



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

BRUNA CONSOLARO DE ALMEIDA

**DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA E ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO  
GENÉTICO RS1126478 NO GENE *LTF* EM PACIENTES COM  
PERIODONTITE GRAU C NA POPULAÇÃO BRASILEIRA**

PIRACICABA

2022

**BRUNA CONSOLARO DE ALMEIDA**

**DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA E ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO  
GENÉTICO RS1126478 NO GENE *LTF* EM PACIENTES COM  
PERIODONTITE GRAU C NA POPULAÇÃO BRASILEIRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Cirurgião Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Renato Corrêa Viana Casarin

Coorientadora: Ma. Camila Schmidt Stolf

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO PELA ALUNA BRUNA CONSOLARO DE ALMEIDA E ORIENTADO PELO PROF. DR. RENATO CORRÊA VIANA CASARIN.

PIRACICABA

2022

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba  
Marilene Girello - CRB 8/6159

AL64d Almeida, Bruna Consolaro de, 1999-  
Distribuição alélica e associação do polimorfismo genético rs1126478 no gene *LTF* em pacientes com periodontite grau C na população brasileira / Bruna Consolaro de Almeida. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Renato Corrêa Viana Casarin.

Coorientador: Camila Schmidt Stolf.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Polimorfismo de nucleotídeo único. 2. Periodontite. 3. Lactoferrina. I. Casarin, Renato Corrêa Viana, 1982-. II. Stolf, Camila Schmidt, 1995-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Informações adicionais, complementares

**Título em outro idioma:** Allelic distribution and association of rs1126478 genetic polymorphism in the *LTF* gene in grade C periodontitis patients in the brazilian population

**Palavras-chave em inglês:**

Single nucleotide polymorphism

Periodontitis

Lactoferrin

**Titulação:** Cirurgião-Dentista

**Banca examinadora:**

Gabriela Martin Bonilha

Hélvis Enri de Souza Paz

**Data de entrega do trabalho definitivo:** 30-11-2022

## **DEDICATÓRIA**

Esse trabalho é dedicado à minha mãe e ao meu pai, por me proporcionarem todos os recursos necessários para minha formação, um ciclo que se iniciou na minha infância e agora se encerra com a conclusão do ensino superior em uma universidade pública bem conceituada, mais especificadamente na UNICAMP, a qual sempre foi o meu sonho.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço às minhas amigas de infância, do ensino fundamental e ao meu namorado, que mesmo de longe, acompanharam toda a minha trajetória na graduação, desde a comemoração pelo ingresso, meus surtos, o esforço e a dedicação ao longo dos 5 anos do curso de odontologia, me deram suporte durante a pandemia e agora, vibram comigo na conclusão desse ciclo.

Sou grata aos amigos que fiz na Faculdade de Odontologia de Piracicaba e todos os laços que o curso me proporcionou, com pessoas incríveis que desejo manter por perto por resto da vida. Principalmente ao meu quarteto de amigas, as quais me acompanharam em todas alegrias, tristezas, conquistas, ansiedades, diversões, angústias, medos e inseguranças durante todos esses anos de graduação e que hoje posso considerá-las muito mais que apenas colegas de profissão.

Agradeço aos meus pais que me proporcionaram não somente moradia e custearam os materiais para o curso de odontologia, como também foram meus pacientes e me permitiram retribuir com muita gratidão um pouco dos esforços que fizeram para minha formação.

Agradeço também à equipe de Periodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual de Campinas (FOP-Unicamp), especialmente ao Prof. Dr. Renato Corrêa Viana Casarin e a Ma. Camila Schmidt Stolf, que acreditaram no meu potencial e me permitiram a experiência de iniciação científica durante a graduação.

Por fim, agradeço a oportunidade e ao incentivo cedidos para o projeto, visto que o presente trabalho foi realizado com apoio e financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)- Processo de bolsa nº 125692/2021-8.

## RESUMO

O polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) rs1126478 (T/C) localizado no gene *LTF*, responsável pela expressão da proteína lactoferrina humana, demonstrou-se associado a um maior risco de desenvolvimento da periodontite em certas populações. Não havendo evidências publicadas sobre essa associação em brasileiros, o objetivo desse trabalho foi investigar a associação entre o SNP rs1126478 no gene *LTF* e a Periodontite Grau C (PerioC) na população brasileira. Foram selecionados pacientes com saúde periodontal (n=191) e pacientes com PerioC (n=199) que se enquadraram nos critérios de inclusão para a pesquisa. Os pacientes foram submetidos a bochecho com solução de Dextrose a 3% para coleta de amostra de células epiteliais bucais. Em seguida, o DNA genômico foi extraído, purificado e mensurado por espectrofotometria pelo Nanodrop 2000 (Thermo Scientific). Posteriormente, a genotipagem foi determinada por PCR-real time através do sistema de sondas Taqman®. A distribuição dos alelos foi considerada pelo desvio em relação ao equilíbrio de *Hardy-Weinberg* e, por fim, as frequências alélicas entre os grupos foram avaliadas pelo teste qui-quadrado. Os resultados estatísticos foram analisados considerando o nível de significância de 5% (p valor  $\leq 0,05$ ). Nesse estudo, o alelo alterado C apresentou uma maior frequência alélica na população com PerioC em comparação com o grupo SP (55,93% e 45,05% respectivamente, p= 0,008). Conclui-se que há associação entre o SNP rs1126478 no gene *LTF* e a PerioC na população brasileira.

**Palavras-chave:** Polimorfismo de Nucleotídeo Único. Periodontite. Lactoferrina

## ABSTRACT

The single nucleotide polymorphism (SNP) rs1126478 (T/C) located in *LTF* gene, responsible for human lactoferrin protein expression, has been associated with an increased risk of periodontitis development in certain populations. Since this SNP have not been validated in a brazilian population, the aim of this study was to investigate wheter the association between rs1126478 SNP in *LTF* gene and grade C Periodontitis could be replicated among brazilians. Healthy (n=191) and Grade C periodontitis patients (n=199) who fitted inclusion criteria for this research were selected. Both groups had to rinse 3% Dextrose solution to collect oral epithelial cells samples. Then, the genomic DNA was extracted, purified and measured by spectrophotometry in Nanodrop 2000 (Thermo Scientific). Subsequently, genotyping was determined by real-time PCR using the Taqman® probe system. The genotypes distribution was considered by the deviation in relation to the Hardy-Weinberg equilibrium and, finally, the allelic frequencies between the groups were evaluated by the chi-square test. Statistical results were analyzed considering a significance level of 5% (p value  $\leq 0.05$ ). In this study, the altered C allele presented a higher allele frequency in PerioC population in comparison to SP group (55.93% e 45.05%, respectively, p= 0.008). It is concluded that there is an association between the single nucleotide polymorphism rs1126478 in the *LTF* gene and Grade C (PerioC) periodontitis in the brazilian population.

