

PRESENÇA DO POLIMORFISMO -308 G/A TNF- α rs 1800629 EM PACIENTES IDOSOS COM DISFUNÇÃO TEMPOROMANDIBULAR MUSCULAR DOLOROSA

(1) Camilla Porto Campello

(2) Edileine Dellalibera

(3) Maria Tereza Cartaxo Muniz

(1)Doutoranda em Biotecnologia pela Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO/UFRPE), Bolsista CAPES, pós-graduanda em Gerontologia pela Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP). Cirurgiã-dentista e fonoaudióloga. e-mail: camilla.campello@gmail.com

(2) Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Biomédica do Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Oncohematologia Pediátrico (CEONHPE) do Hospital Universitário Oswaldo Cruz da Universidade de Pernambuco(UPE), professora do Centro Universitário Maurício de Nassau. e-mail: edileine.del@gmail.com

(3)Doutora em Biologia Molecular pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP,) professora associada da Universidade de Pernambuco (UPE), professora da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO/UFRPE). Farmacêutica. e-mail: tereza.cartaxo@upe.br

RESUMO

A articulação temporomandibular (ATM) possui funções essenciais como a abertura e fechamento da boca e permite os movimentos de protrusão, retração e lateralidade da mandíbula, sendo assim, de grande importância na comunicação, expressão emocional e alimentação. A disfunção temporomandibular (DTM) é definida como um conjunto de problemas clínicos que podem comprometer os músculos da mastigação, a ATM e estruturas associadas. A dor facial é a principal queixa dos indivíduos com DTM. No processo de envelhecimento podem acontecer modificações no sistema estomatognático do idoso, desencadeando esta patologia. A etiologia deste distúrbio ainda não é totalmente conhecida. Há uma predisposição genética que precisa ser investigada. Esta pode estar relacionada com os polimorfismos genéticos. A relevância deste estudo está na possibilidade de identificar o polimorfismo -308 G/A TNF- α como um biomarcador para a presença de DTM. Os participantes deste estudo foram sete idosos com DTM muscular dolorosa diagnosticados na clínica de odontologia da UFPE. A análise do polimorfismo foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Oncohematologia Pediátrica do Hospital Universitário Oswaldo Cruz da UPE. O DNA genômico foi obtido através das amostras de sangue dos pacientes pelo método "Mini salting out" e a determinação do polimorfismo -308A/G TNF- α ocorreu pela técnica de PCR. Todos os idosos apresentaram o polimorfismo estudado. É preciso o desenvolvimento de mais estudos a fim de confirmar estes resultados, permitindo não apenas a estratificação de pacientes, mas também a realização de um tratamento mais específico pelo odontogeriatra, promovendo uma maior qualidade de vida para os idosos.

Palavras-chave: Disfunção temporomandibular, dor facial, polimorfismo genético, odontogeriatra.

INTRODUÇÃO

A articulação temporomandibular (ATM) desempenha funções essenciais como a abertura e fechamento da cavidade oral, assim como movimentos de protrusão, retração e lateralidade da mandíbula^[1], que são produzidos, sobretudo, através dos músculos da mastigação como o pterigoideo lateral, pterigoideo medial, masseter e temporal.^[2] Ela apresenta papel fundamental na comunicação, expressão emocional e alimentação. Desse modo, qualquer alteração na ATM pode comprometer a qualidade de vida do paciente.^[1]

A DTM é denominada como um conjunto de problemas clínicos que atingem os músculos da mastigação, a articulação temporomandibular e estruturas associadas.^[3-6] São sintomas clínicos deste distúrbio dificuldades em abrir e fechar a boca, sons articulares, presença de dor,^[6] alterações na mastigação, mudanças na fala, modificações posturais e na dinâmica mandibular.^[2] A DTM é tida como a forma mais comum de dor orofacial crônica, podendo ocorrer presença de dor muscular e/ou na ATM.^[7] Os indivíduos com esta patologia também podem relatar dor de auricular, orbital, periorbital, de cabeça, e otalgia.^[8]

