

# Variante genética da interleucina-1 $\alpha$ em idosos portadores de doença periodontal

## *Genetic variant of interleukin-1 $\alpha$ in elderly with periodontal disease*

Raíssa Rossito Shimizu<sup>1</sup>; Miula Portelinha Braga<sup>2</sup>; Sandra Kiss Moura<sup>3</sup>; Deise A. A. Pires Oliveira<sup>4</sup>; Rodrigo Franco Oliveira<sup>4</sup>; Rodrigo Varela de Carvalho<sup>3</sup>; Sandra Mara Maciel<sup>5</sup>; Regina Célia Poli-Frederico<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica de Odontologia da Faculdade de Odontologia – Universidade Norte do Paraná – Unopar. Londrina, PR – Brasil.

<sup>2</sup> Mestre em Odontologia da Faculdade de Odontologia – Universidade Norte do Paraná – Unopar. Londrina, PR – Brasil.

<sup>3</sup> Docente do Programa de Mestrado em Odontologia/Laboratório de Biologia Molecular – Universidade Norte do Paraná – Unopar. Londrina, PR – Brasil.

<sup>4</sup> Docentes do Programa de Mestrado em Ciências da Reabilitação/Laboratório de Biologia Molecular e Mestres em Exercício Físico na Promoção da Saúde – Universidade Norte do Paraná – Unopar. Londrina, PR – Brasil.

<sup>5</sup> Professor Associado do curso de Odontologia – Universidade Estadual de Maringá – UEM. Maringá, PR – Brasil.

<sup>6</sup> Docente do Programa de Mestrado em Ciências da Reabilitação/Laboratório de Biologia Molecular – Universidade Norte do Paraná – Unopar. Londrina, PR – Brasil.

### Endereço para correspondência

Regina Célia Poli-Frederico  
R. Marselha 183, Jardim Piza  
86041-140 – Londrina, PR – Brasil.  
regina.frederico@unopar.br

### Resumo

**Introdução:** Fatores genéticos contribuem para o risco de doença periodontal (DP) em idosos. **Objetivo:** Avaliar a associação entre a perda de inserção e o polimorfismo no gene da interleucina-1 $\alpha$  em idosos. **Métodos:** Participaram do estudo 110 idosos (idade média: 67,26  $\pm$  4,9 anos), sendo 52,7% do gênero feminino. A presença de DP foi diagnosticada por meio do índice de perda da inserção periodontal, segundo critérios da Organização Mundial de Saúde. O polimorfismo genético foi analisado por meio da reação em cadeia da polimerase, seguida da clivagem por NcoI. **Resultados:** Não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre o polimorfismo no gene da IL-1 $\alpha$  e a perda de inserção (teste do Qui-quadrado  $p > 0,05$ ). Este achado sugere que este polimorfismo pode não ser um fator genético que contribua para o desenvolvimento da doença periodontal. **Conclusões:** O polimorfismo genético na posição -899 do gene IL-1 $\alpha$  pode não influenciar a prevalência e/ou severidade da DP em idosos.

**Descritores:** Doenças periodontais; Idoso; Interleucina-1; Polimorfismo genético.

### Abstract

**Introduction:** Genetic factors contribute to the risk of periodontal disease (PD) in the elderly. **Objective:** This study aimed to evaluate the association between periodontal disease and interleukin-1 $\alpha$  gene polymorphism in elderly. **Methods:** The study included 110 elderly (mean age: 67.26  $\pm$  4.9 years), 52.7% female gender. PD was diagnosed using the index PIP according to the World Health Organization criteria. The genetic polymorphism was analyzed by polymerase chain reaction followed by cleavage with restriction enzyme NcoI. **Results:** There was no statistically significant association between the polymorphism in the gene for IL-1 $\alpha$  and periodontal disease, according to Chi-square test ( $p > 0.05$ ). This finding suggests that this polymorphism should not be a genetic factor leading to the development of PD. **Conclusions:** Genetic polymorphism at position -899 of the IL-1 $\alpha$  gene not influences the prevalence and / or severity of the DP in the elderly.

**Key words:** Elderly; Interleukin-1; Periodontal diseases; Polymorphism, genetic.

## Introdução

A doença periodontal (DP) é a segunda patologia bucal mais prevalente no mundo, adicionalmente a sua prevalência e gravidade tendem a ser elevadas nos grupos etários mais velhos, em comparação aos mais jovens<sup>1</sup>. No Brasil, a incidência da doença periodontal mostrou-se alta em todas as faixas etárias, com menos de 22% da população adulta e menos de 8% dos idosos apresentando gengivas saudáveis<sup>2</sup>.

