



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CURSO DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

RAIMUNDO THOMPSON GONÇALVES FILHO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE PERDAS PRECOSES DE IMPLANTES DENTÁRIOS E
POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE *IL-8*, *IL-17* E *IL-23***

Fortaleza

2019

RAIMUNDO THOMPSON GONÇALVES FILHO

ASSOCIAÇÃO ENTRE PERDAS PRECOCES DE IMPLANTES DENTÁRIOS E
POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE *IL-8*, *IL-17* E *IL-23*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Odontologia. Área de Concentração em Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Renato Luiz Maia Nogueira

Fortaleza

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G1a GONÇALVES FILHO, RAIMUNDO THOMPSON.
ASSOCIAÇÃO ENTRE PERDAS PRECOCES DE IMPLANTES DENTÁRIOS E POLIMORFISMOS
GENÉTICOS DE IL-8, IL-17 E IL-23 / RAIMUNDO THOMPSON GONÇALVES FILHO. – 2019.
90 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e
Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. RENATO LUIZ MAIA NOGUEIRA.

1. Implantes dentários. 2. Polimorfismo genético. 3. Perda do osso alveolar. I. Título.

CDD 617.6

RAIMUNDO THOMPSON GONÇALVES FILHO

ASSOCIAÇÃO ENTRE PERDAS PRECOCES DE IMPLANTES DENTÁRIOS E
POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE *IL-8*, *IL-17* E *IL-23*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Odontologia. Área de Concentração em Clínica Odontológica.
Orientador: Prof. Dr. Renato Luiz Maia Nogueira

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Renato Luiz Maia Nogueira (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Silvia Helena Barem Rabenhorst
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Abrahão Cavalcante Gomes de Souza Carvalho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Rafael Lima Verde Osterne
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Profa. Dra. Renata Cordeiro Teixeira
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

A Deus.

Aos meus pais, Thompson e Fanca (*in memorian*). À minha esposa, Jacqueline, e aos meus filhos Arthur e Filipe.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Doutor RENATO LUIZ MAIA NOGUEIRA, meu orientador, por seu apoio constante, pela competência e dedicação com que desenvolve suas atividades. Desde a época de graduação foi exemplo de profissional e mestre, referência de superação em tudo que faz, pelos estímulos, orientações e ensinamentos que dedica aos seus alunos do Programa de Pós-graduação em Odontologia e pela amizade, meu muito obrigado.

À professora Doutora SÍLVIA HELENA BAREM RABENHORST, pela gentileza, por sua importante contribuição no exame de defesa deste trabalho, colaborando com sugestões e disponibilidade para realização do trabalho no LABGEM (Laboratório de Genética Molecular).

Ao professor Doutor ABRAHÃO CAVALCANTE GOMES DE SOUZA CARVALHO, professor da Universidade Federal do Ceará, pela amizade, competência, pelo exemplo de ser humano dedicado em tudo que faz, por sempre ter me incentivado na pesquisa e por sua importante contribuição no exame de qualificação e defesa deste trabalho, colaborando com sugestões.

À professora Doutora ROBERTA BARROSO CAVALCANTE, professora da Universidade de Fortaleza, pela competência, gentileza e disponibilidade e pelo tempo despendido na avaliação deste trabalho, colaborando com sugestões no exame de qualificação.

Ao professor Doutor RAFAEL LIMA VERDE OSTERNE, professor da Universidade de Fortaleza, pela amizade, compartilhamento dos ensinamentos e importante contribuição no exame de qualificação e pelo tempo despendido na avaliação deste trabalho, colaborando com sugestões.

A professora Doutora RENATA CORDEIRO TEIXEIRA, professora da Universidade de Fortaleza, pela competência, gentileza e disponibilidade e pelo tempo despendido na avaliação deste trabalho, colaborando com sugestões no exame de defesa deste trabalho.

Ao professor Doutor PAULO GOBERLÂNIO DE BARROS E SILVA, professor do Centro Universitário Christus, pela competência, amizade e gentileza na realização dos cálculos estatísticos e pelo tempo despendido na avaliação deste trabalho, colaborando com sugestões.

Ao professor Doutor MANOEL DE JESUS RODRIGUES MELLO, pela amizade, competência, pelo exemplo de ser humano, minha maior referência profissional e por sua inestimável contribuição na avaliação deste trabalho, colaborando com sugestões.

Aos colegas da turma de pós-graduação em odontologia, RICARDO FRANKLIN GONDIM, NAYANA AZEVEDO, SAULO QUEIROZ, RENATA MATOS BRITO, BARBARA, orientandos do professor Doutor RENATO LUIZ MAIA NOGUEIRA, pela amizade, convivência e pelos ensinamentos compartilhados.

Às acadêmicas, LARA VALE FROTA, DANIELLE E VIVIANE DE ARAÚJO OLIVEIRA, pelo empenho e ajuda na fase laboratorial deste trabalho.

À Doutoranda em biotecnologia, EMANUELE SILVA DE OLIVEIRA, pela incansável dedicação ao Laboratório de Genética Molecular e pela ajuda na fase laboratorial deste trabalho.

À minha esposa, JACQUELINE, companheira de todas as horas e meu porto seguro, e também aos meus filhos ARTHUR E FILIPE, que tiveram que suportar minha ausência em diversos momentos para que este trabalho pudesse ser elaborado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, pelas orientações e ensinamentos compartilhados.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia, pelo carinho e maneira cordial que sempre dedicaram aos pós-graduandos.

Aos pacientes e seus responsáveis, por terem aceitado participar desta pesquisa.

“Cerque-se com algumas das melhores mentes em seu campo, e você é obrigado a ter sucesso”.

Per-Ingvar Brånemark (*in memoriam*).

RESUMO

Os implantes osseointegráveis consistem no tratamento de escolha para substituir perdas dentárias. Apesar da alta taxa de sucesso, alguns pacientes apresentam falhas no processo normal de osseointegração. A complexidade de se encontrar a etiologia para perdas de implantes naqueles casos em que todos os outros possíveis fatores foram cuidadosamente controlados é ainda um desafio. A identificação da predisposição do paciente a esse tipo de acontecimento por meio da análise integrada, que associa polimorfismos genéticos do hospedeiro e análise do nível de expressão gênica, abre novas possibilidades diagnósticas. O objetivo deste estudo foi verificar a associação dos polimorfismos em genes relacionados à resposta inflamatória *IL-17* 7488 A/G, *IL-23* 2199 A/C e *IL-8* 251 A/T nas perdas de implantes. **Materiais e Métodos:** Foram avaliados um total de 86 pacientes que foram submetidos a cirurgia de instalação de implantes dentários divididos em dois grupos: grupo teste - composto de 25 pacientes que sofreram a perda de um ou mais implantes após o período normal de osseointegração e grupo controle, composto de 61 pacientes que não perderam nenhum implante instalado. A genotipagem relativa aos polimorfismos nos genes das interleucinas estudadas foi realizada por meio da análise do *DNA* genômico obtido do sangue periférico, utilizando a técnica de *PCR-RFLP* (*restriction fragment length polymorphism*). As significâncias das diferenças nas frequências de alelos e genótipos dos polimorfismos foram avaliadas pelo teste de qui-quadrado ($p < 0,05$) e calculada a razão de *Odds*. Não foram observadas diferenças significativas na distribuição dos alelos e genótipos dos polimorfismos quando os dois grupos foram comparados. Em modelo de regressão logística multinomial, a perda de implantes não mostrou associação com polimorfos da *IL-17* e *IL-23*, no entanto o polimorfismo do gene da *IL-8* mostrou aumentar em 1,82 (IC95% = 0,61 – 5,45) vezes o risco de perda de implantes. Os resultados indicam que polimorfismos nos genes das interleucinas *IL-17* 7488 A/G, *IL-23* 2199 A/C e *IL-8* 251 A/T não estão associados com falha precoce do implante, sugerindo que a presença desses polimorfismos de nucleotídeo único não constitui fator de risco genético isolado para a perda de implantes na população estudada.

Palavras-chave: Implantes dentários. Polimorfismo genético. Perda do osso alveolar.

ABSTRACT

Osseointegrated implants are the treatment of choice to replace dental losses. Despite its high rate of success, some patients have failed the normal process of osseointegration. The complexity of finding the etiology for implant losses in those cases where all other possible factors have been carefully controlled is still a challenge. The identification of the predisposition of the patient to this type of event through the integrated analysis that associates genetic polymorphisms of the host and analysis of the level of gene expression, opens new diagnostic possibilities. The aim of this study was to verify the association of polymorphisms in genes related to the inflammatory response *IL-17* 7488 A / G, *IL-23* 2199 A / C and *IL-8* 251 A/T in implant failure. Materials and Methods: A total of 86 patients who underwent dental implant surgery were divided into two groups: a test group composed of 25 patients who lost 1 (um) or more implants after the normal osseointegration and control group composed of 61 patients who did not lose any implants installed. The genotyping of polymorphisms in the interleukin genes studied was performed through the analysis of the genomic DNA obtained from the peripheral blood, using the PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism) technique. The significance of the differences in allele frequencies and genotypes of the polymorphisms were assessed using the chi-square test ($p < 0.05$) and the odds ratio was calculated. No significant differences were observed in the distribution of alleles and genotypes of polymorphisms when the two groups were compared. In the multinomial logistic regression model the failure of implants did not show a strong association with *IL-17* and *IL-23* polymorphisms, however, the *IL-8* gene polymorphism increased by 1.82 (95% CI = 0.61-5, 45) times the risk of implant failure. The results indicate that polymorphisms in *IL-17* 7488 A / G, *IL-23* 2199 A / C and *IL-8* 251 A/T interleukin genes are not associated with early implant failure, suggesting that the presence of these single nucleotide polymorphisms does not constitute a genetic risk factor for the loss of implants in the study population.

Key words: Dental implants. Genetic polymorphism. Alveolar bone loss.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema do papel de algumas citocinas no processo de diferenciação de osteoclastos.....	27
Figura 2 - Esquema do papel da <i>IL-17</i> e <i>IL-23</i> nos processos de diferenciação de osteoblastos e osteoclastos	34
Figura 3 - Esquema mostrando a expressão temporal das moléculas de sinalização durante a cicatrização óssea	38
Figura 4 - Exemplo esquemático de um <i>SNP</i>	40
Figura 5 - Esquema mostrando a técnica de <i>Salting Out</i> para extração de <i>DNA</i> do sangue.....	60
Figura 6 – Exemplo de padronização da reação de <i>PCR</i> para o polimorfismo da <i>IL-17</i>	63
Figura 7 – Exemplo de gel de poliacrilamida de <i>IL-17</i>	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Papel dos mediadores químicos na cicatrização óssea.....	36
Tabela 2 – Resumo da revisão de literatura sobre polimorfismos e perdas de implantes.....	52
Tabela 3 - Sequências de primers, temperaturas de anelamento e tamanho de fragmentos para as interleucinas avaliadas no estudo.....	61
Tabela 4 – Enzimas de restrição e tamanhos de fragmentos na <i>RFLP</i> para cada <i>SNP</i>	61
Tabela 5 - Caracterização da amostra de pacientes submetidos à reabilitação com implantes dentários por sexo e por genótipo.....	64
Tabela 6 - Caracterização da amostra do grupo teste por genótipo.....	65
Tabela 7 - Caracterização da amostra do grupo teste por sexo, tabagismo, doenças sistêmicas, número de implantes instalados e perdidos, tipo de implante e polimorfismos.....	66
Tabela 8 - Caracterização da amostra do grupo controle por genótipo.....	67
Tabela 9 - Frequências (absoluta e percentual) de Alelos e de Genótipos de <i>IL-17</i> , <i>IL-23</i> e <i>IL-8</i> entre o Grupo Teste e Grupo Controle.....	68
Tabela 10 – Avaliação entre fumantes e não fumantes nos grupos teste e controle.....	68
Tabela 11 - Associação entre o gênero e os genótipos dos genes da <i>IL-17</i> , <i>IL-23</i> e <i>IL-8</i>	69
Tabela 12 - Influência dos polimorfismos gênicos de <i>IL-17</i> , <i>IL-23</i> e <i>IL-8</i> na prevalência das perdas de implantes.....	69
Tabela 13 - Análise multivariada dos fatores gênicos modificadores da prevalência de perdas de implantes.....	70
Tabela 14 - Influência dos polimorfismos gênicos de <i>IL-17</i> , <i>IL-23</i> e <i>IL-8</i> em conjunto nas perdas de implantes.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>DNA</i>	Ácido Desoxirribonucleico
<i>IgG</i>	Imunoglobulina
<i>IL</i>	Interleucina
<i>RNA</i>	Ácido Ribonucleico
<i>TNF</i>	Fator de Necrose Tumoral
<i>TNFR1</i>	Receptor -1 do Fator de Necrose Tumoral
<i>BMP</i>	<i>Bone Morphogenetic Protein</i> (Proteína Morfogenética Óssea)
<i>GDF</i>	<i>Growth Differentiation Factor</i> (Fator de Diferenciação do Crescimento)
<i>TGF</i>	<i>Tumor Growth Factor</i> (Fator de Crescimento Tumoral)
<i>VEGF</i>	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (Fator de Crescimento Endotelial de Vascularização)
<i>PDGF</i>	<i>Platelet Derived Growth Factor</i> (Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas)
<i>FGF</i>	<i>Fibroblast Growth Factor</i> (Fator de Crescimento de Fbroblastos)
<i>IGF</i>	<i>Insulin Growth Factor</i> (Fatores de Crescimento Semelhantes à Insulina)
<i>CTM</i>	Células-tronco Mesenquimais
<i>SNP</i>	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (Polimorfismo de Nucleotídeo Único)
<i>PCR</i>	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase)
<i>MMP</i>	Metaloproteinase de matriz
<i>RFLP</i>	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> (Polimorfismo no Comprimento do Fragmento de Restrição)
<i>OPG</i>	Osteoprotegerina
<i>RANK</i>	Receptor do fator nuclear Kappa β
<i>RANKL</i>	Ligante do receptor de ativação do fator nuclear Kappa β
<i>PTH</i>	Paratormônio
<i>PGE</i>	Prostagladina E

<i>TRAP</i>	Fosfatase ácida resistente ao tartarato
<i>IFN</i>	Interferon
<i>GDF</i>	Fatores de crescimento e de diferenciação
<i>VHS</i>	Taxa de sedimentação de eritrócitos
<i>TSO</i>	Taxa de sucesso de osseointegração

LISTA DE SÍMBOLOS

β	- Beta
α	- Alfa
%	- Porcentagem
ml	- Mililitro
C	- Graus Celsius
μ l	- Microlitro
μ M	- Micromolar
ng	- Nanograma

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
1.1 Aspectos gerais do processo de osseointegração	22
1.2 Aspectos moleculares da cicatrização óssea e osseointegração	24
1.3 Proteínas Morfogenéticas Ósseas – BMPs	28
1.4 Fator de crescimento transformador do tipo Beta – <i>TGF-β</i>	30
1.5 Fator de crescimento derivado de plaquetas (<i>PDGF</i>)	30
1.6 Fator de crescimento de fibroblastos (<i>FGFs</i>)	30
1.7 Fatores de crescimento semelhantes à insulina (<i>IGFs</i>)	31
1.8 Metaloproteinases de matriz e fatores angiogênicos	31
1.9 O papel das células-tronco mesenquimais (<i>CTM</i>)	31
1.10 Papel da <i>IL-17</i>, <i>IL-23</i> e <i>IL-8</i> no metabolismo ósseo	32
<i>1.10.1 Efeitos da IL-17 no osso e em osteoclastos</i>	32
<i>1.10.2 IL-17 e osteoblastos</i>	32
<i>1.10.3 Efeitos da IL-23 nos osteoclastos</i>	33
<i>1.10.4 IL-23 e osteoblastos</i>	34
<i>1.10.5 IL-8 no processo de reparo ósseo</i>	35
1.11 Sequência de eventos	36
1.12 Polimorfismos genéticos	39
1.13 Polimorfismos de <i>IL-17</i>, <i>IL-23</i> e <i>IL-8</i>	40
1.14 Revisão de Literatura sobre Associação de Polimorfismos e Perdas de Implantes	46
2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	54
3 HIPÓTESES	55
3.1 Hipótese geral	55
3.2 Hipóteses de estudo	55
4 OBJETIVOS	56
4.1 Objetivo geral	56
4.2 Objetivos específicos	56
5 TIPO DE ESTUDO	57
6 MATERIAIS E MÉTODOS	58
6.1 Aspectos éticos e Comitê de Ética	58
6.2 População e amostra	58

6.3 Procedimentos	59
<i>6.3.1 Levantamento de dados dos pacientes</i>	<i>59</i>
6.4 Extração do DNA	60
6.5 Análise de polimorfismos genéticos	61
6.6 Detecção dos Polimorfismos da <i>IL-8, IL-17, IL-23</i>.....	60
6.7 Análise dos resultados.....	64
7 RESULTADOS.....	65
8 DISCUSSÃO	72
9 CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS	79
ANEXOS	84

1 INTRODUÇÃO

A reabilitação de pacientes com perdas dentárias é um desafio na clínica odontológica. Tal perda leva a uma série de alterações nos maxilares como movimentações indesejadas dos dentes adjacentes ao que foi perdido, extrusões dos antagonistas, atrofias dos rebordos alveolares por falta de estímulo do osso pelo ligamento periodontal, dentre outras. Essa atrofia pode se tornar extremamente severa causando dificuldades na adaptação e estabilização de próteses convencionais (DRAGO; CARPENTIERI, 2011).

Atualmente, a utilização dos implantes endósseos osseointegráveis em titânio, proposta inicialmente por Branemark *et al.* (1977), é uma realidade com uma previsibilidade altíssima e com inúmeros trabalhos científicos atestando sua viabilidade. Nos dias de hoje, a implantodontia é uma excelente alternativa para reabilitação protética de pacientes edêntulos unitários, parciais ou totais com altas taxas de sucesso. A previsibilidade do tratamento com implantes, contudo, requer um protocolo cirúrgico e protético cuidadoso, cujo planejamento deve ser considerado como a etapa mais importante do tratamento.

As taxas de sucesso das reabilitações com implantes dentários são elevadas e atualmente chegam a 94,7% em maxila e 98,2% em mandíbula, porém ainda existem casos de perdas de implantes, sejam após a cirurgia de instalação destes nos maxilares com a sua não osseointegração, sejam na instalação das próteses sobre eles (MUDDUGANGADHAR *et al.*, 2015).

O fenômeno da osseointegração é definido como uma conexão direta, estrutural e funcional entre um implante aloplástico e o tecido ósseo, sem a ocorrência de crescimento de tecido fibroso na interface osso-implante, e com a possibilidade de submeter uma prótese dentária sobre estes implantes à carga funcional (BRANEMARK *et al.*, 1977).

Vários fatores estão envolvidos com a falha na osseointeração e conseqüentemente na perda de implantes dentários. Alguns deles pertinentes aos próprios implantes, como contaminação de sua superfície, a qual interfere com a osseointegração; defeitos na fabricação; tipo de microestrutura da superfície; tipo de material com o qual é confeccionado o implante, dentre outros. Outros fatores estão relacionados com o procedimento cirúrgico para instalação desses dispositivos nos ossos maxilares, dentre eles, pode-se citar: contaminação no sítio cirúrgico por falha na biossegurança; contaminação da superfície do implante pelo operador; erro da técnica de confecção do alvéolo com superaquecimento do tecido ósseo, o que leva à necrose deste e conseqüentemente dificuldades de cicatrização (pela falta de irrigação durante a fresagem do osso ou pelo uso de

fresas antigas sem poder de corte); falta de estabilidade do implante após sua instalação com um baixo travamento e consequentes micromovimentações deste dentro do tecido ósseo, o que interfere na cicatrização; travamento muito elevado do implante dentro do tecido ósseo, levando a uma compressão deste e diminuição da vascularização, o que também afeta a cicatrização óssea e a osseointegração (CHRCANOVIC; ALBREKTSSON; WENNERBERG, 2014).

A perda de implantes pode acontecer mesmo após a cicatrização óssea e a osseointegração. Geralmente isso ocorre por causa de infecções na região dos implantes por deficiência de higienização do paciente ou por problemas relacionados à prótese dentária instalada sobre estes, como falta de adaptação desta ao implante; micromovimentações dos componentes protéticos sobre o implante levando à perda óssea marginal; próteses mal executadas com problemas biomecânicos e fraturas de componentes protéticos ou mesmo dos próprios implantes, dentre outros fatores (CHRCANOVIC; ALBREKTSSON; WENNERBERG, 2014).

Existem outras condições relacionadas ao próprio paciente que podem ser determinantes para perdas de implantes. Hábitos e vícios como bruxismo e tabagismo são conhecidamente causas frequentes de perdas de implantes. Pacientes com patologias sistêmicas que interferem no processo de cicatrização, como diabéticos ou imunocomprometidos, também são mais acometidos. Pessoas com alterações ósseas, como osteoporose severa, que fizeram ou fazem uso de medicamentos que interferem no metabolismo ósseo, como do grupo dos bisfosfonatos ou que foram submetidos à radioterapia na região dos maxilares, também correm risco mais elevado de perdas de implantes (ATA-ALI *et. al.* 2014).

Existem casos, porém, que mesmo o paciente não apresentando nenhuma condição que predisponha a perdas de implantes, sendo submetido a cirurgias tecnicamente corretas e utilizando implantes de reconhecida qualidade, o implante ainda não consegue osseointegrar. Há situações em que vários implantes da mesma marca comercial são instalados em um mesmo paciente pelo mesmo operador com a mesma técnica cirúrgica e alguns desses implantes osseointegram e outros não, fenômeno este conhecido por clusterização (DIRSCHNABEL *et. al.* 2011).

Nesses casos, uma possível explicação pode estar associada à falha no processo normal de osseointegração do paciente como uma alteração da resposta inflamatória após o procedimento cirúrgico de instalação ou uma deficiência no processo de reparo, cicatrização e neoformação ósseas ao redor dos implantes (DIRSCHNABEL *et. al.* 2011).

