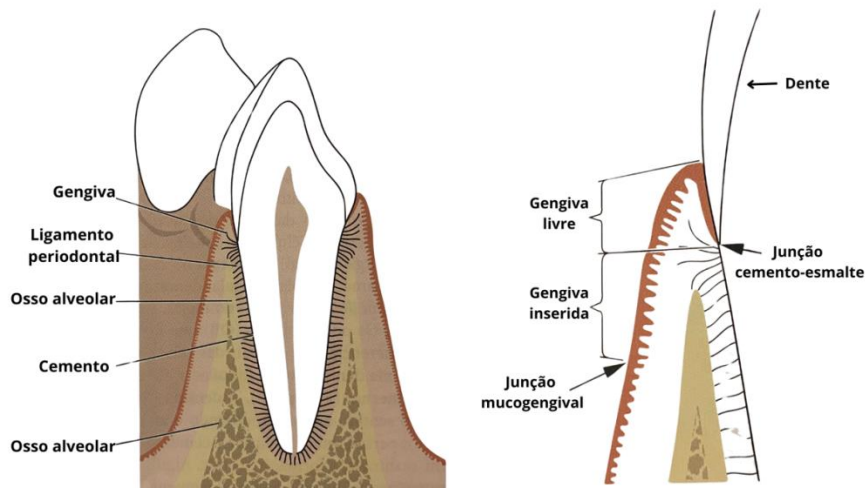


Figura 1: Anatomia dos tecidos periodontais. Fonte: Adaptado de Lindhe e Lang (44).

As alterações periodontais desenvolvem-se através da formação do biofilme da placa dental, fatores intrínsecos e extrínsecos ao indivíduo como aspectos genéticos, resposta imune do hospedeiro, idade, estado de saúde, fatores ambientais e estilo de vida, como tabagismo e higiene que influenciam na gravidade e na severidade da periodontite (17, 18). Acredita-se que a resposta inflamatória, orquestrada pelo sistema imune e sob a influência de fatores ambientais e genéticos do indivíduo, seja responsável por 80% do comprometimento de estruturas periodontais (5).

O processo de desregulação do sistema imunológico adaptativo e inato pode favorecer o desenvolvimento da doença periodontal. Esse processo se inicia com a ligação de determinados antígenos bacterianos, peptídeos, DNA/RNA viral e receptores Toll-like os quais são responsáveis pela ativação das vias de transdução dos sinais, objetivando eliminar patógenos invasores. Dentro desses fatores, temos o fator nuclear kappaB, importante para regulação, proliferação e diferenciação de linfócitos e macrófagos (17, 18). A ativação de proteinases oriundas do hospedeiro propicia a perda de fibras presentes no ligamento periodontal, migração apical do epitélio juncional e a instalação do biofilme bacteriano na superfície radicular e, conseqüentemente, a inflamação dos tecidos gengivais (7). Ocorre o recrutamento de células do sistema imune como leucócitos polimorfonucleares, linfócitos, macrófagos posteriormente, a infiltração dessas células no tecido conjuntivo próximo à bolsa periodontal. Sendo assim,

durante o processo inflamatório observa-se um aumento do número de neutrófilos e leucócitos, assim como na passagem desses mediadores através do fluido crevicular gengival por meio dos espaços intercelulares, acarretando o processo de desintegração local do epitélio juncional e formação de bolsas periodontais (4, 19). As citocinas exercem o papel de regular as interações e as redes celulares entre macrófagos, neutrófilos, células natural killer, células T, fibroblastos, células epiteliais dentre outros fatores como, por exemplo, interferon-gama, (IL)-1, IL-6, IL-23, IL-17 e fator de necrose tumoral (18) (Figura 2).

As citocinas pró-inflamatórias promoverão a expressão do RANK-L nas células T auxiliares e osteoblastos, conhecido como um receptor do ligante nuclear kB (19). Os fibroblastos, osteoblastos e osteoclastos são células importantes que sofrem regulação através de diferentes mecanismos. Na presença de fatores de virulência e citocinas pró-inflamatórias, observa-se a produção de metaloproteinases de matriz (MMPs) por fibroblastos, neutrófilos e células do epitélio juncional, cuja função das MMPs será destruir as fibras colagênicas e ligamentos e tecidos periodontais (4, 19). Uma vez recrutados, os neutrófilos atuam na degradação tecidual através da indução da expressão de metaloproteinases de matriz (MMP) e substâncias citotóxicas, como espécies reativas de oxigênio (ROS) (17) (Figura 2).

RANK-L liga-se ao RANK (receptor-ativador do NF- κ B), induzindo a osteoclastogênese e promovendo a diferenciação de osteoclastos maduros, que são os que reabsorvem a matriz óssea. Já a osteoprotegerina (OPG), por inibição competitiva, previne a ligação RANK-RANKL. O aumento da concentração de citocinas pró-inflamatórias, que ocorre na periodontite, pode elevar os níveis de RANKL e ativar os osteoclastos, bem como inibir a atividade de OPG (20).

Os fibroblastos participam da remodelação do colágeno devido a sua função na formação da matriz e o TGF- β é um dos componentes essenciais para a ativação, sinalização e proliferação desses fibroblastos (20,21). Dentre as citocinas envolvidas na fisiopatologia da periodontite, a IL-13 foi descrita como capaz de reduzir a expressão de MMP-1 (metaloproteinases de matriz 1) nos tecidos periodontais (22). A IL-13 é uma citocina produzida pelos linfócitos T-helper tipo 2 (Th2) e atua na supressão da produção de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos e monócitos (23).

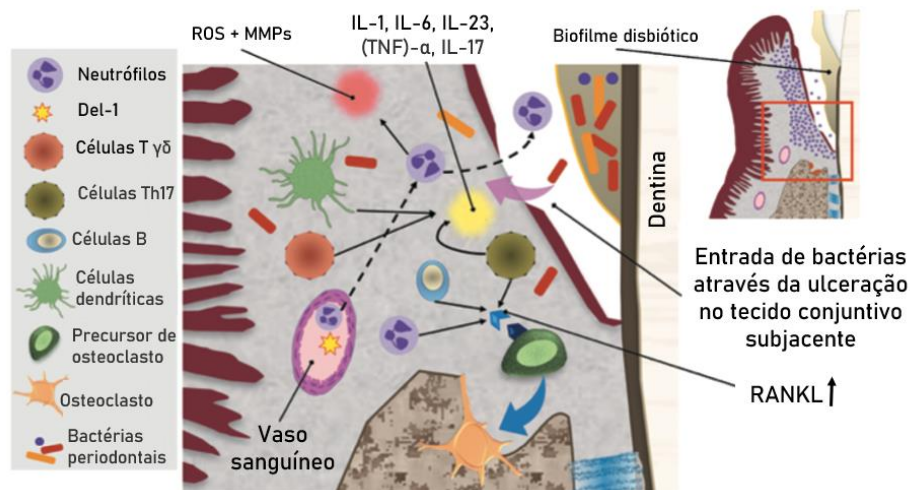


Figura 2: Representação de mecanismos inflamatórios envolvidos na fisiopatologia da destruição tecidual e perda óssea da periodontite. A interação entre bactérias e células do hospedeiro que ocasiona a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF)-alfa, IL-23 e IL-17). Fonte: Traduzido e modificado de Abdulkareem et al (18).

Quando inflamado, o periodonto funciona como um depósito de bactérias gram-negativas e subprodutos como citocinas pró-inflamatórias e lipopolissacarídeos (LPS) (16). Quando esses microrganismos começam a colonização no biofilme bacteriano, inicia-se uma resposta inflamatória mais potente do hospedeiro, que favorece o desenvolvimento de uma inflamação gengival significativa por meio do aumento da oferta de nutrientes que predisõem a proliferação de patógenos específicos como *Porphyromonas gingivalis*, chamado este processo de “disbiose incipiente”. Na disbiose incipiente, são observados fatores inflamatórios oriundos da resposta exacerbada dos microrganismos presentes no fluido crevicular gengival, como, por exemplo, geração de citocinas e espécies reativas de oxigênio que causam o processo de estresse oxidativo, metaloproteinases de matriz e, como resultado, danos colaterais aos tecidos periodontais, aumento da resposta inflamatória, falha nos mecanismos inatos do sistema imune e desenvolvimento da fase crônica da doença periodontal (5).

Os principais microrganismos presentes na doença periodontal são bactérias anaeróbias gram-negativas, *Campylobacter rectus*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* e *Aggregatibacter actinomucetemcomitans* presentes na placa dentária conhecida também como biofilme (16). Os microrganismos que iniciam o processo de patogênese da periodontite são divididos em grupos distintos que se relacionam entre si, o complexo de Socransky, que corresponde a 5 comunidades bacterianas que colonizam a placa subgengival, sendo o complexo vermelho, o principal (24).

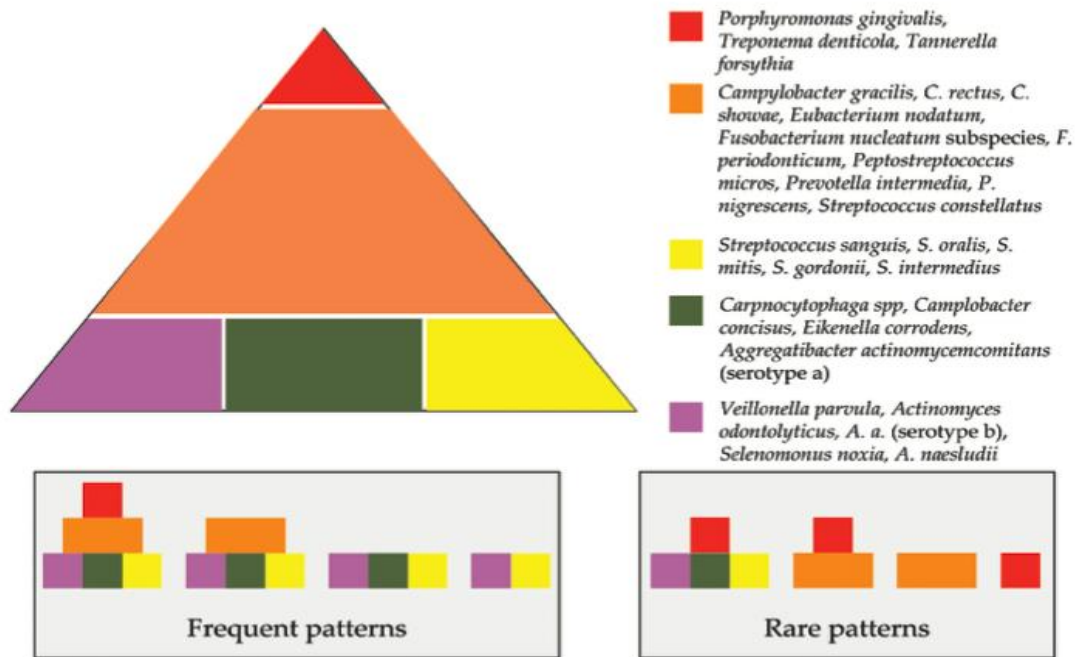


Figura 3: Associação entre espécies subgenivais (adaptado de Socransky), no qual a base da pirâmide apresenta os primeiros colonizadores, em seguida o complexo laranja, que estabelece a união entre os primeiros colonizadores com o complexo vermelho, predominante no biofilme nos estágios avançados da periodontite. Fonte: Traduzido de Abdulkareem et al (18).

O controle da disbiose e a eliminação da *Porphyromona gingivalis* (Pg), principal microrganismo do complexo vermelho, são o grande desafio do tratamento periodontal, uma vez que a Pg desenvolveu rotas de escape por meio do sistema imune do indivíduo, a exemplo da interferência na capacidade antibacteriana dos macrófagos que residem nos tecidos periodontais (25).

A perda de inserção por mediadores inflamatórios está relacionada à perda óssea alveolar, considerado um indício patognomônico da periodontite, que apresenta diferentes estágios clínicos com base na idade do paciente, gravidade, localização da perda óssea e quantidade de lesões (7). Osteoclastos são estimulados pela PGE2 (prostaglandina E2) e por outras citocinas e mecanismos sinalizadores e identificados em bolsas periodontais. Consequentemente, estes proporcionam a destruição dos tecidos que dão suporte ao periodonto, levando a perda óssea na região dos alvéolos devido a desregulação entre a degradação e formação óssea (16).

2.2 FATORES DE RISCO PARA A PERIODONTITE

A complexa interação entre a presença e manutenção do biofilme dentário disbiótico, a resposta inflamatória do hospedeiro, fatores de risco ambientais, comportamentais, sistêmicos e genéticos estão relacionados com o desenvolvimento desta doença (26). Condições ligadas ao estilo de vida representam um grupo significativo de fatores de risco e podem apresentar associações significativas no funcionamento do sistema imunológico, assim como na sua função e, para muitas patologias inflamatórias e de aspecto crônico, hábitos como estilo de vida, tabagismo e alimentação inadequada são essenciais para a progressão e início da doença (27).

O tabagismo interfere no sistema imunológico com consequências na ativação das células inflamatórias, observado por meio do aumento do estresse oxidativo que provoca danos celulares e redução da apoptose em diversos compartimentos celulares. O sistema imune de fumantes apresenta sinais de disfunção por meio da maior produção de autoanticorpos (28). Devido ao fato da periodontite ser uma doença inflamatória, a vascularização da região afetada torna-se fina e friável, facilitando a bacteremia e a disseminação dos microrganismos para células endoteliais e tecidos conjuntivos mais profundos (17). A *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) é o principal periodontopatógeno que acomete os tecidos periodontais e, quando desregulado nesse meio, pode adentrar na corrente sanguínea, acarretando o desenvolvimento de outras alterações sistêmicas como doenças cardiovasculares, diabetes, artrite reumatoide, Alzheimer e até mesmo alguns tipos de câncer (17, 26). Na fisiopatologia da doença periodontal, foram observadas diferentes rotas que estabelecem uma associação da DP com o desenvolvimento de doenças sistêmicas como hipertensão, diabetes, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica (29, 30). As bactérias patogênicas estabelecem suas interações por meio da disseminação através do sistema vascular, estabelecendo seus efeitos negativos oriundos da inflamação periodontal, por intermédio do aumento da carga inflamatória geral, que tem forte relação com a doença arterial coronariana e diabetes. Sendo este último incluído na Classificação de Doenças Periodontais e Peri-Implantares de 2017 e Condições como fator de risco para a DP (29).

