

Mestrado Integrado em Medicina Dentária
Instituto Universitário de Ciências da Saúde

M^a Libertad Cruz Couso, estudante do Curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Universitário de Ciências da Saúde, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste Relatório de Estágio intitulado:

A GENÉTICA NA DOENÇA PERIODONTAL

Confirmo que em todo o trabalho conducente à sua elaboração não recorri a qualquer forma de falsificação de resultados ou à prática de plágio.

Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores foram referenciados ou redigidos com novas palavras, tendo neste caso colocado a citação da fonte bibliográfica.

Relatório apresentado no Instituto Universitário de Ciências da Saúde

Orientador: Professora Auxiliar Marta Mendonça Moutinho Relvas

ACEITAÇÃO DO ORIENTADOR

Eu, **Marta Mendça Moutinho Relvas**, com a categoria profissional de **Profesora auxiliar** do Instituto Universitário de Ciências da Saúde, tendo assumido o papel de Orientador do Relatório Final de Estágio intitulado **A Genética na Doença Periodontal**, do Aluno do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, **M^a Libertad Cruz Couso**, declaro que sou de parecer favorável para que o Relatório Final de Estágio possa ser presente ao Júri para Admissão a provas conducentes à obtenção do Grau de Mestre.

Gandra, *18* de Outubro de 2017

Marta Mendça Moutinho Relvas

O Orientador

"A natureza muitas vezes responde
pergunte a pesquisadores que conhecem
interrogá-la".

"A experimentação transforma o homem
no intérprete da natureza"

Francis Bacon, barão de Verulam.

**Ao Dr. Amador Alvarez García,
o meu professor, o meu amigo,
o meu apoio incondicional,
tanto profissional como pessoalmente.**

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é o fim dum caminho percorrido. Quando se está a completar, o caminhante percebe o muito que deve agradecer. A realização não teria sido possível sem o apoio essencial de muitas pessoas, a quem dou o merecido reconhecimento. Vou tentar resumir em algumas linhas a gratidão que sinto por todas as pessoas que estiveram presentes durante este estágio da minha vida, possibilitando hoje que deixe de ser um sonho e que se torne real.

O Dr. Amador Álvarez García, o meu chefe, o meu mentor, a pessoa que me incitou a começar este caminho. Ele confiou em mim e soube que estava pronta para atingir esta meta. Por esta razão, estudei na CESPU, acompanhou-me neste percurso e, como é óbvio, encorajou-me a torná-lo compatível com o meu trabalho.

O Dr. Ángel Carracedo, Professor de Medicina Legal da Universidade de Santiago de Compostela, Diretor da Fundação Galega da Medicina Genômica, comprometido divulgador científico, que, apesar dos seus inúmeros compromissos, abriu as portas de sua casa para me orientar e ajudar na realização deste precioso trabalho, como se fosse um amigo. Muito obrigada por ser uma pessoa tão humilde e tão humana.

A minha titora, Professora Marta Mendoça Mountinho Relvas, pela sua paciência e disponibilidade, por me ajudar e transmitir paixão pelo seu trabalho.

Os professores da Universidade pelos seus esforços para nos transmitir, neste tempo, os seus conhecimentos.

Os meus amados filhos, Yvonne e Xoel, pela paciência, porque souberam desculpar as minhas ausências nestes últimos anos. Por estarem sempre prontos para um sorriso, tantas vezes fundamental. Nenhuma coisa me traz mais contentamento do que a vossa felicidade.

O meu amado marido, Martín, por me ajudar a terminar esta fase, que, embora não fosse a mais difícil, foi a mais longa. Quantas vezes me perguntavas “canto falta?”.

Foi exatamente esse estímulo o que me encorajou para continuar. Sem o teu apoio nunca teria terminado esta tarefa nem ultrapassado todas as adversidades.

O meu primo Miguel pelo seu apoio destes anos.

A todos os meus colegas universitários e, em especial, a Cesare Farro. Você conseguiu com as suas palavras e o seu conhecimento renovar em mim a paixão pela profissão.

A minha família, os meus pais, por terem me ensinado os valores da vida, respeito e carinho pelas pessoas. Para a minha irmã Marisa e o meu irmão Xulio que estão sempre lá para o que precisar. Eles ocupam um lugar especial na minha vida.

Os meus pacientes que estiveram presentes de alguma forma, apoiando-me e encorajando-me.

As pessoas que estiveram presentes no caminho da vida e, embora agora já não estejam connosco, forneceram o seu grão de areia para que hoje seja quem e como sou.

A Gloria González Taboada, esposa do Dr. Amador Álvarez e os seus filhos, Adrián e Edgar, que sempre me ajudaram e me apoiaram, permitindo que eu conciliasse o meu trabalho com a Universidade para alcançar esse enorme e tão sonhado desafio.

As pessoas que, embora não apareçam aqui com nomes e sobrenomes, estiveram presentes de alguma forma durante o desenvolvimento deste trabalho e tornaram possível que hoje seja real.

Para todos/as a minha eterna gratidão.

RESUMO



Estamos a viver uma época onde se estão a desvendar uma série de paradigmas, porque atravessamos os limites do conhecimento científico que nos conduz a uma medicina mais preditiva e personalizada, que se pode considerar desde as nossas particulares bases genéticas e epigenéticas. Tendo em consideração que a placa bacteriana é o fator etiológico primário da patogénese da periodontite, a sua presença não pode explicar a enorme variação da doença na população. O estudo do padrão hereditário e algumas desordens genéticas em relação com a periodontite podem ajudar a compreender o papel dos fatores de risco genéticos para a doença. A predisposição genética é mais provável na periodontite de aparecimento precoce do que na periodontite crónica do adulto. Além disso, foi identificado um genótipo específico polimórfico da interculina -1 como um marcador genético para identificar indivíduos que poderiam sofrer de periodontite grave. O estudo dos fatores genéticos abre a possibilidade de maior sucesso no controle e prevenção de maneira individualizada da doença periodontal. Hoje em dia sabemos que os principais motivos que originam a doença periodontal são determinadas bactérias patogénicas, que, quando se instalam na cavidade oral e colonizam o sulco gengival, dão início à resposta imune correspondente. Embora o ambiente desempenhe um papel essencial no desenvolvimento, prognóstico e evolução das doenças periodontais, no caso da periodontite existe um alto componente genético, aproximadamente de 50%.

Palavras-chave: Genética, Epigenética, Doença periodontal, GWAS, Microbioma.

ABSTRACT



We are living in a time where a great number of paradigms are breaking as we are crossing the thresholds of scientific knowledge that is leading us to a more predictive and personalized medicine that can be taken into account from our particular genetic and epigenetic bases. Taking into account that plaque is the primary etiological factor of the pathogenesis of periodontitis and yet its presence alone can not explain the enormous variation of disease in the population. The study of hereditary pattern and some genetic disorders in relationship with periodontitis may help us to understand the role of genetic risk factors for the disease. The genetic predisposition is plausible for early-onset periodontitis than for chronic adult periodontitis. In addition, it has been possible to identify a specific polymorphic genotype of interleukin-1 that constitutes a genetic marker to identify individuals who might suffer from severe periodontitis. The study of genetic factors opens the possibility of greater success in the individualized control and prevention of periodontal disease. Today we know that the main triggers of periodontal disease are certain pathogenic bacteria, which when installed in the oral cavity and colonize the gingival sulcus trigger the corresponding immune response. Although the environment plays an essential role in the development, prognosis and evolution of periodontal diseases, in the case of periodontitis there is a high genetic component, approximately 50%.

Key words: Genetics, Epigenetics, Periodontal disease, GWAS, Microbioma.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS



ADN: Ácido Desoxirribonucleico

SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms

SNVs: Variantes nucleótido único

TNF: Factor de Necrose tumoral

IL-1: Interleucina 1

IL-4: Interleucina 4

IL-10: Interleucina 10

HLA: Human leukocyte antigen

HMP: Projeto Microbioma Humano

PGE2: Prostaglandina Endoperoxidase

GWAS: Genoma–Wide Association Studies–Estudo do genoma completo

GLDT1: Glucosiltransferase



ÍNDICE GERAL

CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. PERIODONTITE. PROGRESSÃO DA DOENÇA. EPIDEMIOLOGIA.....	1
1.1.1. HERDABILIDADE DA PERIODONTITE.....	4
1.1.2. IMPORTÂNCIA DA PROCURA DE GENES.....	6
1.2. COMO SE PROCURAM OS GENES?.....	6
1.2.1. PERIODONTITE MENDELIANA SINDRÔMICA.....	6
1.2.2. PERIODONTITE COMUM ESPORÁDICA. ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO.....	8
1.2.3. GENES CANDIDATOS – GWAS.....	8
2. OBJETIVOS.....	12
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
3.1. PESQUISA BIBLIOGRÁFICA.....	12
3.2. TRABALHO DE CAMPO.....	13
4. CONCLUSÕES E PERPETIVAS DE FUTURO.....	13
4.1. MICROBIOMA.....	13
4.2. EPIGENOMA.....	14
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
6. ANEXOS.....	22
CAPÍTULO II.....	31
1. RELATÓRIO DAS ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS NOS ESTÁGIOS SUPERVISIONADO.....	31
1.1. ESTÁGIO EM CLÍNICA HOSPITALAR.....	31
1.2. ESTÁGIO EM SAÚDE ORAL COMUNITÁRIA.....	31
1.3. ESTÁGIO EM CLÍNICA GERAL DENTÁRIA.....	32
1.4. TABELA DE ATOS CLÍNICOS REALIZADOS NOS ESTÁGIOS.....	33
1.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO



1.1. PERIODONTITE. PROGRESSÃO DA DOENÇA. EPIDEMIOLOGIA

A periodontite é uma doença multifatorial que resulta da interação de bactérias periodontopatogénicas com os mecanismos de resposta imune do hospedeiro. As bactérias da placa bacteriana representam microrganismos altamente desenvolvidos e especializados que têm conseguido adaptar-se ao meio de uma forma excepcional. Demonstrou-se amplamente que as bactérias têm um papel etiológico primário na patogénese da periodontite e que participam na formação da bolsa periodontal. Por causa da infeção bacteriana, os tecidos periodontais inflamam-se e são destruídos lentamente pela ação do processo inflamatório. No entanto, nem a quantidade nem a variedade das espécies são capazes de oferecer uma explicação dos diferentes graus de severidade que a periodontite pode ter. Mesmo assim, numerosos estudos têm apresentado uma forte associação entre áreas com a doença periodontal destrutiva e uma maior concentração de certas espécies periodontopatogénicas. Entre estas podemos salientar: *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromona gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* ou *Campylobacter rectus*. Os microrganismos exógenos, que não fazem parte do ecossistema periodontal, e cujo objectivo de tratamento é a sua eliminação do ecossistema, e os microrganismos endógenos, que fazem parte do ecossistema periodontal, e em que o tratamento está geralmente dirigido a diminuir sua quantidade. Se a doença se deixasse sem tratamento, os dentes perderiam o seu suporte ligamentoso ao osso alveolar, o próprio osso alveolar se reabsorveria e os dentes tornariam-se móveis para por fim perder-se.¹⁻³

A periodontite é considerada uma doença complexa, quer dizer, tem um componente genético (multigénico) e um componente ambiental. As características comuns das doenças humanas complexas (por exemplo, a doença Alzheimer, a doença de Crohn, as doenças cardiovasculares...) apresentam um fenótipo de gravidade variável, de progressão lenta e de natureza crónica.^{2,3}

O conhecimento atual da formação da placa bacteriana e a sua organização em biofilme é fulcral para o entendimento do papel dos microrganismos na etiopatogênese da doença periodontal. As bactérias da placa bacteriana representam microrganismos altamente desenvolvidos e especializados que têm conseguido adaptar-se ao seu meio de uma forma excepcional. A eliminação da placa bacteriana conduz ao desaparecimento dos sinais clínicos de inflamação, por tanto, a gengivite é um estado clínico não destrutivo da doença periodontal.

Assim, sabemos que a periodontite é iniciada e perpetuada por um conjunto de bactérias, principalmente gram-negativas e anaeróbicas, que colonizam a área subgengival.^{3,4}

O correto diagnóstico, o tratamento e o controle dos fatores etiológicos, tanto pelo clínico como pelo paciente, são essenciais para manter o periodonto são e deter a progressão da doença. Junto com o tratamento periodontal não cirúrgico deve-se incluir educação em saúde e técnica de higiene oral, observando uma redução dos sinais de inflamação, sangramento à sondagem e índice de placa, além da redução da profundidade à sondagem e/ou ganho dos níveis de inserção.

O tratamento periodontal não cirúrgico consta da remoção da placa supragengival e subgengival, uso de agentes antimicrobianos e antiplaca, eliminação de fatores locais retentores de placa, além de realizar controles periódicos para avaliar o paciente no tempo e corroborar que a doença periodontal não tem avançado. (5)

A agregação familiar pode resultar de partilhar genes, exposição ambiental e influências socioeconômicas. Existem muitos estudos clínicos que sugerem uma agregação familiar para a periodontite e que, em consequência, sustentam uma transmissão genética. Os genes transmitem-se de pais a filhos, um ser humano possui aproximadamente 25000 genes em cada célula; a combinação de genes determina um fenótipo. As variações na sequência linear do código genético determinam as diferenças entre indivíduos. Entre estas variações, além das que implicam repetições em grupo ou dispersas de tamanho variável, as mais comuns são as variações de um nucleótido

(SNVs), muitas das quais são polimórficas e se denominam SNPs (single nucleotide polymorphisms) que são muito abundantes por todo o genoma, com uma frequência de um SNP a cada 100 bp aproximadamente^{5,6}

A evidência do papel da genética e a maioria dos estudos publicados encontraram a agregação familiar de casos de periodontite juvenil ou periodontite de início precoce; na periodontite crónica é menos frequente.⁶

Há dois tipos de estudo para conhecer o componente genético das doenças: os baseados em estudos de associação em populações e os estudos de ligação baseados em famílias. A demonstração mais convincente da influência genética na periodontite crónica vem de estudos em gémeos. Os dados em gémeos usam-se para estimar a hereditabilidade, que é a porção de variação fenotípica atribuída à variação genética. A herança estima-se a partir de gémeos que são separados ao nascer e se criam separados –não compartilham o mesmo ambiente–. Quando um indivíduo é geneticamente suscetível, pode não desenvolver a doença, dependendo de diversos fatores: dieta, exposição ambiental e doenças sistémicas.⁶

Alguns fatores de risco podem ser controlados para impedir o desenvolvimento e progressão da periodontite e melhorar os resultados do tratamento. Por esta razão é importante determinar o risco e assim identificar a progressão da periodontite em etapas precoces. Dentro das determinantes de risco da periodontite encontram-se a idade e o género; dentro dos fatores de risco encontram-se a placa, a microbiótica, a higiene oral e o tabaco, que influem no processo de destruição periodontal. O principal fator ambiental é o tabaco –devido à alteração da microflora e das imunoglobulinas principalmente⁷– e, claro, os fatores genéticos.

Os fatores de risco modificáveis ligados à periodontite são a higiene oral inadequada, os microorganismos patogénicos, o uso de tabaco –a prevalência, extensão e severidade da periodontite crónica é maior nos pacientes que fumam–, a diabetes mellitus –é associada a uma maior prevalência e severidade da periodontite–, o consumo de álcool –que afecta a função dos neutrófilos, macrófagos e células T, acrescentando a probabilidade de inflamação e reabsorção óssea–, as deficiências nutricionais, o stress, a imunossupressão e osteoporose.⁸

A ligação entre a prevalência e a severidade da periodontite com respeito à idade é clara: os adultos de maior idade têm maior risco de apresentar uma destruição severa, maior número de dentes perdidos e maior sangramento à sondagem.

Quanto às diferenças entre gêneros no desenvolvimento da doença, numerosos estudos têm atribuído um maior risco de ter periodontite no sexo masculino, devido ao facto de estar expostos a fatores de risco modificáveis, enquanto às mulheres se associa uma destruição mais rápida em presença da doença.⁷

A suscetibilidade para o desenvolvimento da doença periodontal depende do ambiente, genética, hábitos, condição sistémica do paciente, idade, género, etc. As bactérias envolvidas no processo são, portanto, apenas uma parte do problema.^{7,8}

1.1.1. HERDABILIDADE DA PERIODONTITE

A hereditariedade é o coeficiente entre a variância devida aos genes e o total da variância genética e ambiental; chega a ser um 90% no autismo, um 80% na esquizofrenia, um 50% na periodontite e até um 40% nos cancros com maior componente genético. Embora esta classificação clássica divida as doenças em ambientais, genéticas e complexas, a verdade é que as classes não são estanques e devem ser percibidas como um continuum. Assim, as doenças ambientais –como as infecciosas– têm um componente genético de predisposição individual e é muito comum que muitas doenças mendelianas não tenham uma hereditariedade do 100%, devido com frequência a fatores ambientais.⁹

A busca de marcadores genéticos ligados à severidade e a suscetibilidade da periodontite tem recebido atualmente uma grande atenção. Em particular os polimorfismos de genes relacionadas com o sistema imune do hóspede. Embora o ambiente jogue um papel essencial no desenvolvimento, prognóstico e evolução das doenças periodontais, na periodontite existe um alto componente genético.^{8,9}

O termo “fator de risco” para a periodontite faz referência ao fator (biológico, ambiental ou comportamental) confirmado por uma sequência temporal. Normalmente os estudos assinalam que a presença dum fator de risco incrementa de forma direta a

probabilidade de a doença ocorrer. A ausência desse fator de risco reduz essa probabilidade. Pelo contrário, o genótipo é um fator não modificável.⁹

Há muitos anos que se constatou que nem todos os indivíduos evoluem da mesma forma ante o acúmulo de placa. Alguns indivíduos são muito suscetíveis e desenvolvem formas agressivas de periodontite em idades relativamente precoces, enquanto outros nunca desenvolvem periodontite. Em alguns casos a doença progride lentamente e a perda de dentes ao longo da vida do indivíduo é mínima, enquanto em outros a perda se produz de forma generalizada em pouco tempo. A influência dos fatores genéticos na periodontite parece ser diferente para os diferentes tipos de doença periodontal e tem sido estudada em cada uma dessas classes.^{7,8,9}