1.1 Aspectos gerais do processo de osseointegração

Após a cirurgia para instalação dos implantes aloplásticos, existe no sítio cirúrgico uma resposta inflamatória ao trauma. A inflamação representa um processo de defesa tecidual própria dos tecidos conjuntivos e ocorre apenas em tecidos vascularizados, pois depende de vasos para levar até a região agredida as células e as substâncias necessárias ao controle do agressor e reparar a área afetada. As finalidades básicas da inflamação são: destruição do agente agressor e restabelecimento da área afetada (NAGEM FILHO *et.al.*, 2011; ALBREKTSSON; SENNERBY; WENNERBERG, 2000).

O processo inflamatório quando bem-sucedido promove a destruição do agente agressor, a resolução do problema e a cura pela reparação ou regeneração. A resolução do problema na fase inicial é associada a fenômenos vasculares, exsudativos e celulares caracterizando a fase aguda da inflamação, porém nos casos em que o agente agressor não desaparece, esta passa a ser crônica, sendo muito mais destrutiva para o tecido, pois normalmente não é acompanhada por sintomatologia local e sistêmica, podendo persistir por varias semanas, meses e até anos (ALBREKTSSON; SENNERBY; WENNERBERG, 2000).

Através das paredes dos vasos da microcirculação da área afetada, ocorre a saída de substâncias e de células sanguíneas para controlar ou eliminar o agressor, fenômeno este que pode ser chamado de exsudato inflamatório, essencial para que os mediadores conservem os fenômenos vasculares necessários à manutenção da inflamação e atraiam substâncias e células para imobilizar e destruir o agente agressor (NAGEM FILHO *et.al.*, 2011).

O traumatismo causado pela instrumentação no local de instalação do implante causa injúrias teciduais que desencadearão um processo inflamatório com a função de eliminar possíveis células necróticas e restabelecer o tecido lesado.

Ao se iniciar o procedimento cirúrgico (incisão), o processo inflamatório se desencadeará, vasos sanguíneos são rompidos e proteínas presentes na circulação são liberadas. Os mastócitos presentes na circulação possuem em seu interior histamina, a qual é liberada pelo contato dos mastócitos com as proteínas. Os neutrófilos originados da medula óssea sempre estão presentes onde houver destruição tecidual e ação bacteriana (ADELL *et. al.* 1981).

A presença da histamina estimula a vasodilatação e aumenta a permeabilidade vascular, ativando a microcirculação. Com o aumento da permeabilidade vascular o fibrinogênio é liberado, transformando-se em fibrina, muito importante para a fixação do coágulo. A associação deste aos neutrófilos reage com a superfície implantar formando o

peróxido de titânio, com consistência gelatinosa, que, além de ser bactericida, favorece a fixação da rede de fibrina na superfície do implante (ALBREKTSSON; SENNERBY; WENNERBERG, 2000).

Após 60 minutos, a histamina perde seu efeito e as cininas entram em ação. Seis horas depois, elas também perdem o efeito e precisam ser estimuladas pelas prostaglandinas, que em contato com as terminações nervosas causam dor, essa ativação das cininas é necessária para manter o exsudato inflamatório.

No período de 6 a 10 horas do pós-operatório, as células migram através da rede de fibrina preenchendo toda a região antes ocupada por coágulo. Após 48 a 72 horas, entram em ação os macrófagos (fagocitose e destruição de microrganismos), os linfócitos e os plasmócitos (células de defesa), caracterizando uma concentração de células, destruição tecidual e formação do tecido de granulação, características histológicas do processo de reparo (NAGEM FILHO *et. al.*, 2011).

Depois de 72 horas, a rede de fibrina formada em volta do implante servirá de arcabouço para a migração de células osteoprogenitoras (osteoblastos) e fatores de crescimento. É um período com intensa atividade osteoblástica, osteoclástica e de células mesenquimais (HUANG *et. al.*, 2000).

Por volta do quarto dia, a rede de fibrina ao redor do implante é substituída por colágeno, que é chamada de tecido de granulação mesenquimal ou tecido conjuntivo frouxo, o qual secreta matriz óssea, diminuindo o espaço existente entre o osso e o implante. Nessa fase ocorre uma grande ação dos macrófagos fagocitando osso necrótico e o implante perde um pouco sua estabilidade inicial (estabilidade mecânica), por isso é importante não manipular os implantes nesse período (HUANG *et. al.*, 2000).

Por volta de sete dias, acontecem a maturação da matriz colágena e a substituição por matriz óssea, o espaço entre as roscas do implante e a superfície óssea fica demarcado por uma linha de neoformação óssea de aproximadamente 0,5 μm de espessura.

Até 30 dias, a matriz óssea não calcificada é desorganizada. Ocorre então a substituição de osso osteóide por osso lamelar, iniciando a fase de calcificação ou mineralização (NAGEM FILHO *et.al.* 2011).

Três meses depois da instalação do implante, observam-se sinais de remodelação, que se estabilizarão em longo prazo; em torno de quatro meses, surge o osso lamelar, duro e calcificado. Recebendo carga mastigatória nessa fase, o tecido ósseo ao redor do implante sofrerá condensação, aumentando sua resistência. Isto permanece ocorrendo fisiologicamente enquanto este sofrer carga (ALBREKTSSON; SENNERBY; WENNERBERG, 2000).

A interface implante e tecido ósseo é uma região de interação extremamente dinâmica, a biomecânica local desempenha um papel importante na qualidade e no resultado da composição da nova união implante-osso. Exemplo disso é que, se o implante estiver estável no momento da instalação, provavelmente caminhará para a osseointegração. Já um implante sem estabilidade inicial e com movimentos (micromovimentos) além de 150 micrômetros, permitirá o crescimento fibroso entre a interface implante/osso (fibrointegração) (ALBREKTSSON; SENNERBY; WENNERBERG, 2000).

1.2 Aspectos moleculares da cicatrização óssea e osseointegração

De forma geral, uma resposta inflamatória inicial é essencial para desencadear o processo de reparo ósseo e a osseointegração de implantes dentários (NAGEM FILHO *et al*, 2011). De fato, mediadores da resposta imune inflamatória desempenham papéis importantes na modulação de cenários de reparo ósseo. Se por um lado, a presença exacerbada de fatores osteoclastogênicos é a principal causa da reabsorção óssea patológica, na quantidade ideal, esses mesmos fatores são fundamentais no processo de reparo ósseo, substituindo o osso primário por osso secundário (MILLS; SIMPSON, 2012). Estudos também demonstram que a inibição da resposta imune/inflamatória inicial (com anti-inflamatórios, mesmos os mais específicos como os não-esteroidais) influencia de forma negativa os processos de reparo ósseo e a osseointegração (KALYVAS; TARENIDOU, 2008; CAETANO-LOPES; CANHAO, 2009). Essa inibição por anti-inflamatórios, além de não ser específica, é mais restrita no início do processo de reparo.

Atualmente, sabe-se que a interação entre os sistemas imunológico e ósseo ocorre basicamente pela ação de mediadores produzidos pelas células do sistema imune, os quais interferem no processo de remodelação óssea de forma que mediadores inflamatórios inibem a atividade dos osteoblastos e potencializam a atividade dos osteoclastos, enquanto mediadores anti-inflamatórios apresentam efeito oposto (CARDOSO *et. al.*, 2009).

A homeostasia do tecido ósseo, formado por células e matriz óssea calcificada, deve-se ao processo dinâmico e equilibrado denominado de remodelamento ósseo, resultado da atividade dos osteoblastos, células responsáveis pela formação óssea, e dos osteoclastos, células responsáveis pela reabsorção óssea. O remodelamento ósseo é, portanto, um processo fundamental para o crescimento e manutenção do tecido ósseo. Alterações na sua homeostasia podem levar ao aparecimento de doenças osteodegenerativas como osteoporose, osteomalácia, osteopenia e osteopetrose (JENSEN *et al.*, 2010).

O controle do equilíbrio ósseo acontece por fatores relacionados às células das linhagens osteoblásticas e osteoclásticas, além de outras células da medula óssea, que interagem com reguladores locais e sistêmicos da função das células ósseas. Nesse sentido, diferenças na produção de mediadores solúveis como hormônios e citocinas na expressão de receptores para essas substâncias e nos mecanismos de transdução de sinais são determinantes na indução de patologias (VIEIRA, 2013).

Os osteoclastos são células gigantes, multinucleadas, formadas a partir da fusão de células mononucleadas de origem hematopoiética. A osteoclastogênese é regulada pelo contato célula-célula entre osteoblastos/células estromais e progenitores de osteoclastos, no microambiente ósseo. *In vitro*, a cocultura dessas células ou a cultura de células progenitoras hematopoiéticas na presença de determinados fatores de crescimento induz à expressão de níveis elevados da enzima fosfatase ácida resistente ao tartarato (*TRAP*), um marcador dos osteoclastos maduros. Os mediadores envolvidos na diferenciação de osteoclastos incluem a osteoprotegerina (*OPG*), o Ligante do Ativador do Receptor do Fator Nuclear $\kappa\beta$ (*RANKL*) e o Ativador do Receptor do Fator Nuclear $\kappa\beta$ (*RANK*) (LACEY *et al.*, 1998). O *RANKL* liga-se ao receptor de membrana *RANK* expresso em precursores de osteoclastos, ativando várias vias de sinalização intracelulares, tais como *MAPK*, *PI3K* e *NF- $\kappa\beta$* que, a seguir, regulam vários fatores de transcrição envolvidos na diferenciação, maturação e sobrevivência dos osteoclastos. Esse processo é regulado por diferentes citocinas, fatores de crescimento e hormônios, incluindo *RANKL*, hormônios sexuais e o paratormônio (*PTH*). A ativação dos osteoclastos maduros é também positivamente regulada por citocinas como as interleucinas *IL-1*, *IL-6*, fator de necrose tumoral (*TNF- α*) e o mediador lipídico prostaglandina *E2* (*PGE2*). Outras citocinas como *IFN- γ* , *IL-4* e *IL-10*, porém, têm a função de inibir a ativação dos osteoclastos, por atuarem inibindo macrófagos presentes na medula óssea, células precursoras de osteoclastos (NASCIMENTO, 2009).

Neste contexto, a descoberta do sistema *RANK/RANKL/OPG* é o principal exemplo específico que caracteriza de forma interessante a interação entre os sistemas ósseo e imunológico. Esse sistema *RANK/RANKL/OPG* possui papéis específicos compostos por moléculas partilhadas por ambos sistemas ósseo e imunológico, o que resultou na vertente da imunologia denominada osteoimunologia (TAKAYANAGI, 2007).

A ligação do receptor *RANK* presente nos pré-osteoclastos com o seu ligante *RANKL* é responsável pela diferenciação e ativação de osteoclastos. Essa ligação pode ser inibida, uma vez que o *OPG*, receptor solúvel tipo “*decoy*”, ligue-se ao *RANKL* impedindo a interação entre *RANK* e *RANKL*, inibindo assim a diferenciação dos osteoclastos e

consequentemente o processo de reabsorção óssea. O fato de o *RANKL* também ser produzido pelos linfócitos T ativados desequilibra o balanço entre *RANKL* e *OPG*, normalmente mantido sob estrito controle pelos osteoblastos. De fato, em condições fisiológicas, os osteoblastos têm papel importante na regulação do sistema *RANK/RANKL/OPG*, mas a interferência de leucócitos e seus produtos sobre tal controle pode influenciar de forma decisiva a homeostasia do tecido ósseo (LORENZO *et al.*, 2008).

Estudos recentes demonstram que tal conexão vai além de interferências em condições patológicas, uma vez que linfócitos B, ativados por linfócitos T, são responsáveis por grande parte dos níveis de *OPG* encontrados na circulação e, na ausência destas células, uma maior reabsorção óssea pode ser verificada de forma sistêmica, mesmo na ausência de processos infecciosos ou inflamatórios (LORENZO *et al.*, 2008).

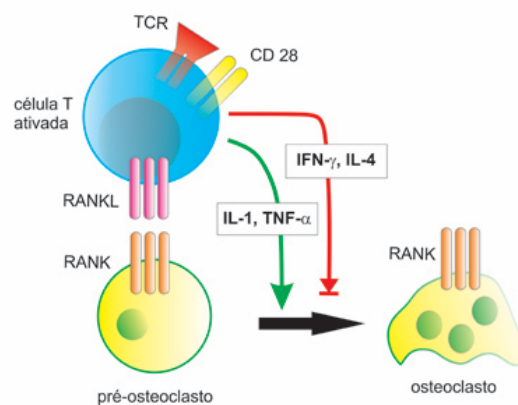
Citocinas são glicoproteínas ou polipeptídios regulatórios de baixo peso molecular que, em resposta a inúmeros estímulos, são secretadas por linfócitos, células dendríticas, macrófagos e outros tipos de células da imunidade natural que medeiam as reações inflamatórias e imunológicas. Originalmente essas pequenas proteínas foram identificadas, descritas e denominadas de acordo com seu papel sobre células linfóides e hematopoéticas. Atualmente, sabe-se que elas apresentam uma gama de funções, atuando em atividades biológicas incluindo proliferação, desenvolvimento, diferenciação, inflamação, homeostase e reparo (ABBAS; LICHTMAN, 2012). Dentre as citocinas incluem-se as interleucinas, quimiocinas, fatores estimuladores e inibidores de colônia e fatores de crescimento.

Como exemplo, uma das citocinas pró-inflamatórias com importante papel no desenvolvimento da resposta imune inata e adaptativa e com importante papel no processo de reparo do tecido ósseo é o *TNF- α* (fator de necrose tumoral alfa). O *TNF- α* atua em várias etapas do mecanismo de recrutamento de leucócitos, induzindo a regulação de moléculas de adesão e a produção de quimiocinas e metaloproteinases de matriz (*MMPs*). Também regula a apresentação de antígeno e atividade bactericida de fagócitos (DINARELLO, 2000), atuando como um importante componente regulador na remodelação óssea. De forma geral, a presença de produtos microbianos característicos ativa as células residentes e inflamatórias, levando à produção de mediadores inflamatórios, tais como o *TNF- α* . Assim, o *TNF- α* apresenta papel essencial na iniciação e efetuação das respostas imune e inflamatória. (NOWZARI; BOTERO, 2008; OLIVEIRA, *et al.*, 2009).

Os efeitos do *TNF- α* sobre as células ósseas são marcantes. O *TNF- α* reduz a formação óssea, atuando nas células precursoras dos osteoblastos, regulando, por exemplo, a expressão do gene de *RUNX2*, inibindo assim a diferenciação osteoblástica (SIMMONS *et al.*,

2009). O $TNF-\alpha$ também age sobre osteoblastos maduros, inibindo a síntese de osteocalcina e proteínas da matriz, como o colágeno tipo I. Tem sido sugerido ainda o efeito dessa citocina como potente pró-apoptótico, que, por meio da sinalização do ligante *Fas* (*FasL*), regula a apoptose de osteoblastos. Além disso, o $TNF-\alpha$ atua sobre os osteoclastos, aumentando a reabsorção óssea. Assim, a perda óssea inflamatória é resultado da ação do $TNF-\alpha$ sobre osteoblastos e osteoclastos. $TNF-\alpha$ também induz a mobilização de células precursoras de osteoclastos (monócitos) da medula óssea e sua migração para sítios de inflamação onde o $TNF-\alpha$, junto com o *RANKL*, facilita a fusão dos monócitos, resultando nos osteoclastos os quais reabsorvem a matriz óssea (NOWZARI; BOTERO, 2008) (Figura 1).

Figura 1 - Esquema do papel de algumas citocinas no processo de diferenciação de osteoclastos



Fonte: Rossetti e Napimoga (2015)

Como explicado anteriormente, a fase inicial do processo de cicatrização óssea e da osseointegração começa com a produção das chamadas moléculas de sinalização. As moléculas de sinalização podem ser categorizadas em três grupos: (1) as citocinas pró-inflamatórias, (2) os fatores de crescimento transformadores da superfamília beta ($TGF-\beta$), outros fatores de crescimento e (3) os fatores angiogênicos (LE *et. al.* 2001).

As citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 ($IL-1$), a interleucina-6 ($IL-6$) e o fator de necrose tumoral-alfa ($TNF-\alpha$) desempenham papel fundamental na iniciação da cascata de reparação óssea, haja vista serem secretados não só por macrófagos e células inflamatórias, mas também por células de origem mesenquimal presentes no periosteio. Eles realizam funções centrais na indução de respostas próximas à lesão óssea por ter um efeito quimiotático sobre outras células inflamatórias, aumentando a síntese da matriz celular, estimulando a angiogênese e recrutando células fibrinogênicas endógenas ao sítio da lesão.

Seus picos de expressão são nas primeiras 24h após o trauma ósseo. Apresentam níveis deprimidos durante o período de formação de cartilagem e aumentam novamente durante a remodelação óssea (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

As citocinas também regulam a formação e remodelação do osso endocondral. O fator de necrose tumoral alfa (*TNF- α*) promove o recrutamento de células-tronco mesenquimais, induz a apoptose de condrócitos hipertróficos durante a ossificação endocondral e estimula a função osteoclástica. A ausência de *TNF- α* resulta em um retardo na reabsorção de cartilagem mineralizada, atrapalhando a formação de novo osso. As expressões de *IL-1*, *IL-6* e *TNF- α* também sofrem um aumento durante a remodelação do calo ósseo (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

Outras moléculas de sinalização são as do grupo dos fatores de crescimento. Fatores de crescimento tumoral do tipo beta (*TGF- β*) são uma grande família de fatores de crescimento e de diferenciação, incluindo proteínas morfogenéticas do osso (*BMPs*), fatores de diferenciação do crescimento (*GDF*), activinas, inibinas e a substância de inibição *Mullerian*. Pelo menos 34 membros foram identificados no genoma humano. Originam-se de precursores de peso molecular elevado e são ativados por enzimas proteolíticas. Atuam sobre receptores de membrana de cinase de serina / treonina de células-alvo. Esta interação ativador-receptor ativa uma via de sinalização intracelular que, em última análise, afeta a expressão de genes no núcleo. Os membros desta superfamília específica incluem as proteínas morfogenéticas do osso (*BMP 1 a 8*), fatores de crescimento e de diferenciação (*GDF-1, 5, 8, 10*) e fatores de transformação do fator beta (*TGF- β 1- β 2, β 3*) e promovem várias fases da ossificação intramembranosa e endocondral durante a cicatrização óssea (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

1.3 Proteínas Morfogenéticas Ósseas – BMPs

Os membros da família das *BMPs* são divididos em pelo menos quatro subgrupos distintos, dependendo da sua sequência de aminoácidos primária. O primeiro grupo consiste nas *BMPs-2* e *BMP-4* e o segundo grupo inclui as *BMPs* 5, 6 e 7. O terceiro grupo inclui *GDF-5* (ou *BMP-14*), *GDF-6* (ou *BMP-13*) e *GDF-7* (ou *BMP-12*) e finalmente o grupo quatro são as *BMP-3* (ou osteogenina) e *GDF-10* (ou *BMP-3b*). A *BMP-1* não é um membro da superfamília *TGF- β* e pode desempenhar um papel na modulação das ações das *BMPs* pela proteólise de proteínas antagonistas de *BMPs*, tais como *noggin* e condrina (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

As *BMPs* se ligam a receptores tipo II serina/treonina-quinase que ativam receptores tipo I. Posteriormente, a cascata de sinalização intracelular *Smad* é iniciada. Quando ativada, essa cascata regula a transcrição de genes-alvo. As *BMPs* desempenham um papel crítico na regulação do crescimento, diferenciação e apoptose de vários tipos celulares, incluindo osteoblastos, condroblastos, células neurais, e células epiteliais. Além disso, demonstrou-se que *BMPs*, tais como *BMP-4*, *BMP-7* e *BMP-2*, têm uma atividade osteoindutora ampliada e mais eficiente na regulação da proliferação e diferenciação de células mesenquimais a osteoblastos *in vitro* e *in vivo* (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

A matriz extracelular compreende a principal fonte de *BMPs*, sendo produzida por células osteoprogenitoras, células mesenquimais, osteoblastos e condrócitos. As *BMPs* induzem uma cascata de eventos sequenciais para a condro-osteogênese, incluindo quimiotaxia de células mesenquimais e proliferação e diferenciação de células osteoprogenitoras, angiogênese, e síntese controlada da matriz óssea. Seu efeito regulatório depende do tipo de célula-alvo, da sua fase de diferenciação, da concentração local, bem como da interação com outros fatores circulantes. Curiosamente, baixas concentrações de *BMPs in vitro* favorecem a diferenciação de células-tronco mesenquimais em adipócitos. As *BMPs* são estreitamente relacionadas estrutural e funcionalmente, no entanto cada uma tem um papel único, assim como um padrão de expressão temporal distinto durante o processo de reparo ósseo (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

Estudos da função de *BMPs* na consolidação de fraturas em ratos mostraram uma variedade de efeitos osteogênicos, expressões temporais e capacidades mitogênicas. Em uma análise abrangente da atividade osteogênica de 14 tipos de *BMPs*, Cheng *et al.* (2003) sugeriram um modelo hierárquico osteogênico dessas proteínas. *BMP-2*, 6 e 9 podem ser as mais potentes para induzir a diferenciação de células osteoprogenitoras mesenquimais, enquanto a maioria das *BMPs* (exceto *BMP-3* e 13) pode promover a diferenciação terminal de precursores osteoblásticos (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

As *BMPs* também podem estimular a síntese e secreção de osso e outros fatores de crescimento angiogênicos, tais como o fator de crescimento semelhante à insulina (*IGF*) e o fator de crescimento endotelial de vascularização (*VEGF*). A formação óssea também pode ser estimulada diretamente pela estimulação da angiogênese por células endoteliais (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

Estudos recentes demonstram que a expressão dos antagonistas de *BMP*, principalmente *noggin*, que bloqueia a interação da *BMP-2* com o seu receptor, também

desempenha um papel importante na regulação da cicatrização óssea. Tem sido sugerido que o equilíbrio *noggin* / *BMP-2* pode ser um importante fator na regulação da formação do calo ósseo (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

1.4 Fator de crescimento transformador do tipo Beta – *TGF-β*

Cinco isoformas desse grupo já foram isoladas. As plaquetas liberam esse fator durante a fase inflamatória inicial de cicatrização óssea. *TGF-β* também é produzido por osteoblastos e condrócitos e é armazenado na matriz óssea. Trata-se de um potente estimulador quimiotático de células-tronco mesenquimais, que aumenta a proliferação de preosteoblastos, condrócitos e osteoblastos e também induz a produção de proteínas extracelulares, tais como colágeno, proteoglicanos, osteopontina, osteonectina e fosfatase alcalina. O seu principal papel parece ser durante a condrogênese e a formação endocondral do osso. *TGF-β* também parece iniciar a sinalização para síntese de *BMPs* pelas células osteoprogenitoras, ao mesmo tempo em que pode inibir a ativação osteoclástica e promover a apoptose de osteoclastos. Recentemente, tem sido sugerido que *TGF-β 2* e possivelmente *TGF-β 3* desempenham papéis mais importantes na consolidação da fratura do que *TGF-β 1*. Embora estudos tenham mostrado que o *TGF-β* aumenta a proliferação celular, seu potencial osteoindutor parece baixo, portanto sua capacidade terapêutica para melhorar a reparação óssea parece ser limitada (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

1.5 Fator de crescimento derivado de plaquetas (*PDGF*)

O *PDGF* é um polipeptídeo homo ou heterodimérico. Ele é liberado pelas plaquetas durante o início das fases de cicatrização óssea, sendo um potente quimiotático para células inflamatórias e um grande estímulo proliferativo e migratório para células mesenquimais indiferenciadas e osteoblastos. No entanto, atualmente, o seu potencial terapêutico permanece obscuro (CHENG *et. al.* 2003).