A dor facial é a principal queixa dos pacientes com DTM.^[1] Ela atinge 4 a 12% da população brasileira em todas as faixas etárias, especialmente, entre os 20 e 40 anos^[9]. A disfunção temporomandibular atinge mais comumente os adultos jovens, porém não se pode deixar de entender que no processo de envelhecimento pode haver uma sobrecarga da articulação temporomandibular ocasionada por hábitos parafuncionais, pela redução do número de dentes, traumas e má oclusão.^[5] Estas modificações alteram o sistema estomatognático do idoso. Dessa maneira, devem ser compreendidas pelo odontogeriatra, para que este possa atuar, de forma eficaz, na sua prevenção, no seu diagnóstico e tratamento.

Pesquisas mostraram uma alta prevalência da disfunção temporomandibular na terceira idade. De 1410 idosos, 46,5% apresentaram DTM, na Paraíba.^[10] Um estudo, realizado na Bahia, com 307 idosos, mostrou a ocorrência de DTM em 50,5% da amostra total.^[11] Foi constatada uma alta incidência de disfunção temporomandibular em idosos entre 60 e 90 anos participantes do Centro Municipal de Convivência do idoso da cidade de Campina Grande no estado da Paraíba. Dos 137 idosos avaliados, 60% tinham DTM^[5] Em uma pesquisa, que ocorreu no Japão, foram examinados dois grupos, de ambos os sexos, com disfunção temporomandibular e síndrome da boca ardente, o primeiro constava de 562 sujeitos, com idades entre 45 e 64 anos, já o segundo apresentava 318

idosos, entre 65 e 84 anos. A intensidade da dor da DTM não teve diferença significativa entre os grupos etários examinados. ^[10]

A literatura afirma que as mulheres sofrem mais com esta patologia do que os homens, numa proporção de 4:1, respectivamente. A etiologia deste distúrbio ainda não é totalmente conhecida ^[13] sendo esta multifatorial, o que abrange hábitos parafuncionais como o bruxismo, sobrecarga, trauma, estresse, aspectos oclusais, postura corporal inadequada, anormalidades de crescimento. Além disso, é possível o indivíduo apresentar uma percepção exacerbada da dor. Fatores neuroendócrinos, imunológicos e uma predisposição genética podem estar envolvidos, o que ainda precisa ser investigado. ^[14]

O diagnóstico da DTM pode ser realizado através de vários métodos, sendo um dos mais utilizados os critérios do Diagnostic Criteria for Temporomandibular disorders (DC/TMD). Estes foram atualizados em 2014, garantido um padrão na avaliação deste distúrbio em diversos países. ^[15] Seu tratamento engloba uma terapia farmacológica ou não e cirurgia. São procedimentos de rotina modificações na dieta e controle da dor por meio de exercícios. A terapia farmacológica utiliza agentes anti-inflamatórios, analgésicos, relaxantes musculares, antidepressivos tricíclicos, mas apesar do tratamento farmacológico, 75% dos indivíduos possuem dor persistente. São usadas também outras abordagens que atuam como uma terapia coadjuvante, neste caso é aplicada injeção com toxina botulínica, terapia cognitivo-comportamental e acupuntura. ^[8]

O cirurgião - dentista pode confeccionar aparelhos intraorais, o que pode reduzir a dor e favorecer a função da ATM nos pacientes com DTM. ^[4] Já o fonoaudiólogo pode trabalhar com exercícios miofuncionais orais objetivando, desse modo, à reabilitação do sistema estomatognático, porque a DTM possivelmente irá afetar a deglutição, respiração, mastigação, fonação e os órgãos fonoarticulatórios. ^[16]

É importante ressaltar que este distúrbio pode estar associado a uma percepção amplificada da dor, alterações na atividade cerebral, fatores imunológicos e neuroendócrinos e predisposição genética, o que precisa ser investigado através de novos estudos a fim de explicar melhor as alterações funcionais que ocorrem na DTM. ^[14]

Esta predisposição genética pode estar relacionada com os polimorfismos genéticos, e estes são variações nos genes que podem ocasionar mudanças na sequência de DNA, tornando o indivíduo menos ou mais predisposto a uma enfermidade ou agravando sua severidade. ^[17] Desse modo, identificar os polimorfismos, que acentuam a produção de citocinas, interferindo na severidade da

disfunção temporomandibular é importante, pois permitirá a intervenção, através de uma terapêutica mais específica.

