

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

MARIANE CAROLINA FARIA BARBOSA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS rs739837 E rs2228570 NO
GENE RECEPTOR DE VITAMINA D COM FENÓTIPOS ORAIS DE
CRIANÇAS**

**Alfenas/MG
2019**

MARIANE CAROLINA FARIA BARBOSA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS rs739837 E rs2228570 NO
GENE RECEPTOR DE VITAMINA D COM FENÓTIPOS ORAIS DE
CRIANÇAS**

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas da Universidade Federal de Alfenas.
Linha de pesquisa: Epidemiologia das doenças bucais.
Orientadora: Profa. Dra. Daniela Coelho de Lima
Coorientadora: Profa. Dra. Daniela Silva Barroso de Oliveira

**Alfenas/MG
2019**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central – Campus Sede

Barbosa, Mariane Carolina Faria
B238a Associação entre os polimorfismos RS 739837 e RS 2228570 no gene receptor de vitamina D com fenótipos orais de crianças / Mariane Carolina Faria Barbosa. -- Alfenas/MG, 2019.
100 f.: il. --

Orientadora: Daniela Coelho de Lima.
Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) - Universidade Federal de Alfenas, 2019
Bibliografia.

1. Cárie Dentária. 2. Gengivite. 3. Esmalte Dentário - Anormalidade.
4. Vitamina D. 5. Polimorfismo Genético. I. Lima, Daniela Coelho de.
II. Título.

CDD-617.6



MARIANE CAROLINA FARIA BARBOSA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS RS 739837 E RS 2228570 NO GENE
RECEPTOR DE VITAMINA D COM FENÓTIPOS ORAIS DE CRIANÇAS**

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para a obtenção do título de Mestre em
Ciências Odontológicas pela Universidade
Federal de Alfenas. Área de concentração:
Odontologia.

Aprovada em: 25/3/2019

Profa. Dra. Daniela Coelho Lima
Instituição: Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG

Assinatura: Daniela Coelho Lima

Profa. Dra. Lívia Máris Ribeiro Paranaíba
Instituição: Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG

Assinatura: Lívia Máris Ribeiro Paranaíba

Profa. Dra. Erika Calvano Kuchler – FORP/USP
Instituição: Universidade São Paulo
FORP

Assinatura: Erika Calvano Kuchler

Dedico esta dissertação à minha família....

Aos meus pais, Vicente de Paulo Barbosa e Maria de Lourdes Faria Barbosa, por serem meus alicerces! Esta conquista só é possível graças ao esforço e amor que em mim depositaram. Obrigada por sempre acreditarem em mim e por terem abdicado de suas vidas em prol das realizações e da felicidade de seus filhos.

Ao meu irmão e melhor amigo, Lucas Eduardo Faria Barbosa, pelo apoio constante, carinho e amor. Divido com você mais esta conquista!

Eu amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me concedido o dom da vida, pela força nos momentos de dificuldade e por me permitir realizar tantos sonhos. Por sempre abençoar a minha caminhada e guiar os meus passos, preenchendo de sentido minha existência.

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alfenas, pela oportunidade de aprendizado durante a graduação e agora durante o curso de Pós-Graduação.

Aos docentes e coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas da Universidade Federal de Alfenas, pelos grandiosos ensinamentos e oportunidades.

A minha querida orientadora, profa. Dra. Daniela Coelho de Lima, que me inspirou durante a graduação a ampliar minhas aspirações e dedicar-me ao mestrado. Agradeço pela orientação, competência, dedicação e principalmente pela amizade. Tenho certeza que não chegaria neste ponto sem o seu apoio. Suas lições me tornaram uma pessoa melhor.

A minha querida coorientadora, profa. Dra. Daniela Silva Barroso de Oliveira, a quem tive o prazer de conhecer e me aproximar durante o mestrado. Obrigada pela orientação, paciência, amizade, profissionalismo e parceria que me oportunizaram um aprendizado imensurável. Obrigada por acreditar em mim e sempre me incentivar. Sou grata pela oportunidade e benção de ser orientada por você!

À Dra. Erika Calvano Kuchler pela disponibilidade e parceria durante toda a execução deste trabalho. Seu apoio e dedicação foram cruciais para a realização desta dissertação. Obrigada por acreditar em meu potencial e sempre ser tão generosa.

Aos amigos que me acompanharam nesta jornada, proporcionando felicidade e amor. Um agradecimento especial para minhas companheiras de residência, Sarah Magalhães e Bruna Cabral, minha irmã de coração Tatiane de Faria Rodrigues, meus amigos da UNIFAL, Neuza Vieira, Leandro Araújo, Geovane Evangelista, Alex Junqueira, Jéssica Oliveira, João Pedro Peinado e Augusto Miotti. Os amigos são a família que escolhemos para caminhar ao nosso lado e tenho muita felicidade de ter vocês sempre comigo.

Ao meu grande amigo e amor Nicolas Marcelli Bontempo Vespúcio, agradeço

pela parceria e incentivo em realizar meus sonhos. Sua companhia proporciona dias mais leves e felizes.

À minha fiel companheira e amiga de quatro patas, Meg Maria, seu amor e felicidade sincero sempre alegam meus dias. Obrigada por tornar minha vida iluminada e completa!

Aos meus familiares, que mesmo estando longe, sempre torcem pelo meu sucesso e apoiam minhas escolhas.

Às acadêmicas do curso de Odontologia, Barbara Maria de Souza Moreira e Ana Luiza Marques Reis, pelo auxílio e amizade durante a coleta das amostras.

Ao departamento de clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP/USP), nas pessoas das Professoras Doutoras Raquel Assed Bezerra Segato e Alexandra Mussolino de Queiroz, pela cessão do laboratório de Biologia Molecular e, em especial aos técnicos Nilza Letícia Magalhães e Lucas Ramazoto pela amizade e ensinamentos durante os experimentos no laboratório.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro (Processo: 2015/06866-5).

Aos colegas discentes do Programa de Pós-Graduação da UNIFAL/MG, pela amizade e união que construímos juntos.

À FAPEMIG (Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) pela concessão da bolsa e auxílio financeiro.

Aos membros da banca examinadora, que tão gentilmente aceitaram participar, colaborando com esta dissertação. Agradeço pelo tempo e conhecimento cedido na avaliação deste estudo.

À coordenação da Secretaria Municipal de Educação e Cultura de Alfenas, pela confiança em mim depositada.

Aos sujeitos da pesquisa, minha gratidão e o meu respeito.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.”

Ninguém é capaz de realizar seus sonhos por si só...

Ninguém é capaz de viver sozinho!

“São as nossas escolhas que revelam o que realmente somos, muito mais do que as nossas qualidades”.

(ROWLING, 1998, p.280)

RESUMO

A cárie dentária, gengivite e os defeitos do desenvolvimento do esmalte (DDE) são alterações prevalentes que acometem a cavidade bucal e apresentam etiologia multifatorial, que inclui as predisposições genéticas. O objetivo do presente estudo foi avaliar a prevalência de fenótipos orais e a associação com os polimorfismos rs739837 e rs2228570 no gene do receptor da vitamina D (VDR) em crianças da cidade de Alfenas-MG. Trata-se de estudo transversal realizado em uma amostra constituída de 353 crianças, com idade entre 8 e 11 anos, de ambos os gêneros, matriculadas em quatro escolas municipais. Os responsáveis foram entrevistados por meio de um inquérito com relação à história médica, odontológica, dieta e hábitos de higiene bucal. Em seguida, as crianças foram submetidas a um exame clínico bucal, e avaliadas pelos índices ICDAS (cárie dentária), a presença de gengivite (CPI) e dados referentes aos DDEs. Foram coletadas 353 amostras de saliva como material biológico para extração de DNA genômico. O DNA de cada amostra foi extraído, quantificado e padronizado para a realização de genotipagem dos polimorfismos rs739837 e rs2228570 no gene receptor da vitamina D, por PCR em tempo real, pelo método Taqman. Os dados foram submetidos à análise estatística empregando os Testes qui-quadrado e o teste T. Foram consideradas estatisticamente significativos valores com $P < 0,05$. Em nosso estudo, observamos que a grande maioria das crianças encontrava-se na dentição mista 308 (87,25%) e 45 (12,75%) apresentavam dentição permanente. Ao se observar a presença de lesões cariosas, 202 crianças (57,22%) eram livres de lesões e 151 (42,78%) apresentavam cárie dentária. Ao avaliarmos as características dos aspectos gengivais encontramos que 147 (41,64%) apresentavam sangramento gengival em pelo menos um sextante avaliado, quanto a presença de biofilme, todas as crianças avaliadas apresentavam algum sextante com biofilme, com média de 1,79 ($\pm 0,30$). Durante a avaliação dos defeitos de esmalte, obtivemos 223 (63,17%) crianças que apresentavam pelo menos algum dente com DDEs. Com relação a associação dos fenótipos orais com os hábitos de higiene bucal, alimentares e fatores pré, peri e pós-natais, somente foi significativo a utilização do fio dental com a menor prevalência de gengivite ($P = 0,06$). Os polimorfismos rs739837 e rs222857 não foram estatisticamente significantes com os fenótipos analisados neste estudo. Com base nos parâmetros analisados e nos resultados obtidos, foi possível concluir que, em crianças de Alfenas/MG, os hábitos de higiene bucal e dietéticos não foram associados a cárie dentária. A gengivite esteve associada ao uso de fio dental e os DDEs não estavam associados aos fatores pré, peri e pós-natais. Ademais, os polimorfismos genéticos avaliados (rs2228570 e rs739837) não foram associados aos fenótipos orais estudados.

Palavras-chave: Cárie Dentária. Gengivite. Esmalte Dentário-anormalidade. Vitamina D. Polimorfismo Genético. rs739837. rs2228570.

ABSTRACT

Dental caries, gingivitis and development defects of enamel (DDE) are prevalent changes affecting the oral cavity and have a multifactorial etiology, which include genetic predispositions. The aim of the present study was to evaluate the prevalence of oral phenotypes and the association with the rs739837 and rs2228570 polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene in children from the city of Alfenas-MG. This cross-sectional study was carried out in four municipal schools. Those responsible were interviewed through an investigation regarding medical history, odontology, diet and oral hygiene habits. Afterwards the children were received dental examinations and evaluated by the ICDAS indices (dental caries), the presence of gingivitis (CPI) and data referring to DDEs. Saliva samples were collected as biological material for extraction of genomic DNA. The DNA of each sample was extracted, quantified and standardized for the genotyping analysis of rs739837 and rs2228570 polymorphisms in the vitamin D receptor gene by real-time PCR, Taqman method. The data were submitted to statistical analysis using the chi-square test and the T-test. Values with $p < 0.05$ were considered statistically significant. In our study, we observed that the vast majority of the children were in the mixed dentition 308 (87.25%) and 45 (12.75%) had permanent dentition. When the presence of carious lesions was observed, 202 children (57.22%) were free of lesions and 151 (42.78%) had dental caries. When we evaluated the characteristics of the gingival aspects, 147 (41.64%) had gingival bleeding in at least one sextant evaluated, and the biofilm presence, all the children evaluated had some sextant with biofilm, with a mean of 1.79 (± 0.30). During the assessment of defects of enamel, we obtained 223 (63.17%) children who had at least one tooth with DDEs. The use of dental floss with the lowest prevalence of gingivitis ($p = 0.03$) was only significant in relation to the association of oral phenotypes with oral hygiene, dietary factors and pre, peri and postnatal factors ($P=0,06$). Polymorphisms rs739837 and rs222857 were not statistically significant with the phenotypes analyzed in this study. Based on the parameters analyzed and the results obtained, it was possible to conclude that oral and dietary hygiene habits were not associated with dental caries in children of Alfenas, MG. Gingivitis was associated with the use of dental floss and DDEs were not associated with pre, peri and postnatal factors. In addition, there was no association between genetic polymorphisms (rs2228570 and rs739837) in the VDR gene with the presence of evaluated oral phenotypes studied.

Keywords: Dental Caries. Gingivitis. Vitamin D. Dental Enamel-abnormalities. Polymorphisms, Genetic. rs739837. rs2228570.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sonda O.M.S. ou <i>ballpoint</i> , ilustrando as marcações com as distâncias à ponta da sonda, em milímetros.....	31
Figura 2 - Sequência de exame clínico Intrabucal e coleta de material biológico.....	37
Figura 3 - Imagens ilustrativas da metodologia empregada no processamento do DNA.....	39
Figura 4 - Imagens ilustrativas da metodologia empregada na Genotipagem por PCR em tempo real, método Taqman.....	42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Códigos e critérios utilizados para o exame da cárie dentária de acordo com SHOAI B et al., 2009.....	32
Quadro 2 - Códigos e critérios para registro do sangramento gengival, de acordo com o Índice Periodontal Comunitário (CPI), preconizado pela OMS, 1997.....	33
Quadro 3 - Códigos e critérios para registro da presença de Biofilme visível de acordo com o índice de placa descrito por Silness e Løe (1964).....	34
Quadro 4 - Códigos e critérios para registro da presença de Defeitos de Esmalte, descrito por DDE Index (1992).....	35
Quadro 5 - Códigos e critérios para registro da extensão de Defeitos de Esmalte, descrito por DDE Index (1992).....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição das características das variações genéticas estudadas. Alfenas/MG, 2019.....	41
Tabela 2 - Representação dos aspectos demográficos das crianças. Alfenas/MG, 2019.....	44
Tabela 3 - Representação dos defeitos de desenvolvimento do esmalte. Alfenas/MG, 2019.....	46
Tabela 4 - Dados demográficos, informações dietéticas e hábitos de higiene bucal nos grupos cárie e controle. Alfenas/MG, 2019.....	48
Tabela 5 - Dados demográficos, informações dietéticas e hábitos de higiene bucal nos grupos com gengivite e controle. Alfenas/MG, 2019.....	49
Tabela 6 - Associação entre os fatores presentes durante o período pré, peri e pós-natal e os defeitos de desenvolvimento do esmalte. Alfenas/MG, 2019....	51
Tabela 7 - Distribuição dos genótipos entre os grupos cárie e gengivite. Alfenas/MG, 2019.....	53
Tabela 8 - Distribuição dos genótipos para os defeitos de desenvolvimento do esmalte. Alfenas/MG, 2019.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAAE	-	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CPO-d	-	Índice de dentes cariados, perdidos e obturados
DDE	-	Defeitos de Desenvolvimento do Esmalte
DNA	-	Ácido Desoxirribonucleico
EDTA	-	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
FORP/USP	-	Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HCL	-	Hipoclorito de sódio
HMI	-	Hipomineralização Incisivo-Molar
ICDAS	-	International Caries Detection and Assessment System
OMS	-	Organização Mundial da Saúde
RNA	-	Ácido Ribonucleico
RNA _m	-	Ácido Ribonucleico Mensageiro
RPM	-	Rotação por Minuto
RT-PCR	-	Reação de Polimerase em cadeia em tempo real
SNPs	-	Single Nucleotide Polymorphisms
TAE	-	Termo de Assentimento Esclarecido
TCLE	-	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UVB	-	Radiação Ultravioleta
UNIFAL	-	Universidade Federal de Alfenas
VDR	-	Receptor de Vitamina D

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	SÁUDE BUCAL NA INFÂNCIA.....	17
2.2	DOENÇAS BUCAIS MAIS PRESENTES NA INFÂNCIA.....	18
2.2.1	<i>Cárie dentária</i>	18
2.2.2	<i>Doença Periodontal</i>	20
2.2.3	<i>Defeitos de desenvolvimento de esmalte</i>	22
2.3	POLIMORFISMOS GENÉTICOS.....	24
2.4	VITAMINA D.....	26
3	OBJETIVOS	28
3.1	OBJETIVO GERAL.....	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
4	MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1	CRITÉRIOS ÉTICOS.....	29
4.2	SELEÇÃO DA AMOSTRA.....	29
4.3	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	30
4.4	TREINAMENTO E CALIBRAÇÃO DO EXAMINADOR.....	30
4.5	LEVANTAMENTO DOS DADOS DEMOGRÁFICOS E DESCRIÇÃO DA SAÚDE GERAL DOS PACIENTES.....	30
4.6	AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES CLÍNICAS BUCAIS.....	31
4.7	CALETA DE MATERIAL BIOLÓGICO.....	36
4.8	PROCESSAMENTO DO DNA.....	37
4.9	SELEÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO E GENOTIPAGEM POR PCR EM REAL TIME.....	40
4.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
5	RESULTADOS	44
5.1	AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS DEMOGRÁFICOS E FENÓTIPOS ORAIS DAS CRIANÇAS.....	44
5.2	ASSOCIAÇÃO ENTRE OS FENÓTIPOS ORAIS COM OS FATORES PRÉ, PERI e PÓS-NATAIS.....	47

5.3	ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS rs739837 E rs2228570 NO GENE VDR E OS FENÓTIPOS ORAIS.....	53
6	DISCUSSÃO	55
6.1	PREVALÊNCIA DOS FENÓTIPOS ORAIS.....	55
6.2	ASSOCIAÇÃO DOS FATORES RELACIONADOS A ETIOLOGIA DOS FENÓTIPOS ORAIS.....	58
6.3	ASSOCIAÇÃO DOS FENÓTIPOS ORAIS COM OS POLIMORFISMOS rs739837 E rs2228570 DO GENE VDR.....	62
7	CONCLUSÃO	69
	REFERÊNCIAS	70
	APÊNDICES	87
	ANEXOS	95

1 INTRODUÇÃO

A saúde bucal e sua manutenção ao longo da vida, é um direito humano fundamental, intimamente relacionada com a saúde geral e a qualidade de vida, com potencial para afetar as interações sociais, além de conceber sociedades longevas e mais saudáveis. Por outro lado, a presença de doenças e alterações nas estruturas bucais está associada a deterioração da qualidade de vida, e pode provocar dificuldades na função mastigatória, ingestão nutricional, autoestima, problemas para dormir, além de baixo desempenho escolar e no trabalho (WORD HEALTH ORGANIZATION, 2015).

As patologias bucais mais prevalentes no mundo são a cárie dentária e doença periodontal, embora sejam preveníveis e existam medidas necessárias para seu controle (DE SÁ CHAVES; VIEIRA, 2017). Essas doenças apresentam fator causal múltiplo e vêm associadas a condições sociais, econômicas, políticas, sistêmicas, genéticas e educacionais e não apenas como resultado de interações biológicas no biofilme dental (DE SÁ CHAVES; VIEIRA, 2017).

Como as mudanças nas políticas de saúde bucal tem levado a uma diminuição da prevalência da cárie dentária e da doença periodontal, outros fenótipos bucais, como os defeitos de esmalte, têm sido foco de pesquisas recentes e despertado a atenção dos cirurgiões-dentistas na prática clínica (NEVES, 2014). A partir disso, tornam-se essenciais não apenas os esforços voltados para a prevenção e controle, mas também aqueles relacionados à elucidação dos fatores predisponentes ou causadores de tais doenças ou alterações bucais (MOSES; RAMGEEH; GURUNATHAN, 2011; PATIR et al., 2012).

Ações de prevenção e controle dessas alterações bucais são relevantes na prática clínica de profissionais de saúde. E associado a essas atuações preventivas, é imprescindível a necessidade de pesquisar o maior número de fatores predisponentes para a efetividade das condutas (MOSES; RAMGEEH; GURUNATHAN, 2011; PATIR et al., 2012).

Dentro desse contexto, os avanços nas técnicas de biologia molecular e o conhecimento do genoma humano tem mostrado evidências importantes sobre a influência de variações genéticas na predisposição às doenças e alterações dos padrões de normalidade que ocorrem no corpo (VALARINI et al., 2011). Devido a este

fato, estudos com o objetivo de avaliar a associação entre os fenótipos bucais e alterações em polimorfismos genéticos se fazem necessários para o esclarecimento dos fatores causais permitindo, futuramente, a execução de estratégias clínicas capazes de beneficiar a população predisposta à sua ocorrência.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SAÚDE BUCAL NA INFÂNCIA

As doenças bucais constituem um importante problema de saúde pública, não somente devido à sua alta prevalência, mas também pelo seu impacto a nível individual e coletivo, em termos de dor, desconforto, limitações sociais e funcionais, o que afeta a qualidade de vida do indivíduo (COSTA, 2012; LIBERATTI et al., 2018).

Para entendermos essa relação, faz-se necessário compreender que a saúde bucal está diretamente associada a fatores socioeconômicos, como condições de alimentação, moradia, trabalho, renda, meio ambiente, transporte, lazer, liberdade, acesso a serviços de saúde e informação. Neste contexto quando se luta pela saúde bucal, batalha-se também pela melhoria dos determinantes sociais, políticos e econômicos (BARRETO et al., 2013; LIBERATTI et al., 2018).

Graças à implementação de medidas de saúde pública, como distribuição de escovas de dente e dentifrícios com flúor, ampliação do acesso aos serviços odontológicos públicos e principalmente a fluoretação das águas de abastecimento, houve uma significativa melhora na saúde bucal da população brasileira. De acordo com os resultados do projeto SB Brasil 2010, a população brasileira passou de uma condição de média para baixa prevalência de cárie (BRASIL, 2011).

Para promovermos mudanças significativas na saúde bucal da população, devemos estimular ações preventivas que englobem a infância, pois é nesse período da vida onde são implantados o conhecimento, a valorização, a importância, os cuidados e a rotina com relação aos hábitos saudáveis para toda vida (PITTNER et al., 2018).

A saúde bucal da criança abrange diversas esferas de atuação, tais como a família, as políticas governamentais, a sociedade e também o cirurgião-dentista. Em todas, a atenção em saúde deve estar centrada na construção de uma sociedade saudável. Para isso, é essencial a preocupação com a prevenção e diagnóstico precoce das doenças, evitando a necessidade de grandes tratamentos e reabilitações (RIBEIRO et al., 2012).