1.6 Fator de crescimento de fibroblastos (*FGFs*)

Durante a cicatrização óssea, os *FGFs* são sintetizados pelos monócitos, macrófagos, células mesenquimatosas, osteoblastos e condrócitos. Promovem o crescimento e diferenciação de uma grande variedade de células, tais como fibroblastos, monócitos, osteoblastos e condrócitos, *FGFs* são identificados durante as fases iniciais da cicatrização

óssea e desempenham um papel crítico na angiogênese e mitogênese de células mesenquimais. O *FGF- α* afeta principalmente a proliferação de condrócitos e é importante para a sua maturação, enquanto o *FGF- β* é expresso por osteoblastos e é mais potente do que *FGF- α* (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

1.7 Fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs)

As fontes de *IGF-I* (somatomedina-C) e *IGF-II* (fator de crescimento esquelético) são células da matriz óssea, células endoteliais, osteoblastos e condrócitos. A concentração de soro de *IGF-I* é regulada principalmente pelo hormônio de crescimento. O *IGF-I* promove a formação da matriz óssea (colágeno tipo I e proteínas da matriz não-colágenas) pela total diferenciação de osteoblastos e é mais potente do que o *IGF-II*. Esse último atua numa fase posterior de formação de osso endocondral e estimula a produção de colágeno do tipo I, síntese de matriz cartilaginosa, e a proliferação celular (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

1.8 Metaloproteinases de matriz e fatores angiogênicos

A regeneração óssea ótima requer fluxo de sangue adequado. Durante as fases finais da ossificação endocondral, bem como durante a fase de remodelação, metaloproteinases de matriz específicas degradam a matriz cartilaginosa e do osso, permitindo a invasão de vasos sanguíneos. Os fatores angiogênicos são mediadores essenciais da neo-angiogênese e de células endoteliais. No entanto, a sua contribuição na reparação óssea não é bem compreendida. Estudos recentes mostraram também que *BMPs* estimulam a expressão de fatores angiogênicos por osteoblastos (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

1.9 O papel das células-tronco mesenquimais (CTM)

CTMs são células indiferenciadas capazes de replicação extensiva sem diferenciação. Elas têm o potencial para se diferenciar em várias linhagens diferentes de células. Elas dão origem a células que formam diversos tecidos mesenquimais, incluindo osso, cartilagem, tendões, músculos e ligamentos. Durante a cicatrização óssea, fontes potenciais destas células são a medula óssea, o tecido de granulação, a camada profunda do periosteio, endosteio e os tecidos próximos. Além disso, as células mesenquimais vasculares

que existem nas paredes dos vasos sanguíneos contribuem para a cicatrização. A fonte primária de *CTM* é o periósteo (LE *et. al.*, 2001).

1.10 Papel da *IL-17*, *IL-23* e *IL-8* no metabolismo ósseo

1.10.1 Efeitos da *IL-17* no osso e em osteoclastos

O primeiro reconhecimento de que *IL-17* influencia a homeostasia óssea veio de Gravalles e Schett (2018), que relataram que a *IL-17* induz a osteoclastogênese em uma cocultura de osteoblastos e osteoclastos. Laboratorialmente, nesse cenário, a *IL-17* induziu a expressão de *RANKL* em osteoblastos, o que promoveu a indução robusta da diferenciação dos osteoclastos. A noção de que a diferenciação de osteoclastos induzida por *IL-17* é dependente de *RANKL* foi adicionalmente suportada pelo fato de que a *OPG*, um receptor chamariz solúvel para *RANKL*, bloqueou completamente a osteoclastogênese mediada por *IL-17*. Estudos subsequentes confirmaram a ação pró-osteoclastogênica da *IL-17* e as células Th17 são agora conhecidas por ser um subconjunto chave de células T na estimulação da osteoclastogênese, apoiando a diferenciação dos osteoclastos, liberando *IL-17* e expressando *RANKL*. A *IL-17* também exerce efeitos diretos sobre os osteoclastos. Mais consistentemente, as células da linhagem dos osteoclastos expostas a *IL-17* regulam positivamente a expressão de *RANK* e o receptor para *RANKL*, o que melhora o potencial osteoclastogênico do *RANKL* nestas células (GRAVALLESE; SCHETT, 2018).

Além dos efeitos diretos sobre as células ósseas, A *IL-17* também tem ação pró-inflamatória, o que aumenta sua atuação na reabsorção óssea. Por exemplo, *IL-17A* induz a expressão de citocinas pró-inflamatórias clássicas (incluindo *TNF α* , *IL-1* e *IL-6*) por células do estroma e macrófagos e essas citocinas funcionam conjuntamente com a *IL-17A* para aumentar a osteoclastogênese. No geral, os dados atuais fornecem evidências substanciais para uma função catabólica da *IL-17A* na homeostase óssea que é espelhada pela indução da osteoclastogênese, explicando assim o desenvolvimento de erosões ósseas e osteopenia e / ou osteoporose (GRAVALLESE; SCHETT, 2018).

1.10.2 *IL-17* e osteoblastos

Além do efeito na osteoclastogênese, outro estudo sugere que tanto a *IL-17* quanto a *IL-23* promovem diferenciação osteoblástica e subsequente formação óssea (ONO *et al.*,

2017). Os osteoblastos são derivados de células do mesênquima, mas permanece a controvérsia em relação a efeitos da *IL-17A* na diferenciação e função dessas células. Os resultados indicam que a *IL-17A* induz a diferenciação de osteoblastos de humanos por células-tronco mesenquimais sugerindo que *IL-17A* teria um efeito protetor e regulador na perda óssea. Em apoio a esse conceito, a perda óssea induzida por ovariectomia foi aumentada em camundongos deficientes para *IL-17*. Esses modelos resultaram em perda óssea sistêmica causada pela diminuição da atividade dos osteoblastos e não por um aumento na atividade dos osteoclastos. Além disso, o bloqueio de sinalização de *IL-17A* usando um anticorpo bloqueador de *IL-17A* reverteu o fenótipo de perda óssea em camundongos consistente com o conceito de que o *IL-17A* é também um ativador da função osteoblástica e ajuda na formação óssea. Ono *et al.* (2017) utilizaram um estudo com modelo de perfuração de broca em cortical femural com defeito ósseo para demonstrar que a *IL-17A* produzida em grandes quantidades por células T $\gamma\delta$ imediatamente após a lesão óssea promoveu a formação óssea e cura. Além disso, estimulou as células progenitoras mesenquimais para proliferar e se diferenciar em osteoblastos. Esse modelo recapitulou o processo intramembranoso da formação óssea. Neste estudo, a deficiência em *IL-17A* nos ratos levou à cicatrização dificultada da fratura devido ao defeito da formação óssea mediada por osteoblastos. Esses resultados são consistentes com um estudo anterior que mostrou que as células T promovem diferenciação osteoblástica no reparo precoce das fraturas via produção de *IL-17F*. Finalmente, as células mesenquimais indiferenciadas nos humanos expressam *IL-17RA73* e *IL-17A* e *IL-17F* derivados dos linfócitos Th17, células que induzem a diferenciação de MSCs em osteoblastos.

Esses dados sugerem que o efeito da *IL-17A* na diferenciação osteoblástica provavelmente depende do tipo de célula exposta a *IL-17A*, do estágio de diferenciação dessa célula e talvez também do tempo e duração de exposição às citocinas.

1.10.3 Efeitos da *IL-23* nos osteoclastos

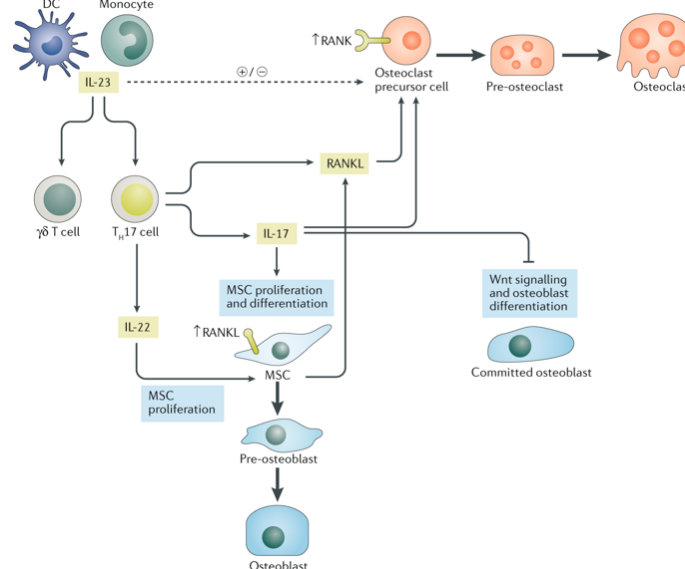
Existem dados conflitantes quanto ao modo como a *IL-23*, indutor essencial da diferenciação de células Th17, influencia a formação de osteoclastos. Claramente, a *IL-23* promove a diferenciação de osteoclastos indiretamente via indução da polarização de células Th17 e produção de *IL-17A in vivo*. No entanto, os efeitos diretos da *IL-23* na osteoclastogênese são bem menos compreendidos. Tem sido sugerido que a *IL-23* induz a osteoclastogênese diretamente em células humanas na ausência de osteoblastos (ADAMOPOULOS *et al.*, 2011). A osteoclastogênese induzida por *IL-23* das células da

linhagem de monócitos foi inibida por anticorpo anti-*IL-17* e por *OPG*, demonstrando que *IL-17*, *TNF α* e *RANKL* estão todos envolvidos na osteoclastogênese mediada por *IL-23*. A evidência mais convincente de que a *IL-23* pode diretamente promover a diferenciação osteoclástica vem de estudos que demonstraram a indução da expressão de *RANK* em células precursoras de osteoclastos após estimulação por *IL-23* de monócitos. Além disso, dados genéticos de ratos sugerem que *IL-23* tem efeitos protetores sobre osso sob condições de inflamação. Como a *IL-17* e *RANKL* expressos por células Th17 favorecem a diferenciação de osteoclastos e a reabsorção óssea, o efeito de *IL-23* no osso pode, portanto, ser convertido em um efeito líquido de natureza regulatória. Esse conceito também é suportado por dados mostrando que a inibição terapêutica da *IL-23* por ustequinumabe, anticorpo monoclonal anti *IL-23*, limita a progressão das erosões ósseas em pacientes com artrite reumatoide. (GRAVALLESE; SCHETT, 2018). (Figura 2)

1.10.4 *IL-23* e osteoblastos

Em contraste com a *IL-17*, a *IL-23* não tem qualquer efeito sobre a diferenciação de osteoblastos (medida pela atividade da fosfatase alcalina) ou em sua proliferação, nem induz à expressão *RANKL* desses *in vitro*. Ademais, embora as células mesenquimais e os osteoblastos expressem *IL-17RA*, eles não têm expressão de *IL-23R*. (ADAMOPOULOS *et. al.*, 2011)

Figura 2 - Esquema do papel da *IL-17* e *IL-23* nos processos de diferenciação de osteoblastos e osteoclastos



Fonte: Gravallese e Schett (2018)

1.10.5 *IL-8 no processo de reparo ósseo*

A *IL-8* é uma citocina pró-inflamatória relacionada ao início e intensificação do processo inflamatório agudo e crônico. É a principal mediadora da resposta imune inata inicial aos microorganismos intracelulares e é indutora-chave da imunidade mediada por célula, a resposta adquirida contra bactérias. É tipicamente liberada por numerosas células, como linfócitos, monócitos, macrófagos, fibroblastos e células epiteliais. Também tem um efeito substancial na regulação da função dos neutrófilos. A *IL-8* não apenas induz a adesão de neutrófilos às células endoteliais, mas também estimula a quimiotaxia e a exocitose dos grânulos de neutrófilos, contribuindo com a liberação de enzimas lisossomais. Por isso, é um fator importante na indução da inflamação e na defesa inata contra infecções bacterianas pós-operatórias. Mesmo após a osseointegração bem-sucedida, ainda permanecem processos inflamatórios em torno dos implantes, o que pode resultar em mucosite ou peri-implantite. Embora a mucosite peri-implantar seja uma inflamação reversível dos tecidos moles em torno de implantes dentários, a peri-implantite é uma reação inflamatória mais acentuada afetando o tecido ósseo ao redor dos implantes resultando em perda irreversível deste. Ambos os quadros têm sido associados ao aumento dos níveis da *IL-8* (KHOSROPANAH *et. al.*, 2013). A *IL-8* também é expressa por osteoblastos maduros, sendo muitas vezes estimulada por neutrófilos por ação da *TNF- α* e *IL-1 β* . (QUABIUS *et. al.*, 2012).

Candel-Martí *et. al.* (2011) realizaram um estudo para avaliar o papel das interleucinas *IL-6*, *IL-8*, *IL-10* e *IL-12* como marcadores da doença peri-implantar (mucosite e peri-implantite) e como o aumento nos níveis dessas citocinas no fluido crevicular do implante dentário pode dar origem a uma falta de osteointegração. Foi realizada uma revisão de literatura relacionando níveis de *IL-6*, *IL-8*, *IL-10* e *IL-12* à cirurgia de implante dentário e peri-implantite. Quatorze artigos foram encontrados. Um aumento nos níveis de interleucina foi observado em pacientes com doença peri-implantar. Houve um aumento de todas essas interleucinas em pacientes com peri-implantite, embora ainda haja controvérsia sobre o efeito destas no fluido crevicular.

Além do papel da *IL-8* no processo de recrutamento de leucócitos para o sítio de inflamação, existem pesquisas mostrando que ela também regula o recrutamento de células osteoprogenitoras para ajudar no processo de reparo ósseo. (YANG *et. al.*, 2018). A ossificação endocondral é o mecanismo pelo qual a maioria das fraturas se cura. Esse reparo de defeitos ósseos, primeiramente por tecido cartilaginoso e posteriormente substituído por

tecido ósseo, pode ser iniciado por células inflamatórias que secretam uma variedade de citocinas no ambiente. As citocinas secretadas podem recrutar as células mesenquimais para a área do defeito ósseo, diferenciando-se em condroblastos para secretar uma grande quantidade de matriz de colágeno e cartilagem, o que estimula posteriormente a diferenciação de osteoblastos. Resultados experimentais mostraram que a *IL-8* promove a diferenciação tanto de condroblastos como de osteoblastos, auxiliando na osteogênese. Usando ferramentas *in vitro* e *in vivo*, Yang *et. al.* (2018) foram capazes de demonstrar o papel crítico da *IL-8* na regeneração óssea através da tecnologia de engenharia de tecido ósseo.

1.11 Sequência de eventos

A cicatrização óssea, como todas as outras respostas de reparação, é iniciada através da indução de uma resposta imune. Durante esta fase inicial, um hematoma é formado e a inflamação ocorre. Os principais componentes nesta fase inflamatória inicial incluem citocinas, plaquetas, *BMPs* e *CTM* (HUANG *et. al.*, 2000)

Algumas citocinas, como *IL-1*, *IL-6*, *IL-17*, *IL-23* e *TNF- α* secretadas por células inflamatórias, têm efeito quimiotático em outras células e sobre o recrutamento de células mesenquimais. O pico da expressão de *IL-1* e *IL-6* é de um dia após a injúria seguido de um rápido declínio até o terceiro dia a níveis indetectáveis. Ao mesmo tempo, as plaquetas, ativadas por trombina e colágeno subendotelial liberam *PDGF* e *TGF- β* que desempenham um papel na iniciação da cicatrização. Esses fatores causam a migração de células mesenquimais, ativação e proliferação, angiogênese, quimiotaxia de células inflamatórias agudas e posterior agregação de plaquetas. Simultaneamente, *BMPs* são liberados a partir da matriz do osso e também são expressos pelas células mesenquimais primárias recrutadas (DIMITRIOU *et. al.*, 2011). Durante os dias seguintes, as *CTM* proliferam e se diferenciam em uma linhagem osteogênica ou condrogênica. Durante esta fase inicial de eventos, a angiogênese também ocorre e este é um pré-requisito para a progressão da cascata de regeneração. O crescimento interno vascular para o calo ósseo em desenvolvimento é regulado por *FGF* e fatores angiogênicos. (tabela 1)

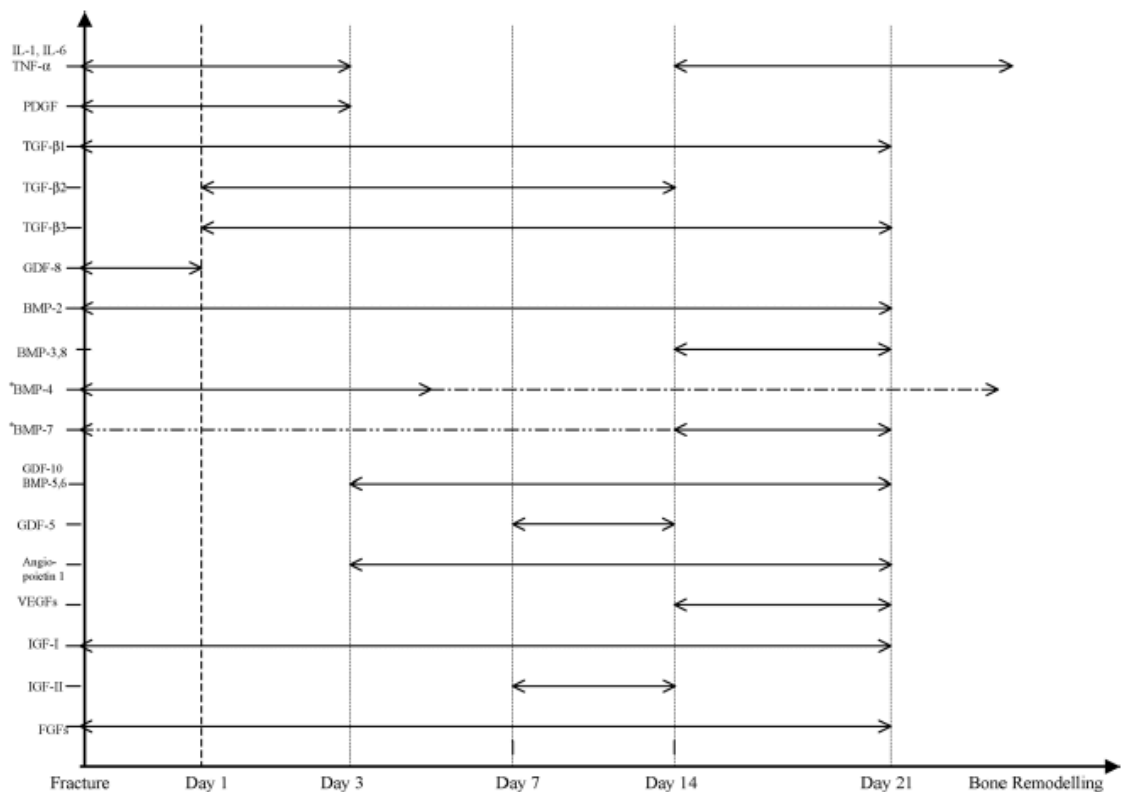
Tabela 1 - Papel dos mediadores químicos na cicatrização óssea

Mediador químico	Fonte	Células -alvo	Ação	Tempo de expressão
Citocinas (<i>IL-1, IL-6, TNF-α, IL-8, IL-17 e IL-23</i>)	macrófagos e outras células inflamatórias, células de origem mesenquimal e células de linhagem osteogênica	efeito quimiotático sobre outras células inflamatórias e células mesenquimais indiferenciadas	estimulação da síntese de matriz extracelular, angiogênese, recrutamento de células fibrogênicas endógenas para o local da lesão, diferenciação de osteoblastos e osteoclastos	níveis aumentados nos dias 1 a 3 e posteriormente durante o remodelamento ósseo
TGF-β	degranulação de plaquetas, células inflamatórias, endotélio, matriz extracelular, condrócitos, osteoblastos	MSCs, células osteoprogenitoras, osteoblastos, condrócitos	Potente mitogênico e quimiotático para células formadoras de osso, quimiotático para macrófagos	Expresso desde os estágios iniciais e ao longo da reparação óssea
PDGF	degranulação de plaquetas, macrófagos, monócitos (durante o estágio de granulação) e células endoteliais, osteoblastos (em fases posteriores)	células mesenquimais e inflamatórias, osteoblastos	Mitogênica para células mesenquimais e osteoblastos, quimiotática para células inflamatórias e mesenquimais	Liberado nos estágios iniciais da reparação óssea
BMPs	osteoprogenitores e células mesenquimais, osteoblastos, matriz extracelular óssea e condrócitos	células mesenquimais e osteoprogenitoras, osteoblastos	Diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas em condrócitos e osteoblastos e osteoprogenitores em osteoblastos	Vários padrões de expressão temporal
FGFs	monócitos, macrófagos, células mesenquimais, osteoblastos, condrócitos	células mesenquimais e epiteliais, osteoblastos e condrócitos	Angiogênico e mitogênico para células mesenquimais e epiteliais, osteoblastos, condrócitos o a-FGF afeta principalmente a proliferação de condrócitos, o b-FGF (mais potente) envolvido nos condrócitos maturação e reabsorção óssea	Expresso desde os estágios iniciais até a formação de osteoblastos
IGFs	matriz óssea, células endoteliais e mesenquimais (no estágio de granulação) e osteoblastos e condrócitos não hipertroficados (na formação de osso e cartilagem)	MSCs, células endoteliais, osteoblastos, condrócitos	<i>IGF-I</i> : recrutamento e proliferação de células mesenquimais e osteoprogenitoras, expressas ao longo da cicatrização de fraturas <i>IGF-II</i> : proliferação celular e síntese protéica durante ossificação endocondral Metaloproteinases	Degradação da cartilagem e do osso, permitindo a invasão dos vasos sanguíneos durante os estágios finais da ossificação endocondral e remodelação óssea

Fonte: Adaptado de Dimitriou, Tsiridis e Giannoudis (2005).