A doença periodontal consiste na quebra da homeostasia do tecido periodontal mediante agressão primária do biofilme dentário<sup>3</sup>. O biofilme microbiano dentário é reconhecido como uma comunidade de bactérias, instalada em uma matriz constituída por polímeros extracelulares, aderidos entre si ou a uma superfície sólida, como esmalte, dentina, cimento, próteses e implantes<sup>4</sup>.

Quando as células epiteliais gengivais entram em contato com os produtos bacterianos, elas produzem mediadores inflamatórios denominados citocinas<sup>5</sup>. Interleucinas (IL) e o fator de necrose tumoral (TNF) são alguns dos mediadores inflamatórios encontrados em níveis elevados no fluido crevicular gengival e tecidos gengivais, quando há DP, o que os torna importantes nos testes diagnósticos e de suscetibilidade<sup>6</sup>.

As doenças mais comuns, assim como a DP, possuem uma etiologia genética complexa, pois não são oriundas de um único defeito de um único gene<sup>7</sup>. Além disso, os aspectos da resposta inflamatória, ou seja, os mediadores inflamatórios (citocinas) secretados pelos linfócitos T helper (Th) têm atraído atenção, tanto quanto as suas variantes que têm potencial de influenciar na resposta do hospedeiro à DP<sup>8</sup>. Estas substâncias são, portanto, consideradas marcadores biológicos para esta doença bucal<sup>9</sup>.

Apesar dos diversos estudos realizados buscando estabelecer uma correlação entre os polimorfismos genéticos e a doença periodontal, esta ainda não se encontra totalmente esclarecida. Em estudo anterior, foi encontrada uma relação entre o polimorfismo genético da IL10 e a doença periodontal<sup>10</sup>.

Diante disto, o atual estudo se propõe a avaliar a possível associação entre o polimorfismo no gene da IL1 $\alpha$  e a perda de inserção periodontal em idosos.

## Materiais e métodos

### Amostra

Trata-se de um estudo transversal, cuja amostra de estudo consistiu em 110 idosos independentes, com idade média de 68 anos (DP $\pm$ 5,02), cadastrados nas Unidades Básicas de Saúde do município de Londrina- PR.

Os critérios de inclusão do estudo consistiram em idosos com idade igual ou superior a 60 anos, de ambos os sexos, fisicamente independentes, classificados nos níveis 3 e 4 do *Status* Funcional proposto por Spirduso<sup>11</sup> e que aceitaram participar voluntariamente do estudo. Não foram incluídos na amostra os sujeitos que apresentaram alguma doença ou limitação, como deficiências físicas e mentais. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Norte do Paraná e certificado pelo Conselho Nacional de Saúde (PP/0070/09). Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido após serem informados sobre a proposta do estudo e os procedimentos de avaliação do trabalho.

As características socioeconômicas (gênero, idade, etnia e classificação econômica) e o hábito tabagista foram investigados por meio de um questionário autoaplicável. Para definição das classes econômicas, foi utilizado o Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB) da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa<sup>12</sup>. Trata-se de um instrumento de segmentação econômica que utiliza o levantamento de características domiciliares (presença e quantidade de alguns itens domiciliares de conforto e grau de escolaridade do chefe de família) para diferenciar a população em oito estratos: A1, A2, B1, B2, C1, C2, D e E. Para fins de análise, as classes econômicas A1, A2, B1 e B2 foram agrupadas em uma categoria, e as classes C1, C2, D e E, em outra.

## Avaliação das condições bucais

A saúde bucal foi avaliada quanto à presença de problemas periodontais. Os exames clínicos foram conduzidos na clínica Odontológica da Universidade Norte do Paraná, sob iluminação com foco de luz em equipo odontológico, realizados por um único examinador utilizando-se de um espelho bucal plano e uma sonda CPI preconizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), após a orientação e escovação dos dentes e próteses. Previamente o examinador foi capacitado pelo processo de calibração intraexaminador. Os registros foram lançados por um único anotador, devidamente treinado, em ficha individualizada do idoso.