Desta forma, a atenção odontológica nos primeiros anos de vida está relacionada a momentos de educação, troca de experiências, identificação de fatores de risco para doenças bucais e execução de procedimentos preventivos e curativos se necessário (RODRIGUES et al., 2014). Iniciar os cuidados com a saúde bucal desde o recém-nascido, prepara um adulto consciente. A educação na infância, propicia que o indivíduo chegue a idade adulta com um número menor de intercorrências com relação à saúde, o que impacta de forma positiva na saúde do indivíduo e, conseqüentemente, da sociedade de uma forma geral (PITTNER et al., 2018). Despertar o interesse da família para os cuidados com a saúde e educá-la para adotar um estilo de vida adequado exerce grande impacto sobre suas vidas (DA SILVA et al., 2013; PEREIRA, 2017).

2.2 DOENÇAS BUCAIS PRESENTES NA INFÂNCIA

2.2.1 *Cárie dentária*

A cárie dentária é uma doença considerada um problema de saúde pública principalmente nas populações industrializadas, onde há grande consumo de sacarose desde o século XX. É considerada uma doença grave, de progressão constante, podendo avançar até a destruição total das estruturas mineralizadas. Sua etiologia é múltipla e envolve fatores biológicos, sociais, culturais e comportamentais, principalmente os hábitos alimentares e de higiene bucal (DE REZENDE et al., 2014).

No desenvolvimento da lesão de cárie, ocorre a desmineralização da parte inorgânica dos tecidos dentais por ácidos produzidos pelas bactérias, a partir de carboidratos fermentáveis. Nesse processo, após a parte mineral da dentina ser dissolvida, ocorre a exposição da matriz orgânica, levando a formação da cavidade, que, não tratada evolui para o comprometimento pulpar e ósseo (CLARK; CLARK, 2018).

Dependendo da gravidade da doença e da infecção, a cárie compromete os dentes permanentes com lesões irreversíveis que podem levar a indicação de

exodontia, o que acarreta em sérios prejuízos à fonação, deglutição e alimentação (MSEFER, 2006).

Contudo, apesar de ser uma doença de ampla disseminação pelo mundo está ocorrendo um declínio, ocasionado principalmente pela conscientização dos cuidados necessários para seu controle (BOING et al., 2014). Este declínio na prevalência de cárie, também foi observado no Brasil, por meio dos levantamentos epidemiológicos do Projeto SB Brasil realizados no ano de 2003 e 2011, que constatou uma redução de 25% do CPO-d em crianças com 12 anos (BRASIL, 2004; BRASIL, 2011).

Narvai et al. (2006) atribuíram esse declínio à fluoretação da água de abastecimento público e dos dentifrícios, além de uma extensa reforma no sistema de saúde, que propiciou a promoção de iniciativas de educação em saúde bucal e a provisão de tratamentos preventivos e de restauração dentária para crianças. Essas medidas incorporaram avanços muito importantes nas últimas décadas, e incluem uma ampla gama de ações no ambiente social, físico e comportamental em saúde, uma vez que a cárie representa uma interação complexa de fatores causais (BONOTTO et al., 2017).

Dentro da etiologia multifatorial há influência de um componente genético e/ou biológico que afeta a susceptibilidade à cárie dentária. A descoberta de genes envolvidos na predisposição à doença pode melhorar a identificação de indivíduos com maior risco e reforçar a implementação de estratégias de prevenção antes do seu início (SLAYTON; COOPER; MARAZITA, 2005).

Devido a isso, muito tem sido feito para investigar e identificar os fatores genéticos e biológicos relacionados aos riscos ou proteção para o desenvolvimento da cárie. Esses fatores podem estar relacionados aos sistemas de defesa salivar que desempenham um papel importante na sua prevenção, como os peptídeos antimicrobianos, que atuam como antibióticos naturais, e funcionam como uma primeira linha de defesa contra um amplo espectro de agentes patogênicos. Além disso, muitos progressos tem sido feito em pesquisas avaliando polimorfismos genéticos capazes de influenciar a predisposição à cárie, seja por alterações na formação dos tecidos dentais, como o esmalte, na composição salivar, em genes relacionados ao risco do desenvolvimento da doença, dentre os quais o VDR, ou receptor de vitamina D (SAHA et al., 2015; BONOTTO et al., 2017; LIPS et al., 2017; SHIMIZU et al., 2012; SENGUL et al., 2016; WANG et al., 2012; KÜCHLER et al.,

2017; HOLLA et al., 2017; YU et al., 2017; GYLL et al., 2018). Contudo, os estudos em genética são fortemente influenciados pelas características da população estudada, o que justifica a realização de novas pesquisas que endossem a sua eficácia como um possível biomarcador para a cárie.

2.2.2 *Gengivite*

Além da cárie dentária, as doenças inflamatórias que atingem o periodonto também estão entre as afecções bucais mais prevalentes no mundo, sendo, da mesma forma que a cárie, consideradas um importante problema de saúde pública (PETERSEN; OGAWA, 2012).

As doenças periodontais são classificadas em dois amplos grupos: gengivites e periodontites. As gengivites são as mais prevalentes e consistem em um processo inflamatório de origem infecciosa que acomete somente os tecidos gengivais, causado pelo acúmulo de placa bacteriana nas superfícies dos dentes (MARTENS, et al., 2017). A gengivite manifesta-se clinicamente por meio do sangramento dos tecidos gengivais, sem perda de inserção óssea. Assim, é uma doença que atinge grande parte da população, de baixa gravidade e tratamento fácil. Analogamente, as periodontites, agrupam as apresentações mais agressivas da doença, acometem os tecidos gengivais e periodontais, e implicam quase sempre em lesões com perda de suporte dos tecidos periodontais (DA CRUZ; DAMASCENO; LEMOS, 2017).

Em termos epidemiológicos, é consensual a elevada prevalência da doença periodontal, estimando a presença de gengivite em aproximadamente 80% da população mundial (PIHLSTROM et al., 2005). Eke et al. (2012) identificaram uma elevada prevalência de periodontite nos EUA, cerca de 50% dos indivíduos com mais de 30 anos de idade.

O levantamento epidemiológico SB Brasil 2010, ao avaliar a condição periodontal da população brasileira, demonstrou que 62,9% dos adolescentes de 12 anos apresentaram todos os sextantes hígidos para a ocorrência de gengivite. Ademais, a prevalência de sangramento foi a pior condição periodontal observada (27,1%), seguida pela prevalência de cálculo, presente em 24,0% do total de adolescentes (BRASIL, 2011).

A extensão e a gravidade da doença periodontal estão relacionadas a razões multifatoriais, podendo estar associadas a condições de risco, como alterações sistêmicas e aspectos comportamentais, haja vista que, o fator etiológico e a reação tecidual não podem ser equacionados como uma simples reação de causa e efeito. Além disso, não se pode atribuir aos fatores locais (com sua intensidade, frequência e duração) toda a responsabilidade pelo processo, pois os tecidos são governados pelo estado de saúde geral do paciente (MARTENS, et al., 2017).

O consenso atual é de que a etiopatogenia da doença periodontal e seus aspectos clínicos resultam da interação dinâmica e complexa entre o estímulo desencadeado por várias bactérias periodontopatogênicas com a resposta imunológica do hospedeiro, sob a influência de diversos fatores ambientais e fatores de suscetibilidade genética (DENTINO et al., 2013; SLOTS, 2013).

Alguns estudos foram desenvolvidos com o intuito de demonstrar a existência de correlação entre polimorfismos em genes responsáveis por modular uma série de respostas imunológicas e inflamatórias com a maior incidência e severidade da doença periodontal, dentre estes, polimorfismos no gene IL-1RN, IL-1A e IL-1B, IL-6 e IL-10, receptor ECA e receptor de Beta-3 adrenérgico (MESA et al., 2017; PRETZL et al., 2012; TOKER et al., 2017; KANG et al., 2015; YOSHIHARA et al., 2013). Além destes, outros polimorfismos em genes relacionados a formação de tecidos mineralizados também estão sendo estudados, como no receptor da vitamina D (VDR) (CAI et al., 2017; YOSHIHARA et al., 2018; RATHEESH et al., 2018) e no gene GPR126 (KITAGAK et al., 2016).

Sheibak, Heidari e Mahmodeuzadeh- Saghem (2017) observaram que pacientes com síndrome de Down, apresentaram uma supressão do sistema imune e a superexpressão de genes contidos no cromossomo 21, aumentando a severidade da doença periodontal. Ademais, quando foi pesquisado a relação do papel de enzimas na doença periodontal de indivíduos com a Síndrome de Down, foi encontrada alterações no funcionamento e na concentração das metaloproteinases (MMPs).

Desta forma, a doença periodontal possui uma etiologia genética, e estas variabilidades podem justificar, pelo menos parcialmente, o porquê de diferentes indivíduos apresentarem diferentes níveis de suscetibilidade ou de resistência à doença (LAINE et al., 2012).

Apesar das melhorias na saúde bucal da população e do declínio da

prevalência de cárie ao longo das últimas décadas, as condições de saúde dos tecidos periodontais mantiveram-se praticamente as mesmas, fato que pode ser relacionado a fatores etiológicos genéticos e que necessitam de maiores estudos para serem determinados (CORTELLINI et al., 2017). Pois, apesar de ser consensual a existência de uma base genética para o risco da doença e de existirem vários genes candidatos, os diversos estudos existentes não permitem ainda tirar conclusões definitivas (LAINE et al., 2012).

2.2.3 Defeitos de desenvolvimento de esmalte

Os defeitos de desenvolvimento do esmalte (DDEs) são afecções bucais muito comuns na população, que ocorrem em função de alterações no desenvolvimento dentário no período da amelogênese (HOFFMANN et al., 2007).

A formação do esmalte dentário ocorre em três estágios: secreção da matriz orgânica, durante a qual são produzidas as proteínas envolvidas na amelogênese; mineralização, quando são adquiridos os conteúdos minerais e parte das proteínas secretadas é removida, e maturação, fase em que o esmalte torna-se altamente calcificado. Esses processos ocorrem sob influência genética e mudanças ambientais. Dessa forma, o desenvolvimento de defeitos de esmalte pode resultar de qualquer dano ocorrido nesses estágios (HOFFMANN et al., 2007).

Os DDEs apresentam prevalência significativa na população e são designados como alterações na estrutura do esmalte ou perda local de sua translucidez. Essas anomalias se originam por fatores que interferem na mineralização, podendo ter origem local, sistêmica e/ou genética. Ademais englobam a: hipoplasia do esmalte e a hipomineralização (MATA, 2017).

A Hipoplasia, um defeito quantitativo, caracteriza-se pela formação incompleta ou defeituosa na matriz orgânica do esmalte, com a perda da estrutura devido a um comprometimento dos ameloblastos na fase da secreção. Pode ser consequência de enfermidades, distúrbios sistêmicos, alterações genéticas, traumatismos e infecções pulpares dos dentes decíduos (NETTO et al., 2017). É o DDE mais prevalente em humanos e com implicações clínicas relevantes, como a redução da espessura do esmalte e um aspecto corrosivo. E desta forma, implica em alterações estéticas e

maior suscetibilidade à cárie (CRUVINEL et al., 2012; MASSIGNAN et al., 2016; VARGAS-FERREIRA et al., 2018).

A Hipomineralização, um defeito qualitativo, é formada por defeitos na microestrutura do esmalte na fase da maturação. A espessura e superfície do esmalte é regular, tendo por característica clínica a alteração na cor/translucidez do esmalte, podendo variar entres tons de branco, creme, amarelo ou marrom (DINIZ et al., 2011). As áreas hipomineralizadas são mais porosas e tendem a fraturar com facilidade, favorecendo assim o desenvolvimento de lesões de cárie (ALLAZZAM et al., 2014; ALMEIDA, 2018).

A hipomineralização pode ser dividida em dois subgrupos. A opacidade difusa, tem sido atribuída a exposição excessiva de fluoretos durante a amelogênese, ocasionando uma alteração na translucidez em vários graus e que se distribui de forma contínua. Já a opacidade demarcada é caracterizada por uma opacidade confinada em uma área bem delimitada e que apresenta etiologia relacionada à casos de deficiência nutricional e infecções severas (MASSIGNAN et al., 2016; SEOW, 2014).

Atualmente, tem sido atribuída uma classificação particular aos DDEs denominada Hipomineralização Molar-Incisivo (HMI), caracterizada por afetar um ou mais molares permanentes e também os incisivos permanentes. Esta condição apresenta origem sistêmica e é caracterizada por uma opacidade demarcada e qualitativa, onde há alteração na cor/translucidez do esmalte (AMERICANO et al., 2017; GAROT et al., 2017; MATA, 2017).

A prevalência de defeitos de desenvolvimento de esmalte na população é descrita com valores conflitantes. Estudos recentes encontraram prevalência de DDE em 48,3% de crianças chinesas (LI et al., 2018), e, segundo Chauhan (2013) valores mais elevados em crianças indianas (67,1%). No Brasil, os valores também, mostraram-se elevados, Ferreira et al. (2018) observaram DDEs em 64% de crianças do sul do Brasil. Cerca de 49,6% de pré-escolares no nordeste brasileiro também apresentaram essas alterações no esmalte (MASSONI et al 2009).

Os defeitos citados no esmalte, apresentam fatores etiológicos complexos e ainda em estudo, sendo necessários grandes investimentos a longo prazo para que os dados fiquem mais consistentes. Contudo, acredita-se que são resultados de uma variedade de fatores ambientais que atuam ao nível sistêmico, e inclui todos os fatores

presentes nos períodos pré-natal, perinatal e durante a infância, que possam interferir com o normal desenvolvimento do esmalte, não podendo ser excluída a predisposição genética (JEREMIAS et al., 2013; HONG et al., 2017).

Dentre os fatores etiológicos alguns já foram comprovados por estudos, dentre estes os traumas dentofaciais (HILGEMBERG et al., 2012), infecções microbianas, obesidade, deficiência de vitamina D e deficiência nutricional durante o período intrauterino e pós-natal e parto prematuro (MASTERSON et al., 2018; SEOW, 2014; VARGAS-FERREIRA et al., 2018).

Considerando que todo o processo de formação do esmalte dentário está sob controle genético, é razoável a hipótese de que variações genéticas podem estar associadas a alterações na amelogênese. Neste contexto, é válido ressaltar que polimorfismos no gene ENAM foram associados a diferentes tipos de amelogênese imperfeita (GUTIÉRREZ et al., 2012).

Ademais, outros estudos também buscaram associar polimorfismos em genes relacionados a formação e mineralização do esmalte dentário com o maior risco de prevalência dos DDEs, como os genes AMELX e AMBN, TUFT1 e TFIP11 e receptor da vitamina D - VDR (JEREMIAS et al., 2013; GERRETH et al., 2017; ULUCAN et al., 2013; YANG et al., 2016). Contudo apesar de alguns estudos obterem associação, esses resultados ainda não permitem tirar conclusões definitivas, fato que justifica a realização de novas pesquisas.

2.3 POLIMORFISMOS GENÉTICOS

Polimorfismos são alterações na sequência de pares de bases do DNA, que alcançam uma parcela da população, no mínimo 1%, e que não provocam uma doença letal. A maioria das alterações são funcionalmente neutras, contudo algumas podem estar relacionadas à regulação da expressão de um gene ou a função da proteína codificada, ocasionando diferentes comportamentos biológicos (YE, 2001).

Com os avanços da biologia molecular e os resultados do Projeto Genoma Humano, sabemos que existem aproximadamente 6 milhões de polimorfismos genéticos, muitos dos quais já foram descritos. A abundância e a grande frequência

de polimorfismos, os transformam em alvo para explicar a variabilidade genética de cada indivíduo e a susceptibilidade individual ou a resistência a várias doenças (CARATACHEA, 2007; MISHRA; KUMAR; YATHISH, 2017).

Existem vários tipos de polimorfismos (inserções/deleções, sítio de restrição e alterações no número de sequências repetidas), contudo os mais frequentes, que constituem 90% das alterações no DNA (CARATACHEA, 2007), são os que envolvem um único nucleotídeo, chamado de polimorfismo de único nucleotídeo, de transição ou SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), onde ocorre a substituição de um nucleotídeo por outro, portanto provocam a troca de um único par de bases nitrogenadas, coexistindo alelos múltiplos em determinados locus, e dessa forma pode afetar a expressão de proteínas, a função e a estrutura de um gene (ASA'AD et al., 2017).

Os polimorfismos estão localizados em todo o genoma e podem ocorrer em regiões codificadoras e não codificadoras. Nos polimorfismos de regiões codificadoras, denominados não-sinônimos, pode ocorrer uma substituição de um aminoácido na sequência proteica, acarretando em modificações estruturais e funcionais na proteína e um potencial efeito biológico com alterações na função celular (CHASMAN; ADAMS, 2001). Se a função das proteínas for afetada em um processo biológico, o polimorfismo de alguns genes pode aumentar ou diminuir o risco do paciente expressar fenotipicamente as doenças (KINANE E HART, 2003). Os polimorfismos de regiões não codificadoras, chamados sinônimos, podem modificar a estrutura e estabilidade do RNA mensageiro e afetar a quantidade de proteína produzida (CHASMAN; ADAMS, 2001).

O estudo de polimorfismos genéticos tem aplicações no campo médico, pesquisa biológica e processos legais. Algumas doenças podem ser influenciadas por polimorfismos, o que faz com que estes possam ser usados como biomarcadores de certas doenças, sendo a sua presença considerada um fator de risco para o desenvolvimento ou progressão da mesma (CARATACHEA, 2007). Além disso, podem ser usados como marcadores para ajudar a esclarecer certos padrões e/ou processos biológicos, e até mesmo na comprovação de processos de paternidade. A partir disso, surgiram evidências diretas e indiretas para justificar o estudo de genes candidatos a fatores etiológicos de doenças (CARATACHEA, 2007).

2.4 VITAMINA D

A vitamina D é uma vitamina lipossolúvel com funções hormonais semelhantes a esteroides multifuncionais. Existem duas formas principais de vitamina D: vitamina D3 (colecalfiferol) e vitamina D2 (ergocalciferol). O colecalfiferol é sintetizado na pele a partir do colesterol quando exposto ao sol (radiação UVB), enquanto o ergocalciferol é principalmente ingerido a partir da dieta. A forma primária da vitamina D deve ser convertida em seu metabólito ativo hormonal, para se tornar biologicamente ativo (NORMAN; POWELL, 2014; SEPIDARKISH et al., 2018; SLOMINSKI et al., 2014).

Na literatura, há consenso sobre o papel crucial da vitamina D para o organismo, devido a sua responsabilidade na modulação da homeostasia mineral e da arquitetura esquelética ao normalizar o metabolismo do cálcio e do fósforo, influenciando a reabsorção renal, a restauração óssea e a absorção intestinal (RAMEZANLI et al., 2017).

Além dos papéis clássicos da vitamina D no metabolismo ósseo, pesquisas tem sido realizadas com o intuito de avaliar sua importância em vários processos biológicos para a prevenção de uma ampla gama de doenças, como a resposta imune, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, hipertensão arterial e a regulação da proliferação e diferenciação celular (MATHIEU et al., 2004; ROSEN et al., 2012; SEPIDARKISH et al., 2018; SOOY et al., 2005).

Na Odontologia, a vitamina D também apresenta grande importância, havendo relatos de sua associação com a doença periodontal e a maior incidência de cárie (HOREWICZ et al., 2006; KONG et al., 2017). Outros estudos têm relacionado a deficiência da vitamina D ao sucesso de implantes dentários, estomatite aftosa recorrente e ao câncer bucal (FATHI et al., 2018; GUIDO et al., 2018; OZTEKIN; OZTEKIN; 2018).

A deficiência de vitamina D é uma ocorrência comum na população em geral, podendo acontecer em até 80% dos adolescentes europeus (BRAEGGER et al., 2013; GONZALEZ-GROSS et al., 2012). De uma forma geral, esta deficiência está relacionada à pigmentação da pele, obesidade, autolimitação da exposição solar, uso de protetores solares e ingestão dietética deficiente (por exemplo: peixe gordo, ovo,

leite) (BACCHETTA et al., 2010; HOLICK et al., 2014). Além disso, há uma variação sazonal nos níveis de vitamina D, com níveis mais altos durante o verão e níveis mais baixos no inverno (HARAGUZEL et al., 2014).

A Associação Americana de Pediatria estimou que o nível ideal de vitamina D deve ser $\geq 20 \text{ ng/mL}$ em bebês e crianças, enquanto a Sociedade Endócrina recomenda um nível $> 30 \text{ ng/mL}$ (HOLICK et al., 2011; WAGNER; GREER, 2008). Yong et al. (2018), ao realizarem um estudo de avaliação dos níveis de Vitamina D em recém-nascidos europeus, encontraram que apenas 41% das crianças apresentaram os valores ideais sugeridos pela Associação Americana de Pediatria e apenas 16%, os valores preconizados pela Sociedade Endócrina ao nascimento.

Em um estudo realizado nos Estados Unidos, com o objetivo de avaliar a prevalência da deficiência de 25OHD, por meio da análise da concentração em sangue de cordão umbilical de recém nascidos, também foram observados valores menores que os ideais ($< 20 \text{ ng/mL}$), da mesma forma que na França, onde cerca de dois terços dos recém-nascidos apresentavam níveis de vitamina D menores que 20 ng/mL , mesmo nos casos onde foi realizada a suplementação durante a gravidez (CECCALDI, 2017; MARSHALL et al., 2016).