**Keywords:** Single-nucleotide-polymorphism. Periodontitis. Lactoferrin

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DA LITERATURA	11
2.1 Etiopatogenia e classificação da doença periodontal	11
2.2 Genética, SNPs e periodontite	13
2.3 Lactoferrina	15
3 PROPOSIÇÃO	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 Seleção dos pacientes e coleta da amostra	19
4.2 Extração do DNA	19
4.3 Purificação do DNA	20
4.4 Padronização da sonda taqman e genotipagem	21
5 RESULTADOS	22
6 DISCUSSÃO	24
7 CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS*	27
ANEXOS	31
Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio	31
Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa	32
Anexo 3 – Iniciação científica	33

## 1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória de etiologia multifatorial e patogênese complexa, cujo desenvolvimento é resultado do desequilíbrio na relação entre microbiota, fatores imunológicos, ambientais e comportamentais do hospedeiro, sendo este processo regulado por fatores genéticos (Laine et al., 2012; Laine et al., 2014; Loos et al., 2015). Clinicamente, manifesta-se por perda de inserção conjuntiva, reabsorção óssea e, no pior cenário, perda dentária (Kinane et al., 2017).

Evidências epidemiológicas indicam que doenças periodontais afetam de 20 a 50% da população mundial (Sanz, 2010), sendo que sua manifestação mais severa possui prevalência entre 1 a 15% desta população (Demmer e Papapanou, 2010). Segundo Tonetti et al. (2017), a periodontite agressiva foi considerada a 6ª condição mais prevalente no mundo no Global Burden of Disease Study (1990-2010).

No Brasil, Susin et al. (2014) estimam que a prevalência nacional da periodontite agressiva varia entre 0,3 e 5,5% da população. Uma vez que esta entidade patológica representa a maior causa de perda dental, além de comprometimento mastigatório, estético e psicológico na vida dos pacientes, um maior domínio acerca do tema é essencial (Tonetti et al., 2017).

A periodontite Grau C (PerioC), embora menos prevalente na população mundial (Demmer e Papapanou, 2010), apresenta expressivo efeito na qualidade de vida devido a sua severidade. Casos de rápida progressão, manifestação em idade precoce, acometimento de pacientes jovens e saudáveis clinicamente, histórico de agregação familiar e prognóstico desfavorável aos tratamentos convencionais diferem a entidade PerioC da antiga periodontite crônica (Perio AB) (Caton et al., 2018; Albandar, 2014; Deas e Mealey, 2010).

Dada a relevância genética na periodontite, Polimorfismos de Nucleotídeo Único (Single Nucleotide Polymorphisms- SNPs) tem sido alvo de pesquisas na área. SNPs são considerados marcadores moleculares capazes de determinar certas predisposições, principalmente para a Periodontite Grau C (Laine et al., 2012; Laine et al., 2014).

Assim como outras doenças complexas, a periodontite é uma doença poligênica, na qual há o envolvimento de múltiplos genes de pequeno efeito que contribuem para a susceptibilidade da doença (Laine et al., 2012; Vieira e Albandar, 2014). Nesse sentido, estudos de associação genômica ampla (GWAS- Genome Wide Association Study) são utilizados para investigar associações entre SNPs específicos e periodontite, sendo necessária a validação desses marcadores em estudos com populações independentes bem definidas (Loos et al., 2015).

Um dos genes de interesse na literatura é o gene *LTF*, responsável pela expressão de lactoferrina (LT), uma glicoproteína multifuncional presente em fluídos como saliva e leite. Dentre suas funções, destaca-se a atividade antibacteriana, antifúngica, antivirais, antiinflamatórias e imunorregulatórias (Velliyagounder et al., 2003). O polimorfismo rs1126478, localizado no gene *LTF*, é responsável pela troca de aminoácidos na região do terminal N região alfa hélice da lactoferrina humana (Ikuta et al., 2013).

Estudos tem buscado encontrar associações entre SNPs no gene da lactoferrina e doenças inflamatórias, como a periodontite. Entretanto, os resultados da relação do rs1126478 com a periodontite são inconsistentes, uma vez que as consequências clínicas dessa alteração são dependentes da etnia da amostra analisada (Fine, 2015).

Na população brasileira, ainda não há estudos que validem a associação entre o SNP rs1126478 e a periodontite, seja esta PerioAB ou PerioC. Considerando que o Brasil é constituído por uma população geneticamente heterogênea e que a ancestralidade influencia diretamente no genótipo do indivíduo, é ressaltada a importância de validar, em uma amostra brasileira, alterações genéticas descritas em outras populações (Andia et al., 2013).

Por fim, um cenário com fatores genéticos elucidados permitiria uma melhor compreensão da etiopatogenia da periodontite, assim como a identificação de pacientes mais susceptíveis à essa doença, principalmente para a PerioC. Assim, novos protocolos de tratamento poderiam ser instituídos, possibilitando um diagnóstico e uma abordagem clínica precoce, de modo a reduzir os defeitos funcionais e estéticos que acometem os pacientes afetados (Laine et al., 2014).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Etiopatogenia e classificação da doença periodontal

Em uma visão etimológica, a palavra periodonto significa “ao redor do dente”. Para odontologia, o periodonto é um tecido que pode ser classificado, de modo geral, em periodonto de proteção e periodonto de sustentação. O primeiro compreende a gengiva (marginal livre e inserida), enquanto o segundo é formado pelo cemento radicular, ligamento periodontal e osso alveolar (Carranza, 2012). Juntos, esses tecidos têm como principais funções a proteção e a inserção do dente no osso, bem como a absorção e distribuição de forças incidentes na cavidade oral (Lindhe, 2010; Carranza, 2012).

A periodontite é uma doença inflamatória que acomete tecidos periodontais, caracterizada clinicamente por perda de inserção conjuntiva, reabsorção óssea e, na ausência de tratamento, mobilidade e perda do elemento dentário (Kinane et al., 2017). Embora a etiopatogenia da periodontite não seja totalmente compreendida, seu caráter multifatorial é indiscutível.

Segundo Socransky e Haffajee (1985), “bactérias são necessárias, mas não suficientes” para o desenvolvimento da doença, ou seja, toda doença periodontal tem origem bacteriana, mas a presença de biofilme periodontopatogênico não define exclusivamente a manifestação de sinais e sintomas da periodontite. Posteriormente, Page et al. (1997) associaram a resposta do hospedeiro como a base da patogênese da doença periodontal.