A perda de inserção foi avaliada com a utilização do indicador PIP (Índice de Perda de Inserção Periodontal) preconizado pela Organização Mundial da Saúde<sup>13</sup>. O índice PIP permite avaliar a condição da inserção periodontal, tomando como base a visibilidade da junção cimento-esmalte (JCE). Para obtenção deste índice, a cavidade bucal foi dividida em sextantes, que receberam um escore segundo a pior condição observada. O valor dado ao sextante foi definido após o exame dos dentes índices: 16 e 17; 11; 26 e 27; 36 e 37; 31; 46 e 47. Na ausência dos dentes índices, o sextante foi excluído da avaliação.

Os sujeitos foram subdivididos em grupos de acordo com a severidade da doença periodontal: grupo sem doença/periodontite leve: pacientes que não apresentam sinais de doença periodontal, determinado pela ausência de perda de inserção clínica e com profundidade de sondagem  $\leq 3$  mm. Periodontite moderada: pacientes com perda de inserção periodontal de 4 mm a 8 mm. Periodontite severa: indivíduos com perda de inserção periodontal  $\geq 9$  mm<sup>10</sup>.

## Extração do DNA

Para obtenção do DNA de cada indivíduo, foram coletados 5 ml de sangue por punção venosa e armazenados a 4 °C. A extração de DNA foi realizada por meio da utilização do *kit*

PureLink – Invitrogen (São Paulo, Brasil), segundo as instruções do fabricante.

## Identificação do polimorfismo genético

A amostra de DNA de cada idoso foi analisada para os polimorfismos nos genes *IL1 $\alpha$*  na posição -889<sup>14</sup>.

A mistura da reação em cadeia da polimerase (PCR) consistiu em um volume final de 15  $\mu$ l composto de: tampão pH8 1x, 1,5 mM de  $MgCl_2$ , 0,2 mM de dNTPs, 20  $\mu$ M de cada *primer*, 1U de Taq DNA polimerase (Invitrogen, São Paulo, Brasil) e 1  $\mu$ l da solução de DNA (100 ng/ $\mu$ L). As condições de amplificação foram: desnaturação a 95 °C, por quatro minutos, seguida de pareamento dos iniciadores (*primers*) a 55 °C por um minuto, e extensão a 70 °C, por um minuto, repetida por 35 ciclos.

Após a amplificação, 6  $\mu$ l de cada amostra do produto da PCR foram analisados pela eletroforese em gel de agarose (1%), corados por Syber-safe (Invitrogen, São Paulo, Brasil), e os fragmentos recém-sintetizados foram visualizados sob luz ultravioleta. O tamanho do produto amplificado pela PCR foi estimado a partir da migração eletroforética do produto relativo ao marcador de peso molecular 100pb DNA Ladder (Invitrogen, São Paulo, Brasil). Para o polimorfismo da *IL-1 $\alpha$* , 5U da enzima de restrição *NcoI* foram usados, e os produtos de digestão obtidos foram: alelo C (83 + 16 pb) e alelo T (99 pb). A visualização do produto da digestão foi feita em eletroforese em gel de agarose a 2% corado por Syber-safe (Invitrogen, São Paulo, Brasil).

## Análise estatística

Os dados foram processados e analisados utilizando-se o pacote estatístico Statistical Package for Social Science – SPSS, versão 17. Primeiramente, foi feita a análise descritiva, obtendo-se as distribuições absoluta e percentual; a média, mediana, desvio-padrão,

mínimo e máximo de cada variável pesquisada. Posteriormente, o teste Qui-quadrado foi empregado para a análise da possível relação entre a severidade da DP e os polimorfismos no gene da IL-1 $\alpha$ . O nível de significância foi fixado em 5%.

## Resultados

Foram investigados 110 idosos com idade média de 67,26 anos (DP $\pm$  4,9), sendo 58 do gênero feminino (52,7%), e 52, do masculino (47,3%). A maior parte da amostra pertencia à etnia não branca (54,5%). Quanto ao hábito tabagista, 54,5% dos participantes relataram nunca ter fumado, e 11,8% eram tabagistas. Referente à escolaridade, 30,9% completaram o primário. Na classificação econômica utilizada, 55,6% pertenciam às classes C, D e E. Em relação à perda de inserção, 70,9% eram portadores da DP, e 29,1% apresentaram-se sadios em relação a esta condição. No que se refere à severidade da DP, 29,1% da amostra apresentaram-se sadios; 54,5%, DP moderada, e 16,4%, DP severa (Tabela 1).