Os efeitos da vitamina D descritos acima são mediados via receptor intracelular de alta afinidade, o receptor da vitamina D (VDR), que é uma proteína nuclear, amplamente expressa em muitos tipos de células (RAMEZANLI et al., 2017).

O gene do VDR está localizado no cromossomo 12 e os polimorfismos associados a atividade da proteína VDR são afetados por polimorfismos no gene VDR, que podem diminuir a sua afinidade pela vitamina D (KONG et al., 2017; RAMEZANLI et al., 2017). Até o momento, mais de 200 polimorfismos foram relatados no gene em questão (COGULU et al., 2016).

Além dos efeitos causados pela deficiência na vitamina D, os polimorfismos do gene VDR também estão sendo associados a etiologia de doenças, assim como as alterações bucais. Até o momento, já foram realizados estudos encontrando uma associação de polimorfismo no gene VDR com a cárie dentária em populações turcas, chinesas e tchecas, com fluorose dentária e também com periodontite agressiva e crônica (HU et al., 2015; COGULU et al., 2016; HOLLA et al., 2017; YANG et al. 2016; MASHHADIABBAS et al., 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a prevalência de fenótipos orais e sua associação com os polimorfismos rs739837 e rs2228570 no gene do receptor da vitamina D (VDR) em escolares da cidade de Alfenas- MG.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetos específicos do presente estudo foram:

- a) Levantar os dados sócio-demográficos e fatores pré, peri e pós-natais relacionados às condições de saúde bucal das crianças;
- b) Avaliar a prevalência de lesões de cárie dentária, gengivite e defeitos do desenvolvimento do esmalte das crianças;
- c) Investigar a associação entre a dieta e hábitos de higiene bucal com a prevalência de lesões de cárie dentária e gengivite;
- d) Investigar a associação entre os aspectos demográficos e fatores pré, peri e pós-natais com a prevalência dos defeitos de desenvolvimento de defeitos de esmalte;
- e) Avaliar a associação dos polimorfismos rs739837 e rs2228570 no gene receptor de vitamina D (VDR) com a ocorrência de cárie dentária, gengivite e defeitos de desenvolvimento do esmalte.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo transversal foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL/MG) (CAAE: 78568217.7.0000.5142 - ANEXO A). A sua execução respeitou as normas determinadas pela Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (BRASIL, 2013) e suas resoluções complementares relativas ao estudo com seres humanos. Inicialmente, todas as crianças e os responsáveis foram esclarecidos acerca dos objetivos, importância, riscos, benefícios do estudo. Os responsáveis expressaram sua concordância por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A) e a criança sua autorização por meio do Termo de Assentimento Esclarecido (APÊNDICE B).

Além disso, o acesso às Escolas Municipais foi aprovado e autorizado pela Secretaria Municipal de Educação e Cultura da cidade de Alfenas/MG (ANEXO B).

4.2 SELEÇÃO DA AMOSTRA

A amostra foi constituída por 353 crianças matriculadas em escolas municipais da cidade de Alfenas/MG. As crianças participantes foram selecionadas por sorteio, a partir do número total de estudantes matriculados nas escolas da rede municipal.

As escolas selecionadas foram a Escola municipal Tancredo Neves, Escola Municipal Tereza Paulino da Costa, Escola Municipal Fausto Monteiro e Escola Municipal Dr. João Januário de Magalhães.

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídas crianças com idade entre 8 a 11 anos, de ambos os gêneros, sem distinção de raça. De acordo com o critério de exclusão, não participaram aqueles indivíduos portadores de síndromes genéticas e/ou com doenças sistêmicas e os que não concordaram ou assinaram o Termo de Consentimento Livre e Termo de Assentimento Esclarecido devidamente.

Além disso, crianças que apresentaram trauma dental na dentição decídua foram excluídas para que não houvesse interferência deste fator local na ocorrência dos defeitos de desenvolvimento do esmalte observados na amostra.

4.4 TREINAMENTO E CALIBRAÇÃO DO EXAMINADOR

Anteriormente ao procedimento de exame clínico das condições bucais, uma única examinadora, Mariane Carolina Faria Barbosa, foi treinada e calibrada para que houvesse padronização no diagnóstico de cárie, gengivite e DDEs. Os procedimentos de treinamento e calibração intra-examinador foram realizados com 45 crianças, obtendo-se uma taxa de concordância de 93%, com kappa intra-examinador = 0,87 para o índice ICDAS e concordância perfeita para demais índices utilizados. Os indivíduos que participaram dessa fase preliminar não foram incluídos na amostra do estudo.

4.5 LEVANTAMENTO DOS DADOS DEMOGRÁFICOS E DESCRIÇÃO DA SAÚDE GERAL E BUCAL DOS PACIENTE

A coleta dos dados foi realizada durante o período letivo, em horários previamente agendados com os diretores das escolas. A entrevista com as crianças e pais/responsáveis foi feita individualmente de forma que fosse assegurada a sua

privacidade e a confidencialidade dos dados.

O instrumento utilizado para a apuração dos dados demográficos dos indivíduos foi um questionário validado e estruturado (ANTUNES et al., 2016), composto por perguntas abertas e fechadas. Foram coletados dados demográficos, história médica e hábitos gerais relacionados aos aspectos de saúde geral da criança, com o intuito de investigar fatores etiológicos presentes durante o período gestacional, perinatal e dos primeiros anos de vida da criança que pudessem ser relacionados aos fenótipos bucais das crianças, além da história odontológica (APÊNDICE C).

4.6 AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES CLÍNICAS BUCAIS

Realizada essa primeira etapa, os pacientes foram submetidos ao exame físico intraoral e examinados quanto a presença de cárie dentária, gengivite e defeitos de esmalte (APÊNDICE D). O exame clínico foi realizado em ambiente externo e iluminado com luz natural, utilizando-se espátulas de madeira, gaze e roletes de algodão (para limpeza), espelhos bucais planos número 5 e sondas exploradoras CPI (Organização Mundial de Saúde ou *ballpoint*), com esfera de 0,5 mm na extremidade ativa e marcações a partir da ponta ativa do instrumento para exame periodontal (Figura 1).

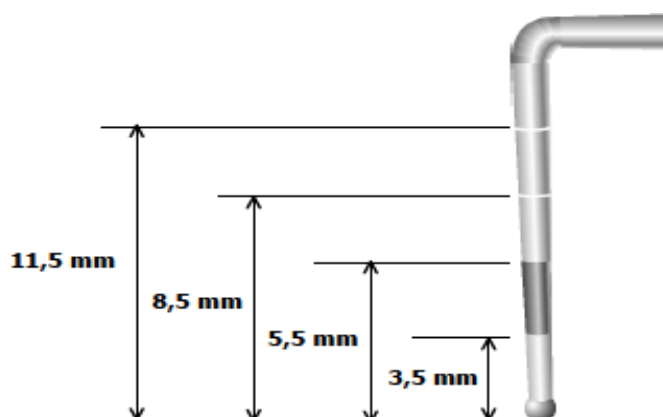
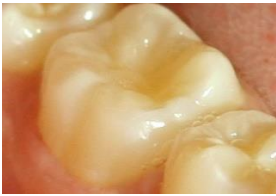








Figura 1 – Sonda O.M.S. ou *ballpoint*, ilustrando as marcações com as distâncias à ponta da sonda, em milímetros.

Fonte: BRASIL (2009B, p. 44).

O exame da presença de cárie foi realizado a partir dos critérios propostos pelo índice ICDAS (SHOAIB et al., 2009) ilustrado no Quadro 1.

Quadro 1 – Códigos e critérios utilizados para o exame da cárie dentária de acordo com SHOAI B et al., 2009.


Códigos	Critérios	Fotos
0	Nenhuma ou sutil alteração na translucidez do esmalte após secagem prolongada (5s).	
1	Primeira alteração visual no esmalte após secagem prolongada (5s); Opacidade e/ou pigmentação (branca ou marrom) visível em fundo de fóssulas e sulcos.	
2	Alteração visual em esmalte na presença de umidade; Opacidade notável e/ou pigmentação extrapola fundo de fóssulas e sulcos.	
3	Cavitação localizada apenas em esmalte visível em presença de umidade e após secagem prolongada.	
4	Sombreamento em dentina subjacente; Pode ou não haver microcavitação, desde que não haja dentina aparente.	
5	Cavitação em esmalte com exposição de dentina (até 1/2 da superfície da face analisada).	
6	Cavitação em esmalte com exposição de dentina (mais da 1/2 da superfície da face analisada).	

Fonte: Adaptado de SHOAI B et al., 2009.

Fotos: Do autor.

Para a avaliação de gengivite, o exame foi baseado na ocorrência de sangramento gengival, de acordo com os códigos e critérios do Índice Periodontal Comunitário (CPI) (QUADRO 2), preconizado pela Organização Mundial de Saúde (1997), e pela a presença de biofilme visível a partir do índice de placa descrito por Silness e Løe (1964) (QUADRO 3).





Quadro 2 – Códigos e critérios para registro do sangramento gengival, de acordo com o Índice Periodontal Comunitário (CPI), preconizado pela OMS, 1997.

Código	Descrição	Fotos
0	Ausência de Sangramento	
1	Presença de Sangramento	
X	Sextante Excluído	
9	Não examinado	

Fonte: Adaptado de OMS (1997).

Fotos: Do autor.

Quadro 3 – Códigos e critérios para registro da presença de biofilme visível, de acordo com o índice de placa descrito por Silness e Løe (1964).

Código	Descrição	Fotos
0	Sem presença de placa	
1	Apresenta um filme de placa aderindo à margem gengival livre e à área adjacente do dente. A placa pode ser vista somente após a aplicação da solução reveladora ou pela passagem da sonda na superfície do dente.	
2	Acumulação moderada de depósitos de massa (placa) dentro da bolsa gengival, ou no dente e margem gengival que pode ser vista a olho nu.	
3	Abundância de matéria macia (placa) dentro da bolsa gengival e / ou no dente e margem gengival.	

Fonte: Adaptado de SILNESS; LOE (1964).

Fotos: Do autor.

Os defeitos de desenvolvimento do esmalte foram classificados de acordo com o Índice de Defeitos de Desenvolvimento do Esmalte (DDE), com critérios que analisam o tipo (QUADRO 4) e a extensão dos defeitos (QUADRO 5), sendo ambos os índices recomendados pela Organização Mundial de Saúde (1997).

Quadro 4 – Códigos e critérios para registro da presença de Defeitos de Esmalte (DDE), descrito por DDE Index (1992).

Código	Tipo de defeito	Descrição
0	NORMAL	Sem alterações
1	OPACIDADE DEMARCADA	No esmalte de espessura normal e com uma superfície intacta, existe uma alteração na translucidez do esmalte, de grau variável. Ela é demarcada a partir do esmalte adjacente normal com limites nítidos e claros, e pode ter uma coloração branca, bege, amarela ou marrom.
2	OPACIDADE DIFUSA	Anormalidade envolvendo uma alteração na translucidez do esmalte, de grau variável, de coloração branca. Não existe um limite nítido entre o esmalte normal adjacente e a opacidade. Pode ser linear, em placas, ou ter uma distribuição confluyente.
3	HIPOPLASIA	Um defeito associado com a redução localizada da espessura do esmalte e envolvendo a sua superfície. Pode ocorrer na forma de: (a) fóssulas – únicas ou múltiplas, rasas ou profundas, difusas ou alinhadas, (b) sulcos – únicos ou múltiplos, estreitos ou amplos (máximo de 2 mm); (c) ausência parcial ou total de esmalte sobre uma área considerável de dentina.

Fonte: Adaptado DDE Index, 1992.

Quadro 5 – Códigos e critérios para registro da extensão de Defeitos de Esmalte (DDE), por DDE Index (1992).

Código	Descrição
0	Normal
1	Menos de 1/3
2	De 1/3 – 2/3
3	Mais de 2/3

Fonte: Adaptado DDE Index, 1992.

As crianças que apresentaram defeitos nos Molares associados aos Incisivos permanentes, foram classificadas como Crianças com Hipomineralização Molar-Incisivo (HMI).

Concluído o levantamento, as crianças foram classificadas de acordo com a presença de cárie, gengivite, DDEs e HMI em grupo *cárie, gengivite, DDEs e HMI*. Aquelas que não apresentavam estas ocorrências foram chamadas *controle* de cada um destes grupos.

4.7 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

Células do epitélio bucal como fonte de DNA genômico foram coletadas a partir de amostras de saliva não-estimulada, seguindo um protocolo previamente estabelecido (KÜCHLER et al., 2012). Para a coleta, os indivíduos realizaram bochecho com 5 mL de solução salina 5% durante 1 minuto, sendo todo o volume do bochecho acondicionado em tubos Falcon para centrífuga de 15 mL (CORNING Inc., CORNING, NY, EUA).

O material foi armazenado congelado em Freezer -20°C no Biobanco do Departamento de Clínica e Cirurgia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL) até o momento de ser processado no laboratório de Biologia Molecular e Celular do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (FORP-USP).

A figura 2 representa a sequência de ação realizada durante as etapas de avaliação das condições clínicas bucais, coleta de material biológico e dados antropométricos.



Figura 2 – Sequência de exame clínico intrabucal e coleta de material biológico

Legenda: 1) Assinatura do Termo de Assentimento Esclarecido

2) Exame Físico Intraoral

3) Coleta de dados antropométricos

4) Coleta de material biológico

Fonte: Do autor.

4.8 PROCESSAMENTO DO DNA

Cada tubo contendo a saliva coletada foi descongelado e centrifugado a 550rpm durante 10 minutos para sedimentação do *pellet* de células. O sobrenadante foi descartado em hipoclorito de sódio de 2,5% e o *pellet* ressuspendido em 1mL de tampão de extração (TE) (Tris-HCl 10mM, pH 7.8; EDTA 5mM; SDS 0.5%). Posteriormente, as amostras foram transferidas para um tubo *ependorf* de 1,5mL e então congelados a -20° C até o momento da extração do DNA.

Nessa hora, as amostras foram novamente descongeladas e incubadas com 100ng/mL de Proteinase K (4µL de Proteinase K - Fungal, Invitrogen Laboratories, Cat nº25530-015), na concentração de 25mg/mL, em banho-maria a 56° C *overnight*, e então submetidas a processos de precipitação utilizando-se 400µL de solução de acetato de amônio a 10M. A seguir, todos os tubos foram agitados manualmente por 5 minutos e centrifugados por 15 minutos (12000rpm), sendo o sobrenadante dividido em dois microtubos plásticos *ependorf* de 1,5mL, contendo 700µL cada. O mesmo volume (700µL) de álcool isopropílico gelado foi adicionado em cada tubo, seguido de agitação manual vigorosa.

Após nova centrifugação por 20 minutos (12000 rpm) a 4°C, a formação de "nuvem de DNA" foi observada nas alíquotas de cada microtubo plástico. Em seguida, o sobrenadante foi descartado com cuidado para não deslocar o *pellet* de DNA, e 1mL de etanol 70% gelado foi adicionado, seguido de centrifugação por 15 minutos (12000 rpm), a 4°C. Posteriormente o sobrenadante foi descartado, e o tubo ficou aberto e emborcado em papel por 30 minutos, para secagem e evaporação do excesso de etanol. O *pellet* de DNA foi ressuspenso em 400 µL de tampão de extração (TE) (Tris-HCl 10mM; pH 7.8; EDTA 1mM) e congelado a -20°C.

A concentração e a pureza do DNA foram determinadas por densidade óptica em espectrofotômetro (NanoDrop®2000espectrophotometer, Thermo Fisher Scientific, Foster City, CA), utilizando-se 2 µL do material extraído, em comprimentos de onda de 260 e 280 nanômetros (nm). A razão entre os valores obtidos nos comprimentos de onda de 260 e 280nm foi usada para estimar a pureza do DNA genômico. A seguir, as amostras foram diluídas em água Milli-Q, a 2nm/ µL (FIGURA 3).

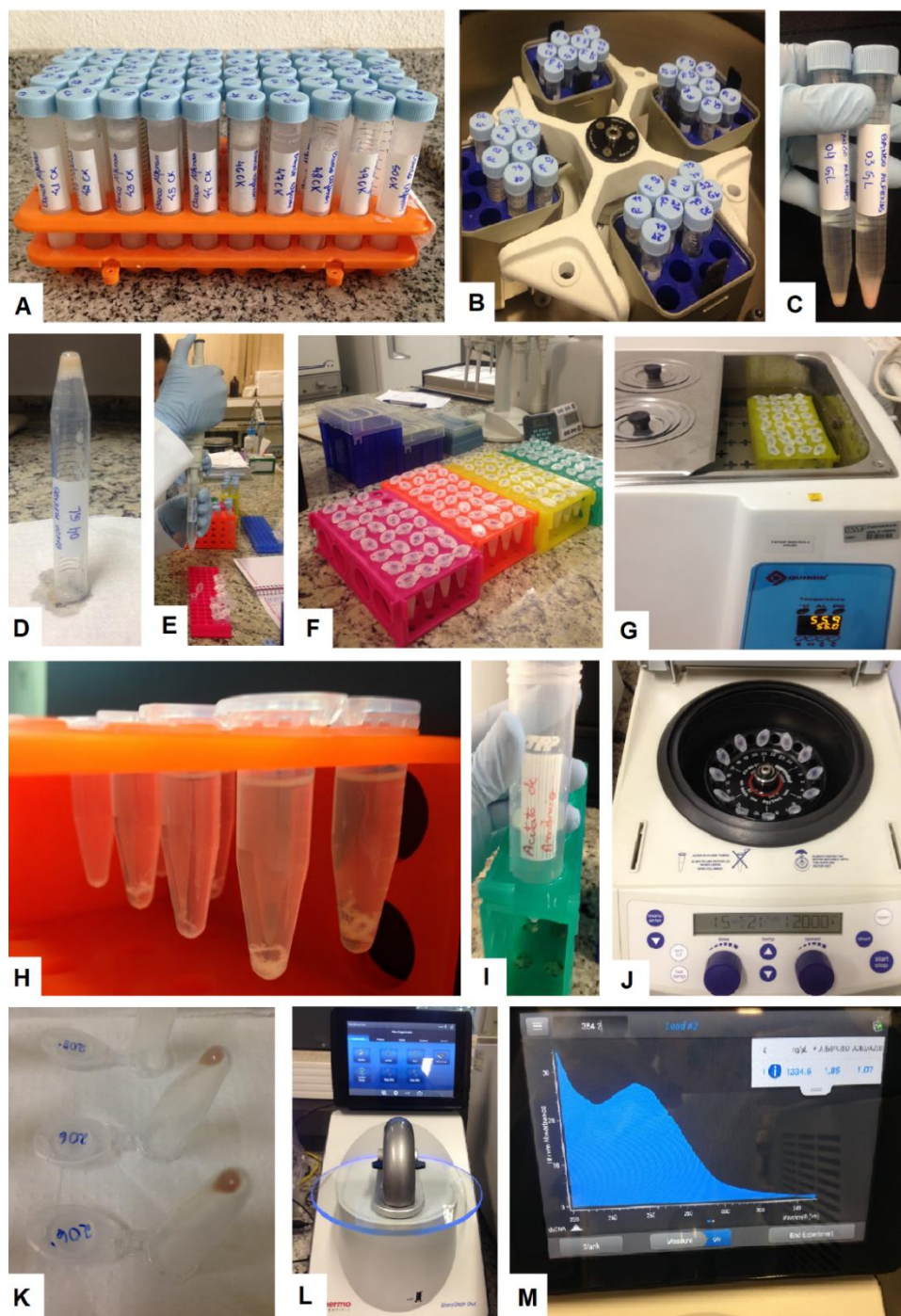


Figura 3 – Imagens ilustrativas da metodologia empregada no processamento.

- Legenda: A) Conteúdo do bochecho acondicionado em tubo Falcon 15 mL
 B) Centrifugação
 C) *Pellet* de células
 D) Descarte do sobrenadante
 E) Ressuspensão do *pellet* e transferência para tubo *ependorf* 1,5 mL
 F) Amostras congelada
 G) Incubação com Proteinase K em banho-maria
 H) Nuvem de DNA
 I) Precipitação com acetato
 J) Centrifugação
 k) *Pellet* de DNA
 L-M) Quantificação e estimativa da pureza do DNA.

Fonte: Do autor.

4.9 SELEÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO E GENOTIPAGEM POR PCR EM REAL TIME

Foram selecionados os polimorfismos potencialmente funcionais no Receptor de Vitamina D (VDR), rs739837 e rs2228570. Para a seleção, foi levada em consideração a frequência alélica na população caucasiana (<http://genome.uscs.edu>) e o possível impacto biológico na alteração dos nucleotídeos. As características dos polimorfismos selecionados estão descritas na tabela 1.

O genotipagem foi realizada por PCR (reação de polimerase em cadeia) em tempo real, usando o método *Taqman* (KÜCHLER et al.,2017), utilizando o termociclador Step One Plus Real time PCR System (Applied Biosystems – Foster City – Califórnia – USA), no laboratório de “Biologia Molecular e Cultura de Células” do Departamento de Clínica Infantil, da FORP/USP.

Na análise de *Taqman*, duas sondas (VIC e FAM) foram utilizadas no ensaio de discriminação alélica, onde cada sonda anela com a variante polimórfica específica. Durante a reação, *primers* se hibridizam com a sequência alvo do DNA. Essa reação resultou na liberação de fluorescência específica de cada sonda e essa fluorescência foi capturada e mensurada pelo termociclador, como consequência da amplificação do DNA alvo.