Definições mais recentes apresentam a doença periodontal como uma doença complexa que se desenvolve como resultado de uma disbiose na relação entre microbiota e hospedeiro (Loos et al., 2015). Refinando as afirmações de Page et al. (1997), foi proposto que a resposta do hospedeiro seria influenciada por seus fatores imunológicos, ambientais e comportamentais, sendo este processo regulado por fatores genéticos (Laine et al., 2014; Loos et al., 2015).

Dentre os fatores que influenciam na susceptibilidade da doença periodontal, há os fatores não modificáveis (idade, sexo, raça e polimorfismos genéticos) e os modificáveis (adquiridos/ ambientais/ comportamentais), bem

descritos na literatura como microbiota específica, tabagismo, diabetes mellitus e condição socioeconômica do hospedeiro (Carranza, 2012).

Para Loos et al. (2015), existem fatores de risco para doença periodontal: (1) Biofilme bacteriano subgingival na raiz dental e tecido da bolsa periodontal; (2) Fatores de risco genéticos e modificações epigenéticas; (3) Fatores de risco associados ao estilo de vida (tabagismo, estresse, higiene oral, dieta); (4) Doenças sistêmicas (principalmente o diabetes) e (5) Fatores desconhecidos (causas iatrogênicas ou interferências oclusais).

Armitage, em 1999, publicou um Sistema de Classificação para Doenças Periodontais e Condições, que realizou algumas alterações e adições em relação a classificação anterior (1989). Armitage apresentou pela primeira vez uma seção apenas para doenças gengivais. A periodontite do adulto foi alterada para periodontite crônica (PC) e a periodontite de acometimento precoce para periodontite agressiva (PA). Foi melhor elucidada a definição para periodontite como manifestação de doença sistêmica e reformulado a seção de doenças periodontais necrosantes. Por fim, houve a adição das categorias abscessos periodontais, lesões endo-perio e condições e deformidades de desenvolvimento e adquiridas.

Entretanto, recentemente, uma nova classificação foi proposta para as doenças periodontais (Caton et al., 2018). Esta consiste na divisão dos casos clínicos em: (1) Saúde periodontal, doenças e condições gengivais; (2) Periodontite; (3) Outras condições que afetam o periodonto; além da apresentação de condições e doenças periimplantares.

Esse novo sistema realiza a segregação dos pacientes periodontais de acordo com o estadiamento (I, II, III ou IV) e graduação (A, B ou C) da doença periodontal. O estadiamento se refere a severidade e complexidade de tratamento e a graduação, por sua vez, indica a progressão, prognóstico e avaliação do risco para a saúde geral do paciente (Caton et al., 2018).

Representada por uma maior prevalência, alta incidência em população adulta, lenta progressão e prognóstico favorável (Albandar et al., 2014; Deas e Mealey, 2010), a antiga periodontite crônica é apresentada como periodontite Grau A

(lenta progressão) ou B (moderada progressão) (PerioAB) na nova classificação (Caton et al., 2018).

A PA, já nomeada anteriormente de periodontose, periodontite juvenil e periodontite precoce (Albandar et al., 2014), atualmente é classificada como Periodontite Estágio IV Grau C (PerioC) (Caton et al., 2018). Essa modalidade compreende casos de rápida progressão, com manifestação em idade precoce, em pacientes jovens e saudáveis clinicamente, histórico de agregação familiar e prognóstico desfavorável frente aos tratamentos (Albandar et al., 2014; Deas e Mealey, 2010).

## **2.2 Genética, SNPs e periodontite**

Segundo Loos et al. (2015) a contribuição dos fatores causais para a doença periodontal é individual para cada paciente, ou seja, os fatores não afetam igualmente todos os indivíduos. Acredita-se que pacientes mais velhos tenham maior influência de fatores relacionados a microbiota e ao seu estilo de vida. Por outro lado, pacientes mais jovens acometidos pela DP parecem ter mais fatores intrínsecos (genéticos) associados com o desenvolvimento da doença, sendo o histórico de agregação familiar mais aparente nessa população (Stabholz et al., 2010).

O DNA humano contém regiões com diferentes funções, seja ela codificadora (proteína), regulatória ou com função desconhecida (“junk DNA”). O genoma humano demonstrou-se 99% idêntico entre indivíduos da espécie humana em estudos de sequenciamento genético, sendo que 1% das variações existentes é representada pelo tipo mais comum de alteração genética: polimorfismos de nucleotídeo único (Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)) (Loos et al, 2015).

Nas últimas décadas, a periodontia revelou interesse em identificar alterações genéticas específicas, especialmente polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) associados a regiões imunoregulatórias e metabólicas (Kinane et al., 2017). SNPs representam alterações em bases nitrogenadas no DNA, cujo resultado pode ser apenas uma alteração no genótipo ou, de fato, gerar uma alteração no fenótipo do indivíduo (Loos et al., 2015).

Os polimorfismos genéticos candidatos são aqueles já descritos como relacionados a resposta imune do hospedeiro, ou que tenham sido associados previamente com outras doenças crônicas, como diabetes tipo 2, artrite reumatóide, doenças cardiovasculares, doença de Crohn e lúpus eritematoso, por exemplo (Loos et al., 2015). Os SNPs podem atuar influenciando na expressão e função gênica e, dessa forma, tem potencial para alterar a resposta imune e modular a resposta frente a doenças crônicas inflamatórias (Loos e Dyke, 2020).

Apesar da existência de polimorfismos de nucleotídeo único não ser uma relação direta e exclusiva de causa e efeito para doenças inflamatórias, estudos sugerem que SNPs tenham um importante papel na susceptibilidade de doenças. Dessa forma, os SNPs podem ser considerados marcadores moleculares capazes de determinar predisposições a certas doenças, como a periodontite (Laine et al., 2012).

Em geral, fenótipos mais fortes, como a PerioC, são mais afetados por fatores genéticos e sofrem menos “ruído” de fatores comportamentais, logo, são mais úteis para identificar alterações genéticas quando comparados com a PerioAB (Laine et al., 2012; Laine et al., 2014; Loos et al., 2015). Por esse motivo, a maioria das pesquisas tem buscado associar SNPs com a periodontite agressiva (PerioC), a fim de melhor elucidar o papel genético na resposta imuno-inflamatória do hospedeiro frente ao desafio periodontal.

Os polimorfismos de nucleotídeo único que mais foram replicados e validados na literatura se encontram nos genes *COX2*, *IL1*, *IL10*, *DEFB1*, *ANRIL*, *GLT6D1* (Loos et al., 2015; Taiete et al., 2019). Todavia, os resultados podem ser variáveis e controversos entre os estudos, ao ponto que um mesmo SNP pode ter sido validado para uma população caucasiana, mas não ter evidência de associação em outras populações, como africanos e asiáticos ou vice e versa (Laine et al., 2012).

