



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM CLÍNICA INTEGRADA

RODRIGO ALVES RIBEIRO

INSUCESSO DOS IMPLANTES DENTÁRIOS, AVALIAÇÃO CLÍNICA E DOS
POLIMORFISMOS NOS GENES IL-10 (-1082) E RANK L (-438)

Recife/PE
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM CLÍNICA INTEGRADA

RODRIGO ALVES RIBEIRO

INSUCESSO DOS IMPLANTES DENTÁRIOS, AVALIAÇÃO CLÍNICA E DOS
POLIMORFISMOS NOS GENES IL-10 (-1082) E RANK L (-438)

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Odontologia, área de concentração em Clínica Integrada.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Tortamano Neto

Recife/PE
2014

Catálogo na fonte
Bibliotecária Gláucia Cândida, CRB4-1662

R4841 Ribeiro, Rodrigo Alves.
Insucesso dos implantes dentários, avaliação clínica e dos
polimorfismos nos genes IL -10(-1082) e RANKL (-438) / Rodrigo Alves
Ribeiro. – Recife: O autor, 2014.
60f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Renata Cimões Jovino Silveira.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS
Pós-graduação em Odontologia, 2014.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Implantes Dentários. 2. Peri-Implante. 3. Polimorfismo Genético. 4. Interleucina-10. I. Silveira, Renata Cimões Jovino (Orientadora). II. Título.

617.6 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2014-188)

TÍTULO DO TRABALHO: INSUCESSO DOS IMPLANTES DENTÁRIOS,
AVALIAÇÃO CLÍNICA E DOS POLIMORFISMOS NOS GENES IL-10 (-1082) E RANK
L (-438)

NOME DO ALUNO: RODRIGO ALVES RIBEIRO

TESE APROVADA EM: 29 DE SETEMBRO DE 2014

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

Profª. Dra. Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho

Prof. Dr. Felipe Bravo Machado de Andrade

Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy

Prof. Dr. Leógenes Maia Santiago

Recife/PE
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. Nicodemus Teles de Pontes Filho

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque Tavares Carvalho

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

MESTRADO EM CLÍNICA INTEGRADA

COLEGIADO

MEMBROS PERMANENTES

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho

Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

Prof.Dr. Arnaldo de França Caldas Junior

Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar

Prof.Dr. Danyel Elias da Cruz Perez

Profa. Dra. Flavia Maria de Moraes Ramos Perez

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio

Prof. Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Prof. Dra. Maria Luiza dos Anjos Pontual

Prof. Dr. Paulo Sávio Angeiras Goes

Profa. Dra. Renata Cimdões Jovino Silveira

Profa. Dra. Silvia Regina Jamelli

Prof. Dra. Simone Guimaraes Farias Gomes

Prof. Dr. Tibério César Uchoa Matheus

MEMBRO COLABORADOR

Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva

Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

SECRETARIA

Oziclere Sena de Araújo

Dedico este trabalho:

À Deus, “Você se fez presente em todos os momentos, firmes ou trêmulos. E, passo a passo, pude sentir suas mãos nas minhas, transmitindo-me a segurança necessária para enfrentar meu caminho e seguir...”

(Vinícius de Moraes)

À minha família, Henry, Socorro, Camila e Bárbara, dedico a vocês, que me fazem sentir seguro a cada passo dado. Sem vocês não teria conseguido!

Agradecimentos

À Deus, por me permitir enxergar muito além daquilo que se postava em minha frente, por me dar forças quando eu julgava não mais as ter, pela saúde, pelos amigos e por, através dos obstáculos, mostrar-me a força e a fé existentes em mim.

*À minha orientadora, **Prof. Dra. Renata Cimões**, que tornou-se um exemplo a ser seguido na minha vida profissional, meu sincero agradecimento pelos conhecimentos transmitidos, ensinamentos acadêmicos e de vida, pela confiança depositada e também pela paciência e compreensão. Que Deus abençoe sua vida!*

*Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFPE, na pessoa da sua coordenadora, **Profa. Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho**, lugar do qual me orgulho por fazer parte da minha formação acadêmica.*

*Ao **Prof. Dr. Pedro Tortamano Neto**, pela cessão da clínica da Fundect/Usp e as suas alunas **Caroline Keedi** e **Mily Itice** pela ajuda dispensada.*

*Ao Laboratório de Genética, Bioquímica e Sequenciamento da UFRPE, na pessoa do **Prof. Dr. Paulo Eleutério de Souza**, por ter oferecido todas as condições necessárias para as etapas laboratoriais desse estudo.*

*À minha noiva, **Bárbara de Brito Monteiro**, pelo amor que compartilhamos diariamente, por seu incentivo, apoio e compreensão nesse momento que estamos semeando nosso futuro. Também, por ser um exemplo de profissional dedicada e compromissada com o ensino e pesquisa, estimulando todos ao seu redor. Obrigado pelo amor e carinho!*

*Ao meu pai, **Henry Rodrigues Ribeiro**, meu maior e melhor professor, que me ensinou através do seu exemplo a viver com honestidade, humildade e determinação na busca dos meus objetivos, além de todo apoio e amor incondicional que me dá.*

*À minha mãe, **Maria do Socorro Alves**, essencial alicerce, meu porto seguro onde só encontro amor, que transforma minhas agitações, angústias e incertezas em segurança e força.*

*À minha irmã, **Camila Alves Ribeiro**, pela amizade, cumplicidade, e pelo exemplo diário de alegria e entusiasmo com a vida.*

*Ao meu amigo **Leonardo** e minha amiga **Samira**, vocês são minha família em Recife. Obrigado por toda a atenção, presteza e cuidado que tiveram comigo, serei sempre grato por tudo. Contem comigo, sempre! Que Deus os abençoe.*

*Às amigas e companheiras de trabalho **Marília Lins**, **Camila Cravo** e **Conceição Araújo**, por toda a ajuda e ensinamentos compartilhados.*

*À todos os colegas do curso de Doutorado, por compartilharem suas experiências, em especial **Keila Lucena**, **Angelinne Angelo**, **Bruno Gama**, **José Anderson**, **Raphaela Silva**, **Roberta Nathalie** e **Ludmila Galindo**. Aprendi muito com vocês.*

*Aos Professores do Programa de Pós-graduação, especialmente **Profa. Dra. Renata Cimões, Prof. Dra. Alessandra Albuquerque, Prof. Dr. Arnaldo Caldas, Prof. Dr. Danyel Elias, Prof. Dr. Tibério Matheus, Prof. Dr. Luis Alcino, Profa. Dr. Jurema Lisboa**, pelos valiosos ensinamentos, engrandecendo nossa formação.*

*Às funcionárias **Oziclere e Tânia**, meus agradecimentos pela disponibilidade, paciência e colaboração.*

*Ao programa **REUNI**, pelo suporte financeiro na forma de bolsa de Doutorado.*

*À **FACEPE**, pelo auxílio mobilidade discente, que possibilitou a coleta de dados desta pesquisa.*

À toda minha família e amigos, pelo estímulo durante essa jornada e pela compreensão em todos os momentos de ausência.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento!

“Entrega teu caminho ao Senhor,
confia Nele, e Ele o fará”

Salmos 37:5

RESUMO

INTRODUÇÃO: Os implantes dentais constituem uma opção de tratamento confiável e previsível para reabilitação oral. Apesar dos benefícios reconhecidos, complicações biológicas e mecânicas podem ocorrer, comprometendo a estabilidade da reabilitação.

OBJETIVO: estimar o índice de sucesso através dos critérios propostos na literatura e verificar a associação do polimorfismo do gene RANKL [região -438 (A/G)] e do gene IL-10 [região -1082(A/G)] ao insucesso de implantes dentários.

MATERIAIS E MÉTODOS: A amostra aleatória foi composta por noventa pacientes, de ambos os gêneros, parcialmente edêntulos reabilitados com 245 implantes dentários Straumann® (Waldenburg, Switzerland), os quais foram avaliados clínica e radiograficamente para os seguintes parâmetros: mobilidade, queixas subjetivas persistentes, infecção peri-implantar recorrente com supuração, radiolucência contínua ao redor do implante, profundidade de sondagem ≥ 5 mm e sangramento à sondagem. Estes parâmetros foram agrupados pelos seguintes autores: Schnitman & Schulman (1979), Albrektsson et al. (1986), Buser et al. (1990), Mombelli & Lang (1994) e Ong et al. (2008). Na presença de algum destes critérios, o implante foi considerado como insucesso. O tempo de carga dos implantes foi categorizado em 3 grupos: Grupo 1: < 1 ano de carga; Grupo 2: ≥ 1 e < 5 anos de carga e Grupo 3: ≥ 5 anos de carga. Também foram coletadas células da mucosa jugal para a análise do polimorfismo dos genes RANKL e IL-10 através da reação em cadeia da polimerase.

RESULTADOS: Quando as diferentes classificações para insucesso de implante foram consideradas, houve diferença significativa na ocorrência de insucessos. A prevalência de insucesso variou de 3,3%, segundo os critérios de Buser et al. 1990 a 36,7%, de acordo com os critérios de Ong et al. (2008). Não houve associação entre o insucesso dos implantes e os genótipos dos genes RANKL e IL-10 ($p>0,05$).

CONCLUSÃO: Pode-se concluir que de acordo com o critério adotado há grande variação na ocorrência de insucesso nos implantes e que não houve associação entre o polimorfismo genético da RANKL 438 e IL-10 e o insucesso do implante dentário na população avaliada.

Palavras-chave: Implantes dentários. Peri-implantite. Polimorfismo genético. Interleucina-10. RANKL.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Dental implants are a reliable and predictable for oral rehabilitation treatment. Despite the recognized benefits, biological complications can occur, compromising rehabilitation success.

OBJECTIVE: To estimate the success rate using criteria proposed by different authors and to verify the association of the polymorphism of the *IL-10* gene [-1082 region (A/G)] and the *RANKL* [-438 region (A/G)] to the failure of dental implants.

MATERIALS AND METHODS: The aleatory sample was composed of ninety patients of both genders, rehabilitated with 245 dental implants Straumann® (Waldenburg, Switzerland) were evaluated clinically and radiographically for the following parameters: mobility, persistent subjective complaints, recurrent peri-implant infection with suppuration, the continuous radiolucent around the implant, probing depth ≥ 5 mm and bleeding on probing. These parameters were grouped by the following authors: Schnitman & Schulman (1979), Albrektsson et al. (1986), Buser et al. (1990), Mombelli & Lang (1994) e Ong et al. (2008). In the presence of either of these criteria, the implant was considered as failures. Different time for loading was categorized into groups: Group 1: < 1 years; Group 2: ≥ 1 e < 5 years e Group 3: ≥ 5 years. Cells from the oral mucosa for analysis of polymorphism of *IL-10* and *RANKL* (-438) genes by polymerase chain reaction.

RESULTS: When the different ratings for implant failure were considered, there was a significant difference in the occurrence of failures. The prevalence of failure ranged from 3.3%, according to the criteria of Buser et al. (1990) to 36.7% in accordance with the criteria Ong et al. (2008). There was no association between the failure of the implants and the genotypes of 438 genes *RANKL* and *IL-10* ($p>0,05$).

CONCLUSION: according to the criterion adopted there is great variation in the occurrence of failure in implants and no association between the genetic polymorphism of *RANKL* (-438) and *IL-10* and the dental implant failure in this population.