Na formação óssea intramembranosa, a principal fonte das células que contribuem parece ser proveniente do osso cortical subjacente, do periósteo alguns milímetros a partir do local da injúria e da região da medula óssea com alta densidade celular. Dentro das primeiras 24 horas após o trauma, as últimas células começam a se diferenciar em um fenótipo osteoblástico. A partir do terceiro dia, os osteoblastos derivados a partir da cortical e do periósteo se diferenciam, formando tecido ósseo (calo duro). Seus picos de proliferação acontecem entre os dias 7 e 10. Nesse período, há um aumento dos níveis de expressão das *BMPs*-2, -4 e -7 durante os primeiros estágios de ossificação intramembranosa (DIMITRIOU *et. al.*, 2011). (Figura 3).

Figura 3 - Esquema mostrando a expressão temporal das moléculas de sinalização durante a cicatrização óssea



Fonte: Dimitriou *et. al.* (2011).

Como se observou, várias moléculas de sinalização são liberadas pelos mais variados grupos celulares durante o processo normal de cicatrização óssea e osseointegração. Dentro desse contexto, qualquer alteração que leve à alteração na resposta normal de inflamação após o procedimento cirúrgico de instalação dos implantes e do processo de reparo do tecido ósseo pode afetar o processo normal de osseointegração e predispor à perda de

implantes dentários. A modificação na expressão de todas essas proteínas e a alteração em suas atividades biológicas podem ser decorrentes dos chamados polimorfismos genéticos.

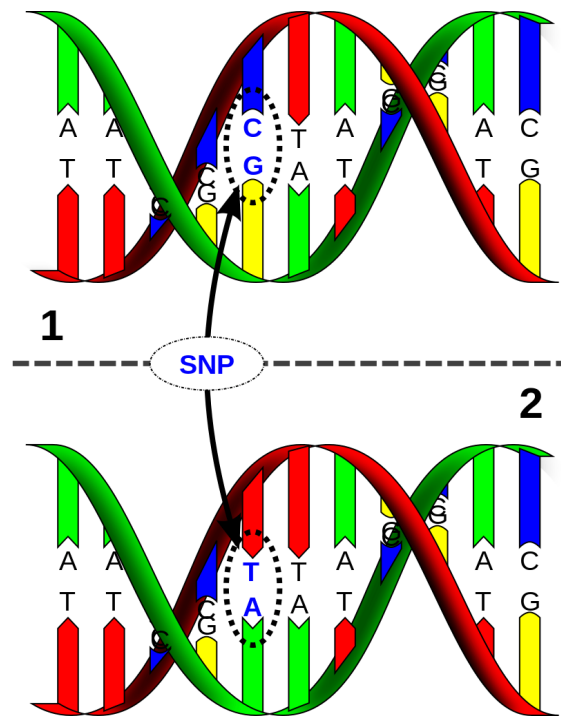
1.12 Polimorfismos genéticos

Os polimorfismos são variações genéticas que aparecem como consequência de mutações, podendo ter diferentes classificações, dependendo da mutação original. A categoria mais básica de polimorfismo é originada a partir de uma simples mutação, quando ocorre uma troca de um nucleotídeo por outro. Este polimorfismo é conhecido por *Single Nucleotide Polymorphism (SNP)* ou polimorfismo de nucleotídeo único. Outros polimorfismos conhecidos ocorrem quando há inserção ou deleção de pedaços do *DNA*. O padrão de nucleotídeos repetidos é conhecido como “*variable number of tandem repeats*” ou também chamados de minissatélites. Existe também o polimorfismo de bases repetidas do *DNA*, que pode envolver duas, três ou quatro bases, chamado de “*simple tandem repeats*” ou microssatélites (CAMPOS *et. al.*, 2005)

O genoma humano possui o número estimado entre 30.000 e 35.000 genes e a sequência do *DNA* apresenta similaridade de 99,9% entre os indivíduos. Essa diferença de 0,1% se deve à presença dos polimorfismos.

Os polimorfismos mais frequentes são os *SNPs*, pois essa variação pode ocorrer em um a cada mil pares de base. De forma geral, os *SNPs* são alterações genéticas presentes em mais de um por cento da população e podem estar localizados em várias regiões do gene: promotora, codificadora (éxons) e não codificadoras (Figura 4). Os *SNPs* na região promotora e codificadora têm maior probabilidade de modificar o funcionamento do gene e, conseqüentemente, da proteína formada. Os genes polimórficos apresentam variantes alélicas com frequência superior a um por cento na população. Estima-se que cerca de 90% das variações de sequências em seres humanos são causadas por polimorfismos tipo *SNPs*. (FREEDMAN *et. al.*, 2009). Ainda existem poucos estudos associando polimorfismos genéticos a perdas de implantes.

Figura 4 - Exemplo esquemático de um *SNP*.



Fonte: Liao *et. al.* (2014)

1.13 Polimorfismos de *IL-17*, *IL-23* e *IL-8*

O gene que codifica a *IL-8* fica localizado no cromossomo 4q12- q13. Esta interleucina é a citocina mais potente responsável por induzir a quimiotaxia, que é a migração dirigida de células para um local de inflamação. É importante na regulação da resposta inflamatória pela sua capacidade de recrutar e ativar células de inflamação aguda como neutrófilos, que é a primeira linha de defesa contra bactérias no sítio cirúrgico. Além disso, a *IL-8* é única, pois pode ser produzida no início da resposta inflamatória, e sua presença pode persistir por um período prolongado de tempo, segundo Khosropanah *et al.* (2013). O polimorfismo na posição 251 A/T (rs4073) no gene promotor da *IL-8* foi descrito na literatura associado a várias doenças como câncer gástrico, bronquiolite, câncer de mama, degeneração macular e câncer de pulmão. Esse polimorfismo acarreta a diminuição da expressão desta proteína bem como alteração da sua função (KHOSROPANAH *et al.* 2013). A frequência populacional global do alelo T polimórfico é de 45% (*NHLBI's Trans-Omics for Precision Medicine TOPMed Whole Genome Sequencing WGS Project*). Outro estudo realizado no estado do Ceará, Brasil, sobre associação entre polimorfismo da *IL-8* e osteomielite, apresentou a frequência do genótipo homocigoto selvagem AA de 14.91% , heterocigoto AT de 67.55% e homocigoto polimórfico TT de 17.54% nesta população (DE SOUZA, 2015). A

observação desses dados indica que diferenças étnicas podem ser encontradas no polimorfismo *IL8* -251A>T. Sendo assim, estudos adicionais são necessários para confirmar como esse polimorfismo pode afetar diferentes doenças em populações diversas.

A proteína codificada pelo gene da *IL-17* é uma citocina pró-inflamatória produzida por células T ativadas. Esta citocina regula as atividades do *NF-kappa*. Esta citocina pode estimular a expressão de *IL-6* e ciclooxigenase-2, bem como aumentar a produção de óxido nítrico. Altos níveis dessa citocina estão associados a várias doenças inflamatórias crônicas, incluindo artrite reumatóide, psoríase e esclerose múltipla. Polimorfismos da *IL-17* 7488 A / G foram relatados como associados à aumento da suscetibilidade a colite ulcerativa e também associado a inflamação crônica, incluindo artrite reumatóide, asma e doença inflamatória do intestino, segundo Kadkhodazadeh *et al.* (2013). O gene codificado para esta interleucina é mapeado para o braço do cromossomo humano de 6p12.2. O polimorfismo *IL-17F* (7488A / G) rs763780 está localizado dentro da região codificadora da *IL-17F* e causa uma substituição no aminoácido 161, levando a uma diminuição na expressão e na atividade da *IL-17*. A frequência populacional global do alelo G polimórfico é de 6,4% (*NHLBI's Trans-Omics for Precision Medicine TOPMed Whole Genome Sequencing WGS Project*).

A interleucina-23 (*IL-23*) é um membro da superfamília de *IL-12* e é composta de uma subunidade específica para *IL-23*. Foi observado que a *IL-23* é essencial para o desenvolvimento de vários modelos de doenças autoimunes, tais como inflamação da pele psoriásica, encefalomielite autoimune experimental e artrite reumatoide. O polimorfismo 2199 A / C da *IL-23* está relacionado com um aumento da expressão desta citocina devido ao aumento da estabilidade do seu RNA mensageiro (KHOSROPANAH *et al.* 2013). A frequência populacional global do alelo C polimórfico é de 29% (*NHLBI's Trans-Omics for Precision Medicine TOPMed Whole Genome Sequencing WGS Project*).

Poucos trabalhos já foram publicados sobre a relação dos polimorfismos das interleucinas 8, 17 e 23 associados a doenças sistêmicas, principalmente quando se trata de doenças ósseas e bucais.

Kadkhodazadeh *et al.* (2013) investigaram a relação do polimorfismo da *IL-17*, a doença periodontal e a peri-implantite. O impacto proeminente de fatores genéticos sobre a periodontite foi avaliado anteriormente e a *IL-17* encontrou um papel crítico nesse processo. Uma diferença significativa foi detectada entre os três grupos em termos de *SNP* específico estudado neste experimento (P = 0,01). O genótipo GG (polimórfico) do polimorfismo *IL-17* (rs10484879) pode contribuir para a patogênese da peri-implantite com perdas implantares e

periodontite. A associação do polimorfismo da *IL-17* com a periodontite e peri-implantite é um achado promissor que pode ajudar em futuros estudos semelhantes sobre outras etnias e maiores populações de estudo.

Silva *et al.* (2017) avaliaram a associação dos polimorfismos da *IL-17* e *IL-23* e a artrite reumatoide (AR). Um total de 127 pacientes com AR e 134 controles saudáveis foi recrutado para a análise de variantes polimórficas. A genotipagem foi realizada usando *RFLP-PCR*. Regressão logística foi utilizada para analisar a distribuição genotípica e os polimorfismos. Indivíduos com genótipo homocigoto CC (polimórfico), para o polimorfismo *IL-23R* parece estar em menor risco para desenvolvimento de AR (fator de proteção) (OR 0,22; $p = 0,004$), bem como aqueles com alelo C variante (OR 0,56; $p = 0,002$). Para o polimorfismo de -197 G / A *IL-17A*, o genótipo do tipo selvagem (GG) foi significativamente associado a um aumento de 3,18 vezes (OR 3,18; $p = 0,033$) para a AR. Com relação ao polimorfismo 7488 A / G *IL-17F*, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os casos de AR e sujeitos de controle ($p > 0,05$). Além disso, ao investigar a relação entre polimorfismos e características clínicas, nenhuma evidência de associação foi encontrada. As descobertas sugerem que as variantes 2199 A / C *IL-23R* e -197 G / A da *IL-17A* poderiam contribuir para o desenvolvimento da artrite reumatoide na população estudada.

Chaudhari *et al.* (2016) avaliaram uma possível associação entre o polimorfismo genético *IL-17 A* em (-197A / G) e a suscetibilidade à periodontite agressiva crônica e localizada (*LAgP*) em uma população indígena. O estudo foi realizado em 105 sujeitos, que incluíram 35 pacientes com *LAgP*, 35 pacientes com periodontite e 35 controles saudáveis. Amostras de sangue foram retiradas dos sujeitos e analisadas para o polimorfismo genético da *IL-17* em (-197A / G), usando *RFLP-PCR*. Uma diferença estatisticamente significativa foi vista na distribuição genotípica entre os pacientes com periodontite crônica, pacientes com *LAgP* e indivíduos saudáveis. Houve também uma diferença significativa na distribuição de alelos entre pacientes com periodontite crônica, pacientes com *LAgP* e indivíduos saudáveis. *Odds ratio* para alelo A versus O alelo G foi de 5,1 entre pacientes com periodontite crônica e controles e 5.1 entre pacientes com *LAgp* e controles saudáveis. Esse estudo concluiu que o polimorfismo do gene *IL-17 A* em (-197A / G) está ligado à periodontite crônica e *LAgP* na população indiana. A presença do alelo A no polimorfismo do gene *IL-17* (-197A / G) pode ser considerada um fator de risco para a periodontite crônica e *LAgP*.

Boron *et al.* (2014) tiveram como objetivo do estudo avaliar a frequência do polimorfismo rs2275913 (-197G > A) do gene da *IL-17* e avaliar a relação desse polimorfismo com os parâmetros clínicos do *turnover* ósseo e o grau de osteoporose pós-

menopáusicas. O estudo incluiu 800 mulheres na faixa etária pós-menopausa (505) e reprodutiva (295) em toda a região de Wielkopolska, na Polônia. O grupo pós-menopausa incluiu mulheres com osteoporose e osteopenia e aqueles que eram saudáveis. As mulheres em idade reprodutiva eram saudáveis. A frequência do gene testado e o polimorfismo foram avaliados no grupo onde a densidade mineral óssea (DMO) foi marcada e no grupo controle. Os resultados obtidos mostraram que o *T-score* na população feminina com osteopenia foi notavelmente menor em mulheres mostrando o genótipo GG de -197G> A polimorfico do gene *IL-17* em comparação com pacientes com genótipo heterozigótico GA. Foi demonstrado que o valor da DMO para L2-L4 YA na população feminina avaliada com osteoporose é significativamente maior em mulheres com o genótipo GA de -197G> do gene *IL-17* em comparação com mulheres com o genótipo GG (76,32% versus 59,93%, $P < 0,05$). Também se observou que a DMO em pacientes com o genótipo GG foi menor do que em mulheres com o genótipo AA (69,73% contra 80,88%, $P < 0,05$). Sugere-se que o polimorfismo -197G> A do gene da *IL-17* possa ser considerado como fator de osteoporose pós-menopausa. Esse polimorfismo pode influenciar a densidade mineral óssea e o escore T valor em mulheres jovens e mulheres na pós-menopausa.

Emami *et al.* (2016) avaliaram que a interleucina 23 (*IL-23*) e seu receptor (*IL-23R*) parecem desempenhar um papel importante na diferenciação de células T CD4 (+) em células Th17, indução da produção de *IL-17* e ativação de vias inflamatórias. Estudos recentes sugeriram a associação de polimorfismos de *IL-23R* com inflamação óssea e articular em doenças como espondilite anquilosante e artrite reumatoide. O objetivo desse estudo foi determinar a associação entre polimorfismos do *IL-23R* e artrite idiopática juvenil (AIJ). Um estudo de caso-controle em 55 pacientes com AIJ e 78 controles saudáveis foi realizado. Todas as amostras foram genotipadas para oito polimorfismos de nucleotídeo único (*SNPs*) de *IL-23R* (rs1004819, rs2201841, rs10889677, rs1495965, rs7517847, rs10489629, rs11209026 e rs1343151), utilizando a reação em cadeia da polimerase em tempo real da técnica de genotipagem. Quarenta e dois pacientes saudáveis e 42 controles foram escolhidos aleatoriamente para medir o nível sérico de *IL-17A* usando ensaio imunoenzimático. Embora o genótipo heterozigótico de rs1004819 (GA) tenha apresentado efeito protetor fraco, mas estatisticamente significativo, no subtipo poliarticular ($P = 0,03$), nenhum dos *SNPs* selecionados foi associado à AIJ global. De fato, a análise dos halótipos não mostrou associação significativa com a AIJ. O nível sérico de *IL-17A* não foi significativamente diferente entre os pacientes e controles saudáveis e entre os subtipos de AIJ. Além disso, não houve correlação significativa entre os *SNPs* e a concentração sérica de *IL-17A*. Os resultados

não mostraram nenhuma forte associação entre os polimorfismos da *IL-23R* e a doença na AIJ ou níveis séricos de *IL-17A*. A única associação foi observada entre a rs1004819 e a AIJ poliarticular. Outros estudos podem ajudar a esclarecer o papel da via *IL-23 / IL-17* na patogênese da AIJ.

Görükmez e Yakut (2016) avaliaram associações entre os polimorfismos 7383A / G e 7488A / G do gene da *interleucina IL-17F* e do G197A polimorfismo do gene *IL-17A* com atividade da doença e desfechos clínicos em pacientes turcos com espondilite anquilosante (EA). O estudo incluiu 101 pacientes com EA e 106 controles saudáveis. A taxa de sedimentação de eritrócitos (VHS) e proteína C reativa, além de pontuações do Índice de Atividade da Doença (BASFI) foram registradas. As frequências dos genótipos 7383A / G e 7488A / G do *IL-17F* e G197A dos genes e alelos *IL-17A* foram comparados entre os pacientes controles e saudáveis. Houve diferenças significativas nas frequências de alelos e na distribuição genotípica de *IL-17F* 7488A / G. Houve também diferenças significativas nos níveis de proteína C reativa e nos escores do BASFI dos pacientes na distribuição genotípica do polimorfismo *IL-17F* 7488A / G ($p = 0,029, 0,045$, respectivamente). Este estudo sugere que o polimorfismo *IL-17F* 7488A / G pode estar associado à suscetibilidade para EA, atividade da doença e status funcional em pacientes turcos.

Com relação a *IL-8*, Khosropanah *et al.* (2013) realizaram um trabalho que teve como objetivo investigar a correlação entre o polimorfismo do gene *IL-8* (-251 A / T) e a suscetibilidade à periodontite crônica. Neste estudo transversal randomizado, foram incluídos 227 pacientes não fumantes, com periodontite crônica (teste), e 40 indivíduos saudáveis (controle), sendo empregados no estudo os seguintes parâmetros clínicos: profundidade de sondagem da bolsa e perda óssea. Todos os participantes foram submetidos ao teste *PCR* para detectar o polimorfismo de nucleotídeo único A / T do gene da *IL-8*. Não foi observada correlação significativa entre os diferentes genótipos de *IL-8* e a severidade da condição periodontal ($P = 0,164$), nem foi detectada qualquer associação substancial entre os diferentes genótipos de *IL-8* e a perda óssea. Os resultados implicaram que não houve correlação explícita entre o polimorfismo do gene da *IL-8* (A / T) 251 e a gravidade da doença periodontal crônica ou a suscetibilidade a ela. O gene que codifica *IL-8* possui três polimorfismos comuns, *IL-8* -251 A/T, +396 T/G e +781 C/T. Dentre estes polimorfismos, o alelo T (polimórfico) de *IL-8* -251 A/T (rs4073) está relacionado a uma diminuição da produção de *IL-8* e alteração do seu funcionamento.

Ni *et al.* (2017) realizaram uma revisão sistemática e meta-análise avaliando associações entre os polimorfismos do gene da interleucina-8 (*IL-8*) e a suscetibilidade à

periodontite. Dez publicações envolvendo 1938 pacientes e 1569 controles foram incluídas no estudo, avaliando doze polimorfismos. Destes, dois polimorfismos da *IL-8*, C1633T e rs1126580 mostraram associação positiva enquanto os outros dez polimorfismos revelaram resultados negativos.

Outro estudo realizado por Quabius *et al.* (2012) avaliou a relação *in vitro* da expressão da *IL-8* e implantes dentários. A interleucina *IL-8*, também secretada por osteoblastos periféricos e monócitos sanguíneos, é aumentada em pacientes com perdas assépticas de implante de quadril e em pacientes com mucosite no fluido crevicular, após inserção de implantes dentários. Foi explorada *in vitro* a possibilidade de uma resposta inflamatória mediada por *IL-8* em consequência de contato entre diferentes superfícies de implantes dentários e o sangue. Os implantes de titânio e zircônia foram incubados junto com sangue humano. O sangue não estimulado serviu como negativo, enquanto o sangue estimulado com lipopolissacarídeos bacterianos serviu como controle positivo. Após a descontaminação, os implantes foram novamente submersos em sangue. A expressão gênica de *IL-8* e seu receptor foi medida por *PCR* em tempo real. Foi observado no experimento um aumento da expressão de *IL-8* mediada pela presença do titânio dos implantes. A expressão aumentada *in vivo* de *IL-8* pode ser uma possível via de perdas assépticas de implantes, possivelmente desencadeada por partículas de titânio microscopicamente dispersas no tecido, o que pode abrir um novo campo de investigações para entender melhor o possível mecanismo subjacente à manifestação de falha de implantes.