Todas as reações de PCR foram realizadas com um volume final de 3,4 µL {4ng de DNA, 2,5µL de Taqman Genotyping Master Mix PCR (Applied biosystems by Thermo Fisher Scientific, Foster City, CA 94404), 0,075 de sonda do polimorfismo e água deionizada q.s.p.}. A condição de ciclo do PCR utilizada foi de 95°C por 10 minutos, seguido por 40 ciclos de amplificação de 92°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto (FIGURA 4).

Tabela 1 - Descrição das características das variações genéticas estudadas. Alfenas/MG, 2019.

Gene	Locus	Polimorfismo	MAF	Função	Sequência
VDR	12	rs739837	0,4942/2475	UTR 3, <i>Transversion Substitution</i> , <i>Intron, Intragenic</i>	CTCAACATCAGTCAGCAGCCACTTA [G/T] GCAGCGG TGGAGGCATCTCTGGGCA
		rs2228570	0,3285/1645	UTR 3, <i>Transversion Substitution</i> , <i>Intron, Intragenic</i>	GGAAGTGCTGGCCGCCATTGCCTCC [A/G] TCCCTG TAAGAACAGCAAGCAGGCC

Obtido a partir da base de dados: <http://www.thermofisher.com>; <http://www.ncbi.nih.gov>; <http://genome.ucsc.edu>. MAF: Minor Allele Frequency (Frêquencia do Alelo Menor); letras em negrito e sublinhado indicam alelo mutante.

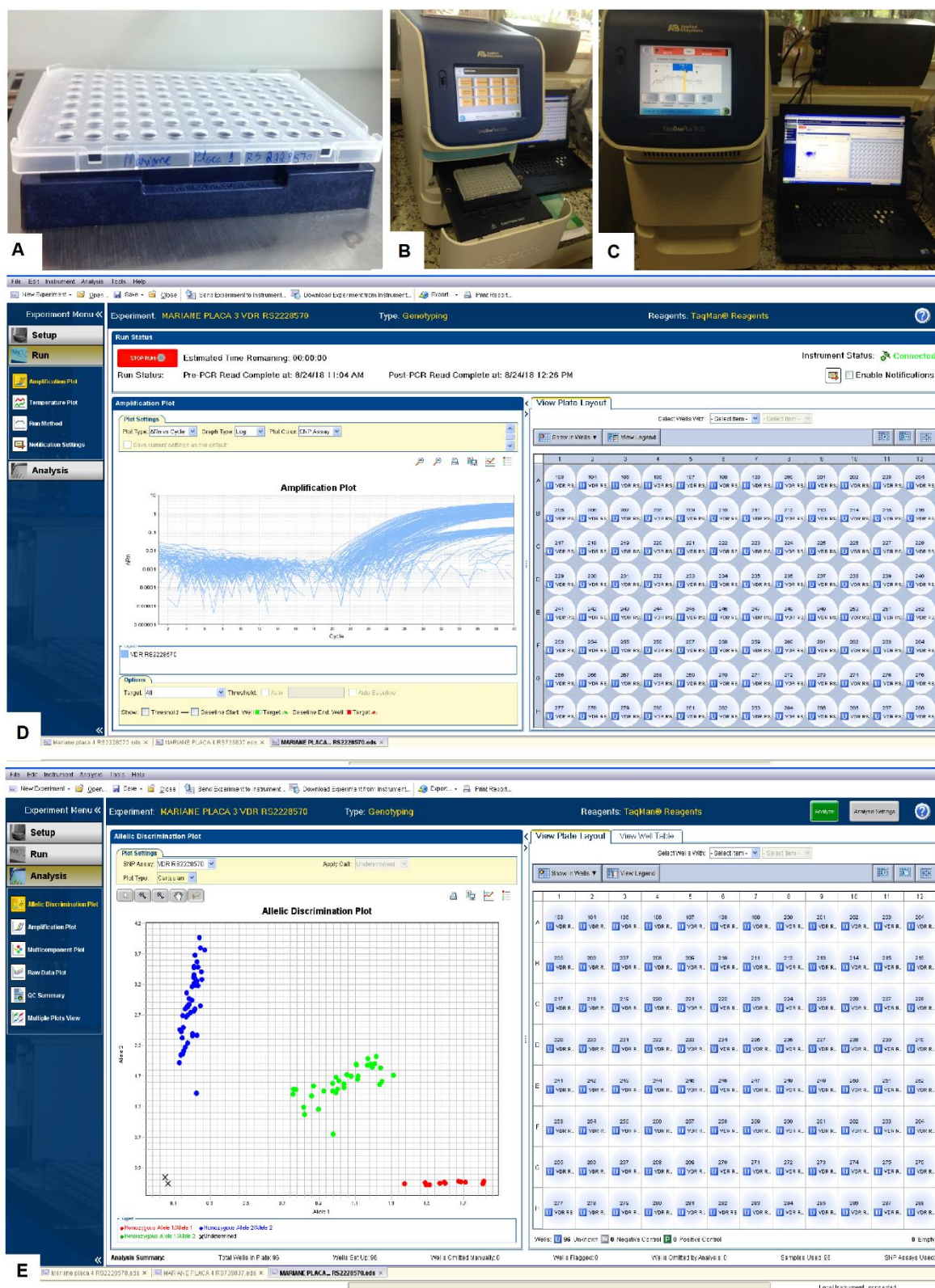


Figura 4 – Imagens ilustrativas da metodologia empregada na Genotipagem por PCR em tempo real, método Taqman

Legenda: A) Placa

B- C) Termociclador Step One Plus Real time PCR System;

D- E) Exemplo do resultado da reação.

Fonte: Do autor.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Considerando a natureza dos dados obtidos , os resultados foram analisados utilizando o software Epi Info 7.0 (Centers for Disease Control and Prevention-CDC, Atlanta, Georgia, USA). O teste de qui-quadrado ou Teste exato de Fisher foram utilizados para comparar as frequências entre os grupos. O teste T ou ANOVA foram usados para comparar as diferenças entre as médias entre os grupos. Todos os testes foram realizados com um nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS DEMOGRÁFICOS E FENÓTIPOS ORAIS DAS CRIANÇAS

Entre as 353 crianças que compuseram a amostra, a média de idade foi de 8,9 anos (DP 0,89), sendo a maioria, 147 (41,64%) com 8 anos. A distribuição de meninos e meninas foi de 170 (48,16%) e 183 (51,84%), respectivamente. A tabela 2 representa os aspectos demográficos das crianças abordadas no presente estudo.

Tabela 2 - Representação dos aspectos demográficos das crianças. Alfenas/MG, 2019.

Aspectos	n	%
Idade (anos)		
8	147	41,64
9	115	32,58
10	76	21,53
11	15	4,25
Gênero		
Feminino	183	51,84
Masculino	170	48,16
Procedência		
Zona urbana	322	91,22
Zona Rural	31	8,78
Total	353	100,00

Fonte: Do autor.

O exame clínico da cavidade bucal das crianças mostrou que a grande maioria encontrava-se na dentição mista, 308 (87,25%) e 45 (12,75%) na dentição permanente. Com relação a cárie, 202 crianças (57,22%) eram livres de lesões e 151 (42,78%) apresentavam pelo menos um dente com presença de lesão. A média de dentes afetados foi de 1,24 (DP 1,99), com variação de 0 a 16 dentes acometidos.

A avaliação das condições gengivais da população estudada, mostrou que 147 (41,64%) das crianças apresentavam sangramento gengival em pelo menos um sextante avaliado e 206 (58,36%) apresentavam sinais de normalidade gengival. Quanto a presença de biofilme, todas as crianças avaliadas apresentavam algum sextante com biofilme. A variação encontrada nos seis sextantes foi de 0,67 a 2,33, com média de 1,79 (DP 0,30).

Com relação a ocorrência de DDEs, 223 (63,17%) crianças apresentaram pelo menos um dente com defeito de esmalte (DDEs), sendo a média de dentes 3,85 (DP 2,60), e a ocorrência variando de 1 a 14 elementos. Quanto a distribuição segundo o gênero, os DDEs foram mais prevalentes no gênero feminino 115 (51,57%), contra 108 (48,43%) casos no masculino. A distribuição dos tipos, extensão e localização nas arcadas encontra-se descrita na tabela 3.

Tabela 3 - Representação dos defeitos de desenvolvimento do esmalte. Alfenas/MG, 2019.

Defeitos de esmalte	n	%
Sim	223	63,17
Não	130	36,83
Tipo de DDE		
Opacidade Demarcada	33	14,80
Opacidade Difusa	82	36,77
Hipoplasia	13	5,83
Opacidade Demarcada e difusa	54	24,21
Opacidade Demarcada e Hipoplasia	24	10,76
Opacidade Difusa e Hipoplasia	2	0,90
Combinação dos três defeitos	15	6,73
MIH	77	21,81
Extensão		
Menos de 1/3	153	68,61
De 1/3 a 2/3	64	28,7
Mais de 2/3	6	2,69
Distribuição nas Arcadas		
Maxila	70	31,39
Mandíbula	30	13,45
Ambas	123	55,16
Distribuição Antero/Posterior		
Dentes Anteriores	100	44,85
Dentes Posteriores	31	13,90
Ambos	92	41,25

Fonte: Do autor.

5.2 ASSOCIAÇÃO ENTRE OS FENÓTIPOS ORAIS COM OS FATORES PRÉ, PERI e PÓS-NATAIS

Os dados sócio-demográficos e as informações relacionadas aos hábitos de higiene bucal e dieta das crianças foram descritos e associados aos grupos cárie (Tabela 4), gengivite (Tabela 5) e respectivos controles.

Com relação a presença de cárie, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os fatores avaliados e a sua ocorrência ($p > 0,05$) (Tabela 4). Na análise dos grupos com gengivite e controle, foi encontrada significância entre o uso de fio dental e a menor susceptibilidade à gengivite na população avaliada (Tabela 5).

Tabela 4 - Dados demográficos, informações dietéticas e hábitos de higiene bucal nos grupos cárie e controle. Alfenas/MG, 2019.

Variáveis	Controle (n=202)	Cárie (n=151)	P
Gênero n(%)			
Masculino	98 (48,5%)	72 (47,7%)	0,87
Feminino	104 (51,5%)	79 (52,3%)	
Idade (média e DP)	8.9 (\pm 0,91)	8.83 (\pm 0,86)	0,84
Índice de Biofilme (média e DP)	1.7 (\pm 0,31)	1.8 (\pm 0,25)	0,79
Consome doces entre as refeições? n(%)			
Não	126 (64,6%)	85 (57,4%)	0,17
Sim	69 (35,4%)	63 (42,6%)	
Escova os dentes antes de dormir? n(%)			
Não	45 (23,6%)	32 (22,4%)	0,79
Sim	146 (76,4%)	111 (77,6%)	
Quantas vezes escova os dentes por dia? n(%)			
1 vez	22 (11,3%)	21 (14,3%)	Referência
2 vezes	76 (39,0%)	60 (40,8%)	0,58
3 ou mais vezes	97 (49,7%)	66 (44,9%)	0,32
Usa dentifrício fluoretado? n(%)			
Não	8 (10,5%)	18 (12,1%)	0,73
Sim	68 (89,5%)	131 (87,9%)	
Usa fio dental? n(%)			
Não	65 (32,8%)	63 (42,6%)	0,06
Sim	133 (67,2%)	85 (57,4%)	

DP: Desvio Padrão.

Fonte: Do autor.

Tabela 5 - Dados demográficos, informações dietéticas e hábitos de higiene bucal nos grupos com gengivite e controle. Alfenas/MG, 2019.

Variáveis	Controle (n=202)	Gengivite (n=151)	P
Gênero n(%)			
Masculino	96 (46,6%)	74 (50,3%)	0,48
Feminino	110 (53,4%)	73 (49,7%)	
Idade (média e DP)	8,9 (\pm 0,88)	8,8 (\pm 0,90)	0,89
Índice de Biofilme (média e DP)	1,7 (\pm 0,31)	1,8 (\pm 0,23)	0,77
Consome doces entre as refeições? n(%)			
Não	122 (61,6%)	89 (61,4%)	0,95
Sim	76 (38,4%)	56 (38,6%)	
Escova os dentes antes de dormir? n(%)			
Não	44 (22,3%)	33 (24,1%)	0,86
Sim	153 (77,7%)	104 (75,9%)	
Quantas vezes escova os dentes por dia? n(%)			
1 vez	24 (12,2%)	19 (13,1%)	Referência
2 vezes	76 (38,6%)	60 (41,4%)	0,67
3 ou mais vezes	97 (49,2%)	66 (45,5%)	0,66
Usa dentifrício fluoretado? n(%)			
Não	20 (9,9%)	16 (11,0%)	0,73
Sim	183 (90,1%)	130 (89,0%)	
Usa fio dental? n(%)			
Não	65 (32,3%)	63 (43,4%)	0,03*
Sim	136 (67,7%)	82 (56,6%)	

DP: Desvio Padrão * Diferença estatisticamente significante ($P < 0,05$).

Fonte: Do autor.

Adicionalmente, foi realizada a análise dos fatores etiológicos presentes durante o período pré, peri e pós-natal associados com a ocorrência de defeitos de

desenvolvimento do esmalte (DDEs). Nenhum dos fatores se mostrou estatisticamente associado às alterações presentes no esmalte ($P < 0,05$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Associação entre os fatores presentes durante o período pré, peri e pós-natal e os defeitos de desenvolvimento do esmalte. Alfenas/MG, 2019.

(Continua)

Características	Controle n (%) ou média ±DP	DDE n (%) ou média ±DP	P	DDE > 2/3 n (%) ou média ±DP	P	HMI n (%) ou média ±DP	P
Fumou na gestação							
Sim	24 (61,5%)	44 (19,8%)	$P>0,05$	0 (0,0%)	$P>0,05$	14 (18,4%)	$P>0,05$
Não	15 (38,5%)	178 (80,2%)		6 (100,0%)		62 (81,6%)	
Ingeriu bebidas alcoólicas							
Sim	12 (9,4%)	21 (9,5%)	$P>0,05$	1 (16,7%)	$P>0,05$	8 (10,7%)	$P>0,05$
Não	116 (90,6%)	200 (90,5%)		5 (83,3%)		67 (89,3%)	
Pré-natal							
Sim	128 (98,5%)	217 (98,2%)/	$P>0,05$	6 (100,0%)	$P>0,05$	74 (%)	$P>0,05$
Não	2 (1,5%)	4 (1,8%)		0 (0,0%)		2 (2,6%)	
Problemas de saúde na gestação							
Sim	18 (13,9%)	29 (13,1%)	$P>0,05$	0 (0,0%)	$P>0,05$	8 (10,5%)	$P>0,05$
Não	111(86,1%)	192 (86,9%)		6 (100,0%)		68 (89,5%)	
Idade materna na gestação (anos)							
Média (DP)	25,2 (±7,60)	25,2 (±6,37)	$P>0,05$	27,83 (±6,27)	$P>0,05$	24,64 (±6,72)	$P>0,05$
Tipo de Parto							
Normal	56 (44,8%)	103 (47,2%)	$P>0,05$	3 (50,0%)	$P>0,05$	40 (53,3%)	$P>0,05$
Cesária	69 (55,2%)	115 (52,8%)		3 (50,0%)		35 (46,7%)	

Tabela 6 - Associação entre os fatores presentes durante o período pré, peri e pós-natal e os defeitos de desenvolvimento do esmalte. Alfenas/MG, 2019.

(Conclusão)

Características	Controle n (%) ou média \pm DP	DDE n (%) ou média \pm DP	P	DDE > 2/3 n (%) ou média \pm DP	P	HMI n (%) ou média \pm DP	P
Duração do parto (horas)							
Média (DP)	4,15 (\pm 5,43)	3,90 (\pm 4,63)	$P>0,05$	4,20 (\pm 3,76)	$P>0,05$	4,33 (\pm 5,00)	$P>0,05$
Complicações no parto							
Sim	11 (8,7%)	17 (7,8%)	$P>0,05$	1 (16,7%)	$P>0,05$	8 (10,7%)	$P>0,05$
Não	116 (91,3%)	200 (92,2%)		5 (83,3%)		67 (89,3%)	
Nascimento prematuro							
Sim	13 (10,6%)	22 (10,5%)	$P>0,05$	0 (0,0%)	$P>0,05$	6 (8,3%)	$P>0,05$
Não	109 (89,4%)	188 (89,5%)		5 (100,0%)		66 (91,7%)	
Peso ao nascer (g)							
Média (DP)	3022,22 (\pm 568,93)	3108,35 (\pm 660,73)	$P>0,05$	3420,00 (\pm 164,32)	$P>0,05$	3156,45 (\pm 624,79)	$P>0,05$
Comprimento ao nascer (cm)							
Média (DP)	48,44 (\pm 4,55)	48,2 (\pm 4,59)	$P>0,05$	51,80 (\pm 4,87)	$P>0,05$	48,08 (\pm 3,92)	$P>0,05$
Doença até os três anos de vida							
Sim	32 (24,8%)	66 (30,3%)	$P>0,05$	1 (16,7%)	$P>0,05$	28 (37,3%)	$P>0,05$
Não	97 (75,2%)	152 (69,7%)		5 (83,3%)		47 (62,7%)	

Fonte: Do autor.

5.3 ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS rs739837 E rs2228570 NO GENE VDR E OS FENÓTIPOS ORAIS

A tabela 7 apresenta as distribuições dos genótipos para os polimorfismos rs739837 e rs2228570 nos grupos cárie e gengivite. As distribuições de genótipos não foram estatisticamente significantes entre os grupos de cárie e gengivite com seus respectivos controles ($p > 0,05$), para ambos os polimorfismos.

Tabela 7 - Distribuição dos genótipos entre os grupos cárie e gengivite. Alfenas/MG, 2019.

Polimorfismo	Grupos	Genótipos n (%)			
		CC	CT	TT	P
rs739837	Livres de cárie	43 (21,4%)	92 (45,8%)	66 (32,8%)	0,58
	Com lesões de cárie	29 (19,3%)	77 (51,3%)	44 (29,4%)	
	Livre de gengivite	39 (19,0%)	97 (47,3%)	69 (33,7%)	0,48
	Com gengivite	33 (22,6%)	72 (49,3%)	41 (28,1%)	
rs2228570		AA	AG	GG	
	Livres de cárie	26 (12,9%)	87 (43,1%)	89 (44,0%)	0,31
	Com lesões de cárie	20 (13,2%)	57 (37,8%)	74 (49,0%)	
	Livre de gengivite	25 (12,1%)	83 (40,3%)	98 (47,6%)	0,76
Com gengivite	21 (14,3%)	61 (41,5%)	65 (44,2%)		

Fonte: Do autor.

Com relação a associação entre os genótipos para os polimorfismos rs739837 e rs2228570 e a ocorrência de DDEs, também não foi observada diferença estatisticamente em ambos os polimorfismos ($p > 0,05$) (Tabela 8).

Tabela 8 - Distribuição dos genótipos para os defeitos de desenvolvimento do esmalte. Alfenas/MG, 2019.

Polimorfismo	Grupos	Genótipos n (%)			
		CC	CT	TT	P
rs739837	Controle	26 (20,1%)	62 (48,0%)	41 (31,7%)	Referência
	DDE	46 (20,7%)	107 (48,2%)	69 (31,0%)	0,98
	DDE > 2/3	0 (0,0%)	4 (66,7%)	2 (33,3%)	0,88
	MIH	18 (23,7%)	32 (42,1%)	26 (34,2%)	0,69
rs2228570		AA	AG	GG	
	Controle	23 (17,6%)	50 (38,4%)	57 (43,8%)	Referência
	DDE	23 (10,3%)	94 (42,1%)	106 (47,5%)	0,13
	DDE > 2/3	1 (16,7%)	2 (33,3%)	3 (50,0%)	0,95
	MIH	7 (9,2%)	33 (43,4%)	36 (47,4%)	0,24

Fonte: Do autor.

6 DISCUSSÃO

6.1 PREVALÊNCIA DOS FENÓTIPOS ORAIS

O presente estudo avaliou a prevalência de fenótipos orais (cárie dentária, gengivite e defeitos do esmalte) em crianças do município de Alfenas, cidade de médio porte do sudeste do Brasil, com população de 73,774 habitantes, que apresenta boas condições de acesso aos serviços de saúde e fluoretação nas águas de abastecimento desde 1975.

A cárie dentária é um importante problema de saúde bucal que afeta 2,43 bilhões de pessoas (35,3% da população) em todo o mundo no ano de 2010 (VOZ et al., 2010). Segundo os resultados da última Pesquisa Nacional de Saúde Bucal (SB Brasil) realizada no Brasil em 2010, entre as crianças com cinco anos de idade, existiam 46,6% livres de cárie e com 12 anos, a prevalência foi de 43,5% com ausência de lesões cariosas. Entretanto, Oliveira (2012) ao realizar um levantamento epidemiológico entre escolares (8 a 12 anos) de Patrocínio Paulista / SP, outro município de médio porte da região sudeste do Brasil, encontraram 67% de prevalência de crianças com lesões de cárie.

Durante os exames clínicos da cavidade bucal das crianças, observamos em nosso estudo que 57,22% das crianças eram livres de lesões e 42,78% apresentavam pelo menos um dente com presença de cárie. Desta forma, os escolares de Alfenas/MG, apresentavam melhores condições do que a prevalência estimada nacionalmente.

Nas últimas décadas, observou-se um declínio na prevalência de cárie dentária entre as crianças e jovens brasileiros (MARTINS et al., 2006), consequência das melhorias de saúde pública, que incluem: a incorporação de flúor na água de abastecimento público e no dentifrício, a ampliação do acesso ao serviço público odontológico e o estímulo às atividades de promoção e prevenção em saúde bucal (NARVAI et al., 2006; MÜLLER et al., 2015).