Na atualidade tem-se conhecimento da existência de polimorfismos genéticos no sistema imune do hospede que atuam como genes modificadores da doença e, portanto, como fatores de risco para as doenças periodontais. Alguns destes polimorfismos são: a interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF) que no tecido periodontal inflamado se encontra em níveis mais elevados que no tecido sã, os polimorfismos genéticos do receptor da vitamina D que afeta os genes mediadores do equilíbrio da densidade mineral óssea, os polimorfismos do gene codificador da interleucina 10 (IL-10) que se localiza no cromossoma 1 e que regula a resposta inflamatória dos macrófagos atuando como uma citocina antiinflamatória. A IL-10 provoca que os tecidos periodontais do hospede apresentem maior susceptibilidade à inflamação; e, finalmente, os polimorfismos genéticos nos receptores da imunidade natural.¹⁰

A periodontite agressiva apresenta-se em idade precoce na pessoa afetada. O fator genético está intimamente unido à doença de início precoce pela sua consistente associação com muitos transtornos genéticos. Algumas doenças genéticas em que a periodontite agressiva se apresenta são: a Hipofostatemia, o Síndrome de Chediak-Higashi, o Síndrome de Cohen, o Síndrome de Ehler-danlos, ou a Deficiência de adesão leucocitária.^{10,11}

Na periodontite crônica irreversível e destrutiva a presença de bactérias é fundamental, mas é necessária a existência de outros elementos favorecedores do seu

início e progressão, o tabaco algumas doenças sistêmicas e, também, o risco genético onde se demonstrou que a interleucina 1 (IL-1) se relaciona com a severidade da periodontite crônica.¹⁰⁻¹²

1.1.2. IMPORTÂNCIA DA PROCURA DE GENES

O conhecimento do genoma é uma revolução das mais importantes e a mais esperada que está a viver a Medicina, desde a apresentação do Projeto do Genoma Humano. Não há especialidade médica que não necessite atualmente análises genéticas e o número de provas que se solicitam está a crescer a um ritmo superior ao 20% anual. Os avanços em genómica têm tido uma repercussão mais notável em algumas especialidades como a Microbiologia, a Anatomia Patológica, a Hematologia e, obviamente, a Genética, mas todas se viram afetadas em menor ou maior medida.^{13, 14}

O conhecimento dos genes duma doença é importantíssimo. Esse conhecimento seria mesmo mais importante, se pudéssemos conhecer a relação gene-ambiente. Esta relação permitiria compreender melhor as doenças, subclassificá-las duma forma ideal, encontrar novos mecanismos que as identificassem e assim achar novos alvos terapêuticos sobre os que desenhar fármacos e fazer uma medicina mais personalizada, o que constitui as bases da farmacogenómica e da medicina personalizada.

A farmacogenómica é uma realidade e um número, a cada vez mais crescente de medicamentos requer análises genómicas para predizer a eficácia do tratamento ou evitar efeitos secundários.¹³⁻¹⁵

Sabemos que o nosso genoma joga um papel fulcral no nosso desenvolvimento dentário e numa série de doenças orais. Para além disso, o uso dos fatores genómico serve para nos proporcionar, um nível mais individual na atenção da saúde e no manejo das diversas doenças, que se manifestam na cavidade oral de maneira personalizada^{13,15}

1.2. COMO SE PROCURAM OS GENES?

1.2.1. PERIODONTITE MENDELIANA SINDRÓMICA

Os geneticistas têm dividido as doenças genéticas em dois grandes grupos: doenças mendelianas e doenças complexas. A maior diferença nas bases genéticas

complexas é o número de genes envolvidos e a contribuição da cada gene no fenótipo da doença. São doenças que se herdam e seguem um padrão previsível e de simples transmissão; na maioria dos casos a alteração genética dá-se um gene simples que é o maior determinante do fenótipo clínico da doença. Estas doenças seguem o modelo clássico de heranças mendelianas, isto é, autossômico dominante, autossômico recessivo e unido ao sexo. A prevalência das doenças mendelianas ocorre em menos do 0,1% da população. Algum exemplo inclui amelogenese imperfeita. Quando o gene responsável da doença mendeliana se identifica, é possível realizar o diagnóstico e reconhecer os indivíduos que transportam a mutação causante da doença para assim prever o curso da mesma.¹⁶

Doenças genéticas complexas diferem das mendelianas em que não seguem um padrão de transmissão ou distribuição e são o resultado de interações de alelos de diferentes e múltiplos genes. Os fatores ambientais são importantes e necessários para o desenvolvimento da doença. As doenças complexas são mais comuns, ocorrem na totalidade da população. A presença de polimorfismos numa doença complexa é mais difícil de interpretar e diagnosticar.¹⁶

Nas doenças mendelianas temos passado de conseguir analisar, há só 20 anos, um número mínimo de doenças a conseguir diagnosticar hoje muitas das milhares de doenças descritas. Também podemos fazer diagnóstico pré-natal e mesmo os pacientes podem beneficiar-se de diagnósticos pré-implantação ligados à fecundação *in vitro* –direitos felizmente reconhecidos pela nossa legislação– ou, claro, de um conselho genético adequado que permita –a pacientes e familiares– a toma de decisões não dirigidas e respeite o seu direito a saber ou não saber.^{17, 18}

Algumas doenças genéticas mendelianas têm associada periodontite, muitas vezes de forma grave e precoce e em geral em formas sindrômicas. Quer dizer, têm também outros problemas e a periodontite é uma complicação habitual do síndrome. Uma característica comum dessas condições é que eles são herdados através de um modelo mendeliano simples e que geralmente são devidas às alterações de um único gene. Algumas dessas doenças são o síndrome de Papillon-

Lefèvre, síndrome de Down, hipofosfemia, síndrome de Chediak-Higashi, síndrome de Ehlers-Danlos, deficiência de adesão de leucócitos.¹⁹⁻²¹

1.2.2. PERIODONTITE COMUM ESPORÁDICA. ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO

Como foi dito anteriormente, nas doenças não mendelianas os melhores estudos são os de associação que utilizam um desenho de casos e controles onde se analisam marcadores (habitualmente SNPs) que são comparados entre os casos e controles para ver se há diferenças de frequência.

A maior parte dos estudos centraram-se na periodontite de começo precoce denominada periodontite agressiva. Há que ter em conta que os padrões familiares podem refletir a exposição a fatores ambientais comuns de ditas famílias. Portanto é importante considerar os fatores de risco comportamentais e ambientais compartilhados em qualquer subgrupo familiar. Isto inclui educação, higiene oral, agrupamento socioeconómico ou doenças.¹⁷

Os estudos de associação são utilizados para determinar a localização genética de uma região genómica com um efeito fundamental sobre um determinado fenótipo. (Fig.1)

1.2.3. GENES CANDIDATOS – GWAS

A importância da hereditariedade e da genética para o conhecimento da etiopatogenia da doença periodontal e para a prática clínica foi destacada no início de 1924; esse conhecimento poderia influenciar a terapia e o prognóstico das doenças orais. Na sua magnífica revisão Thomas M. Hassell¹⁸ descreve com detalhes a evolução ao longo do século XX da pesquisa sobre fatores genéticos e hereditariedade envolvida na doença periodontal. Ao longo da revisão, Hassel sugeriu —segundo o estudo de numerosas investigações realizadas em gémeos, famílias e populações— que mais interações complexas que ocorrem entre os mecanismos de resposta do hospedeiro e a ação de microrganismos patogénicos tornaram mais difícil esclarecer o papel dos fatores genéticos na doença periodontal. Mesmo assim, a influência de fatores genéticos na periodontite é diferente para os diferentes tipos de doença periodontal e

tem sido estudada em cada uma das periodontites definidas. Em geral, a base científica para a presença de fatores genéticos na aparência de periodontite agressiva é considerada suficiente. Nas crônicas, por outro lado, a evidência de participação genética é menos manifesta.^{17, 18}

Por tudo isto a maior parte dos estudos centraram-se na periodontite de começo precoce, denominada periodontite agressiva. Há que ter em conta que os padrões familiares podem refletir a exposição a fatores ambientais comuns de ditas famílias. Portanto é importante considerar os fatores de risco comportamentais e ambientais compartilhados em qualquer subgrupo familiar. Isto inclui educação, higiene oral, agrupamento socioeconómico ou doenças sistémicas.¹⁷

Como foi dito anteriormente, nas doenças não mendelianas os melhores estudos são os de associação que são utilizados para determinar a localização genética de uma região genómica com um efeito fundamental sobre um determinado fenotipo.

Os estudos de associação utilizam um desenho de casos e controlos onde se analisam marcadores (habitualmente SNPs) que são comparados entre os casos e controlos para ver se há diferenças de frequência.