A periodontite consiste em uma alteração complexa, causada por componentes influenciados por fatores genéticos e epigenéticos considerados fatores de risco específicos do paciente (5). Determinados aspectos podem proteger ou favorecer o desenvolvimento da periodontite. Estudos com biomarcadores genéticos através da análise das variantes genéticas têm crescido com o objetivo de auxiliar no diagnóstico precoce para prevenção e redução dos agravos e comprometimentos periodontais e sistêmicos. Estudos observaram que inúmeras variantes genéticas são capazes de codificar mediadores responsáveis pela homeostase do osso

e sua relação com a suscetibilidade com a periodontite (30). Além disso, estudos mostram que mecanismos epigenéticos têm a capacidade de determinar níveis de expressão gênica, alterações epigenéticas nas sequências de DNA e RNA, ativar ou desativar genes responsáveis pela transcrição ou torná-los aberrantes, alterando sua expressão (28).

2.3 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA PERIODONTITE

A periodontite é diagnosticada, principalmente, mediante parâmetros clínicos, como a profundidade de sondagem, presença do sangramento à sondagem e avaliação do nível de inserção clínica (NIC), com o uso de uma sonda periodontal padronizada com referência a junção amelocementária (JAC). Nessa avaliação da JAC, observamos na periodontite a perda de inserção clínica por meio da avaliação da circunferência do dente erupcionado. A profundidade de sondagem, o nível de inserção clínica e o sangramento à sondagem são analisados por meio de seis sítios em cada dente (sítio vestibular, méso-vestibular, disto-vestibular, méso-lingual, disto-lingual e lingual) (27, 28).

De acordo com a classificação atual, a gengivite é caracterizada pela presença de vermelhidão e sangramento gengival em mais de 25% dos locais, enquanto a periodontite é analisada por meio de parâmetros clínicos como: profundidade de sondagem, nível de inserção e sangramento a sondagem, tal qual dispõe-se na classificação abaixo: (27).

- Ausência de periodontite: indivíduos que não se encaixam em nenhum dos critérios listados na classificação como número de dentes com profundidade de sondagem \geq 4mm, presença de perda de inserção clínica \geq 1mm e sangramento ao estímulo;
- Periodontite leve: 2 dentes ou mais com 1 ou mais sítios que apresentam profundidade de sondagem \geq 4mm, com perda de inserção clínica \geq 1mm no mesmo sítio e sangramento ao estímulo;
- Periodontite moderada: 2 dentes ou mais com 1 ou mais sítios com profundidade de sondagem \geq 4mm, com perda de inserção clínica \geq 3mm no mesmo sítio e presença de sangramento ao estímulo;
- Periodontite grave: 2 dentes ou mais com 1 ou mais sítios com profundidade de sondagem \geq 5mm, com perda de inserção clínica \geq 5mm no mesmo sítio e presença de sangramento ao estímulo.

Adicionalmente à avaliação de parâmetros clínicos, avaliações através de exames de imagem são utilizados para auxiliar no diagnóstico, monitoramento e tratamento da periodontite. Na avaliação das estruturas periodontais, principalmente do osso alveolar, pode-se observar imagens sugestivas de alterações ósseas através da radiografia periapical, que pode ter certas limitações, principalmente no diagnóstico da periodontite leve a moderada, já que nesses estágios a perda óssea ainda não está acentuada. As pesquisas avançam na tentativa de validar métodos mais robustos que auxiliem no prognóstico, diagnóstico e direcionem o tratamento desde a identificação de um caso de periodontite inicial como em casos mais complexos (7).

O estabelecimento de uma rotina de higiene por meio de escovações regulares e do uso de fio dental para a remoção do biofilme dental (formado por bactérias, restos alimentares e outras substâncias, da saliva, por exemplo) é fundamental tanto para evitar o desenvolvimento da gengivite e a progressão para a periodontite; quanto durante o tratamento e acompanhamento do indivíduo com periodontite (28, 29) A escovação dentária não é suficiente para remoção completa do biofilme dentário, principalmente das regiões interproximais dos dentes, locais onde o uso do fio dental permite uma limpeza mais eficaz. (29, 30). Há inúmeras bactérias no biofilme dental e a forma como determinado hospedeiro responde aos mecanismos patogênicos dessas bactérias depende de componentes genéticos, ambientais e imunológicos (31).

Entretanto, quando ocorre o desenvolvimento da periodontite, a conduta terapêutica pode ser cirúrgica ou não-cirúrgica, por meio da raspagem e alisamento radicular, na qual é removida a placa e o cálculo abaixo da margem gengival com o objetivo de reduzir o estímulo inflamatório e alisar áreas irregulares para dificultar a adesão e crescimento de bactérias. Além disso, a utilização de antibióticos, como metronidazol e amoxicilina, pode ser indicado para uma terapia de suporte às condutas clínicas (32). A terapia convencional em pacientes com periodontite consiste na remoção dos depósitos bacterianos situados nas regiões subgengival e supragengival, remoção de fatores que facilitem a retenção desses microrganismos e orientação de higiene bucal (33).

2.4 GENES *SEPT7* E *FMN1* E VARIANTES GENÉTICAS

Os genes *SEPT7* e *FMN1* foram sugestivamente associados à periodontite em um GWAS em indivíduos de Salvador-BA (manuscrito em preparação para submissão) e foi

realizada uma análise de interação funcional (Fig.1) de proteínas codificadas por esses genes candidatos, usando STRING v10.0 (<https://string-db.org>). Nesta análise, foi observada uma forte ligação entre eles.



Figura 4: Análise da rede de interação funcional de proteínas codificadas pelos genes candidatos *FMN1* e *SEPT7* à periodontite, usando STRING v10.0. A cor da linha indica o tipo de evidência de interação entre os genes- interações conhecidas: roxo- interações determinadas experimentalmente; preta- coexpressão e verde claro.

2.4.1 Gene *SEPT7*

O gene *SEPT7* faz parte da família das septinas que são proteínas que compõem o citoesqueleto e são fundamentais no processo de divisão celular, manutenção da dinâmica dos microtúbulos, actinas e atuam também no tráfego de membranas celulares, microtúbulos, e contribuem para a formação das barreiras de difusão da membrana (31, 34). Em humanos, podemos encontrar 13 genes da família das septinas, dentre eles o *SEPT7*, que pode ser encontrado também em células neuronais e dendríticas (31).

Em seres eucariotos para que diversos fenômenos metabólicos ocorram de forma organizada e eficiente, é necessária uma compartimentalização subcelular e, em adição a isto, uma rede formada por fibras do citoesqueleto, cuja função é coordenar e posicionar as organelas celulares (35-37). Estudos genéticos descobriram que o *SEPT7* é essencial para a citocinese de células específicas como fibroblastos, fundamental também no processo da periodontite, dado que a inflamação causada pelos microrganismos patogênicos tem a capacidade de destruir essas células, comprometendo a integridade e a inserção dente-osso (22).

2.4.2 Gene *FMN1*

O gene *FMN1* faz parte da família da formina e é responsável pela codificação de uma proteína responsável por atuar na formação de junções aderentes e polimerização de cabos lineares de actina (<https://www.genecards.org>) (38). Esse gene foi relacionado com a síndrome de Cenanie-Lenz, classificada como uma oligossindactilia não síndrômica de mãos e pés que

ocorre por conta de fusões cutâneas e ósseas completas (39). Esse mesmo estudo demonstrou a importância do *locus* do gene *FMN1* em relação ao desenvolvimento de membros em humanos.

A ampliação dos estudos sobre interações e variantes genéticas e a relação com o desenvolvimento da periodontite, assim como o conhecimento acerca das interações moleculares e do sistema imunológico podem fornecer informações essenciais sobre a fisiopatologia da doença periodontal e a elaboração de terapias preventivas por meio da análise da influência das variantes genéticas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a associação entre variantes genéticas nos genes *SEPT77* e *FMN1* e a periodontite em uma população brasileira.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar as variantes dos genes *SEPT77* e *FMN1* e investigar a associação entre variantes genéticas nos genes *SEPT77* e *FMN1* e a periodontite;
- Avaliar o impacto funcional *in silico* das variantes analisadas em *SEPT77* e *FMN1* no estudo de associação com a periodontite;
- Comparar a dosagem de citocinas (Eutaxina, Interferon gama, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17alfa, IL-1beta, IL-5, IL-6, IL-8, TNF-ALFA) de indivíduos desse estudo e associar com dados genéticos.

4 ARTIGO: ASSOCIAÇÃO DE VARIANTES GENÉTICAS EM SEPT7 E FMN1 À PERIODONTITE

Moura, Swany Santa Luzia¹; Cruz, Álvaro A.⁴; Barrientos, Marcia Otto^{1,3}; Gomes-Filho, Isaac Suzart⁵; Trindade, Soraya Castro⁵; Santana, Cinthia Vila Nova^{4,6}; Pinheiro, Gabriela Pimentel⁴; Souza-Machado, Adelmir⁴; Costa, Ryan dos Santos^{1,2}; Figueiredo, Camila A.^{1,2}; Oliveira, Tatiane Teixeira Muniz Carletto^{1,2}.

¹Laboratório de Imunofarmacologia e Biologia Molecular, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia-UFBA, Salvador, Bahia, Brasil; ²Departamento de Biorregulação, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia-UFBA, Salvador, Bahia, Brasil; ³Escola de Saúde, Faculdade Adventista da Bahia-FADBA, Cachoeira, Bahia, Brasil; ⁴Fundação Programa para o Controle da Asma na Bahia- ProAR e Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil; ⁵Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil; ⁶Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Bahia, Brasil.

e-mail: tatiane.teixeira@ufba.br

RESUMO

Introdução: A periodontite é uma doença de caráter inflamatória, causada pela interação entre o biofilme bacteriano disbiótico e a resposta imune do hospedeiro que afeta os tecidos de suporte do dente e pode levar à perda da unidade dental. Por ser uma doença complexa, multifatorial, e de caráter poligênico, podem estar envolvidos aspectos genéticos, ambientais e sistêmicos. Variantes genéticas podem influenciar na resposta imunológica e em outros mecanismos, como os que podem ser regulados por variantes dos genes *SEPT7* e *FMN*. Genes relacionados ao processo de divisão celular através da dinâmica dos microtúbulos e filamentos de actina. **Objetivo:** Investigar a associação de variantes genéticas nos genes *SEPT7* e *FMN1* com a periodontite. **Métodos:** Estudo transversal desenvolvido com 506 participantes do Programa para Controle de Asma na Bahia, classificados com presença (n=117) ou ausência (n=389) de periodontite. Realizou-se uma entrevista para obtenção de dados e um exame oral completo. Para o diagnóstico de periodontite os indivíduos apresentavam pelo menos 4 dentes com ≥ 1 sítio com profundidade de sondagem ≥ 4 mm; nível de inserção clínica ≥ 3 mm e sangramento ao estímulo no mesmo local. A genotipagem foi realizada utilizando o kit Illumina Infinium Multi-Ethnic AMR/AFR-8. A análise de associação foi elaborada no software Plink 1.9 através da regressão logística multivariada ajustada para as covariáveis idade, obesidade, respiração bucal, uso de fio dental, asma e ancestralidade. As plataformas NCBI, RegulomeDB, Haploview 4.2, rSNPBase e Gtex foram usadas para as análises *in silico*. **Resultados:** 5 SNV do gene *SEPT7* foram associados positivamente à periodontite, e dos 15 SNV do gene *FMN1*, 8 foram associados positivamente e 7 negativamente. Foram observados desfechos relacionados a idade e ao uso de fio dental, no qual possuir determinado SNV pode estar associado de forma positiva ou negativa ao desenvolvimento da periodontite. As citocinas IL-5 e a IL-13 foram associadas aos SNV do *SEPT7* (rs12532523 e rs6462629); e variantes do *FMN1* foram associadas as citocinas interferon-gama, IL-17A, IL-10 e IL-5. **Discussão:** Primeiro estudo de associação de variantes dos genes candidatos *SEPT7* e *FMN1* com a periodontite. Variantes genéticas desses genes foram associados à periodontite em um estudo de ampla varredura genômica (GWAS) em uma população brasileira, com limitações no que se

refere a comparações com outros estudos por conta da escassez de relatos sobre esses genes e a doença em questão. A análise de interação gene-ambiente revelou que existe uma relação entre variantes genéticas estudadas e o desenvolvimento de periodontite baseado em covariáveis como idade e uso de fio dental. **Conclusão:** Variantes nos genes *SEPT7* e *FMN1* apresentaram associação com periodontite, reforçando a influência da genética no desenvolvimento da periodontite e a necessidade de novos estudos que corroborem com os dados encontrados.

Palavras-chave: Variante genética, periodontite, *SEPT7*, *FMN1*.

ABSTRACT

Introduction: Periodontitis is an inflammatory disease, caused by changes between the bacterial biofilm and the host's immune response. When an imbalance occurs between the control of bacterial plaque, pathogenic bacteria, and the individual's immune response, the process of pathogenesis of periodontitis begins, in which genetic, environmental and systemic aspects are involved. **Objective:** To investigate the influence of genetic variants in the *SEPT7* and *FMN1* genes on periodontitis and the immunoinflammatory responses that favor the progression of the disease **Methods:** The study involved 506 individuals from Salvador/Bahia-Brazil, in which they were classified as having periodontitis (n=117) and without periodontitis (n=389). Genotyping was performed using the Illumina Infinium Multi-Ethnic AMR/AFR-8 kit. The association analysis was carried out using the Plink 1.9 software using multivariate logistic regression adjusted for age, obesity, mouth breathing, dental flossing, asthma and ancestry. The NCBI, RegulomeDB, Haploview 4.2, rSNPBase and Gtex platforms were analyzed in in silico analyses. Results: 5 SNVs from the *SEPT7* gene were positively associated with periodontitis, and of the 15 SNVs from the *FMN1* gene, 8 were positively associated and 7 negatively. Outcomes related to age and flossing were observed, in which having a certain SNV may be positively or negatively associated with the development of periodontitis. Cytokines such as IL-5 and IL-13 were associated with *SEPT7* SNVs (rs12532523 and rs6462629). In the *FMN1* gene, the associated cytokines were interferon-gamma, IL-17A, IL-10 and IL-5. Discussion: First study linking genetic variants of the *SEPT7* and *FMN1* genes with periodontitis. The genes analyzed participate in specific processes in the formation and structure of microtubules, essential in fibroblast cytokinesis (*SEPT7*) and in the polymerization of actin filaments (*FMN1*). These genes were associated with periodontitis in a genome-wide scanning study (GWAS) in a Brazilian population, with limitations regarding comparisons with other studies due to the scarcity of reports on these genes and the disease in question. **Conclusion:** New studies on the association of genes and the relationship with periodontitis, as well as the association with other diseases that lead to the development of this disease, are essential for analyzing genetic aspects in order to prevent or treat the disease early and accurately. Studied. This gene-environment interaction analysis revealed that there is a relationship between the genes studied and the development of periodontitis based on covariates such as age and flossing.