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) é uma das citocinas produzidas por monócitos e macrófagos, e está envolvida em diversos processos fisiológicos e patológicos, como a imunologia, inflamação, apoptose, neoplasias,^[18] diabetes, osteoporose,^[19] doença inflamatória intestinal, psoríase, uma maior depressão e doença de Alzheimer.^[20]

O gene do TNF α *rs 1800629*^[19-20] está localizado no cromossomo 6p21.3.^[21-22] e este apresenta os seguintes polimorfismos de nucleotídeo único(SNP): TNF α -308 G/A, -1031 T/C, -863 C/A, -857 C/T, -575 G/A, -376 G/A, -244 G/A e -238 G/A, que estão localizados na região promotora do gene.^[22] O polimorfismo -308 G/A TNF α foi descoberto em 1992 e consiste na substituição do nucleotídeo adenina (A) por guanina (G) na posição -308 do gene do TNF α . O alelo homozigoto predominante é o G/G, o heterozigoto é o G/A e o homozigoto raro é o A/A. A presença da substituição de A por G está relacionada com um aumento da ligação de fatores nucleares e maior transcrição do gene^[18], ou seja, o polimorfismo em questão tem sido associado a níveis elevados de TNF α no sangue.^[22-23] Vale ressaltar que nos pacientes com DTM, os níveis desta interleucina estão aumentados no líquido sinovial.^[24]

É importante dizer que a etiologia multifatorial da DTM e a ausência de um tratamento mais eficaz geram um quadro de dor debilitante prolongado e uma redução da qualidade de vida do paciente. Desse modo, visando compreender a etiopatogenia desse distúrbio, é necessária a realização da relação entre o perfil genético e o desenvolvimento da doença, a fim de auxiliar futuros métodos diagnósticos e terapêuticos.^[25]

Esta ideia é corroborada por Freitas^[9] ao afirmar que estudos genéticos precisam ser realizados a fim de compreender melhor as complexidades da disfunção temporomandibular, pois podem ser uma consequência da interação de múltiplos genes e fatores ambientais.

Os fatores morfológicos da DTM são bastante estudados, porém não é dada a devida importância à associação dos fatores ambientais com os genéticos, a fim de compreender melhor as variabilidades deste distúrbio o que permanece mal explicado.^[25]

Até o presente momento poucas pesquisas avaliaram a associação de alterações genéticas com a etiologia e a severidade da DTM. O único estudo do polimorfismo -308 A/G foi o de Furquim^[18] que avaliaram 152 casos e 91 controles. Pacientes com DTM apresentaram uma maior

probabilidade de ter o genótipo GA do que o grupo de controles saudáveis, mostrando uma associação da presença do SNP -308A/G TNF- α *rs 1800629* com um maior risco de desenvolvimento da DTM na população brasileira. [24]

Vale ressaltar que a etiologia multifatorial da disfunção temporomandibular e a falta de uma terapêutica mais eficaz contribuem para a presença de dor debilitante prolongada e conseqüentemente uma redução da qualidade de vida do indivíduo. [25] Apesar de esta patologia atingir, mais comumente, pessoas entre 20 e 40 anos, é fundamental que o odontogeriatra atente para as modificações do sistema estomatognático do idoso, assim como a necessidade de avaliar a articulação temporomandibular a fim de diagnosticar alterações como a DTM. Idosos podem omitir dores ou incômodos.

O trabalho em questão objetivou avaliar a presença do polimorfismo -308A/G TNF- α *rs 1800629* em pacientes com disfunção temporomandibular dolorosa. A relevância deste estudo está na possibilidade de identificar este polimorfismo genético como um biomarcador para a presença de DTM, o que inclui obrigatoriamente o paciente idoso, já que pesquisas mostram a DTM na terceira idade. Desse modo, quando o odontogeriatra se deparar com sujeitos que apresentam dor persistente na DTM, poderá prescrever um tratamento direcionado, ou seja, medicações anti- TNF, desenvolvendo assim uma terapêutica mais eficaz e promovendo uma melhor qualidade de vida para o idoso.