Existem dois tipos de estudos de associação: os estudos com genes candidatos e os estudos de associação de genomas completos (GWAS). Nos primeiros se selecionam-se os SNPs de genes em *pathways* conhecidos ou por explorar em base a uma ideia etiopatogénica. Nos segundos exploram-se centos de centenas de milhares de SNPs de todo o genoma, cobrindo-o de forma regular.

Numerosos estudos mostraram que existe uma associação entre a periodontite e uma variação genética de certos genes (polimorfismos) que codificam diferentes citocinas pró-inflamatórias e mediadores envolvidos na etiopatogenia da doença periodontal, como IL-1, IL-4, IL-10, TNF, PGE2. O fenótipo HLA (antigénio leucocitário humano) também foi investigado como um possível fator de resistência e suscetibilidade à doença periodontal bem como os polimorfismos do gene da vitamina D.^{17, 18}

A existência de um componente genético da doença periodontal foi confirmada em estudos de gêmeos, estimando que do 38% ao 82% da variabilidade da população nos parâmetros clínicos da doença periodontal são atribuíveis a fatores genéticos com uma média do 50%; outras doenças sistêmicas como a Diabetes tipo 1-88%, Diabetes tipo 2 -26%, Esquizofrenia -81%, Alzheimer -79%, Artrite reumatóide -53-65%, Cancro de próstata -42%, depressão -37%²². Os primeiros estudos para identificar marcadores genéticos foram publicados por Kormam. ^{18,19}

IL-1

A IL-1 é uma poderosa citocina multifuncional que atua como o eixo central na regulação da resposta imuno-inflamatória, desempenha um papel significativo na progressão e gravidade da doença periodontal. As citocinas, como IL-1 α e IL-1 β e TNF alfa, são mediadores importantes da resposta inflamatória que parecem desempenhar um papel na patogênese de doença periodontal. Os polimorfismos de IL-1 têm sido utilizados como marcadores genéticos específicos e associados à gravidade da periodontite em adultos não fumadores. As citocinas da IL-1 estão mais associadas à doença periodontal e, ao fazer meta-análise, ter uma certa variação na IL-1 multiplica o risco; e o fator de necrose tumoral estão implicados na resposta inflamatória de doenças crônicas, como periodontite, diabetes e doenças cardiovasculares. Estes apresentam características pró-inflamatórias que produzem reabsorção óssea. A presença desses polimorfismos não causa a doença, mas pode agravar o processo, aumentando a resposta inflamatória na presença de placa. Diferentes estudos mostraram que IL-1 β é 15 vezes mais potente do que IL-1 α .^{19,20}

Genótipo IL-4

Algumas pesquisas recentes mostram que o 27,8% dos pacientes com periodontite de início precoce são positivos para certos polimorfismos de IL-4.¹⁹

Genótipo IL-10

O genótipo IL-10, que é o gene responsável por esta interleucina, está localizado no cromossoma.¹⁹

Poliformismo genético no recetor da vitamina D

A vitamina D expressa a sua ação genómica através do seu receptor (VDR), que mostra numerosos polimorfismos. Este recetor é expresso em vários tipos de células tais como linfócitos B ativados e células T CD4+, células dendríticas e macrófagos. Este recetor específico da vitamina D tem sido associado com a periodontite agressiva e, em alguns casos, com a periodontite crónica. Também tem sido associada com a densidade de metabolismo ósseo e com a homeostase do cálcio e do fósforo, que também regulam a expressão dum grande número de genes.¹⁹

Genótipo prostaglandina endoperóxido 2 (PGE 2)

O PGE2 tem sido associada a patogénese da periodontite crónica do adulto e de início precoce, e é considerado como um mediador potente da maior parte dos processos de destruição de tecidos que ocorrem durante a doença periodontal.^{19,20}

Normalmente os estudos mais eficazes para estudar os genes envolvidos em doenças complexas são os estudos de GWAS (pelo acrónimo, *Genome-Wide Association Study*). Neste tipo de estudos utilizam-se casos e controlos e neles são usados centos de milhares de SNPs através *microarrays* de ADN. Estes SNPs têm sido escolhidos para representar todos os blocos em desequilíbrio de ligação do genoma humano, que foram identificados graças a vários projetos internacionais e em especial ao projecto HapMap^{19,20}

O fundamento teórico dos estudos de associação em todo o genoma do GWAS baseia-se no modelo poligénico; estes estudos avançaram em grande escala para muitos distúrbios complexos e produziram sinais significativos.^{23,24}

O primeiro GWAS que estudou doença periodontal foi realizado por Schaefer *et al.*²³. Estes autores analisaram os genomas de 283 indivíduos caucasianos alemães com AGP e encontraram uma forte associação entre o polimorfismo rs1537415 localizado no SNP presente no GLT6D1 (*glucosiltransferase*). Esta associação foi confirmada repetindo o estudo num grupo de pacientes holandeses.²⁴ (Fig.2)

Um GWAS com maior número de casos foi realizado em 2013 por Divaris *et al.*²⁴ que incluía 4504 americanos de origem europeia do consórcio ARIC. Neste estudo encontraram-se associações interessantes ($p < 10^{-6}$) para 6 genes ou regiões: NIN, NPY, WNT5A para periodontite severa e NCR2, EMR1, 10p15 para periodontite moderada.

O último GWAS do mesmo consórcio foi realizado em 2016²⁵ com 975 americanos de origem europeia e replicado na coorte alemã ARICII. O mais importante deste estudo é que incluíram a análise do microbioma e encontraram associações distintas para distintos grupos de patógenos (PTCs). Obteve-se significância GWAS para PCT1 (CLEC19A, TRA, GGTA2P, TM9SF2, IFI16, RBMS3), PCT4 (HPVC1) e PCT5 (SLC15A4, PKP2, SNRPN). A maior parte destes genes estão relacionados com a resposta imune e a função da barreira epitelial. ²⁵

2. OBJETIVOS



O trabalho que apresento é baseado na revisão bibliográfica e na informação dos melhores geneticistas, para assim ter informação de primeira mão sobre a influência dos genes candidatos e os fatores de risco na doença periodontal. Tem como base os seguintes objetivos:

1. Conhecer esses genes em pacientes afetados por periodontite pode ajudar a compreender melhor a etiologia desta doença periodontal.
2. Conhecer genes implicados na doença periodontal implica poder encontrar alvos para fármacos, poder estratificar a doença, dispor de biomarcadores de predisposição e pronóstico. O conhecimento da periodontite e a identificação de novos genes implicados permitiria encontrar novas rotas e potenciais alvos farmacológicos e melhorar a predição desta doença nas nossas clínicas e nos profissionais de medicina dentária.

3. MATERIAIS E MÉTODOS



3.1. PESQUISA BIBLIOGRÁFICA

Para a realização deste trabalho de revisão bibliográfica sobre a influência da genética na doença periodontal, foram usados, artigos e revistas obtidos através da pesquisa na Pubmed e Chorane. Os artigos foram redigidos entre os anos 1970 e 2017.

Para fazer esta pesquisa bibliográfica foram utilizadas as seguintes palavras-chave: "Doença periodontal", "Genética", "Doença periodontal", "Influência da Genética

e periodontite”, “Epigenoma na doença periodontal”, “Microbioma na doença periodontal”, “Genes mais influentes na doença periodontal”, “GWAS na doença periodontal”, “factores de risco na doença periodontal” e “Polimorfismos e periodontite”, entre outras.

3.2. TRABALHO DE CAMPO

Para a realização do presente trabalho também procurei a informação através de especialistas neste campo da genética, quer dizer, peritos com experiência e conhecimento no âmbito nacional e internacional. Além disso, participo —a nível nacional (Espanha) com outras clínicas— no estudo do projeto *Periogen*, dirigido pelo centro de Medicina Genómica da Universidade de Santiago de Compostela, para assim poder compreender melhor a etiologia da doença periodontal.

4. CONCLUSÕES E PERPETIVAS DE FUTURO



4.1. MICROBIOMA

A diversidade das espécies que compõem o microbioma é difícil de imaginar. No entanto, é mesmo mais difícil entender como o sistema imune faz frente a este ataque. Na boca de qualquer pessoa, por exemplo, os cientistas do projeto Microbioma humano (HMP) encontraram ao redor de 75 a 100 espécies. Alguns microrganismos que predominam na boca de uma pessoa podem ser raros em outra pessoa. No entanto, a velocidade à que se estão a descobrir indica que podem haver até 5000 espécies de bactérias que vivem na cavidade oral ^{7,10,26}

As doenças periodontais são iniciadas por espécies bacterianas que vivem nos biofilmes polimicrobianos na ou por baixo da margem gengival. O seu progresso é em grande parte resultado da inflamação provocada pelas espécies subgengivais específicas. Os patógenos periodontais são microrganismos oportunistas que ao encontrar condições propícias para desenvolver-se, colonizar os espaços e

organizarem-se em estruturas complexas que ao longo do tempo se converteram em biofilme microbiano mais resistente. (Fig.3)

Nas últimas décadas, os esforços para compreender a microbiota periodontal têm levado a um aumento exponencial da informação sobre os biofilmes ligados com a saúde e as doenças periodontais. De facto, a microbiota oral é um dos microbiomas melhor localizados que colonizam o corpo humano. Com o aumento da informação e o maior conhecimento devemos atualizar os nossos conceitos fundamentais sobre a etiologia e patogenia das doenças periodontais.