Essa inconstância nos resultados encontrados é esperada, uma vez que a etnia da população influencia no genótipo dos indivíduos e, conseqüentemente, pode ter relação com as manifestações clínicas da alteração analisada (Laine et al., 2012; Andia et al., 2013; Fine, 2015). Dessa forma, frequências alélicas e genotípicas podem variar dependendo da amostra, ao passo que uma alteração genética pode ser um

fator de risco para predisposição de uma doença em uma determinada população e não ser em outra (Laine et al., 2012; Taiete et al., 2019).

Apesar das diferenças previstas entre as etnias, dado o impacto de alterações genéticas no curso da doença periodontal, torna-se fundamental estimular a validação de polimorfismos genéticos descritos previamente em outras populações (Andia et al., 2013; Loos et al., 2015).

### **2.3 Lactoferrina**

Um dos genes que tem ganhado interesse na literatura é o *LTF*, responsável pela expressão de lactoferrina (LT), uma glicoproteína multifuncional da família das transferrinas (Wu et al., 2009, Wakabayashi et al., 2010). A lactoferrina, também denominada lactotransferrina, é encontrada em fluídos corporais como leite, saliva, plasma sanguíneo e lágrimas (Amerongen e Veerman, 2002).

A principal função da lactoferrina é sua ação quelante que promove um efeito bacteriostático ao privar o ferro livre no sangue e secreções. Esse sequestro do ferro do meio ambiente é essencial para reduzir o potencial de crescimento de bactérias gram-positivas e gram-negativas do meio bucal (Amerongen e Veerman, 2002; Velliyagounder et al., 2003).

De modo geral, estudos apontam uma forte associação da lactoferrina em defesa de mucosas (Wu et al., 2009). Além de efeitos ferro-dependentes, essa glicoproteína apresenta importantes atividades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, antiinflamatórias e imunorregulatórias (Amerongen & Veerman, 2002; Velliyagounder et al., 2003; Fine, 2015).

Existem evidências publicadas que apontam relações entre a lactoferrina e doenças periodontais. A quantidade de lactoferrina está fortemente associada com a quantidade de neutrófilos (PMNs) no fluido crevicular gengival de pacientes, sendo considerada um marcador para o número de neutrófilos creviculares (Wu et al., 2009).

Maiores níveis de LT foram encontrados no fluido crevicular gengival de pacientes periodontais (Yadav et al., 2014; Huynh et al., 2015). Uma relação direta entre quantidade de LT e parâmetros clínicos mais elevados da DP, além de uma

possível redução nos níveis de LT após a instituição de tratamento periodontal foi relatada por Yadav et al. (2014). Além disso, efeitos inibitórios da lactoferrina parecem controlar o crescimento e desenvolvimento de biofilme periodontopatogênico contendo espécies marcantes para a doença, como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Jordan et al., 2005).

O polimorfismo de nucleotídeo único rs1126478, localizado no gene *LTF*, é responsável pela troca de aminoácidos na região N-terminal na alfa hélice da lactoferrina humana, região relacionada com a função antimicrobiana dessa proteína (Velliyagounder et al., 2003; Ikuta et al., 2013). Estudos tem buscado identificar associações entre SNPs no gene da lactoferrina (*LTF*) e doenças bucais como cárie dental e periodontite (Fine, 2015).

Entretanto, os resultados de associações entre o SNP rs1126478 com a periodontite, assim como os demais estudos sobre alterações genéticas, são inconsistentes devido relação com a etnia da amostra analisada (Fine, 2015). Ikuta et al. (2013), por exemplo, não encontraram diferença significativa entre o polimorfismo rs1126478 com a periodontite crônica ou agressiva em população japonesa.

A associação desse SNP foi validada em população italiana para periodontite crônica e em taiwaneses para periodontite agressiva (Wu et al., 2009; Zupin et al., 2017). Para população afro-americana, Velliyagounder et al. (2003) relataram associação do rs1126478 e a periodontite juvenil. Jordan et al. (2005), por sua vez, encontraram em outra população afro-americana a mesma relação descrita por Velliyagounder et al. (2003), mas essa relação não pode ser validada para a amostra caucasiana analisada em seu estudo.

Atualmente, não há evidências relatadas acerca da relação do polimorfismo de nucleotídeo único rs1126478 (T>C) com a periodontite, seja ela grau A, grau B ou grau C em uma amostra brasileira. Dada a influência de fatores genéticos na susceptibilidade da periodontite, principalmente na forma mais agressiva da doença (periodontite grau C), é fundamental a realização de estudos que investiguem a associação do SNP rs1126478 com a doença periodontal na população brasileira.

Considerando o impacto da doença periodontal na vida da população, tal como a mobilidade e perda precoce dos elementos dentários, uma melhor

compreensão da etiopatogenia e dos mecanismos genéticos envolvidos na susceptibilidade da periodontite é essencial (Andia et al., 2013; Loos et al., 2015).

### 3 PROPOSIÇÃO

O objetivo desse trabalho foi identificar uma associação entre o polimorfismo de nucleotídeo único rs1126478 (T>C) no gene *LTF* e a Periodontite Grau C na população brasileira, através da análise de distribuição das frequências alélicas.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Seleção dos pacientes e coleta da amostra**

A partir de critérios de inclusão definidos para a pesquisa submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 51534921.0.0000.5418) foram selecionados pacientes da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP-Unicamp) e classificados em dois grupos distintos: Periodontite Grau C (PerioC) e Saúde Periodontal (SP). Os critérios de inclusão utilizados foram baseados nos seguintes diagnósticos:

Diagnóstico de Periodontite Grau C (n=199): presença de bolsas periodontais e perda óssea radiográfica em pacientes com idade inferior a 35 anos no momento do diagnóstico da doença; presença de no mínimo 8 dentes com profundidade de sondagem (PS)  $\geq$  5 mm (sendo que dois dentes devem apresentar PS  $\geq$  7 mm) e sangramento à sondagem (SS) em 3 dentes não contíguos à primeiros molares e incisivos; presença de no mínimo 20 dentes na cavidade oral (Casarin et al., 2012; Taiete et al., 2016);

Diagnóstico de Saúde Periodontal (n=191): ausência de profundidade de sondagem  $>$  4mm com sangramento gengival.

Critérios de Exclusão para os dois grupos: alteração sistêmica (diabetes, cardiopatia, hepatite, etc.) ou uso de medicamentos (tais como antibióticos, anti-inflamatórios de uso contínuo, fenitoína, ciclosporina) que possam influenciar na resposta ao tratamento periodontal; hábito tabagista, gravidez ou período de lactação.

Os pacientes selecionados foram submetidos a coleta de saliva a partir de bochecho com 5 mL de solução de Dextrose a 3% durante 1 minuto. Posteriormente, foi adicionado 3 mL de TNE com álcool para permitir conservação dessas amostras em laboratório.

