

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

MARIA DA CONCEIÇÃO MELO ARAUJO

**POLIMORFISMO NOS GENES *IL-1* E *IL-6* E O INSUCESSO DE IMPLANTES
DENTÁRIOS**

Recife – PE

2014

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

MARIA DA CONCEIÇÃO MELO ARAUJO

**POLIMORFISMO NOS GENES *IL-1* E *IL-6* E O INSUCESSO DE IMPLANTES
DENTÁRIOS**

Dissertação 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 Mestre em Odontologia, área de concentração em Clínica Integrada.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Eleutério de Souza

Recife –PE

2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

A663p Araujo, Maria da conceição Melo.
 Polimorfismo nos genes IL-1 e IL-6 e o insucesso de implantes
 dentários / Maria da conceição Melo Araujo. – Recife: O Autor, 2014.
 63 f.: il.; tab.; 30 cm.

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

 1. Implantes dentários. 2. Peri-implantite. 3. Polimorfismo genético. 4.
 Interleucina-1. 5. Interleucina-6 I. Silveira, Renata Cimões Jovino
 (Orientadora). II. Título.

617.6 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2015-114)

**Ata da 150ª Defesa de Dissertação do curso de Mestrado em Odontologia com Área de
Concentração em Clínica Integrada do Centro de Ciências da Saúde da Universidade
Federal de Pernambuco, Recife, 26 de agosto de 2014.**

Às 14 (quatorze horas) do dia 26 (vinte e seis) do mês de agosto do ano de 2014 (dois mil e quatorze), reuniram-se no auditório da Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da universidade Federal de Pernambuco, os membros da Banca Examinadora, composta pelos Professores: Profa. Dra. ALESSANDRA DE ALBUQUERQUE TAVARES CARVALHO, atuando como presidente, Profa. Dra. ULLY DIAS NASCIMENTO TÁVORA CAVALCANTI, atuando como primeiro examinador, Prof. Dr. TIBÉRIO CESAR UCHOA MATHEUS, atuando como segundo examinador, para julgar o trabalho intitulado **“POLIMORFISMO NOS GENES *IL-1* E *IL-6* E O INSUCESSO DE IMPLANTES DENTÁRIOS”**, da CD MARIA DA CONCEIÇÃO MELO ARAUJO, candidata ao Grau de Mestre em Odontologia, na área de Concentração em CLÍNICA INTEGRADA, sob orientação da Profa. Dra. RENATA CIMÕES JOVINO SILVEIRA. Dando início aos trabalhos a Profa. Dra. ALESSANDRA DE ALBUQUERQUE TAVARES CARVALHO, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, abriu os trabalhos convidando os senhores membros para compor a Banca Examinadora, foram entregues aos presentes cópias das Normas do Curso de Mestrado em Odontologia, que trata dos critérios de avaliação para julgamento da dissertação de Mestrado. A presidente da mesa após tomar posse conferiu os membros, seguindo convidou a candidata para expor sobre o aludido tema, tendo sido concedido trinta minutos. A candidata expôs o trabalho e em seguida colocou-se à disposição dos Examinadores para arguição. Após o término da arguição, os examinadores reuniram-se em secreto para deliberações formais. Ao término da discussão, atribuíram a candidata os seguintes conceitos: Profa. Dra. ULLY DIAS NASCIMENTO TÁVORA CAVALCANTI (APROVADA), Prof. Dr. TIBÉRIO CESAR UCHOA MATHEUS (APROVADA), Profa. Dra. ALESSANDRA DE ALBUQUERQUE TAVARES CARVALHO (APROVADA), a candidata recebeu três conceitos (APROVADA) é considerada (APROVADA), devendo acatar as sugestões da Banca Examinadora. Face a aprovação, fica a candidata apta a receber o Grau de Mestre em Odontologia desde que tenha cumprido as exigências estabelecidas de acordo com o Regimento Interno do Curso, cabendo a Universidade Federal de Pernambuco através da sua Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação, tomar as providências cabíveis. Nada mais havendo a tratar, a presidente da Banca Examinadora encerrou a sessão e para constar foi lavrada a presente ata que vai por mim assinada, Oziclere sena de Araujo e pelos demais componentes da Banca examinadora e pela recém formada Mestre pela UFPE. MARIA DA CONCEIÇÃO MELO ARAUJO.

Recife, 26 de agosto de 2014.

Profa. Dra. ALESSANDRA DE ALBUQUERQUE TAVARES CARVALHO
Presidente

Profa. Dra. ULLY DIAS NASCIMENTO TÁVORA CAVALCANTI
1º Examinador

Prof. Dr. TIBÉRIO CESAR UCHOA MATHEUS
2º Examinador

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. Nicodemos 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 Cimões 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

SECRETÁRIA

Oziclere Sena de Araújo

Dedico este trabalho:

Aos meus pais, **Claudemir e Bety**, que me educaram com muita sabedoria e amor. E sempre me incentivaram a caminhar ao encontro dos meus objetivos, concedendo-me todo o apoio e orientações necessários.

À minha orientadora, professora **Renata Cimões**, sem a qual não seria possível essa conquista. Acolheu-me em um dos piores momentos da minha vida, recebeu-me, e com toda paciência, conduziu-me durante esse percurso. Meu exemplo de ser humano, de profissional comprometida e dedicada à docência. À senhora, eu serei eternamente grata.

“A felicidade aparece para aqueles que choram
Para aqueles que se machucam
Para aqueles que buscam e acreditam sempre
E para aqueles que reconhecem a importância
Das pessoas que passam por suas vidas.”

Clarice Lispector

Agradecimentos

À **Deus**, que em todos os dias me deu forças e motivos para nunca desistir.

Ao meu amado namorado. **Gilberto**, que me acompanha há 08 anos. Meu companheiro, amigo, que me conforta, motiva e incentiva em todos os momentos.

Aos meus **pais, irmãos e avó** pelo amor incondicional. Em especial, à minha irmã **Cleônia** pelo companherismo de sempre.

À **Universidade Federal de Pernambuco**, de modo particular, ao **Programa de Pós-graduação de Odontologia**, que me deu a oportunidade de cursar o Mestrado, em nome da professora **Jurema Freire Lisboa de Castro**.

À minha orientadora, professora **Renata Cimões**, pelo acolhimento, ensinamentos, disponibilidade, confiança e apoio. Obrigada por ser exemplo de ser humano e de profissional.

Ao meu co-orientador, professor **Paulo Eleutério**, pela disponibilidade, ensinamentos, por ceder o LGBS, pelo apoio. Serei sempre grata.

Ao doutorando **Rodrigo Alves**, esse trabalho não seria possível sem a ajuda e ensinamentos transmitidos por ele.

À **Oziclere**, por todo carinho, incentivo, apoio e fundamental ajuda nos momentos importantes. Meus sinceros agradecimentos.

Aos meus **amigos da turma de Mestrado** pelos ótimos dias de convivência, pelo carinho, amizade e incentivo. Em especial à **Camila Carvalho, Trícia, Marília, Fernanda e Camila Cravo**.

À **equipe do Laboratório de de Genética, Bioquímica e Sequenciamento de DNA Professora Tânia Falcão, Universidade Federal Rural de Pernambuco (LGBS)** pela disposição em ajudar e transmitir conhecimentos tão importantes para a realização desse trabalho.

À **todos os professores da Pós-graduação de Odontologia** que contribuíram para minha formação.

À **dona Tânia**, auxiliar de limpeza, pelo carinho e apoio.

Às minhas amigas **Andrezza e Girlaine** pela convivência repleta de carinho e compreensão. Vocês tornaram minha vida muito mais feliz em Recife.

Aos meus **professores da graduação da Universidade Federal de Alagoas**, pela dedicação, conhecimentos transmitidos, pelo apoio, incentivo, pela amizade. A eles, serei eternamente grata.

Aos **meus amigos da graduação** pela sincera amizade, incentivo e por termos iniciado e construído juntos nosso percurso na Odontologia.

Ao **Programa REUNI** pela concessão de bolsa de Mestrado.

Resumo

Objetiva-se verificar, através de um estudo tipo série de casos, a associação do polimorfismo do gene *IL-1 β* [região +3954(T\C)] e do gene *IL-6* [região -174(G\C)] ao insucesso de implantes dentários. Noventa e quatro pacientes, de ambos os sexos, reabilitados com cento e noventa e quatro implantes dentários Straumann® (Waldenburg, Switzerland) 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. Se o implante apresentasse algum destes parâmetros, era considerado como insucesso ou falha e os que não apresentaram foram considerados como sucesso. Células da mucosa jugal foram coletadas para a análise do polimorfismo dos genes *IL-1 β* e *IL-6* através da reação em cadeia da polimerase pela técnica do comprimento do fragmento de restrição (PCR-RFLP). Dentre os implantes avaliados, 28,35% apresentaram insucesso. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre o grupo de falha\insucesso dos implantes em relação ao genótipo dos genes *IL-1 β* e *IL-6*. Dentro dos limites desta pesquisa, pode-se concluir que não existe associação entre o polimorfismo genético específico e falha do implante dentário em termos de complicações biológicas na população estudada. Estudos longitudinais adequadamente alimentados são necessários para fornecer mais informações.

Palavras-chave: Implantes Dentários. Peri-implantite. Polimorfismo Genético. Interleucina-1. Interleucina-6.

Abstract

To verify, through a case series study, the association of the polymorphism of the *IL-1 β* gene [+3954 region (T \ C)] and the *IL-6* gene [-174 region (G \ C)] to the failure of dental implants. Ninety-four patients of both genders, rehabilitated with one hundred ninety-four 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 $\geq$ 5 mm and bleeding on probing. If the implant submit any of the parameters was considered as failures or crashes, and those who had not were considered successful. Cells from the oral mucosa for analysis of polymorphism of *IL-1 β* and *IL-6* genes by polymerase chain reaction technique for the length of the restriction fragment was collected (PCR-RFLP). Among the implants reviews, 28,35% were unsuccessful. No statistically significant difference was found between the failure group \ failure of implants in relation to the genotype of *IL-1 β* and *IL-6* genes. Within the limits of this research, it can be concluded that there is no association between specific genetic polymorphisms and dental implant failure in terms of biological complications in this population. Adequately powered longitudinal studies are needed to provide more information.

Keywords: Dental Implants. Peri-implantitis Disease. Genetics Polymorphism. Interleukin-1. Interleukin-6.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Lista de Ilustrações

- Figura 01 – Produto da digestão de amostras de DNA da população – 49
sucesso e insucesso para a região (+ 3954T/C) do gene *IL-1 β* ,
em gel de agarose a 3%. ND = não digerido, D = digerido.
- Figura 02 – Produto da digestão de amostras de DNA da população – 49
sucesso e insucesso para a região (- 174G/C) do gene *IL-6*, em
gel de agarose a 3%. ND = não digerido, D = digerido.

Lista de Tabelas

Tabela 01 –	Características da população: faixa etária, sexo, tempo de carga, genótipos e alelos.	50
Tabela 02 –	Critérios clínicos utilizados para avaliação dos implantes dentários.	50
Tabela 03 –	Avaliação dos resultados dos implantes segundo o genótipo e o tipo de alelo para <i>IL-1 β</i> (+3954 T/C).	51
Tabela 04 –	Avaliação do critério sangramento à sondagem segundo o genótipo e o tipo de alelo para <i>IL-1 β</i> (+3954 T/C).	51
Tabela 05 –	Avaliação dos resultados dos implantes segundo o genótipo e o tipo de alelo para <i>IL-6</i> (-174 G/C).	51

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
C	Citosina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Doença Periodontal
DPI	Doença Peri-implantar
G	Guanina
IL-1	Interleucina 1
<i>IL-1</i>	Refere-se ao gene que codifica a IL-1
IL-1 β	Interleucina 1beta
<i>IL-1β</i>	Refere-se ao gene que codifica a IL-1 β
IL-6	Interleucina 6
<i>IL-6</i>	Refere-se ao gene que codifica a <i>IL-6</i>
LGBS	Laboratório de Genética, Bioquímica e Sequenciamento de DNA Professora Tânia Falcão, Universidade Federal Rural de Pernambuco
ml	Mililitros
pb	Pares de base
PCR	Reação da Cadeia da Polimerase
PIC	Perda de Inserção Clínica
PS	Profundidade de Sondagem
RANK	Receptor do fator nuclear kappa B
RFLP	Polimorfismo no Comprimento de Fragmento de Restrição
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único
SS	Sangramento à Sondagem
T	Timina
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
U	Unidade
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
μ l	Microlitros
°C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	21
2 POLIMORFISMO NOS GENES <i>IL-1</i> E <i>IL-6</i> E O INSUCESSO DE IMPLANTES DENTÁRIOS.....	24
3 APRESENTAÇÃO.....	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
5 RESULTADOS.....	31
6 DISCUSSÃO.....	33
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
REFERÊNCIAS.....	38
APÊNDICES.....	44
APÊNDICE A – TERMO DE CONSETIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	45
APÊNDICE B – FICHA CLÍNICA.....	47
APÊNDICE C – FIGURAS.....	49
APÊNDICE D – TABELAS.....	50
ANEXOS	52
ANEXO A - NORMAS CLINICAL ORAL IMPLANTS RESERACH.....	53
ANEXO B - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	62

1 INTRODUÇÃO

Implantes dentários são considerados como uma modalidade de tratamento eficaz e previsível para a reabilitação estética de pacientes totalmente e parcialmente desdentados (Bornstein et al. 2008). O sucesso clínico desse tratamento é baseado no princípio da integração óssea.

A osseointegração apresenta resultados previsíveis e estáveis ao longo do tempo, garantindo um alto índice de sucesso no tratamento com implantes dentários, entre 85-94% após 10 anos (Holm-Pedersen et al. 2007), de 90-95% por períodos de 5-10 anos (Berglundh et al., 2002; Roos-Jansaker et al., 2006a), porém falhas ainda ocorrem. Perda precoce dos implantes foi relatada em 1-7% dos casos e a perda tardia, com um acompanhamento de 5-14 anos, ocorreram em 2-13% dos implantes (Loss et al., 2008). Com o aumento do número desse procedimento ao longo dos últimos anos, torna-se cada vez mais frequente a existência de insucesso nos implantes e complicações relacionadas (Levin, 2010). A percentagem do sucesso do implante diminui para aproximadamente 61% quando critérios mais bem definidos são utilizados para se considerar um implante como bem sucedido (exemplo: o plano de tratamento original é realizado como pretendido sem complicações, todos os implantes colocados permanecem estáveis e funcionando sem problemas, os tecidos duro e mole peri-implantares estão saudáveis e tanto o paciente quanto o profissional estão satisfeitos com os resultados) (Pjetursson et al., 2012).

O êxito da osseointegração depende de fatores biológicos (infecção, peri-implantites, perda óssea na ausência de infecção) e técnicos (sobrecarga, fratura do dispositivo) (Salvi & Bragger, 2009). Complicações biológicas são processos que afetam os tecidos duros e moles que suportam o implante (Lang & Berglundh, 2011). Doença peri-implantar é um resultado dessa complicação e pode ser definida como alteração inflamatória nos tecidos subjacentes ao local do implante; dois estados dessa doença são descritos na literatura: mucosite peri-implantar (inflamação restrita à mucosa peri-implantar) e peri-implantite (inflamação peri-implantar com perda óssea adicional) (Lang & Berglundh, 2011; Garg, 2010).

As complicações biológicas tendem a agrupar um subconjunto de indivíduos ao invés de serem distribuídos aleatoriamente na população, sendo assim, a resposta individual do hospedeiro pode ter um papel determinante para o sucesso do implante (Tonetti, 1999; Fransson et al., 2005; Roos-Jansaker, et al. 2006a; Fransson et al., 2010). A resposta inflamatória individual frente à agressão bacteriana pode ocasionar a paralisação (resposta anti-inflamatória – protetora) ou a evolução da doença (resposta pró-inflamatória – destrutiva)

(Stashenko et al., 2005). Um fator importante a ser considerado é que essa resposta é coordenada pela característica genética. Por isso, estudos explorando o padrão genético individual como forma de justificar a etiologia de doenças peri-implantares têm sido o foco de trabalhos recentes.

O polimorfismo genético é caracterizado como a ocorrência de múltiplos alelos em um locus, no qual pelo menos um alelo aparece em 1% da população (Taylor et al., 2004). Polimorfismos nos genes responsáveis pela resposta inflamatória têm mostrado grande relevância para o futuro clínico da Periodontia e da Implantodontia. Sendo assim, esse estudo tem o objetivo de avaliar a associação entre polimorfismos de genes produtores das citocinas [interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6)] ao insucesso de implantes dentários.

**POLIMORFISMO NOS GENES *IL-1* E *IL-6* E O INSUCESSO
DE IMPLANTES DENTÁRIOS**

2 POLIMORFISMO NOS GENES *IL-1* E *IL-6* E O INSUCESSO DE IMPLANTES DENTÁRIOS

Implantes dentários são considerados uma modalidade de tratamento eficaz e previsível para a reabilitação funcional e estética de pacientes totalmente ou parcialmente desdentados (Bornstein et al. 2008). O sucesso clínico desse tratamento é baseado no princípio da osseointegração, a qual tem apresentado resultados estáveis ao longo do tempo, garantindo um alto índice de sucesso, entre 85-94% após 10 anos (Holm-Pedersen et al. 2007), de 90-95% por períodos de 5-10 anos (Berglundh et al. 2002; Roos-Jansaker et al. 2006), porém falhas ainda ocorrem. Perda precoce dos implantes foi relatada em 1-7% dos casos e a perda tardia, com um acompanhamento de 5-14 anos, ocorreram em 2-13% dos implantes (Loss et al. 2008). Com o aumento do número desse procedimento ao longo dos últimos anos, torna-se cada vez mais frequente a existência de insucesso e complicações relacionadas aos implantes dentários (Levin 2010).

3 APRESENTAÇÃO

O êxito da osseointegração depende de fatores biológicos e técnicos a saber: infecção, peri-implantites, perda óssea na ausência de infecção, sobrecarga, fratura do dispositivo, respectivamente (Salvi & Bragger 2009). Complicações biológicas são processos que afetam tanto os tecidos duros quanto os tecidos moles que suportam o implante (Lang & Berglundh 2011). A doença peri-implantar (DPI) é um resultado dessas complicações e dois estados desta doença são descritos na literatura: mucosite (inflamação restrita à mucosa peri-implantar) e peri-implantite (inflamação peri-implantar com perda óssea adicional) e 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, medicamentos, hormônios sistêmicos, citocinas locais [interleucinas (*IL-1* e *IL-6*)], fatores de crescimento (TNF), mediadores do metabolismo ósseo (RANK) (Baioni et al. 2008; Soedarsono et al. 2006) e polimorfismos genéticos (Kornman et al. 1997).

A interleucina 1 (*IL-1*) e a interleucina 6 (*IL-6*) são citocinas pró-inflamatórias, produzidas por estímulo de produtos bacterianos, injúrias traumáticas ou diferentes antígenos, que podem conduzir a destruição do tecido conjuntivo gengival e do tecido ósseo, são consideradas marcadores associadas à DPI (Kornman et al. 1997; Page et al. 1997).

As complicações biológicas tendem a agrupar um subconjunto de indivíduos ao invés de serem distribuídos aleatoriamente na população, sendo assim, a resposta individual do hospedeiro pode ter um papel determinante para o sucesso do implante (Tonetti, 1999; Fransson et al. 2005; Roos-Jansaker et al. 2006). Esse fenômeno pode ser devido ao polimorfismo genético, o qual é definido como sendo uma variação genética na sequência de alelos, na sequência de bases de nucleotídeos ou na estrutura cromossômica, que ocorre com uma frequência maior que 1% na população. O tipo de polimorfismo mais frequente é o de única base, conhecido como Polimorfismo de Nucleotídeo Único (*Single Nucleotide Polymorphism – SNP*), que consiste em uma variação da identidade de um nucleotídeo singular em um sítio particular do genoma (Wilson et al. 1997; Fishman et al. 1998; Asensi et al. 2003; Gruica et al. 2004). Os genes que codificam as citocinas apresentam considerável polimorfismo, muitos dos quais influenciam na resistência a infecções e na susceptibilidade a diversas enfermidades e podem ocasionar uma produção irregular dessas proteínas (Knight 1999).

Polimorfismos nos genes responsáveis pela resposta inflamatória têm mostrado grande relevância para o futuro clínico da Periodontia e da Implantodontia. Sendo assim, este estudo teve o objetivo de avaliar a associação entre polimorfismos de genes *IL-1 β* e *IL-6* ao insucesso de implantes dentários.

4 MATERIAS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo tipo série de casos, no período compreendido entre março e agosto de 2012 na Clínica de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil. A população avaliada foi composta por 106 pacientes, porém não foi possível verificar a amplificação do DNA de 12 indivíduos. Sendo assim, a amostra foi composta por 94 pacientes parcialmente edêntulos, de ambos os sexos, reabilitados com 194 implantes dentários. Os critérios de inclusão adotados foram: idade ≥ 18 anos, ser usuário de implantes osseointegrados Straumann® (Waldenburg, Switzerland) com carga superior a um ano, apresentando boas condições de saúde, sem história médica para doenças crônicas como cardiovasculares e diabetes. Adotou-se os seguintes critérios de exclusão: pacientes fumantes, grávidas e nutrízes.

Todos os envolvidos na pesquisa consentiram previamente a sua inclusão no estudo por meio de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE I), o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco sob protocolo 20932\2012 (ANEXO II).

Avaliação Clínica e Radiográfica

Todos os pacientes foram avaliados por um pesquisador previamente calibrado ($\kappa = 1$ intra-examinador) utilizando uma sonda periodontal milimetrada do tipo Carolina do Norte (Trinity®, São Paulo, Brasil). Mensurações de profundidade de sondagem (PS) e perda de inserção clínica (PIC) foram registrados em quatro pontos (mesial, distal, lingual e vestibular) ao redor de cada implante. Foi registrada a presença ou ausência de mobilidade e realizado exame radiográfico periapical pela técnica intrabucal do paralelismo com auxílio de um posicionador (Apêndice II).

Foram aplicados os critérios agrupados por Ong et al. (2008) que incluiu as seguintes definições de sucesso nos implantes (incluindo mudança no nível ósseo):

1. Ausência de mobilidade (Buser et al. 1990);
2. Ausência ou persistência de queixas subjetivas (dor, sensação de corpo-estranho e ou disestesia) (Buser et al. 1990);
3. Ausência ou recorrência de infecção peri-implantar com supuração (Buser et al. 1990);
4. Ausência da radiolusência continua ao redor do implante (Buser et al. 1990);

5. Nenhuma profundidade de sondagem (PS) $\geq 5\text{mm}$ (Mombelli & Lang 1994, Bragger et al. 2001);
6. Ausência de sangramento à sondagem (SS) (Mombelli & Lang 1994);
7. Após o primeiro ano de uso, a perda óssea vertical anual não deve exceder 0,2mm (mesialmente ou distalmente) (Albrektsson et al. 1986, Albrektsson & Isidor 1994).

Os implantes foram considerados como sucesso quando não apresentavam nenhuma das características acima. Quando houve a presença de qualquer um dos critérios acima, o implante era considerado como insucesso. Diante disso, os pacientes que apresentaram uma ou mais dessas características em quaisquer dos seus implantes foram alocados no grupo insucesso/falha. Os que não apresentaram, foram reunidos no grupo sucesso.

Obtenção das Amostras e Isolamento do DNA Genômico

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 *ependorff* 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.

Processamento através da Técnica de PCR para o Gene *IL-1 β*

As reações para PCR foram preparadas utilizando o conjunto de reagentes TaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) com o seguinte parâmetro: 6 μl de água, 1 μl de primer *forward*, 1 μl de primer *reverse*, 10 μl de Master Mix e 2 μl de DNA da amostra, sendo 20 μl o volume final. 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).

Para determinação do polimorfismo da região do gene *IL-1 β* , foram utilizadas as sequências de oligonucleotídeos: *forward* (5'-CTCAGGTGTCCTCCAAGAAATCAAA-3') e *reverse* (5'-GCTTTTTTGCTGTGAGTCCCG-3') que flanqueiam a região +3954 do éxon 5 deste gene (Aparicio et al. 2010). Esse polimorfismo pode alterar a sequência proteica e

influenciar a função biológica da citocina, o que justifica a escolha desse locus (Taylor et al. 2004). As condições de amplificação foram as seguintes: 1ª fase - “hot start” (95° C por 4 minutos); 2ª fase – dividida em três etapas e realizada por 35 ciclos – 1) desnaturação do DNA alvo por aquecimento (95°C por 30 segundos), 2) anelamento do primer (60°C por 45 segundos), 3) extensão (72° C por 45 segundos); e 3ª fase - extensão final (72° C por 5 minutos).

Para a análise do polimorfismo pela técnica da restrição do fragmento (RFLP), os produtos da amplificação (194pb) foram digeridos num volume final de 10µl, contendo 6,0µl do amplicon, 1U BSA (INVITROGEN), 2U de enzima de restrição *TaqI* (INVITROGEN) e 1X tampão de enzima de restrição *TaqI* (INVITROGEN) durante 4 horas a 65°C, em banho-maria. Em seguida, as amostras digeridas foram coradas com *Blue Green Loading Dye* (LGC), e submetidas à eletroforese em gel de agarose a 3%, a massa molecular padrão 100pb ladder (LGC Biotecnologia, Brasil) foi incluída na corrida da eletroforese. Posteriormente, foram visualizadas em luz ultravioleta, e fotografadas para identificação dos seguintes padrões de bandas: 86pb e 108pb indivíduos TT, 194pb indivíduos CC e 86pb, 108pb e 194pb indivíduos TC (FIGURA 1).

Processamento através da Técnica de PCR para o Gene *IL-6*

As reações da PCR foram preparadas utilizando o conjunto de reagentes TaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) com o seguinte parâmetro: 6µl de água, 1µl de primer *forward*, 1µl de primer *reverse*, 10µl de Master Mix e 2µl de DNA da amostra, sendo 20µl o volume final. 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).

Para a amplificação da região promotora -174 do gene *IL-6* foram utilizados os oligonucleotídeos: sequência *forward* (5´- TTG TCA AGA CAT GCC AAA GTG -3´) e *reverse* (5´- TCA GAC ATC TCC AGT CCT ATA -3´).

As condições de amplificação foram as seguintes: 1ª fase - “hot start” (94° C por 3 minutos); 2ª fase – dividida em três etapas e realizada por 40 ciclos – 1) desnaturação do DNA alvo por aquecimento (94°C por 30 segundos), 2) anelamento do primer (58°C por 30 segundos), 3) extensão (72° C por 35 segundos); e 3ª fase - extensão final (72° C por 3 minutos).

Para a análise do polimorfismo pela técnica da restrição do fragmento (RFLP), os produtos de amplificação foram digeridos num volume final de 10µl, contendo 6,0µl do

amplicon, 1U BSA (INVITROGEN), 2U de enzima de restrição *Hsp92II* (PROMEGA, Madison, WI, USA) e 1X tampão de enzima de restrição *Hsp92II* (PROMEGA, Madison, WI, USA), *overnight* a 37°C, em banho-maria. (Asano et al. 2013) Após essa etapa, 10µl dos produtos da PCR foram adicionados a 4µl do corante fluorescente gel *red* (Biotium, Brasil) e submetidos à eletroforese em gel de agarose a 3%, a massa molecular padrão 100pb ladder (LGC Biotecnologia, Brasil) foi incluída na corrida da eletroforese. Posteriormente, as corridas de eletroforese foram visualizadas em luz ultravioleta e fotografadas para identificação dos seguintes padrões de bandas: 244pb e 56pb indivíduos GG, 244pb, 133pb, 111pb e 56pb indivíduos GC e 133pb, 111pb e 56pb indivíduos CC (FIGURA 2).

Análises Estatísticas

Os resultados foram analisados utilizando o software SPSS versão 20 para Windows. O teste do qui-quadrado foi utilizado para comparar frequências dos genótipos (GG, GC e CC) e alelos (C e G) para o gene *IL-6* (-174 G/C) e comparar as frequências dos genótipos (TT, TC e CC) e alelos (T e C) para o gene *IL-1β* (+3954 T/C) entre os resultados do implante, e para estimar o equilíbrio de Hardy-Weinberg. O odds ratio (OR) e intervalo de confiança com 95% de confiança (IC) foram calculados em relação ao resultado do implante. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$). As comparações entre os critérios de mobilidade, queixa subjetiva, infecção com supuração, radiolucência, sondagem ≥ 5 mm, sangramento à sondagem, perda óssea vertical anual com o resultado do implante foram feitos pelo teste Exato de Fisher. Os dados foram expressos em valores absolutos e relativos.

5 RESULTADOS

O estudo foi realizado com 94 pacientes com idade média de 53,6 anos, sendo 67% do sexo feminino. Reabilitados com o total de 194 implantes dentários, dos quais 47,4% tinham próteses sobre implantes funcionais entre 1 a 5 anos (Tabela 01). Os indivíduos foram alocados em dois grupos, o grupo insucesso foi composto por 43 pacientes e o grupo sucesso, com 51 pacientes. Sendo assim, 45,7% da população estudada apresentou insucesso em um ou mais implantes dentários avaliados.

No estudo do genótipo para o gene *IL-1 β* , verificou-se que genótipo TT foi o mais frequente (60,9% da população), seguido pelo TC (33,3%) e o genótipo CC foi o menos frequente (5,7%). Em relação aos alelos, o alelo T estava presente em 77,6% dos indivíduos (Tabela 01).

Para o gene *IL-6*, verificou-se que o genótipo GG apresentou maior frequência (55,4%), seguido pelo GC (39,8%) em contrapartida, o genótipo CC foi o menos encontrado (4,8%). Em relação aos alelos, o alelo G estava presente em 75,3% da população (Tabela 01).

Em relação aos implantes dentários, 28,35% apresentou insucesso. Dentre os critérios, os que apresentaram associação estatisticamente significativa ao grupo insucesso foram: radiolucência ($p=0,000$), sondagem ≥ 5 mm ($p=0,000$), sangramento à sondagem ($p=0,000$) e perda óssea vertical anual ($p=0,000$) (Tabela 02), sendo as maiores causas de falhas nos implantes da população estudada.

Frequência do Polimorfismo no Gene *IL-1 β* e Insucesso de Implantes Dentários

Quando comparadas as frequências genotípicas na região do gene *IL-1 β* (+3954 T\C) entre o grupo de sucesso e o grupo insucesso, a partir do genótipo de referência TT, não foi possível verificar diferença significativa em relação aos genótipos TC e CC ($p > 0,05$). Em relação a distribuição das frequências alélicas, também não foi possível verificar diferença significativa ($p > 0,05$) (Tabela 03).

Quanto aos critérios referidos como maiores causas para o insucesso dos implantes (radiolucência, sondagem ≥ 5 mm, sangramento à sondagem e perda óssea vertical anual), houve associação estatisticamente significativa do genótipo TC ao critério sangramento à sondagem, sugerindo que os indivíduos que apresentam este genótipo foram mais suscetíveis a apresentar esta falha no implante dentário (Tabela 04).

Frequência do Polimorfismo no Gene *IL-6* e Insucesso de Implantes Dentários

Foram comparadas as frequências genotípicas do polimorfismo na região do gene *IL-6* (- 174 G/C) com o grupo insucesso dos implantes dentários. Observou-se que não houve diferença significativa ($p > 0.05$, tanto para o genótipo GC quanto para o genótipo CC em relação ao genótipo de referência, GG) (Tabela 05). A partir da distribuição das frequências alélicas, não foi possível verificar diferença significativa ($p > 0,05$) (Tabela 05).

Dos critérios referidos como as maiores causas para o insucesso dos implantes, não houve associação estatisticamente significativa aos genótipos.

6 DISCUSSÃO

Enquanto a DPI tem uma etiologia múltipla, a resposta do hospedeiro frente à agressão bacteriana parece ser um denominador comum nas doenças peri-implantares. 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 (Ekfeldt et al. 2001; Hutton et al. 1995) 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 (Marcos et al. 2009; Poli et al. 2002). Desta forma, pesquisas sobre polimorfismos genéticos são capazes de auxiliar na compreensão de fatores determinantes para o prognóstico de pacientes. A IL-1 e a IL-6 têm papel importante na resposta imunológica-inflamatória (Abbas 2008). Uma forte evidência entre a associação do polimorfismo genético do gene *IL-1 β* (+3953) e *IL-1A* (-889) e perda/falha de implantes foi encontrada por Liao et al. (2014) em uma meta-análise, a qual avaliou 13 estudos os quais avaliaram a associação entre os polimorfismo do gene *IL-1* e o insucesso de implantes dentários, segundo os autores, o genótipo do gene *IL-1A*(-889) e *IL-1 β* (+3954) foram associados ao aumento do risco de insucesso/perda de implantes dentários (OR 1.76, 95 % CI 1.21–2.57) e ao aumento do risco de peri-implantites (OR 2.34, 95 % CI 1.03–5.33).

Para avaliar a utilidade dessa associação, é necessário conhecer a frequência desses polimorfismos na população. Existe pouca informação sobre a presença de polimorfismos na população brasileira. Este trabalho associou dados clínicos com os genótipos dos genes *IL-1 β* (+3954) e *IL-6* (-174), a fim de auxiliar no estabelecimento de fatores prognósticos no tratamento utilizando implantes dentários. Até o momento, não há consenso na definição de sucesso no implante, mas muitos critérios têm sido propostos (Albrektsson et al. 1986; Buser et al. 1990; Misch et al. 2008). Os critérios clínicos e radiográficos utilizados neste trabalho foram agrupados por Ong. et al. (2008). Diante disso, observou-se que 45,7% da população avaliada apresentou insucesso, estando esse resultado

dentro da prevalência das doenças peri-implantares, que tem variado de 8,9 a 47,1% na população brasileira (Ferreira et al. 2006). Porém a prevalência de sucesso foi baixa quando comparada a outros estudos (Holm-Pedersen et al. 2007; Berglundh et al. 2002; Roos-Jansaker et al. 2006), possivelmente, devido aos detalhados critérios de insucesso utilizados nesta metodologia como, por exemplo, o sangramento à sondagem.

Polimorfismos presentes no gene *IL-1 β* podem influenciar a produção da IL-1 β in vivo (Warlé et al. 2003) e in vitro (Kornmam e di Giovine 1998). O polimorfismo *IL-1 β* (+3954) parece ter maior influência na expressão do gene, levando a níveis aumentados de IL-1 β no fluido crevicular (Rogers et al. 2002). A presença do alelo T no locus +3954 pode estar mais relacionado a severidade de doenças periodontais (Nares 2003).

Neste estudo, a frequência de genótipos para o polimorfismo na região (+3954 T/C) do gene *IL-1 β* , foi 60,78% para TT, 23,52% para TC e 7,84% para CC na população com o tecido peri-implantar saudável. Na população com insucesso dos implantes foi de 48,83% para TT, 41,86% para TC e 2,3% para CC. Não apresentou uma distribuição genotípica estatisticamente significativa quando comparados os grupos insucesso *versus* sucesso para os genótipos. A distribuição alélica entre esses dois grupos também não foi estatisticamente significativa, sugerindo que esse polimorfismo não confere risco ou proteção na população estudada. Corroborando com este resultado, Shimpuku et al (2003), investigou a associação do polimorfismo genético do gene *IL-1* em implantes com perda precoce e idiopática de osso, em relação a implantes sem perda de osso. Os autores não encontraram diferença na distribuição dos genótipos do *IL-1 β* +3954 entre os grupos estudados. Montes et al (2009) não encontrou associação entre polimorfismo do *IL-1 β* (+3954) e a perda de implantes dentários em população brasileira, mas a associação foi positiva com o gene *IL-1RN*.

Dentre as causas de falhas nos implantes dentários, neste estudo, o genótipo TC apresentou associação estatisticamente significativa ao critério sangramento à sondagem, sugere-se que este critério tenha sido a maior causa de falha dos implantes na população com genótipo TC para o gene *IL-1 β* .

A IL-6 regula a resposta imunológica e seus efeitos se sobrepõem ao da IL-1 e do TNF (Boch et al. 2001). Várias doenças inflamatórias, inclusive periodontite, tem sido associada com elevados níveis de IL-6 (McFarlane, Meikle 1991). Variabilidade individual na capacidade de sintetizar e secretar a essa citocina parece ser regulada por alterações no nucleotídeo encontrado no gene *IL-6*.

Estudos tem associado o papel do polimorfismo do gene *IL-6* (-174 G/C) em indivíduos com periodontite e peri-implantite, correlacionando a presença do alelo C com a função

protetora, com a redução da produção de IL-6 (Trevilatto et al. 2003; Melo et al. 2012; Casado et al. 2013). No presente estudo, a frequência do genótipo CC (*IL-6* -174) foi baixa, tanto no grupo sucesso, quanto no grupo insucesso e a frequência genotípica de GG foi alta em ambos os grupos. Não foi possível associar os genótipos às falhas dos implantes dentários, visto que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos e os genótipos. Também não foi possível apontar um alelo de risco ou de proteção na população estudada.

Corroborando com os resultados desta pesquisa, Casado et al. (2013) procuraram associar esse polimorfismo ao risco de desenvolver peri-implantite e periodontite crônica, verificou-se no estudo, que não foi possível associar o polimorfismo do gene *IL-6* (-174) ao insucesso de implantes dentários (nem referente à frequência genotípica nem à frequência alélica), verificaram que o genótipo CC foi menos encontrado em ambos os grupos e o genótipo GG o mais encontrado nos grupos sucesso e insucesso.

O resultado da presente pesquisa não mostrou associação entre o polimorfismo do gene *IL-1 β* (+3954) ao insucesso de implantes dentários. Para o polimorfismo genético do *IL-6* (-174), também não foi possível fazer a associação na população estudada. Para pesquisas futuras, sugere-se a realização de estudos longitudinais, visto que a DPI é uma doença progressiva e também estudar populações maiores, a fim de eliminar o viés devido a heterogeneidade da amostra.

Com este estudo, concluiu-se que os polimorfismos apresentados não podem ser caracterizados como fatores prognósticos para o tratamento utilizando implantes dentários na população estudada. Consideramos, portanto, que os indivíduos são bons candidatos ao tratamento, desde que os cuidados necessários para a obtenção de sucesso clínico sejam, devidamente, tomados.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base neste estudo, sugerimos que os polimorfismos nas regiões +3953 (T/C) do gene *IL-1 β* e -174 (G/C) do gene *IL-6* não estiveram associados aos critérios de insucesso dos implantes dentários utilizados.

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 *IL-6* e o gene *IL-1* ao insucesso de implantes dentários.

REFERÊNCIAS

- Abbas, A. K. et al. *Imunologia celular e molecular*. 6. ed. São Paulo: Elsevier, 2008.
- Albrektsson, T. & Isidor, F. (1994). Consensus report of session IV. In: Lang, N. P, Karring, T., eds. *Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology*, p. 365. London: Quintessence Publishing Co. Ltd.
- Albrektsson, T., Jansson, T. & Lekholm, U. (1986). Osseointegrated dental implants. *Dental Clinics of North America* **30**: 151-174.
- Aparicio, JP et al (2010) Association between the genetic polymorphism of interleukin-1 β (3953 T/C) and symptomatic lumbar herniated disc. *Rev esp cir ortop traumatol* **54**:227-22.
- Asensi, V. et al. (2003). IL-1 alpha (-889) promoter polymorphism is a risk factor for osteomyelitis. *American journal of medical genetics* **119-A**: 132-136.
- 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.
- Berglundh, T., Persson, L. & Klinge, B. (2002). A 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.
- Boch, J.A., Wara-aswapati, N., Auron, P.E. (2001). IL-1 signal transduction- current concepts and relevance to periodontitis. *J.Dent. Res.* **80**: 400-407.
- Bornstein, M.M., Halbritter, S., Hamisch, H., Weber, H.P. & Buser, D. (2008). A retrospective analysis of patients referred for implant placement to a specialty clinic: indications, surgical procedures, and early failures. *The International Journal of Oral Maxillofacial Implants* **23**: 1109 – 1116.

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.

Casado, P.L., Villas-Boas, R., de Mello, W., Duarte, M.E.L., Granjeiro, J.M. (2003). Peri-implant Disease and Chronic Periodontitis: Is Interleukin-6 Gene Promoter Polymorphism the Common Risk Factor in a Brazilian Population? *The Int. Journal. of Oral & Maxillofacial Implants* **28**: 35-43.

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(2)**:165-9.

di Giovine, F. S. et al. (1992). Single base polymorphism at -511 in the human interleukin-1 β gene. *Hum. Mol. Genet* **1**:450.

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

Ferreira SD, Silva GL, Cortelli JR, Costa JE, Costa FO (2006) Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *J Clin Periodontol* **33(12)** :929–935.

Fishman, D. et al. (1998). The effect of novel polymorphisms in the interleukine-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma levels, and an association with systemic-onset juvenile arthritis. *Journal of Clinical Investigation* **102**: 1369-137.

Fransson, C. (2005). Prevalence of subjects with progressive bone loss at implants. *Clinical Oral Implants Research* **16**: 440-446.

Garg, A. (2010). Peri-implant disease: The basics. *Dental Implantology* **21**: 81-83.

- 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.
- Guash, J. F. et al. (1996) Five novel intragenic in the human interleukin 1 genes combine to high informativity. *Cytokine* **8**:598-602.
- Holm-Pedersen, P., Lang, N.P. & Müller, F. (2007). What are the longevities of teeth and oral implants? *Clinical Oral Implants Research* **3**: 15-19.
- 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. *Int J Oral Maxillofac Implants* **10**:33–42.
- Knight, J. (1999). Polymorphisms in tumor necrosis factor and other cytokines as risk for infectious diseases and the septic syndrome. *Current Infectious Disease Reports* **3**: 427-439.
- Kornman, K.S.; di Giovine, F.S. (1998). Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann. Periodontol* **3**:327-338.
- Kornman K.S., Crane A., Wang H-Y CA, di Giovine FS, Newman M.G., Pirk F.W., Wilson Jr T.G., Higginbottom F.L., Duff G.W. (1997). The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* **24**:72.
- Lang, N.P. & Berglundh, T. (2011). Peri-implant diseases: were are now? – consensus of the seventh European workshop on periodontology. **38 (Suppl 11)**: 178 – 181.
- Levin, L. (2010) Dealing with dental implant failures. *Journal of Applied Oral Science* **27**: 6-12.
- Liao, J., Li, C., Wang, Y., Ten, M., Sun, X., Tian, A., Zhang, Q., Liang, X. (2004). Meta-analysis of the association between common interleukin-1 polymorphism and dental inplant failure. *Mol Biol Rep* **41**: 2789-2798.

Loss, B.G., Van der Velden, U. & Laine, M. L. (2008). Susceptibility. In: Lindhe, J., Lang, N., Karring, T., eds. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, 5^a edition, p. 328. Oxford: Blackwell Munksgaard.

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.

McFarlane C.G., Meikle M.C. (1991). Interleukin-2, interleukin-2 receptor and interleukin-4 levels are elevated in the sera of patients with periodontal disease. *J Periodontal Res* **26**:402–408.

Misch, C.E., Perel, M.L., Wang HL, Sammartino, G., Galindo-Moreno, P., Trisi, P. Steigmann, M., Rebaudi, A., Palti, A., Pikos, M.A., Schwartz-Arad, D., Choukroun, J., Gutierrez-Perez, J.L., Marenzi, G. & Valavanis, D.K. (2008) Implant success, survival, and failure: The International Congress of Oral Implantologists (ICOI) Pisa Consensus Conference. *Implant Dentistry* **17**:5-15.

Melo, R.F., Lopes, B.M.V., Shibli, J.A., et al. (2012). Interleukin- 1 β and interleukin-6 expression and gene polymorphisms in subjects with peri0implant disease. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* **14**: 905-914.

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

Montes C.C., Alvim-Pereira F., de Castilhos B.B., Sakurai M.L., Olandoski M., Trevilatto P.C. (2009) Analysis of the association of IL1B (+3954T) and IL1RN (intron 2) polymorphisms with dental implant loss in a Brazilian population. *Clin Oral Implants Res* **20(2)**:208–217

Nares, S. (2003). The genetic relationship to periodontal disease. *Periodontol. 2000* **32**:36-49.

Newton, C.R.; Graham, A. (1997). PCR 2nd ed. BIOS Scientific, Oxford, 46 – 67.

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.

Page, R.C.; Offenbacher, S.; Schroeder, H.E.; Seymour G.J.; Kornman, K.S. (1997). Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology 2000* **14**:216-248.

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 an Italian Caucasian population. *Eur J Immunogenet*, **29**: 237-240, 2002.

Rogers, M. A. et al. (2002). Interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or success of dental implants? *J. Periodontol. Res.***37**: 37-41.

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**: 283-289.

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

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

Shimpuku, H. et al. (2003). Genetic polymorphisms of the interleukin-1 gene and early marginal bone loss around endosseous dental implants. *Clin. Oral Implants Res.***4**:423-429.

Smith A.J., D'Aiuto F., Palmen J. et al. (2008). Association of serum interleukin-6 concentration with a functional IL6 -6331T>C polymorphism. *Clin Chem* **54**:841–850.

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.

Taylor, J.J. et al. (2004). Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. *Periodontol 2000* **35**:158-182.

Tonetti, M.S. (1999) Determination of the success and failure of root-form osseointegrated dental implants. *Advances in Dental Research* **13**: 173-180.

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. *J Clin Periodontol* **30**: 438 – 442.

Warlé, M. C. et al. (2003). Are cytokine gene polymorphisms related to in vitro cytokine production profiles? *Liver Transpl.* **9**: 170-181.

Wilson, A. G. et al. (1997). Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **4**: 3195-3199.

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 - Nº. _____**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 $\geq$ 5mm					
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 $\geq$ 5mm; Sangramento à sondagem; Perda óssea vertical anual (após primeiro ano).

Avaliação clínica periodontal (Sonda Trinity® PC15)

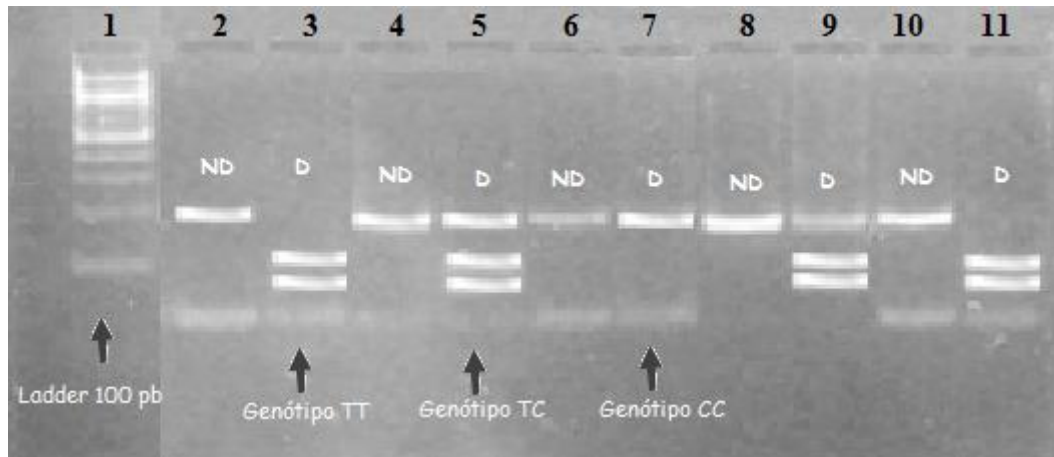
Profundidade de sondagem (PS)						Perda de inserção clínica (PIC)					
Implante						Implante					
V						V					
L/P						L/P					
M						M					
D						D					

Coleta das células da mucosa oral

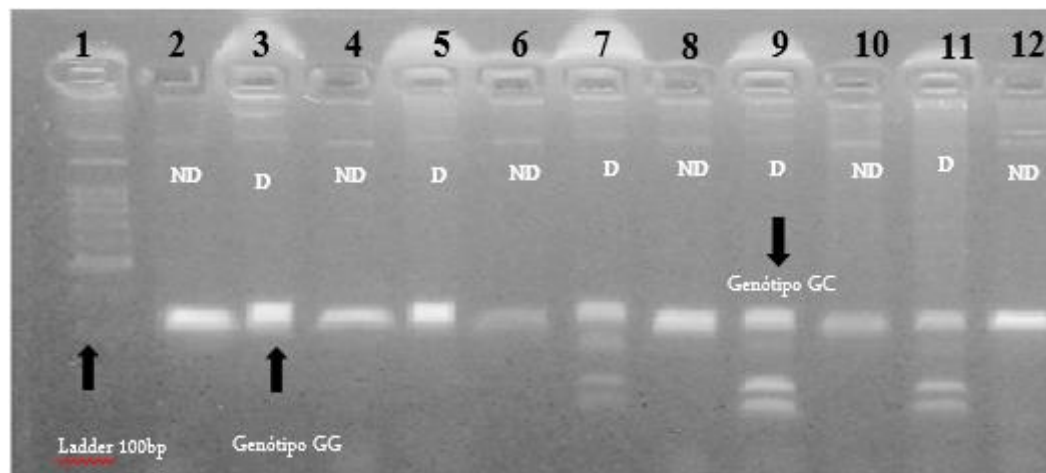
Coleta das células do sulco gengival

Coleta de sangue periférico Radiografia do implante com posicionador.

APÊNDICE C - FIGURAS

Figura 01

Produto da digestão de amostras de DNA da população – sucesso e insucesso para a região (+3954T/C) do gene *IL-1β*, em gel de agarose a 3%. ND = não digerido, D = digerido.

Figura 02

Produto da digestão de amostras de DNA da população – sucesso e insucesso para a região (-174G/C) do gene *IL-6*, em gel de agarose a 3%. ND = não digerido, D = digerido.

APÊNDICE D - TABELAS

Tabela 01 - Características da população: faixa etária, sexo, tempo de carga, genótipos e alelos

		Nº	%
Sexo (n=94)	Masculino	31	33,0
	Feminino	63	67,0
Idade (n=93)	Até 40 anos	17	18,3
	De 41 a 60 anos	46	49,5
	Acima de 60 anos	30	32,3
Tempo de carga (n=194)	Com um ano	13	6,7
	Até cinco anos	92	47,4
	Acima de 5 anos	89	45,9
IL-6 (-174 G/C)			
Genótipos	GG	46	55,4
	GC	33	39,8
	CC	4	4,8
Alelos	G	125	75,3
	C	41	24,7
IL-1B (+3954 T/C)			
Genótipos	TT	53	60,9
	TC	29	33,3
	CC	5	5,7
Alelos	T	135	76,6
	C	39	22,4

Tabela 02 – Critérios clínicos utilizados para avaliação dos implantes dentários

Critérios		Resultados dos Implantes				Total		p-valor ¹
		Insucesso		Sucesso				
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	
Mobilidade	Sim	2	3,6	0	0,7	3	1,5	0,194
	Não	53	96,4	139	99,3	191	98,5	
Queixas	Sim	2	3,6	0	0,0	2	1,0	0,079
Subjetivas	Não	53	96,4	139	100,0	192	99,0	
Infecção com	Sim	1	1,8	0	0,0	1	0,5	0,284
supuração	Não	54	98,2	139	100,0	193	99,5	
Radiolucência	Sim	7	12,7	0	0,0	7	3,6	0,000*
	Não	48	87,3	139	100,0	187	96,4	
Sondagem	Sim	18	32,7	0	0,0	18	9,3	0,000*
≥5mm	Não	37	67,3	139	100,0	176	90,7	
Sangramento	Sim	38	69,1	0	1,4	40	20,6	0,000*
à sondagem	Não	17	30,9	139	98,6	154	79,4	
Perda Óssea	Sim	13	23,6	0	0,0	13	6,7	0,000*
vertical anual	Não	42	76,4	139	100,0	181	93,3	

*Estatisticamente significante; 1 – Teste exato de Fisher

Tabela 03 – Avaliação dos resultados dos implantes segundo o genótipo e o tipo de alelo para *IL-1 β* (+3954 T/C)

IL-1 β (+3954)	Insucesso (n=43)	Sucesso (n=51)	OR	IC 95%	P valor
Genótipos	EHW = 0,253	EHW = 0,103			
TT	21 (48,8%)	31 (60,78%)	1	referência	
TC	18 (41,86%)	12 (23,52%)	0,48	0,19-1,20	0,117
CC	1 (2,3%)	4 (7,84%)	2,70	0,29-25,97	0,375
Alelos					
T	60	74			
C	20	20	0,84	0,41-1,72	0,632

Tabela 04 – Avaliação do critério sangramento à sondagem segundo o genótipo e o tipo de alelo para *IL-1β* (+3954 T\C)

IL-1 B (+3954)	Sangramento (Sim)	Sangramento (Não)	OR	IC 95%	P valor
Genótipos	EHW = 0,3469	EHW = 0,014			
TT	18	91	1	referência	
TC	19	37	0,39	0,18-0,32	0,011*
CC	1	14	2,77	0,34-22,74	0,323
Alelos					
T	55	219			
C	21	65	0,78	0,44-1,38	0,390

Estatisticamente significativa

Tabela 05 – Avaliação dos resultados dos implantes segundo o genótipo e o tipo de alelo para *IL-6* (-174 G\C)

IL-6 (-174)	Insucesso (n=43)	Sucesso (n=51)	OR	IC 95%	P valor
Genótipos	EHW = 0,705	EHW = 0,578			
GG	20 (46,5%)	25 (49%)	1	referência	
GC	16 (37,2%)	18 (35,2%)	0,96	0,39-2,37	0,930
CC	2 (3,92%)	2 (3,92%)	0,80	0,10-6,19	0,832
Alelos					
G	56	68			
C	20	22	0,94	0,46-1,90	0,856

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 to 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 erogenous 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/echecklist.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 no 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 bactérias do complexo vermelho (Pg, Tf, Td) e ao *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador responsável obedecendo a Resolução CNS Nº 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 , UFPE

RECIFE, 13 de Maio de 2012

Assinado por:

GERALDO BOSCO LINDOSO COUTO