Há que assinalar que os microrganismos são geralmente não patogénicos (não causam doença a não ser que cresçam de forma anormal). No corpo humano temos dez vezes mais células microbianas do que células humanas. Além disso, os microrganismos podem trasladar-se não só duma parte a outra do corpo humano mas também duma pessoa a outra. Por exemplo, os indivíduos duma mesma comunidade partilham tipos similares de bactérias na sua saliva. No entanto, as bactérias da pele são muito disparees entre duas pessoas que moram próximas e, na cavidade oral podem ser diferentes as bactérias dum dente a outro dente, duma superfície a outra superfície e, determinadamente, a microbiota (composição das comunidades de microrganismos) supra-gengival da microbiota sub-gengival.⁷

10, 25

4.2. EPIGENOMA

“Uma ajuda indispensável”

Em 2008 iniciou-se um dos projetos mais importantes das ciências genómicas, o *Projeto Epigenoma Humano*. Epigenoma significa “fora do genoma”. A epigenética é o campo de estudo do epigenoma. Na fronteira desta nova disciplina estudaram-se os processos bioquímicos que regem a atividade dos genes e respondem de maneira significativa às influências do ambiente. A Epigenética fornece uma compreensão do papel das interações gene-ambientais na expressão do fenótipo de doença, em especial, em doenças multifactoriais complexas, entre elas, a periodontite.

São mudanças químicas nas letras do ADN, influenciados pelo ambiente, quer dizer, é como o ambiente influi nos genes para produzir um fenótipo. A rápida evolução da epigenética tem contribuído para compreender as interações entre os genes e o ambiente. O nosso código genético ou ADN é como uma orquestra que contém todos os elementos que precisamos para funcionar, mas o código epigenético é essencialmente o diretor da orquestra que guia os instrumentos para que soem ou fiquem em silêncio.

A epigenética determina os genes que se podem silenciar, isto é, como podem “orquestrar” uma resposta num momento determinado, a diferença do nosso genoma, que é estático, o nosso epigenoma é dinâmico e muda de tecido a tecido, mesmo por processos patológicos (por exemplo, as doenças) ou fisiológicos (por exemplo, o envelhecimento).^{26, 27}

Os diversos fatores de risco que estão ligados à periodontite podem dever-se às mudanças no comportamento celular que atualmente são interpretados como uma ação dos mecanismos epigenéticos. Os fatores ambientais –o stress, fumar, o tipo de infeção, etc.– podem influenciar na expressão genética. Para além disso, estas potenciais modificações epigenéticas podem produzir-se durante toda a vida do organismo, começando desde o ambiente intrauterino, e podem ir-se acumulando nas células e nos tecidos e, com o tempo, modificar os padrões de expressão dos genes e dos fenótipos celulares e, em consequência, modificar os diversos fenótipos das doenças periodontais.^{27, 28}

Os seres humanos podem ser suscetíveis ou resistentes às doenças. Com respeito às doenças periodontais não é difícil encontrar pessoas que têm grande quantidade de placa (biofilme microbiano) e pouca quantidade de destruição óssea e vice-versa.²⁸

Hoje compreendemos que o nosso código genético, isto é o nosso ADN, contém toda a informação para produzir os elementos que precisamos para funcionar e o nosso código epigenético determina quando e onde os genes se devem expressar.

Como já foi dito, há uma quantidade substancial de pesquisas sobre epigenética publicadas na Medicina e na Biologia. Esta pesquisa ligada à Medicina Periodontal promete ser muito reveladora para a medicina dentária, devido ao papel que desempenha na expressão genética durante o desenvolvimento das doenças orais e porque, posteriormente, pode influir potencialmente na sua suscetibilidade.^{29,30} Existem alguns ensaios clínicos em que se propõe o desenvolvimento dos fenômenos epigenéticos na doença periodontal e outras doenças da cavidade oral, sobretudo a nível de regulação epigenética de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. Nesses estudos propôs-se que algumas bactérias implicadas na doença periodontal podem produzir mudanças epigenéticas nos tecidos afetados.³⁰

Ainda que a placa dentária bacteriana é fator etiológico primário na patogenia da periodontite, a sua soa presença não pode explicar a enorme variação da doença na população. A predisposição genética tem ganho importância na investigação em periodontologia. Os fatores de risco genético podem ajudar-nos a explicar porque é que a severidade da doença periodontal em alguns casos não é diretamente proporcional com as quantidades de placa dentária bacteriana.

A informação da genética ajuda a conhecer a futura evolução da doença periodontal ante o tratamento e estabelecer protocolos individualizados. Ao conhecimento dos genótipos com mais significância no aparecimento e no desenvolvimento da periodontite (e a sua relação com determinados fatores ambientais) devemos aumentar a habilidade do clínico em atribuir um prognóstico e predizer, mediante um sistema bem ordenado e planificado de terapia periodontal de apoio.

Tudo o que temos falado e exposto anteriormente demonstra que a genética joga um papel fundamental no entendimento e manejo de muitas doenças. No caso das patologias orais, como a doença periodontal, o aplicativo das técnicas genéticas é e será sumamente útil por vários motivos: por prevenção e conhecimento da susceptibilidade a padecer a doença em pacientes muito jovens —sobretudo naqueles com antecedentes familiares claros—, permitir-nos-á estabelecer um protocolo de revisões periódicas que impeça o desenvolvimento da doença ou permita o seu

tratamento em fases iniciais e, assim, diminuir de forma notável o perigo de perda de suporte dentário.³⁰

É por isso que a detecção e avaliação de fatores de risco genético tem tido muitas dificuldades metodológicas. A busca de fatores de risco abre a possibilidade de um maior sucesso no controle e prevenção. A severidade clínica da doença parece estar agravada por modificadores genéticos e fatores ambientais. Este modelo de doença pode ser tratado e prevenido controlando a carga bacteriana em indivíduos predispostos e a habilidade para identificar os indivíduos de alto risco que desenvolvam destruição severa. As pesquisas que se estão a desenvolver neste campo da genética conduzem a um melhor entendimento da etiopatogenia; estas continuarão a desenvolver-se e a avaliar o factor genético como um fator de risco para a doença periodontal.

Está a avançar-se muito na recolha de informação (na sua análise e interpretação) e precisam-se mais esforços nos estudos sobre o seu significado e interpretação e sobre a interação gene-ambiente. Existe uma ampla variedade de definições e variáveis analisadas para estabelecer um diagnóstico na doença periodontal. Além disso, os estudos sobre a susceptibilidade genética da doença periodontal utilizam diferentes critérios para selecionar participantes. Com o que sabemos não podemos saber ainda o risco desta doença oral. Portanto, devemos realizar mais estudos futuros para poder estratificar e ter diagnósticos estritos e validados para esta doença³⁰. Para atingir esta meta, contamos, como já foi referido, com o inovador estudo do *projeto Periogem*, estudo de associação de genomas completos na população espanhola que utiliza fenótipos extremos de doença periodontal (periodontite agressiva) e no qual empregar-se-á um *microarray* que está desenhado especificamente para este projeto que contém 825000 SNPs e que inclui 125000 variantes funcionais de população espanhola sobre inflamação e imunidade.³¹

O objetivo deste estudo de casos e controlos é seguir e identificar genes de susceptibilidade em pacientes com periodontite agressiva, mediante um estudo de associação de genomas completos (Genome-Wide Association Study, GWAS) mediante novas micromatrices Affymetrix Exome Arrays que contêm mais de 800.000 SNPs.

Conhecer os genes implicados na doença periodontal implicaria poder encontrar alvos para fármacos, poder estratificar a doença, dispor de biomarcadores de predisposição e pronóstico. Esperamos que este estudo contribua para o conhecimento da periodontite, à identificação de novos genes implicados que permita novas rotas de pesquisa e encontrar potenciais alvos farmacológicos e à predição.³¹

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



1. Dahlén G. Role of Suspected Periodontopathogens in Microbiological Monitoring of Periodontitis. *Advances in Dental Research*. 1993;7(2):163-174.
2. Gmur R, Guggenheim B. Interdental Supragingival Plaque—A Natural Habitat of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus*, and *Prevotella nigrescens*. *Journal of Dental Research*. 1994;73(8):1421-1428.
3. Socransky S. Relationship of Bacteria to the Etiology of Periodontal Disease. *Journal of Dental Research*. 1970;49(2):203-222.
4. Costerton J. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science*. 1999;284(5418):1318-1322.
5. Matthews D, Tabesh M. Detection of localized tooth related factors that predispose to periodontal infections. *Periodontology 2000*. 2004;34:136-150.
6. Taba Jr M, Souza S, Mariguela V. Periodontal disease: a genetic perspective. *Brazilian Oral Research*. 2012;26(spe1):32-38.
7. Epidemiology of Periodontal Diseases. *Academy Report*. 2005;76(8):1406-1419.
8. Graziani F, Laurell L, Tonetti M, Gottlow J, Berglundh T. Periodontal wound healing following GTR therapy of dehiscence-type defects in the monkey: short-, medium- and long-term healing. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005;32(8):905-914.
9. Kate L. Community Genetics: A Bridge between Clinical Genetics and Public Health. *Community Genetics*. 2005;8(1):7-11.
10. Bermúdez L, Labrada M. Factor genético en la etiopatogenia de las periodontitis. *Acta Médica del Centro*. 2015;9(1):70-76.
11. Laine M, Crielaard W, Loos B. Genetic susceptibility to periodontitis. *Periodontology 2000*. 2011;58(1):37-68.