Keywords: Genetic variant, periodontitis, *SEPT7*, *FMN1*

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é resultado de interações significativas entre a resposta imune inflamatória e o biofilme dental disbiótico causando uma inflamação exacerbada dos tecidos adjacentes responsáveis pela sustentação dos dentes (5). A presença e manutenção da placa bacteriana colonizada por patógenos periodontais, destacando-se as bactérias anaeróbias gram-negativas especificamente do complexo vermelho, tornam o indivíduo mais suscetível para que a infecção inicial evolua para uma infecção crônica (25).

Durante este processo inflamatório, os patógenos periodontais recrutam macrófagos e outras células de defesa que estimulam a produção de inúmeras citocinas pró-inflamatórias como interleucinas, prostaglandinas E2 e fator de necrose tumoral (TNF- α), IFN- γ , IL-17A, IL-10, IL-5 e IL-13 (21). Alguns fatores estão relacionados com a produção de citocinas, dentre eles, fatores genéticos que podem proporcionar alterações nos níveis de expressão dessas citocinas, assim como nas suas funções relacionadas à resposta imune inata e adaptativa (10).

Diante dos altos índices da doença, surge a necessidade de verificação e estudos sobre fatores associados com o objetivo de avaliar propostas voltadas para a prevenção de forma global, proporcionando uma redução no número de perdas dentárias, comprometimento sistêmico e estético, bem como melhoria na qualidade de vida dos indivíduos acometidos. Sem um tratamento ou medidas terapêuticas de controle, a periodontite evolui com o passar da idade e diferenças entre raça, população e etnia representam fatores significativos para esta doença (9, 10). No que se refere a essa variação, a hereditariedade e as variantes genéticas caracterizam aspectos a serem analisados em conjunto (11, 12), posto que interferem diretamente no grau de severidade da doença, como também no seu tratamento. Tem surgido grande interesse no reconhecimento de variantes alélicas (SNV) de genes que podem estar associados e serem utilizados para auxiliar a identificar o risco e/ou gravidade de periodontite (13, 14).

Os genes *SEPT7* (Septin 7) e *FMNI* (Formin 1) foram sugestivamente associados à periodontite em um Estudo de Ampla Varredura Genômica (GWAS) para periodontite em indivíduos de Salvador-BA; e apresentam grande interação entre si (15). O gene *SEPT7* faz parte da família das septinas que são proteínas que compõem o citoesqueleto e são fundamentais no processo de divisão celular, manutenção da dinâmica dos microtúbulos, actinas e atuam também no tráfego de membranas celulares (16). Em humanos, podemos encontrar 13 genes da família das septinas, dentre eles o *SEPT7* que pode ser encontrado também em células neuronais e dendríticas (16).

O gene *FMNI* é responsável por codificar a proteína formina, que atua na polimerização de filamentos de actina e, em um estudo feito por Grant e colaboradores (16) identificaram proteínas associadas ao citoesqueleto, como as queratinas e actinas ao analisar o fluido crevicular gengival relacionado à destruição por invasão bacteriana na periodontite, além de observar que a presença de actinas pode estar ligada à reabsorção óssea reforçando a importância para novas pesquisas associadas ao *FMNI*.

Dessa forma, a genética, os fatores ambientais e comportamentais associados interferem diretamente na composição do biofilme, do mesmo modo na resposta imune inflamatória do indivíduo, formando um fenótipo biológico diverso e que dificulta o desenvolvimento de estratégias voltadas para prevenção (1). Neste sentido, o objetivo desse estudo foi investigar a associação de variantes genéticas nos genes *SEPT7* e *FMNI* com a periodontite. A ampliação dos estudos sobre interações genéticas e variantes genéticas e a relação com o desenvolvimento da periodontite podem fornecer informações essenciais para avaliação do risco clínico significativo de cada indivíduo e a elaboração de terapias seguras e mais eficazes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO E APROVAÇÕES ÉTICAS

Estudo transversal realizado com 506 indivíduos, participantes de uma coorte de asma da Fundação ProAR em Salvador/Bahia – Brasil. Através de um questionário e entrevista, foram obtidas informações sobre características sociodemográficas, hábitos e estilo de vida, histórico médico e odontológico e acesso a cuidados de saúde bucal. O consentimento informado por escrito foi obtido de cada indivíduo. A aprovação ética foi obtida pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa do Brasil (CONEP nº 15782) com Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) número 25000.013834/2010-96.

2.2 AVALIAÇÃO E DIAGNÓSTICO PERIODONTAL

Após a entrevista, os participantes da pesquisa foram encaminhados para um exame oral completo realizado por um único examinador (periodontista) previamente treinado. Para o diagnóstico de periodontite, foram estabelecidos parâmetros de acordo com Gomes-Filho e

colaboradores (17) que envolvem níveis clínicos de inserção, profundidade de sondagem, sangramento à sondagem e índice de placa visível. Os indivíduos foram classificados como presença, quando possuíam no mínimo 4 dentes com 1 sítio de profundidade de sondagem ≥ 4 mm; nível de inserção clínica ≥ 3 mm e sangramento sob estímulo; ou ausência de periodontite (17).

2.3 EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO E GENOTIPAGEM

A extração do DNA foi realizada a partir de amostras de sangue periférico de acordo com o protocolo do kit Gentra® Puregene® Blood Kit (Quiagen). A genotipagem foi realizada usando a plataforma Illumina Multi-Ethnic Global Array (MEGA, Illumina). Neste trabalho, informações genéticas foram extraídas das posições localizadas, 35840596 a 35946720, no cromossomo 7 (SEPT7); e de 33057745 a 33486915, posições localizadas no cromossomo 15 (FMN1), versão do genoma: GRCh37.

2.4 ANÁLISE FUNCIONAL *IN SILICO*

Foram elaboradas análises funcionais *in silico* para cada SNV dos genes *SEPT7* e *FMN1*, desse estudo, cujas informações podem ser encontradas em repositórios de variantes dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>). Dados referentes ao Desequilíbrio de Ligação (DL) estabelecem associações de alelos presentes em *loci* diferentes, mas no mesmo cromossomo, calculado por meio do software Haploview 4.2, baseado no intervalo de confiança no valor r^2 . Os valores da análise de DL são demonstrados em forma de percentuais. Ao analisar o r^2 , o valor acima de 80% ($r^2 \geq 0,8$) representa uma correlação alta entre os SNV. O impacto funcional de cada SNV foi extraído do banco de dados do Haploreg v4., analisando-se os tecidos envolvidos e tipos de células. Para a análise sobre o potencial regulatórios das variantes, utilizou-se o banco de dados RegulomeDB (www.regulomedb.org), considerado um conjunto de dados experimentais de ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements).

As análises foram realizadas com base na influência na expressão dos genes em relação à função da proteína e como ligação do fator de transcrição. Pontuações de 1 a 7 no RegulomeDB indicam a probabilidade do impacto funcional do SNV na expressão gênica, no qual pontuações variando de 1 a 3 podem interferir na ligação do fator de transcrição;

pontuações de 4 a 6 apresentam menos informações vinculadas e ainda não há informações sobre a pontuação 7. A plataforma SNPStats (www.snpstats.net) foi utilizada para análise gene-ambiente e gene-gene (*gene-score*).

2.5 ANÁLISE DE CITOCINAS

As concentrações séricas de citocinas foram mensuradas usando o kit de ensaio HCYTOMAG-60 K (Bio-Rad Laboratórios, Hercules, CA, EUA). As citocinas analisadas foram Eutaxina, Interferon-gama (γ), IL-10, IL-12, IL-13, IL-17ALFA, IL-1BETA (β), IL-5, IL-6, IL-8, TNF-alfa (α). Na análise de citocinas, foram realizados o teste de normalidade nas variáveis, testes de Kolmogorov-smirnov e de Shapiro-wilk, que apresentaram concordância em todas as respostas com valores de $p < 0,05$. Contudo, o teste não paramétrico prevalece por conta da preferência da distribuição não normal. Para as variáveis dos SNVs dos modelos aditivos, foram utilizados os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e, para os modelos dicotômicos recessivos e dominante, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann Whitney.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para o controle da qualidade, foram aplicados os seguintes filtros: equilíbrio de Hardy-Weinberg $< 0,05$, taxa de genotipagem $< 0,98$ e frequência do menor alelo (MAF) $< 1\%$. As análises de associação de variantes genéticas nos genes *SEPT7* e *FMNI* foram realizadas por regressão logística ajustada para as covariáveis idade, obesidade, hábito de respirar pela boca, uso de fio dental, asma e componente principal de ancestralidade 1, em três modelos – aditivo, dominante e recessivo, através do software PLINK 1.9. Os resultados foram apresentados utilizando valores de *odds ratio* (OR), sendo considerado associação positiva (OR >1) e associação negativa com a periodontite (OR <1); intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e foram considerados estatisticamente significativos para valor p e valor p permutacional 10.000 vezes quando menor ou igual a 0,05. A interação gene-gene e a interação gene-ambiente foram realizadas na plataforma SNPStats (<https://snpstats.net>) através de um modelo de regressão logística entre *SEPT7* e *FMNI* com periodontite. Foi avaliada a influência das variantes genéticas de *SEPT7* e *FMNI* na produção de citocinas, conforme descrito no item 2.5. As

análises foram realizadas no SPSS versão 20.0 e os gráficos em R versão 4.0.3 (R: The R Project for Statistical Computação, sd).

3 RESULTADOS

3.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO

O estudo foi composto por uma população formada por 506 indivíduos, 83,2% mulheres (421) e 16,8% homens (85). A Tabela 1 sumariza as frequências absolutas e relativas das características da população estudada (n = 506), comorbidades, histórico odontológico e hábitos de saúde dos indivíduos.

Tabela 1 - Caracterização da população de estudo. Descrição dos participantes com e sem periodontite quanto à parâmetros demográficos, presença de morbidades e saúde bucal.

Característica	Sem periodontite (%)	Com periodontite (%)	p-valor*
	n = 389	n = 117	
> 39 anos	253 (65,0)	88 (75,2)	0,04
Mulher	327 (84,1)	94 (80,3)	0,345
Idade escolar ≤ 4	325 (83,5)	80 (68,4)	<0,001
Comorbidades			
Sobrepeso (IMC ≥ 25)	265 (68,1)	91 (77,8)	0,045
Obesidade (IMC ≥ 30)	102 (26,2)	47 (40,2)	0,004
Hipertensão	99 (25,5)	43 (36,8)	0,017
Diabetes	18 (4,7)	9 (7,7)	0,196
Cardiopatía	10 (2,6)	8 (6,8)	0,029
Hipercolesterolemia	43 (11,1)	15 (12,80)	0,599
Asma	219 (56,3)	95 (81,2)	<0,001
Histórico odontológico			
Respiração bucal	228 (58,6)	91 (77,8)	0,000
Nunca ou ≥ 1 ano/dentista	204 (52,4)	76 (65,0)	0,017
Dente permanente perdido	335 (86,1)	110 (94,0)	0,021
Presença de má oclusão	270 (69,4)	92 (78,6)	0,053
Hábitos de higiene bucal			
Uso de fio dental	221 (56,8)	45 (38,5)	0,000
Uso de enxaguante bucal	148 (38,1)	52 (44,4)	0,215
Troca de escova em menos de 4 meses	269 (69,2)	77 (65,8)	0,496

*Qui-quadrado de Pearson (31)

3.2 ASSOCIAÇÃO ENTRE VARIANTES DO *SEPT7* E *FMN1* E A PERIODONTITE

Foram analisados 16 SNVs do *SEPT7* e 286 do *FMN1*, sendo significativamente associados com periodontite cinco SNVs do gene *SEPT7* e 15 SNVs do gene *FMN1*, avaliados nos modelos genéticos aditivos, recessivos e dominantes. Na Tabela 2, foram listados os SNVs associados com periodontite, alguns apresentaram nos três modelos, enquanto outros, com associação apenas em modelos específicos, seja dominante, aditivo ou recessivo.

No gene *SEPT7*, as cinco variantes foram positivamente associadas. O rs10232178- A e o rs62452828- A foram associados nos modelos aditivo (OR 1,79 e IC 95% 1.27-2.52; OR 1.67 e IC 95% 1.19-2.34, respectivamente), dominante (OR 1.99 e IC 95% 1.26-3.16; OR 1.98 e IC95% 1.25-3.13, respectivamente) (Tabela 2) e, no recessivo, apenas o SNV rs19232178 (OR 2.30 e IC95% 1.17-4.52). Esses SNVs apresentam alto desequilíbrio de ligação ($r^2=0,97$) (Figura 1A), evidenciando uma alta probabilidade de serem herdados juntos, e aumentam a chance do indivíduo de desenvolver a periodontite. O rs2893514-A apresentou associação nos modelos aditivos (OR 1.72 e IC 95% 1.22-2.38), dominante (OR 1.97 e IC 95% 1.24-3.13) e recessivo (OR 2.02 e IC 95% 1.05-3.87). O rs6462629-A apresentou associação nos modelos aditivos (OR 1.59 e IC 95% 1.15-2.21) e dominante (OR 1.84 e IC 95% 1.14-2.95). Na análise do desequilíbrio de ligação, esse SNV junto com o rs62452828 estão em alto desequilíbrio de ligação ($r^2=0,83$) (Fig 1A). O rs12532523-G demonstrou associação apenas no modelo dominante (OR 3.20 e IC 95% 1.22-8.39).

No gene *FMN1*, dos 15 SNV analisados, oito SNVs apresentaram associação positiva e sete SNVs, associação negativa com a periodontite (Tabela 2). Entre os SNVs do gene *FMN1* associados positivamente à periodontite estão o rs74011985- C nos modelos aditivos (OR 1.58 e IC 95% 1.05 -2.34) e dominante (OR 1.73 e IC 95% 1.09-2.75); o rs345800- G no modelo dominante (OR 1.64 e IC 95% 1.05-2.55). O rs66965190- A apresentou associação positivamente apenas no modelo aditivo (OR 1.44 e IC 95% 1.01-2.08). No modelo dominante, o rs12899690- A demonstrou associação positivamente a periodontite (OR 3.36 e IC 95% 7.12-1.58), assim como o rs41473744 (OR 2.64 e IC 95% 5-1.4). Ainda no modelo dominante, os seguintes SNVs também apresentaram associação positiva: rs345749- A (OR 2.12 e IC 95% 3.61-1.24); o rs28552593- G (OR 1.96 e IC 95% 3.67-1.05) e o rs17229020- G (OR 2.41 e IC 95% 5.72-1.02).