### **4.2 Extração do DNA**

No laboratório, para a obtenção das células epiteliais, foi adicionado água destilada para que as amostras atingissem o mesmo volume. Posteriormente, foram centrifugadas durante 10 minutos à 3000 rpm para sedimentação dessas células

epiteliais bucais, conforme descrito por Trevilatto e Line (2000). Foi observado a formação de um pellet de células sedimentadas no fundo dos tubos.

Após o descarte do sobrenadante dos tubos Falcon, foi adicionado 5mL de TNE sem álcool e centrifugado por 10 minutos a 3000 rpm e, novamente, descartado o sobrenadante. Em sequência, foi acrescentado 1 mL de solução de lise (10 mM Tris pH 8.0, 0.5% SDS, 5 mM EDTA) aos tubos e todo o conteúdo foi homogeneizado com o auxílio de uma pipeta e transferido para tubos eppendorf de 2 mL. Por fim, a próxima etapa consistiu em adicionar 10 µL proteinase K (20 mg/ ml) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) a esta mistura e incubar overnight a 55°C em movimentação leve.

### **4.3 Purificação do DNA**

No dia seguinte à incubação das células bucais, as proteínas e contaminantes foram removidos pela adição de 470 µL de solução de acetato de amônio 8M e EDTA 1mM e encaminhados para centrifugação a 14000 rpm por 10 minutos a 4°C. Com auxílio de uma pipeta, foi transferido o sobrenadante (contendo o DNA), para tubos eppendorfs estéreis duplicados e adicionado 540 µL de isopropanol para a precipitação do DNA genômico. Novamente foi realizado centrifugação a 14000 rpm por 10 minutos a 4°C e descartado o sobrenadante.

A adição de 1mL de etanol 70% gelado foi realizada em um dos tubos da dupla, para lavagem do DNA, seguido de movimentação suave com uso da pipeta até a soltura do pellet de DNA. Posteriormente, foi transferido esse conteúdo para o outro tubo da dupla, sendo muito importante certificar que o pellet foi devidamente transferido. Uma última centrifugação a 14000 rpm por 10 minutos a 4°C foi realizada, seguida de descarte do etanol e foi mantido os tubos abertos para a evaporação total do etanol nos tubos. Por fim, o DNA foi ressuscitado em 50 µL de TE pH 8.0 (10 mM Tris e 1 mM EDTA) e armazenado a freezer a -20°C.

Após a extração e purificação do DNA, a qualidade e a concentração do material genético foram avaliadas através da mensuração de 1 µL de amostra no equipamento de espectrofotometria (Nanodrop 2000, ThermoFisher Scientific) para que fosse possível diluir as amostras à uma concentração padrão de 10 ng/mL. As próximas etapas do projeto contemplaram a genotipagem do polimorfismo genético

rs1126478 no gene *LTF* através de ciclos de Reação em Cadeia da DNA Polimerase (PCR), que amplificaram fragmentos específicos do DNA das amostras obtidas para a análise da distribuição de genótipos e frequência alélica na população do estudo.

#### **4.4 Padronização da sonda taqman e genotipagem**

A análise do polimorfismo genético rs1126478 no gene *LTF*, assim como qualquer análise de SNPs, preconiza a padronização de primers específicos para a região de interesse do DNA do estudo. Para essa padronização foram realizadas Reações em Cadeia da DNA Polimerase em tempo real (rt-PCR) com uso do sistema de sondas Taqman® para discriminação de alelos (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) e o aparelho LightCycler 480 (Roche). As reações foram realizadas em um volume total de 10 µL por poço (1 µL de DNA a 10 ng/ml, 5 µL de 2X TaqMan master mix, 0,5 µL de 20X Assay Working Stock (sonda TaqMan para determinação do SNP rs1126478 e 4,5 µL de Nuclease Free Water), distribuídos em uma placa de 96 poços. Como padronização das especificações da corrida de rt-PCR, seguimos a recomendação do fabricante. A fluorescência da amplificação do PCR foi identificada através do StepOne Plus (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) e analisada com o software indicado pelo fabricante.

## 5 RESULTADOS

Os dados clínicos e demográficos dos pacientes incluídos nesse estudo para coleta de amostras de saliva estão descritos na Tabela 1. Foi observado uma maior predominância de pacientes do gênero feminino (F) para o grupo PerioC em relação ao grupo SP em ambos grupos analisados (79% e 65%, respectivamente ( $p \leq 0,05\%$ )). Não houve diferença estatística entre os parâmetros clínicos, etários e étnicos entre os grupos PerioC e SP.

Tabela 1 — Dados clínicos e demográficos das populações PerioC e SP.

Características	PerioC	SP
Idade (média $\pm$ desvio padrão)	34.06 $\pm$ 4.6 A	30.7 $\pm$ 5.8 A
Gênero (% - M/F)	21 / 79 A	35 / 65 B
Etnia (C / Af / As)	16.5 / 83.5 / 0 A	13.2 / 85.2 / 1.6 A
Índice de Placa (média $\pm$ desvio padrão)	23.10 $\pm$ 6.53 A	19.36 $\pm$ 5.38 A
Índice de Sangramento (média $\pm$ desvio padrão)	24.83 $\pm$ 9.05 A	19.39 $\pm$ 2.31 A
Profundidade de Sondagem (média $\pm$ desvio padrão)	2.35 $\pm$ 0.05 A	2.13 $\pm$ 0.23 A
Nível Clínico de Inserção (média $\pm$ desvio padrão)	5.44 $\pm$ 1.04 A	4.15 $\pm$ 0.72 A

Letras diferentes indicam presença de diferença estatística entre PerioC e SP ( $p \leq 0,05$ ).

O gráfico 1 apresenta a distribuição das frequências alélicas (T/C) encontrada para o SNP rs1126478 nas amostras de DNA coletadas a partir da saliva dos grupos PerioC (periodontite Grau C) e SP (saúde periodontal). A análise estatística aplicada foi o teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ), sendo adotado o nível de significância de 5% para esse estudo ( $p$  valor  $\leq 0,05$ ). Nesse estudo, o alelo alterado C apresentou uma maior frequência alélica na população com PerioC em comparação com o grupo SP (55,93% e 45,05%, respectivamente). Já o alelo ancestral T esteve presente em uma menor frequência para o grupo PerioC em comparação ao grupo SP (44,07% e 55,93%, respectivamente). A distribuição dos alelos T e C para a variação rs1126478 no gene *LTF* apresentou diferença estatística significativa ( $p=0,008$ ) entre as populações PerioC e SP.