Chen *et al.* (2014) avaliaram por meio de revisão sistemática da literatura as associações dos polimorfismos do gene da interleucina-8 (*IL-8*) -251A / T (rs4073) e -845T / C (rs2227532) com a suscetibilidade à periodontite. Doze estudos envolvendo 2.233 casos e 2.655 controles foram analisados. *Odds ratio* (OR) com intervalos de confiança de 95% (IC) foram calculados para avaliar a força da relação entre os polimorfismos da *IL-8* e risco de periodontite. Essa meta análise indicou que tanto os polimorfismos da *IL-8* -251A / T e -845T / C podem estar envolvidos com o desenvolvimento de periodontite em uma população mista brasileira, enquanto o alelo -251A / T pareceu ser um fator de risco para periodontite em asiáticos.

De Souza *et al.* (2015) analisaram a influência dos polimorfismos de *IL-8* -251A> T, *IL-6* -174G> C e *TNFA*-308G> A na suscetibilidade genética à osteomielite aguda em pacientes com traumas ósseos em região tropical Nordeste do Brasil (n = 153). A genotipagem dos polimorfismos foi realizada por meio de *PCR*. Pacientes portadores do genótipo *IL-6* G / C apresentaram um risco duas vezes maior para o desenvolvimento de

osteomielite ($p = 0,04567$, $p < 0,05$). No entanto, o genótipo *IL-8* A / T parece proteger pacientes com traumas ósseos para desenvolver osteomielite como uma complicação.

1.14 Revisão de Literatura sobre Associação de Polimorfismos e Perdas de Implantes

Foi realizada uma revisão da literatura com artigos já publicados sobre a associação entre polimorfismos e perdas de implantes.

Shimpuku, Nosaka e Kawamura (2003) realizaram um estudo para avaliar a relação entre a perda óssea marginal precoce em implantes no segundo estágio cirúrgico e polimorfismos dos genes que codificam a *BMP-4*. O polimorfismo do gene da *BMP-4* foi detectado por análise de comprimento de fragmentos de restrição usando a técnica de *PCR*. Um total de 262 implantes foi instalado em 41 pacientes e perda óssea marginal precoce foi observada em 25 dos 109 implantes maxilares e 14 dos 153 implantes mandibulares. Como resultados, os pacientes com o genótipo *BMP-4* AV tinham uma taxa significativamente maior de ocorrência de perda óssea marginal do que aqueles com o genótipo *BMP-4* VV ($P = 0,012$). De acordo com análises de regressão logística múltipla, o odds ratio da AV em relação ao genótipo VV *BMP-4* foi de 8,106 entre pacientes com e sem perda óssea na mandíbula (IC 95% = 1,30 a 50,51; $P = 0,025$). Os resultados sugerem que polimorfismo genético da *BMP-4* tem influência na perda óssea marginal precoce ao redor de implantes. Os autores sugerem que a seleção genética antes da cirurgia de implante pode vir a ser uma ajuda muito útil para avaliar o risco do tratamento com implantes.

Santos *et al.* (2004) avaliaram a associação entre os polimorfismos C-509T e G-800 A da região promotora do gene do *TGF- β 1* e perdas precoces de implantes. Uma amostra de 68 pacientes não fumantes foi dividida em dois grupos: um grupo teste composto de 28 pacientes com um ou mais implantes perdidos e um grupo controle com quarenta indivíduos com um ou mais implantes saudáveis. Amostras de DNA foram retiradas da mucosa bucal e amplificadas pela reação de *PCR*. Os autores não observaram diferenças significativas no alelo e genótipos para ambos os genes polimórficos do *TGF β 1* (C-509T e G-800A) entre o grupo controle e o grupo teste com falhas dos implantes. Estes resultados indicam que os polimorfismos C-509T e G-800A não estão associados separadamente ou em combinações com falhas precoces de implantes, o que sugere que a presença desses polimorfismos de um único nucleotídeo, isoladamente, não constitui fator de risco genético para essas falhas.

Santos *et al.* (2004) novamente publicaram agora avaliando a relação de polimorfismos das metaloproteinases *MMP-1* e *MMP-9* e falha precoce de implantes. O DNA genômico foi retirado a partir de mucosa oral, amplificado por *PCR* e analisado por endonucleases de restrição. 46 pacientes não fumantes foram divididos em: grupo teste com vinte, tendo pelo menos um implante perdido, e grupo controle com 26 pacientes sem perdas. No gene de *MMP-1*, o alelo 2G foi observado em 25% do grupo controle e em 50% do grupo teste ($P = 0,013$). O genótipo 1G / 1G foi encontrado em 61,5% do grupo controle, ao passo que todos os pacientes do grupo de teste tinham o genótipo 1G / 2G ($P = 0,001$). Não foram observadas diferenças nas frequências alélicas e genotípicas no gene da *MMP-9* entre os grupos ($P = 0,15$ e $P = 0,13$, respectivamente). Estes resultados sugerem que o polimorfismo na região promotora do gene de *MMP-1* pode ser associado à falha do implante, enquanto o polimorfismo na região promotora do gene de *MMP-9* parece não ter nenhuma relação.

Campos *et al.* (2005) investigaram a relação entre falhas de implante e *SNP* na região de -308 promotora do gene responsável pela codificação do fator de necrose tumoral alfa (*TNF- α*). Uma amostra de 66 pacientes não-fumantes foi dividida em dois grupos: um grupo teste composto por 28 pacientes (idade média de 52,7 anos) com um ou mais implantes perdidos e um grupo controle composto por 38 indivíduos (idade média, 43,2 anos) com um ou mais implantes saudáveis. O DNA genômico foi obtido a partir da mucosa bucal e amplificado por *PCR*, analisado por *RFLP* e submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida para distinguir o alelo G e alelo A de polimorfismo do gene *TNF- α* (-308). As diferenças nas frequências alélicas e genotípicas entre os grupos controle e teste foram avaliadas pelo teste do qui-quadrado. Nenhuma diferença significativa foi observada no alelo ($P = 0,4635$) e genótipo ($P = 0,4445$) quando grupos controle e teste foram comparados. Os resultados indicaram que o polimorfismo do gene do *TNF- α* (L-308A) não está associado a falhas precoces de implante.

A mesma equipe (CAMPOS *et al.*, 2005) pesquisou também a relação de perdas de implantes e polimorfismos de genes codificadores da interleucina I (*IL-1*). A população do estudo foi composta por um grupo teste, formado por 28 pacientes não fumantes, que haviam sofrido uma ou mais falhas iniciais do implante, e por um grupo controle composto por 34 indivíduos (43,3 idade média) (52,7 idade média) com um ou mais implantes saudáveis. O DNA genômico foi retirado a partir da mucosa bucal e amplificado por *PCR*, seguido por *RFLP* e submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida para distinguir os alelos da interleucina-1A (- 889), interleucina-1B (+3953), interleucina-1B (- 511) e interleucina-RN (intron 2). As diferenças nas frequências alélicas e genotípicas entre os grupos controle e teste

foram avaliadas pelo teste qui-quadrado. Frequências de halótipos, desequilíbrio de ligação e de equilíbrio de Hardy-Weinberg também foram estimadas. Não houve diferenças estatisticamente significativas encontradas na distribuição do genótipo ou frequências alélicas dos polimorfismos. Não foram observadas diferenças entre os grupos controle e teste quando diferentes halótipos da interleucina-1 foram comparados. No entanto, os polimorfismos da *IL-1A* (- 889) e *IL-1B* (+3953) estavam em forte desequilíbrio de ligação ($p=0.00014$ para o grupo controle e $p=0.0238$ para o grupo de teste). Este estudo sugere que polimorfismos no gene cluster *IL-1* não estão associados à falha do implante precoce na população brasileira.

Campos *et al.* (2005) também estudaram a relação dos polimorfismos de um único nucleotídeo na região promotora da interleucina humana *IL-2* e *IL-6* e falhas precoces de implantes. Uma amostra de 74 fumantes foi dividida em dois grupos: grupo teste, compreendendo 34 pacientes (idade média de 49,3 anos) com pelo menos um implante que falhou, e grupo controle, composto por quarenta pacientes (idade média de 43,8 anos) com pelo menos um implante saudável. *DNA* de mucosa oral foi amplificado por reação em cadeia da polimerase e analisado por polimorfismo de fragmentos de restrição. Não foram observadas diferenças significativas na distribuição dos alelos e genótipos de ambos polimorfismos quando os dois grupos foram comparados. Os resultados indicaram que os polimorfismos nas *IL-2* (G-174c) genes (T-330 g) e *IL-6* não estão associados à falha do implante precoce.

Leite *et al.* (2007) avaliaram dois polimorfismos na região promotora da metaloproteinase de matriz humana *MMP-1*, uma inserção de uma guanina na posição -1607 e a substituição A-519G. O objetivo deste estudo foi investigar a possível relação entre esses polimorfismos e a falha precoce de implantes. Uma amostra de 104 pacientes não-fumantes foi dividida em dois grupos: um grupo teste, compreendendo 44 pacientes com um ou mais implantes perdidos, e um grupo controle composto por sessenta indivíduos com um ou mais implantes saudáveis. O *DNA* genômico da mucosa bucal foi amplificado por reação em cadeia da polimerase e analisado por endonucleases de restrição. O polimorfismo G-1607GG com o genótipo L / L foi observado com uma frequência de 62% no grupo controle, enquanto no grupo teste este genótipo foi observado em 34% dos indivíduos ($P = , 011$). O alelo G foi encontrado com uma frequência de 75% no grupo controle e 61,66% no grupo teste ($P = 0,05$). Não foram observadas diferenças significativas nos genótipos e frequências alélicas do polimorfismo A-519G entre os grupos ($P = 0,064$ e $P = 0,124$, respectivamente). A distribuição dos alótipos arranjada, como alelos e genótipos, apresentou uma diferença significativa entre os grupos controle e teste ($P = 0,031$ e $P = 0,002$, respectivamente). Com

base neste estudo de sessenta pacientes que não apresentaram nenhuma falha de implante e 44 pacientes que experimentaram fracasso de implantes, os resultados sugerem que o polimorfismo G-1607GG em *MMP-1* está associado à falha do implante precoce, enquanto o polimorfismo A-519G no gene *MMP-1* não mostra relação significativa com a perda do implante. Este estudo também sugere que alótipos G-1607GG e A-519G de *MMP-1* podem estar associados ao processo de osseointegração.

Montes *et al.* (2009) realizaram um estudo com o objetivo de investigar a associação entre perda de implantes e polimorfismos *IL-1B* (p3954) e *IL-1RN* (intron 2). A população de estudo (266) foi dividida em grupo teste (T) - 90 indivíduos com perda do implante e grupo controle (C) - 176 indivíduos sem qualquer falha de implante. A genotipagem foi realizada por *PCR-RFLP*. Nenhuma diferença em frequências genotípicas e alélicas entre C e T foi encontrada para *IL-1B* (p3954) e *IL-1RN* (intron 2) polimorfismos. No entanto, a análise de toda a população do estudo (grupos controle e teste) mostrou que o genótipo 2/2 foi significativamente mais frequente em indivíduos com múltiplas perdas de implantes (n^o/435) do que em indivíduos que perderam até um único implante (n^o/4231) (OR: 3,07, CI: 1,13-8,34, P^o/0.027). O genótipo 2/2 do polimorfismo *IL-1RN* foi significativamente mais frequente em pacientes que apresentavam múltiplas perdas, o que sugere que o fenômeno clusterização tem base genética.

Dereka *et al.* (2012) realizaram uma revisão sistemática para avaliar a relação entre polimorfismos genéticos e complicações biológicas de implantes dentários. Todos os estudos prospectivos, transversais e retrospectivos mostrando perdas de implantes dentários, perdas ósseas marginais e peri-implantites, após o carregamento com associação com polimorfismo genético, foram considerados para inclusão neste trabalho. Uma busca exhaustiva das bases de dados eletrônicas completada por um controle bibliográfico de artigos de revisão foi realizada por dois revisores independentes. Avaliação da qualidade dos estudos incluídos foi realizada de forma independente e em duplicata por dois revisores, como parte do processo de extração de dados. A pesquisa forneceu 344 artigos relacionados. Vinte e duas publicações foram identificadas para possível inclusão e, finalmente, sete artigos preencheram os critérios de inclusão definidos. Quatro estudos que investigaram a relação entre a perda potencial precoce de implante e *IL-1*, *IL-2*, *IL-6* e *TNF- α* revelaram nenhuma evidência para apoiar essa associação. Em dois dos três estudos que avaliaram peri-implantite em relação ao genótipo *IL-1*, os resultados indicam que os polimorfismos dos genes *IL-1RN* (intron 2), *IL-1A* (-899), *IL-1B* (+3954) foram correlacionados ao aumento da infecção e destruição dos tecidos peri-implantares. Os diferentes desenhos dos estudos e diferenças metodológicas

impossibilitaram retirar conclusões sólidas. Dentro dos limites dessa avaliação, pôde-se concluir que não havia nenhuma associação óbvia entre polimorfismo genético específico e falha do implante dental em termos de complicações biológicas, apesar de uma tendência potencial entre o genótipo *IL-1* e peri-implantite,. Os autores afirmaram que estudos mais bem desenhados principalmente de corte prospectivos são necessários para fornecer mais informações.

Pigossi *et al.* (2012) avaliaram a associação de três *SNPs* localizados na região promotora do gene da *IL-10* e perdas de implantes que têm sido relacionada com alta de *IL-10 in vitro* endógeno e doenças autoimunes. Foi avaliado um total de 277 pacientes, incluindo 185 indivíduos que apresentaram pelo menos um implante osseointegrado em função com mais de seis meses e sem falhas, e 92 indivíduos que apresentaram pelo menos um implante perdido. O *DNA* foi extraído a partir de células da mucosa bucal e os *SNPs* foram genotipados utilizando ensaios baseados em sondas TaqMan. Resultados da regressão logística múltipla mostraram associação entre falha do implante dental com o genótipo - 819 (T/C) (OR = 3,27; IC95% = 1,02-10,46; p = 0,0334). No entanto, considerando o nível de significância estatística alfa = 0,004 (ajustado por correção de Bonferroni de múltiplas comparações), esses resultados perderam seu significado. Em resumo, nenhum dos polimorfismos do gene *IL-10* foi associado com susceptibilidade à falha do implante dental na população estudada.

Costa-Junior *et al.* (2013) realizaram um trabalho tendo como objetivo investigar a possível relação entre o polimorfismo C-799T da metaloproteinase de matariz 8 (*MMP-8*) e falha do implante precoce em pacientes não-fumantes. Os indivíduos foram divididos em dois grupos: grupo controle (100 pacientes com um ou mais implantes saudáveis) e grupo teste (80 pacientes que sofreram uma ou mais falhas iniciais de implante). O *DNA* da mucosa bucal foi amplificado por *PCR* e analisado por endonucleases de restrição. As análises estatísticas indicaram que o gene *MMP-8*, o alelo T em 76,25% no grupo teste e o genótipo T / T, 63,75% no mesmo grupo, podem predispor à perda precoce de implantes osseointegrados. Esses resultados sugerem que o polimorfismo na região promotora do gene de *MMP-8* está associado à falha do implante precoce. Esse polimorfismo pode ser um marcador genético para risco de perda do implante. A determinação desse padrão genético em osseointegração permitiria o reconhecimento de indivíduos com maior risco de perda do implante. Assim, marcadores genéticos seriam identificados, contribuindo para uma seleção pré-operatória adequada e preparação de estratégias de prevenção e terapia individualizada para modular os marcadores genéticos e aumentar a taxa de sucesso dos tratamentos.

Jacobi-Gresser, Huesker e Schütt (2013) avaliaram retrospectivamente 109 indivíduos que se submeteram à cirurgia para instalação de implantes e a associação de perdas de implantes nesses pacientes com polimorfismos em: *IL1A*- 889 C / T (rs1800587), *IL1B* 3954 C / T (rs 1143634), *IL1RN* 2018 T / C (rs419598) e *TNF- α* -308 G / A (rs1800629). Os estudos dos alelos menores dos polimorfismos mostraram aumento da prevalência no grupo de falha do implante (*IL1A*: 61% vs. 42,6% nos controles, *IL1B*: 53,7% vs. 39,7% nos controles, *TNF- α* : 46,3% vs. 30,9% nos controles, *IL-1 RN*: 58,5% vs. 52,9% nos controles). Um número crescente de genótipos de risco dos polimorfismos estudados foi associado ao risco crescente de perda do implante, o que sugere um efeito aditivo.

Liao *et al.* (2014) avaliaram a associação entre os polimorfismos mais comuns da *IL-1* e falhas de implantes dentários. A *IL-1* desempenha um papel crucial na resposta imunoinflamatória que mantém a homeostase periodontal. Uma série de estudos epidemiológicos foi incluída no trabalho para investigar as associações entre polimorfismos comuns de *IL-1* (*IL-1a*, *IL-1b*) e risco de doença peri-implantar, mas os resultados permanecem inconclusivos. Treze estudos que avaliaram a associação entre *IL-1* polimorfismos e risco para doenças peri-implantares (falhas de implantes / peri-implantites) foram incluídos. O genótipo composto de *IL-1a* (-889) e *IL-1b* (+3954) foi associado ao aumento do risco de falha de implante (OR 1,76, 95% CI 1,21-2,57) e peri-implantite (OR 2,34, IC de 95% 1,03-5,33). O alelo T da *IL-1b* (-511) também foi associado ao aumento do risco de falha no implante (OR 1,28, IC 95% 1,01-1,62). Esses resultados apoiam um potencial papel de polimorfismos da *IL-1*, particularmente o genótipo composto de *IL-1a* (-889) e *IL-1b* (+ 3954), na susceptibilidade a doenças peri-implantares. Mais estudos com aumento do tamanho da amostra são necessários para validar as associações.

Ribeiro *et al.* (2017) investigaram a associação de polimorfismos genéticos na região interleucina da *IL-10* [-1082 (A / G)] e na região *RANKL* [-438 (A / G)] com o insucesso da implantes. Esse estudo incluiu 90 pacientes desdentados e parcialmente desdentados que foram reabilitados com um total de 245 implantes dentários Straumann. Um implante foi considerado um fracasso se ocorreu algum dos seguintes achados: mobilidade, persistência de queixa subjetiva, infecção peri-implantar recorrente com supuração, radiolucência contínua ao redor do implante, sondagem profundidade ≥ 5 mm e sangramento à sondagem. As células da mucosa bucal foram coletadas para análise de *RANKL* e *IL-10*. A taxa de falha dos implantes nessa população foi de 34,4%. O alelo mutante (G) em *RANKL* teve incidência de 52,3% e alelo mutante (A) na *IL-10* foi observado em 37,8%. Não foi detectada diferença estatisticamente significativa entre a falha do implante e genótipos das

frequências alélicas. Nenhuma associação foi detectada entre os polimorfismos genéticos de *RANKL* (-438) e *IL-10* (-1082) e a falha de implantes dentários na população estudada.

O estudo mais recente publicado sobre o assunto foi uma meta-análise publicada por Santiago Junior *et al.* (2018). Os autores afirmam que, apesar de as altas taxas de sobrevivência, falhas de implantes dentários no longo prazo ainda são relatadas, levando a remoções de implantes e encargos financeiros e de saúde adicionais. Enquanto fatores extrínsecos que melhoram o sucesso de implantes foram bem explorados, o impacto de fatores genéticos sobre este assunto ainda é pouco entendido. Uma revisão sistemática e um estudo de meta-análise foram realizados para determinar se fatores genéticos que contribuem para um risco aumentado de falhas nos implantes dentários.. De acordo com os critérios de exclusão / inclusão, treze estudos foram elegíveis para este estudo de 809 artigos. A meta-análise dos estudos de associação combinada de variações de *DNA* e implantes dentários não indica um risco aumentado de falha do implante devido a variações de *DNA* em *IL-1B*, *IL-10* e *TNF-a*. Este estudo enfatiza a necessidade de ensaios clínicos randomizados controlados para informar aos profissionais e pacientes o papel dos fatores genéticos na sobrevivência dos implantes dentários.

Tabela 2 – Resumo da revisão de literatura sobre polimorfismos e perdas de implantes.