Entre os SNVs associados negativamente estão o rs12438573- T, no modelo dominante (OR 0.33 e IC 95% 0.15-0.78), o rs61123978-A associado no modelo aditivo (OR 0.6 e IC95 % 0.36-0.96) e no modelo dominante (OR 0.5 e IC 95% 0.08-0.29). O rs16966391-A também apresentou associação negativa no modelo dominante (OR 0.56 IC 95% 0.355-0.89), tal qual o rs73370857-A (OR 0.42 e IC 95% 0.18-0.97) e o rs79009592- G (OR 0.22 e IC 95% 0.05-0.98). No modelo recessivo, o rs2306277- G e o rs1871362- G também apresentaram associação negativa com a periodontite (OR 0.43 e IC 95% 0.23-0.80) (OR 0.45 e IC 95% 0.21-0.95) respectivamente.

Tabela 2: : Associações estatisticamente significantes entre variantes do gene *SEPT7* e a periodontite.

<i>SEPT7</i>									
SNV	A1/A2	Modelo	Genótipo	Sem periodontite (%)	Com periodontite (%)	OR*	IC95%	p-valor	perm p
rs10232178	A/C	ADD	CC	180(46.4%)	38(32.5%)	1.79	1.28-2.52	0.0007661	0.27 <0,001
			CA	171(44.1%)	62(53%)				
			AA	37(9.5%)	17(14.5%)				
		DOM	CC	180(46.4%)	38(32.5%)	1.99	1.26-3.17	0.003259	0.003624
			AA+CA	208(53.6%)	79(67.5%)				
		REC	CC+CA	351(90.5%)	100(85.5%)	2.30	1.17-4.53	0.01539	0.01384
AA	37(9.5%)		17(14.5%)						
rs62452828	A/G	ADD	GG	180(40.9%)	38(32.5%)	1.68	1.20-2.34	0.002571	0.003288
			GA	169(43.4%)	63(53.8%)				
			AA	40(10.3%)	16(13.7%)				
		DOM	GG	180(46.3%)	38(32.5%)	1.99	1.25-3.14	0.003602	0.003547
			AA+GA	209(53.7%)	79(67.5%)				
		rs2893514	A/C	ADD	CC	180(46.3%)	38(32.5%)	1.71	1.23-2.38
CA	169(43.4%)				61(52.1%)				
AA	40(10.3%)				18(15.4%)				
DOM	CC			180(46.3%)	38(32.5%)	1.98	1.25-3.13	0.003701	0.004177
	AA+CA			209(53.7%)	79(67.5%)				
REC	CC+CA			349(89.7%)	99(84.6%)	2.02	1.06-3.88	0.03375	0.04751
	AA	40(10.3%)	18(15.4%)						
rs6462629	A/G	ADD	GG	159(40.9%)	34(29.1%)	1.59	1.15-2.21	0.004761	0.006614
			GA	181(46.5%)	62(53%)				
			AA	49(12.6%)	21(18%)				
		DOM	GG	159(40.9%)	34(29.1%)	1.84	1.15-2.95	0.01119	0.01126
			AA+GA	230(59.1%)	83(70.9%)				
		rs12532523	G/A	DOM	AA	373(95.9%)	109(93.2%)	3.21	1.22-8.34
GG+AG	16(4.1%)				8(6.8%)				

Tabela 3: Associações estatisticamente significantes entre variantes do gene *FMN1* e a periodontite.

<i>FMNI</i>																																																																																																																																																																																																																											
SNV	A1/A2	Modelo	Genótipo	Sem periodontite (%)	Com periodontite (%)	OR*	IC95%	P-valor	perm p																																																																																																																																																																																																																		
rs12438573	T/A	DOM	AA	325 (83.5%)	110 (94%)	0.34	0.15-0.78	0.011	0.013																																																																																																																																																																																																																		
			TT+AT	64 (16.5%)	7 (6%)					rs61123978	A/C	ADD	CC	275 (70.7%)	95 (81.2%)	0.59	0.36-0.96	0.035	0.039	CA	107 (27.5%)	19 (16.2%)	DOM	AA	7 (1.8%)	3 (2.6%)	0.49	0.08-0.29	0.011	0.010	CC	275 (70.7%)	95 (81.2%)	rs16966391	A/G	DOM	AA+CA	114 (29.3%)	22 (18.8%)	0.56	0.35-0.89	0.016	0.013	GG	213 (54.8%)	76 (65%)	rs74011985	C/A	ADD	AA+GA	17 (45.2%)	41 (35%)	1.57	1.05-2.34	0.029	0.038	AA	289 (74.3%)	73 (62.4%)	DOM	AC	91 (23.4%)	40 (34.2%)	1.73	1.09-2.7	0.021	0.019	CC	9(2.3%)	4 (3.4%)	rs345800	G/A	DOM	AA	289 (74.3%)	73 (62.4%)	1.64	1.05-2.56	0.028	0.026	CC+AC	100 (25.7%)	44 (37.6%)	rs66965190	A/G	ADD	AA	210 (54%)	51 (43.6%)	1.45	1.01-2.08	0.045	0.035	GG	252 (64.8%)	63 (53.8%)	GA	119 (30.6%)	47 (40.2%)	rs73370857	A/G	DOM	AA	18 (4.6%)	7 (6%)	0.42	0.18-0.98	0.043	0.031	GG	338 (86.9%)	109 (93.2%)	rs79009592	G/A	DOM	AA+GA	51 (13.1%)	8 (6.8%)	0.22	0.05-0.99	0.048	0.030	AA	360 (92.5%)	115 (98.3%)	rs2306277	G/A	REC	GG+AG	29 (7.5%)	2 (1.7%)	0.43	0.23-0.80	0.008	0.007	AA+AG	296 (76,1%)	102 (87,2%)	rs1871362	G/A	REC	GG	93 (24%)	15 (88,2%)	0.45	0.22-0.95	0.037	0.038	AA+AG	332(85,3%)	107(91,4%)	rs12899690	A/G	DOM	GG	57(14,6%)	10(8,5%)	3.36	7.12-1.58	0.002	0.0009	AA+GA	368(94.6%)	101(86.3%)	rs41473744	A/G	DOM	GG	21(5.4%)	16(13.7%)	2.64	4.99-1.39	0.003	0.0022	AA+GA	357(91.8%)	96(82.1%)	rs345749	A/G	DOM	GG	32(8.2%)	21(17.9%)	2.12	3.62-1.24	0.006	0.005	AA+GA	125(32.1%)	23(19.7%)	rs28552593	G/A	DOM	AA	264(67.9%)	94(80.3%)	1.96	3.66-1.05	0.035	0.045	GG+AG	348(89.5%)	97(82.9%)	rs17229020	G/A	DOM	AA	41(10.5%)	20(17.1%)	2.42	5.72-1.02	0.045	0.026	GG+AG	373(95.9%)	107(91.5%)			
rs61123978	A/C	ADD	CC	275 (70.7%)	95 (81.2%)	0.59	0.36-0.96	0.035	0.039																																																																																																																																																																																																																		
			CA	107 (27.5%)	19 (16.2%)																																																																																																																																																																																																																						
		DOM	AA	7 (1.8%)	3 (2.6%)	0.49	0.08-0.29	0.011	0.010																																																																																																																																																																																																																		
			CC	275 (70.7%)	95 (81.2%)																																																																																																																																																																																																																						
rs16966391	A/G	DOM	AA+CA	114 (29.3%)	22 (18.8%)	0.56	0.35-0.89	0.016	0.013																																																																																																																																																																																																																		
			GG	213 (54.8%)	76 (65%)																																																																																																																																																																																																																						
rs74011985	C/A	ADD	AA+GA	17 (45.2%)	41 (35%)	1.57	1.05-2.34	0.029	0.038																																																																																																																																																																																																																		
			AA	289 (74.3%)	73 (62.4%)																																																																																																																																																																																																																						
		DOM	AC	91 (23.4%)	40 (34.2%)	1.73	1.09-2.7	0.021	0.019																																																																																																																																																																																																																		
			CC	9(2.3%)	4 (3.4%)																																																																																																																																																																																																																						
rs345800	G/A	DOM	AA	289 (74.3%)	73 (62.4%)	1.64	1.05-2.56	0.028	0.026																																																																																																																																																																																																																		
			CC+AC	100 (25.7%)	44 (37.6%)																																																																																																																																																																																																																						
rs66965190	A/G	ADD	AA	210 (54%)	51 (43.6%)	1.45	1.01-2.08	0.045	0.035																																																																																																																																																																																																																		
			GG	252 (64.8%)	63 (53.8%)																																																																																																																																																																																																																						
			GA	119 (30.6%)	47 (40.2%)																																																																																																																																																																																																																						
rs73370857	A/G	DOM	AA	18 (4.6%)	7 (6%)	0.42	0.18-0.98	0.043	0.031																																																																																																																																																																																																																		
			GG	338 (86.9%)	109 (93.2%)																																																																																																																																																																																																																						
rs79009592	G/A	DOM	AA+GA	51 (13.1%)	8 (6.8%)	0.22	0.05-0.99	0.048	0.030																																																																																																																																																																																																																		
			AA	360 (92.5%)	115 (98.3%)																																																																																																																																																																																																																						
rs2306277	G/A	REC	GG+AG	29 (7.5%)	2 (1.7%)	0.43	0.23-0.80	0.008	0.007																																																																																																																																																																																																																		
			AA+AG	296 (76,1%)	102 (87,2%)																																																																																																																																																																																																																						
rs1871362	G/A	REC	GG	93 (24%)	15 (88,2%)	0.45	0.22-0.95	0.037	0.038																																																																																																																																																																																																																		
			AA+AG	332(85,3%)	107(91,4%)																																																																																																																																																																																																																						
rs12899690	A/G	DOM	GG	57(14,6%)	10(8,5%)	3.36	7.12-1.58	0.002	0.0009																																																																																																																																																																																																																		
			AA+GA	368(94.6%)	101(86.3%)																																																																																																																																																																																																																						
rs41473744	A/G	DOM	GG	21(5.4%)	16(13.7%)	2.64	4.99-1.39	0.003	0.0022																																																																																																																																																																																																																		
			AA+GA	357(91.8%)	96(82.1%)																																																																																																																																																																																																																						
rs345749	A/G	DOM	GG	32(8.2%)	21(17.9%)	2.12	3.62-1.24	0.006	0.005																																																																																																																																																																																																																		
			AA+GA	125(32.1%)	23(19.7%)																																																																																																																																																																																																																						
rs28552593	G/A	DOM	AA	264(67.9%)	94(80.3%)	1.96	3.66-1.05	0.035	0.045																																																																																																																																																																																																																		
			GG+AG	348(89.5%)	97(82.9%)																																																																																																																																																																																																																						
rs17229020	G/A	DOM	AA	41(10.5%)	20(17.1%)	2.42	5.72-1.02	0.045	0.026																																																																																																																																																																																																																		
			GG+AG	373(95.9%)	107(91.5%)																																																																																																																																																																																																																						
			AA	16(4.1%)	100(8.5%)																																																																																																																																																																																																																						

Legenda da Tabela 3: A1/A2- menor alelo / alelo selvagem; ADD- modelo aditivo; DOM- modelo dominante; REC- modelo recessivo; OR- odds ratio; IC95%- intervalo de confiança- 95%, p-valor - valor de p estatisticamente significante < 0.05 (valores em negrito) perm p- valor de p permutacional.

3.3 DESCRIÇÃO DE FREQUÊNCIA E IMPACTO FUNCIONAL DAS VARIANTES ESTUDADAS ASSOCIADAS À PERIODONTITE

Em relação ao gene *SEPT7*, as variantes genéticas que tiveram a maior frequência do menor alelo na população estudada foram rs2893514 e rs6462629 com um MAF variando entre 34% e 37%, ambos apresentam função intrônica. Em relação ao gene *FMNI*, as variantes genéticas que mostraram maior frequência do menor alelo foram rs1871362, rs12904870 e rs2306277, com um MAF variando entre 38% e 48%. Os outros alelos são íntrons e apenas o rs2306277 apresenta a função *missense*, que pode impactar na sequência de codificação. Nas análises das variantes genéticas na plataforma RegulomeDB, as pontuações mais significativas dos SNVs dos genes estudados foram os rs345800, rs74011985 e rs2306277 do *FMNI* (Tabela 4).

Tabela 4: Descrição genética e funcional das variantes dos genes *SEPT7* e *FMNI*.

<i>SEPT7</i>						
SNV	MAF	A1	A2	Função	RegulomeDB (score)	HWE
rs10232178	0.34	A	C	intron	5 (0,13)	0,55
rs62452828	0.34	A	G	intron	6 (0,49)	0,44
rs2893514	0.34	A	C	intron	5 (0,13)	0,92
rs6462629	0.38	A	G	intron	6 (0,372)	0,70
rs12532523	0.02	G	A	intron	6(0,2167)	
<i>FMNI</i>						
SNV	MAF	A1	A2	Função	Regulome DB (score)	HWE
rs12438573	0,073	T	A	intron	6 (0,627)	0,74
rs61123978	0,144	A	C	intron	6 (0,091)	1
rs16966391	0,245	A	G	intron	5 (0,134)	0,90
rs74011985	0,155	C	A	intron	2b (0,741)	0,73
rs345800	0,275	G	A	intron	1f (0,553)	0,37
rs66965190	0,213	A	G	intron	4 (0,704)	0,59
rs73370857	0,0612	A	G	intron	5 (0,134)	0,42
rs79009592	0,0306	G	A	intron	5 (0,69)	1
rs2306277	0,461	G	A	missense	2b (0,866)	1
rs1871362	0,381	G	A	intron	5(0,589)	0,25

rs12904870	0,454	A	G	intron	5(0,416)	0,53
------------	-------	---	---	--------	----------	------

Legenda da Tabela 4: SNV: variante de nucleotídeo único. MAF: frequência de menor alelo. A1: menor alelo. A2: alelo ancestral. DBSNP: função em DBSNP. RegulomeDB: Previsão para SNV do RegulomeDB. HWE: Equilíbrio de Hardy Weinberg.