12. Armitage G. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontology* 2000. 2000;34:9-21.
13. Zerón A. Odontología genómica. La medicina oral del siglo XXI Dr. ADM. 2017;13(2):52-61.
14. Imamura T. The Role of Gingipains in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*. 2003;74(1):111-118.
15. Venter C, Smith M, Myers E, Yandel M, Evans C, Holt R et al. The Sequence of the Human Genome. *The HUman Genome*. 2001;291:1304-1351.
16. Kinane D, Shiba H, Hart T. The genetic basis of periodontitis. *Periodontology* 2000. 2005;39(1):91-117.
17. Giannobile W, Braun T, Caplis A, Doucette-Stamm L, Duff G, Kornman K. Patient Stratification for Preventive Care in Dentistry. *Journal of Dental Research*. 2013;92(8):694-701.
18. Hassell T, Harris E. Genetic Influences in Caries and Periodontal Diseases. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1995;6(4):319-342.
19. Dinarello C. Biologic Basis for Interleukin-1 in Disease. *The Journal of The American Society of Hematology*. 1996;87(6):2095-2147.
20. Duque A, Milena A, Salazar L, Vélez M. Polimorfismo de il 1- β como marcador genético en enfermedad periodontal. *CES Odontología*. 2007;20(1):51-58.
21. Genetics and polymorphism and its relationship with periodontal disease. *Kiru*. 2008;5(2):127-135.
22. Lang N, Lindhe J. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 6th ed. Suiza: Wiley Blacwell; 2015.
23. Mitchell K. What is complex about complex disorders?. *Genome Biology*. 2012;13(1):237.
24. Divaris K, Monda K, North K, Olshan A, Reynolds L, Hsueh W et al. Exploring the genetic basis of chronic periodontitis: a genome-wide association study. *Human Molecular Genetics*. 2013;22(11):2312-2324.

25. Offenbacher S, Divaris K, Barros S, Moss K, Marchesan J. Genome-wide association study of biologically-informed periodontal complex traits offers novel Insights into the genetics basis of periodontal disease. *HMG Advance Access*. 2016;:1-56.
26. Barros S, Offenbacher S. Epigenetics: Connecting Environment and Genotype to Phenotype and Disease. *Journal of Dental Research*. 2009;88(5):400-408.
27. Razzouk S, Termechi O. Host Genome, Epigenome, and Oral Microbiome Interactions: Toward Personalized Periodontal Therapy. *Journal of Periodontology*. 2013;84(9):1266-1271.
28. Hughes V. The sins of the father. The roots of inheritance may extend beyond the genome'. *Nature*. 2014;507:25-27.
29. Schaefer A, Richter G, Nothnagel M, Manke T, Dommisch H, Jacobs G et al. A genome-wide association study identifies GLT6D1 as a susceptibility locus for periodontitis. *Human Molecular Genetics*. 2009;19(3):553-562.
30. Kornman K, di Giovine F. Genetic Variations in Cytokine Expression: A Risk Factor for Severity of Adult Periodontitis. *Annals of Periodontology*. 1998;3(1):327-338.
31. Zerón A. Asignación de riesgo basada en la tríada genómica. Hacia una medicina personalizada. *Revista Mexicana de Periodontología*. 2017;VI(2):46-61.

6. ANEXOS



Fig. 1. Estudos de associação dos SNP com pacientes fenotipo A (sem doença periodontal) e Fenotipo B (com doença periodontal). Gentilmente cedida pelo Prof. Angel Carracedo.

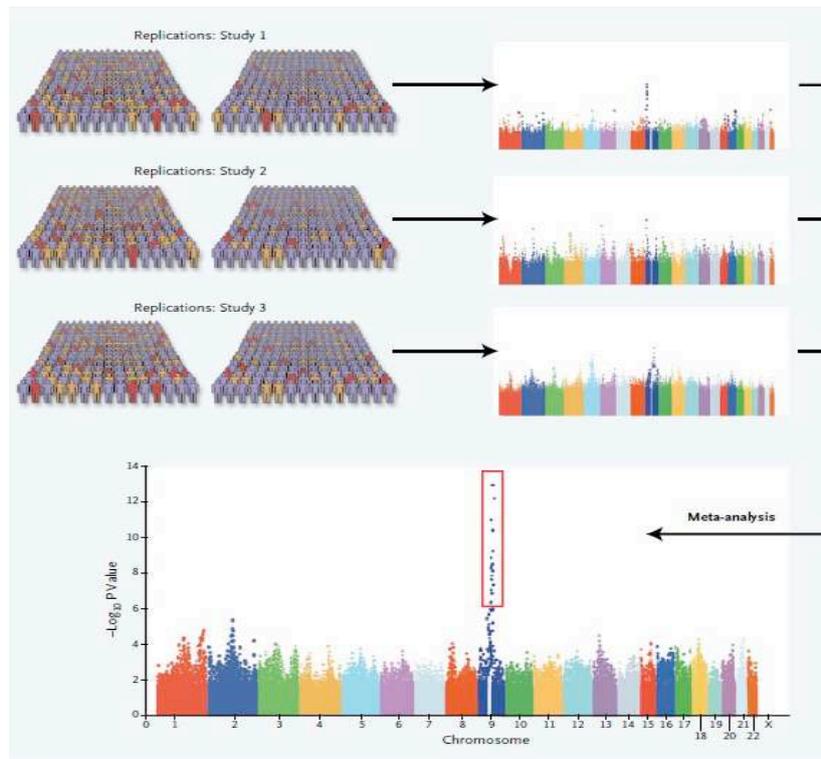


Fig. 2. GWAS – Genoma – Wide association study. . Gentilmente cedida pelo Prof. Angel Carracedo.

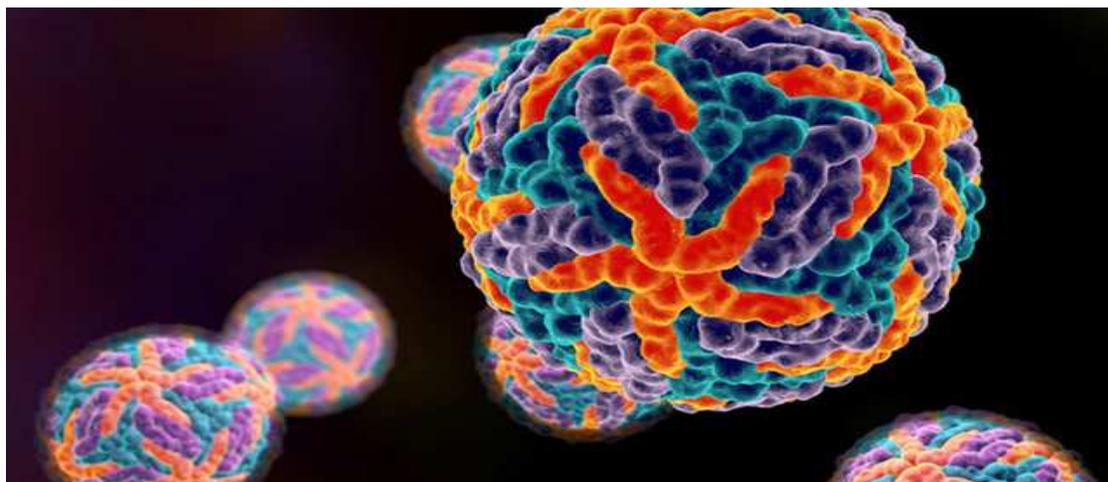


Fig. 3. Microbioma humano, "o pomar humano". Retirada de art. ²²

Rede de clínicas SEPA

SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA E PERIODONTITE (Estudo *PerioGen*)

– Centro de Referência

Universidade de Santiago de Compostela

– Principais pesquisadores

Dr. Juan Blanco (Universidade de Santiago de Compostela)

Dr. Angel Carracedo (Diretor da Fundação Pública Galega de Medicina Genómica e do Centro Nacional de Genotipado)

– Fundamento

A periodontite é uma doença complexa e presumivelmente poligénica (em que genes múltiplos participam, mas com pouca penetrância). Até à data, vários estudos foram publicados em que vários polimorfismos foram detectados usando técnicas de genotipagem de eficácia limitada (por exemplo, avaliação de polimorfismos de base única, *single nucleotide polymorphisms*, SNPs). Ao mesmo tempo, os genes candidatos foram investigados e, recentemente, os primeiros resultados foram obtidos com estudos completos de associação do genoma (GWAS), que podem permitir melhorar a deteção

de associações relevantes. Conhecer esses genes em pacientes espanhóis afetados por periodontite agressiva pode ajudar a compreender melhor a etiologia desta doença periodontal.