Além das lesões cariosas, as alterações periodontais são alterações bucais altamente prevalentes na população. Estima-se que a gengivite esteja presente em

90% dos indivíduos, apesar de sua extensão e severidade serem bastante variadas (OPPERMANN et al., 2015). No último levantamento epidemiológico em saúde bucal (BRASIL, 2011), aproximadamente 62,9% das crianças brasileiras de 12 anos apresentavam todos os sextantes saudáveis.

Em nosso estudo, ao avaliarmos as características dos aspectos gengivais da população estudada encontramos que 41,64% apresentavam gengivite, valores aproximados a pesquisa nacional (BRASIL, 2011) a aos achados de BASHIRIAN et al., 2018 que encontraram 52,9% das crianças com sangramento gengival.

Em contrapartida, Tomazoni et al. (2017) avaliaram a prevalência de gengivite em escolares brasileiros e encontraram 96,2% das crianças com sangramento gengival. Outros autores, também encontraram prevalência mais elevada, Neves et al. (2010) observaram 97,2% em crianças do nordeste brasileiro, Ballouk e Dashasn (2018) encontraram gengivite em 97,3% das crianças da Síria, Tantawi e Alagl (2018) em 73,9% em crianças da Arábia Saudita e em 91,0% das crianças na Romênia (FUNIERU et al., 2017).

Quanto a presença de biofilme, todas as crianças avaliadas em nosso estudo, apresentavam algum sextante com biofilme. Neves et al. (2010) encontraram que 97,2% dos escolares avaliados apresentam biofilme visível. Aproximadamente 40 a 50% da placa permanece nos dentes após a escovação, e os efeitos da placa são citados como etiologia de algumas doenças bucais, incluindo cárie e gengivite (CLAYDON, 2008)

Os defeitos de desenvolvimento do esmalte (DDE) são alterações bucais que acometem o esmalte dentário (LACRUZ et al., 2012). Apresentam importante relevância para a atuação clínica, pois são prevalentes na população e influenciam diretamente a qualidade de vida dos indivíduos, devido ao comprometimento estético e o aumento da susceptibilidade a cárie (DE REZENDE et al., 2014; ONORIOBE et al., 2014; MATA, 2017; VARGAS-FERREIRA et al., 2018).

Em nosso estudo a ocorrência de DDE nas crianças foi de 63,17%, equivalente aos achados de Vagas-Ferreira et al., (2018) que encontraram essa alteração em 64% dos escolares do município de Araraquara. Outros estudos também encontraram resultados análogos, na Índia a ocorrência de DDEs foi de 66,2% (CHAUHAN et al. 2013) e na Malásia, foi encontrado em 67,1% dos escolares (SUJAK et al., 2004).

Até o momento, encontramos na literatura diversos estudos que avaliaram a prevalência de DDEs no Brasil e no mundo, contudo os valores são heterogêneos.

Jalevik (2010) em revisão sistemática encontrou uma variação de 2,4% a 40,2% na ocorrência dos defeitos de desenvolvimento de esmalte. Ravindran e Saji (2016) relataram que a prevalência de DDE apresenta variação de 6,7% a 67,1% nos países desenvolvidos e nos países em desenvolvimento, como o Brasil, é de 27% a 66,2%.

A discrepância entre a prevalência nos diversos estudos, pode ter sido influenciada pela diferença de idade das crianças avaliadas e pela variedade de índices utilizados na metodologia durante a aferição da presença do defeitos de desenvolvimento do esmalte. Além disso, supõe-se a interferência das mudanças no padrão dos perfis de saúde das crianças nas últimas duas décadas, devido à imunização, o uso de medicamentos e instalações médicas prontamente disponíveis (WONG et al., 2014). Portanto, a comparação de prevalências é difícil de ser realizada entre os estudos.

Quanto aos tipos de DDE, no presente estudo, a opacidade difusa foi a mais encontrada (36,77%), seguida pela opacidade demarcada (14,80%). Ramesh et al. (2011) e Chauhan et al. (2013) observaram dados semelhantes, encontrando que a opacidade difusa como a mais comum. Por outro lado, Robles et al., (2013) e Ravindran e Saji (2016), observaram em seus estudos uma maior prevalência de opacidade demarcada, divergindo dos achados deste trabalho.

Ademais, em nosso estudo, os defeitos de desenvolvimento do esmalte apresentaram-se mais frequentes em ambas as arcadas (55,16%), seguido pela maxila (31,39%). Esses achados divergem de Massignan et al., 2016, que encontraram 60% dos defeitos localizados na mandíbula. Ao avaliar a extensão do defeito, a maioria (68,61%) estendiam-se por menos de 1/3 do dente e apenas 2,69% por mais de 2/3. Esses achados corroboram com Ravindran e Saji (2016), que obtiveram aproximadamente 79% dos DDEs com até 1/3 de extensão. Contudo, Masterson et al. (2018) encontraram mais comumente (47%) a extensão de 1/3 a 2/3 de acometimento da superfície dental.

Quanto a distribuição por gênero, houve uma distribuição homogênea entre meninas (62,84% - 115) e meninos (63,53% - 108). Esta igualdade na manifestação da referida alteração entre os gêneros também foi observada em outros estudos prévios (MASSIGNAN et al., 2016; IBIYEMI et al., 2018; FERREIRA-VARGAS et al., 2018).

Em contraste, Robles et al. (2013) encontraram maior risco de desenvolvimento de DDE em meninos, e segundo Memarpour et al. (2014) as

meninas apresentavam 1,33 vezes mais chances de ter DDE. Desta forma, os achados na literatura acerca da predileção por gênero, localização em arcada e extensão do defeito ainda são inconsistentes.

A hipomineralização Molar-Incisivo (HMI) também foi avaliada neste estudo e a prevalência encontrada foi de 21,81%. Silva et al. (2016), em revisão sistemática destacaram que a prevalência de HMI pode variar entre 2,4% e 40,2%. De forma equivalente, Tourino et al. (2016) observaram que 20,4% dos escolares brasileiros, com 8 e 9 anos, apresentavam HMI. Em crianças espanholas a ocorrência foi de 21,8%, dados que concordam com nossos achados (GARCIA-MARGART et al., 2013).

Em amostras de crianças brasileiras foram observadas prevalências inferiores ao nosso estudo. Em Patrocínio Paulista/ SP aproximadamente 14% das crianças apresentavam HMI (OLIVEIRA, 2012), em Araraquara/SP constataram essa alteração em 12,3% dos escolares (JEREMIAS al., 2013) e em 7,44% das crianças de Manaus/AM (ALVES FILHO, 2015).

Essas diferenças entre as prevalências de HMI, podem ser explicadas pelo método utilizado e pela idade da amostra avaliada. Neste estudo adotou-se o critério de diagnóstico para HMI, o DDE Index (1992) e a presença de pelo menos um molar permanente afetado que deveria estar associado a algum incisivo permanente.

6.2 ASSOCIAÇÃO DOS FATORES RELACIONADOS A ETIOLOGIA DOS FENÓTIPOS ORAIS

Os fenótipos orais avaliados neste estudo apresentam etiologia multifatorial, por isso foram associados aos fatores relacionados ao risco de desenvolvimento da alteração. Desta forma, avaliamos a associação entre a cárie dentária e os hábitos alimentares e de higiene bucal, e não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os aspectos avaliados e a presença de Cárie.

O consumo de alimentos açucarados entre as refeições foi associado à cárie dentária em diversos estudos, ademais é descrita como um importante fator etiológico

(GUEIROS; SILVA, 2003; DOMEJEAN-ORLIAGUET, 2006; IFLIKHAR et al, 2012; SHROTH et al., 2013; HAN et al., 2014; YAZEED et al., 2018). Contudo, em nosso estudo, não foram encontradas associações entre o consumo de doce entre as refeições e à cárie, o que também não foi constatado por outros autores (PUNITHA et al 2015).

A falta de remoção do biofilme está associada ao aparecimento e desenvolvimento de lesões de cárie (CHANKANKA et al., 2011). Ao avaliarmos este aspecto, não encontramos associação com a frequência de escovação e nem com a sua realização antes de dormir. Hujoel et al. (2018) em uma recente revisão sistemática, encontrou que a higiene bucal não apresentava impacto sobre as taxas de cárie dentária, embora Zeng et al. (2018), tenham demonstrado que quando a escovação é realizada somente uma vez por dia há um aumento na prevalência de lesões cariosas.

Além da escovação, o uso de dentifrício fluoretado também não foi associado a cárie em nosso estudo. Equivalentemente, Zeng et al. (2018), também não encontraram associação, contudo outros pesquisadores mostraram que a carie dentária foi menos prevalente entre crianças que utilizavam o dentifrício fluoretado (MANTONANAKI et al., 2013; ANIL, ANAND, 2017). O mesmo raciocínio pode ser empregado para o uso do fio dental, onde não observamos associação significativa, assim como Hujoel et al. (2018).

Embora a cárie seja reconhecida como a doença bucal mais persistente e frequente na infância, muitas crianças apresentam sintomas de doenças periodontais (JIN et al., 2016). No presente estudo, a ocorrência de gengivite foi associada aos mesmos fatores que a cárie, sendo também observado resultados semelhantes, exceto para a utilização do fio dental.

O consumo de alimentos adocicados entre as refeições não foi associado a gengivite em nosso estudo, embora outros autores já associaram a nutrição inadequada e o alto consumo de alimento doces a um aumento na prevalência de gengivite em crianças (MIRKARIMI et al., 2016; KESHANI et al., 2016; KAMALIKHAH et al. 2015).

Ademais, também avaliamos a quantidade de biofilme encontrada nos elementos dentários e não foi significativa a associação com a gengivite entre os escolares. No entanto, Amran et al. (2016) e Kamienska et al. (2018) encontraram

uma correlação entre a quantidade de placa bacteriana e a probabilidade de sangramento, o que evidencia a relação entre gengivite e o estado de higiene oral.

A presença de placa bacteriana está descrita na literatura com fator de risco para o desenvolvimento de doença gengival e periodontal. Para o correto controle e remoção da placa, a escovação dentária realizada corretamente é essencial e associada ao uso do fio dental demonstra evidências de melhora na quantidade de acúmulo de placa interproximal (BIESBROCK et al., 2006). Em nosso estudo, o uso de fio dental foi associado a ocorrência de gengivite entre os escolares de Alfenas.

Hujoel et al. (2006) apontam que o uso do fio dental, quando realizado da maneira correta, provavelmente é um método eficaz contra a inflamação gengival e também para a prevenção da cárie dentária. Entretanto, as evidências com relação a associação entre o uso do fio dental e a prevalência de gengivite ainda despertam controvérsia na literatura. Para Chapple et al. (2015) o uso do fio dental não foi considerado o instrumento mais adequado para o controle da gengivite, e somente deveria ser recomendado para aqueles locais onde você não pode usar escovas de dente interdentais. Por outro lado, Salzer et al. (2015), destacaram em revisão sistemática que embora a maioria dos estudos não demonstrem que o uso do fio dental foi o método mais eficaz, está associado ao menor risco de gengivite.

Kotsakis et al. (2018) ao realizar uma meta-análise que o uso do fio dental não supervisionado não produziu reduções substanciais na inflamação gengival. Contudo os autores afirmam que é preciso cautela ao analisar esses dados, visto que já é consagrado na literatura e altamente recomendado por dentistas e associações dentárias o uso do fio dental, por apresentar excelente capacidade de remoção de biofilme nas áreas interdentais (LANG et al., 1995).

Em relação aos possíveis fatores relacionados aos defeitos de desenvolvimento de esmalte, em nosso estudo, avaliamos a associação com aspectos presentes durante os períodos pré, peri e pós-natal, capazes de interferir na constituição do esmalte dentário durante as diversas etapas de sua formação (JEREMIAS et al., 2013). De acordo com a literatura, destacam-se os traumas dentofaciais, problemas de saúde na gestação, nascimento prematuro, baixo status socioeconômico, disfunções sistêmicas como infecções microbianas e respiratórias, alterações nutricionais e problemas de saúde nos primeiros anos de vida (SEOW, 2014; VARGAS-FERREIRA et al., 2018; MASTERSON et al., 2018),

As associações entre os DDEs e as características presentes no período pré, peri e pós-natal, não foram significativas em nosso estudo. Nossos resultados confirmaram os achados de trabalhos anteriores, que também não encontraram associação com estes fatores (WHATLING; FEARNE, 2008; WONG et al., 2014).

Gisoo et al. (2010) encontraram uma associação significativa entre a presença de doenças sistêmicas durante os primeiros 5 anos de vida e a prevalência de DDE. Ademais, Mihaela et al. (2011) relataram associação entre o consumo de drogas ou substâncias químicas durante os primeiros anos de vida com o risco de desenvolver DDE. Equivalentemente, Ford et al. (2009) indicaram que o tabagismo dos pais estava correlacionado com o Desenvolvimento de alterações no esmalte dentário.

Assim como nosso estudo, Faria et al. (2013) não encontraram associação entre os defeitos de desenvolvimento de esmalte (DDE) e nascimento prematuro. Contudo, outros autores já obtiveram associação com bebês nascidos prematuramente (GISOO et al., 2010; ARROW, 2009; CORTINES et al., 2019). Uma hipótese para a possível associação de nascimento prematuro com o maior risco de DDE é a ocorrência de trauma local na cavidade bucal destas crianças. Durante os procedimentos de intubação para assistência ventilatória e suporte nutricional (CORTINES et al., 2019).

Crianças que apresentavam baixo peso ao nascimento também foram associadas ao maior risco de desenvolver DDE (ENACHE et al., 2010; PINTO et al., 2012; BASHA et al., 2014). Uma possível explicação é que, a má nutrição e pouco desenvolvimento da criança, possa interferir na função dos ameloblastos, os quais não obtêm os nutrientes necessários para secretar o esmalte, ocasionando uma série de alterações clínicas (NELSON et al., 2013).

Além disso, outros autores encontraram que a presença dos defeitos de desenvolvimento do esmalte estava associada a idade materna jovem (FARIA et al., 2013; CORTINES et al., 2019). Ademais, Massoni et al. (2009) encontraram associação com o retardo de crescimento intrauterino e a idade gestacional jovem. Gisso et al (2010) obteve associação com a presença de doenças na mãe durante o período gestacional.

Além dos DDES, também avaliamos a associação de fatores presente durante os períodos pré, peri e pós-natais com a ocorrência de Hipomineralização Molar-Incisivo, e nossos achados não foram significantes. Contrapondo-se, Ghanim et al.

(2012) e Pitiphat et al. (2014) constataram que as condições de saúde pré-natal e perinatal foram associadas ao desenvolvimento de HMI.

Ademais, Tourino et al. (2016) também encontrou que o HMI estava relacionado ao uso de medicamentos durante a gravidez, parto prematuro e oxigenação ao nascimento. Em coontrapartida, Silva et al. (2016) observaram em revisão sistemática, que um número limitado de estudos mostraram associações significativas entre HMI e fatores pré e perinatais, como doença materna e uso de medicamentos na gravidez, prematuridade e complicações no parto. E desta forma esses achados necessitam de maiores investigações.

Wu et al. (2018) em revisão sistemática e meta análise, encontrou que bebês prematuros (32 à 37 semanas) e baixo peso (<2500 gramas) apresentavam maiores riscos de desenvolver HMI. Do mesmo modo, Tourino et al. (2016) encontrou que o parto prematuro estava associado ao risco de HMI.

Ghanim et al. (2012) ao contrário de nosso estudo, encontraram que as crianças com maior prevalência de hipomineralização molar-incisivo apresentavam maior número de condições médicas durante os primeiros anos de vida, embora nenhuma alteração de saúde tenha sido identificada como um fator de risco. Esses achados concordam com os de Silva et al. (2016) que realizaram uma revisão sistemática e encontraram que a doença infantil provavelmente estava associada ao HMI, principalmente a asma, pneumonia e febre.

6.3 ASSOCIAÇÃO DOS FENÓTIPOS ORAIS COM OS POLIMORFISMOS rs739837 E rs2228570 DO GENE VDR

Em nosso estudo, avaliamos a presença de alterações que acometem a cavidade bucal, principalmente o esmalte dentário, um tecido que é formado por células específicas do dente, os ameloblastos, e que são responsáveis pela produção e secreção de proteínas da matriz do esmalte durante a fase secretora da amelogênese (YOSHIZAKI; YAMADA, 2013; HU et al., 2015). Logo após, durante o

estágio de maturação, os ameloblastos realizam a degradação e a reabsorção das proteínas da matriz que serão substituídas por cálcio e fosfato. Tais eventos criam espaço para cristais de esmalte aumentar em espessura e largura, levando ao endurecimento do esmalte dentário (YOSHIZAKI; YAMADA, 2013).

Durante todo esse processo, vários genes-chave estão envolvidos e a mineralização será resultado da passagem sequencial de muitos íons minerais por entre as barreiras celulares e fluidas (LACRUZ et al., 2012). As etapas de formação e calcificação do esmalte dentário são processos altamente regulados e estão sob estrito controle genético. Desta forma, parece razoável supor que variação em genes que codificam proteínas envolvidas na amelogênese pode contribuir para o aumento do risco de afecções que acometem esse tecido dental.

DeLuca (2004) descreve que a vitamina D tem função de manter as concentrações plasmáticas de cálcio em um nível constante, além de importante ação na modulação da resposta imunológica (JAVORSKI et al., 2018) e por isso, apresenta grande importância para o desenvolvimento e mineralização dos ossos e dos dentes. Além disso, sabe-se que os ameloblastos são extremamente sensíveis às flutuações séricas do cálcio, mesmo em curtos períodos de tempo (LACRUZ, 2017).

Alguns estudos já mostraram que a deficiência de vitamina D, influenciou o risco de desenvolvimento de DDE e de cárie dentária (SCHROTH et al., 2014). Kuhnisch et al. (2015), também encontraram associação entre os níveis séricos e as alterações no esmalte. Contudo, Van der Tas et al. (2018) não encontraram associação entre as concentrações de vitamina D com o maior risco de HMI.

Ademais, Pinto et al. (2018), em revisão sistemática, encontraram diversos estudos em que os níveis de vitamina D estavam associados ao risco de doença periodontal, contudo os dados eram inconclusivos até o presente momento. Desta forma, os estudos citados demonstram que os fenótipos orais avaliados neste trabalho, possivelmente são influenciados pelos níveis de vitamina D.

Em nosso estudo, investigamos se os polimorfismos rs2228570 e rs739837 localizados no gene Receptor da Vitamina D (VDR) estavam associados aos fenótipos avaliados. Foi selecionado tais polimorfismos, pois a maioria das atividades biológicas da vitamina D, possivelmente, funcionam através do controle de genes-alvo mediado pelo VDR (KATO, 2000). Contudo, essas informações ainda necessitam ser melhor esclarecidas na literatura.

A cárie dentária apresenta etiologia que inclui fatores genéticos e ambientais. Os fatores ambientes são amplamente descritos, mas o papel dos fatores genéticos ainda é bastante desconhecido, contudo diversos estudos sendo recentes estão realizados (WENDELL et al., 2010; RAIVISTO et al., 2018). Abbasoglu et al. (2015) ao analisar variantes em genes candidatos, encontraram que os fatores ambientais e as interações gênicas podem atuar como fator de risco ou de proteção para cáries precoce em crianças. Ademais, esses fatores atuando juntos podem contribuir para a presença e gravidade da doença.

A cárie é uma afecção hereditária, e os genes que afetam o risco da doença na dentição decídua podem ser diferentes daqueles que afetam a permanente (WANG et al., 2010; BAYRAM et al., 2015). A herdabilidade da cárie dentária varia de 40% a 60% (WANG et al., 2010; WENDELL et al., 2010). Desta forma, o estudo de genes que afetam a susceptibilidade pode ajudar a identificar os indivíduos em risco e melhorar a implementação de estratégias preventivas antes do início da cárie (WENDELL et al., 2010).

Hu et al. (2015) realizaram o primeiro estudo propondo que variantes no gene VDR poderiam estar associadas a cárie. Sua hipótese justificou-se devido as características e ao papel da vitamina D para a formação dos tecidos dentários. Logo após, outros autores também iniciaram a discussão da associação dos polimorfismos neste gene com a susceptibilidade a cárie dentária.

Raivisto et al. (2018) também avaliaram SNPs em genes candidatos para a cárie dentária, dentre estes os polimorfismos rs1544410 e rs2228570 localizados no gene VDR, e ambos não apresentaram associação com o maior risco para a cárie. Esse achado concorda com nosso estudo, que também avaliou o polimorfismo rs2228570 e não obteve significância quando associado a cárie dentária.

Em nosso estudo o polimorfismo rs739837 também não foi associado a cárie. Não encontramos outros estudos que avaliaram esta mesma variante associada a susceptibilidade a doença cárie, por isso maiores discussões serão inviabilizadas. Contudo, outros autores avaliaram o papel de outros polimorfismos localizados no mesmo gene (VDR).

Hu et al. (2017) também estudaram a associação de alguns SNPs no gene VDR com a cárie, e encontraram que a susceptibilidade em adolescentes estava aumentada na presença da variante do gene FokI (rs10735810). Em contrapartida, os demais (*Apal* -rs7975232; *BsmI* - rs1544410 e *TaqI* - rs731236) não obtiveram

diferença estatisticamente significativa.