3.4 ANÁLISE DO DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO

Considerando o coeficiente de determinação $r^2 > 0,8$ como forte desequilíbrio de ligação, algumas variantes demonstraram valores que refletem alta correlação entre si no gene *SEPT7*: rs10232178 e rs62452828 ($r^2=0,978$), rs2893514 e rs10232178 ($r^2 = 0,987$), rs2893514 e rs62452828 ($r^2 = 0,974$), rs2893514 e rs6462629 ($r^2 = 0,837$), rs6462629 e rs10232178 ($r^2 = 0,841$), bem como rs6462629 e rs62452828 ($r^2 = 0,829$)(Fig. 1A). Na análise do desequilíbrio de ligação entre os SNVs do gene *FMNI*, foram observadas variantes apenas com baixa correlação: rs16966391 e rs61123978 ($r^2 = 0,519$).

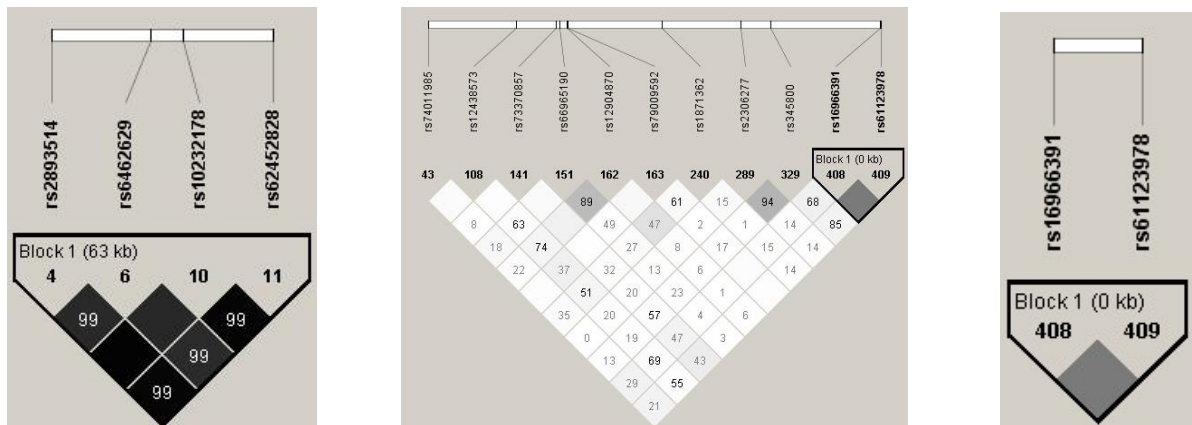


Figura 5: Análise do desequilíbrio de ligação (DL) realizada no programa Haploview usando o R^2 para os SNV associados no gene *SEPT7* (Figura 1A) e *FMNI* (Figura 1B, SNVs com significância no desequilíbrio de ligação; e 1C, panorama geral do desequilíbrio de ligação). A intensidade da cor e o valor no quadrado, considerado valores de r^2 em uma escala em que quadrados sólidos em preto ($r^2 \geq 0,8$) expressam correlação alta, em escala de cinza expressam correlação intermediária e em branco mostram correlação baixa, representando o grau de confiança no valor de R^2 e o quanto os SNV estão em desequilíbrio de ligação.

3.5 ANÁLISE DE INTERAÇÃO GENE-AMBIENTE

Foram realizadas análises de interação gene-ambiente nos genes desse estudo, nos modelos aditivos, recessivo e dominante. Na análise entre variantes genéticas, uso de fio dental e periodontite, no gene *SEPT7*, houve significância estatística no modelo recessivo nos SNVs listados na tabela 5. Indivíduos com os genótipos C/C e A/C da variante rs2893514 e que usam

fio dental possuem associação negativa com a periodontite [OR (IC95%) 0.39 (0.24-0.63) p-valor 0.036] quando comparados com indivíduos que possuem o mesmo genótipo e que não usam fio dental (Tabela 1). Além disso, considerando apenas os indivíduos que usam fio dental, aqueles com genótipo A/A estão 3.93 vezes mais associados com periodontite [OR (IC95%) 3.93 (1.64-9.42) p-valor 0.036] quando comparados com os genótipos C/C e A/C.

Indivíduos com genótipos G/G e A/G da variante rs6462629 e que usam fio dental possuem associação negativa com a periodontite [OR (IC95%) 0.37 (0.23-0.61) p-valor 0.019] quando comparados com pessoas que apresentam o mesmo genótipo e que não usam fio dental. Ao considerar todos os indivíduos que usam fio dental, a presença do genótipo A/A aumenta em 3.70 vezes a chance de apresentar periodontite [OR (IC95%) 3.70 (1.63-8.39) p-valor 0.019] em relação aos demais genótipos.

Em relação a variante rs10232178, indivíduos com genótipos C/C e A/C e que usam fio dental possuem associação negativa com a presença de periodontite [OR (IC95%) 0.39 (0.24-0.63) p-valor 0.036] quando comparados a pessoas com o mesmo genótipo e que não usam fio dental. Aqueles com genótipo A/A possuem 4.40 mais chances de desenvolver periodontite [OR (IC95%) 4.40 (1.82-10.64) p-valor 0.036] do que pessoas que usam fio dental e possuem genótipos C/C ou A/C da mesma variante genética.

Tabela 5: Análise de interação entre genótipos de variantes genéticas do gene *SEPT7* associados à periodontite e uso de fio dental.

<i>SEPT7</i>								
SNV	Modelo	Genótipo	Uso de fio dental	Sem periodontite (%)	Com Periodontite (%)	OR (IC 95%)	P-valor	
rs2893514	REC	C/C-A/C	não	150 (33,5%)	65 (14,5%)	1	0.036	
			sim	199 (22,1%)	34 (7,6%)	0.39 (0.24-0.63)		
		C/C-A/C	sim	199(74,8%)		34(12,8%)		1
		A/A		22(8,3%)	11(4,1%)	3.93 (1.64-9.42)		
rs6462629	REC	G/G-A/G	não	144(33,1%)	64(14,7%)	1	0.019	
			sim	196(45%)	32(7,3%)	0.37 (0.23-0.61)		
		G/G-A/G	sim	196(73,7%)		32(12,1%)		1
		A/A		25(9,4%)	13(4,9%)	3.70 (1.63-8.39)		
rs10232178	REC	C/C-A/C	sim	199(44,1%)	34(7,5%)	0.39 (0.24-0.63)	0.036	
		C/C-A/C	sim	199(75,1%)		34(12,9%)		1
		A/A		21(8%)	11(4,1%)	4.40 (1.82-10.64)		

SNV: variante de nucleotídeo único; OR: *oddis ratio*.

As análises de interação gene-ambiente, no modelo recessivo, mostram que, considerando o gene *SEPT7*, indivíduos com os genótipos C/C e A/C no rs2893514; indivíduos com os genótipos G/G e A/G no rs6462629; e indivíduos com os genótipos C/C e A/C no rs10232178 e que usam fio dental, apresentam 6.1 vezes, 6,3 vezes e 6.1 vezes, respectivamente, menos chance de desenvolver a doença quando comparados com pessoas que possuem mesmo genótipo e que não usam fio dental. Além disso, quando se observa entre todos os genótipos (C/C, A/C e A/A), aqueles que usam o fio dental (sim) no rs2893514 (A/A), no rs6462629 (A/A) e no rs10232178 (A/A) possuem uma associação positiva com 3.93 vezes, 3.70 vezes e 4.40 vezes, respectivamente, mais de chances de desenvolver a periodontite (Tabela 5).

Tabela 6: Análise de interação entre genótipos de variantes genéticas do gene *FMNI* associados à periodontite e idade.

<i>FMNI</i>							
SNV	Modelo	Genótipo	Idade	Sem periodontite (%)	Com periodontite (%)	OR (95%CI)	p-valor
rs345800	ADD	A/A	≥ 40 anos	133 (41,7%)	35 (11%)	1	0.046
		G/A	> 39 anos	101 (31,7%)	50 (15,7%)	2.16 (1.27-3.69)	
rs73370857	ADD e DOM	G/G	< 40 anos	123 (27,5%)	25 (5,6%)	1	0.0048
			> 39 anos	215 (48,1%)	84(18,8%)	1.82 (1.08-3.07)	

Legenda: 0 – pessoas menores de 40 anos; 1- pessoas maiores ou igual a 40 anos.

No gene *FMNI*, na associação com idade, foi observado que pessoas com genótipo G/A na variante rs345800 e acima de 39 anos [OR = 2.16; IC95% = 1.27 – 3.69; p-valor = 0.046] apresentam 2,16 mais chances de desenvolver periodontite do que pessoas com o genótipo A/A nas mesmas condições etárias (Tabela 6).

Ao analisar o SNV rs73370857, pessoas maiores de 39 anos que possuem o genótipo G/G apresentam 1,82 mais chances de desenvolver periodontite do que aqueles que possuem o mesmo genótipo, mas com 39 anos ou menos, com OR = 1.82; IC95% = 1.08 – 3.07 e p-valor = 0.0048.

3.6 ANÁLISE DE INTERAÇÃO GENE-SCORE

A interação entre os genes *SEPT7* e *FMNI* foi avaliada através da interação de todos SNVs associados à periodontite neste estudo, utilizando a plataforma SNPStats por meio de um modelo de regressão logística. Verificou-se a associação entre a presença dos alelos de risco e a periodontite, tendo como covariáveis idade dicotomizada, obesidade, hábito de respiração bucal, uso de fio dental ao menos uma vez ao dia, presença de asma e componente principal de ancestralidade. Constatou-se que a presença de 14 alelos de risco no indivíduo reduz em 56% as chances de desenvolver periodontite frente aos indivíduos que possuem 13 ou menos alelos de risco (OR = 0.44; IC95% = 0.22 – 0.89; p-valor = 0.02) (Tabela 7).

Tabela 7 - Análise de interação entre um alelo de risco de cada um dos 2 genes juntos que formam os haplótipos associados à periodontite.

Número de alelos	Sem periodontite (%)	Com periodontite (%)	OR (95% IC)	p-valor
≤13	75 (54.7%)	42 (71.2%)	1.00	0.02
>14	62 (45.3%)	17 (28.8%)	0.44 (0.22-0.89)	
≤17	265 (68.1%)	98 (83.8%)	1.00	0.0004
>18	124 (31.9%)	19 (16.2%)	0.37 (0.21-0.64)	
≤18	12 (19.7%)	8 (61.5%)	1.00	0.0019
>19	49 (80.3%)	5 (38.5%)	0.10 (0.02-0.48)	

Observou-se também que a presença de 18 alelos de risco no indivíduo reduz em 63% as chances de desenvolver periodontite frente aos indivíduos que possuem 17 ou menos alelos de risco (OR = 0.37; IC95% = 0.21 – 0.64; p-valor= 0.0004). A presença de 19 alelos de risco das variantes estudadas reduz em 90% as chances de desenvolver periodontite frente aos indivíduos que possuem 18 ou menos alelos de risco (OR = 0.10; IC95% = 0.02 – 0.48; p-valor = 0.0019) (Tabela 7).

3.7 INFLUÊNCIA DE VARIANTES NOS GENES *SEPT7* E *FMNI* NA PRODUÇÃO DE CITOCINAS

Os resultados da associação entre variantes genéticas associadas à periodontite neste estudo e a produção de citocinas estão sumarizados na tabela 7 e nos gráficos da figura 2. Há diferenças entre as medianas dos valores de produção de IFN- γ e o genótipo no modelo dominante da variante genética rs61123978, bem como a variante rs345800 no modelo dominante, ambos no gene *FMNI* associados à periodontite. A produção de IL-17A se mostrou medianamente diferente com a presença das variantes rs74011985 no modelo dominante e rs1871362 no modelo recessivo. Há diferença entre a produção mediana de IL-10 e a presença do genótipo dominante da variante rs61123978, também há diferença entre os valores medianos de IL-5 e a presença do genótipo dominante da variante rs79009592 na população estudada.

Há distinção entre a mediana dos valores de produção de IL-5 e o genótipo no modelo dominante da variante rs12532523 do gene *SEPT7* associados à periodontite, também há diferença entre a os valores medianos de IL-13 e a presença do genótipo dominante da variante rs6462629 na população estudada.

Tabela 8: Influência de variantes no gene *SEPT7* e *FMNI* com a produção de citocinas.