– Objetivo

O objetivo deste estudo caso-controle é identificar genes de susceptibilidade em pacientes com periodontite agressiva através dum estudo de associação de genomas completos (*genome-wide association study*, GWAS) mediante as novas micromatrizes *Affymetrix Exome Arrays* que têm mais de 300000 SNPs.

¹ A informação presente neste anexo é uma tradução própria realizada desde um documento informativo interno dos parceiros do projeto *PerioGen*.

– Metodologia

Trata-se de um estudo de casos e controles, no qual o objetivo é obter uma amostra de 400 casos com um fenótipo claramente definido de periodontite agressiva.

1. Centros de estudo

O estudo será realizado na Rede Clínica SEPA, um conjunto de clínicas odontológicas privadas, e em centros universitários. Para participar deste estudo, os seguintes **critérios de inclusão** devem ser atendidos para os centros:

- A) Acesso a pacientes com periodontite agressiva, de tal forma que seja possível recrutar um mínimo de 20 pacientes, em um tempo máximo de 6 meses.
- B) Ter registos clínicos no momento do diagnóstico inicial, bem como dos tratamentos realizados e os dentes perdidos desde o tratamento.
- C) Poder recolher uma amostra de saliva total não estimulada usando um dispositivo comercial e encaminhá-los periodicamente para o centro de referência.

2. Seleção de pacientes

2.1. Casos

Serão pacientes com periodontite, com fenótipo extremo (periodontite agressiva). O processo de seleção deve ser feito de forma consecutiva, entre pacientes que estão em manutenção ou entre pacientes recém-diagnosticados. Para facilitar o processo, é conveniente marcar esses pacientes em dias ou semanas específicos, para poder realizar os envios da amostra de forma agrupada. Todos os critérios são aplicados no **momento do diagnóstico inicial**. Em caso de dúvida ou caso obscuro de periodontite agressiva, o paciente não deve ser incluído no estudo.

Critérios de inclusão

- A) Idade 14-35 anos, no momento do diagnóstico inicial e maior que 18 anos no momento da inclusão no estudo.
- B) Forma localizada: perda de inserção ≥ 4 mm em pelo menos 2 primeiros molares / incisivos (pelo menos um primeiro molar impactado). Afeição de um máximo de 2 dentes além dos molares / incisivos.
- C) Forma generalizada: perda de inserção ≥ 4 mm em pelo menos 8 dentes. Afeição de 3 ou mais dentes que não sejam molares / incisivos.
- D) Agregação familiar: definida como o referido diagnóstico de periodontite e perda prematura de dentes em familiares de primeiro grau.
- E) Origem espanhola.

Critérios de Exclusão

- A) Perda de inserção isolada (recessões, terceiros molares impactados, cáries subgerentes, etc.).
- B) Sofrem de alguma doença sistêmica com repercussão periodontal: inclui todas as definidas na periodontite como manifestação de doenças sistêmicas (ver Anexo 1) e outras que podem afetar sua manifestação, como diabetes, HIV ou doenças associadas à imunodepressão.

2.2. Pacientes: controles

Haverá 400 pacientes sem doenças periodontais, mas com idades e distribuição sexual semelhante ao grupo de casos, obtidos a partir de um biobanco.

3. Avaliação clínica

Todos os registos serão coletados em papel, nas preformas fornecidas pela Rede, e enviados para o centro de referência juntamente com as amostras colhidas. Os centros devem manter uma cópia dos registos.

Ficha de registo #1. Serão coletadas informações diferentes, uma vez que os critérios de inclusão e exclusão e a assinatura do consentimento do paciente, relacionados à filiação (idade, sexo...), hábitos, doenças, medicamentos crônicos, etc.

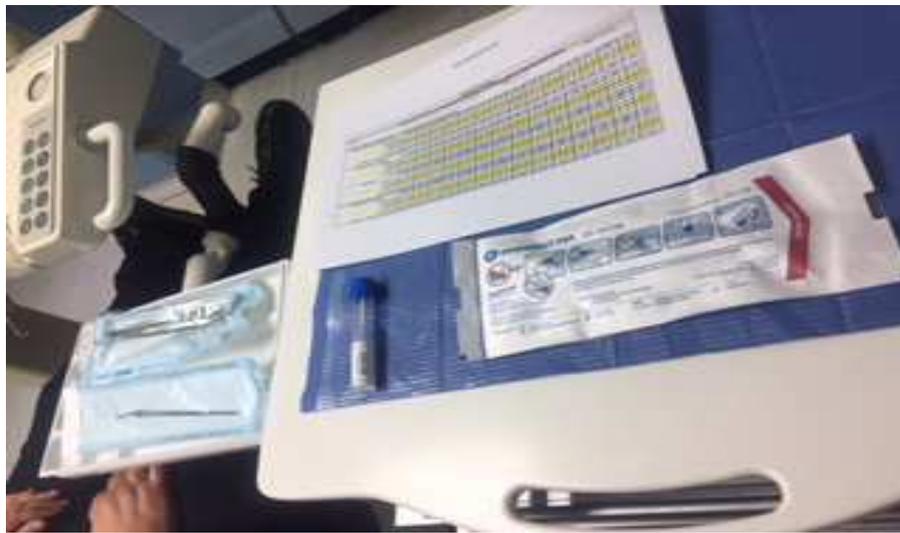


Fig. 1. Ficha de registo. Raspagem e alisado radicular.
Retirada de C. D. Amador Álvarez García.

Ficha de registo #2. Os seguintes registos serão obtidos da história em toda a boca, excluindo os terceiros molares e implantes dentários, em seis locais por dente:

- Profundidade da bolsa, com sonda milimétrica, com marcas a cada milímetro.
- Resposta gengival.
- Sangrando para o cateter, como sangramento dentro de 30 segundos de cateterização.
- Placa, avaliada visualmente ou detectada com a sonda.

Ficha de registo #3. A informação sobre os tratamentos (dimensionamento

e planação de raiz, cirurgia ...) e o sistema de manutenção recebido, bem como os dentes ausentes e a causa serão obtidos no histórico.

4. Amostras de saliva

As amostras de saliva inteira não estimuladas serão retiradas de cada paciente usando o sistema OraCollect-DNA OCR-100 (DNA Genotek, Ontário, Canadá), seguindo as instruções do Anexo 2.

Duas precauções devem ser tomadas na entrada:

- Certifique-se de que o final da mangueira NÃO entre em contato com qualquer superfície antes da colheita.
- O paciente NÃO deve comer alimentos ou beber, fumar ou usar goma de mascar ou doces 30 minutos antes da amostra oral ser coletada.

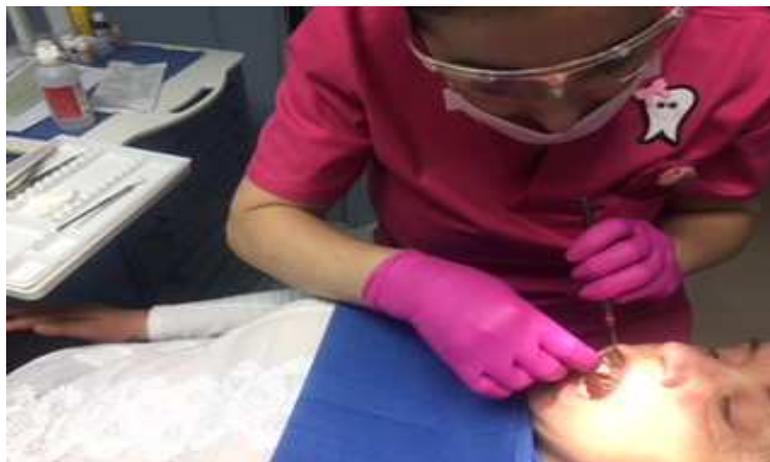


Fig. 2. Amostra de saliva. Retira de C.D.
Amador Álvarez García.

Uma vez que a amostra é retirada, e a folha de registo (**Ficha de registo #4**) concluída, elas serão mantidas em um local longe de fontes de calor, à temperatura ambiente. Para otimizar o envio, é solicitado que envie as amostras colhidas em 1 mês, especificamente a primeira segunda-feira de cada mês, utilizando os serviços de correio SEUR (número de conta SEUR: 30027), para o seguinte endereço:

CENTRO NACIONAL DE GENOTIPADO

Proxecto PerioGen Medicina Xenómica

Edificio Consultas, Planta 2

Complexo Hospitalario Universitario de Santiago (CHUS)

Rúa da Choupana s/n

15706 – Santiago de Compostela (A Coruña)

Mail: estudio.periogen@gmail.com

ANEXO 1. PERIODONTITE COMO MANIFESTAÇÃO DE DOENÇAS SISTÊMICAS

*International Workshop of Classification System for Periodontal Diseases and
Conditions (1999)*

1. Asociadas a desordens hematológicas

Neutropenia Adquirida

Leucemia

Outras desordens sanguíneas

2. Asociadas a desordens genéticas.

Neutropinia cíclica

Neutropenia familiar

Síndrome de Down

Síndrome de falta de adesão leucocitária

Papillon-Lefèvre

Histiocitose

Síndrome Chediak-Higashi

Defeito no armazenamento de glucogénio

Agranulocitose infantil genética

Síndrome de Ehlers-Danlos

Síndrome de Cohen

Hipofosfatasia

3. Alterações não especificadas de outro modo (NOS): sem definir.



REF OCR-100

Para diagnóstico in vitro



Precauciones para la recolección:
Asegúrese de que el extremo del hisopo NO entre en contacto con ninguna superficie antes de la recolección.