METODOLOGIA

Os participantes deste estudo foram sete idosos, com idades entre 60 e 66 anos, de ambos os sexos, sendo seis mulheres e um homem, que compareceram a clínica de dor orofacial do Departamento de Prótese e Cirurgia Buco Facial do curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) para a realização de tratamento de dor orofacial. O período de execução do presente estudo foi de fevereiro a agosto de 2017.

A princípio os pacientes foram questionados através de aspectos citados no TMD-PAIN SCREENER. A primeira diz respeito à dor na mandíbula ou osso temporal em qualquer um dos lados nos últimos trinta dias, com três alternativas de resposta: se a dor está sempre presente; presente, mas inconstante; ou ausente. Na segunda pergunta os pacientes informaram se possuíam dor ou rigidez na mandíbula ao acordar. E a terceira se refere à presença de dor na mastigação de

alimentos duros ou difíceis, na abertura de boca e/ ou ao mover a mandíbula para o lado, em hábitos como ranger os dentes (bruxismo), apertar os dentes (briquismo) ou mastigar goma de mascar.

Posteriormente, os participantes foram examinados conforme os critérios de diagnóstico do Diagnostic Criteria for Temporomandibular disorders (DC/TMD) proposto por Schiffman et al.,^[15] Os idosos foram avaliados por uma profissional que é cirurgiã-dentista e fonoaudióloga. O exame clínico foi realizado com o auxílio de luz artificial, espátula de madeira, paquímetro, luvas, máscara e gorro de procedimento.

A análise do polimorfismo foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Oncohematologia Pediátrica do Hospital Universitário Oswaldo Cruz da Universidade de Pernambuco (CEONHPE/HUOC/UPE). Foram coletados, por punção venosa, 5 mL de sangue periférico em um tubo contendo EDTA (BD Vacutainer Preanalytical Solutions, Franklin Lakes, NJ). O armazenamento ocorreu em gelo.

O DNA genômico foi obtido através das amostras de sangue dos pacientes idosos pelo método “Mini salting out”, descrito por Miller et al.^[26] A determinação do polimorfismo -308A/G TNF- α rs 1800629 ocorreu pela técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) descrito por Cabrera et al.^[27]

Em relação aos critérios de inclusão foram incluídos neste estudo indivíduos com disfunção temporomandibular dolorosa, com 60 anos ou mais, e os critérios de exclusão consistiram em pacientes que apresentaram processos inflamatórios endodônticos, periodontais, lesões orais, próteses totais mal adaptadas, traumas nas regiões de cabeça e pescoço e idosos que relataram estar com chikungunya.

Os aspectos éticos do presente estudo estão de acordo com a Resolução 466/2012^[28] do Conselho Nacional de Saúde e foram respeitados os princípios bioéticos. Os pacientes, familiares e responsáveis foram informados de forma clara e precisa a respeito da natureza e dos objetivos deste estudo, e incluídos apenas após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelo paciente. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em seres humanos do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), bem como pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Oswaldo Cruz (HUOC), sendo o número do CAAE 60758216.1.3001.5208.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A articulação temporomandibular é de grande importância na comunicação, expressão emocional e alimentação. O sistema estomatognático do indivíduo, na terceira idade, pode sofrer modificações como é o caso de uma sobrecarga na ATM, provocada pela ausência de dentes, traumas, hábitos parafuncionais e oclusão deficiente, podendo gerar assim uma disfunção temporomandibular,^[5] afetando a qualidade de vida do paciente idoso, pois a dor persistente é um dos principais sintomas deste distúrbio.^[1]