Ademais, a variante do gene VDR rs731236 em um estudo Tcheco não foi associada a cárie em crianças, desta forma os autores sugeriram que esse polimorfismo não poderia ser usado como um marcador para identificar um maior risco de cárie em crianças (HOLLA et al., 2017). Contrapondo-se Hu et al. (2015) encontrou associação com a variante do gene VDR rs731236, assim como Cogulu et al. (2016) obteve achados parecidos e concluiu em seu estudo que os polimorfismos presentes no gene receptor da vitamina D poderiam ser usados como um marcador para a identificação de pacientes com alto risco de cárie dentária, sendo necessário a realização de mais estudos para a confirmação.

Além disso, o polimorfismo BsmI (rs1544410) no gene VDR mostrou maior risco para a cárie na dentição decídua de crianças chinesas (KONG et al., 2017). O autor afirma que esse mecanismo precisa continuar a ser verificado através de experimentos para confirmar os achados. Desta forma, esses estudos apontam para uma relação entre as variantes do gene VDR e a susceptibilidade a cárie dentária em ambas as dentições.

As doenças periodontais são doenças multifatoriais complexas, que envolvem a interação de fatores genéticos e ambientais, como sexo, idade, tabagismo e doenças sistêmicas (TABA et al, 2012). Muitos genes já foram associados as alterações periodontais, entre eles o gene receptor de vitamina D (VDR) (MASHHADIABBAS et al., 2018).

Mashhadiabbas et al. (2018) em revisão sistemática, buscou uma melhor compreensão dos papéis dos polimorfismos do VDR (BsmI - rs1544410, TaqI - rs1544410, FokI - rs7975232 e Apal - rs731236) na suscetibilidade a periodontite crônica. No geral, não foi observada associação significativa entre as variantes citadas e o risco de periodontite crônica em qualquer modelo genético analisado na revisão sistemática.

Avaliando a periodontite crônica severa, Rastheesh et al. (2018) não encontraram associação entre o polimorfismo TaqI no gene VDR. Contudo, Shi et al. (2017) concluíram em meta-análise, que o polimorfismo BsmI estava associado à diminuição do risco de periodontite em chineses, contudo outros estudos são necessários para confirmar o comportamento em em outros grupos étnicos.

Em relação a gengivite, Holla et al., (2017) encontrou associação entre o polimorfismo TaqI do gene VDR e a inflamação gengival. Em nosso estudo, não

encontramos associação dos polimorfismos rs2228570 e rs739837 com o risco de gengivite nas crianças.

Na literatura, não encontramos estudos que avaliaram a relação entre alterações gengivais e o SNP rs739837. Ademais, obtivemos poucos estudos que associaram o SNP rs2228570 com as alterações gengivais e periodontais. Tobón-Arroyave et al. (2017) observaram que embora os seus resultados não suportem que o SNP rs2228570 no gene VDR pudessem ser identificados como variáveis preditoras independentes de risco para periodontite na população colombiana, os efeitos interativos biológicos relacionados à idade podem desempenhar um papel significativo nas vias patogênicas da periodontite.

Tanaka et al. (2013) avaliaram o SNP rs2228570 e de modo geral concluíram que o alelo T poderia estar correlacionado com um maior risco de periodontite. Além disso, Heikkinen et al. (2016) avaliaram em adolescentes a associação de polimorfismos com a periodontite inicial, e encontraram que o principal alelo C do SNP rs2228570 do receptor da vitamina D era um fator protetor. No entanto, outros estudos não relataram associação entre rs2228570 e periodontite (Wang et al., 2009; Wang; Zhang; Chen, 2015 ; El Jilani et al., 2015)

Os defeitos de desenvolvimento de esmalte (DDE) apresentam etiologia multifatorial que inclui os fatores genéticos. Até o momento já foram associados a diversos polimorfismos genéticos (POULTER et al., 2014; GERRETH et al., 2017). Inicialmente os estudos foram realizados com genes envolvidos na formação e mineralização do esmalte dentário, que são candidatos óbvios para influenciar o risco do desenvolvimento de alterações no esmalte.

Entre os genes estudados, os DDEs foram associados positivamente com o AMELX e AMBN, TUFT1 e TFIP11, ERS1 e GHR, e VDR (GERRETH et al., 2018; JEREMIAS et al., 2013; ARID et al., 2019; ULUCAN et al., 2013). Porém, ainda há muito a ser elucidado em relação ao estudo dos diferentes polimorfismos nos diversos genes (OLIVEIRA et al., 2018).

Na literatura, encontramos poucos estudos que buscaram uma associação entre os polimorfismos no gene VDR e os defeitos de desenvolvimento do esmalte. Ulucan et al. (2013) avaliou a associação entre dentinogênese imperfeita e os Polimorfismos rs731236, rs7975232 e o rs10735810 localizados no gene VDR e concluíram que estes SNPs, poderiam afetar o desenvolvimento da dentina e do esmalte (ULUCAN et al., 2013).

No presente estudo, com relação à distribuição do genótipo entre os grupos controle e DDE, foi evidenciado que os polimorfismos rs2228570 e rs739837 não foram associados a susceptibilidade ao DDE. Contudo, outros SNPs no gene VDR já foram associados ao maior risco de defeitos nos tecidos dentais por interferir nas etapas da amelogênese (ULUCAN et al., 2013). Desta forma, acredita-se que outros polimorfismos no receptor da Vitamina D poderiam estar associados com os defeitos no esmalte dentário.

Com relação a possível associação com a Hipomineralização Molar-Incisivo, nosso estudo também não encontrou associação com os polimorfismos avaliados. Assim como os DDEs, a literatura é escassa em relação a estudos que buscaram essa associação.

Jeremias et al. (2013) mostraram que SNPs em genes que codificam proteínas envolvidas na formação de esmalte dentário (AMBN, AMELX, ENAM e TUFT1) podem causar HMI em pacientes. Foi possível notar que algumas variantes indicaram uma tendência de associação com a susceptibilidade ao HMI (ENAM e TUFT1), enquanto outras mostraram uma tendência na outra direção, sugerindo um efeito protetor contra o desenvolvimento de HMI (AMBN). Jeremias et al. (2016) avaliaram, em famílias brasileiras, a associação da ocorrência de HMI com polimorfismos de nucleotídeos único em genes relacionados com a amelogênese, e encontraram associação com SNPs localizados em diferentes genes (AMELX, ENAM, ABMN, TFFT1).

Embora saiba-se que a influência de fatores genéticos é um item relevantes no desenvolvimento e saúde das dentições e que os polimorfismos são capazes de ocasionar alterações nos estágios da amelogênese. O campo de pesquisa da biologia molecular, ainda precisa ser explorado na Odontologia. Muitos genes ainda precisam ser avaliados, ademais é necessário a replicação de resultados em diferentes populações para evitar associações falso positivas (OLIVEIRA et al., 2017).

Nosso estudo, avaliou crianças do município de Alfenas, e é importante considerar este fato, pois os brasileiros formam uma das populações mais heterogêneas do mundo, resultante de cruzamentos interétnicos entre europeus (principalmente portugueses e italianos), africanos (trazidos como escravos de diversas partes do continente) e ameríndios nativos (SILVA et al., 2000).

Deve ser enfatizar, a importância do presente estudo, em função da ausência de trabalhos publicados na literatura que avalie a associação entre os polimorfismos rs2228570 e rs739837 do gene VDR com os defeitos de desenvolvimento de esmalte e a hipomineralização molar-incisivo. Além disso, os demais fenótipos avaliados, cárie dentária e gengivite, também apresentam estudos escassos com esses SNPs.

7 CONCLUSÃO

Com base na metodologia empregada e nos resultados obtidos, conclui-se que:

- a) Os hábitos de higiene bucal e dietéticos não foram associados à cárie dentária e à gengivite, exceto para a associação entre o uso do fio dental e gengivite;
- b) Os defeitos desenvolvimento de esmalte e hipomineralização molar-incisivo não foram associados aos fatores pré, peri e pós-natais;
- c) Não houve associação entre os polimorfismos genéticos (rs2228570 e rs739837) com os fenótipos orais avaliados (cárie dentária, gengivite, defeitos de esmalte e hipomineralização molar-incisivo).

REFERÊNCIAS

- ABBASOGLU, Z. et al. Early childhood caries is associated with genetic variants in enamel formation and immune response genes. **Caries Research**, v. 49, n. 1, p. 70-77, 2015.
- ALLAZZAM, S. M. et al. Molar incisor hypomineralization, prevalence, and etiology. **International Journal of Dentistry**, v.2014, n.2, p. 1-8, 2014.
- ALMEIDA, L. K. Y. D. **Prevalência de defeitos de esmalte na dentição decídua em escolares de Araraquara-SP**. 2018. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas), Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP, Araraquara 2018.
- ALVES FILHO, A. O. **Hipomineralização molar incisivo: associação com cárie dentária e impacto na qualidade de vida de escolares de Manaus-AM**. 2015. 71f. Tese (Doutorado em Ciências Odontológicas), Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP, Araraquara 2015.
- AMERICANO, G. C. A. et al. A systematic review on the association between molar incisor hypomineralization and dental caries. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 27, n. 1, p. 11-21, 2017.
- AMRAN, A. G.; ALHAJJ, M. N.; AL-RAFIK, N. A. Evaluation of gingival health status among 6-and 12-years-old children in Dhamar city, Yemen: A cross-sectional study. **The Journal of Contemporary Dental Practice**, v. 17, n. 6, p. 440-444, 2016.
- ANIL, S.; ANAND, P. S. Early childhood caries: prevalence, risk factors, and prevention. **Frontiers in Pediatrics**, v. 5, n.6, p. 157-162, 2017.
- ANTUNES, L. A. et al. Analysis of the association between polymorphisms in MMP2, MMP3, MMP9, MMP20, TIMP1, and TIMP2 genes with white spot lesions and early childhood caries. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 26, n. 4, p. 310-319, 2016.
- ARID, J. et al. Oestrogen receptor alpha, growth hormone receptor, and developmental defect of enamel. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 29, n. 1, p. 29-35, 2019.
- ARROW, P. Risk factors in the occurrence of enamel defects of the first permanent molars among schoolchildren in Western Australia. **Community Dent Oral Epidemiol**. v. 37, n.2, p.405–415, 2009.

ASA'AD, F. et al. Evaluation of DNA methylation of inflammatory genes following treatment of chronic periodontitis: a pilot case-control study. **Journal of Clinical Periodontology**, v.44, n.9, p. 905-914, 2017.

BALLOUK, M. A.; DASHASH, M. The gingival health status of 8–12 year-old children in Damascus city in Syria during the Syrian Crisis: a cross-sectional epidemiological oral health survey. **BMC Research Notes**, v. 11, n. 1, p. 887-894, 2018.

BRAEGGER, C. et al. Vitamin D in the healthy european paediatric population. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 56, n. 6, p.692-701, 2013.

BARRETO, R. A. et al. Humanização do atendimento odontopediátrico: a arte de uma renovação. In: CORRÊA, M. S. N. P. **Conduta Clínica e Psicológica na Odontopediatria**. 2. ed. São Paulo: Livraria Santos e Editora, 2013.

BASHIRIAN, S. et al. Socio-demographic determinants as predictors of oral hygiene status and gingivitis in schoolchildren aged 7-12 years old: A cross-sectional study. **PloS One**, v. 13, n. 12, p. e0208886, 2018.

BASHA, S. et al. Prevalence and associated factors to developmental defects of enamel in primary and permanent dentition. **Oral Health Dent Manag**, v. 13, n. 3, p. 588-594, 2014.

BAYRAM, M. et al. Genetic influences on dental enamel that impact caries differ between the primary and permanent dentitions. **European Journal of Oral Sciences**, v. 123, n. 5, p. 327-334, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral de Saúde Bucal. **SB-BRASIL 2010 - Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: Manual da Equipe de Campo**. Brasília, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral de Saúde Bucal. **Projeto SB Brasil 2003: condições de saúde bucal da população brasileira, 2002-2003: resultados principais**. Brasília, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral de Saúde Bucal. **Projeto SB Brasil 2010: Resultados Principais**. Brasília, 2011.

BIESBROCK, A. et al. Assessment of treatment responses to dental flossing in twins. **Journal of Periodontology**, v. 77, n. 8, p. 1386-1391, 2006.

BOING, A. F. et al. Determinantes sociais da saúde e cárie dentária no Brasil: revisão sistemática da literatura no período de 1999 a 2010. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 17, n. 5, p. 102-115, 2014.

BONOTTO, D. V. et al. Association of parental attitudes at mealtime and snack limits with the prevalence of untreated dental caries among preschool children. **Appetite**, v. 108, n. 1, p. 450-455, 2017.

CAI, T. et al. Association between vitamin D receptor Bsm1 gene polymorphism and periodontitis: a meta-analysis in a single ethnic group. **Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-Grand, France)**, v. 63, n. 11, p. 1-4, 2017.

CARATACHEA, M. A. C. Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. **Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias**, v. 20, n. 3, p. 213-221, 2007.

CECCALDI, P. F. et al. French prenatal Vitamin D recommended supplementation: Enough or not?. **Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction**, v. 46, n. 1, p. 35-41, 2017.

CHANKANKA, O. et al. Longitudinal associations between children's dental caries and risk factors. **Journal of Public Health Dentistry**, v. 71, n. 4, p. 289-300, 2011.

CHAPPLE, I. L. C. et al. Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 42, n. 2, p. 571-576, 2015.

CHASMAN, D. R. M. Predicting the functional consequences of non-synonymous single nucleotide polymorphisms: structure-based assessment of amino acid variation. **Journal of Molecular Biology**, v.8, n.2, p. 683-706, 2001.

CHAUHAN, D. et al. Prevalence of developmental defects of enamel in mixed and permanent dentition of 9 and 12 year old children of Himachal Pradesh, India: A cross sectional study. **International Journal of Health & Allied Sciences**, v. 2, n. 3, p. 185-192, 2013.

CLARK M. B.; CLARK D. A. Oral development and pathology. **Ochsner Journal**, v.18, n.5, p. 339-344, 2018.

CLAYDON, N. C. Current concepts in toothbrushing and interdental cleaning. **Periodontology 2000**, v. 48, n. 1, p. 10-22, 2008.

COGULU, D. et al. The role of vitamin D receptor polymorphisms on dental caries. **Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 40, n. 3, p. 211-214, 2016.

CORTELLINI, P. et al. Periodontal regeneration compared with access flap surgery in human intra-bony defects 20-year follow-up of a randomized clinical trial: tooth retention, periodontitis recurrence and costs. **Journal of Clinical Periodontology**, v.

44, n. 1, p. 58-66, 2017.

CORTINES, A. A. O. et al. Developmental defects of enamel in the deciduous incisors of infants born preterm: prospective cohort. **Oral diseases**, v.1, n.1, p.1-7, 2019.

COSTA, F. O. C.; LAMHA, A. P. S. F. Utilização do “Brinquedo” como recurso mediador na promoção de saúde bucal em pacientes internados na enfermaria pediátrica do HU/UFSC. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 16, n. 3, p. 285-294, 2012.

CRUVINEL, V. R. N. et al. Prevalence of enamel defects and associated risk factors in both dentitions in preterm and full term born children. **Journal of Applied Oral Science**, v. 20, n. 3, p. 310-317, 2012.

DA CRUZ, O. G. M.; DAMASCENO, V. M. S.; LEMOS, T. N. Importância do Conceito de Medicina Periodontal na Integralidade da Assistência à Saúde. **Oral Sciences**, v.1, n.1, p. 10-17, 2017.

DE REZENDE, L. N. et al. Cárie rampante de mamadeira em crianças de 2 a 5 anos: revisão de literatura. **Journal of Management & Primary Health Care**, v. 5, n. 2, p. 219-229, 2014.

DE SÁ CHAVES, E.; VIEIRA, V. Cuidados com a dentição em período escolar: orientações para professores. **Revista Práxis**, v. 2, n. 3, p.15-19, 2017.

DA SILVA, R. A. et al. Avaliação da participação de mães em um programa de prevenção e controle de cáries e doenças periodontais para lactentes. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 31, n. 1, p. 83-89, 2013.

DELUCA, H. F. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 6, p. 1689S-1696S, 2004.

DENTINO, A. et al. Principles of periodontology. **Periodontol. 2000**, v.61, n.1, p.16-53, 2003.

DINIZ, M.B. et al., Alterações orais em crianças prematuras e de baixo peso ao nascer: a importância da relação entre pediatras e odontopediatras. **Revista Paulista de Pediatria**, v.29, n.3, p.449-455, 2011.

DOMEJEAN-ORLIAGUET, S.; GANSKY, S. A.; FEATHERSTONE, J. D. Caries risk assessment in an educational environment. **Journal of Dental Education**, v. 70, n. 12, p. 1346-1354, 2006.

EL JILANI, M. M. et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and chronic periodontitis among Libyans. **Libyan Journal of Medicine**, v. 10, n. 1, p. 216-222, 2015.

EKE, P. I. et al. Update on prevalence of periodontitis in adults in the United States: NHANES 2009 to 2012. **Journal of Periodontology**, v. 86, n. 5, p. 611-622, 2015.

ENACHE, R. et al. Risk factors involved in the development of enamel defects. **Journal Roman Medic Dentistry**, v.14, n.4, p. 71-74, 2010.

FARIA, P. C. et al. Perinatal factors associated with developmental defects of enamel in primary teeth: a case-control study. **Brazilian Oral Research**, v. 27, n. 4, p. 363-368, 2013.

FATHI, N. et al. Role of vitamin D and vitamin D receptor (VDR) in oral câncer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, n. 1, p. 391-401, 2019.

FUNIERU, C. et al. Epidemiology of gingivitis in schoolchildren n Bucharest, Romania: a cross-sectional study. **Journal of Periodontal Research**, v. 52, n. 2, p. 225-232, 2017.

GARCIA-MARGARIT, M. et al. Epidemiologic study of molar-incisor hypomineralization in 8-year-old Spanish children. **Internacional Journal Pediatric Dental.**, v. 24, n. 1, p.14-22, 2013.

GAROT, E. et al. Diagnostic guide enabling distinction between taphonomic stains and enamel hypomineralisation in an archaeological context. **Archives of Oral Biology**, v. 74, n. 8, p. 28-36, 2017.

GERRETH, K. et al. Chosen single nucleotide polymorphisms (SNPs) of enamel formation genes and dental caries in a population of Polish children. **Advances in Clinical and Experimental Medicine: Official Organ Wroclaw Medical University**, v. 26, n. 6, p. 899-905, 2017.

GHANIM, A. et al. Risk factors in the occurrence of molar–incisor hypomineralization amongst a group of Iraqi children. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 23, n. 3, p. 197-206, 2013.

GISOO, F. F.; MOHSENI, A. Prevalence study of etiologies of developmental defects of enamel of first permanent molar among six to seven years old children. **Curr Res Dent**, v. 1, n.3, p. 19-22, 2010.

GUEIROS, L. A. M.; SILVA, M. D. P. Inquérito de cárie dentária e perfil alimentar em escolares de 6 a 12 anos de duas populações da região metropolitana do Recife. **Odontol. clín.-cient**, v. 2, n. 3, p. 201-209, 2003.

GUTIÉRREZ, S. et al. Clinical and molecular analysis of the enamel gene ENAM in Colombian families with autosomal dominant amelogenesis imperfecta. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 3, p. 557-566, 2012.

GONZÁLEZ-GROSS, M. et al. Vitamin D status among adolescents in Europe: the Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence study. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 5, p. 755-764, 2012.

GYLL, J. et al. Vitamin D status and dental caries in healthy Swedish children. **Nutrition Journal**, v. 17, n. 1, p. 11-17, 2018.

HAN, D. H. et al. Regular dental checkup and snack–soda drink consumption of preschool children are associated with early childhood caries in Korean caregiver/preschool children dyads. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 42, n. 1, p. 70-78, 2014.

HEIKKINEN, A. M. et al. Inflammatory mediator polymorphisms associate with initial periodontitis in adolescents. **Clinical and Experimental Dental Research**, v. 2, n. 3, p. 208-215, 2016.

HOFFMANN, R. H. et al. Prevalence of enamel defects and the relationship to dental caries in deciduous and permanent dentition in Indaiatuba, São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saude Publica**, v. 23, n. 2, p. 435-444, 2007.

HOREWICZ, V. V. et al. Susceptibilidade genética à periodontite crônica. **Revista de Periodontia**, v. 16, n. 4, p. 96-110, 2006.

HOLLA, L. I. et al. Vitamin D receptor TaqI gene polymorphism and dental caries in Czech children. **Caries Research**, v. 51, n. 1, p. 7-11, 2017.

HOLICK, M. F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 96, n. 7, p. 1911-1930, 2011.

HONG, Y. L. et al. Prevalence study of molar-Incisor hypo mineralisation in primary school children in south China. **Journal of Pediatric Care**, v.3, n.1, p.1-8, 2017.

HU, X. P. et al. Analysis of the association between polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and dental caries in a Chinese population. **Genet Mol Res**, v. 14, n. 3, p. 11631-11638, 2015.

HUJOEL, P. P. et al. Dental flossing and interproximal caries: a systematic review. **Journal of Dental Research**, v. 85, n. 4, p. 298-305, 2006.

HUJOEL, P. P.; HUJOEL, M. L. A.; KOTSAKIS, G. A. Personal oral hygiene and dental caries: A systematic review of randomised controlled trials. **Gerodontology**, v.35, n.4, p. 282-289, 2018.

IBIYEMI, O. et al. Prevalence and extent of enamel defects in the permanent teeth of 8-year-old Nigerian children. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 46, n. 1, p. 54-62, 2018.

IFTIKHAR, A.; ZAFAR, M.; KALAR, M. U. The relationship between snacking habits and dental caries in school children. **International Journal of Collaborative Research on Internal Medicine & Public Health**, v. 4, n. 12, p. 1943-1951, 2012.