Com relação à frequência genotípica para o polimorfismo no gene IL1 $\alpha$ , observou-se que maior parcela dos idosos (60,9%) apresentou o genótipo CA, seguido pelo genótipo AA (29,1%). Somente 11 idosos eram homozigotos para o alelo C (10%). Quanto à frequência dos alelos para este gene, pode-se observar maior porcentagem (60%) do alelo A (Tabela 2).

Neste estudo, não se verificou associação estatisticamente significativa entre as variáveis gênero, hábito tabagista, genótipo e a DP, quando analisadas em relação ao grupo de idosos com e sem doença periodontal ( $\chi^2 = 3,012$ ;  $p=0,083$ .  $\chi^2=2,244$ ;  $p=0,192$ .  $\chi^2= 0,314$ ;  $p= 0,688$ , respectivamente) (Tabela 3).

Analisando a relação entre a severidade da DP e as variantes genotípicas, não foi observada uma associação estatisticamente significativa para a interleucina IL-1 $\alpha$  averiguada ( $\chi^2 = 0,71$ ;  $p= 0,649$ ) (Tabela 4).

**Tabela 1:** Distribuição dos idosos segundo as características socioeconômicas, hábito tabagista, doença periodontal e severidade da doença periodontal

Características	N	%
<b>Gênero</b>		
Masculino	52	47,3
Feminino	58	52,7
<b>Idade</b>		
60-70 anos	84	76,4
71-80 anos	26	23,6
<b>Etnia</b>		
Não branca	60	54,5
Branca	50	45,5
<b>Escolaridade</b>		
Analfabeto	30	27,3
Primário completo	34	30,9
Ginásio	13	11,8
Colegial	28	25,5
Superior	5	4,5
<b>Classificação social</b>		
A1, A2, B1, B2	49	44,4
C1, C2, D, E	61	55,6
<b>Hábito tabagista</b>		
Nunca fumou	60	54,5
Ex-fumante	37	33,6
Fumante	13	11,8
<b>Doença periodontal (DP)</b>		
Sem	32	29,1
Com	78	70,9
<b>Severidade da doença periodontal</b>		
Sem DP	32	29,1
DP moderada	60	54,5
DP severa	18	16,4

**Tabela 2:** Distribuição das variáveis exploratórias e alélicas para os polimorfismos -889, no gene da IL1 $\alpha$ , nos idosos de Londrina (PR)

Frequência	N	%
<b>Genotípica IL1<math>\alpha</math></b>		
CC	11	10,0
AA	32	29,1
CA	67	60,9
<b>Alélica IL1<math>\alpha</math></b>		
C	89	40,0
A	131	60,0

**Tabela 3:** Associação entre a doença periodontal, hábito tabagista e a variante genotípica -889 IL1 $\alpha$ , nos idosos de Londrina (PR)

Frequências genotípicas	Doença periodontal	
	Sem N (%)	Com N (%)
Gênero <sup>a</sup>		
Masculino	11 (34,4)	41 (52,6)
Feminino	21 (65,6)	37 (47,4)
Hábito tabagista <sup>b</sup>		
Nunca fumou	21 (65,5)	39 (50,0)
Ex-fumante	8 (25,0)	29 (37,2)
Fumante	3 (9,4)	10 (12,8)
IL1 $\alpha$ <sup>c</sup>		
CC	4 (12,5)	7 (09,0)
AA	9 (28,1)	23 (29,5)
CA	19 (59,4)	48 (61,5)

<sup>a</sup> $\chi^2=3,012$ ;  $p=0,083$ . <sup>b</sup> $\chi^2=2,244$ ;  $p=0,192$ . <sup>c</sup> $\chi^2=0,314$ ;  $p=0,688$ .

**Tabela 4:** Associação entre a severidade da doença periodontal e as variantes genotípicas -889 no gene da IL1 $\alpha$  nos idosos de Londrina (PR)

Frequências genotípicas	Severidade da doença periodontal		
	Controle N (%)	Moderada N (%)	Severa N (%)
IL1 $\alpha$			
CC	4 (12,5)	6 (10,0)	1 (05,6)
AA	9 (28,1)	17 (28,3)	6 (33,3)
CA	19 (59,4)	37 (61,7)	11 (61,1)

$\chi^2 = 0,71$ ;  $p = 0,649$ .