No presente estudo, foram entrevistados por meio do TMD-PAIN SCREENER sete idosos, com idades entre 60 e 66 anos, apresentando queixa de dor. Estes procuraram atendimento na clínica de dor orofacial do Departamento de Prótese e Cirurgia Buco Facial do curso de Odontologia da UFPE. Em relação ao sexo dos participantes da pesquisa seis eram do sexo feminino e um do sexo masculino. Todos referiram dor na mandíbula e/ou na região do osso temporal em um lado ou em ambos os lados. A dor na disfunção temporomandibular ocorre em 4 a 12% da população brasileira.^[14] e estudos verificaram que a DTM atinge também os idosos.^[5,10-12]

Os participantes também relataram dores na mandíbula ao acordar, nos últimos trinta dias e na mastigação de alimentos duros ou difíceis, na abertura de boca e/ ou nos movimentos de lateralidade, em hábitos como ranger os dentes ou apertá-los. O quadro de dor debilitante prolongado é relatado pela literatura.^[1-6, 8, 14,25] Portanto, a dor facial é a principal queixa dos pacientes com DTM.^[1]

O DC/TMD examination form possibilitou o diagnóstico de DTM muscular em todos os idosos avaliados. A análise do polimorfismo -308A/G TNF- α rs 1800629 nas amostras de sangue através da técnica de PCR mostrou a presença deste polimorfismo nos participantes deste estudo, o que pode ser verificado na figura 1.