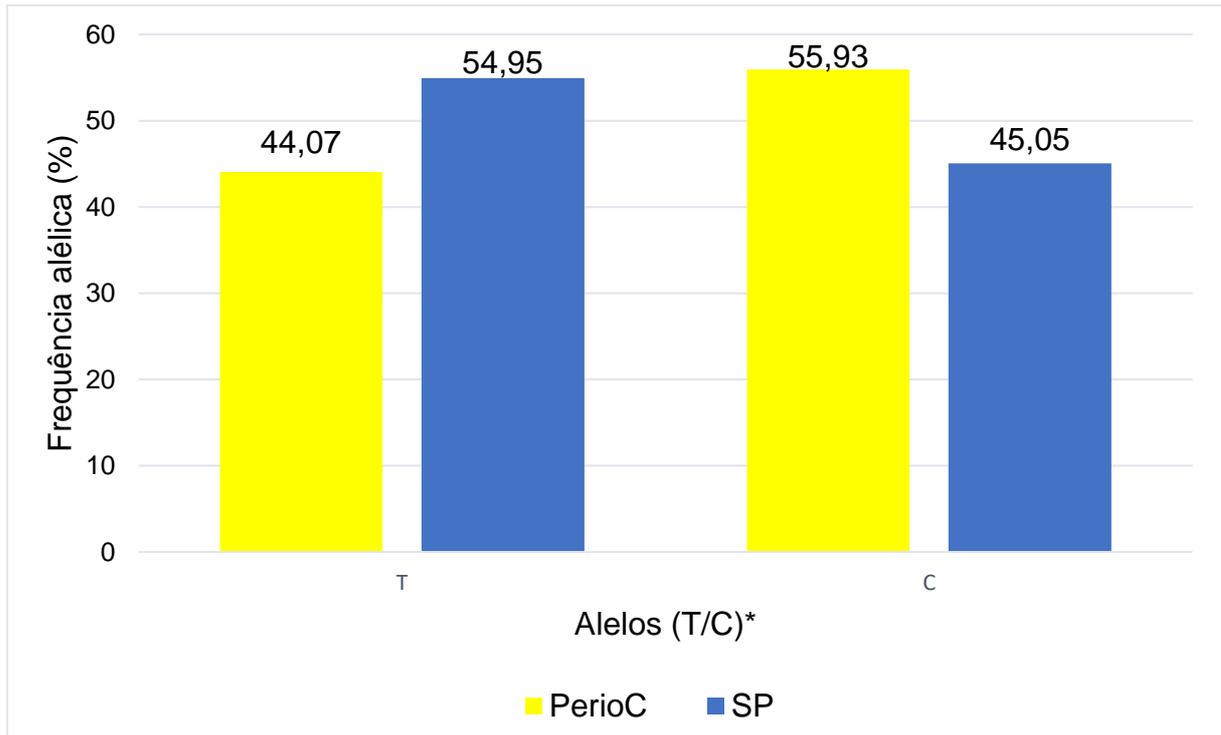


Gráfico 1 — Frequência alélica (T/C) do SNP rs1126478 para o gene *LTF* nos grupos PerioC e SP. \*Indica presença de diferença estatística entre PerioC e SP ( $p \leq 0,05$ ).

O alelo alterado C apresentou menor ocorrência na população SP e, concomitantemente, maior ocorrência na população PerioC, sugerindo uma associação entre o SNP rs1126478 no gene *LTF* e a manifestação de periodontite grau C na população brasileira.

## 6 DISCUSSÃO

Nesse estudo foi observada a distribuição alélica do SNP rs1126748 em uma população brasileira previamente selecionada. O alelo ancestral T esteve presente em 54,95% dos participantes do grupo saúde (SP) e em 44,07% dos pacientes representantes do grupo doente (PerioC). O alelo C, por sua vez, esteve mais presente no grupo PerioC (55,93%) quando comparado ao grupo saudável (45,05%).

O polimorfismo de nucleotídeo único rs1126478, localizado no gene *LTF*, foi estudado previamente em outras populações (Velliyagounder et al., 2003; Jordan et al., 2006; Wu et al., 2009; Ikuta et al., 2013; Zupin et al., 2017). A relação entre esse SNP e a periodontite crônica foi analisada em uma população do nordeste italiano por Zupin et al. (2017). Concluíram que o alelo G, existente quando há a troca do aminoácido lisina por arginina, apresentou aumento da susceptibilidade para periodontite crônica.

Os resultados encontrados em população italiana têm consistência com a associação descrita por Wu et al. (2009) acerca de pacientes taiwaneses, com ancestralidade chinesa. Enquanto o alelo G esteve significativamente mais presente nos grupos PA (Periodontite agressiva) e PC (Periodontite crônica), o alelo A apresentou redução de risco de AgP na população taiwanesa. A metodologia desse estudo incluiu pacientes fumantes e, como hábitos tabagistas influenciam na resposta do hospedeiro ao desafio periodontal, os autores realizaram ajuste nessa variante, subdividindo em outros grupos. Mesmo no grupo não fumante, o genótipo carregando o alelo G mostrou-se associado a maior susceptibilidade de periodontite agressiva em taiwaneses.

A presente pesquisa considerou os alelos T e C para as amostras analisadas, sendo observado a substituição de base T>C na população brasileira. Nossos resultados sugerem que o alelo ancestral, ou seja, o alelo T, representa um fator de proteção para a população brasileira, estabelecendo relação com o diagnóstico de saúde periodontal, semelhante ao que foi identificado por Wu et al. (2009) em uma população taiwanesa. Cabe ressaltar que a doença periodontal é multifatorial e que a presença isolada do alelo ancestral no indivíduo não determina a ausência da manifestação da periodontite.

A distribuição das frequências para o alelo alterado, nesse caso alelo C, indicou uma maior susceptibilidade para o hospedeiro desenvolver Periodontite Grau C, em relação a indivíduos sem a alteração genética rs1126478 no gene *LTF*. Esse resultado, corroborando com outras associações na literatura, aponta o alelo alterado (C) como fator de risco para a doença periodontal. Mais uma vez, essa associação é uma sugestão e caso o paciente não apresente desequilíbrio entre fatores microbianos e comportamentais, por exemplo, a doença periodontal não terá início de manifestação e progressão.

Estudos genéticos são dependentes de etnia, logo os resultados e interpretações variam de acordo com a amostra utilizada, conforme exemplificado anteriormente (Andia et al., 2013; Fine, 2015; Loos et al., 2015). Cabe ressaltar que o Brasil é um país de grande extensão territorial e constituído por uma população extremamente miscigenada. Apesar da heterogeneidade brasileira, nossos participantes relataram majoritariamente descendência africana.

Os resultados dessa pesquisa correspondem a uma amostra de pacientes da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP-Unicamp), localizada no sudeste brasileiro. Entretanto, se a mesma metodologia for replicada em outras populações, até mesmo em outra região do Brasil há elevadas chances de os resultados serem divergentes daqueles encontrados no presente estudo.