Keywords: Dental implants. Peri-implantitis. Polymorphism. Interleukin-10. RANK Ligand.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Critérios de sucesso propostos por diferentes autores.....	43
Tabela 2 -Distribuição dos implantes em relação ao sexo, tempo de carga e os insucessos de acordo com Ong et al. (2008).....	44
Tabela 3 -Distribuição dos critérios de insucesso do implante de acordo com Ong et al. (2008).....	45
Tabela 4 -Comparação entre os índices de insucesso relacionados por autor.....	46
Tabela 5 -Concordância entre os autores.....	47
Tabela 6 -Distribuição dos genótipos e alelos da população estudada.....	48
Tabela 7 -Associação entre insucesso, genótipos e alelos para RANKL (-438) e IL-10 (-1082).....	49

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A	Adenina
ARMS	Amplification-refractory mutation system
CEP	Comitê de ética em pesquisa
DNA	Deoxyribonucleic acid
G	Guanina
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
ml	Mililitro
pb	Pares de base
PS	Profundidade de sondagem
PIC	Perda de inserção clínica
PCR	Polimerase Chain Reaction
RANK	Receptor activator of nuclear factor kappa B
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand
SNP	Single Nucleotide Polymorphisms
SS	Sangramento à sondagem
SPSS	<i>Statistical Package of Social Science</i>
Th	T helper
TNF	Tumor Necrosis Factor
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UTR	Untranslated region
µl	Micro litro
°C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 INSUCESSO DOS IMPLANTES DENTÁRIOS, AVALIAÇÃO CLÍNICA E DOS POLIMORFISMOS NOS GENES IL-10 (-1082) E RANKL (-438).....	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
4 RESULTADOS.....	22
5 DISCUSSÃO.....	24
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	31
REFERÊNCIAS.....	32
APÊNDICES.....	39
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	39
APÊNDICE B – FICHA CLÍNICA.....	41
APÊNDICE C – TABELAS.....	43
ANEXOS.....	50
ANEXO A - NORMAS CLINICAL ORAL IMPLANTS RESERACH.....	50
ANEXO B - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	59

1 INTRODUÇÃO

Os implantes revolucionaram a reabilitação oral, a prótese odontológica e as reconstruções maxilares (Demarosi et al. 2009; Barber et al. 2011; De Riu et al. 2012), e se tornaram um método de reabilitação previsível; e este tipo de tratamento, em alguns casos, é preferível à alternativas mais clássicas, como prótese fixa ou removível suportadas por dentes. A taxa de sucesso da osseointegração desses implantes é alta, mas pode ser comprometida por várias complicações biológicas e técnicas que ocorrem associadas aos implantes e às próteses. Embora as complicações biológicas compreendam vários tipos de doenças peri-implantares, existe uma ampla variedade de complicações técnicas relacionadas com danos mecânicos da prótese (Kadkhodazadeh & Amid 2013).

Há algum tempo são relatados na literatura alguns fatores biológicos e técnicos que podem comprometer o êxito do tratamento com implantes, são eles: condição médica do paciente, infecções, fumo, enxertos, qualidade óssea, perda óssea, sobrecarga oclusal, fratura do implante, característica de desenho e de superfície do implante (Esposito et al. 1998; Salvi & Bragger 2009), e essas são circunstâncias que podem afetar tanto os tecidos duros quanto os tecidos moles que sustentam o implante (Lang & Berglundh 2011).

Assim como o tecido periodontal é essencial para a estabilidade da dentição natural, o tecido peri-implantar saudável é essencial para a estabilidade a longo prazo do implante dental. No decorrer dos anos, a ênfase foi dada às técnicas e procedimentos cirúrgicos e protéticos. No entanto, há falta de foco no tratamento básico de suporte e manutenção dos implantes. É esse suporte que ajuda a garantir o sucesso a longo prazo, de forma semelhante aos dentes naturais (Algraft et al. 2012).

Os insucessos biológicos dizem respeito à doença peri-implantar, que é um termo genérico relacionado às reações infecciosas que ocorrem nos tecidos que circundam um implante em função, resultando em um processo inflamatório (Liskmann et al. 2006). Distinguem-se duas condições: a mucosite peri-implantar e a peri-implantite. Mucosite peri-implantar refere-se a uma inflamação reversível dos tecidos moles peri-implantares sem perda óssea (Albrektsson & Isidor 1994; Mombelli & Lang 2000), correspondendo, em termos básicos, à gengivite (Nogueira-Filho et al. 2011). A peri-implantite é um processo inflamatório ao redor de implantes dentais osseointegrados em função, os quais resultam em perda óssea, afetando 5 a 10% dos implantes (Mombelli & Lang, 2000), e corresponde, basicamente, a periodontite do adulto (Albrektsson & Isidor 1994). Em relação ao diagnóstico das doenças peri-implantares supracitadas, a sondagem periodontal é essencial. Um aumento

da profundidade da sondagem ao longo do tempo está associada com perda de inserção dos tecidos e de osso subjacente. O uso da sonda periodontal ajuda a identificar sangramento e supuração da mucosa enquanto o osso alveolar também é monitorado (Algraft et al. 2012).

As inflamações nos tecidos peri-implantares ocorrem principalmente devido a presença de bactérias com consequente resposta imune do hospedeiro (Garg, 2010; Lang & Berglundh 2011). Essa resposta pode ser regulada, positiva ou negativamente, por uma série de fatores como doenças locais e sistêmicas, medicamentos, hormônios sistêmicos, citocinas locais [interleucinas (IL-1, IL-6, IL-10)], fatores de crescimento, mediadores do metabolismo ósseo (RANK) (Soedarsono et al. 2006; Baioni et al. 2008) e polimorfismos genéticos (Kornman et al. 1997). Apesar de patógenos serem os agentes etiológicos conhecidos na doença inflamatória peri-implantar, a subsequente progressão e severidade da doença pode ser atribuída à diferenças na resposta do hospedeiro a agressores, como observado em outras doenças infecciosas (Medzhitov 2007).

Assim, o objetivo deste estudo foi determinar a frequência insucesso e verificar se há diferença entre os critérios adotados, além de verificar a associação do polimorfismo do gene do RANKL (-438) e do gene da IL-10 (-1082) ao insucesso de implantes dentários.

2 INSUCESSO DOS IMPLANTES DENTÁRIOS, AVALIAÇÃO CLÍNICA E DOS POLIMORFISMOS NOS GENES IL-10 (-1082) E RANKL (-438)

Apesar das altas taxas de sobrevida de implantes dentários, as falhas biológicas e mecânicas ainda ocorrem, principalmente durante a cicatrização inicial e no primeiro ano de carga. No entanto, também surgem complicações durante a fase de manutenção dos implantes (Esposito et al. 1998). Vários estudos longitudinais têm relatado taxas de sobrevida de cerca de 85-95% por períodos de 5-10 anos (Esposito et al. 1998; Berglundh et al. 2002; Roos-Jansaker et al. 2006; Holm-Pedersen et al. 2007).

As inflamações nos tecidos peri-implantares ocorrem principalmente devido a presença de bactérias com consequente resposta imune do hospedeiro (Garg, 2010; Lang & Berglundh 2011). Essa resposta pode ser regulada, positiva ou negativamente, por uma série de fatores como doenças locais e sistêmicas, medicamentos, hormônios sistêmicos, citocinas locais [interleucinas (IL-1, IL-6, IL-10)], fatores de crescimento, mediadores do metabolismo ósseo (RANK) (Soedarsono et al. 2006; Baioni et al. 2008) e polimorfismos genéticos (Kornman et al. 1997). Apesar de patógenos serem os agentes etiológicos conhecidos na doença inflamatória peri-implantar, a subsequente progressão e severidade da doença pode ser atribuída à diferenças na resposta do hospedeiro a agressores, como observado em outras doenças infecciosas (Medzhitov 2007).

O polimorfismo para genes de determinadas citocinas e quimiocinas vêm sendo estudado ao longo dos anos em Implantodontia como uma forma de entender porque alguns indivíduos, que não apresentam os fatores de risco até o momento estabelecidos, tendo boa qualidade e quantidade óssea, sem doença sistêmica, uso de medicamentos e submetidos a um planejamento cirúrgico-protético adequado, tem falhas em implantes sem justificativas claras (Gonçalves et al. 2011). Polimorfismos de base única (Single Nucleotide Polymorphisms - SNPs) representam a forma mais comum de variação do DNA no genoma humano, e alelos polimórficos tem sido implicados no aumento da susceptibilidade para doenças humanas complexas (Asensi et al. 2003; Trevilatto et al. 2003; Gruica et al. 2004; Riemenschneider et al. 2006).

As alterações no gene de um indivíduo podem modular a gravidade e a progressão da inflamação oral através da expressão de citocinas e seus moduladores (Lachmann et al. 2007). A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias (Reinhardt et al. 1993), pela capacidade de induzir a proliferação de linfócitos B e a

proliferação e ativação de células natural killer (Moore et al. 2001). É provável que o polimorfismo no gene da interleucina tipo 10 (IL-10) module os níveis da proteína e esteja associado com a periodontite crônica (Scarel-Caminaga et al. 2004).

O receptor RANKL tem a função de ativar a diferenciação dos monócitos em osteoclastos (Xiong et al. 2006), sendo uma citocina chave na indução da osteoclastogênese (Suda et al. 1999) e de fundamental importância para a diferenciação, ativação e sobrevivência dos osteoclastos (Shalhoub et al. 1999). Considerando o relacionamento entre o polimorfismos do gene do RANKL com outras doenças relacionadas ao aumento da reabsorção óssea, existe a possibilidade de que o gene da RANKL seja um dos determinantes genéticos para a inflamação dos tecidos peri-implantares (Park et al. 2008).

Dessa forma, existem bons argumentos sobre o porquê dos genes codificados para proteínas da resposta imune inata estarem relacionados à doença peri-implantar inflamatória. O conhecimento sobre a susceptibilidade genética e polimorfismos relacionados nas complicações peri-implantares ainda é escasso (Loss et al. 2008). Tendo em vista a importância da imunidade inata na manutenção do estado de saúde periodontal e peri-implantar, o presente estudo teve com objetivo determinar a frequência insucesso e verificar se há diferença entre os critérios adotados, além de verificar a associação do polimorfismo do gene do RANKL (-438) e do gene da IL-10 (-1082) ao insucesso de implantes dentários.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE (Parecer 20932/CAAE 01219612.7.0000.5208) (Anexo I). Todos os voluntários consentiram previamente a participação no estudo, através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice I).

Foi realizado um estudo clínico retrospectivo com pacientes reabilitados com implantes dentários nos últimos 15 anos na Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Odontologia (Fundecto/USP), na clínica de pós-graduação em Implantodontia. Os dados relacionados aos pacientes foram coletados através da anamnese. Em relação aos implantes, coletaram-se as seguintes informações através de exame clínico e radiográfico: tempo de carga, queixas subjetivas (dor, disestesia, sensação de corpo estranho), mobilidade, além de exame periodontal e radiográfico. O tempo de carga, em anos, foi categorizados em 3 grupos: Grupo 1: < 1 ano de carga; Grupo 2: ≥ 1 e < 5 anos de carga e Grupo 3: $\geq$ que 5 anos de carga.

Foram recrutados para participar do estudo 150 pacientes, destes 126 compareceram à instituição e 15 foram excluídos do estudo, de acordo com os critérios em sequência. A amostra foi composta por 111 indivíduos e um total de 245 implantes pôde ser avaliado. Para a análise genética foram perdidos 21 amostras (por não terem DNA suficiente), assim, para a segunda parte do estudo a amostra foi composta por 90 indivíduos.

Considerou-se como critérios de inclusão: pacientes com idade ≥ 18 anos, parcialmente edêntulos e que foram reabilitados exclusivamente com implante de conexão interna cone morse (Straumann®, Waldenburg, Switzerland) bem posicionado, boas condições de saúde, história médica negativa para doenças crônicas (diabetes mellitus, osteoporose e doenças cardiovasculares) e sem histórico de sobrecarga oclusal (bruxismo e apertamento). Para evitar fatores que pudessem confundir o resultado do estudo, foram excluídos pacientes fumantes, com histórico de periodontite, que utilizaram enxertos no procedimento cirúrgico para instalação de implantes, uso de medicamentos anticoagulantes e esteróides de uso crônico, além de radioterapia ou quimioterapia.

Exames clínico e Radiográfico

Todos os pacientes foram avaliados pelo mesmo pesquisador previamente calibrado. Foi realizada uma entrevista baseada na história clínica, utilizando uma ficha padronizada elaborada para o estudo (Apêndice II). As informações coletadas nessa etapa foram divididas em história médica e odontológica. Após a anamnese, os parâmetros clínicos de profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (SS) e recessão gengival (RG) foram registrados para todos os implantes. Para isso, foi realizada uma sondagem de quatro sítios ao redor de cada implante, utilizando-se uma sonda periodontal PC15 (Trinity, São Paulo, Brasil). As medidas foram arredondadas a cada milímetro.

Após o exame clínico, foi realizado o exame radiográfico através de uma tomada periapical na região de cada implante, utilizando a técnica do paralelismo. Para os implantes *bone level*, a perda óssea foi calculada na mesial e distal de cada implante a partir da junção do componente protético até o nível da crista óssea. Para implantes *tissue level*, a perda óssea foi calculada do ponto mais apical da porção transgengival do implante até o nível da crista óssea. Este exame serviu para observar a avaliação da perda óssea vertical, bem como a presença de radiolucência ao redor de implante.