FEDERATION DENTAL INTERNATIONALE (FDI). A review of the developmental defects of enamel index (DDE Index), **International Dental Journal**, v. 42, n.1, p. 411-426, 1992.

JALEVIK, B. Prevalence and diagnosis of molar-incisor-hypomineralisation (MIH): a systematic review. **European Archives of Paediatric Dentistry**, v. 11, n. 2, p. 59-64, 2010.

JAVORSKI, N. et al. Vitamin D receptor (VDR) polymorphisms are associated to spontaneous preterm birth and maternal aspects. **Gene**, v. 642, p. 58-63, 2018.

JEREMIAS, F. et al. Dental caries experience and molar-incisor hypomineralization. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 71, n.4, p. 870-876, 2013.

JEREMIAS, F. et al. Family-based genetic association for molar-incisor hypomineralization **Caries Research**, v. 50, n. 3, p. 310-318, 2016.

JIN, L. et al. Global burden of oral diseases: emerging concepts, management and interplay with systemic health. **Oral Diseases**, v. 22, n. 7, p. 609-619, 2016.

KAMALIKHAH, T. et al. Dental flossing behaviour and its determinants among students in a suburb area of Tehran–Iran: using Transtheoretical Model. **International Journal of Dental Hygiene**. v.15, n.2, p.106–112, 2015.

KAMIENSKA, P. T.; TORLIŃSKA-WALKOWIAK, N.; BORYSEWICZ-LEWICKA, M. The relationship between oral hygiene level and gingivitis in children. **Advances in Clinical and Experimental Medicine: Official Organ Wroclaw Medical University**, v. 27, n. 10, p. 1397-1401, 2018.

KANG, S. W. et al. ACE insertion/deletion polymorphism is associated with periodontal disease in Korean population. **Archives of Oral Biology**, v. 60, n. 3, p. 496-500, 2015.

KARAGÜZEL, G. et al. Seasonal vitamin D status of healthy schoolchildren and predictors of low vitamin D status. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 58, n. 5, p. 654-660, 2014.

KATO, S. The function of vitamin D receptor in vitamin D action. **The Journal of Biochemistry**, v. 127, n. 5, p. 717-722, 2000.

KESHANI, P. et al. Effect of a School-based Nutrition Education Program on the Nutritional Status of Primary School Children. **Nutrition and Food Sciences Research**, v.3, n.1, p.27–34, 2016.

KINANA, D. F.; HART, T. C. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 14, n. 6, p.430-449, 2003.

KITAGAKI, J. et al. A putative association of a single nucleotide polymorphism in GPR126 with aggressive periodontitis in a Japanese population. **PLoS One**, v. 11, n. 8, p. e0160765, 2016.

KOTSAKIS, G. A. et al. A network meta-analysis of interproximal oral hygiene methods in the reduction of clinical indices of inflammation. **Journal of Periodontology**, v. 89, n. 5, p. 558-570, 2018.

KONG, Y. et al. The relationship between vitamin D receptor gene polymorphism and deciduous tooth decay in Chinese children. **BMC Oral Health**, v. 17, n. 1, p. 111-117, 2017.

KÜCHLER, E. C. et al. Buccal cells DNA extraction to obtain high quality human genomic DNA suitable for polymorphism genotyping by PCR-RFLP and Real-Time PCR. **Journal of Applied Oral Science**, v. 20, n. 4, p. 467-471, 2012.

KÜCHLER, E. C. et al. Polymorphisms in genes involved in enamel development are associated with dental fluorosis. **Archives of Oral Biology**, v. 76, n.5, p. 66-69, 2017.

KÜHNISCH, J. et al. Elevated serum 25 (OH)-vitamin D levels are negatively correlated with molar-incisor hypomineralization. **Journal of Dental Research**, v. 94, n. 2, p. 381-387, 2015.

LACRUZ, J. L. et al. Recent trends in Iberian streamflows (1945–2005). **Journal of Hydrology**, v. 414, n.2, p. 463-475, 2012.

LACRUZ, R. S. et al. Dental enamel formation and implications for oral health and disease. **Physiological Reviews**, v. 97, n. 3, p. 939-993, 2017.

LAINE, M. L.; CRIELAARD, W.; LOOS, B. G. Genetic susceptibility to periodontitis. **Periodontol** 2000,v.58, n.1, p.37-68. 2012.

LANG, W. P.; RONIS, D. L.; FARGHALY, M. M. Preventive behaviors as correlates of periodontal health status. **Journal of Public Health Dentistry**, v. 55, n. 1, p. 10-17, 1995.

LI et al. Developmental defects of enamel increase caries susceptibility in Chinese preschool children. **Community Dent Oral Epidemiol.**, v. 15, n. 3, p.1-11, 2018.

LIBERATTI, G. A. et al. Percepção dos pais no impacto da educação em saúde bucal na qualidade de vida de crianças pre-escolares. **Revista Uningá**, v. 48, n. 1, p.84-89, 2018.

LIPS, A. et al. Genetic polymorphisms in DEFB1 and miRNA202 are involved in salivary human β -Defensin 1 levels and caries experience in children. **Caries Research**, v. 51, n. 3, p. 209-215, 2017.

MANGANO, F. G. et al. Low serum vitamin D and early dental implant failure: Is there a connection? A retrospective clinical study on 1740 implants placed in 885 patients. **Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects**, v. 12, n. 3, p. 174-182, 2018.

MATA, P. C. M. **Terapêuticas da hipomineralização dentária-revisão sistemática**. 2017. 94f. Dissertação (Mestrado Medicina dentária), Faculdade de Medicina Dentária, Universidade do Porto, Porto, 2017.

MARSHALL, I. et al. Prevalence and risk factors for vitamin D insufficiency and deficiency at birth and associated outcome. **BMC Pediatrics**, v. 16, n. 1, p. 208-213, 2016.

MARTENS, L. et al. Association between overweight/obesity and periodontal disease in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. **European Archives of Paediatric Dentistry**, v.18, n.2, p. 69-82, 2017.

MARTINS, R. J. et al. Declínio da cárie em um município da região noroeste do Estado de São Paulo, Brasil, no período de 1998 a 2004. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n.5, p. 1035-1041, 2006.

MATHIEU, C. et al. Vitamin D and 1, 25-dihydroxyvitamin D 3 as modulators in the immune system. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 89, n. 2, p. 449-452, 2004.

MANTONANAKI, M. et al. Prevalence of dental caries in 5-year-old Greek children and the use of dental services: evaluation of socioeconomic, behavioural factors and living conditions. **International Dental Journal**, v. 63, n. 2, p. 72-79, 2013.

MASHHADIABBAS, F. et al. Association of vitamin D receptor Bsm1, Taq1, Fok1, and Apal polymorphisms with susceptibility of chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis based on 38 case-control studies. **Dental Research Journal**, v. 15, n. 3, p. 155-164, 2018.

MASSIGNAN, C. et al. Prevalence of enamel defects and association with dental caries in preschool children. **European Archives of Paediatric Dentistry**, v. 17, n. 6, p. 461-466, 2016.

MASSONI, A. C. et al. Prevalence of enamel defects related to pre-, peri-and postnatal factors in a Brazilian population. **Community Dental Health**, v. 26, n. 3, p. 143-149, 2009.

MASTERSON, E. E. et al. Dental enamel defects predict adolescent health indicators: A cohort study among the Tsimane' of Bolivia. **American Journal of Human Biology**, v. 30, n. 3, p. e23107, 2018.

MESA, F. et al. Polymorphism IL-1RN rs419598 reduces the susceptibility to generalized periodontitis in a population of European descent. **PLoS One**, v. 12, n. 10, p. e0186366, 2017.

MEMARPOUR, M. et al. Association of characteristics of delivery and medical conditions during the first month of life with developmental defects of enamel. **BMC Oral Health**, v. 14, n. 1, p. 122-129, 2014.

MIHAELA M. et al. Etiological factors of enamel developmental defects of permanent teeth in children and adolescent. **Romanian Journal Oral Rehabil**, v.3, n.6, p.72-78, 2011.

MIRKARIMI, K. et al. Fast Food Consumption Behaviors in High-School Students based on the Theory of Planned Behavior (TPB). **International Journal of Pediatrics**. V.4, n.7, p. 2131-2142, 2016.

MISHRA, C.; KUMAR, S.; YATHISH, H. M. Predicting the effect of non synonymous SNPs in bovine TLR4 gene. **Gene Reports**, v. 6, n.1, p. 32-35, 2017.

MOSES, J.; RANGEETH, B.N.; GURUNATHAN, D. Prevalence of dental caries, socio-economic status and treatment needs among 5-15 year old school going children of Chidambaram. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v.5, n.1, p.146-151, 2011.

MSEFER, S. Importance of early diagnosis of early childhood caries. **JODQ Supplement**, v. 23, n. 1, p. 6-8, 2006.

MÜLLER, I. B. et al. Dental caries experience and use of public dental services by school children: a descriptive study in Arroio do Padre, Rio Grande do Sul State, Brazil, 2013. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 4, p. 759-770, 2015.

NARVAI, P. C. et al. Cárie dentária no Brasil: declínio, polarização, iniquidade e exclusão social. **Revista Panamericana de Salud Pública**. v. 16, n. 6, p. 385-393, 2006.

NELSON, S. et al. Increased enamel hypoplasia and very low birthweight infants. **Journal of Dental Research**, v. 92, n. 9, p. 788-794, 2013.

NETTO, L. R. C. et al. Tratamento conservador da fluorose dental - Relato de caso. **Revista Rede de Cuidados em Saúde**, v. 11, n. 2, p.1-11, 2017.

NEVES, A. M. et al. Gingivitis prevalence and severity study among low socioeconomic status population. **Odontol Clin Cient**, v. 9, n. 1, p. 65-71, 2014.

NORMAN, P. E.; POWELL, J. T. Vitamin D and cardiovascular disease. **Circulation Research**, v. 114, n. 2, p. 379-393, 2014.

ONORIOBE, U. et al. Effects of enamel fluorosis and dental caries on quality of life. **Journal of Dental Research**, v. 93, n. 10, p. 972-979, 2014.

OLIVEIRA, V. G. M. **Impacto da hipomineralização molar-incisivo (HMI) e da cárie dentária na qualidade de vida de escolares de 8 a 12 anos no município de Patrocínio Paulista–SP**. 2012 92f. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas). Universidade de Franca, Franca, 2012.

OLIVEIRA, D. S. B. et al. Association between genetic polymorphisms in DEFB1 and microRNA202 with caries in two groups of brazilian children. **Arch Oral Biol**, v. 92, n.1, p.1-7, 2018.

OPPERMANN, R. V. et al. Epidemiology of periodontal diseases in adults from Latin America. **Periodontology 2000**, v. 67, n. 1, p. 13-33, 2015.

ÖZTEKIN, A.; ÖZTEKIN, C. Vitamin D levels in patients with recurrent aphthous stomatitis. **BMC oral health**, v. 18, n. 1, p. 186-197, 2018.

PATIR, A. et al. Enamel formation genes influence enamel microhardness before and after cariogenic challenge. **Plos One**, v.7, n.9, p.1-9, 2012.

PITIPHAT, W. et al. Factors associated with molar incisor hypomineralization in Thai children. **European Journal Oral Science**, v. 122, n.4, p.265-270, 2014.

POULTER, J. A. et al. Whole-exome sequencing, without prior linkage, identifies a mutation in LAMB3 as a cause of dominant hypoplastic amelogenesis imperfecta. **European Journal of Human Genetics**, v. 22, n. 1, p. 132-141, 2014.

PRETZL, B. et al. IL-1-polymorphism and severity of periodontal disease. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 70, n. 1, p. 1-6, 2012.

ROSEN, C. J. et al. IOM committee members respond to Endocrine Society vitamin D guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 97, n. 4, p. 1146-1152, 2012.

PEREIRA, N. M. **Desafios do PSF Pró Saúde: cárie na primeira infância**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Saúde da Família) – Universidade Federal de Minas Gerais, Alfenas, 2014.

PETERSEN, P. E.; OGAWA, H. The global burden of periodontal disease: towards integration with chronic disease prevention and control. **Periodontology 2000**, v. 60, n. 1, p. 15-39, 2012.

PIHLSTROM, B. L. et al. Periodontal diseases. **The Lancet**, v. 366, n. 9499, p. 1809-1820, 2005.

PINTO, J.P.N.S. et al. Vitamin D levels and risk for periodontal disease: A systematic review. **Journal of Periodontal Research**, v. 53, n. 3, p. 298-305, 2018.

PITTNER, M.; BONASSINA, M.; PITTNER, E. Educação para a saúde bucal infantil: da gestação à idade pré-escolar. **Revista Uningá Review**, v. 27, n. 2, p. 22-29, 2018.

PUNITHA, V. C. et al. Role of dietary habits and diet in caries occurrence and severity among urban adolescent school children. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, v. 7, n. 1, p. 296-300, 2015.

RAIVISTO, T. et al. SNP Analysis of caries and initial caries in finnish adolescents. **International Journal of Dentistry**, v. 2018, 2018. No prelo.

RAMEZANLI, T. et al. Polymeric nanospheres for topical delivery of vitamin D3. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 516, n. 1, p. 196-203, 2017.

RAMESH, G. et al. Developmental defects of enamel in children of davangere district and their relationship to fluoride levels in drinking water. **Asia Pacific Journal of Public Health**, v. 23, n. 3, p. 341-348, 2011.

RATHEESH, V. et al. Evaluation of Association of Vitamin D Receptor Genetic Polymorphism with Severe Chronic Periodontitis in an Ethnic TAMILIAN Population. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**, v. 22, n. 10, p. 615-621, 2018.

RAVINDRAN, R.; SAJI, A. M. Prevalence of the developmental defects of the enamel in children aged 12–15 years in Kollam district. **Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry**, v. 6, n. 1, p. 28-34, 2016.

RIBEIRO, B. B. et al. Importância do reconhecimento das manifestações bucais de doenças e de condições sistêmicas pelos profissionais de saúde com atribuição de diagnóstico. **Portal Metodista de Periódicos Científicos e Acadêmicos - Odonto**, v. 1, n. 1, p. 61-70, 2012.

ROBLES, M. J. et al. Prevalence of enamel defects in primary and permanent teeth in a group of schoolchildren from Granada (Spain). **Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v. 18, n. 2, p. e187, 2013.

RODRIGUES, L. A. M. et al. Uso de serviços odontológicos entre pré-escolares: estudo de base populacional. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, n. 10, p. 4247-456, 2014.

SAHA, R. et al. Association of amelogenin with high caries experience in indian children. **Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 39, n. 5, p. 458-61, 2015.

SÄLZER, S. et al. Efficacy of inter-dental mechanical plaque control in managing gingivitis—a meta-review. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 42, n.1, p. S92-S105, 2015.

SCHROTH, R. J.; HALCHUK, S.; STAR, L. Prevalence and risk factors of caregiver reported severe early childhood caries in Manitoba first nations children: results from the RHS Phase 2 (2008–2010). **International Journal of Circumpolar Health**, v. 72, n. 1, p. 565-574, 2013.

SENGUL, F. et al. Carbonic anhydrase VI gene polymorphism rs2274327 relationship between salivary parameters and dental-oral health status in children. **Biochemical Genetics**, v. 54, n. 4, p. 467-475, 2016.

SEOW, W. K. Developmental defects of enamel and dentine: challenges for basic science research and clinical management. **Australian Dental Journal**, v. 59, n.6, p. 143-154, 2014.

SILNESS, J.; LÖE, H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. **Acta odontologica scandinavica**, v. 22, n. 1, p.

121-135, 1964.

SILVA, J. A. et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. **The American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 2, p. 444-461, 2000.

SILVA, M. J. et al. Etiology of molar incisor hypomineralization—A systematic review. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 44, n. 4, p. 342-353, 2016.

SLAYTON, R.; COOPER, M. E.; MARAZITA, M. L. Tuftelin, mutans streptococci, and dental caries susceptibility. **Journal of Dental Research**, v.84, n.8, p.711-714, 2005.

SHEIBAK, N.; HEIDARI, Z.; MAHMOUDZADEH-SAGHEB, H. Quantitative parameters of interdental gingiva in chronic periodontitis patients with IFN- γ gene polymorphism. **Prague Medical Report**, v. 118, n. 1, p. 37-48, 2017.

SHI, Q. et al. Is there an association between IFN- γ + 874A/T polymorphism and periodontitis susceptibility?: A meta-analysis. **Medicine**, v. 96, n. 25,p.224-229, 2017.

SHIMIZU, T. et al. Enamel formation genes influence enamel microhardness before and after cariogenic challenge. **PloS One**, v. 7, n. 9, p. 450-452, 2012.

SHOAIB, L. et al. Validity and reproducibility of ICDAS II in primary teeth. **Caries Research**, v. 43, n. 6, p. 442-448, 2009.

SLOTS J. et al. Periodontology: past, present, perspectives. **Periodontol 2000**, v. 62, n.1, p. 7-19, 2013.

SLOMINSKI, A.T. et al. In vivo production of novel vitamin D2 hydroxy-derivatives by human placentas, epidermal keratinocytes, Caco-2 colon cells and the adrenal gland. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 383, n. 1-2, p. 181-192, 2014.

SOOY, K.; SABBAGH, Y.; DEMAY, M. B. Osteoblasts lacking the vitamin D receptor display enhanced osteogenic potential in vitro. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 94, n. 1, p. 81-87, 2005.

SEPIDARKISH, M. et al. The effect of Vitamin D supplementation on oxidative stress parameters: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. **Pharmacological Research**, v.1, n.5, p.141-152, 2018.

SUJAK, S. L. et al. Esthetic perception and psychosocial impact of developmental enamel defects among Malaysian adolescents. **Journal of Oral Science**, v. 46, n. 4, p. 221-226, 2004.

TABA, M. J. et al. Periodontal disease: a genetic perspective. **Brazilian Oral Research**, v. 26, n. SPE1, p. 32-38, 2012.

TANAKA, K. et al. VDR gene polymorphisms, interaction with smoking and risk of periodontal disease in Japanese women: the Kyushu Okinawa maternal and child health study. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 78, n. 4, p. 371-377, 2013.

TANTAWI, M.; ALAGL, A. Association between gingivitis severity and lifestyle habits in young Saudi Arabian males. **Eastern Mediterranean Health Journal**, v. 24, n. 6, p.504-511, 2018.

TOMAZONI, F. et al. The associations of socioeconomic status and social capital with gingival bleeding among schoolchildren. **Journal of Public Health Dentistry**, v. 77, n. 1, p. 21-29, 2017.

TOBÓN-ARROYAVE, S. I. et al. Association study of Vitamin D receptor (VDR)-related genetic polymorphisms and their haplotypes with chronic periodontitis in Colombian population. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 11, n. 2, p. ZC60, 2017.

TOKER, H.; GÖRGÜN, E. P.; KORKMAZ, E. M. Analysis of IL-6, IL-10 and NF- κ B gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. **Central European Journal of Public Health**, v. 25, n. 2, p. 157-62, 2017.

TOURINO, L. F. P. G. et al. Association between molar incisor hypomineralization in schoolchildren and both prenatal and postnatal factors: a population-based study. **PloS One**, v. 11, n. 6, p. e0156332, 2016.

ULUCAN, K. et al. Evaluation of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms (FokI, TaqI and Apal) in a family with dentinogenesis imperfecta. **Cytology and Genetics**, v. 47, n. 5, p. 28-32, 2013.

VALARINI et al. Biología molecular na odontologia:métodos comumente utilizados na cariologia. **Odontologia Clínico-Científica (Online)**, v. 10, n. 1, p. 19-23, 2011.

VAN DER TAS, J. T. et al. Foetal, neonatal and child vitamin D status and enamel hypomineralization. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, 2018. No prelo

VARGAS-FERREIRA, J. et al. Association between developmental defects of enamel and dental caries: A systematic review and meta-analysis. **Jornal Dental**, v. 43, n.1, p.619-628, 2015.

YANG, D. et al. Association between vitamin D receptor gene FokI polymorphism and skeletal fluorosis of the brick-tea type fluorosis: a cross sectional, case control study. **BMJ open**, v. 6, n. 11, p. e011980, 2016.

YE, S. Polymorfism in matrix metalloproteinase gene promoters: implication in regulation of gene expression and susceptibility of various diseases. **Matrix Biology**, v.19, n.7, p.650-653, 2001.

YOSHIZAKI, K.; YAMADA, Y. Gene evolution and functions of extracellular matrix proteins in teeth. **Orthodontic Waves**, v. 72, n. 1, p. 1-10, 2013.

YOSHIHARA A. et al. Relationship between vitamin D receptor gene polymorphism and susceptibility to chronic kidney disease and periodontal disease in community-dwelling elderly. **J Clin Periodontol.**, v.45, n.6, p. 672-679, 2018.

YU, M. et al. Association between Single Nucleotide Polymorphisms in Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and Permanent Tooth Caries Susceptibility to Permanent Tooth Caries in Chinese Adolescent. **BioMed Research International**, v. 2017, n.2, p.1-7, 2017.

WAGNER, C. L. et al. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. **Pediatrics**, v. 122, n. 5, p. 1142-1152, 2008.

WANG, C. et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and severe chronic periodontitis in a Chinese population. **Journal of Periodontology**, v. 80, n. 4, p. 603-608, 2009.

WANG, X. et al. Genes and their effects on dental caries may differ between primary and permanent dentitions. **Caries Research**, v. 44, n. 3, p. 277-284, 2010.

WANG, X. et al. Genome-wide association scan of dental caries in the permanent dentition. **BMC Oral Health**, v. 12, n. 1, p. 57-63, 2012.

WANG, X.; ZHANG, T. L.; CHEN, D. Lack of association between the vitamin D receptor polymorphism rs2228570 and chronic periodontitis in a Han Chinese population. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 12299-12305, 2015.