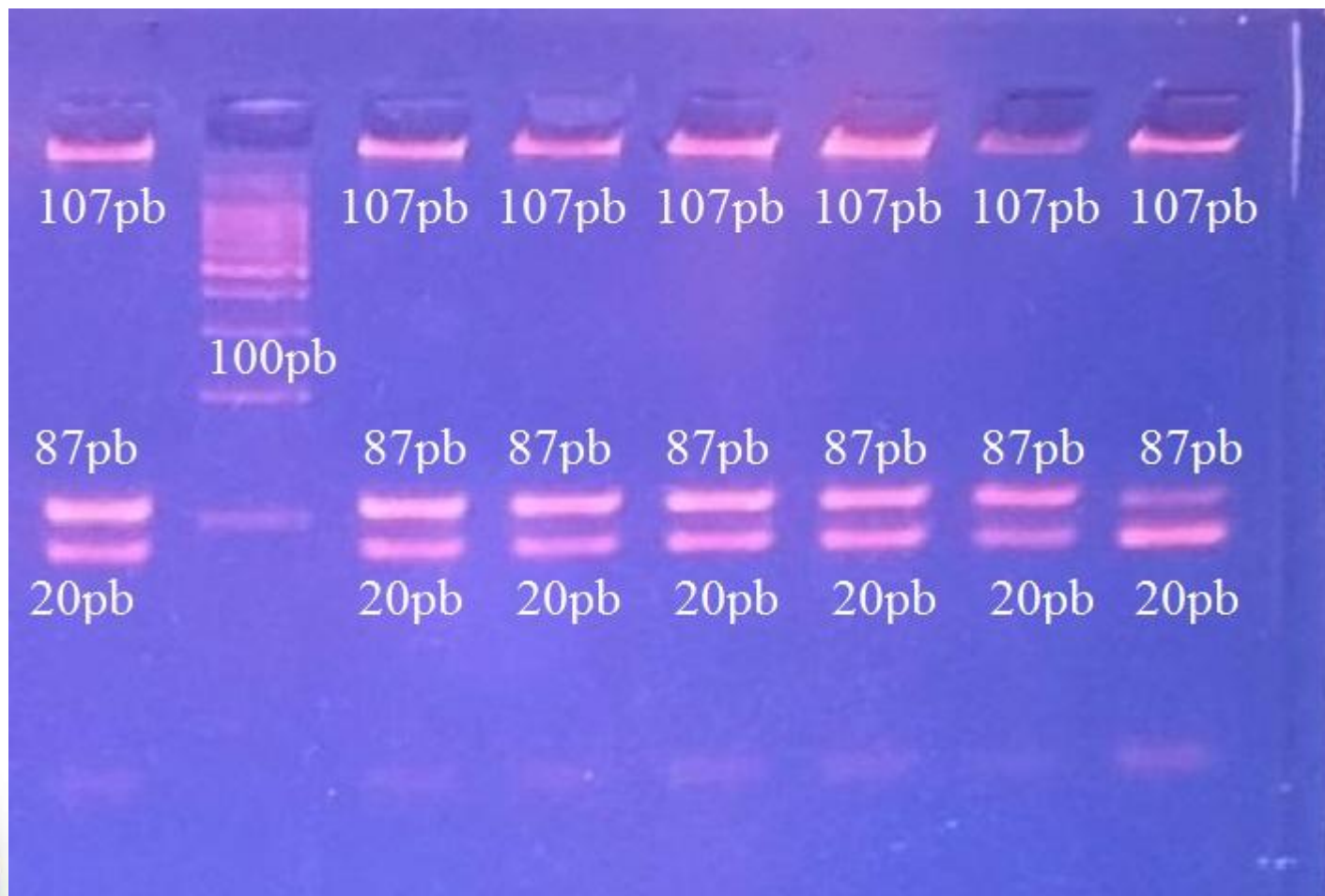


Figura 1. Gel em agarose 4% que demonstra uma PCR para o polimorfismo -308A/G TNF- α *rs 1800629*. O poço 2 representa o Ladder (marcador de pares de bases) e os poços 1,3,4,5,6,7,8 os idosos demonstrando o perfil heterozigótico para este polimorfismo, com 107 pares de bases (pb), que na digestão gerou dois fragmentos com 20 pb e 87 pb.

Estes resultados apontam para a possibilidade de uma maior incidência do polimorfismo -308 A/G em pacientes idosos com disfunção temporomandibular, o que requer mais estudos com um maior número de participantes a fim de verificar se este polimorfismo está relacionado ao agravamento dos sintomas. A única pesquisa com este polimorfismo foi realizada por Furquim et al.^[24] que examinaram 152 casos, com uma média de idade de 36 ± 11 anos e 91 controles, com uma média de idade de 34 ± 11.47 anos e constataram uma associação da presença do SNP -308A/G TNF- α *rs 1800629* com um maior risco de desenvolvimento da DTM na população brasileira.

O TNF- α está associado ao processo inflamatório do organismo.^[18,23] e seu polimorfismo -308A/G TNF- α vem sendo atrelado a níveis mais altos de TNF α no plasma.^[22-23] Vale ressaltar que nos

pacientes com DTM, Há também um aumento dos níveis desta interleucina no líquido sinovial de indivíduos com disfunção temporomandibular. [24]

Estes achados são de grande importância, pois caso o polimorfismo analisado possa ser aplicado como um biomarcador, isto permitirá a atuação do odontogeriatra de forma mais específica, por meio da prescrição de um tratamento direcionado com base em uma estratificação de risco deste grupo de pacientes, promovendo uma maior eficácia terapêutica e uma melhor qualidade de vida para o idoso.

CONCLUSÕES

A disfunção temporomandibular é uma síndrome multifatorial e que ainda não apresenta um tratamento totalmente eficaz, contribuindo assim para um quadro de dor facial debilitante prolongado, podendo comprometer a comunicação, expressão emocional e alimentação.

Esta patologia também atinge a terceira idade, principalmente devido às mudanças ocorridas no sistema estomatognático durante o processo de envelhecimento tais como ausência de dentes, traumas, má oclusão e hábitos parafuncionais, requerendo do odontogeriatra uma maior atenção para o diagnóstico da DTM nos pacientes idosos.

A etiologia da DTM ainda não é plenamente conhecida, havendo uma predisposição genética que precisa ser investigada. O presente estudo objetivou avaliar uma possível associação do polimorfismo -308A/G TNF- α com a disfunção temporomandibular dolorosa muscular em pacientes idosos.

O polimorfismo -308A/G TNF- α esteve presente em todos os idosos avaliados. Ele gera níveis elevados da interleucina TNF- α no sangue e esta, por sua vez, está envolvida em processos patológicos e fisiológicos do organismo como na resposta imunológica, na infecção, na inflamação e apoptose.