Considerando que fatores genéticos tem diferentes efeitos em diferentes populações, sugere-se a importância do desenvolvimento de mais estudos abordando não somente a relação desse SNP com outras populações internacionais, como também com amostras de outras regiões brasileiras. Há necessidade de avaliação parâmetros clínicos, níveis de expressão gênica (*LTF*) e níveis de expressão proteica (lactoferrina) nos pacientes portadores da alteração genética rs1126478 no gene *LTF*.

Um maior aprofundamento nesse tema permitiria melhores conclusões, podendo determinar um novo marcador molecular genético para a doença periodontal (Loos e Dyke, 2020). Além disso, possibilitaria o desenvolvimento de novos protocolos de tratamento, dedicados a uma abordagem mais preventiva, em vez de terapêutica (curativa) a fim de controlar a doença periodontal nos pacientes mais susceptíveis a periodontite.

## 7 CONCLUSÃO

O trabalho permitiu validar a associação entre o polimorfismo de nucleotídeo único rs1126478 no gene *LTF* e a periodontite Grau C na população brasileira, uma vez que o alelo ancestral T esteve mais presente na população de Saúde Periodontal (SP) e o alelo alterado C apresentou maior frequência na população com periodontite Grau C (PerioC). É sugerida a relação entre a presença da alteração genética rs1126478 e a maior susceptibilidade de periodontite em seu estágio mais avançado. Dessa forma, o trabalho reforça a influência de fatores genéticos no desenvolvimento da doença periodontal, principalmente para a periodontite grau C.

## REFERÊNCIAS<sup>1\*</sup>

Albandar JM. Aggressive periodontitis: case definition and diagnostic criteria. *Periodontol 2000*. 2014 Jun;65(1):13-26. doi: 10.1111/prd.12014.

Amerongen AV, Veerman EC. Saliva--the defender of the oral cavity. *Oral Dis*. 2002 Jan;8(1):12-22. doi: 10.1034/j.1601-0825.2002.1o816.

Andia DC, Letra A, Casarin RC, Casati MZ, Line SR, de Souza AP. Genetic analysis of the IL8 gene polymorphism (rs4073) in generalized aggressive periodontitis. *Arch Oral Biol*. 2013 Feb;58(2):211-7. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.05.008.

Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999 Dec;4(1):1-6. doi: 10.1902/annals.1999.4.1.1.

Carranza FA, Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR. *Periodontia Clínica*. 11. ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier; 2012.

Casarin RC, Peloso Ribeiro ED, Sallum EA, Nociti FH Jr, Gonçalves RB, Casati MZ. The combination of amoxicillin and metronidazole improves clinical and microbiologic results of one-stage, full-mouth, ultrasonic debridement in aggressive periodontitis treatment. *J Periodontol*. 2012 Aug;83(8):988-98. doi: 10.1902/jop.2012.110513.

Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, Mealey BL, Papapanou PN, Sanz M, Tonetti MS. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018 Jun;45 Suppl 20: S1-S8. doi: 10.1111/jcpe.12935.

Deas DE, Mealey BL. Response of chronic and aggressive periodontitis to treatment. *Periodontol 2000*. 2010 Jun; 53:154-66. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00334.

Demmer RT, Papapanou PN. Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2010 Jun; 53:28-44. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00326.

---

<sup>1\*</sup> De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

Fine DH. Lactoferrin: A Roadmap to the Borderland between Caries and Periodontal Disease. *J Dent Res*. 2015 Jun;94(6):768-76. doi: 10.1177/0022034515577413.

Huynh AH, Veith PD, McGregor NR, Adams GG, Chen D, Reynolds EC, Ngo LH, Darby IB. Gingival crevicular fluid proteomes in health, gingivitis and chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2015 Oct;50(5):637-49. doi: 10.1111/jre.12244.

Ikuta T, Inagaki Y, Tanaka K, Saito T, Nakajima Y, Bando M, Kido J, Nagata T. Gene polymorphism of  $\beta$ -defensin-1 is associated with susceptibility to periodontitis in Japanese. *Odontology*. 2015 Jan;103(1):66-74. doi: 10.1007/s10266-013-0139-9.

Jordan WJ, Eskdale J, Lennon GP, Pestoff R, Wu L, Fine DH, Gallagher G. A non-conservative, coding single-nucleotide polymorphism in the N-terminal region of lactoferrin is associated with aggressive periodontitis in an African-American, but not a Caucasian population. *Genes Immun*. 2005 Oct;6(7):632-5. doi: 10.1038/sj.gene.6364239.

Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Jun 22;3:17038. doi: 10.1038/nrdp.2017.38.

Laine M, Jepsen S, Loos BG. Progress in the identification of genetic factors in periodontitis. *Curr Oral Health*. 2014; Rep. 1:272-8. doi: 10.1007/s40496-014-0037-4.

Laine ML, Crielaard W, Loos BG. Genetic susceptibility to periodontitis. *Periodontol 2000*. 2012 Feb;58(1):37-68. doi: 10.1111/j.1600-0757.2011.00415.

Lindhe J. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

Loos BG, Papantonopoulos G, Jepsen S, Laine ML. What is the Contribution of Genetics to Periodontal Risk? *Dent Clin North Am*. 2015 Oct;59(4):761-80. doi: 10.1016/j.cden.2015.06.005.

Loos BG, Van Dyke TE. The role of inflammation and genetics in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2020 Jun;83(1):26-39. doi: 10.1111/prd.12297

Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*. 1997 Jun; 14:216-48. doi: 10.1111/j.1600-0757.1997.tb00199. x.

Sanz M. European workshop in periodontal health and cardiovascular disease. *Eur Heart J Suppl*. 2010;12(Suppl B):B2.

Socransky SS, Haffajee AD. Problems in the evaluation of therapeutic procedures in view of recent periodontal research findings. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1985;5(2):68-88.

Stabholz A, Soskolne WA, Shapira L. Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2010 Jun; 53:138-53. doi: 10.1111/j.1600-0757.2010.00340.

Susin C, Haas AN, Albandar JM. Epidemiology and demographics of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2014 Jun;65(1):27-45. doi: 10.1111/prd.12019.

Taiete T, Casati MZ, Ribeiro Édel P, Sallum EA, Nociti Júnior FH, Casarin RC. Amoxicillin/metronidazole associated with nonsurgical therapy did not promote additional benefits in immunologic parameters in generalized aggressive periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *Quintessence Int*. 2016 Apr;47(4):281-92. doi: 10.3290/j.qi. a34723.

Taiete T, Casati MZ, Stolf CS, Corrêa MG, Santamaria MP, Andere NMRB, et al. Validation of reported GLT6D1 (rs1537415), IL10 (rs6667202), and ANRIL (rs1333048) single nucleotide polymorphisms for aggressive periodontitis in a Brazilian population. *J Periodontol*. 2019 Jan;90(1):44-51. doi: 10.1002/JPER.18-0071.