Após os exames, realizou-se controle profissional do biofilme e instruções de higiene oral.

Critérios de sucesso adotados

A variável dependente desse estudo foi o insucesso do implante, assim, os critérios de sucesso utilizados nessa amostra foram baseados em trabalhos vastamente citados na literatura (Tabela 1), onde foram propostos alguns critérios clínicos e radiográficos definidos por Schnitman & Schulman (1979), Albrektsson et al. (1986) e adaptada por Buser et al. (1990), Mombelli & Lang (1994), Karoussis et al. (2004), e Ong et al. (2008), que inclui várias definições de sucesso nos implantes (incluindo mudança no nível ósseo). Para este estudo foram adotados os critérios propostos por Ong et al. (2008) como referência.

Dessa forma, o insucesso nos implantes foi considerado quando houve a detecção de qualquer um dos critérios clínicos ou radiográficos.

Isolamento do DNA

Procedeu-se a coleta de células da descamação da mucosa jugal com o auxílio de um citobrush (Kolplast ci Ltda), estas células foram transportadas para um tubo tipo eppendorf contendo 1ml de solução salina e armazenadas a -20°C para posterior extração e análise do DNA.

O DNA foi extraído das amostras utilizando-se o Kit QIAamp DNA [Qiagen®] (Hilden, Alemanha), de acordo com as especificações do fabricante. Após a extração, o DNA foi mantido a -20°C até o processamento por PCR convencional.

Processamento através da técnica de PCR para RANKL 438

A amplificação da região promotora do gene RANKL438 (rs2277438) foi realizada através da técnica de ARMS-PCR, conforme descrito por Kadkhodazadeh et al. (2013). O gene RANKL438 está situado na posição 5' untranslated region (5'-UTR) (Hsu et al. 2006).

As reações de ARMS-PCR foram preparadas utilizando o conjunto de reagentes GoTaq® Green Master Mix^(a,b) (Madison, WI, USA) com o seguinte protocolo de reação: 5,0µL de água, 0,3µL de primer X (GTTGGGGACATAAAGACTCTTGCA), 0,3µL de primer comum (CTGCTATTTAATACAGTGTGACTTAAGAA), 4,4µL de Master Mix e 2,0µL de DNA da amostra, sendo 12,0µL o volume final. O mesmo protocolo acima foi utilizado para o primer Y (GGGGACATAAAGACTCTTGCG). Em todas as reações de amplificação, foi utilizada uma reação da amplificação sem amostra de DNA como controle negativo para verificação da possibilidade de contaminação (Newton et al. 1997).

O termociclador (Biocycler) foi programado da seguinte maneira para RANKL438: 1ª fase - "hot start" (95° C por 5 minutos); 2ª fase – dividida em três etapas e realizada por 35 ciclos – 1) desnaturação do DNA alvo por aquecimento (95°C por 1 minuto), 2) anelamento do primer (53°C por 1 minuto), 3) extensão (72° C por 1 minuto); e 3ª fase - extensão final (72° C por 7 minutos).

Após essa etapa, 5,0µl dos produtos da PCR foram adicionados a 4,0µl do corante fluorescente gel red (Biotium, Brasil) e submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%. Posteriormente, as corridas de eletroforese foram visualizadas em luz ultravioleta e fotografadas para posterior análise. A massa molecular padrão 100pb ladder (LGC Biotecnologia, Brasil) foi incluída na corrida da eletroforese.

Processamento através da técnica de PCR para IL-10

O polimorfismo da região 1082 do gene da IL10 foi mensurado utilizando o método de PCR alelo-específico. Os primers utilizados para a detecção do polimorfismo de base única (SNP), foram: Primer (antisense) 5' CAGTGCCAACTCAGAATTTGG 3', Primer G (sense) 5' CTACTAAGGCTTCTTGAG 3' e Primer A (sense) 5' ACTACTAAGGTCTCTTTGGAAA 3'. As condições térmicas da realização da PCR foi 95⁰C por 5 minutos, seguido por 35 ciclos com 95⁰C por 30 segundos, 62⁰C por 30 segundos e 72⁰C por 30 segundos, seguido de uma extensão final de 72⁰C por 5 minutos. O produto de PCR observado foi 258pb, visualizado por eletroforese em gel de agarose a 2% , corado com gel Red (Biotium, Brasil).

As Condições da Reação de PCR foram para um volume final de 10ul, com 5,0 ul de Master Mix (Promega), 0,5 ul de cada Primer sense A/G, 0,5 ul do Primer Antisense (as concentrações dos primers utilizados foram de 10 Mm), 2,0 ul de água de injeção e 2,0 ul de DNA.

Análise Estatística

Após a coleta, os dados foram analisados pelo software Statistical Package Social Sciences (SPSS) 20.0 *trial version* (IBM, Armonk, NY, EUA). Foi realizada análise descritiva através de valores absolutos e percentuais dos critérios de sucesso, idade, sexo, tempo de carga e do insucesso. Para análise inferencial, foram utilizados o teste Qui-quadrado de aderência entre as variáveis Insucesso, sexo e tempo de carga, e Qui-quadrado de Pearson entre insucesso e os critérios por autores. O mesmo teste foi utilizado para comparar frequências dos genótipos (AA, AG e GG) e alelos (A e G) para o gene IL-10 (-1082 A/G) e comparar as frequências dos genótipos (AA, AG e GG) e alelos (A e G) para o gene RANKL (-438) entre os resultados do implante. Quando associou-se os critérios de sucesso individualmente em relação ao insucesso para Ong et al. (2008), foi utilizado o teste exato de Fischer. A significância aceita foi menor ou igual a 0,05. O teste Kappa foi feito para avaliar a concordância entre os critérios adotados por diferentes autores em relação ao insucesso.

4 RESULTADOS

Foram examinados 111 pacientes, com um total de 245 implantes, sendo 66,7% do sexo feminino ($n = 74$). A idade variou entre 21 e 80 anos, tendo como média 52,39. O tempo de carga dos implantes variou de 4 meses a 15 anos; 48 implantes (19,6%) pertenceram ao Grupo 1; 103 implantes (42%) ao Grupo 2 e; 94 implantes (38,4%) ao Grupo 3.

Em relação ao insucesso, não encontrou-se associação estatística significativa em relação ao sexo ($p=0,24$). O tempo de carga mostrou associação estatisticamente significativa com o insucesso dos implantes, onde o Grupo 1 apresentou 77,1% de insucesso (Ong et al. 2008), tendo a maior ocorrência entre os 3 grupos ($p < 0,01$) (Tabela 2).

Dos 245 implantes 155 (63,3%) apresentaram sucesso de acordo com os critérios de Ong et al. (2008). O sangramento à sondagem foi detectado em 73 implantes, sendo o critério mais identificado na caracterização do insucesso. A menor frequência foi observada para a presença de infecção com supuração, com 1 implante (0,4%) apresentando esta condição (Tabela 3).

O índice de sucesso nos implantes da amostra estudada variou entre os critérios adotados de acordo com a Tabela 4, mostrando diferença estatística significativa de todos os autores comparados com Ong et al. (2008) ($p<0,01$). A maior ocorrência de insucesso foi observada no critério de Ong et al. (2008) com 36,7% e a menor foi observada considerando o critério de Buser et al. (1990) com 3,3%.

A tabela 5 mostra que a concordância entre os critérios de Ong et al. (2008), Mombelli & Lang (1994) e Schnitman & Schulman (1979) foi ótima. Quando se comparou a concordância entre os critérios de Ong et al. (2008) aos critérios de Buser et al. (1990) e Albrektsson et al. (1986), encontrou-se uma concordância fraca.

Para o estudo genético, foram examinados 90 pacientes, sendo 68,9% do gênero feminino ($n = 62$). A idade, em anos, variou entre 21 e 80, tendo como média 54,5. O tempo de carga dos implantes variou de 4 meses a 15 anos, sendo que 50% dos pacientes apresentaram implantes em função por mais de cinco anos. O índice de insucesso na população estudada foi de 34,4%, quando foram considerados os indivíduos.

No estudo do genótipo para o gene RANKL 438, verificou-se que o genótipo AG foi o mais frequente (91,1%), e o genótipo AA o menos frequente, com apenas 2 indivíduos (2,2%). Em relação aos alelos, o G (mutante) esteve presente em 52,3% da amostra (Tabela 6).

No estudo do genótipo para o gene IL-10, foi encontrado com maior frequência o genótipo AG, em 40 pacientes (44,4%), e o genótipo AA apenas 18,9% das amostras. Em relação aos alelos, o alelo A (mutante) foi observado em 41,1% dos casos (Tabela 6).

Em relação a comparação entre a frequência dos genótipos na região do gene RANKL (-438 A/G) e o insucesso, não foi possível verificar diferença significativa ($p > 0,05$). Em relação a distribuição das frequências alélicas, também não foi possível verificar diferença significativa entre A e G ($p > 0,05$) (Tabela 7).

Quando comparadas as frequências genotípicas na região do gene *IL-10* (-1082 A/G) e o insucesso, não foi possível verificar diferença significativa em relação aos genótipos ($p > 0,05$). Em relação a distribuição das frequências alélicas, também não foi possível verificar diferença significativa entre A e G ($p > 0,05$) (Tabela 7).

Quanto aos critérios referidos como maiores causas para o insucesso dos implantes (radiolucência, sondagem ≥ 5 mm, sangramento à sondagem e perda óssea vertical anual), não houve associação estatisticamente significativa entre os genótipos e os critérios.

5 DISCUSSÃO

Grande parte dos estudos que avaliaram os implantes dentários realizaram acompanhamento clínico baseando-se na sobrevivência dos mesmos, ou seja, analisaram apenas de forma quantitativa, sem discutir as complicações biológicas que ocorreram durante o período de acompanhamento (Romeo et al. 2004). O termo sobrevivência significa apenas o número ou percentual de implantes que apresentam-se fisicamente nos seus locais de instalação, independente da situação biológica, correspondendo a apenas uma classificação quantitativa (Simonis et al. 2010). Os defensores deste método dizem ser uma forma mais simples de apresentação dos resultados (Misch et al. 2008). Por outro lado, o termo "sucesso" possibilita uma análise qualitativa das condições biológicas e complicações mecânicas ocorridas com o implante no período de observação (Simonis et al. 2010).

Para que o sucesso ou fracasso de um implante possa ser avaliado, alguns parâmetros tornam-se necessários (Albrektsson & Zarb, 1993). Ao longo do tempo, muitos autores propuseram parâmetros e índices para definir o sucesso dos implantes. Porém, não existe uma padronização ou um consenso na literatura, o que dificulta a classificação e a comunicação entre os profissionais (Needleman et al. 2012). Neste estudo, o menor índice de insucesso foi encontrado quando se aplicou os critérios propostos por Buser et al. (1990), e o maior índice observado foi quando aplicou-se os critérios agrupados por Ong et al. (2008). Isso pode ser explicado pelas mudanças dos parâmetros de sucesso ao longo do tempo, levando a busca por critérios mais rigorosos. Além disso, Ong et al. (2008) agruparam vários critérios existentes anteriormente na literatura, o que contribuiu fortemente para este resultado.

No presente estudo, foram avaliados implantes de um único sistema, para evitar variáveis que pudessem confundir o resultado. Esse sistema, utiliza conexão interna (cone morse), o que comprovadamente resulta em uma menor remodelação e perda óssea peri-implantar (Pieri et al. 2011).

Há alguns anos, a perda óssea peri-implantar foi também relacionada ao diâmetro e comprimento do implante (Ivanoff et al. 1997; Grunder et al. 1999). Entretanto, as publicações subsequentes não encontraram nenhuma relação entre essas características do implante e a perda óssea referida (Penârrocha et al. 2004; Krennmair et al. 2010).

Neste estudo não encontrou-se uma associação entre sexo e insucesso do implante. Esse achado corrobora com outros estudos (Penârrocha et al. 2004; Bilhan et al. 2011), que não encontraram nenhuma relação entre sexo e perda óssea por doença peri-implantar. Foi

encontrado no estudo de Vásquez Álvarez et al. (2014) uma associação estatística entre periodontite e gênero, e entre gênero e higiene oral, sendo verificada uma maior proporção de periodontite e pior higiene oral nos homens em relação as mulheres. Como periodontite e higiene oral são fatores de risco para uma maior perda óssea peri-implantar, a associação do sexo com perda óssea peri-implantar poderia refletir, em parte, um efeito confundidor.

A avaliação do diagnóstico da peri-implantite inclui a detecção de sangramento a sondagem e perda óssea observada na radiografia. Além disso, a supuração também é um achado frequente. Nesse pesquisa o objetivo não foi o estudo da peri-implantite, embora também possa ser uma das causas do sangramento a sondagem, da perda óssea e supuração, além de queixas subjetivas, acompanhada de infecção. Assim, focou-se na relação entre as condições clínicas e radiográficas encontradas nos implantes avaliados e os parâmetros de sucesso que estão propostos na literatura (Schnitman & Schulman 1979; Albrektsson et al. 1986; Buser et al. 1990; Mombelli & Lang 1994; Ong et al., 2008).

O sangramento a sondagem é utilizado para acessar a condição inflamatória dos tecidos peri-implantares (Raimundo et al. 2012). O índice de sangramento avalia a inflamação através da presença ou ausência de sangramento (Serino & Ström 2009), é bastante utilizado devido a sua praticidade e pode ser associado tanto ao diagnóstico da mucosite peri-implantar quanto da peri-implantite, e por isso, deve ser indicado para a documentação na prática diária (Zitzmann & Berglundh 2008). Do ponto de vista clínico, a ausência de sangramento está associada a uma condição peri-implantar estável, e a presença de sangramento indica um quadro inflamatório. Nesse estudo a característica clínica encontrada com mais frequência foi o sangramento a sondagem, assim, os autores que incluíram essa característica nas avaliações, observaram valores de insucesso mais elevados (Schnitman & Schulman, 1979; Mombelli & Lang, 1994; Ong et al., 2008). Por outro lado, os critérios que não incluíram o sangramento a sondagem nas avaliações observaram uma prevalência mais baixa de insucesso (Albrektsson et al., 1986; Buser et al., 1990). Isso explica a diferença nas frequências de insucesso determinadas para a amostra estudada, e alicerça o uso dos critérios propostos por Ong et al., (2008), já que são mais rigorosos.

Fransson et al. (2008), num estudo sobre características clínicas de implantes com perda óssea, constataram sangramento a sondagem em 94% dos implantes com perda óssea progressiva e em 90% dos implantes sem histórico de perda óssea progressiva. Corroborando com esses dados, o estudo de Heitz-Mayfield (2008), demonstrou que o sangramento à sondagem ocorreu em mais de 90% dos implantes sem perda óssea progressiva detectável. Assim, pode-se afirmar que não há correlação entre presença de sangramento à sondagem

com o nível de perda óssea peri-implantar. Por isso, esse índice não pode ser utilizado isoladamente no diagnóstico da peri-implantite, mas um sangramento presente em exames consecutivos pode significar uma futura perda de inserção, em função dos efeitos deletérios do infiltrado inflamatório nesta região (Fransson et al. 2008; Heitz-Mayfield 2008). Concordando com esses achados, esta pesquisa observou que o sangramento foi o critério mais frequente, presente em praticamente um terço dos implantes estudados, ao contrário da perda óssea, que obteve uma baixa prevalência.

A profundidade de sondagem é a distância entre a margem gengival ao ponto mais apical de penetração da sonda dentro do sulco ou bolsa peri-implantar. Na mucosa peri-implantar, a resistência a sondagem é menor, provavelmente devido à orientação paralela das fibras colágenas do tecido conjuntivo, assim, a pressão de sondagem é um fator importante para avaliar a confiabilidade desse parâmetro (Lindhe & Meyle 2008). A sondagem com uma pressão leve é considerada um parâmetro de diagnóstico viável, pois não teria potencial de danificar o selamento perimucoso entre o tecido mole e o implante (Kim et al. 2008), assim, a sondagem foi realizada neste por um examinador calibrado, evitando resultados distorcidos. Por convenção, implantes em condições de normalidade apresentam uma profundidade de sondagem que não ultrapasse 3 mm (Mombelli & Lang 1998; Máximo et al. 2009). Entretanto, admite-se como saúde uma profundidade de sondagem de até 5 mm, principalmente em regiões estéticas (Karoussis et al. 2004). Valores acima de 5 ou 6 mm podem ser indicativos de doença peri-implantar (Máximo et al. 2009).

Apesar dos índices periodontais serem frequentemente utilizados para avaliar os implantes dentários, os mesmos por si só não definem o sucesso ou fracasso dos implantes. Tais índices devem estar relacionados a outros fatores, como exsudato ou sobrecarga protética (Misch et al., 1999).

A presença do exsudato no implante pode ser identificada espontaneamente, após sondagem (Máximo et al. 2009) ou leve pressão digital na mucosa, e pode ser registrado também como um índice dicotômico (Raimundo et al. 2012). A presença desse parâmetro está geralmente associado à destruição tecidual e atividade da doença peri-implantar. Da mesma forma, foi demonstrado que a presença de supuração à sondagem era mais frequente em sítios com perda óssea progressiva (Fransson et al. 2008), sendo altamente sugestiva de peri-implantite avançada. Por isso, este parâmetro não é sensível para o diagnóstico precoce (Garcia et al. 2008). Em contraste, verifica-se presença ou ausência de supuração como um parâmetro viável no diagnóstico diferencial entre mucosite peri-implantar e peri-implantite (Heitz-Mayfield 2008). Neste estudo observou-se uma prevalência maior de parâmetros

periodontais compatíveis com inflamação leve e reversível, como sangramento à sondagem, enquanto a presença de exsudato só foi encontrada em um implante.

Em relação à mobilidade do implante, utiliza-se dois instrumentos rígidos que aplicam uma força no sentido vestibulo-lingual alternadamente (Chung et al. 2006). Entretanto, nem sempre a diminuição da estabilidade vai indicar presença de doença peri-implantar, pode apenas indicar uma reabsorção não patológica da crista óssea alveolar. Na peri-implantite, essa mobilidade indica o estágio final da doença, caracterizada por completa perda de osso na superfície do implante (Mombelli & Lang 1998). Ainda, mesmo que uma porção substancial de osso tenha sido perdida, a mobilidade do implante pode não estar presente devido ao contato do osso remanescente com a superfície do implante (Kim et al., 2008). Por isso, este parâmetro não é considerado um índice sensível no diagnóstico da condição saúde/doença (Mombelli & Lang, 1998), mas altamente específico, já que a sua presença indica falha na osseointegração e necessidade de remoção do implante (Lang et al. 2000). Assim, o teste de mobilidade deve ser aplicado em conjunto com outros parâmetros, já que não é tão sensível no diagnóstico precoce da perda óssea (Heitz-Mayfield 2008).

A avaliação radiográfica tem se mostrado bom método para identificação da perda óssea. Em condições de normalidade, os implantes perdem em média de 1 mm a 1,5 mm de osso no primeiro ano de função e depois cerca de 0,1 mm a 0,2 mm ao ano (Mombelli & Lang, 1998; Lindhe & Meyle 2008). Apesar da limitação em detectar perdas ósseas precoces, as radiografias periapicais convencionais utilizando-se a técnica do paralelismo, são amplamente utilizadas na clínica diária para diagnóstico de peri-implantite (Zitzmann & Berglundh, 2008).

As tomadas radiográficas devem ser realizadas quando os parâmetros clínicos indicam a presença de inflamação, permitindo avaliar se há perda óssea, bem como a sua extensão (Zigdon & Machtei, 2008). A padronização das radiografias através de dispositivos que permitam a sua reprodutibilidade na mesma posição e angulação, assim como definir um ponto de referência fixa no implante é importante para possibilitar comparações nas subsequentes tomadas radiográficas (Blanes et al. 2007). Pode-se adotar como referência o ombro, a conexão com o abutment protético ou a primeira rosca do implante, para avaliação da quantidade de perda óssea (Garcia et al. 2008; Kim et al. 2008). Dadas as limitações das radiografias periapicais convencionais, a avaliação radiográfica apresenta-se como um parâmetro de diagnóstico importante, contudo, deve ser encarada como um parâmetro complementar a avaliação clínica, com a finalidade de detectar a extensão da perda óssea e ajudar no planejamento das medidas terapêuticas (Raimundo et al. 2012).

A resposta do hospedeiro frente à agressão bacteriana parece ser um denominador comum nas doenças peri-implantares, assim, conforme o entendimento sobre genética avança, fica mais claro que a resposta do hospedeiro frente à invasão bacteriana, ao processo inflamatório, à destruição tecidual e à reparação dos tecidos são mediadas por um complexo de interação gene-gene e gene-fator ambiental. Há evidências que falhas em implantes dentários em certos subconjuntos de indivíduos (Hutton et al. 1995; Ekfeldt et al. 2001) podem indicar que características específicas do hospedeiro, como fatores genéticos, comprometem o processo de osseointegração (Santos et al. 2002).

A presença de polimorfismos de base única (SNPs) em genes de citocinas do sistema imunológico é considerada um fator importante para a diversidade genética do hospedeiro, pois influencia a capacidade de sua produção, resultando na alteração da transcrição e expressão de genes de citocinas (Chen et al. 2010). Esses polimorfismos podem, também, funcionar como um fator para predisposição ao desenvolvimento de doenças de acordo com a expressão das interleucinas (Poli et al. 2002; Marcos et al. 2009). Desta forma, pesquisas sobre polimorfismos genéticos são capazes de auxiliar na compreensão de fatores determinantes para o prognóstico de pacientes.

O presente estudo buscou comparar a frequência de polimorfismos nos genes da IL-10 (-1082) e do RANKL (-438), e comparar com insucessos nos implantes dentais. Esses polimorfismos poderiam estar envolvido na “desregulação” na expressão das citocinas, afetando diretamente o equilíbrio entre proteínas anti e pró-inflamatória, o que poderia afetar os resultado de insucessos nos implantes avaliados no presente estudo. Nos sítios com inflamação peri-implantar há um aumento da produção do fluido crevicular e sangramento gengival, formando um exsudato (Murata et al. 2002). Os níveis de mediadores inflamatórios tem sido propostos para identificar peri-implantite ativa, que pode ser uma ferramenta diagnóstica e preventiva desta doença (Petkovic et al. 2010).

Similaridades na frequência da distribuição dos alelos e genótipos dos grupos estudados, sugerem uma possível relação imunogenética entre implantes com insucesso e periodontite crônica (Gurol et al. 2011).

Thomas et al. (2013) utilizaram células mononucleares (linfócitos, monócitos e plasmócitos) para comparar a expressão de IL-10 em paciente sem implantes e com implantes sem nenhum sintoma. Nenhuma das 14 amostras do grupo de indivíduos sem implante mostrou produção de IL-10, ao contrário do grupo de indivíduos usuários de implante, onde 5 das 6 amostras apresentaram quantidades de IL-10.

Gurol et al. (2011), avaliando 39 pacientes com implantes, não encontraram significância estatística entre polimorfismo da IL-10 (-1082) e insucesso de implantes. Mesmo com um aumento considerável no número da amostra, o presente estudo corrobora com estes achados. Esses resultados também concordam com outro estudo (Kinane et al. 1999) em que não se conseguiu uma associação entre polimorfismo do gene do IL-10 e periodontite crônica.

Em relação à frequência alélica, Gurol et al. (2011) observaram que o alelo A na posição (-1082) foi mais prevalente em indivíduos saudáveis (63%) do que em implantes com insucesso (50%), periodontite crônica (47%) e pacientes com implantes saudáveis (48%), resultado semelhante ao encontrado no presente estudo. Além disso, os mesmos autores relataram que as frequências dos alelos na posição (-1082) foram relativamente distribuídas de forma equalizada (50%) dentro dos 3 grupos de pacientes citados (periodontite crônica, implantes saudáveis e implantes com insucesso). Foi também observado que genótipo AG predominou nos pacientes com periodontite crônica. No presente estudo, não encontrou-se associação entre a frequência alélica e o insucesso dos implantes, apesar da alta ocorrência do alelo mutante encontrada para o gene da IL-10 (-1082).

Por outro lado, o RANKL é o fator chave para diferenciação e ativação de osteoclastos (Kadkhodazadeh et al. 2013) e é correlacionado positivamente com a profundidade de sondagem e o nível de inserção clínico, além de níveis mais altos nas periodontites do que em pacientes com saúde gengival (Mogi et al. 2004; Lu et al. 2006; Bostanci et al. 2007). Assim, existe a possibilidade de que o gene do RANKL seja um dos determinantes genéticos para periodontite e peri-implantite, baseado em outras doenças atribuídas à reabsorção óssea osteoclástica (Park et al. 2008).

No presente trabalho não foi possível verificar uma associação significativa entre os genótipos de RANKL (-438) e o insucesso dos implantes, apesar da alta ocorrência do alelo mutante encontrada. Corroborando com esses dados, Kadkhodazadeh et al. (2013) encontraram que a expressão dos genótipos de RANKL (-438) entre pacientes com periodonto saudável, com periodontite crônica e peri-implantite não mostrou diferença estatística significativa e a comparação da frequência alélica também não mostrou diferença entre esses três grupos. Acredita-se que futuros métodos diagnósticos e terapêuticos poderão ter como base a característica genética do indivíduo, seja ela protetora ou destrutiva, de acordo com a identificação de regiões polimórficas. Tais métodos poderão propiciar algumas vantagens, tais como a identificação de pacientes de alto risco para instalação de implantes e protocolos cirúrgicos e de preservação (Gonçalves et al. 2011). No entanto, de acordo com os

resultados deste trabalho, sugere-se que não devem ser considerados os genes de RANKL (-438) e a IL-10 (-1082) para este fim.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com este estudo, pode-se concluir que há diferença entre o índice de insucesso de acordo com os critérios propostos na literatura por diferentes autores e os índices que consideram o sangramento à sondagem como insucesso mostraram uma ocorrência mais alta de insucesso e ainda, que os polimorfismos avaliados não foram caracterizados como fatores prognósticos para o tratamento utilizando implantes dentários na população estudada.

Sendo assim, este estudo servirá como base para o desenvolvimento, no futuro, de novos estudos que procurem elucidar as possíveis interações entre os polimorfismos no gene RANKL e o gene IL-10 ao insucesso de implantes dentários

REFERÊNCIAS

- Albrektsson, T., Zarb, G., Worthington, P. & Eriksson, A.R. (1986) The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **1**: 11–25.
- Albrektsson, T. & Zarb, G.A. (1993) Current interpretations of the osseointegration response: clinical significance. *The International Journal of Prosthodontics* **6**: 95-105.
- Albrektsson, T. & Isidor, F. (1994) Concensus report of session IV. In: Lang, N.P., Karring, T., eds. *Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology*. p. 365–9. London: Quintessence.
- Asensi, V., Alvarez, V., Valle, E., Meana, A., Fierer, J., Coto, E. Carton, J.A., Maradona, J.A., Paz, J. & Dieguez, M.A. et al. (2003) IL-1 alpha (-889) promoter polymorphism is a risk factor for osteomyelitis. *American Journal of Medical Genetics* **119**: 132-36.
- Algraftree, H., Borumandi, F. & Cascarini, L. (2012) Peri-implantitis. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **50**: 689–694.
- Baioni, C.S., Souza, C.M., Ribeiro, A.P.B., Luczyszyn, S.M., Silva, M.A.S., Ignácio, S.A., Benato, W.D.M., Riella, M.C., Pecoits-Filho, R., Naval, M.A.M. & Trevillato, P.C. (2008) Analysis of the association of polymorphism in the osteoprotegerin gene with susceptibility to chronic kidney disease and periodontitis. *Journal of Periodontal Research* **43**: 578–584.
- Barber, A.J., Butterworth, C.J. & Rogers, S.N. (2011) Systematic review of primary osseointegrated dental implants in head and neck oncology. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **49**: 29–36.
- Berglundh, T.; Persson, L.; Klinge, B. A (2002) Systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *Journal of Clinical Periodontology* **29**: 197-212
- Bilhan, H., Mumcu, E., Geçkili, O. & Atalay, B. (2011) The evaluation of the success of immediately placed single implants: a retrospective clinical study. *Implant Dentistry* **20**: 215–25.
- Blanes, R.J., Bernard, J.P., Blanes, Z.M. & Belser, U.C. (2007) A 10-year prospective study of ITI dental implants placed in the posterior region I: Clinical and radiographic results. *Clinical Oral Implants Research* **18**: 699-706.
- Bostanci, N., Ilgenli, T. & Emingil, G, et al. (2007) Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *Journal of Clinical Periodontology* **34**: 370–6.
- Bragger, U., Aeschlimann, S., Burgin, W., Hammerle, C. H. & Lang, N. P. (2001) Biological and technical complications and failures with fixed partial dentures (FPD) on implants and teeth after four to five years of function. *Clinical Oral Implants Research* **12**: 26–34

Buser, D., Weber, H.P. & Lang, N.P. (1990). Tissue integration of non-submerged implants. 1-year results of a prospective study with 100 ITI hollow-cylinder and hollow screw implants. *Clinical Oral Implants Research* **1**: 33-40.

Chen B., Zeng Z., Xu L. (2010). IL-23 +2199A/C Polymorphism is associated with decreased risk of certain subtypes of gastric cancer in Chinese: A case-control study. *Revista Elsevier* **35**: 165-9.

Chung, D.M., Oh, T.J., Shotwell, J.L., Misch, C.E. & Wang, H.L. (2006) Significance of keratinized mucosa in maintenance of dental implants with different surfaces. *Journal of Periodontology* **8**: 1410-20.

De Riu, G., Meloni, S.M., Pisano, M., Massarelli, O. & Tullio, A. (2012) Computed tomography-guided implant surgery for dental rehabilitation in mandible reconstructed with a fibular free flap: description of the technique. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **50**: 30-5.

Demarosi, F., Leghissa, G.C., Sardella, A., Lodi, G. & Carrassi, A. (2009) Localised maxillary ridge expansion with simultaneous implant placement: a case series. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **47**: 535–40.

Eckfeldt A., Christiansson U., Eriksson T. et al. (2001). A retrospective analysis of factors associated with multiple implant failures in maxillae. *Clinical Oral Implants Research* **12**:462–467.

Esposito, M., Hirsch, J.M., Lekholm, U. & Thomsen, P. (1998) Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants(II). Etiopathogenesis. *European Journal of Oral Sciences* **106**: 721–764.

Fransson, C., Wennström, J. & Berglundh, T. (2008) Clinical characteristic at implants with a history of progressive bone loss. *Clinical Oral Implants Research* **19**:142-7.

Garcia, R.V., Kraehenmann, M.A., Bezerra, F.J.B., Mendes, C.M.C. & Rapp, G.E. (2008) Clinical analysis of the soft tissue integration of non-submerged (ITI) and submerged (3i) implants: a prospective controlled cohort study. *Clinical Oral Implants Research* **19**: 991-6.

Garg, A. Peri-implant disease: The basics. (2010) *Dental Implantology Update* **21**: 81-3.

Gonçalves, R., Coelho, R., Barboza, E.P., Granjeiro, J.M. & Casado, P. (2011) A característica genética influencia na sobrevida do implante dentário? *Brazilian Journal of Periodontology* **21**: 33-9.

Gruica, B., Wang, W.I., Lang, N.P. & Buser, D. (2004) Impact of IL-1 genotype and smoking status on the prognosis of osseointegrated implants. *Clinical Oral Implants Research* **15**: 393-400.

Grunder, U., Polizzi, G., Goene, R., Hatano, N., Henry, P., Jackson, W.J., Kawamura, K., Kohler, S., Renouard, F., Rosenberg, R., Triplett, G., Werbitt, M. & Lithner, B. (1999) A 3-year prospective multicenter follow-up report on the immediate and delayed-immediate placement of implants. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **14**: 210–16.

Gurol, C., Kazazoglu, E., Dabakoglu, B., Korachi, M. (2011) A Comparative Study of the Role of Cytokine Polymorphisms Interleukin-10 and Tumor Necrosis Factor Alpha in Susceptibility to Implant Failure and Chronic Periodontitis. *International Journal of Oral & Maxillofacial implants* **26**: 955-60.

Holm-Pedersen, P., Lang, N.P. & Muller, F. (2007) What are the longevities of teeth and oral implants? *Clinical Oral Implants Research* **18**: 15–9.

Hsu, Y.H., Niu, T., Terwedow, H.A., Xu, X., Feng, Y., Li, Z., Brain, J.D., Rosen, C.J., Laird, N. & Xu, X. (2006) Variation in genes involved in the RANKL/RANK/OPG bone remodeling pathway are associated with bone mineral density at different skeletal sites in men. *Human Genetics* **118**: 568-577.

Hutton J.E., Heath M.R., Chai J.Y. et al. (1995). Factors related to success and failure rates at 3-year follow-up in a multicenter study of over dentures supported by Brånemark implants. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **10**:33–42.

Ivanoff, C.J., Sennerby, L., Johansson, C., Rangert, B. & Lekholm, U. (1997) Influence of implant diameters on the integration of screw implants. An experimental study in rabbits. *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery* **26**: 141–48.

Heitz-Mayfield, L.J. (2008) Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *Journal of Clinical Periodontology* **35**: 292–304.

Kadkhodazadeh, M., Ebadian, A.R., Gholami, G.A., Khosravi, A. & Tabari, Z.A. (2013) Analysis of RANKL gene polymorphism (rs9533156 and rs2277438) in Iranian patients with chronic periodontitis and periimplantitis. *Archives of Oral Biology* **58**: 530-536.

Karoussis, I.K., Müller, S., Salvi, G.E, Heitz-Mayfield, L.J.A., Brägger, U. & Lang, N.P. (2004) Association between periodontal and peri-implant conditions: a 10-year prospective study. *Clinical Oral Implants Research* **15**: 1-7.

Kim, D.M., Badovinac, R.L., Lorenz, R.L., Fiorellini, J.P. & Weber, H.P. (2008) A 10-year prospective clinical and radiographic study of one-stage dental implants. *Clinical Oral Implants Research* **19**: 254-8.

Kinane, D.F., Hodge, P.J., Eskdale, J., Ellis, R. & Gallagher, G. (1999) Analysis of genetic polymorphisms at the interleukin-10 (IL-10) and tumour necrosis factor (TNF) loci in early-onset periodontitis. *Journal of Periodontal Research* **34**:1–8.

Kornman, K.S., Crane, A. & Wang, H.Y, et al. (1997) The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *Journal of Clinical periodontology* **24**: 72-7.

Krennmair, G., Seemann, R., Schmidinger, S., Ewers, R. & Piehslinger, E. (2010) Clinical outcome of root-shaped dental implants of various diameters: 5-year results. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **25**: 357–66.

Lachmann, S., Kimmerle-Muller, E., Axmann, D., Scheideler, L., Weber, H. & Haas, R. (2007) Associations between peri-implant crevicular fluid volume, concentrations of crevicular inflammatory mediators, and composite IL 1A –889 and IL-1B +3954 genotype. A

cross-sectional study on implant recall patients with and without clinical signs of peri-implantitis. *Clinical Oral Implant Research* **18**: 212–23.

Lang, N.P., Wilson, T.G. & Corbet, E.F. (2000) Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment. *Clinical Oral Implants Research* **11**: 146-55.

Lang, N.P. & Berglundh, T. (2011). Peri-implant diseases: where are we now? – consensus of the seventh European workshop on periodontology. **38**: 178 – 181.

Lindhe, J. & Meyle, J. (2008) Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology* **35**: 282-5.

Liskmann, S., Vihalemm, T., Salum, O., Zilmer, K., Fisher, K. & Zilmer M. (2006) Correlations between clinical parameters and Interleukin-6 and Interleukin-10 levels in saliva from totally edentulous patients with peri-implant disease. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **4**: 543-549.

Loss, B.G.; Van Der Velden, U. & Laine, M.L. (2008) Susceptibility. In Lindhe J, Lang N, Karring T. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Oxford: Blackwell Munksgaard. 5^a. ed., Capítulo 13, p. 328-46, 2008.

Lu, H.K., Chen, Y.K. & Chang, H.C., et al. (2006) Identification of the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand system in gingival crevicular fluid and tissue of patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research* **46**: 354-60.

Marcos, M., Pastor, I., Gonzalez-sarmiento, R., Laso, F.J. (2009). Common polymorphisms in interleukin genes (IL4, IL6, IL8 and IL12) are not associated with alcoholic liver disease or alcoholism in Spanish men. *Cytokine* **45**:158-161.

Máximo, M.B., de Mendonça, A.C., Santos, V.R., de Figueiredo, L.C., Feres, M. & Duarte, P.M. (2009) Short-term clinical and microbiological evaluation of peri-implant diseases before and after mechanical anti-infective therapies. *Clinical Oral Implants Research* **20**: 99-108.

Medzhitov, R. (2007) Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature* **449**: 819–26.

Misch, C.E, Dietsh-Misch, F., Hoar, J.E., Beck, G., Hazen, R. & Misch, C.M. (1999) A bone quality-based implant system: first year of prosthetic loading. *Journal of Oral Implantology* **25**: 185-97.

Misch, C.E., Perel, M.L., Wang, H.L., Sammartino, G., Galindo-Moreno & P., Trisi. P., et al. (2008) Implant success, survival and failure: The international congress of oral implantologists (ICOI) Pisa consensus conference. *Implant Dentistry* **17**: 5-15.

Mogi, M., Otagoto, J. & Ota, N., et al. (2004) Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *Journal of Dental Research* **83**: 166-9.

Mombelli, A. & Lang, N.P. (1994). Clinical parameters for the evaluation of dental implants. *Periodontology 2000* **4**: 81-86.

Mombelli A, Lang NP. (1998) The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontology 2000* **17**: 63-76.

Mombelli, A. & Lang, N. (2000) The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontology 2000* **17**: 63–76.

Moore, K.W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R.L. & O'Garra, A. (2001) Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual Review of Immunology* **19**: 683-765.

Murata, M., Tatsumi, J., Kato, Y., Suda, S., Nunokawa, Y. & Kobayashi, Y, et al. (2002) Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1beta in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clinical Oral and Implant Research* **13**: 637–43.

Needleman, I., Chin, S., O'brien, T., Petrie, A. & Donos N. (2012) Systematic review of outcome measurements and reference group(s) to evaluate and compare implant success and failure. *Journal of Clinical Periodontology* **39**:122-32.

Nogueira-Filho, G., Iacopino, A.M. & Tenenbaum, H.C. (2011) Prognosis in implant dentistry: a system for classifying the degree of peri-implant mucosal inflammation. *Journal of the Canadian Dental Association* **77**: b8.

Ong, C.T., Ivanovski, S., Needleman, I.G., Retzepi, M., Moles, D.R., Tonetti, M.S. & Donos, N. (2008). Systematic review of implant outcomes in treated periodontitis subjects. *Journal of Clinical Periodontology* **35**: 438-462.

Park, O.J., Shin, S.Y., Choi, Y., Kim, M.H., Chung, C.P. & Ku Y, et al. (2008) The association of osteoprotegerin gene polymorphisms with periodontitis. *Oral Diseases* **14**: 440–4.

Peñarrocha, M., Palomar, M., Sanchis, J.M., Guarinos, J. & Balaguer, J. (2004) Radiologic study of marginal bone loss around 108 dental implants and its relationship to smoking, implant location, and morphology. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **19**: 861–8.

Petkovic, A.B., Matic, S.M., Stamatovic, N.V., Vojvodic, D.V., Todorovic, T.M. & Lazic, Z.R, et al. (2010) Proinflammatory cytokines (IL-1beta and TNF-alpha) and chemokines (IL-8 and MIP- 1alpha) as markers of peri-implant tissue condition. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **39**: 478–85.

Pieri, F., Aldini, N.N. & Corinaldesi, G. (2011) Influence of implant-abutment interface design on bone and soft tissue levels around immediately placed and restored single-tooth implants: a randomized controlled clinical trial. *International Journal of Oral & Maxillofacial implants* **26**: 169-78.

Poli, F., Nocco, A., Berra, S. Scalamogna, M., Taioli, E., Longhi, E., Sirchia, G. (2002). Allele frequencies of polymorphisms of TNFA, IL-6, IL-10 and IFNG in na Italian Caucasian population. *European Journal of Immunogenetics*, **29**: 237-240, 2002.

Raimundo, M. C., de Carvalho, E.M.C. & Damis, L.F.T. (2012) Diagnóstico das doenças peri-implantares: uma abordagem clínica. *ImplantNews* **9**: 561-8.

Reinhardt, R.A., Masada, M.P., Johnson, G.K., DuBois, L.M., Seymour, G.J. & Allison, A.C. (1993) IL-1 in gingival crevicular fluid following closed root planning and papillary flap debridement. *Journal of Clinical Periodontology* **20**: 514-9.

Riemenschneider, M., Konta, L., Friedrich, P., Schwarz, S., Taddei, K., Neff, F., Padovani, A., Kölsch, H., Laws, S.M., Klopp, N., Bickeböller, H., Wagenpfeil, S., Mueller, J.C., Rosenberger, A., Diehl-Shmid, J., Archetti, S., Lautenschlager, N., Borroni, B., Müller, U., Illig, T., Heun, R., Egensperger, R., Schlegel, J., Försti, H., Martins, R.N. & Kurz, A. (2006) A functional polymorphism within plasminogen activator urokinase (PLAU) is associated with Alzheimer's disease. *Human Molecular Genetics* **15**: 2446-2456.

Romeo, E., Lops, D., Margutti, E., Ghisolfi, M., Chiapasco, M. & Vogel, G. (2004) Long-term survival and success of oral implants in the treatment of full and partial arches: a seven year prospective study with ITI dental implant system. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **19**: 247-59.

Roos-Jansaker, A. M.; Lindahl, C.; Renvert, H. & Renvert, S. (2006) Nine-to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part I: implant loss and associations to various factors. *Journal of Clinical Periodontology* **33**: 283-89.

Salvi, G.E. & Bragger, U. (2009) Mechanical and technical risks in implant therapy. *The International Journal of Oral and Maxillofacial implants* **24**: 69-85.

Santos M.C.L.G., Campos M.I.G., Line SRP. (2002). Early dental implant failure: A review of the literature. *Brazilian Journal of Oral Sciences* **1**:103–111

Scarel-Caminaga, R.M., Trevilatto, P.C., Souza, A.P., Brito, R.B., Camargo, L.E.A. & Line, S.R.P. (2004) Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* **31**: 443–8.

Schnitman PA, Shulman LB. (1979) Recommendations of the consensus development conference on dental implants. *Journal of the American Dental Association* **98**: 373–7

Serino, G. & Ström, C. (2009) Peri-implantitis in partially edentulous patients: association with inadequate plaque control. *Clinical Oral Implants Research* **20**: 169-74.

Shalhoub, V., Faust, J., Boyle & W.J., et al. (1999) Osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand effect on osteoclast formation from human peripheral blood mononuclear cell precursors. *Journal of Cellular Biochemistry* **72**: 251-61.

Simonis, P., Dufour, T. & Tenenbaum, H. (2010) Long-term implant survival and success : a 10-16 year follow-up of non-submerged dental implants. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 772-7.

Soedarsono, N., Rabello, D., Kamei, H., Fuma, D., Ishihara, Y., Suzuki, M., Noguchi, T., Skaki, Y., Yamaguchi, A. & Kojima, T. (2006) Evaluation of RANK/RANKL/OPG gene polymorphisms in aggressive periodontitis. *Journal of Periodontal Research* **41**: 397-404.

Suda, T., Takahashi, N. & Udagawa, N., et al. (1999) Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocrine Reviews* **20**: 345–57.

Thomas, P., Iglhaut, G., Wollenberg, D. C. & Summer, B. (2013) Allergy or Tolerance: Reduced Inflammatory Cytokine Response and Concomitant IL-10 Production of Lymphocytes and Monocytes in Symptom-Free Titanium Dental Implant Patients. *BioMed Research International* **2013**: 1-9.

Trevilatto, P.C., Scarel-Caminaga, R.M., de Brito, R.B.Jr., de Souza, A.P., Line, S.R. (2003). Polymorphism at position -174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Caucasian Brazilian population. *Journal of Clinical Periodontology* **30**: 438–442.

Vazquez Alvarez, R., Perez Sayans, M., Gayoso Diz, P. & Garcia Garcia, A. (2014) Factors affecting peri-implant bone loss: a post-five- year retrospective study. *Clinical Oral Implant Research* **30**: 1–9.

Xiong, D.H., Shen, H. & Zhao, L.J, et al. (2006) Robust and Comprehensive Analysis of 20 Osteoporosis Candidate Genes by Very High-Density Single-Nucleotide Polymorphism Screen Among 405 White Nuclear Families Identified Significant Association and Gene–Gene Interaction. *Journal of Bone and Mineral Research* **21**: 1678-95.

Zitzmann, N.U. & Berglundh, T. (2008) Definition and prevalence of peri-implant diseases. *Journal of Clinical Periodontology* **35**: 286-91.

Zigdon, H. & Machtei, E.E. (2008) The dimensions of keratinized mucosa around implants affect clinical and immunological parameters. *Clinical Oral Implants Research* **19**: 387-92.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Este é um convite para você participar da nossa pesquisa intitulada “Estudo da associação de polimorfismos ligados à imunidade inata, remodelação óssea e processos inflamatórios com insucessos dos implantes dentários”, que é coordenada pelo cirurgião-dentista Rodrigo Alves Ribeiro. Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade. Seguem abaixo informações adicionais sobre a pesquisa.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Rodrigo Alves Ribeiro (Aluno de pós-graduação nível Doutorado em Odontologia da UFPE). Endereço: Campus Univesitário da UFPE, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Prótese e Cirurgia Bucomaxilofacial – Cidade Universitária – CEP 50670-901, Recife/PE. Telefone: (81) 2126-8817 (Secretaria de Pós-graduação em Odontologia da UFPE).

OBJETIVO: O estudo tem como objetivo avaliar a presença de pequenas variações genéticas que são encontradas em moléculas e microorganismos que são relacionados ao insucesso no tratamento de implantes dentais.

BENEFÍCIOS: Os participantes receberão orientações de higiene oral e de como prevenir a doença periodontal. Aqueles pacientes que forem detectados com algum critério de insucesso que possa comprometer a sobrevida do implante serão encaminhados para tratamento adequado.

RISCOS: Ao paciente submetido à pesquisa, poderá ocorrer o risco de, durante o exame clínico, constrangimento, sangramento gengival, esses sintomas serão minimizados pela experiência do examinador. Poderá os mesmos apresentar hematoma pós-coleta de sangue periférico. Também serão coletadas amostras da mucosa oral (bochecha) por meio de um citobrush (escova específica para esse fim), sendo um procedimento não-invasivo e que apresenta mínimo risco para o paciente.

Você ficará com uma cópia deste Termo e toda a dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente para o cirurgião-dentista Rodrigo Alves Ribeiro, no Campus Univesitário da UFPE, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Prótese e Cirurgia Bucomaxilofacial, Cidade Universitária, CEP 50670-901 – Recife/PE, ou pelo telefone (81) 2126-8817. Dúvidas a respeito da ética dessa pesquisa poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFPE, localizado no Campus Univesitário da UFPE, Avenida da Engenharia s/n – 1º. andar, Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, pelo telefone (81) 2126-8588 ou pelo e-mail: cepccs@ufpe.br.

Eu, _____, RG.Nº. _____

Abaixo assinado, tendo recebido as informações acima, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo participar desta pesquisa, bem como autorizo toda a documentação necessária, a divulgação e a publicação da mesma, em periódicos científicos, na área de Odontologia.

DIREITOS:

- 1.** A garantia de receber respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa;
- 2.** A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar no estudo sem que isso me traga prejuízo;
- 3.** A segurança de que não serei identificado e que será mantido caráter confidencial da informação relacionada com minha privacidade;
- 4.** A disponibilidade de tratamento médico e a indenização que legalmente teria direito por parte da instrução à saúde, em casos de danos que a justifiquem, diretamente causados pela pesquisa;
- 5.** O compromisso de proporcionar-me informação atualizada durante o estudo, ainda que este possa afetar a minha vontade de continuar participando;
- 6.** Caso existirem gastos adicionais estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Tendo ciência do exposto acima, desejo participar da pesquisa.

São Paulo, ____/____/2012

Assinatura do paciente

Assinatura do Pesquisador Assinatura da Testemunha Assinatura da Testemunha

Contatos:

- Doutorando Rodrigo Alves Ribeiro: (83) 8822-9512;
- Prof. Dr. Renata Cimões Jovino Silveira: (81) 2126-8817 (Secretaria de Pós-graduação em Odontologia da UFPE);
- Comitê de Ética em Pesquisa (Avenida da Engenharia s/n – 1o Andar, Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: 2126 8588).

APÊNDICE B. FICHA CLÍNICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

FICHA CLÍNICA - N^o. _____

Identificação

Nome _____

Nacionalidade: _____ Estado civil: _____ Sexo: masc () fem ()

Idade: _____ Nascimento: _____ Renda (salários): _____

Fone: () _____ - _____ Celular: () _____ - _____

Escolaridade:

- | | | |
|------------------------------|------------------------|-----------------------------|
| () Não sabe ler ou escrever | () 1º grau incompleto | () 1º grau completo |
| () 2º grau incompleto | () 2º grau completo | () Universidade incompleta |
| () Universidade completa | () Pós-graduação | () Não sei |

Critérios de exclusão

- Diabetes? Que tipo? _____
- Fumante? Quanto tempo? _____
- Doença sistêmica? _____

Dente: _____

Tempo de carga: _____

Tipo de Implante/componente protético utilizado: _____

Avaliação dos critérios de sucesso – Ong et al., 2008 (Sim/não)

Avaliação dos critérios de sucesso					
Implante					
Mobilidade					
Queixas subjetivas					
Infecção com supuração					
Radiolucência					
Sondagem $\geq 5\text{mm}$					
Sangramento à sondagem					
Perda óssea vertical anual					

Legenda: Mobilidade; Queixas subjetivas (dor/sensação de corpo-estranho/disestesia); Infecção peri-implantar com supuração; Radiolucência contínua ao redor do implante; Profundidade de sondagem $\geq 5\text{mm}$; Sangramento à sondagem; Perda óssea vertical anual (após primeiro ano).

Avaliação clínica periodontal (Sonda Trinity® PC15)

Profundidade de sondagem (PS)						Perda de inserção clínica (PIC)					
Implante						Implante					
V						V					
L/P						L/P					
M						M					
D						D					

Coleta das células da mucosa oral
 Coleta das células do sulco gengival
 Coleta de sangue periférico
 Radiografia do implante com posicionador

APÊNDICE C. TABELAS

Tabela 1. Critérios de sucesso propostos por diferentes autores.

Autor	Definição
Ong et al., 2008	Ausência de mobilidade (Buser et al. 1990); Ausência de queixas subjetivas persistentes (dor, sensação de corpo estranho e/ou disestesia) (Buser et al. 1990); Ausência de infecção peri-implante recorrente com supuração (Buser et al. 1990); Ausência de radiolucência contínua ao redor do implante (Buser et al. 1990); Nenhuma profundidade de sondagem $\geq 5\text{mm}$ (Mombelli & Lang 1994, Bragger et al. 2001); Nenhum sangramento a sondagem (Mombelli & Lang 1994); Após o primeiro ano de carga, a perda óssea vertical anual não deve exceder 0,2 mm (mesial ou distalmente) (Albrektsson et al. 1986, Albrektsson & Isidor 1994).
Mombelli, Lang (1994)	Nenhuma profundidade de sondagem $\geq 5\text{mm}$; Nenhum sangramento a sondagem
Buser et al., (1990)	Ausência de mobilidade; Ausência de queixas subjetivas (dor, sensação de corpo estranho e/ou disestesia); Ausência de infecção peri-implantar recorrente com supuração; Ausência de radiolucência ao redor do implante
Albrektsson et al. 1986	Implante individual sem mobilidade quanto testado clinicamente; Radiografia que não demonstre evidência de radiolucência peri-implantar; Perda óssea menor que 0,2mm anualmente após o primeiro ano de uso; Nenhuma dor, desconforto ou infecção persistente.
Schnitman and schulman, 1979	Mobilidade menor que 1mm em qualquer direção; Radiolucência ao redor do implante; Perda óssea menor do que um terço da altura vertical do osso; Inflamação gengival passível de tratamento (reversível), ausência de sintomas e infecção, ausência de danos ao dente adjacente, ausência de parestesia ou violação do canal mandibular, seio maxilar ou soalho da cavidade nasal.

Tabela 2. Distribuição dos implantes em relação ao sexo, tempo de carga e os insucessos de acordo com Ong et al. (2008).

Variáveis		Insucesso		Total	p-valor ¹
		Sim	Não		
Sexo	Masculino	32 (42,1%)	44 (57,9%)	76 (100%)	0,24
	Feminino	58 (34,3%)	111 (65,7%)	169 (100%)	
	Total	90 (36,7%)	155 (63,3%)	245 (100%)	
Tempo de carga	Grupo 1	37 (77,1%)	11 (22,9%)	48 (100%)	<0,01*
	Grupo 2	29 (28,2%)	74 (71,8%)	103 (100%)	
	Grupo 3	24 (25,5%)	70 (74,5%)	94 (100%)	
	Total	90 (36,7%)	155 (63,3%)	245 (100%)	

* Estatisticamente significante; 1 - Qui-quadrado de Pearson

Tabela 3. Distribuição dos critérios de insucesso do implante de acordo com Ong et al. (2008)

Critérios de sucesso		Implantes				Total		p-valor ¹
		Insucesso		Sucesso				
		N	%	N	%	N	%	
Mobilidade do implante	Sim	2	2,2	0	0	2	0,8	0,134
	Não	88	97,8	155	100	243	99,2	
Queixas subjetivas	Sim	2	2,2	0	0	2	0,8	0,134
	Não	88	97,8	155	100	243	99,2	
Infecção com supuração	Sim	1	1,1	0	0	1	0,4	0,367
	Não	89	98,9	155	100	244	99,6	
Radiolucência	Sim	8	8,9	0	0	8	3,3	<0,001*
	Não	82	91,1	155	100	237	96,7	
Sondagem > 5mm	Sim	20	22,2	0	0	20	8,2	<0,01*
	Não	70	77,8	155	100	225	91,8	
Sangramento à sondagem	Sim	73	81,1	0	0	73	29,8	<0,01*
	Não	17	18,9	155	100	172	70,2	
Perda óssea vertical	Sim	14	14,4	0	0	13	5,3	<0,001*
	Não	77	85,6	155	100	232	94,7	

* Estatisticamente significante; 1 - Teste exato de Fischer

Tabela 4. Comparação entre os índices de insucesso relacionados por autor

Critérios de sucesso		Ong et al. (2008)		Total		p-valor
		Sim	Não	N	%	
Buser et al. (1990)	Sim	8 (100%)	0	8	100	<0,001*
	Não	82 (34,6%)	155 (65,4%)	237	100	
Mombelli & Lang (1994)	Sim	80 (100%)	0	80	100	<0,001*
	Não	10 (6,1%)	155 (93,9%)	165	100	
Albrektsson et al. (1986)	Sim	13 (100%)	0	13	100	<0,001*
	Não	77 (33,2%)	155 (66,8%)	232	100	
Schnitman & Schulman (1979)	Sim	78 (100%)	0	100	3,3	<0,001*
	Não	12 (7,2%)	155 (92,8%)	100	96,7	

* Estatisticamente significante; 1 - Qui-quadrado de Pearson

Tabela 5. Concordância entre os autores

Tabela 5: Concordância entre os autores										
Critérios	Ong		Buser		Mombelli, Lang		Albrektsson		Schnitmman	
	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não
Ong										
Sim	—		8	82	80	10	13	77	78	12
Não			0	155	0	155	0	155	0	155
Kappa			0,11		0,91		0,17		0,88	
Buser										
Sim	8	0	—		3	5	2	6	8	0
Não	82	155			77	160	11	226	70	167
Kappa	0,11				0,009		0,15		0,13	
Mombelli, Lang										
Sim	80	0	3	77	—		8	72	73	7
Não	10	155	5	160			5	160	5	160
Kappa	0,91		0,009				0,08		0,88	
Albrektsson										
Sim	13	0	2	11	8	5	—		8	5
Não	77	155	6	226	72	160			70	162
Kappa	0,17		0,15		0,08				0,93	
Schnitmman										
Sim	78	0	8	70	73	5	8	70	—	
Não	12	155	0	167	7	160	5	162		
Kappa	0,88		0,13		0,88		0,93			

Tabela 6 - Distribuição dos genótipos e alelos da população estudada

RANKL (-438)		N	%
Genótipos	AA	2	2,2
	AG	82	91,1
	GG	6	6,7
Alelos	A	86	47,7
	G	94	52,3
IL-10		N	%
Genótipos	GG	33	36,7
	AG	40	44,4
	AA	17	18,9
Alelos	A	86	41,1
	G	94	58,9

Tabela 7. Associação entre insucesso, genótipos e alelos para RANKL (-438) e IL-10 (-1082)

RANK L (-438)		Insucesso		Total	p-valor ¹
		Sim	Não		
Genótipo	AA	0 (0%)	2 (100%)	2 (100%)	0,416
	AG	28 (34,1%)	54 (65,9%)	82 (100%)	
	GG	1 (16,7%)	5 (83,3%)	6 (100%)	
Alelos	A	28 (32,6%)	58 (67,4%)	86 (100%)	0,927
	G	30 (31,9%)	64 (68,1%)	94 (100%)	
IL-10 (-1082)		Insucesso		Total	p-valor ¹
		Sim	Não		
Genótipo	AA	6 (35,3%)	11 (64,7%)	17 (100%)	0,222
	AG	16 (40,0%)	24 (60,0%)	40 (100%)	
	GG	7 (21,2%)	26 (78,8%)	33 (100%)	
Alelos	A	28 (37,8%)	46 (62,2%)	74 (100%)	0,178
	G	30 (28,3%)	76 (71,7%)	106 (100%)	

1 - Qui-quadrado de Pearson

ANEXO A - NORMAS DA REVISTA

Clinical Oral Implants Research

1. General

Clinical Oral Implants Research conveys scientific progress in the field of implant dentistry and its related areas to clinicians, teachers and researchers concerned with the application of this information for the benefit of patients in need of oral implants. The journal addresses itself to clinicians, general practitioners, periodontists, oral and maxillofacial surgeons and prosthodontists, as well as to teachers, academicians and scholars involved in the education of professionals and in the scientific promotion of the field of implant dentistry.

Clinical Oral Implants Research publishes:

Original research articles of high scientific merit in the field of material sciences, physiology of wound healing, biology of tissue integration of implants, diagnosis and treatment planning, prevention of pathologic processes jeopardizing the longevity of implants, clinical trials on implant systems, stoma-tognathic physiology related to oral implants, new developments in therapeutic concepts and prosthetic rehabilitation.

Review articles by experts on new developments in basic sciences related to implant dentistry and clinically applied concepts.

Case reports and case series only if they provide or document new fundamental knowledge.

Novel developments if they provide a technical novelty for any implant system.

Short communications of important research findings in a concise format and for rapid publication.

Treatment rational by experts with evidence-based treatment approach.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in Clinical Oral Implants Research. Authors are encouraged to visit [Wiley-Blackwell Author Services](#) for further information on the preparation and submission of articles and figures

2. Ethical guidelines

Clinical Oral Implants Research adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal. ALL named authors must have made an active contribution to the conception and design and/or analysis and interpretation of the data and/or the drafting of the paper and ALL must have critically reviewed its content and have approved the final version submitted for publication. Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship.

Clinical Oral Implants Research adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

Up to 6 authors are accepted without need for justification. In the case of a specific and detailed justification of the role of every author, up to 8 authors may be mentioned. It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions.

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version, 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editor reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A [CONSORT checklist](#) should also be included in the submission material.

Clinical Oral Implants Research encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

2.4 Conflict of Interest and Source of Funding

Clinical Oral Implants Research requires that sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript be fully acknowledged, and any potential conflicts of interest noted. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included. Information concerning conflict of interest and sources of funding should be included under Acknowledgements.

2.5 Appeal of Decision

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

2.6 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

2.7 Copyright Assignment

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere.

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements(OAA):

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services

http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and visit

<http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit:

<http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

For RCUK and Wellcome Trust authors click on the link below to preview the terms and conditions of this license:

Creative Commons Attribution License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services

http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and visit

<http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

2.8 OnlineOpen

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see

http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms

Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website at:

https://authorservices.wiley.com/bauthor/onlineopen_order.asp

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

3. Submission of manuscripts

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/coir>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from the Editorial Assistant Ms. Brigitte Baur. E-mail: coir@zmk.unibe.ch

3.1. Getting Started

Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 6 or higher, Netscape 7.0, 7.1, or 7.2, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4) and go to the journal's online Submission Site:

<http://mc.manuscriptcentral.com/coir>

- Log-in or click the 'Create Account' option if you are a first-time user.
- If you are creating a new account.
 - After clicking on 'Create Account', enter your name and e-mail information and click 'Next'. Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click 'Next.'
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your area of expertise. Click 'Finish'.
- If you have an account, but have forgotten your log in details, go to Password Help on the journals online submission system <http://mc.manuscriptcentral.com/coir> and enter your e-mail address. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
- Log-in and select Corresponding Author Center.

3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged in, click the 'Submit a Manuscript' link in the menu bar.
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files.
- Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer.
- Select the designation of each file in the drop-down menu next to the Browse button.
- When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button.
- Review your submission (in HTML and PDF format) before sending to the Journal. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing.

3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, text, references, tables, and figure legends, but no embedded figures. In the text, please reference figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

3.4. Blinded Review

All manuscripts submitted to Clinical Oral Implants Research will be reviewed by two experts in the field. Clinical Oral Implants Research uses single blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper.

3.5. Suggest a Reviewer

Clinical Oral Implants Research attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, please suggest the names and current email addresses of one potential international reviewer whom you consider capable of reviewing your manuscript. In addition to your choice the journal editor will choose one or two reviewers as well.

3.6. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to.

3.7. E-mail Confirmation of Submission

After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation email after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by some sort of spam filtering on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our email server (uranus.scholarone.com) to their whitelist.

3.8. Manuscript Status

You can access ScholarOne Manuscripts (formerly known as Manuscript Central) any time to check your 'Author Centre' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

3.9. Submission of Revised Manuscripts

To submit your revised manuscript, locate your manuscript under 'Manuscripts with Decisions' and click on 'Submit a Revision'. Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript.

4. Manuscript types accepted

Original research articles of high scientific merit in the field of material sciences, physiology of wound healing, biology of tissue integration of implants, diagnosis and treatment planning, prevention of pathologic processes jeopardizing the longevity of implants, clinical trials on implant systems, stomatognathic physiology related to oral implants, new developments in therapeutic concepts and prosthetic rehabilitation.

Review articles by experts on new developments in basic sciences related to implant dentistry and clinically applied concepts. Reviews are generally by invitation only and have to be approved by the Editor-in-Chief before submission.

Case reports and case series, but only if they provide or document new fundamental knowledge and if they use language understandable to the clinician.

Novel developments if they provide a technical novelty for any implant system.

Short communications of important research findings in a concise format and for rapid publication.

Treatment rational by experts with evidence-based treatment approach.

Proceedings of international meetings may also be considered for publication at the discretion of the Editor.

5. Manuscript format and structure

5.1. Page Charge

Articles exceeding 10 published pages are subject to a charge of USD 160 per additional page. One published page amounts approximately to 5,500 characters (excluding figures and tables).

5.2. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language might choose to have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. A list of independent suppliers of editing services can be found at

http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: The symbol % is to be used for percent, h for hour, min for minute, and s for second. *In vitro*, *in vivo*, *in situ* and other Latin expressions are to be italicised. Use only standard abbreviations. All units will be metric. Use no roman numerals in the text. In decimals, a decimal point and not a comma will be used. Avoid abbreviations in the title. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement. In cases of doubt, the spelling orthodoxy of Webster's third new international dictionary will be adhered to.

Scientific Names: Proper names of bacteria should be binomial and should be singly underlined on the typescript. The full proper name (e.g., *Streptococcus sanguis*) must be given upon first mention. The generic

name may be abbreviated thereafter with the first letter of the genus (e.g., *S. sanguis*). If abbreviation of the generic name could cause confusion, the full name should be used. If the vernacular form of a genus name (e.g., streptococci) is used, the first letter of the vernacular name is not capitalised and the name is not underlined. Use of two letters of the genus (e.g., Ps. for *Peptostreptococcus*) is incorrect, even though it might avoid ambiguity. With regard to drugs, generic names should be used instead of proprietary names. If a proprietary name is used, it must be attached when the term is first used.

5.2. Structure

All manuscripts submitted to Clinical Oral Implants Research should include Title Page, Abstract, Main Text and Acknowledgements, Tables, Figures and Figure Legends as appropriate.

Title Page: should contain the title of the article, full name(s) of the authors (no more than 6) and institutional affiliation(s), a running title not exceeding 60 letters and spaces, and the name, telephone and fax numbers, email and complete mailing address of the author responsible for correspondence. The author must list appropriate key words for indexing purposes.

Abstract: should not exceed 250 words. This should be structured into: objectives, material and methods, results, conclusions, and no other information.

Main Text of Original Research Article should include Introduction, Material and Methods, Results and Discussion.

Introduction: Summarise the rationale and purpose of the study, giving only strictly pertinent references. Do not review existing literature extensively. State clearly the working hypothesis.

Material and Methods: Material and methods should be presented in sufficient detail to allow confirmation of the observations. Published methods should be referenced and discussed only briefly, unless modifications have been made. Indicate the statistical methods used, if applicable.

Results: Present your results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all data in the tables and illustrations. The important observations should be emphasised.

Discussion: Summarise the findings without repeating in detail the data given in the Results section. Relate your observations to other relevant studies and point out the implications of the findings and their limitations. Cite other relevant studies.

Main Text of Short Communications: Short communications are limited to two printed pages including illustrations and references and need not follow the usual division into material and methods, etc., but should have an abstract.

Acknowledgements: Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions. Sources of financial support should be acknowledged.

5.3. References

References should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Black & Miller 1988). Three or more authors should always be referred to as, for example, (Fox et al. 1977).

A list of references should be given at the end of the paper and should follow the recommendations in Units, symbols and abbreviations: a guide for biological and medical editors and authors (1988), p. 52, London: The Royal Society of Medicine.

a) The arrangement of the references should be alphabetical by author's surname.

b) The order of the items in each reference should be:

(i) for journal references:

name(s) of author(s), year, title of paper, title of journal, volume number, first and last page numbers.

(ii) for book references:

name(s) of author(s), year, title of book, edition, volume, chapter and/ or page number, town of publication, publisher.

c) Author's names should be arranged thus: Daniels, J.A., Kelly, R.A. & Til, T.C.

Note the use of the ampersand and omission of comma before it. Author's names when repeated in the next reference are always spelled out in full.

d) The year of publication should be surrounded by parentheses: (1966).

c) The title of the paper should be included, without quotation marks.

f) The journal title should be written in full, italicised, and followed by volume number in bold type, and page numbers.

Examples:

Tonetti, M. S., Schmid, J., Hämmerle, C. H. & Lang, N. P. (1993) Intraepithelial antigen-presenting cells in the keratinized mucosa around teeth and osseointegrated implants. *Clinical Oral Implants Research* 4: 177-186.

Poole, B., Ohkuma, S. & Warburton, M. (1978) Some aspects of the intracellular breakdown of exogenous and endogenous proteins. In: Segal, H.S. & Doyle, D.J., eds. *Protein turnover and lysosome function*, 1st edition, p. 43. New York: Academic Press.

We recommend the use of a tool such as [Reference Manager](#) for reference management and formatting. Reference Manager reference styles can be searched for here:

www.refman.com/support/rmstyles.asp

5.4. Tables, Figures and Figure Legends

Tables: Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals. Type each table on a separate sheet, with titles making them self-explanatory. Due regard should be given to the proportions of the printed page.

Figures: All figures should clarify the text and their number should be kept to a minimum. Details must be large enough to retain their clarity after reduction in size. Illustrations should preferably fill a single-column width (81 mm) after reduction, although in exceptional cases 120mm (double-column) and 168 mm (full page) widths will be accepted. Micrographs should be designed to be reproduced without reduction, and they should be dressed directly on the micrograph with a linear size scale, arrows, and other designators as needed. Each figure should have a legend

Preparation of Electronic Figures for Publication: Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Wiley-Blackwell's guidelines for figures:

<http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>

Check your electronic artwork before submitting it:

<http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

7. After acceptance

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

6.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt.

Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

Articles should not normally exceed 10 printed pages, including illustrations and references. Additional pages will be charged to the author(s) at the rate of USD 160 per page.

6.2 Early View (Publication Prior to Print)

Clinical Oral Implants Research is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

6.3 Author Services

Online production tracking is available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including

ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Universidade Federal de Pernambuco Centro de Ciências da Saúde / UFPE-CCS

PROJETO DE PESQUISA

Título: Estudo da associação de polimorfismos ligados à imunidade inata, remodelação óssea e processos inflamatórios com insucessos dos implantes dentais

Pesquisador: Rodrigo Alves Ribeiro

Versão: 2

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

CAAE: 01219612.7.0000.5208

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 20932

Data da Relatoria: 10/05/2012

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto que busca investigar a sobrevivência dos implantes dentários e as possíveis causas de sua perda precoce na cavidade oral, avaliando a condição periodontal peri-implantar de cada paciente; e as situações que afetam a gengiva e o osso subjacente do local da colocação do implante.

Objetivo da Pesquisa:

O estudo tem como objetivo geral: avaliar a presença dos polimorfismos das proteínas da imunidade inata (MBL2 e B-defensina1), polimorfismos relacionados à reabsorção e neoformação óssea (OPG e RANK) e polimorfismos das proteínas relacionadas à inflamação (IL-6 e IL-1), associando à presença dos microrganismos periodontopatogênicos nos insucessos dos implantes dentários; e Objetivos Específicos;1- Verificar se há associação entre polimorfismos relacionados à reabsorção e neoformação óssea, da imunidade inata e proteínas relacionadas à inflamação ao insucesso implantes dentários;2-Verificar se há associação entre a presença dos polimorfismos e os patógenos;3-Verificar se a presença dos polimorfismos interfere na sucesso clínico no período de cinco anos de acompanhamento depois da colocação dos implantes dentários;4-Determinar quais as combinações de polimorfismos estão associados ao insucesso dos implantes dentários.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A pesquisa deixa claro os riscos para os sujeitos pesquisados referentes a realização do coleta do material biológico,e os benefícios diretos para os mesmos após a obtenção dos resultados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo será realizado na Universidade Federal de Pernambuco no âmbito da Clínica de Pós-graduação em Odontologia e na Clínica de Prótese da Universidade de São Paulo. Serão avaliados 150 pessoas que foram reabilitados através de implantes dentários unitários e que tiverem idade superior a 18 anos. A amostra será dividida em 3 grupos (n=50) com diferentes tempo de carga. O primeiro grupo será formada por pacientes que tiveram até 1 ano de cargas aplicadas aos implantes; o segundo grupo com pacientes que tiveram carga aplicada ao implante de 1 a 5 anos; e o terceiro grupo de 5 a 10 anos de carga. Serão avaliadas clinicamente através de sondagem periodontal e o sucesso dos implantes serão avaliados, após o processamento do material biológico e a análise do polimorfismo das proteínas da imunidade inata (MBL2 e Bdefensina1),relacionados à reabsorção e neoformação óssea (OPG e RANK) e polimorfismos das proteínas relacionadas à inflamação (IL-6 e IL-1), associando à presença dos micro-organismos bacterias do complexo vermelho (Pg, Tf, Td) e ao Aggregatibacter actinomycetemcomitans.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador responsável obedecendo a Resolução CNS N° 196,deixou claro seu cronograma de execução,orçamento, anexou o curriculum lattes seu e da sua orientadora; como também anexou as cartas de Anuência do Departamento de Prótese da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, da Clínica da Pós-graduação em Odontologia da UFPE e do Laboratório onde serão processados o material biológico; além disso preencheu corretamente a folha de rosto e o TCLE encontra-se em uma linguagem acessível aos sujeitos pesquisados, deixando claro os riscos e benefícios decorrentes da pesquisa.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O pesquisador responsável atendeu todas as pendências para dar início a execução do seu projeto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado considera aprovado o parecer do presente protocolo.
Projeto foi avaliado, aprovado e liberado para o início da coleta de dados . A APROVAÇÃO definitiva do projeto será dada, por meio de ofício impresso, após a entrega do relatório final ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFPE

RECIFE, 13 de Maio de 2012

Assinado por:
GERALDO BOSCO LINDOSO COUTO