É necessária a realização de mais estudos a fim de constatar se o polimorfismo -308A/G TNF- α está associado com o agravamento dos sintomas na DTM e se ele pode ser empregado como um biomarcador para este distúrbio, permitindo não apenas a estratificação de pacientes, mas também um tratamento direcionado. Desse modo, o odontogeriatra poderá utilizar uma terapêutica mais específica, ou seja, a prescrição de medicações anti-TNF, para os idosos portadores da disfunção

temporomandibular dolorosa persistente, promovendo uma maior qualidade de vida para estes indivíduos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Augusto VG, Perina KCB, Penha DSG, Santos DCA, Oliveira VAS. Temporomandibular dysfunction, stress and common mental disorder in university students. *Acta Ortop Bras* 2016; 24 (6): 330-33.
2. Chaves PJ, Oliveira FEM, Damázio LCM. Incidence of postural changes and temporomandibular disorders in students. *Acta Ortop Bras* 2017; 25(4): 162-4.
3. Oltramari-Navarro PVP, Yoshie MT, Silva RA, Conti ACCF, Navarro RL, Marchiori LLM, Fernandes KBP. Influence of the presence of Temporomandibular Disorders on postural balance in the elderly. *CoDAS Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia* 2017; 29(2): e20160070
4. Conti PCR, Corrêa ASM, Lauris JRP, Stuginski-Barbosa J. Management of painful temporomandibular joint clicking with different intraoral devices and counseling: a controlled study. *J. Appl. Oral Sci* 2015; 23 (5): 539 – 35.
5. Almeida LHM, Farias ABL, Soares MSM, Cruz JSA, Cruz RES, Lima MG. Disfunção temporomandibular em idosos. *Revista da Faculdade de Odontologia –UPF* 2008; 13 (1): 35-8.
6. Magalhães BG, Freitas JLM, Barbosa ACDS, Gueiros MCSN, Gomes SGF, Rosenblatt A, Júnior AFC. Temporomandibular disorder: otologic implications and its relationship to sleep bruxism. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2017; available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1808869417301404>
7. Grillo, CM, Canales GDLT, Wada RS, Alves MC, Barbosa CMR, Berzin F, Sousa MLR. Could Acupuncture Be Useful in the Treatment of Temporomandibular Dysfunction? *Journal Acupunct Meridian Stud* 2015; 8 (4): 192-99.
8. Mor M, Tang C, Blitzler A. Temporomandibular Myofascial Pain Treated with Botulinum Toxin Injection. *Toxins* 2015; 7 (8): 2791-800.
9. Freitas LVS, Lopes ACP, Piatto VB, Maniglia JM. Association of temporomandibular dysfunction with the 102T-C polymorphism in the serotonin receptor gene in Brazilian patients. *Arch Med Sci* 2013; 9 (6): 1013-18.
10. Cavalcanti MOA, Lima CCM, Lima JMC, Gomes I, Goldim JR. Prevalência da disfunção temporomandibular em idosos não institucionalizados. *Estudos interdisciplinares sobre o envelhecimento* 2015; 20 (2): 551-66.