<i>SEPT7</i>							
SNV	A1/A2	Modelo	Genótipo	Sem periodontite (%)	Com periodontite (%)	IL-5 p-valor	IL-13 p-valor
rs6462629	A/G	DOM	GG	159(40.9)	34(29.1)	-	0.019
			AA+GA	230(59.1)	83(70.9)		
rs12532523	G/A	DOM	AA	373(95.9)	109(93.2)	0.035	-
			GG+AG	16(4.1)	8(6.8)		

<i>FMNI</i>									
SNV	A1/A2	Modelo	Genótipo	Sem periodontite (%)	Com periodontite (%)	IFN γ p-valor	IL-17A p-valor	IL-10 p-valor	IL-5 p-valor
rs61123978	A/C	DOM	CC	275 (70.7%)	95 (81.2%)	0.021	-	0.019	-
			AA+CA	114 (29.3%)	22 (18.8%)				
rs74011985	C/A	DOM	AA	289 (74.3%)	73 (62.4%)	-	0.043	-	-
			CC+AC	100 (25.7%)	44 (37.6%)				
rs345800	G/A	DOM	AA	210 (54%)	51 (43.6%)	0.013	-	-	-
			GG+AG	179 (46%)	66 (56.4%)				
rs79009592	G/A	DOM	AA	360 (92.5%)	115 (98.3%)	-	-	-	0.041
			GG+AG	29 (7.5%)	2 (1.7%)				
rs1871362	G/A	REC	AA+AG	143(36.8%)	44(37.6%)	-	0.002	-	-
			GG	246(63.2%)	73(62.4%)				

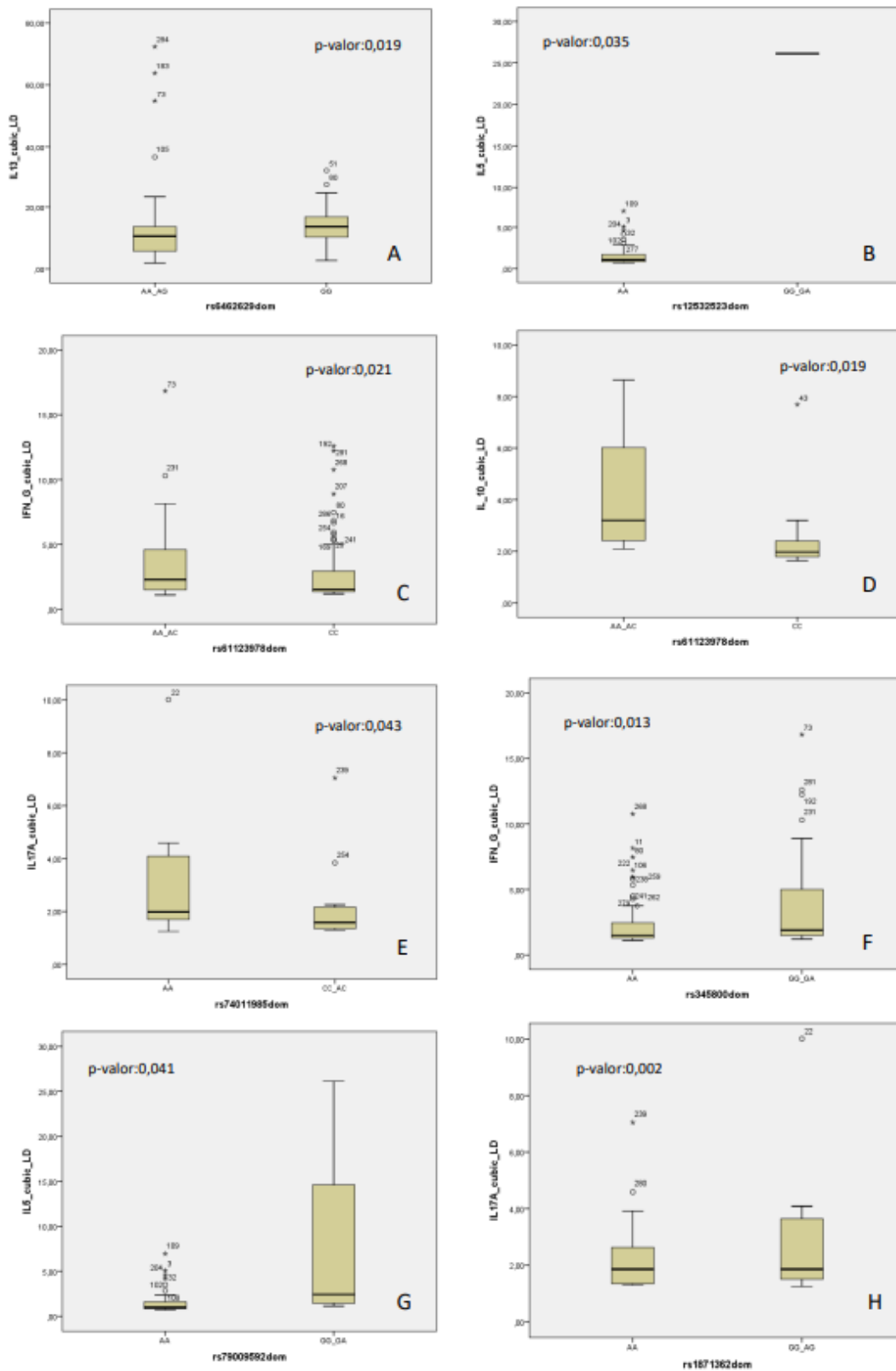


Figura 6: Influência de variantes dos genes *SEPT7* e *FMNI* com a produção de citocinas (pg/mL). Produção de citocina de acordo com os genótipos: IL-13 (A) rs6462629, IL-5 (B) rs12532523, IFN γ (C) rs61123978, IL-10 (D) rs61123978, IL-17A (E) rs74011985, IFN γ (F) rs345800, IL-5 (G) rs79009592, IL-17A (H) rs1871362.

3.8 ANÁLISE *IN SILICO* DA EXPRESSÃO DOS SNV DE *SEPT7* E *FMNI*

O resultado desta análise mostrou uma associação entre variantes dos genes *SEPT7* e *FMNI* deste estudo e a expressão em células primárias de fibroblastos dérmicos adultos, células primárias osteoblásticas e em células primárias mononucleares do sangue periférico.

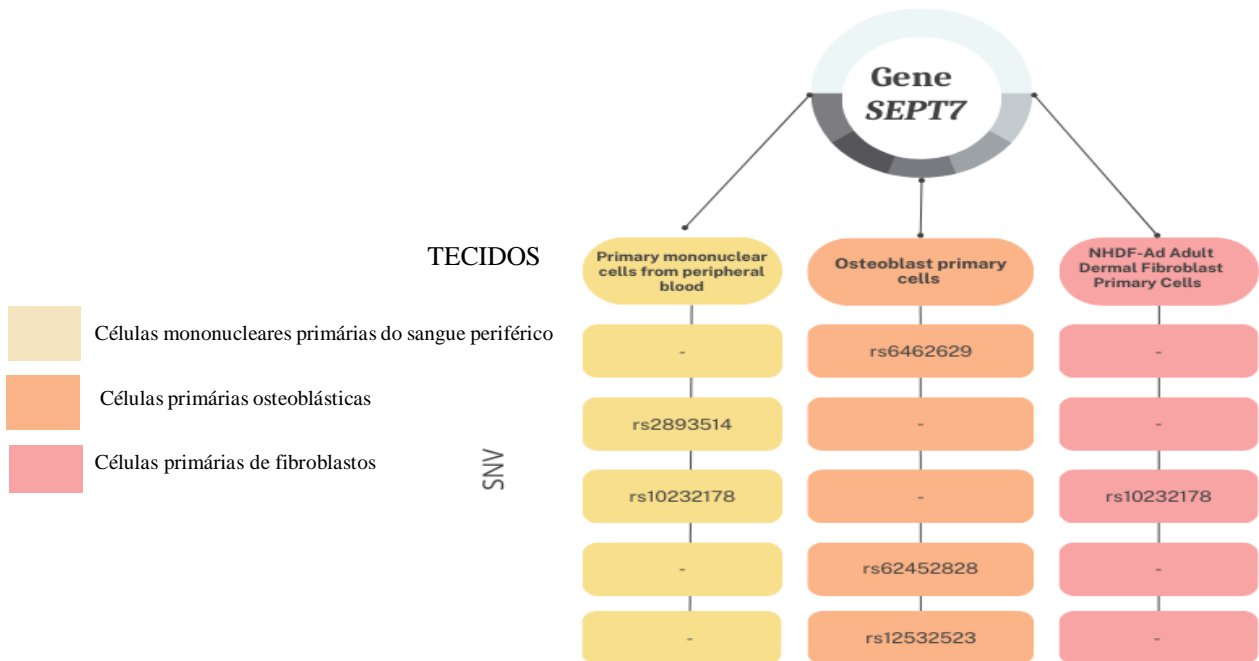


Figura 7: Análise *in silico* da expressão dos SNV de *SEPT7* no sangue total, em outros tecidos com fibroblastos e osteoblastos primários elaborado por meio do programa HaploReg 4.2. Fonte: Dados do estudo – Autoria.

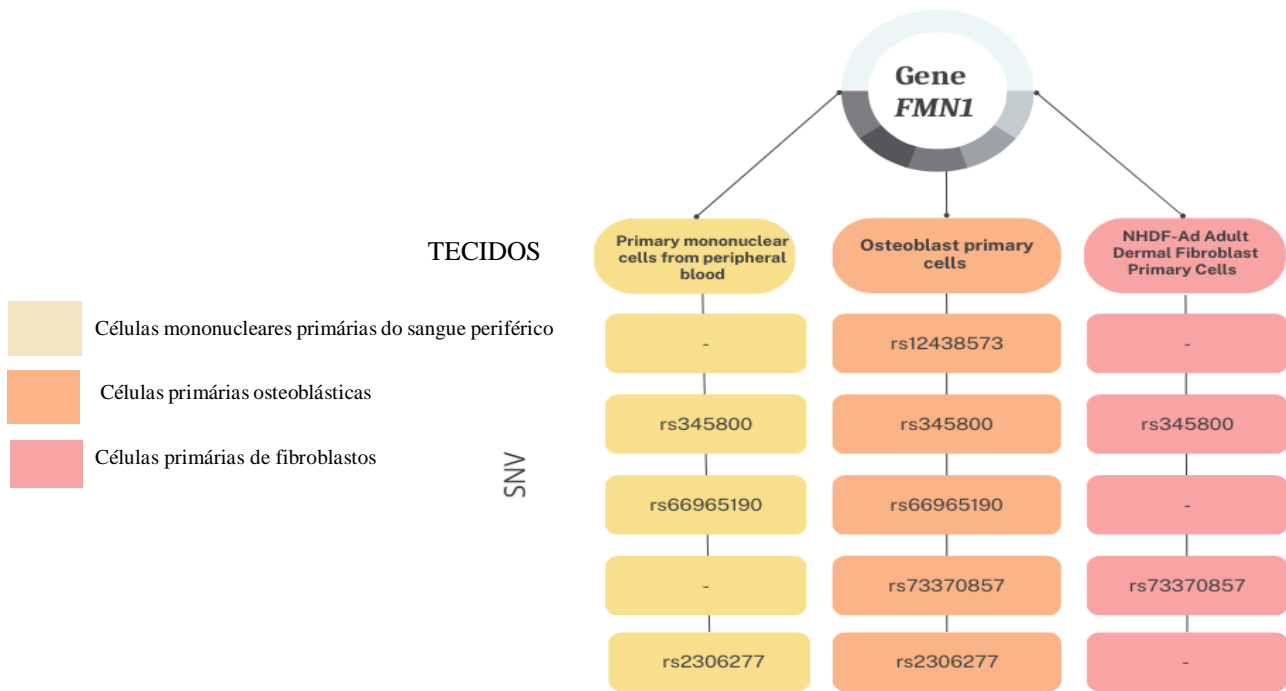


Figura 8: Análise *in silico* da expressão dos SNV de *FMNI* no sangue total, em outros tecidos com fibroblastos e osteoblastos primários elaborado por meio do programa HaploReg 4.2. Fonte: Dados do estudo – Autoria.

4 DISCUSSÃO

Este foi o primeiro estudo de associação genômica a avaliar a correlação de variantes nos genes *SEPT7* e *FMNI* com periodontite em uma população brasileira. Diversos estudos estabelecem conexão entre genes relacionados com a regulação dos processos inflamatórios e o metabolismo ósseo e a periodontite, essenciais para a progressão e início dessa doença (14, 27). Entretanto, neste contexto, não foram encontrados estudos na literatura com genes da família das septinas e forminas. Além de caracterizar os genes e suas associações com a periodontite, foi investigada a probabilidade de determinadas variantes genéticas, quando herdadas juntas ou individualmente, estarem associadas de forma positiva ou negativa ao diagnóstico da periodontite.

O *SEPT7*, membro da família das septinas, são proteínas que atuam na manutenção da dinâmica dos microtúbulos no tráfego de membranas celulares (15). Neste estudo, cinco variantes do gene *SEPT7* (rs10232178-A, rs62452828- A, rs2893514-A, rs6462629- A, rs12532523-G) foram associadas, em modelos específicos, positivamente a periodontite – seja dominante, aditivo e/ou recessivo. Ademais, na análise do desequilíbrio de ligação, essas variantes demonstraram valores que refletem alta correlação entre si, apresentando uma alta probabilidade de serem herdadas juntas e aumentarem a chance do indivíduo de desenvolver a periodontite.

Algumas variáveis podem ser fatores preditivos para o desenvolvimento da periodontite, como uso de fio dental e idade, reforçando evidências da literatura que apontam para a importância do uso do fio dental na remoção do biofilme e o papel deste no desenvolvimento da periodontite (28, 29). Neste estudo, no *SEPT7*, indivíduos com rs2893514 (C/C e A/C); indivíduos com rs6462629 (G/G e A/G); e indivíduos com rs10232178 (C/C e A/C) e que usam fio dental apresentam uma menor chance de desenvolver a doença, isto quando comparados com pessoas que possuem mesmo genótipo e que não usam fio dental. Não obstante, nessa população, considerando todos os genótipos (C/C, A/C e A/A), indivíduos que usam o fio dental, mas possuem no rs2893514 (A/A); no rs6462629 (A/A); e no rs10232178 (A/A), têm associação positiva e chances aumentadas de desenvolver a periodontite. Estes dados reforçam o caráter multifatorial da periodontite e do papel associado de fatores de risco comportamentais e genéticos (30). A idade também foi analisada e considerada um fator ligado a variantes genéticas que foram associadas à periodontite.

A expressão das variantes dos genes *SEPT7* e *FMNI* nos tecidos que podem ter associação com a periodontite, como fibroblastos, osso alveolar, ligamento periodontal e sangue, até o momento não foi identificada, dessa forma, investigamos a presença destas variantes em células primárias de fibroblastos dérmicos adultos, células primárias osteoblásticas e em células primárias mononucleares do sangue periférico. Em análises *in silico* desse estudo, as variantes do gene *SEPT7* (rs10232178 e o rs62452828), que apresentam uma alta probabilidade de serem herdadas juntas, demonstraram uma associação com a expressão com células primárias de fibroblastos dérmicos adultos (rs10232178), células primárias osteoblásticas (rs6462629, rs62452828, rs12532523) e em células primárias mononucleares do sangue periférico (rs2893514, rs10232178). Ao verificar a possibilidade dessas variantes serem herdadas juntas e a expressão em tecidos que podem apresentar relação com a periodontite, podemos inferir que possuir as duas variantes (rs10232178 e rs62452828) associadas positivamente nos três modelos analisados aumenta a probabilidade de o indivíduo desenvolver a doença.

Ao examinar a expressão em tecidos das variantes do gene *FMNI*, relacionado à codificação de uma proteína que atua na composição de junções aderentes e cabos de actina (38), positiva e negativamente ligados à periodontite, observamos relação em células primárias do sangue periférico (rs345800, rs66965190, rs2306277), em células primárias osteoblásticas (rs12438573, rs345800, rs66965190, rs73370857, rs2306277) e em células primárias de fibroblastos dérmicos adultos (rs345800, rs73370857).

No que se refere a interação gene/gene, denotamos que ao herdar variantes genéticas dos dois genes analisados, a depender da quantidade de alelos de risco herdados, podemos reduzir entre 60% a 90% a chance de desenvolver a periodontite. Dentro do contexto da periodontite, há inúmeras citocinas que atuam como potencializadores do processo inflamatório e outras, como reguladores, reduzindo a patogenicidade da doença com uma modulação da resposta do hospedeiro (19). Dessa forma, neste estudo foi descrita a associação dos SNVs com citocinas pró-inflamatórias.