Tonetti MS, Jepsen S, Jin L, Otomo-Corgel J. Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: A call for global action. *J Clin Periodontol*. 2017 May;44(5):456-62. doi: 10.1111/jcpe.12732.

Trevilatto PC, Line SR. Use of buccal epithelial cells for PCR amplification of large DNA fragments. *J Forensic Odontostomatol*. 2000 Jun;18(1):6-9.

Velliyagounder K, Kaplan JB, Furgang D, Legarda D, Diamond G, Parkin RE, et al. One of two human lactoferrin variants exhibits increased antibacterial and transcriptional activation activities and is associated with localized juvenile periodontitis. *Infect Immun*. 2003 Nov;71(11):6141-7. doi: 10.1128/IAI.71.11.6141-6147.2003.

Vieira AR, Albandar JM. Role of genetic factors in the pathogenesis of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2014 Jun;65(1):92-106. doi: 10.1111/prd.12021.

Wakabayashi H, Kondo I, Kobayashi T, Yamauchi K, Toida T, Iwatsuki K, Yoshie H. Periodontitis, periodontopathic bacteria and lactoferrin. *Biometals*. 2010 Jun;23(3):419-24. doi: 10.1007/s10534-010-9304-6.

Wu YM, Juo SH, Ho YP, Ho KY, Yang YH, Tsai CC. Association between lactoferrin gene polymorphisms and aggressive periodontitis among Taiwanese patients. *J Periodontal Res*. 2009 Jun;44(3):418-24. doi: 10.1111/j.1600-0765.2008.01120.

Yadav N, Lamba AK, Thakur A, Faraz F, Tandon S, Pahwa P. Effect of periodontal therapy on lactoferrin levels in gingival crevicular fluid. *Aust Dent J*. 2014 Sep;59(3):314-20. doi: 10.1111/adj.12203.

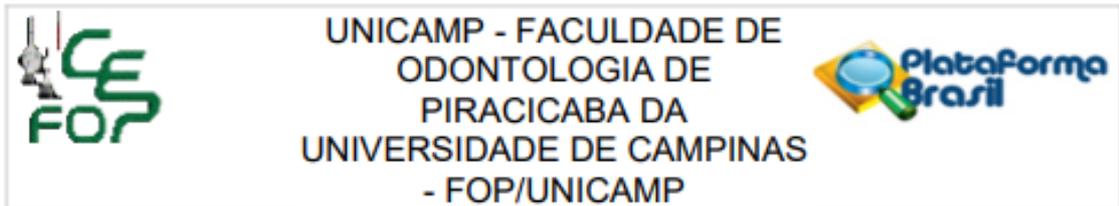
Zupin L, Robino A, Navarra CO, Pirastu N, Di Lenarda R, Gasparini P, Crovella S, Bevilacqua L. LTF and DEFB1 polymorphisms are associated with susceptibility toward chronic periodontitis development. *Oral Dis*. 2017 Oct;23(7):1001-1008. doi: 10.1111/odi.12689.

## ANEXOS

### Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio



## Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Associação dos polimorfismos genéticos rs4284742 (gene SIGLEC5) e rs1800872 (gene IL10) com a periodontite na população brasileira

**Pesquisador:** Camila Schmidt Stolf

**Área Temática:** Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

**Versão:** 4

**CAAE:** 51534921.0.0000.5418

**Instituição Proponente:** Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 5.739.821

#### Apresentação do Projeto:

O parecer inicial é elaborado com base na transcrição editada do conteúdo do registro do protocolo na Plataforma Brasil e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil. Os pareceres de retorno, emendas e notificações são elaborados a partir do último parecer e dos dados e arquivos da última versão apresentada. Trata-se de SOLICITAÇÃO DE EMENDA (E1) AO PROTOCOLO originalmente aprovado em 30/11/2021 para alteração na metodologia e extensão do cronograma de realização da pesquisa. O parecer foi atualizado de acordo com a documentação apresentada. A solicitação está detalhadamente descrita ao final do parecer.

A EQUIPE DE PESQUISA citada na capa do projeto de pesquisa inclui CAMILA SCHMIDT STOLF (Cirurgiã Dentista, Doutoranda no PPG Clínica Odontológica, área de Periodontia da FOP/UNICAMP, Pesquisadora responsável, Co-orientadora), ARTHUR GABRIEL DE SOUZA PEREIRA (Graduando no curso de Odontologia da FOP-UNICAMP, Orientando), BRUNA CONSOLARO DE ALMEIDA (Graduanda no curso de Odontologia da FOP-UNICAMP, Orientanda), RENATO CORRÊA VIANA (Cirurgião Dentista, Docente da área de Periodontia da FOP-UNICAMP, Orientador), o que é confirmado na

#### Situação do Parecer:

Aprovado

#### Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PIRACICABA, 04 de Novembro de 2022

---

**Assinado por:**  
jacks jorge junior  
(Coordenador(a))

## Anexo 3 – Iniciação científica



Universidade Estadual de Campinas  
Pró-Reitoria de Pesquisa  
Programas de Iniciação Científica e Tecnológica  
www.prp.unicamp.br | Tel. 55 19 3521-4891

### **PARECER SOBRE RELATÓRIO FINAL DE ATIVIDADES**

**Bolsista:** BRUNA CONSOLARO DE ALMEIDA - RA 213829

**Orientador(a):** Prof.(a) Dr.(a) RENATO CORREA VIANA CASARIN

**Projeto:** *"Associação do polimorfismo genético rs1800872 no gene IL10 com a periodontite Grau C em uma população brasileira"*

**Bolsa:** PIBIC/CNPq

**Processo:** 125692/2021-8

**Vigência:** 01/09/2021 a 31/08/2022

### **PARECER**

*O relatório científico final é bem estruturado e completo, revelando uma possível associação entre o SNP estudado e a doença periodontal. A estudante manteve um excelente desempenho acadêmico.*

**Conclusão do Parecer:**

 **Aprovado**

**Pró-Reitoria de Pesquisa, 10 de outubro de 2022.**

**Marcos Yakuwa Mearu**

PR ASS ADMINISTRATIVOS / TÉCNICO EM  
ADMINISTRAÇÃO  
(Assinatura Digital em anexo)

Documento assinado eletronicamente por **Marcos Yakuwa Mearu, PR ASS ADMINISTRATIVOS / TÉCNICO EM ADMINISTRAÇÃO**, em 10/10/2022, às 11:34 horas, conforme Art. 10 § 2º da MP 2.200/2001 e Art. 1º da Resolução GR 54/2017.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site:  
sigad.unicamp.br/verifica, informando o código verificador:  
577AEE73 19094814 AB188133 634360F8