El dador NO debería ingerir alimentos ni bebidas, fumar ni masticar goma de mascar 30 minutos antes de la recolección de la muestra oral.

Uso previsto: Este producto fue diseñado para la recolección y estabilización de ADN de muestras orales humanas.

Contenido: Contiene 1 kit de recolección.

Advertencias y precauciones: Peligro de asfixia. Se debe tener precaución al introducir el hisopo en la boca.

Lave con agua si el líquido entra en contacto con los ojos o la piel. No lo ingiera. Consulte la hoja de datos de seguridad del material (MSDS) en www.dnagenotek.com.

Almacenamiento: 15-30 °C

Resumen y explicación del kit:

ORACollect-DNA es un kit de autorrecolección que contiene los materiales y las instrucciones para recolectar muestras orales humanas.

Leyenda de la etiqueta:

- Número de catálogo
- Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
- Marca CE
- Fabricante
- Representante autorizado
- 15°C-30°C Instrucciones de almacenamiento
- Patente de diseño industrial
- Recoja la muestra antes del (fecha de caducidad)

Si desea obtener instrucciones de recolección para dadores en otros idiomas, consulte http://dnagenotek.com/DNA_Genotek_Support_Lit_UI_OCR-100.html

DNAgenotek



Fabricado en Canadá
DNA Genotek Inc.
Ottawa, ON, Canadá K2K 1L1
Tel: 613.723.5757
info@dnagenotek.com
www.dnagenotek.com

Muestras de calidad superior • Resultados de eficacia comprobada

ESPAÑOL

Instrucciones para la recolección de muestras:

<p>1</p> <p>10x</p>	<p>Abra el envase y quite el recolector sin tocar el extremo del hisopo. Coloque el hisopo en la boca lo más profundamente posible y raspe las encías inferiores con movimientos hacia delante y atrás (vea la imagen ampliada). Raspe suavemente las encías 10 veces. Si es posible, evite friccionar sobre los dientes.</p>
<p>2</p> <p>10x</p>	<p>Repita suavemente los movimientos de fricción en el lado opuesto de la boca, sobre las encías inferiores, 10 veces más.</p>
<p>3</p>	<p>Sostenga el tubo en posición vertical para evitar que se derrame el líquido del interior del tubo. Desenrosque el tapón azul del tubo de recolección sin tocar el hisopo.</p>
<p>4</p>	<p>Invierta el tapón, inserte el hisopo en el tubo y ciérrelo herméticamente.</p>
<p>5</p> <p>15x</p>	<p>Invierta el tubo tapado y agítelo enérgicamente 15 veces.</p>

Patente en EE. UU. No. 7.482.116; Patente europea n.º 1 513 952 y patente pendiente; ©



Emergo Europe
Molenstraat 15, 2513 BH La Haya, Países Bajos
Tel.: (+31) (0) 70 345-8570 Fax: (+31) (0) 70 346-7299

© 2011 DNA Genotek Inc., Todos los derechos reservados.

PD-PR-00188-ES Issue 1/2011-06



CAPÍTULO II



1. RELATÓRIO DAS ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS NOS ESTÁGIOS SUPERVISIONADO

Este relatório de estágio foi realizado no Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Universitário de Ciências de Saúde – Norte (ISCS-N), no ano letivo 2016/2017 têm como objetivo a preparação do aluno a prática clínica no futuro, mediante a aplicação dos conhecimentos teóricos que foram adquiridos ao longo dos cursos, todo isto com a supervisão e colaboração dos docentes.

Consiste na descrição das atividades realizadas e conhecimentos adquiridos nos estágios supervisionados e são: Estágio em clínica hospitalar, Estágio em Saúde oral comunitária e de Clínica Geral Dentária no período de Setembro de 2016 a Junho de 2017

1.1. ESTÁGIO EM CLÍNICA HOSPITALAR

O estágio em clínica Hospitalar teve a duração de 196 horas e decorreu no hospital Nosa Senhora da Oliveira de Guimarães a orientação do Dr. Fernando Filgueira.

A discriminação e contabilização dos atos clínicos está efetuada no Anexo 1 – tabela 1. A possibilidade de actuação do aluno em pacientes com necessidades mais complexas, tais como: pacientes com limitações cognitivas e/ou motoras, patologias orais, doentes polimedicados, portadores de doenças sistémicas, entre outros. Desta forma, este estágio assumiu-se como uma componente fundamental sobre o ponto de vista da formação Médico-dentista, desafiando as suas competências adquiridas e preparando-o para agir perante as mais diversas situações clínicas, complementando a sua formação académica

1.2. ESTÁGIO EM SAÚDE ORAL COMUNITÁRIA

A supervisão do mesmo esteve sob a tutela do Professor Doutor Paulo Rompante. O estágio em Saúde Oral decorreu desde setembro de 2016 a junho de 2017, tendo sido realizado às terças e quintas-feiras, entre as 9h00 e 12h30. O estágio em saúde Oral

Comunitária (ESOC) é um espaço de criatividade e solidariedade; as actividades do ESOC desenrolam-se em duas etapas. A primeira etapa desenrolam-se do início do ano letivo 2016-2017 até à paragem letiva, de acordo com o calendário escolar, de Dezembro. Tendo esta etapa o estágio foi lecionado no Instituto Universitário de Ciências da Saúde. As tarefas desenrolam-se tendo por base o Programa Nacional de Promoção de Saúde Oral (PNPSO) da Direcção Geral da Saúde (DGS), Ministério da Saúde de Portugal Continental. Primeiramente o aluno deve começar por elaborar um plano de actividades neste expressar a promoção para a saúde oral, a motivação e a prevenção das doenças orais em cada dos grupos incluídos no PNPSO: adultos, grávidas, séniores, HIV + e indivíduos com Síndrome da Imuno-Deficiência Adquirida (SIDA), crianças 0-5 anos, crianças 6-7 anos, crianças 8-9 anos e adolescentes.

A segunda etapa desenrola-se de Janeiro até ao final do ano letivo 2016-2017. Nesta etapa o aluno irá trabalhar em ambiente real de trabalho. O aluno vai colocar em prática a sua interpretação individual da forma como propõem implementar o PNPSO na sua vertente educação para a saúde oral, a promoção, motivação para a saúde oral, prevenção das doenças orais e monitorização epidemiológica dos indicadores de saúde oral da Organização Mundial de Saúde (WHO) metodologia 2013. No total, o estágio teve a duração de 196 horas. As escolas onde trabalhei foram: Paredes: EB Costa, EB Mirante dos Sonhos, São Lourenço e EB Sabreiras, Valongo: EB Estação, EB Ilha.

A aprendizagem retirada deste estágio é o trabalho em equipa e a ação social do mesmo na minha formação pessoal e académica. No local, os objetivos a que nos propusemos foram cumpridos, com exposições orais sobre as diferentes temáticas de saúde oral e levantamento de dados de acordo com o Plano Nacional de Promoção de Saúde Oral.

1.3. ESTÁGIO EM CLÍNICA GERAL DENTÁRIA

Foi realizado na Clínica Universitária de Gandra decorreu na Unidade Clínica Nova Saúde (Gandra). A unidade curricular é regida sob tutela da Prof^a Doutora Filomena Salazar, e foi supervisionado pelo Dra. Maria Pranto, Dr. João Baptista, a Dr^a Paula Malheiro, o Dr. Luis Santos e a Dr^a Cristina Coelho. O estágio em Clínica Geral Dentária e de um total de 280 horas.

Os atos clínicos realizados encontram-se discriminados na Tabela I. Este estágio foi possível aplicar os diferentes conhecimentos aprendidos separados nas diferentes disciplinas, numa só, de uma forma mais abrangente, fomentando a partilha de conhecimentos Medicina Dentária.

1.4. TABELA DE ATOS CLÍNICOS REALIZADOS NOS ESTÁGIOS

Atos clínicos	Estágio em Clínica Geral	Estágio em Clínica Hospitalar	Total
Triagem	3	10	13
Dentisteria	9	10	19
Endodontia	2	1	3
Destartarização	5	16	21
Exodontia	3	30	33
Prótese fixa	4	0	4
Prótese removível	1	0	1

1.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os três diferentes estágios foram fundamentais, permitiram alargar horizontes e conhecimentos, para trabalhar em diferentes situações clínicas e pessoais com pacientes, pelo tanto os três componentes são essenciais e muito enriquecedoras, para início da minha carreira como Médica, sendo todos importantes na formação obtida na CESPU.