A IL-13 foi associada com a variante rs6462629-A (*SEPT7*), associada positivamente a periodontite nesse estudo. Em um estudo elaborado por Gonzales e colaboradores (28), essa citocina foi verificada nas células T de pacientes com periodontite agressiva e possui um efeito significativo na remodelação tecidual, uma vez que a IL-13 é um regulador da matriz extracelular nos fibroblastos presentes nas gengivas (29). Também positivamente associada a periodontite, o alelo G da variante 12532523 foi associado a IL-5.

Nas análises das variantes do gene *FMNI*, o alelo G do rs345800 foi associado positivamente a periodontite e com expressão em células primárias de fibroblastos adultos dérmicos e em osteoblastos. Além disso, apresentou relação com a produção de IFN- γ , citocina responsável por atuar na resposta inflamatória aguda e crônica, recrutando macrófagos e elevando o número de células fagocitárias no local da inflamação (18). Outro papel relevante na periodontite relacionada à INF- γ é a sua capacidade de suprimir a formação de osteoclastos, atuando sobre os macrófagos da medula óssea que são as células precursoras dos osteoclastos, sendo esta célula e os osteoblastos fortemente implicados nos processos de inflamação e alteração do metabolismo ósseo que caracterizam a periodontite (19). Adicionalmente, a variante genética rs61123978 também foi associada ao IFN- γ , confirmando mais uma associação da periodontite com variantes do gene *FMNI* (30). Essa mesma variante apresentou associação com a IL-10.

A variante genética rs61123978-A do *FMNI*, associada negativamente à periodontite no nosso estudo, apresentou associação com a IL-10, atestando mais uma descoberta sobre a sua influência do *FMNI* na doença em questão (30). A IL-10 é descrita como uma citocina anti-inflamatória com papel significativo na periodontite e, em algumas populações, relacionada ao desenvolvimento desta doença quando observadas em estudos de associação genética de variantes nos genes dessa citocina, assim como na IL-6, TNF- α e INF- γ (20-22). A IL-10 é expressa principalmente pelos leucócitos, monócitos e linfócitos e pode modular danos causados aos tecidos por meio do estímulo de fatores imunológicos (20). Outrossim, o efeito modulador da IL-10 está relacionado com a inibição de fatores pró-inflamatórios como a produção de IL-1 α , TNF- α e IL-6, cuja função principal dessas citocinas é a degradação tecidual na periodontite (8).

A IL-17A é uma citocina responsável pela modulação da produção de mediadores inflamatórios (IL-1, IL-6 e TNF- α), produzida pelas células Th17 e neutrófilos e que apresenta efeitos pró-inflamatórios, o que faz parte da patogênese da periodontite (23). Essa citocina foi associada a um aumento na expressão do receptor para RANKL, considerado o estimulador fundamental para a ativação e diferenciação de osteoclastos, célula implicada na perda óssea e no processo de remodelação óssea (23, 24). Estudos relacionam variantes do gene *IL-17A* com asma e artrite reumatoide (25, 26), sendo ambas doenças consideradas fatores de risco para a periodontite. Em nosso estudo, o rs1871362-G, associado negativamente, e o rs74011985-C do gene *FMNI*, associado positivamente a periodontite, apresentaram associação estatisticamente significativa com a IL-17A. O estudo elaborado por Chaudari e colaboradores (23) utilizou uma

população indiana para avaliar a relação entre as variantes do gene IL-17A com a periodontite agressiva localizada e crônica, e foi constatada uma relação entre a presença do alelo A na variante genética do gene analisado, assim como na progressão das duas fases da periodontite em questão. O gene da citocina IL-17A é considerado um gene candidato a estar associado a periodontite, tal qual os genes das citocinas a IL-1, IL-10 e IL-18 (27).

Associações como estas, por meio da comparação com citocinas relacionadas a fisiopatologia da periodontite e da relação com tecidos que possuem células diretamente e indiretamente ligadas à doença analisada, reforçam a probabilidade da influência destas variantes no processo de desenvolvimento da periodontite por meio dos genes *SEPT7* e *FMNI*.

5 CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou que 5 SNV do gene *SEPT7* foram associados positivamente à periodontite, e dos 15 SNV do gene *FMNI*, 8 foram associados positivamente e 7 negativamente. Foram observadas interações entre idade e uso de fio dental, no qual possuir determinadas variantes genéticas pode estar associado de forma positiva ou negativa ao desenvolvimento da periodontite. Outros estudos são necessários a fim de estabelecer comparações e viabilizar outras análises e desfechos sobre a influência de variantes genéticas no desenvolvimento da periodontite, uma doença complexa e poligênica. Este foi um estudo transversal cujo objetivo principal foi avaliar características genéticas relacionados aos *SEPT7* e *FMNI* e à periodontite, tendo como limitação o não acompanhamento dos indivíduos no que se refere à evolução da periodontite.

REFERÊNCIAS

1. Meyle J, Chapple I. Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000 [Internet]. 7 ago 2015 [citado 19 ago 2023];69(1):7-17. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/prd.12104>
2. Saito MT, Mofatto LS, Albiero ML, Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH Junior, et al. Transcriptome profile of highly osteoblastic/cementoblastic periodontal ligament cell clones. *J Appl Oral Sci* [Internet]. 2020 [citado 26 set 2023];28. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2020-0242>
3. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol* [Internet]. Jun 2018 [citado 10 ago 2023];45:S149—S161. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12945>
4. Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, Green D, Lavery D, Dietrich T. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis - a comprehensive review. *J Clin Periodontol* [Internet]. mar 2017 [citado 14 set 2023];44:S94—S105. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12677>
5. Souto GR, Queiroz CM Junior, Abreu MH, Costa FO, Mesquita RA. Pro-inflammatory, Th1, Th2, Th17 Cytokines and dendritic cells: a cross-sectional study in chronic periodontitis. *PLoS One* [Internet]. 26 mar 2014 [citado 27 ago 2023];9(3):e91636. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091636>
6. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* [Internet]. Fev 1998 [citado 13 jul 2023];25(2):134-44. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x>
7. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current concepts in the management of periodontitis. *Int Dent J* [Internet]. 5 dez 2020 [citado 14 set 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/idj.12630>
8. Freer-Rojas A, Martínez-Garibay L, Torres-Méndez F, Dávila-Pérez C, Martínez-Castañón G, Patiño-Marín N, et al. Macrophage migration inhibitory factor gene polymorphisms as exacerbating factors of apical periodontitis. *Adv Clin Exp Med* [Internet]. 19 maio 2020 [citado 16 set 2023];29(5):597-602. Disponível em: <https://doi.org/10.17219/acem/121508>
9. Rimachi Hidalgo MA, Cirelli T, Silva BR, Nicchio IG, Nepomuceno R, Orrico SR, et al. Polymorphisms and haplotypes in the Interleukin 17 Alfa gene: potential effect of smoking habits in the association with periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *Mol Biol Rep* [Internet]. Fev 2021 [citado 11 set 2023];48(2):1103-14. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06172-9>
10. Cirelli T, Nepomuceno R, Rios AC, Orrico SR, Cirelli JA, Theodoro LH, et al. Genetic polymorphisms in the Interleukins IL1B, IL4, and IL6 are associated with concomitant periodontitis and type 2 diabetes mellitus in Brazilian patients. *J Periodontal Res* [Internet]. 9 jul 2020 [citado 22 jul 2023];55(6):918-30. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jre.12784>

11. Muñoz MA, Baggio R, Steffens JP, Santos FA, Pilatti GL. Aspectos genéticos e imunológicos da periodontite agressiva. *Rev Sul-Bras Odontol*. 2010 mar;7(1):90-4
12. Susin C, Haas AN, Albandar JM. Epidemiology and demographics of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* [Internet]. 17 abr 2014 [citado 7 ago 2023];65(1):27-45. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/prd.12019>
13. Kinane DF, Hart TC. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Amp Med* [Internet]. Nov 2003 [citado 13 jul 2023];14(6):430-49. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/154411130301400605>
14. Zacarias JM, Sippert EÂ, Tsuneto PY, Visentainer JE, Silva CD, Sell AM. The Influence of interleukin17A and IL17F polymorphisms on chronic periodontitis disease in brazilian patients. *Mediat Inflamm* [Internet]. 2015 [citado 12 ago 2023];2015:1-8. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/147056>
15. Byeon S, Werner B, Falter R, Davidsen K, Snyder C, Ong SE, et al. Proteomic identification of phosphorylation-dependent Septin 7 interactors that drive dendritic spine formation. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 4 maio 2022 [citado 21 ago 2023];10. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.836746>
16. Grant MM, Creese AJ, Barr G, Ling MR, Scott AE, Matthews JB, Griffiths HR, Cooper HJ, Chapple IL. Proteomic analysis of a noninvasive human model of acute inflammation and its resolution: the twenty-one day gingivitis model. *J Proteome Res* [Internet]. 3 set 2010 [citado 6 set 2023];9(9):4732-44. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/pr100446f>
17. Gomes-Filho IS, Trindade SC, Passos-Soares JS, Figueiredo ACMG, Vianna MIP, Hintz AM, et al. Clinical diagnosis criteria for periodontal disease: an update. *J Dent Health Oral Disord Ther*. [Internet] 2018 [citado 14 set 2023];9(5):354–6. Disponível em: [doi:10.15406/jdhodt.2018.09.00408](https://doi.org/10.15406/jdhodt.2018.09.00408)
18. Kuby, J. *Immunology*. 3rd. New York: W. H. Freeman; 1999.
19. Lacey DL, Erdmann JM, Teitelbaum SL, Tan HL, Ohara J, Shioi A. Interleukin 4, interferon-gamma, and prostaglandin E impact the osteoclastic cell-forming potential of murine bone marrow macrophages. *Endocrinology* [Internet]. Jun 1995 [citado 10 ago 2023];136(6):2367-76. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/endo.136.6.7750457>
20. Heidari Z, Moudi B, Mahmoudzadeh-Sagheb H, Moudi M. Analysis of interleukin-10 gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis and healthy controls. *Dent Res J* [Internet]. 2018 [citado 19 ago 2023];15(1):71. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/1735-3327.223614>
21. Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb H, Hashemi M, Rigi-Ladiz MA. Stereological analysis of interdental gingiva in chronic periodontitis patients with tumor necrosis factor-alpha (-308 G/A) gene polymorphisms. *Gene Cell Tissue* [Internet]. 9 mar 2014 [citado 17 set 2023];1(1). Disponível em: <https://doi.org/10.17795/gct-18315>
22. Heidari Z, Mahmoudzadeh Sagheb H, Sheibak N. Association between TGF-Beta1 (-509 C/T gene polymorphism and tissue degradation level in chronic periodontitis: a stereological

study. *Gene Cell Tissue* [Internet]. 25 jul 2015 [citado 20 jul 2023];2(3). Disponível em: <https://doi.org/10.17795/gct-31698>

23. Chaudhari HL, Warad S, Ashok N, Baroudi K, Tarakji B. Association of Interleukin-17 polymorphism (-197G/A) in chronic and localized aggressive periodontitis. *Braz Oral Res* [Internet]. 2016 [citado 13 jul 2023];30(1). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2016.vol30.0026>

24. Jovanovic DV, Di Battista JA, Martel-Pelletier J, Jolicoeur FC, He Y, Zhang M, et al. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL- β and TNF- α , by human macrophages. *J Immunol* [Internet]. 1 abr 1998 [citado 30 jul 2023];160(7):3513-21. Disponível em: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.160.7.3513>

25. Nordang GB, Viken MK, Hollis-Moffatt JE, Merriman TR, Forre OT, Helgetveit K, et al. Association analysis of the interleukin 17A gene in Caucasian rheumatoid arthritis patients from Norway and New Zealand. *Rheumatology* [Internet]. 30 jan 2009 [citado 18 set 2023];48(4):367-70. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/rheumatology/ken512>

26. Wang JY, Shyur SD, Wang WH, Liou YH, Lin CG, Wu YJ, et al. The polymorphisms of interleukin 17A (IL17A) gene and its association with pediatric asthma in Taiwanese population. *Allergy* [Internet]. Jul 2009 [citado 11 set 2023];64(7):1056-60. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2009.01950.x>

27. Borilova Linhartova P, Danek Z, Deissova T, Hromcik F, Lipovy B, Szaraz D, Janos J, et al. Interleukin gene variability and periodontal bacteria in patients with generalized aggressive form of periodontitis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2 jul 2020 [citado 21 ago 2023];21(13):4728. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21134728>

28. Gonzales JR, Gröger S, Haley G, Bödeker RH, Meyle J. Production of interleukin-13 is influenced by the interleukin-4 -34TT and -590TT genotype in patients with aggressive periodontitis. *Scand J Immunol* [Internet]. 4 jan 2011 [citado 16 set 2023];73(2):128-34. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2010.02482.x>

29. Beklen A. Effects of IL-13 on TGF- β and MMP-1 in periodontitis. *Biotech AHistochem* [Internet]. 4 jul 2017 [citado 22 set 2023];92(5):374-80. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10520295.2017.1312526>

30. Shi Q, Cai C, Xu J, Liu J, Liu H, Huo N. Is there an association between IFN- γ +874A/T polymorphism and periodontitis susceptibility? *Medicine* [Internet]. Jun 2017 [citado 24 ago 2023];96(25):e7288. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/md.0000000000007288>

31. Barrientos MO, Cruz AA, Teixeira HM, Silva HD, Gomes-Filho IS, Trindade SC, et al. Variants in interferon gamma inducible protein 16 (IFI16) and absent in melanoma 2 (AIM2) genes that modulate inflammatory response are associated with periodontitis. *Arch Oral Biol* [Internet]. Fev 2023 [citado 13 ago 2023]:105640. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2023.105640>