## Discussão

Não se verificou associação estatisticamente significativa entre as variáveis gênero, hábito tabagista, genótipo e a DP, quando analisadas em relação ao grupo de idosos com e sem perda de inserção periodontal. Contudo, de acordo com Carranza e Newman<sup>15</sup>, existe maior prevalência e gravidade da DP em homens do que em mulheres, fato também observado por Machion et al.<sup>16</sup>. Os autores, em seu estudo sobre a influência dos fatores de risco, como sexo

e idade, na prevalência de bolsas periodontais, concluíram que estas foram mais prevalentes no gênero masculino e que houve uma maior prevalência e um aumento da profundidade de sondagem com o avançar da idade. As razões para a disparidade da condição periodontal entre homens e mulheres ainda não foram devidamente esclarecidas; entretanto, sugere-se que esta diferença esteja mais relacionada com a pior higiene bucal dos homens e com sua menor frequência ao dentista<sup>17</sup>.

Dentre os fatores de risco para a doença periodontal, destaca-se o tabagismo, que tem sido amplamente discutido e associado a esta patologia. Confirmando esses dados, Hilgers e Kinane<sup>18</sup>, Medeiros, Silva e Botelho<sup>19</sup> encontraram uma forte associação entre a prevalência de fumantes e indivíduos portadores de DP. A severidade da DP em fumantes está relacionada à duração e à quantidade de cigarros fumados<sup>15</sup>. Entretanto, o mecanismo de ação entre ambos ainda não é totalmente compreendido<sup>18</sup>. Apesar da alta prevalência da DP associada a indivíduos com hábitos tabagistas, neste estudo não houve um resultado significativo, pois a maior prevalência da IL-1 alfa foi em idosos que nunca fumaram.

Em geral, uma falta de associação entre os polimorfismos no gene da IL1 $\alpha$  tem sido relatada<sup>20,21</sup>. Em contrapartida, outras investigações reportam a influência do polimorfismo na IL1 $\alpha$  com esta comorbidade<sup>22</sup>. Estudando polimorfismos na posição C-889T da IL1 $\alpha$ , C+3954A da IL1 $\beta$  e IL1RN, na população brasileira, foi encontrada associação dos alelos da IL1 $\beta$  e IL1RN e a suscetibilidade para a DP<sup>23</sup>. Braosi et al.<sup>24</sup> conduziram um estudo investigando associação entre as regiões polimórficas C-889T IL1 $\alpha$  e C511T IL1 $\beta$ , porém não houve associação significativa com a periodontite crônica em brasileiros; contudo, a IL1RN foi relacionada com a doença periodontal em brasileiros afro-descendentes<sup>24</sup>.

Quanto à severidade da DP em idosos, os estudos apontam uma pior condição bucal com o aumento da idade. Queiroz et al.<sup>25</sup> avaliaram a condição periodontal em idosos e verificaram uma redução do número de sextantes, 73% dos

participantes apresentavam menos de três sextantes. Uma pesquisa com idosos institucionalizados de Belo Horizonte mostrou um aumento do número de sextantes nulos, uma redução dos sextantes com bolsa de 4 a 5 mm ou  $\geq$  6 mm e com PI de 4 a 5 mm, de 6 a 8 mm e de 9 a 11 mm com o aumento da idade, sendo predominante a perda de inserção de 6 a 8 mm na população estudada<sup>23</sup>.

Estes resultados contraditórios podem ser explicados em função dos diferentes grupos étnicos ou associação com outros tipos de citocinas ou marcadores genéticos<sup>23</sup>.

Neste estudo, foi observada maior frequência de idosos portadores do genótipo heterozigoto (60,9%) para IL1 $\alpha$ , porém não foram encontradas associações significantes, quando analisados em relação a portadores de DP e grupo controle.

Devido a doença periodontal ser multifatorial e complexa, há vários estudos em que se busca o melhor conhecimento do envolvimento da citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL1 $\alpha$  e IL1 $\beta$ , que desempenham um papel central na resposta imune mediante inflamação do tecido periodontal, podendo ocorrer a perda de tecido ósseo e conjuntivo. Entretanto, existem outros fatores que podem influenciar a DP sem que tenha relação com a IL1 $\alpha$ , como, por exemplo, fatores ambientais, situação econômica, baixo nível de escolaridade ou higiene bucal precária, dieta rica em carboidratos, etc. Apesar dos resultados deste estudo não apresentarem significância estatística, acredita-se que a identificação da genética do hospedeiro mais suscetível à DP permitirá a identificação precoce desta doença, refletindo em formas individualizadas de terapias contra essa comorbidade.

## Conclusões

Neste estudo, o polimorfismo genético na posição -899 do gene IL-1 $\alpha$  não mostrou associação estatisticamente significativa quanto à presença e/ou à severidade da perda de inserção em idosos.

## Referências

1. World Health Organization. The WHO global oral health data bank. Geneva: World Health Organization; 2003.
2. Ministério da Saúde (Brasil). Saúde bucal. Brasília: Ministério da Saúde; 2006. (Caderno de atenção básica, 17).
3. Sallum AW. Fatores modificadores do processo saúde-doença periodontal. *Periodontia: ciência e clínica*. São Paulo: Artes Médicas; 2001. p. 221-31.
4. Marsh PD, Bradshaw DJ. Dental plaque as a biofilm. *J Ind Microbiol*. 1995;15(3):169-75.
5. Chung RM, Grbic JT, Lamster IB. Interleukin-8 and  $\beta$ -glucuronidase in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol*. 1997;24(3):146-52.
6. Ejeil AL, Gaultier F, Igondjo-Tchen S, Senni K, Pellat B, Godeau G, Gogly B. Are cytokines linked to collagen breakdown during periodontal disease progression? *J Periodontol*. 2003;74(2):196-201.
7. Kinane DF, Hart TC. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003;14(6):430-49.
8. Sallum AW, Martins AG, Sallum EA. A doença periodontal e o surgimento de um novo paradigma. In: Brunetti Mc *Periodontia Medica: uma abordagem integrada*. São Paulo: Senac; 2004. p. 22-39.
9. Greenstein G, Hart TC. A critical assessment of interleukin-1 (IL-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2002;73(2):231-47.
10. Nakama DM, Braga MP, Moura SK, Oliveira DAAP, Oliveira RF, Fernandes KBP, et al. Polimorfismo no gene IL-10 (-627) em idosos portadores de doença periodontal. *ConScientiae Saúde*. 2012; 11(3):369-76.
11. Spirduso WW. *Dimensões físicas do envelhecimento*. São Paulo: Manole; 2005.
12. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. Critério de classificação econômica Brasil (CCEB). São Paulo: ABEP; 2008.
13. World Health Organization. *Oral health surveys: basic methods*. Geneva: World Health Organization; 1997.
14. Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1997;24(1):72-7.

15. Carranza FA, Newman MG. Periodontia clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.
16. Machion L, Freitas PM, Cesar Neto JB, Nogueira Filho GR, Nociti Jr FH. A influência do sexo e da idade na prevalência de bolsas periodontais. *Pesq Odont Bras.* 2000;14(1):33-7.
17. Ministério da Saúde (Brasil), Divisão Nacional de Saúde Bucal. Levantamento epidemiológico em saúde bucal: Brasil, zona urbana, 1986. Brasília: Ministério da Saúde; 1988.
18. Hilgers KK, Kinane DF. Smoking, periodontal disease and the role of the dental profession. *Int J Dent Hygiene.* 2004;2:56-63.
19. Medeiros ARS, Silva AMC, Botelho C. Associação do tabagismo com periodontite crônica em usuários do Sistema Único de Saúde. *RGO.* 2009;57(4):425-30.
20. Lindhe J. Tratado de periodontologia clínica. Rio de Janeiro: Guanabara; 1999.
21. Rousset F, Garcia E, Defrance T, Péronne C, Vezzio N, Hsu DH, et al. Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(5):1890-3.
22. Shirodaria SSJ, McKay IJ, Kennett CN, Hughes FJ. Polymorphisms in the IL-1A gene are correlated with levels of interleukin-1alpha protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. *J Dent Res.* 2000;79:1864-9.
23. Trevilatto PC, de Souza Pardo AP, Scarel-Caminaga RM, de Brito RB Jr, Alvim-Pereira F, Alvim-Pereira CC, et al. Association of IL1 gene polymorphisms with chronic periodontitis in Brazilians. *Arch Oral Biol.* 2011;56(1):54-62.
24. Braosi AP, de Souza CM, Luczyszyn SM, Dirschnabel AJ, Claudino M, Olandoski M, et al. Analysis of IL1 gene polymorphisms and transcript levels in periodontal and chronic kidney disease. *Cytokine.* 2012;60(1):76-82.
25. Queiroz CM, Rezende CP, Molena CL, Denardin OP, Rapoport A. Avaliação da condição periodontal no idoso. *Rev Bras Cir Cabeça Pescoço.* 2008;37(3):156-9.