WENDELL, S. et al. Taste genes associated with dental caries. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 11, p. 1198-1202, 2010.

WHATLING, R; FEARNE, J. M. Molar incisor hypomineralization: a study of aetiological factors in a group of UK children. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 18, n. 3, p. 155-162, 2008.

WONG, H. M. et al. Risk factors of developmental defects of enamel-a prospective cohort study. **PloS One**, v. 9, n. 10, p. e109351, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). World Health Organization: oral health surveys, basic methods. Geneva, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Tokyo declaration on dental care and oral health for healthy longevity. Geneva, 2015.

WU, X. et al. Association of molar incisor hypomineralization with premature birth or low birth weight: systematic review and meta-analysis. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v.2, n.1, p. 1-9, 2018.

ZENG, L. et al. Diet and lifestyle habits associated with caries in deciduous teeth among 3-to 5-year-old preschool children in Jiangxi province, China. **BMC Oral Health**, v. 18, n. 1, p. 224-231, 2018.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Olá, seu filho (a) está sendo convidado (a) a participar, como voluntário (a), da pesquisa – “ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS COM FENÓTIPOS ORAIS EM CRIANÇAS.”, no caso de você concordar em participar, favor assinar ao final do documento. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com a pesquisadora ou com a instituição. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e endereço da pesquisadora principal, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação.

TÍTULO DA PESQUISA: ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS COM FENÓTIPOS ORAIS EM CRIANÇAS.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Profa. Dra. Daniela Silva Barroso de Oliveira, Docente associada a disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia- UNIFAL.

TELEFONE DE CONTATO: (035) 3701-9420

ENDEREÇO: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro, Cep: 37130-000

PESQUISADORES PARTICIPANTE: Mariane Carolina Faria Barbosa- mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Odontológicas da UNIFAL e Profa. Dra. Daniela Coelho de Lima, Docente associada a disciplina de Saúde Coletiva da Faculdade de Odontologia- UNIFAL.

OBJETIVOS: Avaliar a associação de doenças bucais como cárie, doença periodontal, alteração na sequência de erupção dentária e defeitos do esmalte, com o polimorfismo genético no gene receptor de vitamina D (VDR) de crianças matriculadas em escolas municipais da cidade de Alfenas-MG.

JUSTIFICATIVA: A pesquisa poderá auxiliar na identificação de fatores etiológicos das doenças bucais mais incidentes e prevalentes na infância, auxiliando no planejamento preventivo e no tratamento odontológico.

PROCEDIMENTO DO ESTUDO:

Procedimentos Preliminares- Após assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, será solicitado o preenchimento de um questionário acerca da saúde bucal de seu filho.

Protocolo Clínico – Com o seu filho, será realizado um exame clínico bucal, sob luz natural, nas dependências da Escola e durante horário letivo, utilizando espelho bucal plano nº5 e sonda exploradora, para diagnosticar possíveis alterações na cavidade bucal (lesões de cárie, presença de doença periodontal, defeitos no esmalte dentário e a contagem dos dentes permanentes erupcionados). Durante o exame clínico bucal também será coletado uma amostra de saliva, como fonte de DNA. Assim, será solicitado que a criança realize um bochecho com 5 ml de solução fisiológica durante 1 minuto. Todo o material será acondicionado em tubos e mantidos a -20°C, até serem processados e analisados no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP.

RISCOS E DESCONFORTOS: A realização da pesquisa poderá causar alguns

desconfortos aos voluntários. Para os responsáveis, poderão ocasionar cansaço ao preencher o questionário sócio demográfico. Para as crianças participantes poderá ocorrer um desconforto leve durante a inserção da sonda periodontal no exame clínico bucal, mas este procedimento não causa nenhum prejuízo ao paciente e não necessita de anestesia local prévia, somente o manejo correto do pesquisador que minimizará a sensação. Durante o bochecho com solução fisiológica, o participante poderá relatar enjoo, que será minimizado com a utilização de gelo. E para evitar constrangimento das crianças ao participarem da pesquisa, todos os procedimentos serão realizados em locais tranquilos e afastados dos demais alunos na dependência das Escolas.

BENEFÍCIOS: Os benefícios esperados, incluem a possível melhora na qualidade de vida e disponibilização de informações acerca do assunto pesquisado. Os participantes receberão um kit de higiene bucal e os que necessitarem de atendimento, serão encaminhados para a clínica de Odontopediatria da Universidade Federal de Alfenas ou para sua Estratégia Saúde da Família.

CUSTO/REEMBOLSO PARA O PARTICIPANTE: Você não terá nenhum custo para participar da pesquisa, os exames serão totalmente gratuitos. Você também não receberá qualquer pagamento com a sua participação.

CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA: Será mantido sigilo quanto à identidade de todos os participantes da pesquisa na divulgação e publicação dos dados da pesquisa.

Assinatura do Pesquisador Responsável: _____

Eu, _____, DECLARO, que li as informações contidas nesse documento, fui devidamente esclarecido pela pesquisadora Prof^a Dra. Daniela Silva Barroso de Oliveira dos procedimentos que serão utilizados, riscos e desconfortos, benefícios, custo/reembolso dos participantes, confidencialidade da pesquisa, concordando ainda em participar da pesquisa.

Foi-me garantido que tenho o direito de retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que este ato acarrete alguma penalidade. Poderei consultar o pesquisador responsável (acima identificado), na UNIFAL-MG, com endereço na Universidade Federal de Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro, Cep- 37130-000, Fone: (35) 3701-9420, no e-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br sempre que entender necessário obter informações ou esclarecimentos sobre o projeto de pesquisa e minha participação no mesmo.

Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados. Declaro ainda que recebi uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

DECLARO que após convenientemente esclarecido pelas pesquisadoras e ter entendido o que me foi explicado, consinto voluntariamente em participar desta pesquisa.

Nome por extenso do Responsável da criança

Assinatura do Responsável da criança

Alfenas, _____ de _____ de 2018.

APÊNDICE B - TERMO DE ASSENTIMENTO ESCLARECIDO

Assentimento informado para crianças entre as idades de 8 até 12 anos e que estamos convidando a participar da pesquisa ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS COM FENÓTIPOS ORAIS EM CRIANÇAS.

Meu nome é Daniela Silva Barroso de Oliveira, sou professora de Odontopediatria da UNIFAL, e junto com a professora Daniela Coelho de Lima e a mestrande Mariane Carolina Faria Barbosa, estamos realizando um trabalho com o intuito de pesquisar doenças bucais para entender quais alterações genéticas as provoca. Se confirmarmos que a genética é uma das causas das doenças bucais, poderemos ajudar a evitá-las e achamos que esta pesquisa pode nos ajudar a confirmar isso. Eu vou informar você e convidá-lo a participar desta pesquisa. Você pode escolher se quer participar ou não. Conversamos com seus pais ou responsáveis e eles sabem que estamos pedindo seu acordo. Seus pais permitiram que você participe, contudo se você não desejar fazer parte da pesquisa, não é obrigado. E mesmo se disser sim agora, poderá mudar de ideia depois, sem nenhum problema.

Você pode discutir qualquer coisa deste formulário com seus pais, amigos ou qualquer um com quem você se sentir à vontade de conversar e decidir depois, caso se sinta confortável. Caso você não entenda alguma palavra ou como será realizado, peço que pare a qualquer momento que eu explicarei.

Estamos realizando a pesquisa para que possamos ajudar a prevenir a cárie e outras doenças bucais. E para conseguirmos, precisamos entender as causas.

As crianças que irão participar desta pesquisa têm de 8 a 12 anos de idade e estudam nas Escolas Municipais da cidade Alfenas/MG.

Aquelas crianças que aceitarem participar irão realizar um exame nos dentes e será coletado um pouco de saliva em um tubo. A realização da pesquisa é considerada segura, e não apresenta riscos significativos, podendo ocorrer apenas um enjoo. Caso você sinta desconfortos iremos ajudar para que melhore.

Você também terá benefícios em participar. Caso precise de fazer algum tratamento no dentista será encaminhado para a clínica de Odontopediatria da UNIFAL ou para a Estratégia de Saúde da Família e receberá um kit de higiene bucal. Há outras coisas boas que podem acontecer como ajudar outras pessoas a não terem doenças bucais, como a cárie.

A pesquisa será realizada durante sua aula, mas caso você tenha que vir para

participar da pesquisa e você morar longe da Escola nós daremos a seus pais dinheiro suficiente para transporte.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Depois que a pesquisa acabar, os resultados serão informados para você e para seus pais. Além disso, os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças que participaram. Qualquer informação sobre as crianças terá um número ao invés de um nome. Só os investigadores saberão qual é o seu número e manteremos em sigilo. Ela não será compartilhada com quem quer que seja exceto, alguém que tenha permissão de acesso à informação, tal como: patrocinadores de pesquisa, órgãos governamentais e seu médico.

Quando terminarmos a pesquisa os resultados serão utilizados para conversarmos com cientistas e outros, sobre a pesquisa. Faremos isso, escrevendo relatórios e indo para as reuniões com pessoas que estão interessadas no trabalho que fizemos.

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar agora ou depois. Caso aconteça algo, você pode nos procurar pelos telefones (035) 3701-9420 das pesquisadoras Daniela Silva Barroso de Oliveira, Daniela Coelho de Lima e a Mariane Carolina Faria Barbosa. Mas se quiser falar com outra pessoa não tem problema.

Você entendeu que a pesquisa é uma avaliação para a estudar as causas de doenças bucais e que irá participar de um exame dos dentes e também bochechar em um tubo sua saliva.

Assinatura da criança: _____

Assinatura dos pais/responsáveis: _____

Assinatura da pesquisadora: _____

Alfenas, ____ de _____ de 2018.

APÊNDICE C - Inquérito proposto por Antunes et al., 2016.Prontuário N^o: _____ DATA: ____/____/____

Nome da criança: _____
 Data nasc.: ____/____/____ Sexo: F()M() Etnia da criança: _____
 Endereço: _____
 Bairro: _____ Cidade: _____ UF: _____
 CEP: _____ Tel.: _____ Cel.: _____
 Mãe: _____ Idade: _____
 Pai: _____ Idade: _____

2.HISTÓRIA MÉDICA**A MÃE DURANTE A GRAVIDEZ (GESTAÇÃO):**

A mãe durante a gravidez recebeu acompanhamento pré-natal? ()Sim ()Não

A mãe durante a gravidez teve algum problema de saúde? ()Sim ()Não Em que período da gestação? _____

A mãe durante a gravidez fumou? ()Sim ()Não

A mãe durante a gravidez consumiu álcool? ()Sim ()Não Qual frequência?

Qual foi o tipo de parto? _____

Qual a duração do trabalho de parto? _____

Teve alguma complicação no parto? ()Sim ()Não Qual? _____

A mãe durante a gravidez fez uso de Vitaminas? ()Não () Não Sabe ()Sim:

Quais? _____

c) A mãe durante a gravidez fez uso de cálcio? ()Não () Não Sabe ()Sim:

Qual? _____

d) A mãe durante a gravidez fez uso de algum remédio? ()Não () SIM

() Não Sabe: Quais? _____

Prematuro? ()Sim ()Não Quantas semanas? _____

Peso ao nascimento: _____ Comprimento ao nascimento: _____

A criança teve algum problema de saúde nos primeiros 3 anos de vida?

() Não ()Sim: Qual (ais)? _____

A criança fez uso frequente de algum medicamento nos primeiros 3 anos de vida?

() Não ()Sim Qual (ais)? _____

3. HÁBITOS DE DIETA:

A criança mamou no peito? () Sim () Não () não sabe Até quando? _____

Tomou mamadeira? () Sim () Não () Não sabe

Mamadeira com o que? _____ Até quando? _____

Consome muito doce entre as refeições? () Não () Sim

Já usou chupeta? () Não () Sim; Qual a frequência? () muito () mais ou menos () pouco; Até que idade? _____

Já chupou o dedo? () Não () Sim; Qual a frequência? () muito () mais ou menos () pouco; Até que idade? _____

Já roeu unha? () Não () Sim; Qual a frequência? () muito () mais ou menos () pouco; Até que idade? _____

Faz algum barulho rangendo os dentes? () Não () Sim () Durante o dia () Durante a noite () Dia e noite; Até que idade? _____

4. HÁBITOS DE HIGIENE:

Quem escova o dente do seu filho () ele mesmo () responsável (pai, mãe) () tanto a criança quanto o responsável

Quantas vezes a criança escova os dentes por dia? _____

Escova antes de dormir? () Não () Sim

Usa fio dental? () Não () Sim: () De vez em quando () Todo dia

5. USO DE FLUORETOS:

A pasta de dentes que seu filho usa é: () de adulto () infantil Marca da pasta de dentes: _____

Seu filho ingere a pasta de dentes? () Não () Sim

Seu filho faz bochechos: () não () sim Marca: _____

Quem prescreveu _____

APÊNDICE D - FICHA PARA EXAME CLÍNICO

Prontuário N^o: _____ DATA DA COLETA: ____/____/____

Nome da criança: _____

Data nascimento.: ____/____/____ Idade no dia da coleta: ____ anos

Etnia da criança: () Branca () Preta () Amarela () Parda () Indígena

Sexo: F() M() Escola Municipal: _____

Mordida Aberta anterior: () Ausente () Presente

Mordida Cruzada posterior: () Ausente () Unilateral () Bilateral

Mordida Cruzada anterior: () Ausente () Presente

Presença de Bruxismo: () Sim () Não

Tipo de dentição: () Decídua () Permanente () Mista

Presença de Cárie: () Sim () Não

MAXILA							
	ICDAS	Tipo DDE	Ext. DDE		ICDAS	Tipo DDE	Ext. DDE
17				27			
16				26			
15/55				25/65			
14/54				24/64			
13/53				23/63			
12/52				22/62			
11/51				21/61			
MANDÍBULA							
	ICDAS	Tipo DDE	Ext. DDE		ICDAS	Tipo DDE	Ext. DDE
37				47			
36				46			
35/75				45/85			
34/74				44/84			
33/73				43/83			
32/72				42/82			
31/71				41/81			

FLUOROSE DENTÁRIA

CONDIÇÃO PERIODONTAL

16

11

26

36

31

46

Sangramento

Gengival

16

11

26

36

31

46

Biofilme

Visível

Peso: _____ KG

Altura: _____ Metros

ANEXOS

ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética com Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: POLIMORFISMO GENÉTICO NO GENE RECEPTOR DE VITAMINA D (VDR) EM CRIANÇAS

Pesquisador: Daniela Silva Barroso de Oliveira

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 4

CAAE: 78568217.7.0000.5142

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.815.946

Apresentação do Projeto:

Assunto: Emenda solicitando mudança de título de projeto no Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos

Ao Comitê,

Solicito a alteração do título do projeto "Polimorfismo genético no gene receptor de vitamina D (VDR) em crianças" para "Associação de polimorfismos genéticos com fenótipos orais em crianças". A solicitação fundamenta-se no fato de que o primeiro não fazia menção entre a associação dos polimorfismos com as principais doenças bucais, o que é o principal objetivo do projeto.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro

CEP: 37.130-001

UF: MG

Município: ALFENAS

Telefone: (35)3701-9153

Fax: (35)3701-9153

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



Continuação do Parecer: 2.815.946

Avaliar a incidência de doenças bucais como cárie, doença periodontal, alteração na sequência de erupção e MIH, e sua relação com o polimorfismo genético no gene receptor de vitamina D (VDR) de crianças matriculadas em escolas municipais da cidade de Alfenas-MG.

Objetivo Secundário:

- Avaliar a história os aspectos sócio demográficos associados com as doenças bucais, como cárie, doença periodontal, defeitos de esmalte (Hipoplasias, Hipomineralização e fluorose dentária) e alterações na sequência de erupção. - Avaliar os aspectos fisiológicos do processo de saúde.
- Avaliar a associação entre o polimorfismo genético no gene do VDR com a cárie, doença periodontal, defeitos do esmalte (Hipoplasias, Hipomineralização e fluorose dentária) e alterações na sequência de erupção.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A pesquisa poderá provocar alguns desconfortos aos voluntários. Para os responsáveis, poderá provocar cansaço ao preencher o questionário sócio demográfico, já para as crianças participantes poderá ocorrer um desconforto leve durante a inserção da sonda periodontal no exame clínico bucal, mas este procedimento não causa nenhum prejuízo ao paciente e não necessita de anestesia local prévia, somente o manejo correto do pesquisador minimizará a sensação. Durante o bochecho com solução fisiológica, o participante poderá relatar enjoo, que será minimizado com a utilização de gelo. E para evitar constrangimento das crianças ao participarem da pesquisa, todos os procedimentos serão realizados em locais tranquilos e afastados dos demais alunos na dependência das Escolas.

Benefícios:

Os benefícios esperados, incluem a possível melhora na qualidade de vida e disponibilização de informações acerca do assunto pesquisado. Os participantes receberam um kit de higiene bucal e os que necessitarem de atendimento, serão encaminhados para a clínica de Odontopediatria da Universidade Federal de Alfenas ou para sua ESF (Estratégia Saúde da Família).

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700
Bairro: centro **CEP:** 37.130-001
UF: MG **Município:** ALFENAS
Telefone: (35)3701-9153 **Fax:** (35)3701-9153 **E-mail:** comite.etica@unifal-mg.edu.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS**



Continuação do Parecer: 2.815.946

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

- a) Metodologia da pesquisa: adequada aos objetivos do projeto e atualizada;
- b) Referencial teórico: atualizada e suficiente para aquilo que se propõe;
- c) Cronograma de execução da pesquisa está adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- a) Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE): Presente e adequado;
- b) Termo de assentimento esclarecido (TAE): Não se aplica;
- c) Termo de Anuência Institucional (TAI): Presente e adequado;
- d) Folha de rosto: Presente e adequada;
- e) Projeto de pesquisa: Presente e adequado;
- f) Termo de doação: Não se aplica.

Recomendações:

Não Há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomenda aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado do CEP acata o parecer do relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1153048_E2.pdf	16/07/2018 14:45:33		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	CONSENTIMENTO.pdf	21/02/2018 10:08:48	Daniela Silva Barroso de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ASSENTIMENTO.pdf	21/02/2018 10:08:32	Daniela Silva Barroso de Oliveira	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	OFICIOEMENDA.pdf	21/02/2018 10:07:39	Daniela Silva Barroso de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e	documentoPREFEITURA.jpg	21/02/2018 10:07:19	Daniela Silva Barroso de Oliveira	Aceito

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro

CEP: 37.130-001

UF: MG

Município: ALFENAS

Telefone: (35)3701-9153

Fax: (35)3701-9153

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



Continuação do Parecer: 2.815.946

Infraestrutura	documentoPREFEITURA.jpg	21/02/2018 10:07:19	Daniela Silva Barroso de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	documentoFORP.pdf	21/02/2018 10:07:07	Daniela Silva Barroso de Oliveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOPOLIMORFISMO.pdf	21/02/2018 10:05:27	Daniela Silva Barroso de Oliveira	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTOMARIANE.pdf	21/02/2018 09:49:38	Daniela Silva Barroso de Oliveira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ALFENAS, 13 de Agosto de 2018

Assinado por:

ANDREIA MARIA SILVA VILELA TERRA
(Coordenador)

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro

CEP: 37.130-001

UF: MG

Município: ALFENAS

Telefone: (35)3701-9153

Fax: (35)3701-9153

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

ANEXO B – Autorização da Secretaria Municipal de Educação e cultura de Alfenas/MG



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas . Unifal-MG
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714 – Alfenas/MG – CEP 37130-000
CEP 37130-000
Fone: (35) 3299-1000. Fax: (35) 3299-1063



Alfenas, 14 de Dezembro de 2017.

Prezado Secretário de Educação,

Com o objetivo de produzir trabalhos científicos que possam contribuir com melhores condições da saúde de nossa comunidade, peço a permissão para que minha orientada, a cirurgiã-dentista Mariane Carolina Faria Barbosa, tenha contato com as Escolas Municipais com crianças na faixa etária entre 2 e 9 anos da cidade de Alfenas-MG. Trata-se de uma pesquisa intitulada: "ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS COM FENÓTIPOS ORAIS EM CRIANÇAS". Será aplicada um questionário validado na literatura científica para avaliar os fatores correlacionados a incidência de doenças bucais como cárie, doença periodontal, defeitos de esmalte (DDE), alterações no período de erupção e fatores de associação com o polimorfismo genético no gene receptor da vitamina D (VDR) em crianças, além de um exame clínico dos principais agravos orais (cárie, doença periodontal, defeitos de esmalte (DDE) e alterações no período de erupção) e coleta de saliva, para análise genética. Os dados serão coletados nas dependências das Escolas, após esclarecimentos e autorização para sua realização. Nenhum desconforto ou risco é esperado nesse estudo por se tratar de aplicação de um questionário, exame clínico e coleta de saliva. Porém, deixar-se-á claro aos responsáveis dos sujeitos que esses podem se negar a responder a qualquer pergunta ou a permitir que a criança se submeta a qualquer fase do exame sem prejuízo algum. Espera-se com o estudo trazer o benefício do melhor conhecimento das condições de saúde bucal dessa população para que, assim, as ações em saúde bucal possam ser melhor direcionadas.

Sem mais, agradeço a atenção e aproveito para retornar meus votos de estima e consideração.
Atenciosamente,

Dando ciência,

Tani Rose Ribeiro

Secretária de Educação e Cultura do Município de Alfenas/MG

Tani Rose Ribeiro
Secretária M. de Educação
e Cultura
Alfenas-MG
CPF: 620.268.606-53