11. Sampaio NM, Oliveira MC, Ortega AO, Santos LB, Alves TDB. Temporomandibular disorders in elderly individuals: the influence of institutionalization and sociodemographic factors. *CoDAS Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia* 2017; 29(2): e20160114
12. Honda M, Iida T, Komiyama O, Masuda M, Uchida T, Nishimura H, Okubo M, Shimosaka M, Narita H, Niwa H, Kubo H, De Laat A, Kawara M, Makiyama Y. Characteristics of middle-aged and older patients with temporomandibular disorders and burning mouth syndrome. *Journal of Oral Science* 2015; 57(4): 355-60.
13. Jeon H, Ahn Y, Jeong S, Ok S, Choi J, Lee J, Joo J, Kwon E. Pattern analysis of patients with temporomandibular disorders resulting from unilateral mastication due to chronic periodontitis. *J Periodontal Implant Sci.* 2017; 47(4): 211–18.
14. Furquim BD, Flamengui LMSP, Conti PCR. TMD and chronic pain: A current view. *Dental Press J Orthod* 2015; 20 (1):127-33.
15. Schiffman E, Ohrbach R, Truelove E, Look J, Anderson G, Goulet J, List T, Svensson P, Gonzalez Y, Lobbezoo F, Michelotti A, Books SL, Ceusters W, Dragsholt M, Ettlin D, Gaul C, Goldberg LJ, Haythornthwaite JA, Hollender L, Jensen R, John MT, De Laat A, Leeuw R, Maixiner W, Meulen MVD, Murray GM, Nixdorf DR, Palla S, Petersson A, Pionchon P, Smith B, Visscher CM, Zakrzewska J, Dworkin SF. Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders (DC/TMD) for Clinical and Research Applications: Recommendations of the International RDC/TMD Consortium Network and Orofacial Pain Special Interest Group. *J Oral Facial Pain Headache* 2014; 28 (1): 6-27.
16. Silva TR, Canto GL. Integração odontologia-fonoaudiologia: a importância da formação de equipes interdisciplinares. *Rev. CEFAC* 2014; 16 (2): 598-603.
17. Fernández R; Tobón DM, Osorno K, Zuluaga OE. Polimorfismo genético para la interleukina-1 β como modulador de los procesos de reabsorción ósea. *CES Odontología* 2012; 25(1): 92-101.
18. Sun Q, Guo X, Zhao F. The association of TNF -308 (G/A) gene polymorphism and hepatocellular carcinoma risk: a meta analysis. *Chin J Cancer Res* 2016; 28(5): 536–542.
19. UMAR, M. Upadhyay R, Kumar S, Ghoshal UC, Mittal B. Association of Common Polymorphisms in TNFA, NFkB1 and NFKBIA with Risk and Prognosis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *PloS one* 2013; 8(12): , e81999.
20. Luo M, Yang Y, D, Liu L, Zhang Y, Xiao F, Yang J, Zhang C, Fu S, Luo Z. Tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism 308 G/A is not significantly associated with esophageal cancer risk: a meta-analysis. *Oncotarget* 2016; 7(48): 79901–13.

21. Rajesh D, Chowdappa C, Gurumurthy R, Kutty AV, Balakrishna S. Profile of Tumour Necrosis Factor Alpha - 308 G/A Gene Polymorphism in Psoriatic Patients in Karnataka, India. *J Clin Diagn Res.* 2017;11(2): GC01-GC04.
22. Khademi Bami M, Tezerjani MD, Montazeri F, Mehrjardi HRA, Ghasemi-Esmailabad S, Sheikha MH, Kalantar SM. Tumor Necrosis Factor Alpha - 308G/A Single Nucleotide Polymorphism and Risk of Sperm Abnormalities in Iranian Males. *Int J Fertil Steril* 2017;11(2):112-16.
23. Makamure MT, Reddy P, Chuturgoon A, Naidoo RN, Mentz G, Batterman S, Thomas G, Robins TG. Tumor necrosis factor α polymorphism (TNF-308 α G/A) in association with asthma related phenotypes and air pollutants among children in Zwazulu Natal. *APJAI* 2016; DOI 10.12932/AP0677.
24. Furquim BD, Flamengui LM, Repeke CE, Cavalla F, Garlet GP, Conti PC. Influence of TNF- α -308 G/A gene polymorphism on temporomandibular disorder. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2016; 149(5):692-8
25. Bonato LL, Quinelato V, Granjeiro JM, Casado PL et al. Desordem temporomandibular e a influência do polimorfismo genético. *Revista da Faculdade de Odontologia de Lins* 2013 (2): 61-8.
26. Miller AS, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1998; 16 (3): 1215.
27. Cabrera M, Shaw MA, Sharples C, Williams H, Castes M, Convit J, Blackwell JM. Polymorphism in tumor necrosis factor genes associated with mucocutaneous leishmaniasis. *J Exp Med* 1995; 182(5):1259-64.
28. BRASIL. Ministério da Saúde. CNE/CONEP. Resolução nº 466/2012. Conselho Nacional de Saúde de 12 de dezembro de 2012. Disponível em http://conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep/index.html