REFERÊNCIAS DO ARTIGO

1. Nanci A, Bosshardt DD. Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontol 2000* [Internet]. Fev 2006 [citado 9 ago 2023];40(1):11-28. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2005.00141.x>
2. Hassell TM. Tissues and cells of the periodontium. *Periodontol 2000* [Internet]. Out 1993 [citado 21 jun 2023];3(1):9-38. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1993.tb00230.x>
3. Liu J, Ruan J, Weir MD, Ren K, Schneider A, Wang P, et al. Periodontal bone-ligament-cementum regeneration via scaffolds and stem cells. *Cells* [Internet]. 4 jun 2019 [citado 25 ago 2023];8(6):537. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cells8060537>
4. Garcia ME, Faria FD, Dal Oca Costa Silva B, Ervolino E, Novaes VC, Toro LF. Avaliação do comportamento das fibras colágenas periodontais durante a progressão da periodontite experimental em ratos. *Rev Odontol UNESP* [Internet]. 2023 [citado 30 jul 2023];52. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-2577.01123>
5. Meyle J, Chapple I. Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000* [Internet]. 7 ago 2015 [citado 19 ago 2023];69(1):7-17. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/prd.12104>
6. Saito MT, Mofatto LS, Albiero ML, Casati MZ, Sallum EA, Nociti Junior FH, et al. Transcriptome profile of highly osteoblastic/cementoblastic periodontal ligament cell clones. *J Appl Oral Sci* [Internet]. 2020 [citado 26 set 2023];28. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2020-0242>
7. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol* [Internet]. Jun 2018 [citado 17 ago 2023];45:S149—S161. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12945>
8. Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, Green D, Lavery D, Dietrich T. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis - a comprehensive review. *J Clin Periodontol* [Internet]. Mar 2017 [citado 21 jul 2023];44:S94—S105. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12677>
9. Souto GR, Queiroz-Junior CM, Abreu MH, Costa FO, Mesquita RA. Pro-inflammatory, Th1, Th2, Th17 cytokines and dendritic cells: A Cross-sectional study in chronic periodontitis. *PLoS ONE* [Internet]. 26 mar 2014 [citado 28 jul 2023];9(3):e91636. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091636>
10. Freer-Rojas A, Martínez-Garibay L, Torres-Méndez F, Dávila-Pérez C, Martínez-Castañón G, Patiño-Marín N, et al. Macrophage migration inhibitory factor gene polymorphisms as exacerbating factors of apical periodontitis. *Adv Clin Exp Med* [Internet]. 19 maio 2020 [citado 8 ago 2023];29(5):597-602. Disponível em: <https://doi.org/10.17219/acem/121508>

11. Kumar S. Evidence-based update on diagnosis and management of gingivitis and periodontitis. *Dent Clin North Am* [Internet]. Jan 2019 [citado 11 set 2023];63(1):69-81. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cden.2018.08.005>
12. Rimachi Hidalgo MA, Cirelli T, Silva BR, Nicchio IG, Nepomuceno R, Orrico SR, et al. Polymorphisms and haplotypes in the Interleukin 17 Alfa gene: potential effect of smoking habits in the association with periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *Mol Biol Rep* [Internet]. Fev 2021 [citado 15 jul 2023];48(2):1103-14. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06172-9>
13. Muñoz MA, Baggio R, Steffens JP, Santos FA, Pilatti GL. Aspectos genéticos e imunológicos da periodontite agressiva. *Rev Sul-Bras Odontol*. 2010 Mar;7(1):90-4
14. Ministério da Saúde (BR). Coordenação Nacional de Saúde Bucal. Condições de saúde bucal da população brasileira – Projeto SBBrazil 2010: resultados principais. Brasília, 2011.
15. Moura SS, Figueiredo CA, Carletto TD. Caracterização de polimorfismos genéticos nos genes SEPT7 E FMN1. *Rev Cienc Medicas Biol* [Internet]. 29 dez 2022 [citado 18 ago 2023];21(3):657-67. Disponível em: <https://doi.org/10.9771/cmbio.v21i3.52007>
12. Susin C, Haas AN, Albandar JM. Epidemiology and demographics of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* [Internet]. 17 abr 2014 [citado 4 set 2023];65(1):27-45. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/prd.12019>
17. Priyamvara A, Dey AK, Bandyopadhyay D, Katikineni V, Zaghlol R, Basyal B, et al. Periodontal inflammation and the risk of cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* [Internet]. 8 jun 2020 [citado 10 ago 2023];22(7). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11883-020-00848-6>
18. Abdulkareem AA, Al-Taweel FB, Al-Sharqi AJ, Gul SS, Sha A, Chapple IL. Current concepts in the pathogenesis of periodontitis: from symbiosis to dysbiosis. *J Oral Microbiol* [Internet]. 2 abr 2023 [citado 27 set 2023];15(1). Disponível em: <https://doi.org/10.1080/20002297.2023.2197779>
19. Slots J. Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontol 2000* [Internet]. 31 jul 2017 [citado 28 jul 2023];75(1):7-23. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/prd.12221>
20. Bosshardt DD. The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences. *Periodontol 2000* [Internet]. 30 nov 2017 [citado 21 ago 2023];76(1):43-50. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/prd.12153>
21. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current concepts in the management of periodontitis. *Int Dent J* [Internet]. 5 dez 2020 [citado 13 jul 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/idj.12630>
22. Kajiyama M, Giro G, Taubman MA, Han X, Mayer MP, Kawai T. Role of periodontal pathogenic bacteria in RANKL-mediated bone destruction in periodontal disease. *J Oral Microbiol* [Internet]. Jan 2010 [citado 10 set 2023];2(1):5532. Disponível em: <https://doi.org/10.3402/jom.v2i0.5532>

23. Beklen A. Effects of IL-13 on TGF- β and MMP-1 in periodontitis. *Biotech Histochem* [Internet]. 4 jul 2017 [citado 18 ago 2023];92(5):374-80. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10520295.2017.1312526>
24. Chen D, Zhang TL, Wang X. Association between Polymorphisms in Interleukins 4 and 13 Genes and Chronic Periodontitis in a Han Chinese Population. *BioMed Res Int* [Internet]. 2016 [citado 22 jul 2023];2016:1-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/8389020>
25. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* [Internet]. Fev 1998 [citado 19 ago 2023];25(2):134-44. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x>
26. Gan Z, Xiao Z, Zhang Z, Li Y, Liu C, Chen X, et al. Stiffness-tuned and ROS-sensitive hydrogel incorporating complement C5a receptor antagonist modulates antibacterial activity of macrophages for periodontitis treatment. *Bioact Mater* [Internet]. Jul 2023 [citado 15 set 2023];25:347-59. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.01.011>
27. Gomes-Filho IS, Trindade SC, Passos-Soares JS, Figueiredo ACMG, Vianna MIP, Hintz AM, et al. Clinical diagnosis criteria for periodontal disease: an update. *J Dent Health Oral Disord Ther.* [Internet] 2018 [citado 14 set 2023];9(5):354–6. Disponível em: doi:10.15406/jdhodt.2018.09.00408 27.
28. Sälzer S, Graetz C, Dörfer CE, Slot DE, Van der Weijden FA. Contemporary practices for mechanical oral hygiene to prevent periodontal disease. *Periodontol 2000* [Internet]. 25 ago 2020 [citado 12 ago 2023];84(1):35-44. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/prd.12332>
29. Castro ML, Trevisan GL, Taba M Junior. O estado atual e os avanços no diagnóstico da doença periodontal e da cárie dentária. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.* 2016;70(4):358-62.
30. Loos BG, Van Dyke TE. The role of inflammation and genetics in periodontal disease. *Periodontol 2000* [Internet]. 8 maio 2020 [citado 17 set 2023];83(1):26-39. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/prd.12297>
31. Géczi Z, Róth I, Kóhidai Z, Kóhidai L, Mukaddam K, Hermann P, et al.. The use of Trojan-horse drug delivery system in managing periodontitis. *Int Dent J* [Internet]. Set 2022 [citado 10 ago 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.identj.2022.08.003>
32. Cirino CC, Vale HF, Casati MZ, Sallum EA, Casarin RC, Sallum AW. Clinical and microbiological evaluation of surgical and nonsurgical treatment of aggressive periodontitis. *Braz Dent J* [Internet]. Nov 2019 [citado 14 ago 2023];30(6):577-86. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-6440201902930>
33. Roman-Torres CV, Bryington MS, Kussaba ST, Pimentel AC, Jimbo R, Cortelli JR, et al. Comparison of full-mouth scaling and quadrant-wise scaling in the treatment of adult chronic periodontitis. *Braz Dent J* [Internet]. Maio 2018 [citado 15 set 2023];29(3):296-300. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-6440201801715>
34. Velioglu EM, Aydınođan S, Hakkı SS. Metabolic syndrome and periodontal disease. *Curr Oral Health Rep* [Internet]. 13 abr 2023 [citado 14 set 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40496-023-00334-3>

35. Tobón-Aroyave SI, Isaza-Guzmán DM, Trujillo NP. Association study of Vitamin D Receptor (VDR) - related genetic polymorphisms and their haplotypes with chronic periodontitis in a Colombian population. *J Clin Diagn Res* [Internet]. 2017 [citado 11 ago 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.7860/jcdr/2017/23967.9451>
36. Byeon S, Werner B, Falter R, Davidsen K, Snyder C, Ong SE, et al. Proteomic identification of phosphorylation-dependent Septin 7 interactors that drive dendritic spine formation. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 4 maio 2022 [citado 19 ago 2023];10. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.836746>
37. Jia Z, Wang K, Wang G, Zhang A, Pu P. MiR-30a-5p antisense oligonucleotide suppresses glioma cell growth by targeting SEPT7. *PLoS ONE* [Internet]. 28 jan 2013 [citado 14 set 2023];8(1):e55008. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055008>
38. Diekmann Y, Pereira-Leal JB. Evolution of intracellular compartmentalization. *Biochem J* [Internet]. 14 dez 2012 [citado 14 ago 2023];449(2):319-31. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/bj20120957>
39. Gabaldón T, Pittis AA. Origin and evolution of metabolic sub-cellular compartmentalization in eukaryotes. *Biochimie* [Internet]. Dez 2015 [citado 22 jul 2023];119:262-8. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.03.021>
40. Bonifacino JS, Neefjes J. Moving and positioning the endolysosomal system. *Curr Opin Cell Biol* [Internet]. Ago 2017 [citado 124 jun 2023];47:1-8. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2017.01.008>
41. Gene Cards: The Human Gene Database. Gene FMN1. [Internet]. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=FMN1#compounds-inferred-drugs>
42. Dimitrov BI, Voet T, De Smet L, Vermeesch JR, Devriendt K, Fryns JP, et al. Genomic rearrangements of the GREM1-FMN1 locus cause oligosyndactyly, radio-ulnar synostosis, hearing loss, renal defects syndrome and Cenani-Lenz-like non-syndromic oligosyndactyly. *J Med Genet* [Internet]. 7 jul 2010 [citado 16 ago 2023];47(8):569-74. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/jmg.2009.073833>
43. Lisitskaya KV, Krakhmaleva IN, Shishkin SS. Study of single-nucleotide polymorphism in seven genes (GHR, IGF3, IGFR1, IRS1, FMN1, ANXA2, TAGLN) in ethnic Russians and patients with prostate cancer. *Mol Genet Microbiol Virol* [Internet]. Jun 2010 [citado 10 set 2023];25(2):84-8. Disponível em: <https://doi.org/10.3103/s0891416810020060>
44. Lindhe, J, Lang, PN. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2018, 1292 p.

ANEXO A– TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO Registro CONEP 15782 / Processo nº 25000.013834/2010-96 Projeto de Pesquisa: “Fatores de risco, biomarcadores e endofenótipos da asma grave”. (Pesquisador Responsável: Dr. Álvaro Augusto Souza da Cruz Filho) Subprojeto: Doença Periodontal: Fator de risco associado à asma grave? (Pesquisador Responsável: Isaac Suzart Gomes Filho) Instituições envolvidas: Universidade Federal da Bahia Universidade Estadual de Feira de Santana Este trabalho de pesquisa será desenvolvido em pacientes acompanhados pelo Programa para o Controle da Asma e da Rinite Alérgica na Bahia (ProAR). Cada participante permitirá que sejam feitas perguntas a respeito dos seus hábitos, de modo a contribuir para o conhecimento do grupo estudado, além de darem acesso aos exames clínicos de rotina para avaliar a saúde da boca. As perguntas serão feitas através de um questionário e os exames bucais serão feitos pela pesquisadora participante, Kaliane Rocha Soledade Marques. Os exames na boca servem para avaliar a presença e a gravidade da doença da gengiva e dos dentes, com o uso de um espelho bucal e um instrumento metálico esterilizado, em volta de todos os dentes. Esses exames não apresentam risco à saúde do participante, mas podem causar um leve desconforto e podem necessitar de certo tempo com a boca aberta. Os resultados dos exames médicos dos participantes que tenham asma serão também avaliados para observar se existe a relação com a condição bucal. Os participantes serão encaminhados para realização de radiografia panorâmica para constatação de possíveis problemas bucais. Caso sejam constatados problemas, os pacientes serão encaminhados para tratamento nas clínicas odontológicas vinculadas à Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia. Informamos ainda que os resultados desta pesquisa servirão para dentistas e outros profissionais de saúde compreenderem melhor o papel da condição bucal no desenvolvimento da asma. Os dados obtidos serão guardados em segredo e sob a responsabilidade dos profissionais que trabalharão na pesquisa. Quando os resultados forem publicados, os participantes não serão 89 identificados. Caso não queira participar do estudo, o sujeito convidado terá liberdade de recusar ou abandonar a pesquisa, sem qualquer prejuízo. Além disso, despesas decorrentes da participação na pesquisa serão pagas pelos pesquisadores, assim como qualquer indenização ou ressarcimento por qualquer dano que porventura possa ocorrer. Portanto, atenção: sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisas da Maternidade Climério de Oliveira / Universidade Federal da Bahia (UFBA), no endereço: Rua do Limoeiro, 137 Nazaré, SalvadorBA ou pelo telefone: (71) 3283-9211. Os pesquisadores responsáveis por essa pesquisa

também estão disponíveis para maiores esclarecimentos. Duas vias serão assinadas e uma via será retida pelo participante de pesquisas.

Salvador-Bahia, ___/___/_____

Assinatura do Voluntário ou Marca Digital

Assinatura do Pesquisador Responsável

Assinatura da Pesquisadora Participante

ANEXO – TERMO DE APROVAÇÃO NO CONSELHO DE ÉTICA EM PESQUISA CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA PARECER Nº 450/10 Registro CONEP 15782 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto) Processo nº 25000.013834/2010-96 Projeto de Pesquisa: “Fatores de risco, biomarcadores e endofenótipos da asma grave”. Pesquisador Responsável: Dr. Álvaro Augusto Souza da Cruz Filho Instituição: Universidade Federal da Bahia (CENTRO ÚNICO) CEP de origem: Maternidade Climério de Oliveira / Universidade Federal da Bahia (UFBA) Área Temática Especial: Pesquisa com cooperação estrangeira; Genética humana Patrocinador: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB)