

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**Polimorfismos no gene *receptor da vitamina D*
(*VDR*) e a coexistência de periodontite e lúpus
eritematoso sistêmico**

Karolyne de Melo Soares

2025

SAPIENTIA AEDIFICAT

KAROLYNE DE MELO SOARES

Polimorfismos no gene *receptor da vitamina D (VDR)* e a coexistência de periodontite e lúpus eritematoso sistêmico

Polymorphisms in the *vitamin D receptor (VDR)* gene and the co-occurrence of periodontitis and systemic lupus erythematosus

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração Ciências Odontológicas.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª Naila Francis Paulo de Oliveira
Coorientador: Prof^ª. Dr^ª. Cristina Wide Pissetti

João Pessoa

2025

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
BIBLIOTECÁRIO:

S676p Soares, Karolyne de Melo.

Polimorfismos no gene receptor da vitamina D (VDR) e a coexistência de periodontite e lúpus eritematoso sistêmico / Karolyne de Melo Soares. - João Pessoa, 2025.

70 f. : il.

Orientação: Naila Francis Paulo de Oliveira.

Coorientação: Cristina Wide Pissetti.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Doenças periodontais. 2. Inflamação. 3. Polimorfismo de nucleotídeo único. 4. Receptores de calcitriol. I. Oliveira, Naila Francis Paulo de. II. Pissetti, Cristina Wide. III. Título.

UFPB/BC

CDU 616.314.008.8(043)

Informações Complementares:

Título em outro idioma: Polymorphisms in the *vitamin D receptor (VDR)* gene and the co-occurrence of periodontitis and systemic lupus erythematosus.

Palavras-chave em outro idioma: Periodontal Diseases; Inflammation; Polymorphism, Single Nucleotide; Receptors, Calcitriol.

Área de concentração: Ciências Odontológicas

Linha de Pesquisa: Fisiopatologia dos tecidos bucomaxilofaciais

Banca examinadora: Naila Francis Paulo de Oliveira (Orientador, Universidade Federal da Paraíba); José Maria Chagas Viana Filho (Universidade de Pernambuco); Wallace Felipe Blohem Pessoa (Universidade Federal da Paraíba); Adriano Francisco Alves (Universidade Federal da Paraíba); Anna Cecília Dias Maciel Carneiro (Universidade Federal do Triângulo Mineiro).

Data de defesa: 25-02-2025

Informações acadêmicas e profissionais do(a) aluno(a)

- ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2111-6945>

- Link do Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1803173389013674>

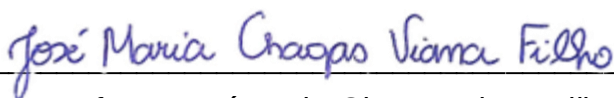
KAROLYNE DE MELO SOARES

Polimorfismos no gene *receptor da vitamina D (VDR)* e a coexistência de periodontite e lúpus eritematoso sistêmico

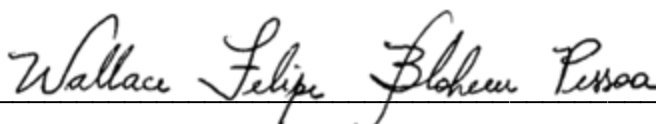
A comissão examinadora abaixo relacionada julgou a Defesa de Dissertação apresentada em sessão pública no dia 25 de fevereiro de 2025 e atribuiu o conceito APROVADO(A)

Documento assinado digitalmente
 NAILA FRANCIS PAULO DE OLIVEIRA
Data: 28/02/2025 12:42:47-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof^ª. Dr^ª. Naila Francis Paulo de Oliveira
Orientadora - UFPB



Prof. Dr. José Maria Chagas Viana Filho
Examinador – Universidade de Pernambuco



Prof. Dr. Wallace Felipe Blohem Pessoa
Examinador – Universidade Federal da Paraíba

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, autor e consumidor da minha fé, que tem sido minha fonte de força, sabedoria e entendimento em cada etapa. À minha família, pela confiança no meu potencial e pelo apoio incondicional durante essa jornada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado saúde e disposição para enfrentar essa jornada, me guiando, fortalecendo meus passos e me mostrando que com Ele eu posso tudo! O sonho que desde a graduação me acompanha, se tornou realidade. Obrigada, Deus, a glória é Tua!

À minha mãe, Wânia, e ao meu padrasto, Vidal, pelo amor, pela constante preocupação, por me fortalecerem com orações e conversas, e por incontáveis vezes, me lembrarem que sou capaz. Eu sou muito abençoada por ter vocês na minha vida.

Ao meu pai, Valdemar, e à minha irmã, Rebeca, por me acolherem com carinho em nosso lar. O acolhimento e o apoio incondicional de vocês foram fundamentais para o meu crescimento e aliviaram os meus fardos. Eu precisava desse momento pertinho de vocês!

Ao meu noivo, Rodrigo, pelo amor, paciência, incentivo e compreensão ao longo deste período. Seu companheirismo e cuidado foram imprescindíveis e significaram muito para mim.

À minha orientadora, Prof^a Naila, por todo apoio integral, paciência e ensinamentos valiosos. Aprendi muito sobre genética, que não é nada fácil, mas sempre disposta a ensinar com maestria. Um exemplo de professora e inspiração! Meu muito obrigada!

À minha coorientadora, Prof^a Cristina, que com sua calma e paciência me ensinou muito. Acompanhar a senhora no estágio docência me mostrou que o bom da vida é ser leve e ter amor pelo que faz! Muito obrigada por todos os ensinamentos e direcionamentos. Levarei o que aprendi pra vida!

Ao meu eterno professor/orientador, Prof^o Viana, os meus mais sinceros agradecimentos. Desde a graduação acreditou no meu potencial e me ajudou em vários momentos. Me direcionou e hoje estou colhendo frutos! Muito obrigada por ser meu leme, sempre!

As minhas amigas do mestrado, Elizabeth (Bel), Heloísa (Helô) e Daniele (Little dani), pelo companheirismo, carinho, encorajamento e presença em todas as etapas. Vocês foram/são fundamentais na minha caminhada.

A técnica do laboratório, Vânia, que sempre esteve disposta a me ajudar, me recebeu e me ensinou com muito carinho os manejos dentro do laboratório durante o mestrado.

Aos professores do PPGO-UFPB por todo ensino prestado e de qualidade! Vocês nos inspiram pelo profissionalismo e comprometimento nas disciplinas e pesquisas. À Universidade Federal da Paraíba, pelo apoio institucional recebido.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Agradeço à CAPES pelo apoio financeiro, que foi indispensável para a realização deste trabalho.

“O próprio SENHOR irá à sua frente e estará com você; Ele nunca o deixará nem o abandonará. Não tenha medo! Não desanime!”

Deuteronômio 31:8

RESUMO

Há evidências de uma predisposição genética comum entre a doença periodontal (DP) e o lúpus eritematoso sistêmico (LES), o que pode explicar a associação entre essas condições. A similaridade em suas patogêneses estimula pesquisas para entender essa relação. A vitamina D, amplamente estudada em doenças inflamatórias, emerge como um marcador relevante na interação entre DP e LES, especialmente no estudo de polimorfismos genéticos, que são cruciais para identificar biomarcadores e mapear genes associados a distúrbios comuns. Essa investigação genética é essencial para esclarecer as vias de sinalização entre essas doenças e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas personalizadas. Diante disso, objetivou-se identificar a associação de polimorfismos genéticos no gene *VDR BsmI* (rs1544410), *FokI* (rs2228570), *TaqI* (rs731236) e a coexistência de periodontite e lúpus eritematoso sistêmico. Para tanto, realizou-se um estudo transversal com análises laboratoriais de amostras coletadas da mucosa oral de 181 participantes, recrutados entre maio de 2017 e dezembro de 2019. Os participantes, de ambos os sexos, foram alocados em quatro grupos: Saudável (n = 57), Periodontite (n = 40), LES (n = 46) e LES + Periodontite (n = 38). A avaliação da atividade do LES foi realizada a partir do Guia da Sociedade Americana de Reumatologia e a avaliação periodontal a partir da classificação das doenças periodontais. O DNA foi extraído de células da mucosa oral, coletadas por meio de um bochecho e, em seguida, foram analisados os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) *BsmI* (rs1544410), *FokI* (rs2228570) e *TaqI* (rs731236) no gene do receptor da vitamina D (*VDR*) por meio da técnica de PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism*). Foi realizada estatística descritiva e inferencial, utilizando os testes: Qui-quadrado, U de *Man-Whitney*, Kruskal-Wallis, T-Student e One-way ANOVA, considerando um nível de significância de $p < 0,05$. Foram calculados a razão de chances (OR) com seus respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%) e o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE). A idade dos participantes variou entre 20 e 71 anos, com predomínio de mulheres (77,9%). A frequência de diagnóstico de periodontite nos estágios II e III/IV e a atividade do LES foram semelhantes entre os grupos. O alelo B e os genótipos BB + Bb do SNP *BsmI* foram mais comuns em pacientes com LES, configurando um fator de risco que aumenta 2 vezes as chances de desenvolvimento de LES (OR=2.0, 95% IC [1.0-3.8],

p=0.04). Já o alelo *t* e os genótipos *Tt* + *tt* do *SNP TaqI* foram mais frequentes em pacientes com LES sem periodontite, representando um fator de risco semelhante para o LES (OR=2.3, 95% IC [1.2-4.4], p=0.01). Não foi observada nenhuma associação significativa com o *SNP FokI*. Conclui-se, portanto, que o polimorfismo *BsmI* (alelo *B* e genótipo *BB* e *Bb*) é fator de risco para lúpus eritematoso sistêmico independente da periodontite e o polimorfismo *TaqI* (rs731236) (alelo *t* e os genótipos *Tt* e *tt*) é fator de risco para lúpus eritematoso sistêmico mas não na coexistência com periodontite.

Palavras-chave: Doenças periodontais, Inflamação, Polimorfismo de Nucleotídeo Único, Receptores de Calcitriol.

ABSTRACT

There are evidences of a shared genetic predisposition between periodontal disease (PD) and systemic lupus erythematosus (SLE), which may explain the association between these conditions. The similarity in their pathogenesis has spurred research aimed at understanding this relationship. Vitamin D, extensively studied in inflammatory diseases, emerges as a relevant marker in the interaction between PD and SLE, particularly in the study of genetic polymorphisms, which are crucial for identifying biomarkers and mapping genes associated with common disorders. This genetic investigation is essential to clarify the signaling pathways between these diseases and to develop personalized therapeutic strategies. In this context, the objective was to identify the association of genetic polymorphisms in the *VDR* gene for *BsmI* (rs1544410), *FokI* (rs2228570), and *TaqI* (rs731236) with the coexistence of periodontitis and systemic lupus erythematosus. A cross-sectional study was conducted, including laboratory analyses of oral mucosa samples from 181 participants recruited between May 2017 and December 2019. Participants, of both sexes, were allocated into four groups: healthy (n = 57), periodontitis (n = 40), SLE (n = 46), and SLE + periodontitis (n = 38). SLE activity was assessed using the American College of Rheumatology (ACR) guidelines, and periodontal evaluation followed the classification of periodontal diseases. DNA was extracted from saliva, and single nucleotide polymorphisms (SNPs) *BsmI* (rs1544410), *FokI* (rs2228570), and *TaqI* (rs731236) in the vitamin D receptor (*VDR*) gene were analyzed using the PCR-RFLP technique (Polymerase Chain Reaction–Restriction Fragment Length Polymorphism). Descriptive and inferential statistics were performed, employing Chi-square, Mann-Whitney U, Kruskal-Wallis, Student's t-test, and one-way ANOVA, with a significance level of $p < 0.05$. Odds ratios (OR) with their 95% confidence intervals (95% CI) and Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) were calculated. The participants' ages ranged from 20 to 71 years, with a predominance of women (77.9%). The frequency of periodontitis diagnosis in stages II and III/IV and SLE activity was similar across groups. The *B* allele and *BB* + *Bb* genotypes of the *BsmI* SNP were more common in patients with SLE, representing a twofold increased risk for SLE development (OR = 2.0, 95% CI [1.0–3.8], $p = 0.04$). Conversely, the *t* allele and *Tt* + *tt* genotypes of the *TaqI* SNP were more frequent

in patients with SLE without periodontitis, representing a similar risk factor for SLE (OR = 2.3, 95% CI [1.2–4.4], $p = 0.01$). No significant association was observed with the *FokI* SNP. In conclusion, the *BsmI* polymorphism (*B* allele and *BB* + *Bb* genotypes) is a risk factor for systemic lupus erythematosus independent of periodontitis, whereas the *TaqI* polymorphism (rs731236) (*t* allele and *Tt* + *tt* genotypes) is a risk factor for systemic lupus erythematosus but not for its coexistence with periodontitis.

Keywords: Periodontal Diseases; Inflammation; Polymorphism, Single Nucleotide; Receptors, Calcitriol.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA - *Ácido desoxirribonucleico*

DP - *Doença Periodontal*

LES - *Lúpus Eritematoso Sistêmico*

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

PIC – *Profundidade de Inserção Clínica*

PO - *Perda Óssea Radiográfica*

PS – *Profundidade de Sondagem*

RFLP - *Restriction Fragment Length Polymorphism*

SLEDAI - *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*

SNPs - *Single nucleotide polymorphism*

SS – *Sangramento a Sondagem*

UVB – *Radiação Ultravioleta B*

VDR - *Receptor de vitamina D*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1. Doença periodontal.....	16
2.2. Lúpus Eritematoso Sistêmico.....	20
2.3. Vitamina D e o gene <i>VDR</i>	23
2.4. Polimorfismos genéticos.....	26
2.4.1 Polimorfismos genéticos no gene <i>VDR</i>	28
3. OBJETIVOS.....	31
3.1 Objetivo geral.....	31
3.2 Objetivos específicos.....	31
4. ARTIGO 1.....	32
5. CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS.....	56
ANEXO.....	68

1. INTRODUÇÃO

A resposta imune exerce um papel crucial no desencadeamento e na progressão de doenças crônicas relacionadas a distúrbios inflamatórios imunológicos, como a doença periodontal (DP) e o lúpus eritematoso sistêmico (LES). A relação entre DP e LES tem sido amplamente discutida devido às semelhanças em suas patogêneses (1,2).

A periodontite é uma doença inflamatória crônica, caracterizada pela destruição dos tecidos de suporte dental, podendo levar à perda óssea e dentária. Seu desenvolvimento está associado a um desequilíbrio entre a microbiota oral e a resposta imunológica (3,4). O LES, por sua vez, é uma doença inflamatória crônica que afeta tecidos conjuntivos e diversos órgãos. Caracteriza-se por respostas imunológicas dirigidas contra um grande número de autoantígenos e períodos alternados de exacerbação e remissão (5,6).

O LES e a periodontite possuem caráter multifatorial, influenciado por fatores ambientais, genéticos, epigenéticos, hormonais e imunorregulatórios. Esses fatores podem atuar de forma simultânea sobre o sistema imunológico, contribuindo para o seu desencadeamento (5).

Evidências epidemiológicas indicam alta prevalência e maior risco de periodontite em indivíduos com LES. O principal elo entre essas condições, além de seu caráter multifatorial, é o estado de hiper-inflamação comum em ambas as doenças. Tanto a gengivite quanto a periodontite são influenciadas pela resposta imune, podendo ser moduladas por fatores sistêmicos ou modificadores, como tabagismo, obesidade, diabetes e estresse. Nesse contexto, as doenças autoimunes podem potencializar a resposta inflamatória no periodonto, agravando o quadro clínico (7,8).

Dentro desse contexto inflamatório, a vitamina D ($1,25[\text{OH}]_2\text{D}$) tem sido amplamente investigada. Esse hormônio lipossolúvel é encontrado em alguns alimentos e suplementos, mas sua principal fonte é a síntese cutânea estimulada pela radiação ultravioleta B (UVB). Em sua forma ativa, a vitamina D apresenta propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras (9). Estudos indicam que a deficiência de vitamina D está associada a diversas doenças, incluindo o LES e a periodontite (10,11).

A variabilidade nos efeitos da vitamina D pode ser parcialmente atribuída a polimorfismos em genes envolvidos em seu metabolismo, incluindo o gene do receptor de vitamina D (*VDR*) (12). A presença de polimorfismos genéticos no *VDR* pode interferir nos efeitos biológicos e absorção dessa vitamina no organismo, contribuindo para a desregulação do processo inflamatório e exacerbação as respostas inflamatórias (13), afetando o metabolismo do cálcio, na proliferação celular e função imunológica (14).

Dentre os polimorfismos no gene *VDR*, os polimorfismos de nucleotídeo único (*SNP*) mais estudados incluem o *FokI* (rs2228570), *BsmI* (rs1544410), e *TaqI* (rs731236), devido a alguns estudos demonstrarem associação desses polimorfismos com doenças inflamatórias. No caso da periodontite (15), mostrou-se que polimorfismos favoreceram na perda óssea alveolar e agravamento da doença e no LES mostrando um maior risco de osteoporose, que afeta a regulação óssea pela vitamina D e um aumento da suscetibilidade ao LES (16,17). Alguns estudos também mostram a relação desses polimorfismos com outras doenças inflamatórias como a *diabetes mellitus* e artrite reumatoide (18,19). Meta-análises sugerem que esses *SNPs* estão associados à suscetibilidade genética tanto ao LES quanto à periodontite (20,21). No entanto, até o momento, nenhum estudo investigou esses *SNPs*, considerando a ocorrência concomitante de LES e periodontite.

Portanto, considerando o papel crucial dos polimorfismos no desenvolvimento destas doenças multifatoriais e as evidências que sugerem uma possível associação entre a periodontite e o LES, a hipótese deste estudo é que polimorfismos no gene *VDR* podem estar associados à suscetibilidade para a ocorrência concomitante dessas condições.

REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Doença periodontal

Clinicamente, um periodonto saudável é caracterizado por gengivas de coloração rósea, sem sinais de inflamação ou sangramento, que cobrem as raízes dos dentes por completo (22). A doença periodontal (DP), por sua vez, é descrita como doença inflamatória crônica multifatorial associada a biofilme disbiótico, caracterizada pela destruição progressiva das estruturas de injeção dental (Figura 1) (3,23).

A DP pode ser influenciada por fatores de risco sistêmicos (modificadores), como tabagismo, hiperglicemia, desequilíbrios nutricionais, uso de agentes farmacológicos e entre outros, como também está associada a fatores locais (predisponentes), como a retenção de biofilme. Por outro lado, formas de DP não induzidas por biofilme podem estar relacionadas, por exemplo, a desordens genéticas, condições inflamatórias e doenças autoimunes (23).

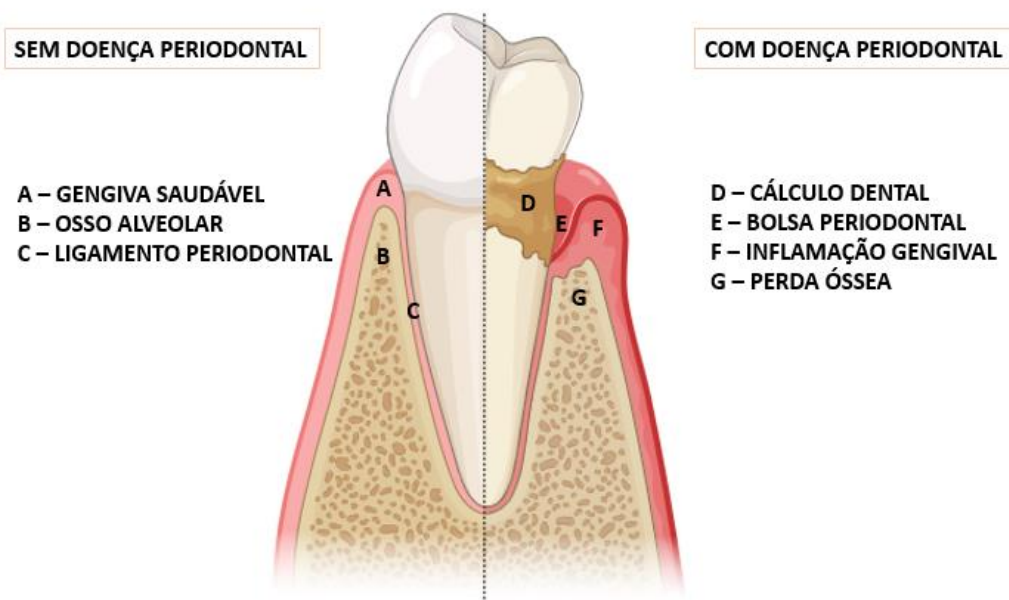


Figura 1 - Esquema comparativo de um dente saudável e com doença periodontal. **Fonte:** Elaborada pela autora, 2025. Criado com (BioRender.com).

A saúde periodontal e a saúde gengival são classificadas com base na presença ou ausência de perda de inserção clínica, sendo definidas como saúde clínica em um periodonto íntegro e saúde clínica em um periodonto reduzido. A saúde gengival clínica em um periodonto íntegro é definida pela ausência de perda de inserção clínica (PIC) e perda óssea radiográfica (POR), com sangramento à sondagem (SS) em menos de 10% dos sítios e profundidade de sondagem (PS) $\leq$ 3 mm. Já a saúde gengival em um periodonto reduzido de indivíduos periodontalmente estáveis, que são aqueles com histórico de periodontite, mas estáveis após a terapia periodontal, apresentam profundidade de sondagem de até 4mm, ausência de sítios com PS $\geq$ 4 mm e SS, SS em menos de 10% dos sítios, além de PIC e POR (23,24).

A classificação de doenças e condições periodontais e periimplantares foi atualizada conforme os avanços no entendimento da etiopatogenia da doença periodontal. A necessidade de revisões nas classificações surge à medida em que paradigmas são quebrados, com a evolução do conhecimento e forma de tratamento das doenças periodontais. Com isso, a periodontite é classificada por um sistema de estadiamento baseado na gravidade da doença e na complexidade do tratamento. Os estágios de I a IV (Quadro 1) estão relacionados com a severidade da doença e consideram a perda de inserção, a profundidade de sondagem, defeitos ósseos, envolvimento de lesões de furca, mobilidade dentária e comprometimento mastigatório (25, 26, 27).

Quadro 1 – Classificação da periodontite por estágios.

		Estágio I	Estágio II	Estágio III	Estágio IV
Determinante	Perda de inserção (PI) interproximal no pior sítio (mm)	1-2	3-4	>5	
	Ou Perda óssea radiográfica (POR)	1/3 coronal <15%	1/3 coronal <33%	Metade ou 1/3 apical	
Modificam estágio	Profundidade de sondagem	Até 4mm	Até 5mm	>6mm	
	Perda dental por periodontite	Sem perda		Até 4	$\geq$ 5
					-Disfunção mastigatória; -Trauma oclusal secundário

	Perda óssea	Horizontal	-Vertical (até 3mm) - Furca (II ou III) -Defeito de rebordo moderado	(mobilidade grau 2 ou 3); -Defeito de rebordo grave; -Problemas mastigatórios; -Menos de 10 pares de antagonistas (20 dentes)
--	--------------------	------------	--	--

Fonte: Caton et al., 2018. Elaborado pela autora, 2025.

Quanto a progressão da doença, a periodontite é subdividida em graus A, B e C (Quadro 2). Inicialmente, todo paciente com periodontite é classificado como grau B, podendo ser reclassificado para grau A ou C com base em: 1) evidências diretas de progressão; ou 2) evidências indiretas. Após a definição do grau com base na progressão da doença, essa classificação pode ser ajustada pela presença de fatores de risco, como tabagismo e diabetes mellitus (23).

Quadro 2 – Classificação da periodontite por graus.

	Grau A Progressão lenta	Grau B Progressão moderada	Grau C Progressão rápida
Determinante	Sem progressão por 5 anos (PI ou PO 0,25mm ao ano)	Progressão <2mm em 5 anos ou PO 0,25-1 mm/ano	Progressão ≥ 2mm em 5 anos ou PO>1mm/ano
Secundária	Grande acúmulo de biofilme e pouca destruição	Destruição compatível com biofilme	Destruição maior que o esperado pela quantidade de biofilme
Modificadora	Sem fatores de risco (Tabagismo ou diabetes)	Fatores de risco: Fumantes até 10 cigarros/dia ou HbA1C <7%	Fatores de risco: Fumantes >10 cigarros/dia ou HbA1C ≥7%

Fonte: Caton et al., 2018. Elaborado pela autora, 2025.

O número de casos de periodontite estágios III e IV apresentou um aumento contínuo ao longo das últimas décadas, em todo o mundo. Entre 1990 e 2019, observou-se um crescimento acumulado de 99,0% na prevalência da doença. Esse aumento foi, em grande parte, impulsionado pelo crescimento populacional, que respondeu por 67,9% da variação observada. O envelhecimento da população contribuiu com 18,9% desse incremento, enquanto as mudanças na taxa de prevalência específica por faixa etária representaram 12,2% (28).

Ainda nesse contexto, os principais resultados do SB Brasil 2020, revelaram que o sangramento gengival foi a condição periodontal mais prevalente entre os adolescentes de 12 anos (27,77%), seguido pelo cálculo dentário (23,72%). Entre os adolescentes de 15 a 19 anos, o cálculo dentário prevaleceu em 35,29%. Nos adultos de 35 a 44 anos, o cálculo dentário foi a condição mais comum (54,13%), seguido pelo sangramento gengival (41,53%). Bolsas periodontais rasas e profundas afetaram 13,36% e 3,51% dos adultos, respectivamente (29).

Os impactos dessas condições, especialmente na infância e adolescência, podem perdurar na fase adulta. Seus efeitos vão além da saúde bucal, impactando a saúde sistêmica e a qualidade de vida. Pessoas com DP frequentemente apresentam dificuldades de mastigação, desconforto e risco de infecções (26,30). Para mitigar esses impactos, medidas preventivas são fundamentais no combate à DP. Elas incluem ações educativas para conscientizar a população sobre os sintomas, impactos, relações com condições sistêmicas e estratégias de prevenção, como a orientação do cirurgião-dentista sobre higiene oral adequada (31).

O tratamento periodontal ativo visa reduzir a inflamação por meio da remoção de biofilme. A importância dos cuidados domiciliares adequados deve ser reforçada com frequência durante as fases inicial e subsequentes do tratamento periodontal (32). Após o controle da inflamação, a terapia periodontal de suporte (TPS) é empregada para prevenir a reinfecção, a progressão da doença e outras condições orais, mantendo os dentes saudáveis a longo prazo. De acordo com a Academia Americana de Periodontologia, a TPS deve incluir reavaliação periodontal, avaliação de risco, remoção de cálculo, além do retratamento de áreas com doença recorrente(33).

É fundamental que o tratamento seja individualizado, considerando as características específicas de cada paciente (34). Isso se deve ao fato de que a progressão da periodontite é episódica e cíclica (35), e a resposta ao tratamento varia amplamente entre os indivíduos, que apresentam diferentes níveis de suscetibilidade e resultados de maneira distinta às intervenções terapêuticas (36).

Tradicionalmente, a terapia convencional não cirúrgica é realizada por meio da raspagem e alisamento radicular supra e subgengival, geralmente em sessões semanais ou quinzenais, abordando quadrantes ou sextantes de forma sequencial.

Esse tratamento, em geral, requer um período de aproximadamente quatro a seis semanas para alcançar a antissepsia da cavidade bucal (37).

A raspagem e alisamento radicular devem ser realizados em locais com sondagem periodontal de 5 mm ou mais, juntamente com a correção de fatores locais contribuintes, extração de dentes irrecuperáveis e tratamento de lesões cariosas ativas. Instrumentos automatizados, como raspadores piezoelétricos ou ultrassônicos, podem ser usados em conjunto com instrumentos manuais. Instrumentos ultrassônicos podem ser mais eficazes em áreas de difícil acesso do que as curetas para remoção de biofilme subgingival (32).

Para pacientes com periodontite estágio III e IV, o uso de antibióticos sistêmicos pode ser considerado como tratamento adjuvante. Revisões sistemáticas e meta-análises (38, 39, 40) demonstraram uma melhora significativa nos resultados da raspagem e alisamento radicular quando antibióticos foram usados sistemicamente como terapia adjuvante. Essas melhorias foram evidenciadas por reduções no sangramento na sondagem e na frequência de bolsas periodontais residuais e aumentos no fechamento da bolsa periodontal (41). O benefício mais significativo foi observado com amoxicilina e metronidazol em ciclos mais curtos (7 dias) em doses mais altas (400/500mg ou 500/500mg de amoxicilina/metronidazol) o que pode ser mais adequado para reduzir o risco de resistência antimicrobiana (42). Outras terapias adjuvantes disponíveis para raspagem e alisamento radicular são: terapia fotodinâmica antimicrobiana (43), terapia a laser (44), probióticos (45), própolis (46) e clorexidina (47).

Dada a relevância desse quadro, a associação entre a doença periodontal (DP) e doenças autoimunes, como o lúpus eritematoso sistêmico (LES) que foi definido como uma das desordens sistêmicas que apresentam impactos na perda dos tecidos periodontais, tem sido amplamente investigada, principalmente devido às semelhanças em suas patogêneses e na resposta inflamatória que ambas desencadeiam (1,23).

2.2 Lúpus Eritematoso Sistêmico

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica e etiologia autoimune. É ocasionado pela perda de tolerância imunológica a antígenos próprios do corpo, resultando na produção de uma variedade de

autoanticorpos (48). Seus sintomas podem surgir em vários órgãos de forma gradual ao longo de meses ou rapidamente, em questão de semanas. O LES varia entre fases de exacerbação e de remissão. Para a maioria dos pacientes, o diagnóstico é tardio, desencadeando complicações sérias e às vezes irreversíveis (49).

Desse modo, o LES é uma doença mundial e uma das principais causas de morte em mulheres jovens (50). Em todo o mundo, a doença afeta cerca de cinco milhões de pessoas (51). O estudo de Tian et al. (52), identificou o Brasil entre os quatro países com maiores estimativas de prevalência do LES, com uma taxa estimada de 147,37 casos por 100.000 pessoas (intervalo de confiança de 38,19 a 351,48 por 100.000). Reis-Neto et al. (53) destacaram o aumento de óbitos por LES entre os anos 2000 e 2019 no Brasil, principalmente em mulheres.

O LES apresenta-se em duas formas principais: uma forma cutânea que se manifesta exclusivamente na pele com manchas eritematosas (Figura 2), e uma forma sistêmica, que afeta um ou mais órgãos e pode incluir o aparecimento de lesões orais (54). Os sinais incluem erupção cutânea, fotossensibilidade, nefrite e artrite e os sintomas são fadiga, inchaço nas articulações e hemocitopenias imunológicas, definindo-se assim, como uma doença multissistêmica (55).



Figura 2 – Lúpus cutâneo em área de exposição solar. **Fonte:** Biblioteca Virtual em saúde, 2025. <https://bvsms.saude.gov.br/lupus/>.

A patogênese do LES é determinada pela interação de fatores genéticos (56), epigenéticos (57), imunorreguladores, étnicos, hormonais e ambientais (58,59). Há indícios de associações entre o LES e níveis de vitamina e hormônios

(60, 61). Existem, também, evidências que indicam associações com o tabagismo (62), consumo de álcool (63), radiação ultravioleta e substâncias tóxicas (64).

O diagnóstico do LES é complexo, pela apresentação multissistêmica da doença e com possíveis variações durante o desenvolvimento. O *American College of Rheumatology* (ACR) de 1982 definiu onze critérios (Quadro 3) para diagnóstico do LES, cujo paciente deve apresentar no mínimo quatro para a classificação diagnóstica (65).

Quadro 3 – Onze critérios para diagnóstico do LES.

CRITÉRIOS ACR	
1	Eritema malar: eritema fixo, plano ou elevado nas eminências malares, tendendo a poupar a região nasolabial
2	Lesão discoide: lesão eritematosa, infiltrada, com escamas queratóticas aderidas e tampões foliculares, que evolui com cicatriz atrófica e discromia
3	Fotossensibilidade: eritema cutâneo resultante de reação incomum ao sol, por história do paciente ou observação do médico
4	Úlcera oral: ulceração oral ou nasofaríngea, geralmente não dolorosa, observada pelo médico
5	Artrite: artrite não erosiva envolvendo 2 ou mais articulações periféricas, caracterizada por dor à palpação, edema ou derrame
6	Serosite: a) pleurite – história convincente de dor pleurítica ou atrito auscultado pelo médico ou evidência de derrame pleural; ou b) pericardite – documentada por eletrocardiografia ou atrito ou evidência de derrame pericárdico
7	Alteração renal: a) proteinúria persistente de mais de 0,5 g/dia ou acima de 3+ (+++) se não quantificada; ou b) cilindros celulares – podem ser hemáticos, granulares, tubulares ou mistos
8	Alteração neurológica: a) convulsão – na ausência de fármacos implicados ou alterações metabólicas conhecidas (por exemplo, uremia, cetoacidose, distúrbios hidroeletrólíticos); ou b) psicose – na ausência de fármacos implicados ou alterações metabólicas conhecidas (por exemplo, uremia, cetoacidose, distúrbios hidroeletrólíticos).
9	Alterações hematológicas: a) anemia hemolítica com reticulocitose; ou b) leucopenia de menos de 4.000/mm ³ em duas ou mais ocasiões; ou c) linfopenia de menos de 1.500/mm ³ em duas ou mais ocasiões; ou d) trombocitopenia de menos de 100.000/mm ³ na ausência de uso de fármacos causadores.
10	Alterações imunológicas: a) presença de anti-DNA nativo; ou b) presença de anti-Sm; ou c) achados positivos de anticorpos antifosfolípidos baseados em concentração sérica anormal de anticardiolipina IgG ou IgM, em teste positivo para anticoagulante lúpico, usando teste-padrão ou em VDRL falsopositivo, por pelo menos 6 meses e confirmado por FTA-Abs negativo.
11	Anticorpo antinuclear (FAN): título anormal de FAN por imunofluorescência ou método equivalente em qualquer momento, na ausência de fármacos sabidamente associados ao lúpus induzido por fármacos.

Fonte: *American College of Rheumatology*, 1997. Elaborado pela autora, 2025.

O tratamento do paciente com LES é personalizado, devido à variedade da manifestação da doença. Segundo as recomendações atuais da Liga Europeia Contra o Reumatismo (EULAR), o principal objetivo do tratamento para o LES é

alcançar a remissão completa ou, quando isso não for possível, um estado de baixa atividade da doença (66).

Nesse cenário, o tratamento para o LES se baseia em anti-inflamatórios não esteroides, anti-inflamatórios esteroides, anti-malárico e agentes imunossupressores. No entanto, essas terapias têm como objetivo principal o controle dos sintomas, sem atuar na causa subjacente da doença. Além disso, apresentam uma gama de efeitos colaterais amplos e não específicos, muitas vezes acompanhados de toxicidades consideráveis (67).

Dentre as principais causas de morte relacionadas ao LES, destacam-se as doenças infecciosas, renais e cardiovasculares (53). Os indivíduos que fazem uso de imunossupressores, são mais suscetíveis a infecções. Para tanto, torna-se crucial a identificação precoce e o tratamento adequado (68).

Diante de todo o contexto inflamatório, a vitamina D tem sido bastante investigada (9). A variabilidade nos efeitos da vitamina D pode ser parcialmente explicada por polimorfismos em genes envolvidos em seu metabolismo, incluindo o gene do receptor de vitamina D (*VDR*) (10).

2.3 Vitamina D e o gene *VDR*

A vitamina D é um hormônio esteroide com potentes propriedades imunomoduladoras, desempenhando um papel essencial na regulação da resposta imunológica (69). No entanto, sua função clássica está associada à manutenção da homeostase do cálcio, essencial para o metabolismo ósseo e saúde geral (70).

O colesterciferol, ou vitamina D3, é produzido principalmente na pele a partir do precursor 7-deidrocolesterol, em um processo de fotoconversão ativado pela radiação ultravioleta B (UVB). Essa síntese cutânea é a principal fonte de vitamina D3, embora o corpo também a obtenha por meio de alimentos (junto com a vitamina D2) e suplementos vitamínicos, que atuam como fontes complementares (Figura 3) (71).

A vitamina D proveniente da pele ou da dieta é biologicamente inativa e precisa passar por hidroxilações. A primeira hidroxilação acontece no fígado, através da enzima 25-hidroxilase (*CYP27A1*), originando a 25-hidroxivitamina D (25(OH)D (calcidiol), uma forma parcialmente hidrossolúvel com meia-vida curta. Em seguida, é necessária outra hidroxilação nos rins, resultado da atividade das

enzimas 1α -hidroxilase (CYP27B1), para produzir a 1,25-dihidroxitamina D ($1,25[\text{OH}]_2\text{D}$) (calcitriol), a forma biologicamente ativa da vitamina D e a 24,25-dihidroxitamina D [$24,25(\text{OH})_2\text{D}$] (ácido calcitrólico) (Figura 3) (72).

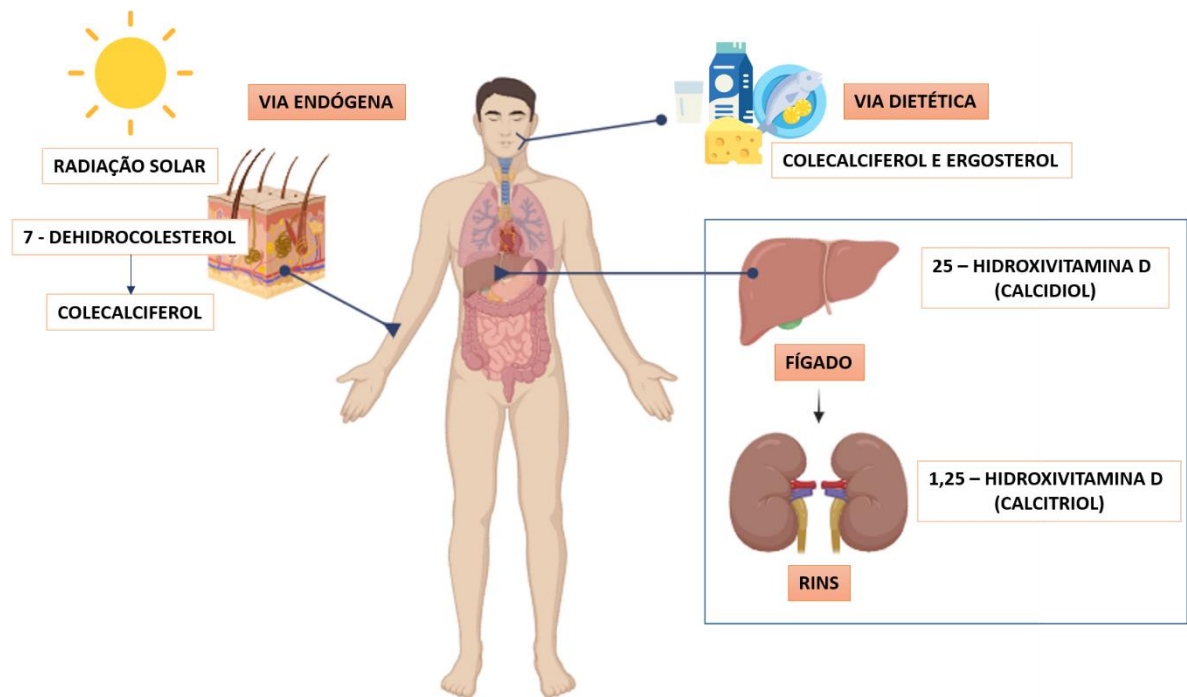


Figura 3 - Metabolismo da Vitamina D: Síntese cutânea, absorção dietética e conversão em forma ativa. **Fonte:** Elaborada pela autora, 2025. Criado com (BioRender.com) e (Flaticon.com).

A vitamina D exerce efeitos significativos em diversas células do sistema imunológico, incluindo linfócitos T, linfócitos B e células dendríticas, todas capazes de expressar o VDR e 1α -hidroxilase, permitindo produzir vitamina D localmente. Essa atividade local contribui para diversos efeitos biológicos, como a regulação do metabolismo ósseo, modulação do sistema imunológico e influência sobre funções musculares, neurais e circulatórias (73). Além disso, desempenha papéis importantes na saúde dérmica, no manejo de doenças reumáticas, propriedades anticancerígenas (74), como também moduladoras da expressão gênica (75).

O gene *VDR* pertence à família dos receptores esteroides nucleares, agindo como regulador transcricional e responsável pela ação do calcitriol. Este gene é encontrado em tecidos e órgãos como próstata, mama, cólon, pâncreas e células do sistema imunológico, o que comprova a ação multissistêmica da vitamina D (76).

Codificado por um gene relativamente extenso, com aproximadamente 80 kb, o *VDR* está localizado no braço longo do cromossomo 12 na posição 12q13.11 (Figura 4), com mais de 100 *SNPs* diferentes (77). Este gene é composto por 9 éxons, que são sequências codificadoras de DNA, e de partículas de RNAm entrelaçadas que contribuem para a criação do RNA transcricional. Devido a mutações frequentes na região não codificada, o gene demonstra alta variabilidade, o que pode influenciar a estabilidade e a regulação de suas funções (78).

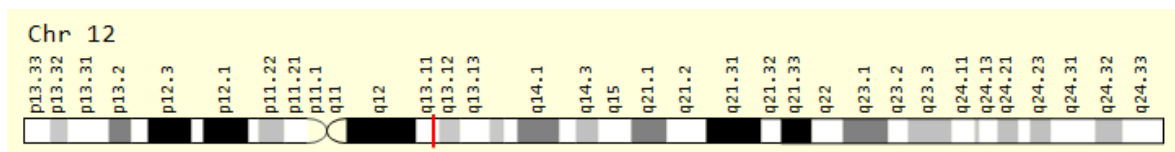


Figura 4: Localização genômica do gene *VDR*. **Fonte:** Gene Cards: Banco de dados de genes humanos.

Além do papel da vitamina D de regulação da homeostase do cálcio e metabolismo ósseo, estudos têm demonstrado outros efeitos, como a modulação nas respostas imune e inflamatórias (79). Em baixas concentrações, associa-se com maior prevalência de doenças infecciosas (80), neoplásicas (81), osteometabólicas (82), autoimunes (83), inflamatórias, além de níveis elevados de biomarcadores inflamatórios, como IL-35, IL-17A e TGF- β , evidenciando a presença de um microambiente inflamatório (84).

A deficiência de vitamina D é diagnosticada quando a sua concentração sérica está abaixo de 30ng/mL. Essa condição é encontrada devido à exposição inadequada aos raios UV, como também pode ser atribuída a ingestão alimentar insuficiente. Para um metabolismo ideal da vitamina, é recomendado que os níveis séricos sejam iguais ou superiores a 75 ng/mL (85).

Nesse contexto, diversos estudos já investigaram os níveis de vitamina D em indivíduos com e sem periodontite, identificando associação a níveis mais baixos desta vitamina e a presença da doença (86, 87). Além disso, concentrações reduzidas também foram relacionadas a uma maior destruição dos tecidos que compõem o periodonto, estágios avançados da periodontite e um aumento significativo na perda dentária (88, 89, 90). Por outro lado, níveis mais altos de vitamina D mostraram uma redução de 20% no sangramento à sondagem quando comparados com indivíduos com níveis menores (89). Do ponto de vista genético,

alguns estudos identificaram a correlação de diversos polimorfismos do gene *VDR* com um maior risco de desenvolvimento da periodontite (91, 92).

Devido a extensa influência da vitamina D sobre o sistema imune, as doenças autoimunes também têm sido investigadas em relação a sua potencial deficiência (93). Estudos revelaram que a deficiência dessa substância é altamente prevalente em pacientes com LES e está associada a uma maior atividade da doença (94). Uma possível explicação para a associação do LES e a deficiência de vitamina D é a recomendação dada para que esses pacientes evitem a exposição a luz solar, pelo fato de apresentarem lesões cutâneas. Além disso, muitos medicamentos utilizados no tratamento do LES podem interferir no metabolismo e reduzir os níveis séricos da vitamina (95).

Embora já se entenda o papel dessa vitamina, a presença de polimorfismos genéticos no gene *VDR* pode interferir na sua absorção e eficácia no organismo, impactando diretamente diversos processos metabólicos (96), como o metabolismo do cálcio, a proliferação celular e função imunológica (14). Na periodontite, essas alterações contribuem para a perda óssea alveolar (15) e agravamento da doença. No LES, estão associadas a um maior risco de osteoporose e um aumento da suscetibilidade à doença (16,17). Além disso, estudos também sugerem a relação com outras condições inflamatórias, como a diabetes mellitus e artrite reumatoide (97,98). Entre os *SNPs* do gene *VDR* mais estudados (99) destacam-se o *FokI* (rs2228570), *BsmI* (rs1544410) e *TaqI* (rs731236).

2.4 Polimorfismos genéticos

As alterações em sequências específicas de DNA, com a presença de duas ou mais formas variantes em uma população, são denominadas como polimorfismos genéticos. Os polimorfismos genéticos compreendem variações encontradas em uma frequência superior a 1% de sua população, atuando como marcadores genéticos, já que são transmitidos em associação com outros genes localizados na mesma região cromossômica (21).

Através da investigação dos polimorfismos genéticos, é possível elucidar a história evolutiva e origem das populações, realizar perícias em medicina legal, investigar doenças ou resposta farmacológica de cada pessoa (100). Estes polimorfismos podem ser de várias formas: substituições de um único nucleótido

(*SNP*), inserções e deleções, número variável de repetições na sequência e alterações estruturais ao nível do cromossoma, como se pode observar no quadro 4 (101). Para tanto, as variações intraespécie mais estudadas são os polimorfismos de um único nucleotídeo (*SNPs, single-nucleotide polymorphisms*). Em sua maioria, possuem dois alelos, representados por uma substituição de uma base por outra (102).

Quadro 4 – Tipos de polimorfismos genéticos.

Tipos de polimorfismo	Descrição
SNP- Polimorfismo de nucleotídeo único	Substituição de um único nucleotídeo.
INDEL – inserção e deleção	Inserção ou deleção de um ou mais nucleotídeos na sequência de DNA.
VNTR – Número variável de repetições em tandem	Sequências de DNA que se repetem sempre na mesma orientação e uma seguida da outra, sem interrupções.
STR – Repetições curtas em tandem	Sequências de DNA que se repetem em blocos. São também conhecidas como microssatélites
CNP – Polimorfismo no número de cópias	Diferentes números de cópias de um determinado segmento de DNA entre os indivíduos de uma mesma espécie.

Fonte: UFPR virtual. <https://ufprvirtual.ufpr.br/mod/hvp/view.php?id=263414>.

Elaborado pela autora, 2025.

No genoma humano, os *SNPs* desempenham um papel crucial em estudos de mapeamento genético, contribuindo para o entendimento das patogêneses. Busca-se pela associação entre características fenotípicas e sequências de DNA específicas, sendo fundamental para fins médicos e científicos, pois possibilitam a investigação de predisposições genéticas e a compreensão de mecanismos moleculares de doenças (103).

No Brasil, devido à grande miscigenação, os polimorfismos genéticos estão frequentemente relacionados à origem étnica (104). Segundo Oliveira et al. (105), o país é uma nação heterogênea, composta por diversas populações. Com isso, é

amplamente importante avaliar o mesmo polimorfismo em diferentes populações, pois uma associação genética que seja relevante para um grupo específico pode não ser aplicável a indivíduos de outras etnias. A estratificação dos grupos étnicos não é simples, visto que nem a cor da pele e nem a região de origem são capazes de distinguir adequadamente uma população miscigenada (104).

Nesse contexto, é importante destacar que a presença de polimorfismos nem sempre resulta no desenvolvimento de uma doença. No entanto, como o genoma traz elementos relacionados às funções bioquímicas das células, alguns polimorfismos podem influenciar nos fatores de risco relacionados a doenças (106). Diferentes alelos podem estar associados à suscetibilidade ou proteção contra doenças, sendo úteis para prever o risco de desenvolvimento de certas condições. Sendo assim, funcionam como estratégias para diagnóstico, prognóstico e podem direcionar para terapias personalizadas. Vários genes possuem polimorfismos, estando distribuídos de maneira distinta entre as populações. Isto poderia explicar, dentre outros fatores, a causa de diferentes populações apresentarem maior ou menor suscetibilidade a uma mesma doença (107).

2.4.1 Polimorfismos genéticos do gene *VDR*

O polimorfismo *FokI* (rs735810), que se localiza na junção do íntron 1 e éxon 2, na posição 30920 (Figura 5), resulta da modificação de citosina por timina (C>T), criando um códon de início adicional ACG para ATG, três códons abaixo do início da transcrição, podendo afetar indiretamente a expressão do gene *VDR* (108).

A presença da variante *FokI*, denominada como "F" (códon ATG), resulta na produção completa da proteína do VDR com 427 aminoácidos. Já a variante *FokI*, identificada como "F" (códon ACG), inicia a tradução em um local diferente, sintetizando uma versão levemente truncada da proteína VDR, com três aminoácidos a menos (424 aminoácidos) (109). O efeito do polimorfismo *FokI* na atividade transcricional de fatores de transcrição específicos do sistema imune, na proliferação de linfócitos e na síntese de proteínas pelas células imunes sugere sua participação na imunorregulação (110).

Para tanto, o polimorfismo *FokI* foi associado à suscetibilidade à periodontite, no estudo de Chantarangsu et al. (111) realizado com indivíduos tailandeses, apresentando um aumento na sua frequência conforme a gravidade da doença.

Além disso, o risco de desenvolver periodontite foi 3,7 vezes maior em fumantes que possuem esse polimorfismo. Um estudo de caso-controle identificou que o *FokI* pode contribuir para a suscetibilidade ao LES em crianças e adolescentes egípcios, sendo o genótipo FF um fator de risco para nefrite lúpica, como também, foi associado a baixos níveis séricos de [25(OH)D] (112) como também foi associado a suscetibilidade na população árabe (113).

Outros estudos também mostraram a relação do polimorfismo *FokI* com diversas condições clínicas, incluindo a doença de Parkinson (114), diabetes mellitus gestacional (115) e mucosite oral (13).

Já o polimorfismo *TaqI* (rs731236) localiza-se no éxon 9, na posição 65058 (Figura 5) e envolve a substituição de uma timina por citosina (T>C). Esse polimorfismo é caracterizado como silencioso, pois não altera a sequência de aminoácidos resultante, continuando a codificar o aminoácido isoleucina (116, 117).

Mesmo quando os polimorfismos são considerados não funcionais (silenciosos), eles ainda são valiosos em estudos de associação, pois podem ser utilizados como marcadores genéticos (118). O alelo com timina é representado por “T”, enquanto o alelo com citosina é representado por “t” (119).

Nesse sentido, o estudo de Hamrun et al. (120) investigou o perfil desse polimorfismo e os achados sugeriram uma associação com a periodontite. Evidências indiretas confirmam que a gravidade do dano ao tecido que compõe o periodonto pode ser uma consequência da presença do alelo t ou do genótipo tt. Já em uma população sul-africana, o genótipo TT resulta em aumento da vitamina D potencialmente por meio de vias de *feedback* do metabolismo do cálcio e está associado a *diabetes mellitus* tipo 1(121).

O polimorfismo *BsmI* (rs1544410) localiza-se no íntron 8 (Figura 5) e caracteriza-se pela modificação de uma adenina por guanina (A>G). O SNP *BsmI* não provoca mudanças estruturais na proteína VDR, contudo influencia a estabilidade do RNAm, o que resulta em uma menor quantidade de proteínas nos tecidos-alvo. A nomenclatura do alelo "B" refere-se à presença de adenina, enquanto "b" indica a presença de guanina (122).

Com isso, o alelo B desse polimorfismo pode ser um fator de risco para o início do LES entre populações em geral e asiáticos (123). Entretanto, no estudo de Ji et al. (124) o polimorfismo *BsmI* não teve associações significativas com suscetibilidade à periodontite.

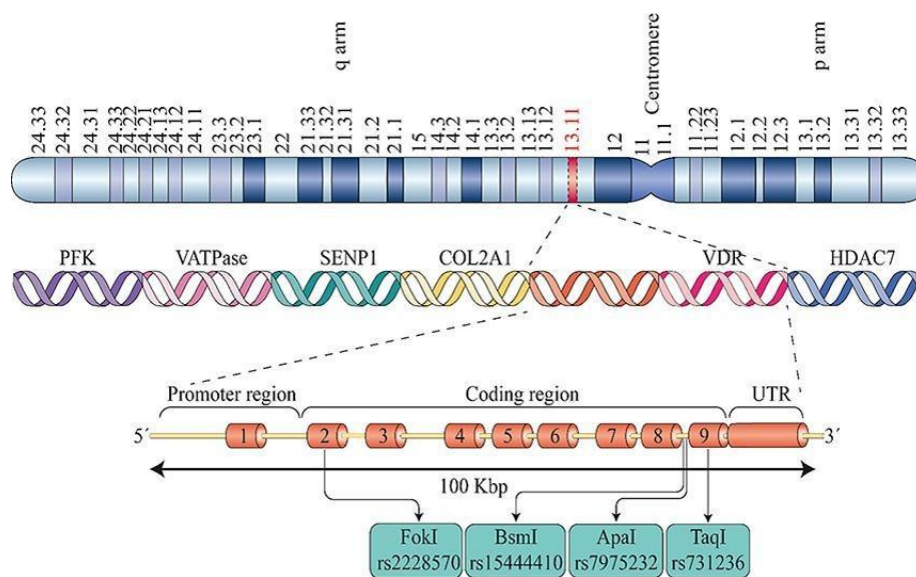


Figura 5 – Gene *VDR*, demonstrando a posição dos polimorfismos FokI, TaqI e BsmI. **Fonte:** Mohammadi, 2020.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Identificar a associação de polimorfismos no gene receptor da vitamina D (VDR) em indivíduos com coexistência de periodontite e lúpus eritematoso sistêmico.

3.2 Objetivos específicos

- a) Investigar a associação dos polimorfismos genéticos rs1544410 (*BsmI*), rs2228570 (*FokI*) e rs731236 (*TaqI*) no gene *VDR* com a ocorrência de Periodontite;
- b) Investigar a associação dos polimorfismos genéticos rs1544410 (*BsmI*), rs2228570 (*FokI*) e rs731236 (*TaqI*) no gene *VDR* com a ocorrência de LES;
- c) Investigar a associação dos polimorfismos genéticos rs1544410 (*BsmI*), rs2228570 (*FokI*) e rs731236 (*TaqI*) no gene *VDR* com a ocorrência de LES e Periodontite.

4. CAPÍTULO 1

O manuscrito a seguir foi submetido para publicação no periódico “Lupus” (ISSN: 1477-0962 -Qualis A4)

Vitamin D receptor *Bsm1*, *FokI*, and *TaqI* gene polymorphisms and the coexistence of systemic lupus erythematosus and periodontitis

Karolyne de Melo Soares¹ (ORCID: 0000-0003-2111-6945), Darlene Camati Persuhn² (ORCID: 0000-0001-5291-5454), Sabrina Garcia de Aquino³ (ORCID: 0000-0002-3988-1939), Vânia Vieira Reis² (ORCID: 0000-0002-1101-2221), Eutília Andrade Medeiros Freire⁴ (ORCID: 0000-0003-1989-4764), Cristina Wide Pissetti⁵ (ORCID: 0000-0002-5534-8544) Naila Francis Paulo de Oliveira^{1,2*} (ORCID: 0000-0002-0855-2518)

¹ Postgraduate Program in Dentistry, Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, - UFPB, João Pessoa, PB-Brazil

² Department of Molecular Biology, Center for Exact and Natural Sciences, Federal University of Paraíba, - UFPB, João Pessoa, PB-Brazil

³ Department of Clinic and Social Dentistry, Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, - UFPB, João Pessoa, PB-Brazil

⁴ Department of Internal Medicine -Medical Sciences Center, Federal University of Paraíba, - UFPB, João Pessoa, PB-Brazil

⁵ Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Sciences Center, Federal University of Paraíba, - UFPB, João Pessoa, PB-Brazil

Running title: VDR in periodontitis and lupus

*Corresponding Author:

Dra. Naila Francis Paulo de Oliveira- Department of Molecular Biology, Center for Exact and Natural Sciences, Federal University of Paraíba, - UFPB, João Pessoa, PB-Brazil, Phone: +55 (83) 3216-7643 – nailafpo@dbm.ufpb.br

Abstract

Objective: To investigate the association between genetic polymorphisms in the vitamin D receptor (*VDR*) gene and the coexistence of periodontitis (P) and systemic lupus erythematosus (SLE).

Methods: Systematically healthy patients and patients with systemic lupus erythematosus of both sexes aged over 20 years were recruited and divided into four groups: Control, periodontitis, SLE and SLE + periodontitis (n=181). DNA was extracted from saliva and analysis of single nucleotide polymorphisms (SNP) *BsmI* (rs1544410), *FokI* (rs2228570) and *TaqI* (rs731236) in the *VDR* gene was performed using the PCR-RFLP technique.

Results: The age ranged from 20 to 71 years, with the majority being female (77.9%). A higher mean age and a higher proportion of males were found in the periodontitis group and a higher proportion of females in the SLE group. The frequency of periodontitis diagnosis in stages II, III and IV and SLE activity was similar in the groups. The number of bleeding sites and sites with periodontal pockets was higher in the group without SLE. The B allele and the BB + Bb genotypes of the *BsmI* SNP were more frequent in patients with SLE regardless of the presence of periodontitis and constituted a more than 2-fold risk factor for the development of SLE. The t allele and the Tt + tt genotypes of the *TaqI* SNP were more frequent in patients with SLE without periodontitis, constituting a 2-fold risk factor for SLE. No association with *FokI* was found.

Conclusion: The *BsmI* (rs1544410) polymorphism (B allele and BB and Bb genotypes) is a risk factor for systemic lupus erythematosus, independent of periodontitis, and the *TaqI* (rs731236) polymorphism (t allele and Tt and tt genotypes) is a risk factor for systemic lupus erythematosus, but not in coexistence with periodontitis.

Keywords: periodontal medicine, periodontal disease, autoimmune disease, genetics, Calcitriol receptors.

INTRODUCTION

Vitamin D is a fat-soluble hormone and can be ingested with food or converted from 7-dehydrocholesterol in the skin cells by exposure to UVB radiation (ultraviolet B). Its active form, calcitriol ($1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), has far-reaching anti-inflammatory, immunomodulatory and antioxidant properties. Vitamin D regulates the growth and differentiation of various cells of the immune system, such as macrophages, dendritic cells, T cells and B cells, which are able to express the vitamin D receptor (VDR) and produce and respond to the active form of vitamin D.^{1,2}

Studies show that vitamin D deficiency is associated with a variety of diseases, including systemic lupus erythematosus (SLE) and periodontitis (P).^{3,4,5} The variability in the effect of vitamin D can be explained in part by genetic polymorphisms involved in vitamin D metabolism, including the vitamin D receptor gene (*VDR*).¹ In addition to vitamin D deficiency, which is common in SLE and periodontitis, it has been observed that they share some similarities, such as the mechanisms involved in tissue destruction.⁶

Periodontitis is a chronic, infectious disease that leads to inflammation of the periodontal tissues caused by the progressive breakdown of connective tissue and alveolar bone, with pocket formation and/or gingival recession, mobility and tooth loss.^{7,8} Systemic lupus erythematosus is a systemic, immune-mediated chronic inflammatory disease with numerous clinical manifestations affecting multiple organs/systems, such as: mucosal, musculoskeletal, haematological, renal and oral cavity.^{9,10}

Patients with lupus have a 1.4 to 2 times higher risk of developing periodontitis than systematically healthy people.^{11,12} Interestingly, the hypothesis from a genetic study is that periodontitis could be a precursor rather than a consequence of SLE.¹³ Both are a public health concern, and although periodontitis is not directly associated with mortality, it may precede other fatal diseases such as diabetes and cardiovascular disease decades earlier, while SLE in turn is associated with an increase in mortality.^{10,14} In addition, both have a multifactorial character, as they are influenced by environmental, genetic, epigenetic, hormonal

and immunoregulatory factors that can simultaneously affect the immune system and trigger them.⁹

Therefore, the relationship between them has been discussed, but studies with a genetic approach are rare. To our knowledge, 04 studies with this approach have been conducted so far, two of them in Japan, one in Europe and one in Brazil. Genetic associations and the coexistence of these diseases have been found in the inflammatory and epigenetic signalling pathways.^{13,15-17} Regarding the vitamin D metabolic pathway, to date, no study has addressed the *VDR* gene and the co-occurrence of these diseases.

Genetic polymorphisms in vitamin D receptors (*VDR*) can impair the effect and absorption of this vitamin in the body. Regarding its function, *VDR* is a transcription factor that, after interacting with its ligand, calcitriol, migrates to the cell nucleus and can regulate the expression of hundreds of genes, including *VDR* itself.¹ Among the polymorphisms in the *VDR* gene, the most studied are the single nucleotide polymorphisms (SNP) *FokI* (rs2228570), *BsmI* (rs1544410) and *TaqI* (rs731236). Two of these are located in the intron region and can therefore change the stability of the mRNA and one in the exon region, which can change the protein structure.¹ Meta-analysis studies suggest that these SNPs may contribute to genetic susceptibility to SLE and periodontitis.¹⁸⁻²⁰ However, so far no study has investigated these SNPs considering the co-occurrence of periodontitis and systemic lupus erythematosus.

Based on these facts, the hypothesis of the present study is that polymorphisms in the *VDR* gene may increase susceptibility to the co-occurrence of systemic lupus erythematosus and periodontitis. The aim was therefore to determine the association of the polymorphisms *BsmI* (rs1544410), *FokI* (rs2228570) and *TaqI* (rs731236) in the *VDR* gene in patients with lupus and periodontitis.

Methods

Ethical considerations

The procedures for this research followed the guidelines and standards for human studies as set out in National Health Council Resolution 466/12 and were in accordance with the 1964 Declaration of Helsinki and its subsequent amendments on comparable ethical standards. They were approved by the Research Ethics Committee of the Centre for Health Sciences of the Federal College of Paraíba (UFPB) (Opinion: 6.033.203). All subjects signed the informed consent form to authorise their participation in the study.

Design of the study

This is a cross-sectional study with laboratory analyses conducted in a single centre. The study was conducted in João Pessoa, Paraíba, in northeastern Brazil, and patient recruitment took place between May 2017 and December 2019. The study sample comprised a total of 181 participants of both sexes aged over 20 years. Systemically healthy individuals (n=97) were recruited at the Periodontology Clinic in the Department of Clinical and Social Dentistry and individuals with systemic lupus erythematosus (n=84) were recruited at the Rheumatology Centre of the Lauro Wanderley College Hospital, both from the Federal College of Paraíba (UFPB). Patients with: HIV history, hepatitis, diabetes, use of orthodontic appliances, cognitive disorders, smoking, pregnant women and autoimmune or chronic diseases (except periodontitis and systemic lupus erythematosus) were excluded. After taking the biological samples, the laboratory analyses were carried out in the Laboratory of Human Molecular Genetics, which is located in the Department of Molecular Biology at the UFPB.

Assessment of periodontitis and systemic lupus erythematosus

Periodontitis diagnosis was assessed by a single, previously calibrated examiner ($\kappa = 0.90$) and included the following clinical parameters: Visible Plaque Index (VPI), Probing Depth (PD), Bleeding on Probing (BP), Clinical Attachment Level (CAL) at six sites per tooth and the number of missing teeth (at least 15 natural remaining teeth). The periodontal assessment was based on the current classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions.⁸ The primary criterion for the

diagnosis of periodontitis was a clinical interproximal attachment loss at the worst site of at least 3-4 mm, detected at two or more non-adjacent interproximal sites, and secondarily PS of up to 5 mm (corresponding to stages II, III and IV).⁸

As for SLE, all patients met at least four of the 11 criteria for the diagnostic classification of systemic lupus erythematosus established by the American Academy of Rheumatology.²¹ This index includes clinical and laboratory features to determine disease activity (SLEDAI: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index). A rheumatologist categorised SLE activity at the first visit as inactive (SLEDAI <5) or active (SLEDAI ≥5) according to the guidelines of the American Academy of Rheumatology. The SLEDAI aims to assess disease activity during the last 10 days based on clinical and laboratory criteria.²² The scale ranges from 0 to 105, with a score awarded for each clinical and laboratory assessment. In addition, the patient's medical history, including time since lupus diagnosis and medication protocol, was analysed from the patient's medical records.

Study population

After recruitment, the study participants were divided into four groups: Control group (n=57): individuals without systemic disease and with healthy periodontium (i.e. without clinical attachment loss and PD < 3 mm, BOP at less than 10% of sites); Periodontitis group (n = 40): patients without systemic disease with diagnosed periodontitis who had at least 15 natural teeth and clinical interproximal attachment loss of at least 3 mm at two or more non-adjacent interproximal sites and secondary PD ≥ 5 mm (corresponding to stages II, III and IV); SLE group (n = 46): individuals with systemic lupus erythematosus and without periodontitis and SLE + periodontitis group (n = 38): individuals with systemic lupus erythematosus and periodontitis.

Analysis of polymorphisms in the VDR gene

Polymorphism analysis was performed with DNA from oral epithelial cells. Biological samples were collected by rinsing the mouth for 1 minute with 6 mL of autoclaved 3% dextrose. Genomic DNA was then purified with 8M ammonium acetate as previously described.²³ Single nucleotide polymorphisms (SNP) rs1544410 (*BsmI*), rs2228570 (*FokI*) and rs731236 (*TaqI*) were analysed using the PCR-RFLP

(Polymerase Chain Reaction–Restriction Fragment Length Polymorphism) technique, which consists of DNA amplification by PCR and digestion of DNA fragments by a restriction enzyme (Thermo Scientific™). The primers and reaction conditions were used as previously described and are listed in Table 1²⁴ and Figure 1 shows the pattern of bands (genotypes) of the analysed polymorphisms.

Statistical analysis

All data were categorised and tabulated in Excel® spreadsheets and analysed using SPSS version 21 software, achieving a significance level of $p < 0.05$. The normality of the data was checked using the Kolmogorov-Smirnov test. Variables with normal distribution were presented as mean $\pm$ standard deviation and analysed using the t-test for independent samples and ANOVA for more than two groups. Those that were not normally distributed were expressed as medians (25th percentile- 75th percentile- p25-p75) and analysed with the Mann-Whitney or Kruskal-Wallis U test for more than two groups. Categorical variables were analysed using Pearson's chi-square test, with results expressed as totals and percentages. The odds ratio (OR) and associated 95% confidence intervals (95% CI) were also calculated. The Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was calculated with the chi-square test using the Courtlab HW Calculator (Court, 2005 – 2008).

RESULTS

Demographic and clinical data

The demographic and clinical data are summarised in Table 2. The sample comprised 181 individuals aged between 20 and 71 years, with the majority being female (77.9%). A significant difference in mean age was found between the groups (one-way ANOVA test; $p < 0.01$), with the periodontitis group having the highest mean age (49.8 ± 11.7 years) and the highest proportion of men (50%) compared to the other groups (χ^2 ; $p < 0.05$).

With regard to SLE status ($n = 84$), there were no differences between the groups with or without periodontitis in terms of disease activity (χ^2 ; $p = 0.07$). Patients in the SLE + P group had a median SLE diagnosis time of 108 months (51-168). In

contrast, the SLE without periodontitis group had a significantly shorter time to SLE diagnosis, with a median of 42 months (12-105); (Mann-Whitney test; $p < 0.001$).

Regarding periodontal status ($n = 78$), it was observed that around 52% of patients in the groups with or without SLE were in stage III or IV. There were no differences between the groups in relation to the stage of periodontal disease (χ^2 ; $p > 0.05$). The number of missing teeth (Kruskal-Wallis test; $p = 0.281$), probing depth (Mann-Whitney test; $p = 0.069$) and clinical attachment loss (T-Student test; $p > 0.05$) were also similar between the groups, and no differences were observed. Differences were observed with regard to bleeding sites (one-way ANOVA test; $p < 0.001$) and sites with periodontal pockets (Mann-Whitney test; $p < 0.002$), with these values being higher in the group without SLE.

Genetic data

The genetic data are listed in Tables 3, 4 and 5. Regarding the *BsmI* SNP (rs1544410), differences in allelic and genotypic frequencies are observed between the groups with and without SLE. The frequency of the A (B) allele is significantly higher in SLE patients compared to systematically healthy individuals (53% vs. 40%) and this allele was associated with a 1.7-fold increased risk of SLE (OR=1.7, 95% CI [1.1-2.6], $p = 0.01$). This was also observed for the AA + AG (BB + Bb) genotypes (73.4% vs. 57.9%), with a 2-fold increased risk of SLE (OR=2.0, 95% CI [1.0-3.8], $p = 0.04$). Stratification by group shows that this association persists, with the A (B) allele and the AA + AG (BB + Bb) genotypes being risk factors for SLE with or without periodontitis, with a more than 2-fold increase in risk for SLE when the allele is taken into account and more than 3-fold when the genotypes are taken into account (Table 3).

For the *FokI* polymorphism (rs2228570), the results show that the allelic and genotypic frequencies are similar between the groups even after stratification, with no association (χ^2 ; $p > 0.05$) (Table 4).

Regarding the *TaqI* polymorphism (rs731236), it can be observed that genotype frequencies differed between the groups with and without SLE, with CC + CT (tt + Tt) genotypes being more frequent in the SLE group than in the systematically healthy group (76.1% vs. 57.7%). This profile was associated with a

2.3-fold increased risk of SLE with or without periodontitis (OR=2.3, 95% CI [1.2-4.4], $p=0.01$). However, when stratifying the groups, it becomes clear that this risk factor associated with the CC + CT ($tt + Tt$) genotypes only occurs in SLE and increases the risk by 2.7 times (OR=2.7, 95% CI [1.0-7.0], $p=0.04$) and not in coexistence with periodontitis. This was observed for the C(t) allele, with a 2.3-fold increased risk for SLE without periodontitis (OR=2.3, 95% CI [1.2-4.4], $p=0.01$) (Table 5).

DISCUSSION

The demographic and clinical data of the present study are in line with previous studies and we can mention: prevalence of older individuals and a higher proportion of men in the group of patients with systemic health and periodontitis,^{25,26} a higher proportion of women in the group of patients with SLE¹⁰ and no differences in terms of stage of periodontal disease, probing depth and loss of clinical attachment in patients with or without SLE.^{27,28}

These issues have been extensively explored in the literature and explanations include: *i*- greater prevalence of periodontitis in older people due to decline in periodontal function and gender due to neglect of oral hygiene in men²⁹⁻³¹; *ii*- higher prevalence of SLE in women due to an imbalance of hormonal factors such as estrogen/progesterone, which increase immunological response and susceptibility to autoimmune disease³²; *iii*- periodontal disease in patients with SLE does not necessarily have worse rates than in patients without SLE.^{27,33} These data once again underline the importance of personalised treatment that takes demographic factors into account. Age, gender and immunological profile influence the susceptibility and severity of both diseases, so it is important to adapt management strategies.³⁴

Associations were found in relation to: Presence of periodontitis and longer time since diagnosis of SLE, greater number of bleeding sites and periodontal pockets in patients with periodontitis but without SLE. These data have also been found in other studies, but the hypotheses for these findings need further investigation, particularly in longitudinal studies.

The hypothesis that longer time since SLE diagnosis is associated with the presence of periodontitis is not yet well established, but studies show that the longer the disease persists, the more gingivitis (which can progress to periodontitis) and greater damage to the individual's organs occurs due to the persistent inflammation and hyperinflammatory feature.^{13,15,35}

The hypothesis to explain the lower number of bleeding sites and periodontal pockets in patients with SLE and periodontitis has been proposed previously and may be related to the treatment of SLE. The classes of drugs used to treat SLE may or may not contribute to the destruction of periodontal tissue. Immunosuppressants have been associated with protection against periodontal inflammation, and prolonged use of corticosteroids at high doses has been associated with increased periodontal destruction in patients with SLE.^{36,37} In the present study, both drug classes were used in patients with lupus. As far as we know, there are no data on the use of hydroxychloroquine and periodontitis in patients with SLE, but a study on rheumatoid arthritis and periodontitis showed that the use of antirheumatic drugs containing hydroxychloroquine improved the periodontal parameters of these patients.³⁸ These results require further investigation to clarify how SLE and pharmacological treatment interact in the context of periodontitis, taking into account the possibility of a relative protective effect on the progression of periodontitis in these patients.

Considering the genetic data for the gene encoding the vitamin D receptor (*VDR*), this is the first study in which patients with SLE were stratified into groups with and without periodontitis. The *BsmI* polymorphism (rs1544410) was found to be associated with SLE in patients with or without periodontitis and the *TaqI* polymorphism (rs731236) was found to be associated with SLE without the coexistence of periodontitis.

For *BsmI*, the A allele (*B*) and the AA and AG genotypes (*BB* and *Bb*) have been described as risk factors for SLE and can more than double the risk. The most recent meta-analysis study (2022) showed that the *B* allele and the *BB* and *Bb* genotypes are risk factors for SLE in the African population, but not for other populations (*B*: OR=1.8, 95% CI [1.4 - 2.4], *p*=0.000/ *BB*+ *Bb*: OR= 2.9, 95% CI [1.9-4.4], *p*=0.000).²⁰ In contrast to our data, another Brazilian study with patients from

the south did not show the same association as the present study, which was conducted in the north-east of the country.³⁹ Our country is continental in size with a very mixed population, with a unique blend of Amerindian, European and African ancestry, which can be a confounding factor.⁴⁰ Indeed, controversial results have been observed for polymorphisms in the *VDR* gene in Brazil.⁴¹

This SNP is located in intron 8 and the change in A > G (*B* > *b*) may affect the stability of the mRNA and gene expression of the *VDR*, in addition to a change in the splice sites for transcription of the mRNA or a change in the regulatory elements of the *VDR* intron.¹ A Chinese study found that SLE patients carrying the *B* allele had lower *VDR* mRNA expression than those carrying the *b* allele.⁴² Therefore, it is possible that the *B* allele, which is more common in individuals with SLE in the present study, is associated with lower levels of *VDR* mRNA, resulting in lower availability of this receptor for binding with vitamin D. However, our data must be analysed with caution, as the periodontitis group did not reach Hardy-Weinberg equilibrium and was used as a control for the OR analysis, as there were no significant differences between the systematically healthy group and the patients with SLE after stratification of the groups. Similarly, Hardy-Weinberg equilibrium was also not reached in studies with patients with SLE or periodontitis with regard to BsmI polymorphism.^{20,43}

An association was also found for *TaqI* (rs731236) as a risk factor for SLE, although stratification of the groups showed that this association only occurs in patients without periodontitis. The C allele (*t*) and the CC and CT genotypes (*tt* and *Tt*) can increase the risk of SLE by more than twofold. This SNP has been little researched in the context of SLE and the data analysed in a meta-analysis to date does not show any association with the general population.²⁰ However, an association was found in two separate studies. In the Indian study, the C allele (*t*) and the CT genotype (*Tt*) were associated as a risk factor (*t*: OR=1.60, 95 %CI [1.25-2.09], *p*=0.0002 /*Tt*: OR = 2.07, 95 %CI [1.49-2.89], *p*< 0.0001).⁴⁴ In the Iranian study, the CT (*Tt*) genotype could increase the risk by 2.8 times (OR: 2.8, 95% CI [1.6–5], *p*= 0.0002).⁴⁵ Contrary to our data, another Brazilian study with patients from the southeast showed an association of this SNP with periodontitis.⁴⁶

This SNP is located in exon 9 and presents a change in T > C, ($T > t$), causes a synonymous change in the coding sequence (isoleucine) and, although it does not cause changes in the amino acids of the protein, can affect the stability of the mRNA.¹ One study showed that healthy intestinal fibroblasts from carriers of the CC genotype expressed lower protein levels of VDR.⁴⁷

After stratification of the groups, it was found that this risk profile was not maintained in the group of patients with coexistence of P and SLE. This suggests that the coexistence of these diseases has a common molecular mechanism that does not involve the *TaqI* polymorphism. Alternatively, it is possible that patients with SLE may develop periodontitis in the future, as the time to diagnosis is shorter in this group and, as previously mentioned, a longer time to diagnosis is associated with greater damage. Again, the data need to be carefully analysed as the group of SLE patients did not reach Hardy-Weinberg equilibrium. Similar to our study, another study did not observe Hardy-Weinberg equilibrium for *TaqI* in a population with SLE.⁴⁵

No association was found for the *FokI* polymorphism (rs2228570) with SLE, periodontitis or their coexistence. The data from the meta-analysis for SLE show that there is no association in the general population, but there is in the African population.²⁰ For periodontitis, the most recent meta-analysis (2019) shows that this SNP is a risk factor for the general population (dominant model: OR = 1.459, 95% CI [1.050-2.028], $p = 0.025$ / allelic model: OR = 1.386, 95% CI [1.026-1.874], $p = 0.034$) (Wan et al. 2019).¹⁸ This SNP is located in exon 2 and represents a C > T ($F > f$) change that generates a non-synonymous change from the amino acid threonine to methionine, resulting in the translation of a shorter and more potent protein of 424 amino acids.¹

One limitation of this study was the small sample size. It was conducted in a single centre and the inclusion criteria were strict. These factors may limit the generalisability of the results and reflect a sample of the Brazilian population in the northeast of the country, but whose data are similar to those of African populations in terms of *BsmI* and *TaqI* SNPs, which is not surprising since the Brazilian population has a genetic background of this ethnicity. To consolidate the conclusions obtained, it is recommended that the study be repeated in larger

populations of different ethnic origins, which could provide a more solid basis for interpreting the association between the genetic polymorphisms studied and the diseases analysed. Despite these limitations, this is the first study of polymorphisms in the *VDR* gene in which patients with SLE were stratified according to the presence or absence of periodontal disease.

The data of the present study answer one question and raise another: *i*: the *BsmI* SNP was found to be associated with a risk factor for SLE independently of the presence of periodontitis (which could lead to lower expression of *VDR* and lower availability of the receptor for binding with vitamin D) and *ii*: why is the *TaqI* SNP, which is associated as a risk factor for SLE (which could also lead to lower availability of the receptor), not a risk factor for the co-occurrence of SLE and periodontitis? Some hypotheses can be put forward: *i*: Studies suggest that SLE could have a monogenic origin and could be different from a multifactorial origin.⁴⁸ In this sense, it is possible that we studied individuals with SLE of both origins and this could be a confounding factor; *ii*: the small sample size could have some influence on the results.

In conclusion, for a population sample from northeastern Brazil, the *BsmI* (rs1544410) polymorphism (*B* allele and genotypes *BB* and *Bb*) was shown to be a risk factor for systemic lupus erythematosus, independent of periodontitis, and that the *TaqI* (rs731236) polymorphism (*t* allele and genotypes *Tt* and *tt*) is a risk factor for systemic lupus erythematosus, but not in coexistence with periodontitis.

Funding

Karolyne de Melo Soares was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-Brazil).

Declaration of conflicting interests

All authors declare no conflict of interest.

Data availability statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Author contributions

Conceptualization: Naila Francis Paulo de Oliveira, Sabrina Garcia de Aquino;
Methodology: Naila Francis Paulo de Oliveira, Sabrina Garcia de Aquino, Darlene Camati Persuhn, Eutília Andrade Medeiros Freire, Cristina Wide Pissetti; **Formal analysis and investigation:** Karolyne de Melo Soares, Vânia Vieira Reis, Sabrina Garcia de Aquino, Eutília Andrade Medeiros Freire. **Writing - original draft preparation:** Karolyne de Melo Soares, Naila Francis Paulo de Oliveira; **Writing - review and editing:** Karolyne de Melo Soares, Cristina Wide Pissetti, Naila Francis Paulo de Oliveira, Vânia Vieira Reis, Sabrina Garcia de Aquino, Darlene Camati Persuhn, Eutília Andrade Medeiros Freire; **Supervision:** Naila Francis Paulo de Oliveira, Darlene Camati Persuhn.

Ethical considerations

This study was approved by the Research Ethics Committee of the Centre for Health Sciences of the Federal College of Paraíba (Opinion: 6.033.203).

Consent to participate

All subjects signed the informed consent form to authorise their participation in the study.

Table 1. Description of SNP genotyping conditions for *VDR* gene.

SNP	Primers	AT (°C)	RE (°C – h)	Product (bp)
<i>BsmI</i> rs1544410 (A>G)	F: 5'-CAACCAAGACTACAAGTACCGCGTCACTGA-3' R: 5'-AACCAGCGGGAAGTCAAGGG-3'	58	<i>BsmI</i> (65 - 3h*)	A (B): 870 G (b): 640, 230
<i>FokI</i> rs2228570 (C>T)	F: 5'-AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGGCT-3' R: 5'-ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3'	69	<i>FokI</i> (37 - 2h)	C (F): 267 T (f): 197, 70
<i>TaqI</i> rs731236 (T>C)	F: 5'-GGGACGATGAGGGATGGACAGAGC3' R: 5'-GGAAAGGGGTTAGGTTGGACAGGA3'	68	<i>TaqI</i> (65 - 3h*)	T (T): 512, 204 C (t): 311, 204, 201

VDR: vitamin D receptor; SNP: Single Nucleotide Polymorphism; AT: Annealing Temperature; RE: Restriction Enzyme; PCR-RFLP: Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism; °C: temperature in degrees Celsius; h: hours; bp: base pairs; B,F,T: alleles not cleaved by the restriction enzyme; b,f,t: alleles cleaved by restriction enzyme; *Adapted hours protocol.

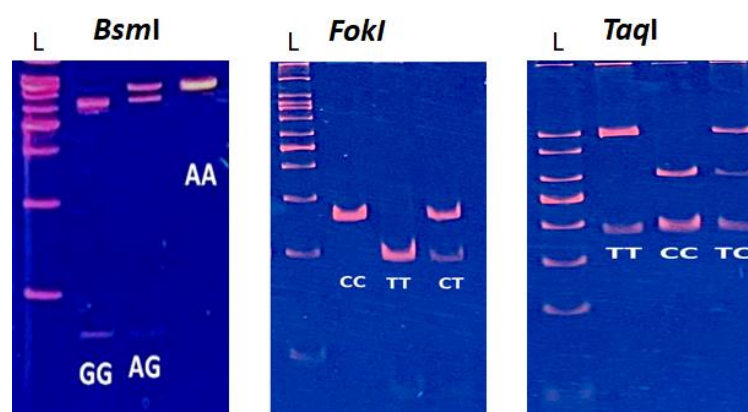


Figure 1- Representative fragments of the genotypes obtained from PCR-RFLP. 10% polyacrylamide gel stained with GelRed® (Biotium). L= ladder (base pairs), 100 bp for *BsmI* and *FokI* and 50 bp for *TaqI*.

Table 2 - Demographic and clinical data of the study population (n=181).

VARIABLE	GROUPS				p-value
	Control (n=57)	Periodontitis (n=40)	SLE + Periodontitis (n=38)	SLE (n=46)	
Age – Mean ±SD	37.94 (±7.62)	49.87 (±11.79)	39.02 (±9.97)	33.13 (±9.04)	<0.001^a
Sex					
<i>Female – n (%)</i>	43 (75.4)	20 (50.0)	36 (94.7)	42 (91.3)	<0.001^b
<i>Male – n (%)</i>	14 (24.6)	20 (50.0)	02 (5.3)	04 (8.7)	
Lupus duration (months) – Median [p25-p75]	-	-	108 [51-168]	42 [12-105]	<0.001^c
LES activity					
<i>Inactive – n (%)</i>	-	-	24 (63.2)	20 (43.4)	0.07 ^b
<i>Active – n (%)</i>	-	-	14 (36.8)	26 (56.6)	
Medication use					
<i>Corticosteroid – n (%)</i>	-	-	16 (42.1)	17 (36.9)	>0.05 ^b
<i>Immunosuppressive – n (%)</i>	-	-	17 (44.7)	29 (63.0)	>0.05 ^b
<i>Hydroxychloroquine – n (%)</i>	-	-	34 (89.5)	42 (91.3)	>0.05 ^b
Periodontal stage					
<i>Stage II – n (%)</i>	-	20 (50.0)	18 (47.4)	-	>0.05 ^b
<i>Stage III ou IV – n (%)</i>	-	20 (50.0)	20 (52.6)	-	
Number of missing teeth– Median [p25-p75]	-	7 [3.2-10.8]	9 [5-13]	6 [4 -11.8]	0.281 ^d
<i>Bleeding sites– Mean ±SD</i>	-	40.6 (±23.3)	24.8 (±22.5)	8.87 (15.7)	<0.001^a
<i>Sites with periodontal pockets Median [p25-p75]</i>	-	27.5 [17.3-46]	12 [6.25-20.3]	-	0.002^c
<i>Probing depth (mm) Median [p25-p75]</i>	-	6 [6-7.75]	5.50 [5-7]	-	0.069 ^c
<i>Clinical attachment level Mean ± SD</i>	-	4.60 (1.47)	5.14 (1.42)	-	>0.05 ^e

SLE: Systemic Lupus Erythematosus; n: absolute frequency; %: percentage frequency; -:missing value; mm: millimeters; p25-p75: 25th percentile- 75th percentile; ^aOne-way ANOVA test; ^bPearson's chi-square test; ^cMann-Whitney test; ^dKruskal-Wallis; ^eStudent T-test; significance level p<0.05.

Table 3- Genotypic and allelic frequencies of *VDR BsmI* polymorphism in the study population (n= 181).

Polymorphism						
<i>VDR BsmI</i>	Patients without SLE (Control and Periodontitis)	Patients with SLE (SLE and SLE +Periodontitis)	p-value	OR [95% CI]	p value	
n (%)						
AA + AG	55 (57.9)	58 (73.4)	0.04*	2.0 [1.0-3.8]	p=0.04	
GG	40 (42.1)	21 (27.0)				
A (B)	76 (0.4)	84 (0.53)	0.01*	1.7 [1.1-2.6]	p=0.01	
G (b)	114 (0.6)	74 (0.47)				
HWE (p value)	0.01	0.09				
Polymorphism	Control	Periodontitis	SLE	SLE + Periodontitis	p-value	OR [95% CI] p value
<i>VDR BsmI</i>						
N (%)						3.1 [1.2-7.7] p =0.02 ^{P x SLE}
AA + AG	37 (66.0)	18 (46.1)	32 (72.7)	26 (74.2)	0.01* ^{P x SLE}	
GG	19 (34.0)	21 (53.9)	12 (27.3)	09 (25.8)	0.01* ^{P x SLE +P}	3.3 [1.2-9.0] p =0.02 ^{P x SLE +P}
A (B)	52 (0.46)	24 (0.31)	45 (0.51)	39 (0.56)	0.03* ^{C x P}	2.3 [1.2-4.4] p=0.01 ^{P x SLE}
G (b)	60 (0.54)	54 (0.69)	43 (0.49)	31 (0.44)	0.04* ^{P x SLE} 0.02* ^{P x SLE +P}	2.8 [1.4-5.5] p=0.00 ^{P x SLE +P}
HWE (p value)	0.11	0.08	0.37	0.14		

OR: odds ratio; CI: confidence interval; significance level p<0.05; * chi-square test; C: control; P: periodontitis; SLE: systemic lupus erythematosus

Table 4- Genotypic and allelic frequencies of *VDR FokI* polymorphism in the study population (n=181).

Polymorphism	Patients without SLE (Control and Periodontitis)		Patients with SLE (SLE and SLE+Periodontitis)	p-value	OR [95% CI] p-value	
VDR FokI						
n (%)						
CC	47 (48.4)		37 (44.0)	> 0.05	NS	
CT	38 (39.1)		38 (45.2)			
TT	12 (12.5)		09 (10.8)			
C (F)	132 (0.68)		112 (0.67)	> 0.05	NS	
T (f)	62 (0.32)		56 (0.33)			
HWE (p value)	0.32		0.86			
Polymorphism	Control	Periodontitis	SLE	SLE+ Periodontitis	p-value	OR [95% CI] p-value
VDR FokI						
n (%)						
CC	32 (56.1)	15 (37.5)	20 (43.4)	17 (44.7)	>0.05	NS
CT	19 (33.3)	19 (47.5)	20 (43.4)	18 (47.3)		
TT	06 (10.6)	06 (15.0)	06 (13.2)	03 (8.0)		
C (F)	83 (0.73)	49 (0.61)	60 (0.65)	52 (0.68)	> 0.05	NS
T (f)	31 (0.27)	31 (0.39)	32 (0.35)	24 (0.32)		
HWE (p value)	0.23	0.10	0.78	0.73		

OR: odds ratio; CI: confidence interval; significance level $p < 0.05$; C: control; P: periodontitis; SLE: systemic lupus erythematosus; NS: Not significant

Table 5- Genotypic and allelic frequencies of *VDR TaqI* polymorphism in the study population (n=181).

Polymorphism						
<i>VDR TaqI</i>	Patients without SLE (Control and Periodontitis)	Patients with SLE (SLE and SLE +Periodontitis)	p-value	OR [95% CI]	p-value	
n						
CC + CT	56 (57.7)	64 (76.1)	0.008*	2.3 [1.2-4.4]	p=0.01	
TT	41 (42.3)	20 (23.9)				
C (t)	67 (0.35)	72 (0.43)	> 0.05			
T (T)	127 (0.65)	96 (0.57)				
HWE (p value)	0.79	0.00				
Polymorphism	Control	Periodontitis	SLE	SLE + periodontitis	p-value	OR [95% CI] p-value
<i>VDR TaqI</i>						
n						
CC + CT	36 (63.1)	20 (50.0)	38 (82.6)	26 (68.4)	0.02* C x SLE	2.7 [1.0-7.0]
TT	21 (36.9)	20 (50.0)	08 (17.4)	12 (31.6)	0.001* P x SLE	p=0.04 C x SLE
C (t)	44 (0.39)	23 (0.29)	45 (0.49)	27 (0.36)	0.007* P x SLE	2.3 [1.2-4.4]
T (T)	70 (0.61)	57 (0.71)	47 (0.51)	49 (0.64)		p=0.01 P x SLE
HWE (p value)	0.78	0.80	0.01	0.00		

OR: odds ratio; CI: confidence interval; significance level p<0.05; * chi-square test; C: control; P: periodontitis; SLE: systemic lupus erythematosus

References

- 1- Ruiz-Ballesteros AI, Meza-Meza MR, Vizmanos-Lamotte B, et al. Association of Vitamin D Metabolism Gene Polymorphisms with Autoimmunity: Evidence in Population Genetic Studies. *Int J Mol Sci* 2020; 21(24):9626.
- 2- Yousefi T, Yousef Memar M, Ahmadi Jazi A, et al. Molecular pathways and biological roles of melatonin and vitamin D; effects on immune system and oxidative stress. *Int Immunopharmacol* 2024;143(Pt3):113548.
- 3- Wang XR, Xiao JP, Zhang JJ, et al. Decreased Serum/Plasma Vitamin D levels in SLE Patients: A Meta-Analysis. *Curr Pharm Des* 2018;24(37):4466-4473.
- 4- Geiger C, McNally JD, Christopher KB, et al. Vitamin D in the critically ill - update 2024. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2024;27(6):515-522.
- 5- Hussein AS, Rosli RA, Ramle RS, et al. The impact of vitamin D deficiency on caries, periodontitis, and oral cancer: A systematic review. *Saudi Dent J* 2024;36(7):970-979.
- 6- Sete MR, Figueredo CM, Sztajnbok F. Periodontitis and systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reumatol* 2016;56(2):165-70.
- 7- Van Dyke TE, Bartold PM, Reynolds EC. The Nexus Between Periodontal Inflammation and Dysbiosis. *Front Immunol* 2020;11:511.
- 8- Caton JG, Armitage G, Berglundh T, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol* 2018;45:S1-S8.
- 9- Zucchi D, Silvagni E, Elefante E, et al. Systemic lupus erythematosus: one year in review 2023. *Clin Exp Rheumatol* 2023;41(5):997-1008.
- 10- Siegel CH, Sammaritano LR. Systemic Lupus Erythematosus: A Review. *JAMA* 2024;331(17):1480-1491.
- 11- Bolstad AI, Sehgal P, Lie SA, et al. Periodontitis in patients with systemic lupus erythematosus: A nationwide study of 1,990 patients. *J Periodontol* 2022;93:364-372.
- 12- Tan PR, Lee AJL, Zhao JJ, et al. Higher odds of periodontitis in systemic lupus erythematosus compared to controls and rheumatoid arthritis: a systematic review, meta-analysis and network meta-analysis. *Front Immunol* 2024;15:1356714.
- 13- Bae SC, Lee YH. Causal association between periodontitis and risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a Mendelian randomization. *Z Rheumatol* 2020;79:929-936.
- 14- Alves-Costa S, Leite FRM, Ladeira LLC, et al. Behavioral and metabolic risk factors associated with periodontitis in Brazil, 1990-2019: a multidimensional analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Clin Oral Investig* 2023;27(12):7909-7917.
- 15- Kobayashi T, Ito S, Yamamoto K, et al. Risk of periodontitis in systemic lupus erythematosus is associated with Fcγ receptor polymorphisms. *J Periodontol* 2003;74:378-84.
- 16- Kobayashi T, Ito S, Yasuda K, et al. The combined genotypes of stimulatory and inhibitory Fc γ receptors associated with systemic lupus erythematosus and periodontitis in Japanese adults. *J Periodontol* 2007;78:467-74.
- 17- Dias LNDS, Coêlho MC, Persuhn DC, et al. DNMT3B (rs2424913) polymorphism is associated with systemic lupus erythematosus alone and with co-existing periodontitis in a Brazilian population. *J Appl Oral Sci* 2022;30:e20210567.

- 18- Wan QS, Li L, Yang SK, et al. Role of Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms on the Susceptibility to Periodontitis: A Meta-Analysis of a Controversial Issue. *Genet Test Mol Biomarkers* 2019 S;23(9):618-633.
- 19- Zhang WT, Jin TF, Chen L. Associations of four common VDR polymorphisms with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: evidence from a meta-analysis. *Lupus* 2020;29(4):364-70.
- 20- Yang SK, Liu N, Zhang WJ, et al. Impact of Vitamin D Receptor Gene Polymorphism on Systemic Lupus Erythematosus Susceptibility: A Pooled Analysis. *Genet Test Mol Biomarkers* 2022;26(4):228-238.
- 21- Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;40:1725.
- 22- Touma Z, Urowitz MB, Gladman DD. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000 responder index-50 website. *J Rheumatol* 2013;40(5):733.
- 23- Aidar M, Line SR. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J* 2007;18(2):148-52.
- 24- Viana Filho JMC, de Souza BF, Coêlho MC, et al. Polymorphism but not methylation status in the vitamin D receptor gene contributes to oral mucositis in children. *Oral Dis* 2023;29(8):3381-3392.
- 25- Holde GE, Oscarson N, Trovik TA, et al. Periodontitis prevalence and severity in adults: a cross-sectional study in Norwegian Circumpolar Communities. *J Periodontol* 2017;88:1012-1022.
- 26- Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, et al. Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *Scientific World Journal* 2020:2146160.
- 27- Hussain SB, Leira Y, Zehra SA, et al. Periodontitis and Systemic Lupus Erythematosus: A systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Res* 2022;57(1):1-10.
- 28- Gegout, PY, Wabbi R, Jung, S, et al. Oral Consequences of Systemic Lupus Erythematosus: an Update. *Curr Oral Health Rep* 2023;10:184–195.
- 29- Lipsky MS, Su S, Crespo CJ, et al. Men and Oral Health: A Review of Sex and Gender Differences. *Am J Mens Health* 2021;15(3):15579883211016361.
- 30- Trindade D, Carvalho R, Machado V, et al. Prevalence of periodontitis in dentate people between 2011 and 2020: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *J Clin Periodontol* 2023;50(5):604-26.
- 31- Zhu L, Tang Z, Hu R, et al. Ageing and Inflammation: What Happens in Periodontium? *Bioengineering (Basel)* 2023;10(11):1274.
- 32- McMurray RW, May W. Sex hormones and systemic lupus erythematosus: review and meta-analysis. *Arthritis Rheum* 2003;48(8):2100-10.
- 33- Rutter-Locher Z, Smith TO, Giles I, et al. Association between Systemic Lupus Erythematosus and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Front Immunol* 2017;8:1295.
- 34- Stojan G, Petri M. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: an update. *Curr Opin Rheumatol* 2018;30(2):144-50.
- 35- Fernandes EG, Savioli C, Siqueira JT, et al. Oral health and the masticatory system in juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2007;16(9):713-9.
- 36- Mendonça SMS, Corrêa JD, Souza AF, et al. Immunological signatures in saliva of systemic lupus erythematosus patients: influence of periodontal condition. *Clin Exp Rheumatol* 2019;37:208-214.

- 37- Pires JR, Nogueira MRS, Nunes AJF, et al. Deposition of Immune Complexes in Gingival Tissues in the Presence of Periodontitis and Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol* 2021;12:591236.
- 38- Jung GU, Han JY, Hwang KG, et al. Effects of Conventional Synthetic Disease-Modifying Antirheumatic Drugs on Response to Periodontal Treatment in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Biomed Res Int* 2018;2018:1465402.
- 39- Monticielo OA, Brenol JC, Chies JA, et al. The role of BsmI and FokI vitamin D receptor gene polymorphisms and serum 25-hydroxyvitamin D in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2012;21(1):43-52.
- 40- Pena SD, Santos FR, Tarazona-Santos E. Genetic admixture in Brazil. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2020;184(4):928-38.
- 41- Simões GLDBA, Camera P, Pacheco A, et al. Polimorfismos genéticos no receptor da vitamina D e a suscetibilidade a doenças no Brasil. *Revista De Patologia Do Tocantins* 2020;7(2), 83–87.
- 42- Luo XY, Yang MH, Wu FX, et al. Yuan GH. Vitamin D receptor gene BsmI polymorphism B allele, but not BB genotype, is associated with systemic lupus erythematosus in a Han Chinese population. *Lupus* 2012;21(1):53-9.
- 43- Mashhadiabbas F, Neamatzadeh H, Nasiri R, et al. Association of vitamin D receptor BsmI, TaqI, FokI, and Apal polymorphisms with susceptibility of chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis based on 38 case-control studies. *Dent Res J (Isfahan)* 2018;15(3):155-165.
- 44- Mahto H, Tripathy R, Das BK, et al. Association between vitamin D receptor polymorphisms and systemic lupus erythematosus in an Indian cohort. *Int J Rheum Dis* 2018;21(2):468-476.
- 45- Salimi S, Eskandari F, Rezaei M, et al. Vitamin D Receptor rs2228570 and rs731236 Polymorphisms are Susceptible Factors for Systemic Lupus Erythematosus. *Adv Biomed Res* 2019;8:48.
- 46- De Brito Júnior RB, Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, et al. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene are associated with periodontal disease. *J Periodontol* 2004;75(8):1090-5.
- 47- Gisbert-Ferrándiz L, Cosin-Roger J, Hernández C, et al. The vitamin D receptor Taq I polymorphism is associated with reduced VDR and increased PDIA3 protein levels in human intestinal fibroblasts. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2020;202:105720.
- 48- Qin Y, Ma J, Vinuesa CG. Monogenic lupus: insights into disease pathogenesis and therapeutic opportunities. *Curr Opin Rheumatol* 2024;36(3):191-200.

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, podemos concluir que:

- O alelo *B* e os genótipos *BB* + *Bb* do polimorfismo *BsmI* atuam como um fator de risco para o desenvolvimento de lúpus eritematoso sistêmico, independentemente da presença de periodontite.

- O polimorfismo *FokI* não apresentou associação com o lúpus eritematoso sistêmico, periodontite ou co-ocorrência das duas doenças.

- O alelo *t* e os genótipos *Tt* + *tt* do polimorfismo *TaqI* atuam como um fator de risco para o desenvolvimento de lúpus eritematoso sistêmico, mas não na co-ocorrência com periodontite.

REFERÊNCIAS*

1. Sete MR, Figueredo CM, Sztajn bok F. Periodontitis and systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reumatol.* 2016;56(2):165-70.
2. Bunte K, Beikler T. Células Th17 Cells and the IL-23/IL-17 Axis in the Pathogenesis of Periodontitis and Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019;20:3394. doi: 10.3390/ijms20143394.
3. Nijakowski K, Ślebioda Z, Przystupa A, et al. Periodontal disease in patients with psoriasis: a systematic review. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(18):11302.
4. Araújo LL, Lourenço TGB, Colombo APV. Periodontal disease severity is associated to pathogenic consortia comprising putative and candidate periodontal pathogens. *J Appl Oral Sci.* 2023;31:e20230000.
5. Zucchi D, Silvagni E, Elefante E, Signorini V, Cardelli C, Trentin F, et al. Systemic lupus erythematosus: One year in review 2023. *Clin Exp Rheumatol.* 2023;41(5):997-1008. doi: 10.55563/clinexprheumatol/4uc7e8.
6. Dias LND, Coêlho MC, Persuhn DC, Ribeiro ILA, Freire EAM, Oliveira NFP, et al. DNMT3B (rs2424913) polymorphism is associated with systemic lupus erythematosus alone and with co-existing periodontitis in a Brazilian population. *J Appl Oral Sci.* 2022;30:e20210567.
7. Rutter-Locher Z, Smith TO, Giles I, Sofat N. Association between systemic lupus erythematosus and periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Front Immunol.* 2017;8:1295. doi: 10.3389/fimmu.2017.01295.
8. Offenbacher S, Jared H, O'Reilly P, et al. Potential pathogenic mechanisms of periodontitis associated pregnancy complications. *Ann Periodontol.* 1998 Jul;3(1):233–50.
9. Chang SW, Lee HC. Vitamin D and health - The missing vitamin in humans. *Pediatr Neonatol.* 2019;60(3):237-44. doi: 10.1016/j.pedneo.2019.04.007.
10. Geiger C, McNally JD, Christopher KB, Amrein K. Vitamin D in the critically ill - update 2024. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2024;27(6):515-522. doi: 10.1097/MCO.0000000000001068.
11. Hussein AS, Rosli RA, Ramle RS, Khor GH. The impact of vitamin D deficiency on caries, periodontitis, and oral cancer: A systematic review. *Saudi Dent J.* 2024;36(7):970-979. doi: 10.1016/j.sdentj.2024.04.012.

12. Dai Y, Wu F, Ni S, Guo S, Lu L, Zhao X. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with the risk and features of myasthenia gravis in the Han Chinese population. *Immunol Res.* 2023;71(3):404-12. doi: 10.1007/s12026-022-09349-x.
13. Viana Filho JMC, de Souza BF, Coêlho MC, Valença AMG, Persuhn DC, de Oliveira NFP. Polymorphism but not methylation status in the vitamin D receptor gene contributes to oral mucositis in children. *Oral Dis.* 2023;29(8):3381-92. doi: 10.1111/odi.14394.
14. Valdivielso JM, Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta.* 2006;371(1-2):1-12.
15. Wang C, Zhao H, Xiao L, Xie C, Fan W, Sun S, Xie B, Zhang J. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and severe chronic periodontitis in a Chinese population. *J Periodontol.* 2009 Apr;80(4):603-8. doi: 10.1902/jop.2009.080465. PMID: 19335080.
16. Jiang LL, Zhang C, Zhang Y, Ma F, Guan Y. Associations between polymorphisms in VDR gene and the risk of osteoporosis: a meta-analysis. *Arch Physiol Biochem.* 2022 Dec;128(6):1637-1644. doi: 10.1080/13813455.2020.1787457. Epub 2020 Aug 6. PMID: 32757960.
17. De Azevêdo Silva J, de Lima SC, Fragoso TS, Cavalcanti CAJ, Barbosa AD, Borborema MEA, de Lucena TMC, Duarte ALBP, Crovella S, Sandrin-Garcia P. Differential distribution of vitamin D receptor (VDR) gene variants and its expression in systemic lupus erythematosus. *Int J Immunogenet.* 2022 Jun;49(3):181-192. doi: 10.1111/iji.12576. Epub 2022 May 12. PMID: 35560516.
18. Zhang TP, Li HM, Huang Q, Wang L, Li XM. Vitamin D metabolic pathway genes polymorphisms and their methylation levels in association with rheumatoid arthritis. *Front Immunol.* 2021 Dec 2;12:731565. doi: 10.3389/fimmu.2021.731565. PMID: 34925313; PMCID: PMC8677352.
19. Tangjittipokin W, Umjai P, Khemaprasit K, Charoentawornpanich P, Chanprasert C, Teerawattanapong N, Narkdontri T, Santiprabhob J. Vitamin D pathway gene polymorphisms, vitamin D level, and cytokines in children with type 1 diabetes. *Gene.* 2021 Jul 30;791:145691. doi: 10.1016/j.gene.2021.145691. Epub 2021 May 5. PMID: 33961971.
20. Zhang WT, Jin TF, Chen L. Associations of four common VDR polymorphisms with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: evidence from a meta-analysis. *Lupus.* 2020;29(4):364-70. doi: 10.1177/0961203320909432.
21. Yang SK, Liu N, Zhang WJ, Song N, Yang JP, Zhang H, Gui M. Impact of vitamin D receptor gene polymorphism on systemic lupus erythematosus susceptibility: A pooled analysis. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2022;26(4):228-238. doi: 10.1089/gtmb.2021.0167.

22. Lang P, Bartold PM. Periodontal health. *J Clin Periodontol*. 2018;45(20):9-16
23. Steffens JP, Marcantonio RAC. Classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions 2018: practical guide and key points. *Rev Odontol UNESP*. 2018;47:189-97.
24. Jepsen S, Caton JG, Albandar JM, Bissada NF, Bouchard P, Cortellini P, et al. Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*. 2018;45(Feb):S219-29.
25. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. 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:S1-8. doi: 10.1111/jcpe.12935.
26. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S173-82. doi: 10.1111/jcpe.12946
27. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S159-72. doi: 10.1002/JPER.18-0006.
28. Chen MX, Zhong YJ, Dong QQ, Wong HM, Wen YF. Global, regional, and national burden of severe periodontitis, 1990-2019: an analysis of the Global Burden of Disease Study 2019. *J Clin Periodontol*. 2021;48(9):1165-88. doi: 10.1111/jcpe.13506.
29. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Primária à Saúde. Departamento de Estratégias e Políticas de Saúde Comunitária. SB Brasil 2023: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: relatório final [recurso eletrônico]. Brasília: Ministério da Saúde; 2024. 537 p.
30. Petersen PE, Ogawa H. Prevention of dental caries through the use of fluoride – the WHO approach. *Community Dent Health*. 2016;33:66–8. doi: 10.1922/CDH_Petersen03.
31. Silva GCB da, Melo Neto O de M, Nascimento AMV do, Santos CAO dos, Nóbrega WFS, Souza SLX de. Natural History of Periodontal Disease: a systematic review. *Res Soc Dev*. 2020;9:e607974562. doi: 10.33448/rsd-v9i7.4562.
32. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int Dent J*. 2021 Dec;71(6):462-476. doi: 10.1111/idj.12630. Epub 2021 Feb 19.

33. Manresa C, Sanz-Miralles EC, Twigg J, Bravo M. Supportive periodontal therapy (SPT) for maintaining the dentition in adults treated for periodontitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Jan 1;1(1):CD009376. doi: 10.1002/14651858.CD009376.pub2.
34. Shusterman A, Salyma Y, Nashef A, Soller M, Wilensky A, et al. Genotype is an important determinant factor of host susceptibility to periodontitis in collaborative cross and inbred mouse population. *BMC Genet*. 2013;14:68. doi: 10.1186/1471-2156-14-68.
35. Gilthorpe MS, Zamzuri AT, Griffiths GS, Maddick IH, Eaton KA, Johnson NW. Unification of the "burst" and "linear" theories of periodontal disease progression: a multilevel manifestation of the same phenomenon. *J Dent Res*. 2003 Mar;82(3):200-5. doi: 10.1177/154405910308200310. PMID: 12598549
36. Van Dyke TE. Shifting the paradigm from inhibitors of inflammation to resolvers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol*. 2020;91(Suppl 1):S19-S25. doi: 10.1002/JPER.20-0088.
37. Pockpa AD, Soueidan A, Louis P, Coulibaly NT, Badran Z, Struillou X. Twenty Years of Full-Mouth Disinfection: The Past, the Present and the Future. *Open Dent J* 2018; 12:435–42. <https://doi.org/10.2174/1874210601812010435>.
38. McGowan K, McGowan T, Ivanovski S. Ideal dose and duration of amoxicillin plus metronidazole as an adjunct to non-surgical periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *J Clin Periodontol*. 2018;45:56-67. doi: 10.1111/jcpe.12830.
39. Zandbergen D, Slot DE, Niederman R, et al. Concurrent administration of systemic amoxicillin and metronidazole compared with scaling and root planing alone in the treatment of periodontitis: a systematic review. *BMC Oral Health*. 2016;16:27. doi: 10.1186/s12903-015-0123-6.
40. Nibali L, Koidou VP, Hamborg T, et al. Empirical or microbiologically guided systemic antibiotics as adjuncts to non-surgical periodontal therapy? A systematic review. *J Clin Periodontol*. 2019;46:999-1012. doi: 10.1111/jcpe.13164.
41. Teughels W, Feres M, Oud V, et al. Adjunctive effect of systemic antimicrobials in periodontitis therapy: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2020;47(Suppl 22):257–281. doi: 10.1111/jcpe.13264.
42. Richards D. Review finds that severe periodontitis affects 11% of the world's population. *Evid Based Dent*. 2014;15:70–71. doi: 10.1038/sj.ebd.6401037
43. Salvi GE, Stahli A, Schmidt JC, et al. Antimicrobial photodynamic therapy or laser as an adjunct to non-surgical mechanical instrumentation in untreated periodontitis patients: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2020;47:176-198. doi: 10.1111/jcpe.13236.

44. Roncati M, Gariffo A. Systematic review of the adjunctive use of diode and Nd:YAG lasers for non-surgical periodontal instrumentation. *Photomed Laser Surg.* 2014;32:186-197. doi: 10.1089/pho.2013.3695.
45. Invernici MM, Salvador SL, Silva PHF, et al. Effects of the probiotic *Bifidobacterium* in the treatment of chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2018;45:1198-1210. doi: 10.1111/jcpe.12995.
46. de Andrade DP, Carvalho ICS, Gadoi BH, et al. Subgingival irrigation with 20% propolis extract solution as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a preliminary study. *J Int Acad Periodontol.* 2017;19:145-151.
47. Zhao H, Hu J, Zhao L. Subgingival application of chlorhexidine gel as an adjunct to non-surgical periodontal treatment for chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health.* 2020;20:34. doi: 10.1186/s12903-020-1021-0.
48. Choi J, Kim ST, Craft J. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus-an update. *Curr Opin Immunol.* 2012;24(6):651-7. doi: 10.1016/j.coi.2012.10.004.
49. Larsen JL, Hall EOC, Jacobsen S, Birkelund R. Estar em um impasse de vida: experiência de mulheres com diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico: um estudo hermenêutico-fenomenológico. *Scand J Caring Sci.* 2017;32(2):654-62. doi: 10.1111/scs.12491.
50. Yen EY, Singh RR. Brief Report: Lupus-An Unrecognized Leading Cause of Death in Young Females: A Population-Based Study Using Nationwide Death Certificates, 2000-2015. *Arthritis Rheumatol.* 2018;70(8):1251-5. doi: 10.1002/art.40512.
51. Kusnanto K, Putu N, Purnama W, Kep M, Harmayetty H, Kes M, et al. Aplicação do modelo de autocuidado para melhorar a agência de autocuidado, atividades de autocuidado e qualidade de vida em pessoas com lúpus eritematoso sistêmico. *J Taibah Univ Med Sci.* 2018;13(5):472-8. doi: 10.1016/j.jtumed.2018.07.002.
52. Tian J, Zhang D, Yao X, Huang Y, Lu Q. Global epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comprehensive systematic analysis and modelling study. *Ann Rheum Dis.* 2023;82(3):351-6. doi: 10.1136/ard-2022-223035.
53. Reis-Neto ETD, Monticelo OA, Daher M, Lopes F, Angrimani D, Klumb EM. Life expectancy and death pattern associated with systemic lupus erythematosus diagnosis in Brazil between 2000 and 2019. *Lupus.* 2024;33(5):536-42. doi: 10.1177/09612033241236383.
54. Moreira MLP, Sztajn bok F, Giannini DT. Relationship between fiber intake and cardiovascular risk factors in adolescents with systemic lupus erythematosus. *Rev Paul Pediatr.* 2021;39:e2019316. doi: 10.1590/1984-0462/2021/39/2019316.

55. Kiriakidou M, Ching CL. Systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med*. 2020;172(11):ITC81-ITC96. doi: 10.7326/AITC202006020.
56. Ghodke-Puranik Y, Olfieriev M, Crow MK. Systemic lupus erythematosus genetics: insights into pathogenesis and implications for therapy. *Nat Rev Rheumatol*. 2024;20(10):635-48. doi: 10.1038/s41584-024-01152-2.
57. Patel DR, Richardson BC. Dissecting complex epigenetic alterations in human lupus. *Arthritis Res Ther*. 2013;15(1):201. doi: 10.1186/ar4125.
58. Ghodke-Puranik Y, Niewold TB. Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: a comprehensive review. *J Autoimmun*. 2015;64:125-36. doi: 10.1016/j.jaut.2015.08.004.
59. Akhil A, Bansal R, Anupam K, Tandon A, Bhatnagar A. Systemic lupus erythematosus: latest insight into etiopathogenesis. *Rheumatol Int*. 2023;43(8):1381-93. doi: 10.1007/s00296-023-05346-x.
60. Athanassiou L, Kostoglou-Athanassiou I, Koutsilieris M, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmune rheumatic diseases. *Biomolecules*. 2023;13(4):709. doi: 10.3390/biom13040709.
61. Gompel A. Systemic lupus erythematosus and menopause. *Climacteric*. 2020;23(2):109-15. doi: 10.1080/13697137.2019.1679113..
62. Speyer CB, Costenbader KH. Cigarette smoking and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol*. 2018;14(6):481-7. doi: 10.1080/1744666X.2018.1473035.
63. Cozier YC, Barbhaiya M, Castro-Webb N, Conte C, Tedeschi SK, Leatherwood C, et al. Relationship of cigarette smoking and alcohol consumption to incidence of systemic lupus erythematosus in a prospective cohort study of Black women. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2019;71(5):671-7. doi: 10.1002/acr.23703.
64. Hoy RF, Chambers DC. Silica-related diseases in the modern world. *Allergy*. 2020;75(11):2805-17. doi: 10.1111/all.14202.
65. Souza RR, Marcon SS, Teston EF, Barreto MDS, Reis PD, Cecilio HPM, et al. From diagnosis to complications: experiences of those who live with systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Enferm*. 2022;75(4):e20200847. doi: 10.1590/0034-7167-2020-0847.
66. Fanouriakis A, Kostopoulou M, Alunno A, Aringer M, Bajema I, Boletis JN, et al. 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2019;78(6):736-45. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215089.

67. Pan L, Lu MP, Wang JH, Xu M, Yang SR. Immunological pathogenesis and treatment of systemic lupus erythematosus. *World J Pediatr.* 2020;16(1):19-30. doi: 10.1007/s12519-019-00229-3.
68. Durcan L, O'Dwyer T, Petri M. Management strategies and future directions for systemic lupus erythematosus in adults. *Lancet.* 2019;393(10188):2332-43. doi: 10.1016/S0140-6736(19)30237-5.
69. Sassi F, Tamone C, D'Amelio P. Vitamin D: Nutrient, Hormone, and Immunomodulator. *Nutrients.* 2018;10(11):1656. doi: 10.3390/nu10111656.
70. Van Leeuwen JP, Van Den Bemd GJ, Van Driel M, Buurman CJ, Pols HA. 24,25-Dihydroxyvitamin D(3) and bone metabolism. *Steroids.* 2001;66(3-5):375-80.
71. Bikle D, Christakos S. New aspects of vitamin D metabolism and action - addressing the skin as source and target. *Nat Rev Endocrinol.* 2020;16(4):234-52. doi: 10.1038/s41574-019-0312-5.
72. Saponaro F, Saba A, Zucchi R. An Update on Vitamin D Metabolism. *Int J Mol Sci.* 2020;21(18):6573. doi: 10.3390/ijms21186573.
73. Ghaseminejad-Raeini A, Ghaderi A, Sharafi A, Nematollahi-Sani B, Moossavi M, Derakhshani A, Sarab GA. Immunomodulatory actions of vitamin D in various immune-related disorders: a comprehensive review. *Front Immunol.* 2023 Jul 14;14:950465. doi: 10.3389/fimmu.2023.950465.
74. Christakos S, Li S, De La Cruz J, Bikle DD. New developments in our understanding of vitamin metabolism, action and treatment. *Metabolism.* 2019;98:112-20. doi: 10.1016/j.metabol.2019.06.010..
75. Umar M, Sastry KS, Chouchane AI. Role of Vitamin D Beyond the Skeletal Function: A Review of the Molecular and Clinical Studies. *Int J Mol Sci.* 2018;19(6):1618. doi: 10.3390/ijms19061618.
76. Fetahu IS, Höbaus J, Kállay E. Vitamin D and the epigenome. *Front Physiol.* 2014;5:164. doi: 10.3389/fphys.2014.00164.
77. Castillo-Avila RG, González-Castro TB, Tovilla-Zárate CA, Juárez-Rojop IE, López-Narváez ML, Rodríguez-Pérez JM, et al. Association Between FokI Polymorphism of Vitamin D Receptor Gene and Lumbar Spine Disc Degeneration: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Phys Med Rehabil.* 2021;100(5):492-500. doi: 10.1097/PHM.0000000000001588.
78. Krawiec M, Dominiak M. The role of vitamin D in the human body with a special emphasis on dental issues: Literature review. *Dent Med Probl.* 2018;55(4):419-24. doi: 10.17219/dmp/99051.
79. Adel Y, Elqamal M, Adel Abdelsalam S. Impact of vitamin D level and supplementation on systemic lupus erythematosus patients during COVID-19

pandemic. Arch Rheumatol. 2022;37(2):288-99. doi: 10.46497/ArchRheumatol.2022.8996.

80. Bastos Jdo A, Andrade LC, Ferreira AP, Barroso Ede A, Daibert Pde C, Barreto PL, et al. Serum levels of vitamin D and chronic periodontitis in patients with chronic kidney disease. J Bras Nefrol. 2013;35(1):20-6. doi: 10.5935/01012800.20130004.

81. Filip-Psurska B, Zachary H, Strzykalska A, Wietrzyk J. Vitamin D, Th17 Lymphocytes, and Breast Cancer. Cancers (Basel). 2022;14(15):3649. doi: 10.3390/cancers14153649.

82. Mittal R, Kalra P, Dharmalingam M. Vitamin D deficiency presenting like hypophosphatemic osteomalacia. Indian J Endocrinol Metab. 2012;16(Suppl 2):S413-5. doi: 10.4103/2230-8210.104112.

83. Czaja AJ, Montano-Loza AJ. Evolving Role of Vitamin D in Immune-Mediated Disease and Its Implications in Autoimmune Hepatitis. Dig Dis Sci. 2019;64(2):324-44. doi: 10.1007/s10620-018-5351-6.

84. Botelho J, Machado V, Proença L, Delgado AS, Mendes JJ. Vitamin D Deficiency and Oral Health: A Comprehensive Review. Nutrients. 2020 May 19;12(5):1471. doi: 10.3390/nu12051471. PMID: 32438644; PMCID: PMC7285165.

85. Drozdenko G, Heine G, Worm M. Oral vitamin D increases the frequencies of CD38+ human B cells and ameliorates IL-17-producing T cells. Exp Dermatol. 2014 Feb;23(2):107-12. doi: 10.1111/exd.12300. PMID: 24313624.

86. Anbarcioglu E., Kirtiloglu T., Öztürk A., Kolbakir F., Acıkgöz G., Colak R. Deficiência de vitamina D em pacientes com periodontite agressiva. Oral Dis. 2019;25:242–249. doi: 10.1111/odi.12968

87. Agrawal AA, Kolte AP, Kolte RA, Chari S., Gupta M., Pakhmode R. Avaliação e comparação dos níveis séricos de vitamina D e cálcio em gengivite crônica periodontalmente saudável e periodontite crônica em pacientes com e sem diabetes mellitus – um estudo transversal. Acta Odontol. Scand. 2019;77:592–599. doi: 10.1080/00016357.2019.1623910.

88. Antonoglou GN, Knuuttila M., Niemelä O., Raunio T., Karttunen R., Vainio O., Hedberg P., Ylöstalo P., Tervonen T. Baixo nível sérico de 1,25 (OH) 2D está associado à periodontite crônica. J. Periodontal Res. 2015;50:274–280. doi: 10.1111/jre.12207.

89. Dietrich T, Joshipura KJ, Dawson-Hughes B, Bischoff-Ferrari HA. Association between serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D3 and periodontal disease in the US population. Am J Clin Nutr. 2004 Jul;80(1):108-13. doi: 10.1093/ajcn/80.1.108. PMID: 15213036.

90. Zhan Y., Samietz S., Holtfreter B., Hannemann A., Meisel P., Nauck M., Volzke H., Wallaschofski H., Dietrich T., Kocher T., et al. Estudo prospectivo de 25-hidroxivitamina D sérica e perda dentária. *J. Dent. Res.* 2014;93:639–644. doi: 10.1177/0022034514534985
91. Yu X., Zong X., Pan Y. Associações entre variantes genéticas do receptor de vitamina D e periodontite: uma meta-análise. *Acta Odontol. Scand.* 2019;77:484–494. doi: 10.1080/00016357.2019.1597160.
92. Wan QS, Li L., Yang SK, Liu ZL, Song N. Papel dos polimorfismos do gene do receptor de vitamina D na suscetibilidade à periodontite: uma meta-análise de uma questão controversa. *Genet. Teste. Mol. Biomark.* 2019;23:618–633. doi: 10.1089/gtmb.2019.0021.
93. Kamen DL. Vitamin D in lupus - new kid on the block? *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2010;68(3):218-22.
94. Gao CC, Liu SY, Wu ZZ, Li TF, Gao GM, Liu ZS, Zheng ZH. Severe vitamin D deficiency increases the risk for moderate to severe disease activity in Chinese patients with SLE. *Lupus.* 2016 Oct;25(11):1224-9. doi: 10.1177/0961203316635289. Epub 2016 Feb 25. PMID: 26921268.
95. Eloi M, Horvath DV, Ortega JC, Prado MS, Andrade LE, Szejnfeld VL, de Moura Castro CH. 25-Hydroxitamin D Serum Concentration, Not Free and Bioavailable Vitamin D, Is Associated with Disease Activity in Systemic Lupus Erythematosus Patients. *PLoS One.* 2017 Jan 13;12(1):e0170323. doi: 10.1371/journal.pone.0170323. PMID: 28085957; PMCID: PMC5234837.
96. Yu X, Zong X, Pan Y. Associations between vitamin D receptor genetic variants and periodontitis: a meta-analysis. *Acta Odontol Scand.* 2019;77(7):484-94. doi: 10.1080/00016357.2019.1597160.
97. Zhang TP, Li HM, Huang Q, Wang L, Li XM. Vitamin D Metabolic Pathway Genes Polymorphisms and Their Methylation Levels in Association With Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol.* 2021 Dec 2;12:731565. doi: 10.3389/fimmu.2021.731565. PMID: 34925313; PMCID: PMC8677352.
98. Tangjittipokin W, Umjai P, Khemaprasit K, Charoentawornpanich P, Chanprasert C, Teerawattanapong N, Narkdontri T, Santiprabhob J. Vitamin D pathway gene polymorphisms, vitamin D level, and cytokines in children with type 1 diabetes. *Gene.* 2021 Jul 30;791:145691. doi: 10.1016/j.gene.2021.145691. Epub 2021 May 5. PMID: 33961971.
99. Punceviciene E, Gaizevska J, Sabaliauskaite R, Venceviciene L, Puriene A, Vitkus D, et al. Vitamin D and VDR Gene Polymorphisms' Association with Rheumatoid Arthritis in Lithuanian Population. *Medicina (Kaunas).* 2021;57(4):346. doi: 10.3390/medicina57040346.

100. Caratachea MAC. Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Rev Inst Nac Enferm Resp.* 2007;20(3):213-21.
101. Balasubramanian SP, Cox A, Brown NJ, Reed MW. Candidate gene polymorphisms in solid cancers. *Eur J Surg Oncol.* 2004;30(6):593-601.
102. Al-Koofee DA, Mubarak SM. Genetic polymorphisms. In: *The Recent Topics in Genetic Polymorphisms.* 2019. p. 1-10.
103. Dettogni RS, Sá RT, Tovar TT, Louro ID. Polymorphic genetic variation in immune system genes: a study of two populations of Espírito Santo, Brazil. *Mol Biol Rep.* 2013 Aug;40(8):4843-9. doi: 10.1007/s11033-013-2582-7. Epub 2013 May 11.
104. Marqui ABT. Turner syndrome and genetic polymorphism: a systematic review. *Rev Paul Pediatr.* 2015;33(3):363-370. doi: 10.1016/j.rpped.2014.11.014.
105. Oliveira KC, Verreschi IT, Sugawara EK, Silva VC, Galera BB, Galera MF, et al. C677T and A1298C polymorphisms of MTHFR gene and their relation to homocysteine levels in Turner syndrome. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2012;16:396-400.
106. Shaw GM, O'Brodvich HM. Progress in understanding the genetics of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol.* 2013 Apr;37(2):85-93.
107. Chakravorty S, Hegde M. Inferring the effect of genomic variation in the new era of genomics. *Hum Mutat.* 2018 Jun;39(6):756-773. doi: 10.1002/humu.23427. Epub 2018 Apr 22.
108. Saccone D, Asani F, Bornman L. Regulation of the vitamin D receptor gene by environment, genetics and epigenetics. *Gene.* 2015 May 1;561(2):171-80. doi: 10.1016/j.gene.2015.02.024. Epub 2015 Feb 13.
109. Cong L, Wang WB, Liu Q, Du JJ. FokI polymorphism of the vitamin D receptor gene is associated with susceptibility to gastric cancer: A case-control study. *Tohoku J Exp Med.* 2015 Jul;236(3):219-24. doi: 10.1620/tjem.236.219.
110. Van Etten E, Verlinden L, Giulietti A, Ramos-Lopez E, Branisteanu DD, Ferreira GB, Overbergh L, Verstuyf A, Bouillon R, Roep BO, Badenhoop K, Mathieu C. The vitamin D receptor gene FokI polymorphism: functional impact on the immune system. *Eur J Immunol.* 2007 Feb;37(2):395-405. doi: 10.1002/eji.200636043.
111. Chantarangsu S, Sura T, Mongkornkarn S, Donsakul K, Torrungruang K. Vitamin D Receptor Gene Polymorphism and

Smoking in the Risk of Chronic Periodontitis. *J Periodontol.* 2016 ;87(11):1343-1351. DOI: 10.1902/jop.2016.160222

112. Imam AA, Ibrahim HE, Farghaly MAA, Alkholy UM, Gawish HH, Abdalmonem N, Sherif AM, Ali YF, Hamed ME, Waked NM, Fathy MM, Khalil AM, Noah MA, Hegab MS, Ibrahim BR, Nabil RM, Fattah LA. Vitamin D receptor gene FokI polymorphism in Egyptian children and adolescents with SLE: A case-control study. *Lupus.* 2017 Nov;26(13):1426-1434. doi: 10.1177/0961203317725588. Epub 2017 Aug 11.

113. Bae SC, Lee YH. Vitamin D receptor FokI, TaqI, and Apal polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus: an updated meta-analysis. *Clin Rheumatol.* 2018 Jun;37(6):1529-1537. doi: 10.1007/s10067-018-4036-z. Epub 2018 Feb 21.

114. Agliardi C, Guerini FR, Zanzottera M, Bolognesi E, Meloni M, Riboldazzi G, Zangaglia R, Sturchio A, Casali C, Di Lorenzo C, Minafra B, Clerici M. The VDR FokI (rs2228570) polymorphism is involved in Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 2021 Sep 15;428:117606. doi: 10.1016/j.jns.2021.117606. Epub 2021 Aug 3.

115. Apaydin M, Beysel S, Eyerici N, Pinarli FA, Ulubay M, Kizilgul M, Ozdemir O, Caliskan M, Cakal E. The VDR gene FokI polymorphism is associated with gestational diabetes mellitus in Turkish women. *BMC Med Genet.* 2019 May 16;20(1):82. doi: 10.1186/s12881-019-0820-0.

116. Punzi T, Fabris A, Morucci G, Biagioni P, Gulisano M, Ruggiero M, Pacini S. C-reactive protein levels and vitamin D receptor polymorphisms as markers in predicting cachectic syndrome in cancer patients. *Mol Diagn Ther.* 2012 Apr 1;16(2):115-24. doi: 10.1007/BF03256436.

117. Ruiz-Ballesteros AI, Meza-Meza MR, Vizmanos-Lamotte B, Parra-Rojas I, de la Cruz-Mosso U. Association of Vitamin D Metabolism Gene Polymorphisms with Autoimmunity: Evidence in Population Genetic Studies. *Int J Mol Sci.* 2020;21(24):9626. doi: 10.3390/ijms21249626.

118. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene.* 2004 Sep 1;338(2):143-56. doi: 10.1016/j.gene.2004.05.014.

119. AbdElneam AI, Al-Dhubaibi MS, Bahaj SS, Mohammed GF. TaqI polymorphism T/t genotypes at the vitamin D receptor gene (VDR) are associated with increased serum vitamin D levels in mild and moderate psoriasis vulgaris: A pilot study. *J Gene Med.* 2022 Oct;24(10):e3449. doi: 10.1002/jgm.3449. Epub 2022 Sep 21.

120. Hamrun N, Ruslin M, Marlina E, Oktawati S, Saito T, Yusuf ASH, Ou KL. Profile of vitamin D receptor gene polymorphism TaqI in patients with periodontitis. *Biomed Rep.* 2022 May;16(5):35. doi: 10.3892/br.2022.1518. Epub 2022 Mar 1.

121. Bhola S, Cave EM, Prigge KL, Bhana S, Crowther NJ, Padoa CJ. The vitamin D receptor TaqI TT genotype is associated with type 1 diabetes in the Black South African population. *J Nutr Sci*. 2024 Nov 28;13:e73. doi: 10.1017/jns.2024.77.

122. Ribeiro ILA, Limeira RRT, Castro RD, Bonan PRF, Valença AMG. Oral mucositis in pediatric patients in treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(12):1468.

123. Mao S, Huang S. Association between vitamin D receptor gene BsmI, FokI, ApaI and TaqI polymorphisms and the risk of systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Rheumatol Int*. 2014 Mar;34(3):381-8. doi: 10.1007/s00296-013-2898-6.

124. Ji XW, Wang Y, Cao C, Zhong LJ. Assessment of the link between Vitamin D receptor TaqI gene polymorphism and periodontitis: a meta-analysis in a Chinese population. *Genet Mol Res*. 2016;15(4). DOI: 10.4238

* De acordo com as normas do PPGO/UFPB, baseadas na norma do *International Committee of Medical Journal Editors* - Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o *Medline*.

ANEXO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Doença periodontal e lúpus eritematoso sistêmico: aspectos genéticos e clínicos

Pesquisador: Naila Francis Paulo de Oliveira

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 1

CAAE: 68580923.7.0000.5188

Instituição Proponente: Universidade Federal da Paraíba

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.033.203

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma emenda ao projeto original intitulado: "DOENÇA PERIODONTAL E LÚPUS ERITEMATOSOSISTÊMICO: INVESTIGAÇÃO DE ASPECTOS CLÍNICOS E GENÉTICOS" que foi coordenado pela Prof. Dra. Sabrina Garcia de Aquino e atual colaboradora da presente proposta. Para essa nova etapa do projeto, a coordenação será da Prof. Dra Naila F.P de Oliveira (ex-colaboradora da proposta original). Na prática, as pesquisadoras solicitam analisar novos alvos genéticos de amostras coletadas do projeto original. O fato é que a partir do projeto original foi possível armazenar as amostras no Laboratório de Genética Molecular Humana, coordenado pela prof. Dra. Naila F. P de Oliveira (DBM-CCEN). Destacamos que nada muda no objetivo original do projeto: avaliar a associação entre a Doença Periodontal (DP) e o Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) no que se refere a aspectos clínicos e genéticos em pacientes portadores de LES e/ou DP. Importante: A continuidade dessas análises tem a anuência da coordenadora do Projeto original.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral: Avaliar a associação entre a DP e o LES no que se refere a aspectos clínicos e genéticos em pacientes portadores de LES e/ou DP.

Objetivos específicos: a) Avaliar se os diferentes graus de severidade do LES (leve e grave) estão associados a uma maior severidade da DP; b) Investigar pela técnica de RFLP-PCR a presença dos

Endereço: Prédio do CCS UFPB - 1º Andar

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB



Continuação do Parecer: 6.033.203

polimorfismos nos genes VDR, MTHFR, DNMT1, DNMT3A e DNMT3B em células epiteliais da mucosa bucal em pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico e/ou doença periodontal; c) Investigar pela técnica de ELISA os níveis de metilação global em células epiteliais da mucosa bucal em pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico e/ou doença periodontal; d) Investigar pela técnica de MSP o perfil de metilação nos genes VDR, DNMT1, DNMT3A e DNMT3B em células epiteliais da mucosa bucal em pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico e/ou doença periodontal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são mínimos e previsíveis uma vez que as coletas de material biológico já ocorreram e seguem os mesmos do projeto original. Os proponentes esclarecem que o sigilo dos participantes será preservado mesmo diante de novos exames laboratoriais. Os benefícios estão relacionados ao ganho de conhecimento particularmente na co-existência e relação entre as patologias investigadas (Lupus e doenças periodontais).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A presente emenda representa a continuidade de um projeto de pesquisa originalmente já aprovado. Não há coleta de novas amostras e não haverá mudança na metodologia original uma vez que as amostras já foram coletadas. A solicitação se justifica para: a) inclusão de novos alvos genéticos, o que implica na realização de novas análises laboratoriais; b) alteração do nome da pesquisadora coordenadora do projeto. Os autores informam que será enviado um novo TCLE para os participantes do Projeto original para a anuência da continuação do uso de suas amostras. Os participantes do Projeto original serão contatados por e-mail e receberão um link para preenchimento do TCLE via Google Forms. Por fim, consideramos que a descrição metodológica e as estratégias de pesquisa estão em conformidade com os padrões de investigação clínico-laboratoriais desse tipo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

termos de apresentação apresentados.

Recomendações:

nada a declarar

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se observa óbices éticos nessa proposta de pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Prédio do CCS UFPB - 1º Andar

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 6.033.203

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou a execução do referido projeto de pesquisa. Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à submissão do Relatório Final na Plataforma Brasil, via Notificação, para fins de apreciação e aprovação por este egrégio Comitê.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2119964.pdf	10/04/2023 09:56:13		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Lupus_Perio_CCS.docx	10/04/2023 09:55:30	Naila Francis Paulo de Oliveira	Aceito
Declaração de concordância	Anuencia_DBM.pdf	10/04/2023 09:55:21	Naila Francis Paulo de Oliveira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Anuencia_Equipe.pdf	10/04/2023 09:55:10	Naila Francis Paulo de Oliveira	Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_3100993.pdf	10/04/2023 09:54:59	Naila Francis Paulo de Oliveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_Perio_Lupus_CEP_CCS.pdf	10/04/2023 09:54:38	Naila Francis Paulo de Oliveira	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	Solicitacao_CEP_Lupus_Perio_CCS.pdf	10/04/2023 09:54:20	Naila Francis Paulo de Oliveira	Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto.pdf	10/04/2023 09:54:03	Naila Francis Paulo de Oliveira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Prédio do CCS UFPB - 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB



Continuação do Parecer: 6.033.203

JOAO PESSOA, 02 de Maio de 2023

Assinado por:

Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador(a))

Endereço: Prédio do CCS UFPB - 1º Andar

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br