AUTORES	TITULO	MATERIAIS E MÉTODOS	RESULTADOS
Shimpuku <i>et al.</i> (2003)	Early Marginal Bone Loss Around Implants.	262 implantes, 41 pacientes, avaliaram <i>SNP de BMP-4</i>	<i>BMP-4</i> influencia na perda óssea marginal precoce ao redor de implantes
Santos <i>et al.</i> (2004)	Analysis of the transforming growth factor-beta 1 gene promoter polymorphisms in early osseointegrated implant failure	46 pacientes; polimorfismos das metaloproteinases <i>MMP-1 e MMP-9</i>	polimorfismo na região promotora do gene de <i>MMP-1</i> pode ser associado; já para <i>MMP-9</i> parece não ter uma relação
Leite <i>et al.</i> (2007)	Osseointegrated Implant Failure Associated with <i>MMP-1</i> Promotor Polymorphisms (-1607 and -519)	104 pacientes; <i>MMP-1</i> Promotor Polymorphisms (-1607 and -519)	polimorfismo G-1607GG em <i>MMP-1</i> está associado a falha do implante precoce
Montes <i>et al.</i> (2009)	Analysis of the association of <i>IL-1B</i> (c+3954T) and <i>IL-1RN</i> (intron 2) polymorphisms with dental implant lost in a brazilian population	266 pacientes (90 teste, 176 controle): <i>IL-1B e IL-1RN</i>	Genótipo 2/2 do polimorfismo <i>IL-1RN</i> foi significativamente mais frequente em pacientes com múltiplas perdas. Fenômeno de Clusterização.
Dereka <i>et al.</i> (2011)	A systematic review on the association between genetic predisposition and dental implant biological complications	07 artigos	Tendência potencial entre genótipo <i>IL-1</i> e periimplantite. Necessários mais estudos com melhor desenho.
Costa Junior <i>et al.</i> (2013)	Influence of <i>MMP-8</i> promoter polymorphism in early osseointegrated implant failure	180 pacientes (100 controle e 80 teste) <i>MMP-8</i>	Associação forte entre este polimorfismo e perdas de implantes
Jacobi-Gresser <i>et al.</i> (2013)	Genetic and immunological markers predict titanium implant failure: a retrospective study	109 pacientes <i>IL-1A, IL-1B, IL-1RN, TNF-a</i>	Encontrou associações acumulativas entre os polimorfismos e perdas de implantes
Liao <i>et al.</i> (2013)	Meta-analysis of the association between common interleukin-1 polymorphisms and dental implant failure	Meta-análise com 13 estudos	Associação entre os polimorfismos <i>IL-1A e IL-1B</i> Mais estudos com melhor desenho e maior amostra
Dimitriou <i>et al.</i> (2013)	Genetic predisposition to non-union: Evidence today	Revisão de Literatura sobre falha de consolidação de fraturas e polimorfismos de BMPs	Forte associação entre alguns polimorfismos em <i>BMP 2, BMP 4, BMP 7 Noggin e SMAD 6</i>
Ribeiro <i>et al.</i> (2017)	Polymorphisms of <i>IL-10 (-1082)</i> and <i>RANKL (-438)</i> Genes and the Failure of Dental Implants.	90 pacientes avaliando polimorfismos de <i>IL-10 e RANKL</i>	Nenhuma associação foi detectada entre os polimorfismos genéticos de <i>RANKL (-438)</i> e <i>IL-10 (-1082)</i> e a falha de implantes dentários na população estudada.
Santiago Junior <i>et al.</i> (2018)	Can Genetic Factors Compromise the Success of Dental Implants? A Systematic Review and Meta-Analysis.	Meta-análise e revisão sistemática com 13 estudos selecionados entre 809 artigos	A meta-análise dos estudos de associação combinada de variações de DNA e implantes dentários não indica um risco aumentado de falha do implante devido a variações de DNA em <i>IL-1B, IL-10 e TNF-a</i> .

2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Segundo a Academia Americana de Implantodontia, mais de seis milhões de implantes osseointegráveis são instalados por ano nos Estados Unidos (EUA). Considerando uma taxa de sucesso média de 96%, há uma perda anual de aproximadamente 300.000 implantes por ano somente nos EUA, com um custo social e econômico muito grande, dentre estes alguns perdidos sem causa aparente.

A complexidade de se encontrarem fatores etiológicos para perdas de implantes naqueles casos em que todas as outras possíveis causas foram cuidadosamente controladas é ainda um desafio. A identificação da predisposição do paciente a esse tipo de acontecimento por meio da análise integrada que associe polimorfismos genéticos do hospedeiro e análise do nível de expressão gênica abre novas possibilidades prognósticas. A falta de consenso dos poucos estudos já publicados sobre o assunto, bem como a ausência de outros sobre esta associação de polimorfismos específicos de outras interleucinas responsáveis pelo processo de reparo ósseo, reforça a necessidade de novas análises.

Nesse contexto, a proposta de identificar um perfil genotípico do paciente predisponente a perdas de implantes dentários, possibilitaria a triagem de pacientes de risco, ao mesmo tempo em que abre uma nova perspectiva para o desenvolvimento de terapias que auxiliem ou maximizem o processo de osseointegração.

3 HIPÓTESES

3.1 Hipótese geral

As interleucinas *IL-8*, *IL-17* e *IL-23* são fundamentais no processo inflamatório e de reparo ósseo por atuar diretamente sobre osteoblastos e osteoclastos, como já discutido na literatura. Dessa forma, polimorfismos genéticos dos genes que codificam essas proteínas podem alterar a função ou a expressão destas, interferindo diretamente no processo de reparo ósseo após traumas cirúrgicos a este e, conseqüentemente, modificando o curso ou a evolução do processo de neoformação óssea e de osseointegração de implantes dentários.

3.2 Hipóteses de estudo

H0 - Os polimorfismos dos genes que codificam as interleucinas *IL-8*, *IL-17* e *IL-23* não contribuem para a perda precoce de implantes.

H1 - Os polimorfismos dos genes que codificam as *IL-8*, *IL-17* e *IL-23* podem contribuir para a perda precoce de implantes.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Verificar a associação de polimorfismos nos genes de *IL-8*, *IL-17* e *IL-23* e perdas de implantes dentários.

4.2 Objetivos específicos

1 - Determinar a associação entre a frequência genotípica dos polimorfismos de *IL-8* 251 A/T (rs4073) e perdas de implantes dentários.

2 - Determinar a associação entre a frequência genotípica dos polimorfismos de *IL-17* 7488 A/G (rs763780) e perdas de implantes dentários.

3 - Determinar a associação entre a frequência genotípica dos polimorfismos de *IL-23* 2199 A/C (rs10889677) e perdas de implantes dentários.

5 TIPO DE ESTUDO

Foi realizado um estudo primário, observacional, de pesquisa clínica, longitudinal, retrospectivo, tipo caso-controle e individualizado em pacientes que foram submetidos à cirurgia de instalação de implantes dentários. Considerado primário, visto que gerou novos resultados; observacional, já que não houve inclusão, modificação ou exclusão de algum fator; de pesquisa clínica, porque foram elegíveis pessoas para investigação. Este se caracterizou por ser longitudinal visto que houve uma sequência temporal conhecida entre a exposição e o aparecimento da doença ou fato evolutivo e retrospectivo pelo fato das avaliações terem sido realizadas após o desfecho estudado. (HOCHMAN *et al.*, 2005).

O referido estudo foi realizado em um período de trinta e seis meses, com início em março de 2016 e término em março de 2019, com critérios de inclusão e exclusão bem estabelecidos.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Aspectos éticos e Comitê de Ética

Para realização da pesquisa, foram obedecidos e respeitados todos os aspectos éticos expressos na Resolução nº 466, de 2012, do Conselho Nacional de Saúde / Ministério da Saúde, que traz as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de pesquisas com seres humanos e em conformidade com a norma do CONEP (Comissão Nacional de Ética em Pesquisa) (BRASIL, 2012), sendo submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa da Academia Cearense de Odontologia e aprovado sob o número de registro: CAAE 55420016.7.3001.5034.

Cabe esclarecer que o presente estudo é considerado uma investigação com riscos mínimos, visto que os pacientes não se submeteram a procedimentos fora dos padrões estabelecidos de cirurgias de instalação de implantes convencionais e por se tratar de estudo somente observacional.

Em virtude de implicações legais e para manter os princípios éticos, as identidades dos sujeitos se configuram como sigilosas. Os pacientes foram informados dos objetivos e receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO II).

6.2 População e amostra

A população da pesquisa foi de pacientes submetidos à cirurgia de instalação de implantes em consultórios privados de especialistas em implantodontia e cirurgia buco-maxilo-facial com no mínimo 10 anos de experiência nesse procedimento. Da população inicial, retirou-se uma amostra de conveniência que foi composta por dois grupos: Grupo 1 (grupo teste) - composto de 25 pacientes que foram submetidos à cirurgia de instalação de implantes dentários e que perderam um ou mais implantes após o período padrão de osseointegração (dependente do implante instalado, em média 02 meses) e antes de receber a prótese. Os implantes foram considerados perdidos quando apresentassem mobilidade e / ou dor e precisassem ser removidos.; Grupo 2 (grupo controle) - composto de 61 pacientes que foram submetidos à cirurgia de instalação de um ou mais implantes dentários e que não perderam nenhum implante instalado após o período de osseointegração e após a instalação da prótese. Para seleção das amostras dos dois grupos foram aplicados os critérios de inclusão e exclusão que se seguem:

Critérios de Inclusão:

- Para os Grupos 1 e 2, pacientes submetidos a cirurgias de instalação de implantes osseointegráveis de marcas comerciais reconhecidas nos mercados nacional e internacional.

- idade variando de 18 anos até 70 anos;

- ambos os sexos;

- pacientes que concordaram com a pesquisa, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo I) e preencheram uma ficha estruturada da pesquisa (Anexo II);

- para inclusão no grupo 1 (grupo teste) a perda de um ou mais implantes ocorreu logo após a cirurgia de instalação (pós-operatório imediato ou mediato) ou no momento da reabertura do implante (segundo estágio).

Critérios de Exclusão:

- implantes instalados em áreas previamente enxertadas;

- implantes imediatos instalados em alvéolos logo após exodontias;

- implantes que se encontravam sem estabilidade primária com mobilidade no momento da instalação;

- pacientes com doenças sistêmicas que interferiam na osseointegração como: diabetes *mellitus* não controlada, osteoporose severa; mieloma múltiplo, HIV positivos, em uso de medicamentos do grupo dos bisfosfonatos, pacientes irradiados nos maxilares;

- pacientes gestantes ou amamentando;

- pacientes tabagistas que fumavam mais de dez cigarros por dia

Critérios de Retirada:

Foram retirados do estudo:

- desistência, abandono ou falta de colaboração do paciente;

- ocorrência de doenças sistêmica que impeçam a continuidade da pesquisa.

Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão da amostra inicial, foi definida a amostra final do estudo, sendo um total de 25 pacientes no grupo 1 (teste) e 61 pacientes no grupo 2 (controle).

6.3 Procedimentos

6.3.1 Levantamento de dados dos pacientes

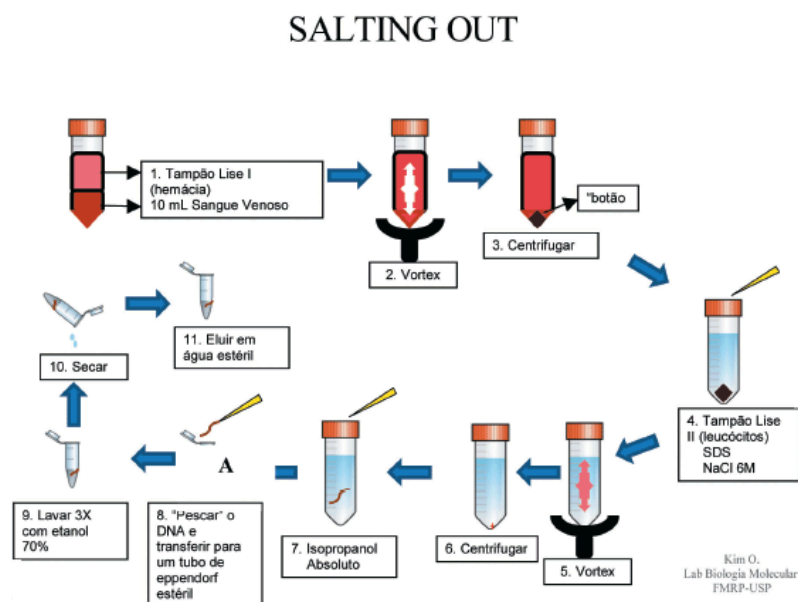
Os pacientes foram entrevistados de maneira individual pelo pesquisador durante o período da pesquisa. Foram informados e ficaram cientes dos objetivos e da relevância do estudo, participando voluntariamente da pesquisa.

Os dados foram registrados em uma ficha própria específica para a pesquisa (apêndice A). Todas as fichas eram analisadas pelo pesquisador. Todos os dados pertinentes às pesquisas foram anotados e posteriormente tabulados.

6.4 Extração do DNA

Após a alocação dos pacientes nos referidos grupos, foram analisados os polimorfismos. Para tal, houve uma etapa prévia – extração do *DNA*, em que foram coletados de todos os pacientes 5ml de sangue periférico. Do sangue coletado de cada paciente, foram retirados leucócitos para a extração do *DNA*. Os leucócitos foram obtidos após a realização do *buffy-coat*, processo que envolve a lise de hemácias. A extração obedeceu ao método de *salting-out*, conforme estabelecido por Miller, Dykes e Polesky (1988) (Figura 5) a seguir ao *buffy-coat*. Nos casos em que o procedimento não foi imediato, o *pellet* de leucócitos foi armazenado em freezer, a uma temperatura de -20°C , para posterior extração em até 15 dias. Posteriormente, foi detectada a presença dos polimorfismos. O processo de análise destes foi realizado no Laboratório de Genética Molecular (LABGEM) da Universidade Federal do Ceará.

Figura 5 - Esquema mostrando a técnica de *Salting Out* para extração de *DNA* do sangue



Fonte: Miller, Dykes e Polesky (1988)

6.5 Análise de polimorfismos genéticos

A genotipagem relativa aos polimorfismos nos genes das interleucinas avaliadas no estudo foi detectada por meio da análise do *DNA* genômico obtido do sangue periférico, utilizando a técnica de *PCR-RFLP* (*restriction fragment length polymorphism*), que é a *PCR* seguida de restrição enzimática. A determinação da técnica dependeu do tamanho de fragmento gerado pela amplificação.

O número de referência de cada polimorfismo único de nucleotídeo (*SNP*) para acesso no GenBank foi obtido a partir do endereço eletrônico <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>. Os fragmentos amplificados foram submetidos à corrida eletroforética em gel de agarose a 1% para a visualização destes fragmentos, seguido de restrição, utilizando-se as enzimas específicas. Os produtos da restrição foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% para visualização dos fragmentos e posterior documentação. As condições específicas para as reações foram padronizadas no LABGEM e foram realizadas utilizando-se *primers* específicos com base na literatura.

6.6 Detecção dos Polimorfismos da *IL-8*, *IL-17*, *IL-23*

A presença dos *SNP* -251A/T (rs4073) no gene que codifica a interleucina *IL-8*, 7488A/G (rs763780) no gene que codifica a interleucina *IL-17* e 2199A/C (rs10889677) no gene que codifica a interleucina *IL-23* foram detectados por meio da análise do *DNA* genômico, utilizando *PCR e RFLP*. Amostras genotipadas previamente e possuidoras dos sítios de clivagem para a enzima de restrição utilizada, foram usadas como controle das reações de restrição enzimática. As reações para determinar a presença deste polimorfismo foram conduzidas no Laboratório de Genética Molecular – LABGEM da Universidade Federal do Ceará.

Para as reações de *PCR*, foram utilizadas as concentrações de reagentes: 1x GoTaq® Master Mix (Promega), 50 ng de *DNA*, água estéril suficiente para 20µL e iniciadores específicos (sequências e concentração listados na tabela 3).

Tabela 3 - Sequências de primers, temperaturas de anelamento e tamanho de fragmentos para as interleucinas avaliadas no estudo

	Sequência do primer	[] primer	Temperatura de anelamento	Tam. do frag. amplificado
<i>IL-8</i> -251A/T	F: 5' – CCA TCA TGA TAG CAT CTG T – 3' R: 5' – CCA CAA TTT GGT GAA TTA TTA A – 3'	0,5 µM	57° C	173 pb
<i>IL-17</i> 7488A/G	PF: 5' – ACC AAG GCT GCT CTG TTT CT – 3' R: 5' – GGT AAG GAG TGG CAT TTC TA – 3'	0,3 µM	55° C	143 pb
<i>IL-23</i> 2199A/C	F: 5' – CTG TGC TCC TAC CAT CAC CA - 3' PR: 5' – TGC TGT TTT TGT GCC TGT ATG - 3'	0,5 µM	62° C	152 pb

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os produtos de *PCR* foram visualizados em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo sob transluminador de luz ultravioleta. Os produtos gerados foram submetidos à digestão enzimática com endonucleases de restrição específicas (tabela 4), acrescida do tampão sugerido pelo fabricante em um volume final de 7,5µL. Os fragmentos resultantes da restrição foram visualizados em gel de poliacrilamida e posteriormente corados com nitrato de prata.

Tabela 4 – Enzimas de restrição e tamanhos de fragmentos na *RFLP* para cada *SNP*.

	Enzima de restrição	[] Enzima	Genótipos: Tamanho do fragmento na RFLP
<i>IL-8</i> -251A/T	<i>AseI</i>	3 U	AA: 152 e 21 pb AT: 173, 152 e 21 pb TT: 173 pb
<i>IL-17</i> 7488A/G	<i>Nla III</i>	3 U	AA: 80 e 63 pb AG: 143, 80 e 63 pb GG: 143 pb
<i>IL-23</i> 2199A/C	<i>Mnl II</i>	3 U	AA: 152 pb AC: 152, 82 e 70 pb CC: 82 e 70 pb

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 6- Exemplo de padronização da reação de PCR para o polimorfismo da IL-17

Polimorfismo7488A/GIL-17(412 pb) LABGEM

Projeto: PERDA DE SENSÍVEIS Nome: YHANSON Data: 31/10/19

A			B			C		
Amostra	Res. PCR		Amostra	Res. PCR		Amostra	Res. PCR	
1	+		11	+		21	F	
2	F		12	—		22	—	
3	+		13	—		23	—	
4	—		14	—		24	—	
5	F		15	—		25	—	
6	—		16	—		26		
7			17	+		27		
8			18	MF		28		
9			19	F		29		
10			20	F		30		

Resultados da PCR: + (positivo); - (negativo); FORTE (banda mais forte que o normal); FRACA (banda mais fraca que o normal); BI (banda inespecífica); > (banda maior que o esperado); < (banda menor que o esperado); OBS (outros - discriminar no espaço destinado às observações abaixo!)

PCR			
Reagentes	Vol. p/ 1 amostra	x nº de amostras + 5%	Concentração final
Águacom BSA	8,4µL		
Master Mix ()	10,0µL		
Primer F [20 mM]	0,3µL		
Primer R [20 mM]	0,3µL		
DNA [50 ng/mL]	1µL		
Total	20µL		

Distribuir 19µL do mix em cada tubo + 1µL de DNA

RESTRICÇÃO			
Reagentes	Vol. p/ 1 amostra	x nº de amostras + 5%	Concentração final
Água Injeção	5,82	9160	
Tampão ()	1,25	1968	
BSA 0,1%	0,13	204	
Nla III ()	0,3	472	
Total	7,5	11810	

Distribuir 7,5 domix em cada tubo + 2,5µL de amplicon

Data: / /

PROGRAMA:
 95°C - 5 min
 95°C - 1 min
 55°C - 50 seg 40x
 72°C - 50 seg
 72°C - 5 min
 4°C

CORRIDA EM AGAROSE 1%
 70 V V
 20 min min

OVERNIGHT (16H) A 37°C

CORRIDA EM POLIACRILAMIDA 6%
 60 V
 80 min

AA	AG	GG
—	—	—
—	—	—
—	—	—

143 pb
80 pb
53 pb

OBSERVAÇÕES: 35 → 40 → 45

Fonte: LABGEM

Figura 7 – Exemplo de gel de poliacrilamida de IL-17



Fonte: Arquivo próprio realizado no LABGEM

6.7 Análise dos resultados

Os dados foram tabulados no Microsoft Excel e exportados para o software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) ® versão 20.0, no qual foram realizadas as análises estatísticas com 95% de confiança. Foram expressas as frequências absoluta e percentual de cada variável e cruzadas entre si por meio dos testes exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson. Utilizou-se, adicionalmente, modelo de regressão logística multinomial para avaliação da taxa de risco independente das variáveis de desfecho do estudo (perda dos implantes dentários) e calculada a razão de chances (*Odds ratio*) individualmente para cada variável.

7 RESULTADOS

Um total de 86 pacientes foi avaliado nesse estudo, destes, 24 (27,91%) eram do sexo masculino e 62 (72,09%), do sexo feminino. Nenhum paciente relatou doenças sistêmicas que pudessem alterar o processo normal de osseointegração dos implantes e nenhum fazia uso de algum medicamento que pudesse alterar o metabolismo ósseo. Com relação ao tabagismo, dos pacientes fumantes (sete pacientes), todos afirmaram que fumavam menos de dez cigarros por dia. Algumas amostras não amplificaram no *PCR* para um gene específico, porém nenhuma não amplificou para os três genes. Para o gene da *IL-17*, 21 amostras não amplificaram no processo de *PCR*, restando 65 amostras. Destas amostras restantes, apenas dois (3,07%) pacientes apresentaram polimorfismo (GG), quatro (6,15%) eram heterozigotos (AG) e 59 (90,76%) apresentavam o gene selvagem (AA). Para o gene da *IL-23*, 24 amostras não amplificaram no processo de *PCR*, restando 62 amostras. Destas amostras restantes, vinte (32,25%) pacientes apresentaram polimorfismo (CC), 29 (46,77%) eram heterozigotos (AC) e treze (20,96%) apresentavam o gene selvagem (AA). Para o gene da *IL-8*, 28 amostras não amplificaram no processo de *PCR*, restando 61 amostras. Destas amostras restantes, 25 (43,10%) pacientes apresentaram polimorfismo (TT), 21 (36,20%) eram heterozigotos (AT) e doze (20,68%) apresentavam o gene selvagem (AA). Para fins de avaliação, foram suprimidas as amostras que não amplificaram no *PCR*. (Tabela 5)

Tabela 5 - Caracterização da amostra de pacientes submetidos à reabilitação com implantes dentários por sexo e por genótipo

	N	%
Sexo		
Feminino	62	72,09
Masculino	24	27,91
<i>IL-17</i>		
AA (Selvagem)	59	90,76
AG (Heterozigoto)	4	6,15
GG (Polimórfico)	2	3,07
<i>IL-23</i>		
AA (Selvagem)	13	20,96
AC (Heterozigoto)	29	46,77
CC (Polimórfico)	20	32,25
<i>IL-8</i>		
AA (Selvagem)	12	20,68
AT (Heterozigoto)	21	36,20
TT (Polimórfico)	25	43,10

Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual.

Fonte: arquivo próprio

No grupo teste (perda de implantes) com 25 pacientes, para o gene *IL-17*, nenhum paciente apresentou polimorfismo (GG), dois (8%) eram heterozigotos (AG) e 23 (92%) apresentavam o gene selvagem (AA). Para o gene *IL-23*, oito pacientes (32%) apresentaram polimorfismo (CC), onze (44%) eram heterozigotos (AC) e seis (24%) apresentavam o gene selvagem (AA). Para o gene *IL-8*, nove pacientes (36%) apresentaram polimorfismo (TT), nove (36%) eram heterozigotos (AT) e sete (28%) apresentavam o gene selvagem (AA). (Tabela 6)

Tabela 6 - Caracterização da amostra do grupo teste por genótipo

	N	%
<i>IL-17</i>		
AA (Selvagem)	23	92,0
AG (Heterozigoto)	2	8,0
GG (Polimórfico)	0	0
<i>IL-23</i>		
AA (Selvagem)	6	24,0
AC (Heterozigoto)	11	44,0
CC (Polimórfico)	8	32,0
<i>IL-8</i>		
AA (Selvagem)	7	28,0
AT (Heterozigoto)	9	36,0
TT (Polimórfico)	9	36,0

Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual.

Fonte: arquivo próprio

Ainda no grupo teste, foram instalados um total de 151 implantes e foram perdidos 40 implantes, sendo a taxa de sucesso de osseointegração (TSO) total de 73%. A maioria dos implantes perdidos foram na região posterior de maxila (27 implantes, 67,5%). Somente em um caso foi utilizado implantes do tipo hexágono externo (05 implantes instalados e 01 perdido), todos os outros eram com conexão protética do tipo cone morse. Todos os implantes possuíam superfície tratada com duplo ataque ácido e jateamento. Nos pacientes que perderam implantes e não possuíam nenhum polimorfismo, foram instalados 66 implantes e foram perdidos 18 (taxa de sucesso de osseointegração de 72,72%). Dos pacientes que apresentaram polimorfismo para *IL-8* (07 pacientes), foram perdidos 10 implantes dos 39 instalados (TSO de 74,35%). Já para o polimorfismo de *IL-23* (08 pacientes), foram perdidos 14 implantes dos 51 instalados (TSO de 72,54%). Somente um paciente apresentou polimorfismo tanto para *IL-8* como para *IL-23*, sendo que nesse caso, foram instalados 05 implantes e perdidos 02, sendo a perda nas regiões dos dentes 12 e 14. Neste mesmo caso, a paciente apresentava uma deformidade congênita em um dos membros superiores. Dos pacientes que apresentaram polimorfismo para *IL-8*, 01 relatou também apresentar asma. Nos

que possuíam polimorfismo para *IL-23*, 02 possuíam hipertensão arterial sistêmica (*HAS*) e 02 eram cardiopatas. Somente 01 (um) paciente que apresentou polimorfismo (para *IL-23*) também era tabagista. (TABELA 7)

Tabela 7 - Caracterização da amostra do grupo teste por sexo, tabagismo, doenças sistêmicas, número de implantes instalados e perdidos, tipo de implante e polimorfismos para *IL-8*, *IL-17* e *IL-23*.

AMOSTRA	SEXO	TAB	DOENÇA SISTÊM.	IMP. INSTALADOS	IMP. PERDIDOS	LOCAL PERDA	TIPO IMPLANTE	POL. <i>IL-8</i>	POL. <i>IL-17</i>	POL. <i>IL-23</i>
1	F	sim	Osteoporose	02	01	12	Conexão® easy porous			
2	F	Não	cardiopata	06	02	24 e 25	Conexão® HI Flash porous			X
3	F	sim	sinusite	06	01	44	Conexão® AR torq porous			
4	F	Não	Não	04	01	26	Conexão® flash HI porous			
5	M	Não	Não	05	01	24	Conexão® HI Flash porous			
6	F	Não	Não	06	01	37	Conexão® AR torq porous			X
7	F	Não	Não	03	01	22	Conexão® AR torq porous			
8	F	Não	Não	13	03	15, 16 e 26	Conexão® easy porous			X
9	M	Não	Não	13	04	15, 16, 25 e 27	Conexão® easy porous			
10	M	Não	Não	06	02	15 e 16	Neodent® CM Alvim Neoporus	X		
11	M	Não	Não	02	01	36	Conexão® AR torq porous	X		
12	F	Não	Não	13	02	17 e 27	Conexão® easy porous	X		
13	F	Não	HAS	06	01	23	Conexão® HI Flash porous			X
14	F	sim	Não	10	01	47	Neodent® Titamax CM EX			
15	F	Não	HAS	06	02	24 e 25	Neodent® Titamax CM EX			X
16	F	Não	Não	03	01	11	Neodent® CM Alvim Neoporus			X
17	M	Não	HAS	01	01	26	Neodent® CM Alvim Neoporus			
18	F	Não	Não	05	01	43	Neodent® Titamax Ti HE			
19	F	sim	HAS, cardiopata	06	02	26, 16	Neodent® CM Alvim Neoporus			X
20	F	Não	Má formação congênita de membro superior	05	02	14 e 12	Neodent® CM Alvim Neoporus	X		X
21	F	Não	Não	12	04	36, 25, 14, 24	Conexão® HI Flash porous			
22	M	Não	Não	07	01	16	Neodent® CM Alvim Neoporus	X		
23	F	Não	Não	04	01	46	Conexão® AR torq porous	X		
24	M	Não	Asma labirintite	02	01	12	Neodent® CM Alvim Neoporus	X		
25	F	Não	CA de mama	05	02	15 e 26	Neodent® CM Alvim Neoporus			

No grupo controle (61 pacientes), para o gene *IL-17*, 21 amostras não amplificaram o *DNA*, restando 40 amostras. Destas, dois pacientes apresentaram polimorfismo (GG) (5,0%), dois (5,0%) eram heterozigotos (AG) e 36 (90,0%) apresentavam o gene selvagem (AA). Para o gene *IL-23*, 24 amostras não amplificaram o *DNA*, restando 37 amostras. Destas, doze pacientes (32,43%) apresentaram polimorfismo (CC), dezoito (48,64%) eram heterozigotos (AC) e sete (18,91%) apresentavam o gene selvagem (AA). Para o gene *IL-8*, 28 amostras não amplificaram o *DNA*, restando 33 amostras. Destas, dezesseis pacientes (48,48%) apresentaram polimorfismo (TT), doze (39,36%) eram heterozigotos (AT) e somente cinco (15,15%) apresentavam o gene selvagem (AA). Para fins de avaliação, foram suprimidas as amostras que não amplificaram no *PCR*. (Tabela 8)

Tabela 8 - Caracterização da amostra do grupo controle por genótipo

	N	%
<i>IL-17</i>		
AA (Selvagem)	36	90,00
AG (Heterozigoto)	2	5,00
GG (Polimórfico)	2	5,00
<i>IL-23</i>		
AA (Selvagem)	7	18,91
AC (Heterozigoto)	18	48,64
CC (Polimórfico)	12	32,43
<i>IL-8</i>		
AA (Selvagem)	5	15,15
AT (Heterozigoto)	12	39,36
TT (Polimórfico)	16	48,48

Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual.

Fonte: arquivo próprio

Não houve diferença estatisticamente significativa entre a prevalência dos alelos e dos genótipos dos genes da *IL-8*, *IL-17* e *IL-23* entre o grupo teste e o grupo controle. (Tabela 9).

Tabela 9 - Frequências (absoluta e percentual) de Alelos e de Genótipos de *IL-17*, *IL-23* e *IL-8* entre o Grupo Teste e Grupo Controle

	Grupo Teste n (%)	Grupo Controle n (%)	p-valor
<i>IL-17</i>			
Alelo			0,701
A	48 (96)	74 (92,5)	
G	2 (4)	6 (7,5)	
Genótipo			0,477
AA (Selvagem)	23(92)	36 (90)	
AG (Heterozigoto)	2 (8)	2 (5)	
GG (Polimórfico)	0 (0)	2 (5)	
<i>IL-23</i>			
Alelo			0,761
A	23 (46)	32 (43,24)	
C	27 (54)	42 (56,75)	
Genótipo			0,881
AA (Selvagem)	6 (24)	7 (18,91)	
AC (Heterozigoto)	11 (44)	18 (48,64)	
CC (Polimórfico)	8 (32)	12 (32,43)	
<i>IL-8</i>			
Alelo			0,166
A	23 (46)	22 (33,33)	
T	27 (54)	44 (66,66)	
Genótipo			0,438
AA (Selvagem)	7 (28)	5 (15,15)	
AT (Heterozigoto)	9 (36)	12 (36,36)	
TT (Polimórfico)	9 (36)	16 (48,48)	

* $p < 0.05$, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson

Fonte: arquivo próprio

Com relação ao tabagismo, 04 pacientes do grupo teste eram tabagistas e 03 no grupo controle, todos afirmaram que fumavam menos de 10 cigarros por dia. Não houve diferença estatisticamente significativa entre fumantes e não fumantes entre esses dois grupos. (tabela 10)

Tabela 10 – Avaliação entre fumantes e não fumantes nos grupos teste e controle

	Grupo Teste	Grupo Controle	p-valor
Fumantes	4 (16%)	3 (4,9%)	0,78
Não fumantes	21 (84%)	58 (95,1%)	0,17

* $p < 0.05$, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson

Fonte: arquivo próprio

A presença de polimorfismo dos genes da *IL-17*, *IL-23* e da *IL-8* mostrou-se igual entre homens e mulheres. (p -valor = 0,435, p -valor = 0,689 e p -valor = 0,437, respectivamente) sem diferença estatisticamente significativa entre esses dois grupos. (Tabela 11).

Tabela 11 - Associação entre o gênero e os genótipos dos genes da *IL-17*, *IL-23* e *IL-8*

	Sexo		<i>p</i> -Valor
	Feminino	Masculino	
<i>IL-17</i>			
AA (Selvagem)	42 91,4%	17 89,5%	0,435
AG (Heterozigoto)	2 4,3%	2 10,5%	
GG (Polimórfico)	2 4,3%	0 0%	
<i>IL-23</i>			
AA (Selvagem)	8 18,2%	5 27,8%	0,689
AC (Heterozigoto)	21 47,7%	8 44,4%	
CC (Polimórfico)	15 34,1%	5 27,8%	
<i>IL-8</i>			
AA (Selvagem)	9 22,5%	3 16,6%	0,437
AT (Heterozigoto)	16 40%	5 27,8%	
TT (Polimórfico)	15 37,5%	10 55,6%	

Dados expressos em forma de frequência absoluta e percentual.

* $p < 0,05$, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson.

Fonte: Arquivo próprio

Quando se observa isoladamente a influência dos polimorfismos gênicos de *IL-17*, *IL-23* e *IL-8* na prevalência das perdas de implantes, percebe-se que, para todos os polimorfismos, não houve diferença estatisticamente significativa. (Tabela 12).

Tabela 12 - Influência dos polimorfismos gênicos de *IL-17*, *IL-23* e *IL-8* na prevalência das perdas de implantes

	Total	Perda de Implantes		<i>p</i> -Valor
		Sim	Não	
Polimorfismo <i>IL-17</i>				
Sim	2 3,1%	0 0%	2 5%	0,519
Não	63 96,9%	25 100%	38 95%	
Polimorfismo <i>IL-23</i>				
Sim	20 32,3%	8 32%	12 32,4%	1,00
Não	42 67,7%	17 68%	25 67,6%	

Polimorfismo <i>IL-8</i>				
Sim	25	9	16	0,426
	43,1%	36%	48,4%	
Não	33	16	17	
	56,9%	64%	51,6%	

* $p < 0,05$, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Em modelo de regressão logística multinomial a perda de implantes não mostrou associação para os polimorfismos de *IL-17* e *IL-23*, no entanto o polimorfismo do gene da *IL-8* mostrou aumentar em 1,82 (IC95% = 0,61 – 5,45) vezes o risco de perda de implantes (fator de risco). (Tabela 13).

Tabela 13 - Análise multivariada dos fatores gênicos modificadores da prevalência de perdas de implantes

	p-Valor	OR Ajustada (IC95%)
Perdas de Implantes		
Polimorfismo <i>IL-17</i>	1,00	1,01 (0,10 – 10,51)
Polimorfismo <i>IL-23</i>	0,859	1,11 (0,35 – 3,56)
Polimorfismo <i>IL-8</i>	0,287	1,82 (0,61 – 5,45)

* $p < 0,05$, regressão logística multinomial.

OR = Odds ratio; IC 95% = Intervalo de confiança 95% da OR Ajustada.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Nenhum paciente apresentou polimorfismo dos três genes em conjunto, porém 01 (um) paciente do grupo teste apresentou polimorfismo tanto para *IL-8* como para *IL-23*, 01 (um) paciente do grupo controle apresentou polimorfismo para *IL-17* e *IL-23* e 04 (quatro) pacientes também do grupo controle apresentaram polimorfismos de *IL-8* e *IL-23* associados, não existindo diferença estatisticamente significativa entre eles. (tabela 14).

Tabela 14 - Influência dos polimorfismos gênicos de *IL-17*, *IL-23* e *IL-8* em conjunto nas perdas de implantes.

	Grupo Teste	Grupo Controle	p-valor
Polimorfismo de <i>IL-8</i> e <i>IL-17</i>	0 (0,0%)	0 (0%)	0,378
Polimorfismo de <i>IL-8</i> e <i>IL-23</i>	1 (4,0%)	4 (12,1%)	0,378
Polimorfismo de <i>IL-17</i> e <i>IL-23</i>	0 (0,0%)	1 (2,8%)	1,000

* $p < 0,05$, teste exato de Fisher ou qui-quadrado de Pearson

Fonte: arquivo próprio

8 DISCUSSÃO

Os implantes osseointegráveis fornecem uma excelente opção de tratamento para pacientes com perdas dentárias. Apesar da alta taxa de sucesso, falhas ainda acontecem. Nesse contexto, os insucessos são geralmente resultados da perda óssea marginal por necrose, micromovimentação do implante dentro do tecido ósseo acima de 150 micrometros durante o período de osseointegração e/ou por reabsorção óssea relacionada à infecção secundária. Além disso, não obstante algumas semelhanças clínicas com a doença periodontal, estudos recentes mostram que as falhas dos implantes causadas por reabsorção óssea grave não são uma doença semelhante à periodontite (MUDDUGANGADHAR *et al.*, 2015).

Embora existam vários fatores que podem influenciar negativamente o sucesso da osseointegração de implantes - como o procedimento cirúrgico mal executado, alterações sistêmicas do paciente, alguns medicamentos, hábitos deletérios, como o tabagismo e fatores inerentes ao próprio implante como impurezas de superfície - o impacto dos fatores de risco genéticos, como polimorfismos nos pacientes que recebem implantes, não tem sido bem investigado até o momento.

O tabagismo é um dos fatores que atrapalha a osseointegração de implantes dentários, pois reduz a atividade leucocitária e é responsável por reduzir a taxa de migração quimiotática, diminuição da mobilidade dos leucócitos e da atividade fagocitária. Essas deficiências causam baixa resistência à infecção e dificultam a cicatrização de feridas. O tabagismo também está relacionado à baixa absorção de cálcio. Outro possível mecanismo pelo qual o tabagismo pode afetar a osseointegração é a diminuição do fluxo sanguíneo devido ao aumento da resistência periférica. A nicotina também inibe a proliferação celular, um dos principais fatores que leva à perda precoce de implantes (TWITO; SADE, 2014). Esses mesmos autores, porém, mostrou em seu estudo que pacientes que fumam menos de dez cigarros por dia têm a mesma taxa de sucesso dos implantes que pacientes não fumantes. Nesse estudo, quatro pacientes do grupo teste afirmaram que eram tabagistas e três no grupo controle, porém todos afirmaram que fumavam menos de dez cigarros por dia. Somente um paciente do grupo teste que era tabagista apresentou polimorfismo, sendo este para *IL-23*. Não houve diferença estatisticamente significativa de fumantes e não fumantes entre os grupos teste e controle. Apesar da literatura mostrar que o fumo é um fator importante que interfere na osseointegração de implantes, a quantidade de cigarros por dia tem efeito direto sobre esse processo. Foram utilizados como critério de exclusão no estudo pacientes que fumavam mais de dez cigarros por dia para justamente este fator não servir como viés na pesquisa.

Ainda sobre o tabagismo, Wilson e Nunn (1999) avaliaram a presença de um genótipo polimórfico de *IL-1*, compreendendo o alelo T de *IL-1A* (-889) e polimorfismos da *IL-1* (3953) em 27 pacientes que tiveram falhas de implantes e que eram fumantes. Eles descobriram que fumar é um forte fator de risco (*OR* de 2,5) para a falha de implantes e que isto poderia superar o efeito do genótipo *IL-1*. Rogers *et. al.* (2002) também não encontraram associação entre o genótipo polimórfico de *IL-1* e falha de implantes dentários, porém eles demonstraram que o genótipo polimórfico de *IL-1* sozinho não parece influenciar o risco para perda óssea peri-implantar, mas o risco é significativamente maior quando o genótipo polimórfico de *IL-1* está associado ao tabagismo.

Em termos de aspectos relevantes para a osseointegração satisfatória dos implantes dentários, existe uma interrelação entre a estabilidade mecânica no momento da cirurgia e a qualidade óssea do leito cirúrgico para o sucesso desta. Além disso, a estabilidade primária após instalação do implante permite um adequado contato osso-implante para a regeneração óssea adequada. Segundo pesquisas recentes, a qualidade dos materiais e a técnica cirúrgica também são importantes fatores para o sucesso do implante dentário. Dessa forma, técnicas cirúrgicas que possam maximizar o *BIC* (*Bone Implant Contact*) são importantes para aumentar a taxa de sobrevivência de implantes dentários, principalmente em casos de baixa densidade óssea (MUDDUGANGADHAR *et al.*, 2015).

Nessa perspectiva, alterações do metabolismo ósseo no leito receptor dos implantes que possam influenciar o processo normal de regeneração óssea e o *BIC* após a instalação do implante e conseqüentemente na osseointegração deste podem servir como outro fator de perda. Polimorfismos em genes que codificam proteínas que participam desse processo são um exemplo disso (SANTOS *et. al.*, 2004).

A perda óssea marginal peri-implantar pode ser agravada por doenças crônicas ou sistêmicas, como osteoporose, diabetes, hepatite, doença periodontal grave, quimioterapia ou radioterapia, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), gravidez ou lactação, ou mesmo após grandes reconstruções ósseas que podem comprometer a regeneração e a integração óssea. A estabilidade primária dos implantes no momento da cirurgia de instalação, fundamental para se conseguir a osseointegração, também pode ser prejudicada em algumas situações como as citadas (MUDDUGANGADHAR *et al.*, 2015). Neste trabalho, foram excluídos do estudo pacientes que se submeteram à cirurgia de implantes instalados em área previamente enxertada e implantes imediatos instalados em alvéolo logo após as exodontias, bem como pacientes com doenças sistêmicas que interferissem na osseointegração, tais como: diabetes melitus não controlada, osteoporose severa; mieloma múltiplo, *HIV* positivos em uso

de medicamentos do grupo dos bisfosfonatos, pacientes irradiados nos maxilares, pacientes gestantes ou amamentando, para evitar vieses na avaliação.

Alguns estudos clínicos (SANTIAGO JUNIOR *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2004; JACOBI-GRESSER *et al.*, 2013) avaliaram o papel das interleucinas nas falhas dos implantes dentários, já que, após a cirurgia de instalação do implante, ocorre um crescimento dos níveis de interleucinas depois do primeiro dia devido à inflamação local gerada pelo trauma cirúrgico. Uma maior atividade de citocinas pró-inflamatórias poderia levar a um aumento do metabolismo ósseo, o que poderia aumentar a área de necrose óssea e consequentemente à falha do implante. A resposta do hospedeiro também contra a agressão bacteriana parece ser denominador comum nas doenças peri-implantares, bem como a compreensão dos processos genéticos. A resposta do hospedeiro à invasão bacteriana, inflamação, destruição tecidual e reparo tecidual é mediada por interações gene-gene e gene-ambiente. Existem evidências de que falhas em implantes dentários em certos subconjuntos de sujeitos podem indicar que características específicas do hospedeiro, como fatores genéticos, desempenham um papel no processo de osseointegração. A presença de *SNPs* em genes de citocinas é considerada um fator importante para a diversidade genética do hospedeiro, pois influencia a capacidade de produção das citocinas, alterando a expressão gênica da transcrição. Esses polimorfismos também podem atuar como um fator para a predisposição de doenças, de acordo com a expressão de interleucinas (SANTIAGO JUNIOR *et al.*, 2018). Assim, pesquisas sobre polimorfismos genéticos podem revelar fatores determinantes para o prognóstico da osseointegração, como a que foi executada neste trabalho.

Nesse contexto, algumas publicações sugerem que polimorfismos genéticos provavelmente interferem no processo da osseointegração, embora exista um efeito cumulativo de múltiplos polimorfismos, como foi relatado nos trabalhos de Santos *et al.* (2004) e Liao *et al.* (2014). Neste estudo, não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa na frequência de alelos e de genótipos polimórficos entre pacientes que perderam implantes e pacientes que não perderam e a presença dos polimorfismos de *IL-17*, *IL-23* e *IL-8*. Apesar de já ter sido demonstrado que existe um papel importante dessas interleucinas no processo de reparo ósseo, as alterações decorrentes dos polimorfismos destas não mostraram afetar negativamente o processo de osseointegração dos implantes, provavelmente por não interferir de forma tão importante na diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos e osteoclastos, o que poderia prejudicar a formação óssea sobre a superfície dos implantes.

Foi observado no grupo teste (grupo de perda de implantes) uma taxa de sucesso de osseointegração (*TSO*) média de 73%, sendo instalados um total de 151 implantes e perdidos 40 implantes. Essa taxa difere muito da média relatada na literatura, que é em torno de 96% (MUDDUGANGADHAR *et. al.*, 2015). Mesmo sendo casos onde outros fatores que geram perdas de implantes foram retirados, como implantes em áreas enxertadas, com torque baixo, pós-exodontia imediata, dentre outros, mesmo assim a taxa de sucesso foi bem abaixo. Nenhum paciente do grupo teste apresentou polimorfismo para *IL-17*. Quando comparadas as *TSO* dos implantes de pacientes que perderam implantes e não apresentaram polimorfismos (72,72%) com a de pacientes que perderam e apresentavam polimorfismos para *IL-8* (74,35%) e para *IL-23* (72,54%), foi observado que foram semelhantes. A presença destes polimorfismos isoladamente não mostrou alterar significativamente as perdas, porém, quando associados a outros possíveis fatores, como implantes instalados em áreas de densidade óssea mais baixa, como na região posterior da maxila, região que concentrou a maior parte das perdas (67,5%), pode ser um fator complicador para o processo de osseointegração. Em um dos casos, um paciente apresentou polimorfismos tanto para *IL-8* como para *IL-23*, sendo que neste caso foram instalados 05 implantes e perdidos 02 (*TSO* de 60%), além do fato que neste caso o paciente apresentava uma deformidade congênita em um dos membros superiores. A associação dos dois polimorfismos pode ter contribuído nessas perdas (*TSO* mais baixa).

Neste trabalho, em modelo de regressão logística multinomial, quando avaliada a razão de chances (*odds ratio*) das perdas de implantes pelos polimorfismos estudados, tanto os da *IL-17* como a *IL-23* apresentaram a mesma chance nos dois grupos, porém o genótipo polimórfico da *IL-8* mostrou aumentar em quase duas vezes (*OR* 1,82; *IC*95% = 0,61-5,45) a chance de perda de implantes (fator de risco). Outra causa importante nas perdas de implantes é a infecção pós-operatória no sítio cirúrgico. O alelo T (polimórfico) de *IL-8* -251 A/T (rs4073) está relacionado à diminuição da produção de *IL-8* e alteração do seu funcionamento (KHOSROPANAH *et al.*, 2013). A *IL-8* é a principal interleucina responsável pela imunidade inata contra infecções bacterianas, servindo como potente agente quimiotático de neutrófilos e linfócitos e potente fator angiogênico (Candel-Martí *et. al.*, 2011). Essa diferença pode indicar uma maior susceptibilidade de pacientes com esse polimorfismo desenvolverem infecções pós-operatórias, provavelmente por influenciar em um menor recrutamento de leucócitos para o sítio cirúrgico, papel biológico primário desta. Tal fato alteraria a defesa contra possíveis bactérias que tenham contaminado o local de instalação do implante, aumentando o risco de infecção pós-operatória. Candel-Martí *et. al.* (2011) mostraram que níveis aumentados da *IL-8* estão presentes em pacientes com peri-implantite, o que reforça a importância dessa

interleucina na prevenção dessa patologia. Outra possível explicação da alteração da osseointegração frente ao polimorfismo da *IL-8* se daria pela alteração do processo inflamatório local pela menor expressão dessa interleucina devido a este polimorfismo e uma diminuição do processo de neoformação óssea por redução da angiogênese local. Uma outra explicação pode ser também a expressão alterada *in vivo* da *IL-8* polimórfica possivelmente desencadeada por partículas de titânio microscopicamente dispersas no tecido, fato esse demonstrado no trabalho de Quabius *et al.* (2012).

Quando comparadas as frequências de alelos polimórficos no grupo teste para a *IL-8* com a frequência normal esperada na população global, foi observado no grupo teste uma frequência de 54% enquanto a frequência media normal esperada na população global é de 45%, o que mostra uma maior quantidade de pacientes neste estudo apresentando este polimorfismo. No estudo de De Souza *et al.* (2015), a qual utilizou uma amostra de população de etnia semelhante (estado do Ceará, Brasil), a frequência do genótipo homozigoto selvagem AA foi 14,91%, heterozigoto AT foi de 67,55% e de homozigoto polimórfico 17,54%. enquanto que neste estudo as frequências foram de homozigotos selvagens AA 20,68%, heterozigotos AT 36,02% e de homozigotos polimórficos TT 43,10%, sendo observado uma diferença nos dois trabalhos, com uma quantidade bem maior de pacientes homozigotos polimórficos neste estudo. Esta maior frequência na população deste estudo também poderia explicar o maior risco de perdas de implantes nestes pacientes.

Não foi encontrada diferença estatisticamente significante nas perdas de implantes entre os dois grupos e o polimorfismo de *IL-17*. Este achado difere do estudo de Kadkhodazadeh *et al.* (2013), o qual afirma que este polimorfismo pode contribuir para a patogênese da peri-implantite com perdas implantares e periodontite. Isto pode ser explicado pela baixa frequência deste polimorfismo na população deste estudo. Nenhum paciente do grupo teste (perdas de implantes) apresentou polimorfismo para esta interleucina e somente 02 pacientes no grupo controle apresentaram. Quando comparadas as frequências de alelos polimórficos no grupo teste para a *IL-17* com a frequência normal esperada na população global, foi observado no grupo teste uma frequência de 4% enquanto a frequência media normal esperada na população global é de 6,4%, sendo observado então uma quantidade menor. Apesar deste polimorfismo causar diminuição da produção desta interleucina e alteração da sua ação, levando a uma maior possibilidade de infecção pós-operatória e diminuição da formação óssea, isto não foi isoladamente suficiente para levar a uma alteração do processo de osseointegração.

Com relação ao polimorfismo de *IL-23*, este está relacionado a um aumento da produção desta interleucina. Uma percentagem alta de pacientes do grupo de perdas de implantes apresentaram a presença do alelo polimórfico C (54%). Quando comparada com a frequência normal esperada na população, que é de 29%, observa-se uma maior quantidade de pacientes neste estudo apresentando este polimorfismo. Isto poderia levar esses pacientes a um aumento da inflamação local por maior recrutamento de leucócitos e também a uma maior diferenciação de osteoclastos, outra ação da *IL-23* no sítio cirúrgico, aumentando a reabsorção óssea pós-operatória. Gravalles e Schett (2018) mostraram que a *IL-23* têm efeito osteoclastogênico, o que pode levar à diminuição da neoformação óssea sobre as superfícies dos implantes.

É importante que mais pesquisas, utilizando a mesma metodologia deste trabalho, sejam desenvolvidas em outros grupos populacionais para ajudar a responder as questões deste estudo, pois podem existir diferenças genéticas em etnias diferentes.

Um fator complicador deste trabalho foi a quantidade de pacientes avaliados, primeiro por conta da quantidade reduzida de indivíduos que perdem implantes bem como da dificuldade em se conseguir voluntários que aceitassem participar do estudo. Outro complicador da pesquisa foi a dificuldade em se isolar os outros vários fatores que estão associados a perdas de implantes para se evitar vieses, o que diminuiu ainda mais o tamanho da amostra.

O planejamento correto da técnica cirúrgica, o estudo da anatomia da região onde vai ser instalado o implante, a avaliação de fatores de risco pré-existentes, a estabilidade primária do implante no leito ósseo, a qualidade e a quantidade de tecido ósseo são indicados como fatores importantes envolvidos no sucesso do implante dentário. Portanto, ainda existem poucas evidências de que fatores genéticos possam levar à falha da reabilitação oral com implantes dentários. É importante que outros estudos de controles randomizados adicionais, com grande tamanho de amostra e avaliando outras interleucinas e proteínas envolvidas no processo de reparo ósseo na osseointegração de implantes, sejam conduzidos para determinar conclusivamente se existe possível efeito de fatores de risco genéticos na falha do implante e na perda óssea marginal. Essas descobertas podem ajudar a identificar os indivíduos com maior risco de perda do implante dentário, o que facilitaria a preparação de estratégias de prevenção e terapias individualizadas para aumentar as taxas de sobrevivência da reabilitação com implantes dentários. Mais pesquisas são necessárias para esclarecer o componente genético, sua função e sua interação com outros fatores de risco, que podem resultar em aumento da suscetibilidade de um paciente em perder implantes dentários.

9 CONCLUSÕES

Não foram observadas associações estatisticamente significantes entre a frequências genóticas dos polimorfismos de *IL-17* 7488 A/G, *IL-23* 2199 A/C e *IL-8* 251 A/T e perdas de implantes dentários na população avaliada neste estudo. Porém, em modelo de regressão logística multinomial, o polimorfismo de *IL-8* 251 A/T mostrou ser fator de risco para perdas de implantes (*OR* 1,82 , *IC95%* = 0,61 – 5,45). Isto pode ser explicado pelo papel biológico desta interleucina e os efeitos deste polimorfismo no fenótipo dos pacientes portadores deste. A *IL-8* é a principal interleucina responsável pela imunidade inata contra infecções bacterianas, servindo como potente agente quimiotático de neutrófilos e linfócitos e potente fator angiogênico. O genótipo polimórfico de *IL-8* -251 A/T (rs4073) está relacionado à uma diminuição da produção de *IL-8* e alteração do seu funcionamento, podendo levar à maior susceptibilidade de pacientes com esse polimorfismo a desenvolverem infecções pós-operatórias, alteração do processo inflamatório local pela diminuição da expressão dessa interleucina e diminuição do processo de neoformação óssea por redução da angiogênese local.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.; LICHTMAN, A. **Imunologia celular e molecular**. Rio de Janeiro, Elsevier. 2012.
- ADAMOPOULOS, I. E. *et al.* IL-23 is critical for induction of arthritis, osteoclast formation, and maintenance of bone mass. **J Immunol.**, v. 187, n. 2, p. 951-9, 15 jul. 2011. doi: 10.4049/jimmunol.1003986.
- ADELL R. *et al.* A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. **Int J Oral Surg [Internet]**., v. 10, n 6, p. 387-416, 1981.
- ALBREKTSSON, T.; SENNERBY, L.; WENNERBERG, A. State of the art of oral implants. **Periodontol [Internet]**, n. 47, p. 15-26, 2000.
- ATA-ALI, J. *et al.* What is the impact of bisphosphonate therapy upon dental implant survival? A systematic review and meta-analysis. **Clin Oral Implants Res [Internet]**., n/a – n/a, 2014.
- BORON, D. *et al.* Polymorphism of interleukin-17 and its relation to mineral density of bones in perimenopausal women. **Eur J Med Res.**, v. 19, p. 69, 16 dez. 2014. doi: 10.1186/s40001-014-0069-1.
- BRANEMARK, P.I. *et al.* Osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw: experience from a 10 year period. **Scand J. Plast. Reconstr. Surg.**, v. 2, p. 1-132, 1977. (suppl 10).
- BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012**. Disponível em: http://conselho.saude.gov.br/ultimas_noticias/2013/06_jun_14_publicada_resolucao.html. Acesso em: 16 fev. 2019.
- CAETANO-LOPES, J.; CANHAO, H. Osteoimmunology--the hidden immune regulation of bone. **Autoimmun Rev.**, v. 8, n. 3, p. 250-255, 2009.
- CAMPOS, M. I. G. *et al.* Early Failure of Dental Implants and TNF- α (G-308A) Gene Polymorphism. **Implant Dent.**, v. 13, n. 1, p. 95-101, 2004.
- CAMPOS, M. I. G. *et al.* Evaluation of the relationship between interleukin-1 gene cluster polymorphisms and early implant failure in non-smoking patients. **Clin Oral Implants Res.**, v. 16, n. 2, p. 194-201, 2005.
- CAMPOS, M. I. G. *et al.* Interleukin-2 and Interleukin-6 Gene Promoter Polymorphisms, and Early Failure of Dental Implants. **Implant Dent.**, v. 14, n. 4, p. 391-8, 2005.
- CANDEL-MARTÍ, M. E. *et al.* Interleukins IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 and periimplant disease. An update. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.**, v. 16, n. 4, p. e518-21, 1 jul. 2011.
- CARDOSO, C. L. **Análise morfológica e molecular da alveolite induzida em ratos com diferentes modalidades de tratamento**. Dissertação. Universidade de São Paulo, 2009.
- CHAUDHARI, H. L. *et al.* Association of Interleukin-17 polymorphism (-197G/A) in chronic

and localized aggressive periodontitis. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 30, n. 1, e26, 2016.

CHEN, Xing & Huang. *et al.* Quantitative Assessment of the Associations Between Interleukin-8 Polymorphisms and Periodontitis Susceptibility. **Journal of Periodontology**, n. 86, p. 1-16, 2014. 10.1902/jop.2014.140450.

CHENG, H. *et al.* Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). **J Bone Joint Surg Am.**, v. 85-A, n. 8, p. 1544-52, 2003.

CHRCANOVIC, B. R.; ALBREKTSSON, T.; WENNERBERG, A. Reasons for failures of oral plants. **J Oral Rehabil.**, v. 41, n. 6, p. 443-76, 2014.

COSTA-JUNIOR, F. R. *et al.* Influence of MMP-8 promoter polymorphism in early osseointegrated implant failure. **Clin Oral Investig.**, v. 17, n. 1, p. 311-6, 2013.

DE SOUZA, M.S.Q.A. Susceptibilidade genética so desenvolvimento de osteomielite associada aos polimorfismo: IL1RN VNTR, IL1B-511C>T, IL8 -215A>T, IL6 -174G>C, TNFA -308G>A e a mutação CCR5delta32. 2015. Tese (Doutorado em Microbiologia Médica) - Universidade Federal do Ceará.

DEREKA, X. *et al.* Asystematic review on the association between genetic predisposition and dental implant biological complications. **Clin Oral Implants Res.**, v. 23, p. :775-788, 2012.

DIMITRIOU, R. *et al.* Genetic predisposition to fracture non-union: a case control study of a preliminary single nucleotide polymorphisms analysis of the BMP pathway. **BMC Musculoskelet Disord [Internet]**., BioMed Central Ltda., v. 12, n. 1, p. 44, 2011.

DIMITRIOU, R. *et al.* Genetic predisposition to non-union: Evidence today. **Injury [Internet]**., Elsevier Ltd., v. 44, p. S50–3, 2013. (Suppl.1).

DIMITRIOU, R.; TSIRIDIS, E.; GIANNOUDIS, P. V. Current concepts of molecular aspects of bone healing. **Injury**, v. 36, n. 12, p. 1392-404, 2005.

DINARELLO, C. A. Proinflammatory cytokines. **Chest**. v. 118, n. 2, p. 503-508, 2000.

DIRSCHNABEL, A. J. *et al.* Analysis of the association of IL1B(C-511T) polymorphism with dental implant loss and the clusterization phenomenon. **Clin Oral Implants Res.**, v. 22, n. 11, p. 1235-41, 2011.

DRAGO, C.; CARPENTIERI, J. Treatment of maxillary jaws with dental implants: guidelines for treatment. **J Prosthodont [Internet]**., v. 20, n. 5, p. 336-47, 2011.

EMAMI, S. *et al.* IL23R gene polymorphism with juvenile idiopathic arthritis and its association with serum IL-17A. **Int J Rheum Dis**, v. 19, p. 1189-1196, 2016. doi:10.1111/1756-185X.12674.

ERKOL, İ. E. *et al.* Associations between polymorphisms of IL-17F and IL-17A genes with disease activity and clinical outcome of Ankylosing Spondylitis. **Acta Reumatol Port.**, v. 41, n. 3, p. 232-239, jul./sep. 2016.

FREEDMAN, B. I. *et al.* Bone morphogenetic protein 7 (BMP7) gene polymorphisms are associated with inverse relationships between vascular calcification and BMD: the Diabetes

Heart Study. **J Bone Miner Res.**, v. 24, n. 10, p. 1719-27, 2009.

GRAVALLESE, E. M.; SCHETT, G. Effects of the IL-23–IL-17 pathway on bone in spondyloarthritis. **Nat Rev Rheumatol [Internet]**, Springer US, v. 14, n. 11, p. 631–40, 2018.

GÖRÜKMEZ, Ö; YAKUT, T. Associations between polymorphisms of IL-17F and IL-17A genes with disease activity and clinical outcome of Ankylosing Spondylitis. **Acta Reumatol Port.**, v. 41, n. 3, p. 232-239, jul./sep. 2016. PubMed PMID: 27155445.

GUIMARA, M. I., *et al.* of Dental Implants. **Implant Dent.**, v. 14, n. 4, p. 391-8, 2005.

HOCHMAN, Bernardo *et al.* Desenhos de pesquisa. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 20, p. 2-9, 2005. (supl. 2).

HUANG, Y. H. *et al.* Bone morphogenetic proteins and osseointegration: current knowledge - future possibilities. **Periodontol.**, v. 47, p. 206–23, 2000.

JACOBI-GRESSER, E.; HUESKER, K.; SCHÜTT, S. Genetic and immunological markers predict titanium implant failure: A retrospective study. **Int J Oral Maxillofac Surg.**, v. 42, n. 4, p. 537-43, 2013.

JENSEN, E. D. *et al.* Bone morphogenic protein 2 directly enhances differentiation of murine osteoclast precursors. **Journal of Cellular Biochemistry.**, v. 109, n. 4, p. 672-82, 2010.

KADKHODAZADEH, M. *et al.* IL-17 gene polymorphism is associated with chronic periodontitis and peri-implantitis in Iranian patients: a cross-sectional study. **Immunological Investigations**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 156-163, 2013.

KALYVAS, D. G.; TARENIDOU, M. Influence of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on osseointegration. **J Oral Sci.**, v. 50, n. 3, p. 239-246, 2008.

KHOSROPANAH, H. *et al.* Association of IL-8 (-251 a/t) gene polymorphism with clinical parameters and chronic periodontitis. **J Dent (Tehran).**, v. 10, n. 4, p. 312-318, 2013.

LACEY, D. C. *et al.* Proinflammatory cytokines inhibit osteogenic differentiation from stem cells: implications for bone repair during inflammation. 2009. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 17, n. 6, p. 735-742, 1998.

LE, A. X. *et al.* Molecular aspects of healing in stabilized and non-stabilized fractures. **J Orthop Res [Internet]**. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, v. 19, n. 1, p. 78-84, 2001.

LEITE, M. F. F. *et al.* **Osseointegrated implant failure associated with MMP-1 Promotor Polymorphisms**, (-1607 and -519), 2007.

LIAO, J. *et al.* Meta-analysis of the association between common interleukin-1 polymorphisms and dental implant failure. **Mol Biol Rep.**, v. 41, n. 5, p. 2789-98, may 2014. doi: 10.1007/s11033-014-3133-6. Epub 2014 Jan. 23.

LORENZO, J. *et al.* Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. **Endocr**

Rev. v. 29, n. 4, p. 403-440, 2008.

MILLER, S. A.; DYKES, D.D.; POLESKY, H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucl Acids Res.**, v. 16, n. 3, p. 1215, 1988.

MILLS, L. A.; SIMPSON, A.H. "In vivo models of bone repair." **J Bone Joint Surg Br**, v. 94, n. 7, p. 865-874, 2012.

MONTES, C. C. *et al.* Analysis of the association of IL1B (C+3954T) and IL1RN (intron 2) polymorphisms with dental implant loss in a Brazilian population. **Clin Oral Implants Res.**, v. 20, n. 2, p. 208-17, 2009.

MUDDUGANGADHAR, B. C. *et al.* Meta-analysis of Failure and Survival Rate of Implant-supported Single Crowns, Fixed Partial Denture, and Implant Tooth-supported Protheses. **J Int Oral Heal JIOH.**, v. 7, n. 9, p. 11-7, 2015.

NAGEM FILHO, H. *et al.* Biologia e mecanismo bioquímico ósseo durante a osseointegração. **Full Dentistry In Science**, v. 3, n. 9, p. 34-9, 2011.

NASCIMENTO, I. L. O. Pesquisa de interferon gama em tecido periodontal de ratos submetidos à movimentação dentária induzida. **Rev. Dental Press Ortodon Ortop Facial.**, v. 14, n. 2, p. 39-44, 2009.

NHLBI's Trans-Omics for Precision Medicine TOPMed Whole Genome Sequencing WGS Project

NI, X. B. *et al.* Comprehensive analysis of interleukin-8 gene polymorphisms and periodontitis susceptibility. **Oncotarget.**, v. 8, n. 30, p. 48996-49004, 2017.
doi:10.18632/oncotarget.16922

NOWZARI, H.; BOTERO, J. E. Microbiology and cytokine levels around healthy dental implants and teeth. **Clin Implant Dent Relat Res.**, v. 10, n. 3, p. 166-173, 2008.

OLIVEIRA, R. R. *et al.* "Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: cytokine profile in gingival crevicular fluid, preliminary results". **J Periodontol.**, v. 80, n. 1, p. 98-105, 2009.

ONO, T. *et al.* IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells enhance bone regeneration. **Nat. Commun.**, v. 7, p. 10928, 2017.

PIGOSSI, S. C. *et al.* Genetic association study between Interleukin 10 gene and dental implant loss. **Arch Oral Biol.** v. 57, n. 9, p. 1256-63, 2012.

QUABIUS, E. S. *et al.* Dental implants stimulate expression of Interleukin-8 and its receptor in human blood - An in vitro approach. **J Biomed Mater Res Part B**, v. 100B, p. 1283-1288, 2012.

RIBEIRO, Rodrigo *et al.* Polymorphisms of Il-10 (-1082) and RANKL (-438) genes and the Failure of Dental Implants. **International Journal of Dentistry**, v. 2017, article ID 3901368, 6 pages, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2017/3901368>. Acesso em: 14 fev. 2019.

ROGERS, M. A. *et al.* Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants? **J Periodontol.** v. 37, p. 37-41, 2002.

ROSSETTI, P.; NAPIMOGA, M. **Osteoimunologia**: o papel do sistema imunológico no tecido ósseo. 16 jun. 2015. Disponível em: <http://www.inpn.com.br/ProteseNews/Materia/Index/132042>. Acesso em: 14 fev. 2019.

SANTIAGO JUNIOR, J. *et al.* Can genetic factors compromise the success of dental implants? A systematic review and meta-analysis. **Genes**, v. 9, n. 9, p. 444, 2018.

SANTOS, M. C. L. G. *et al.* Analysis of the transforming growth factor-beta 1 gene promoter polymorphisms in early osseointegrated implant failure. **Implant Dent.** v. 13, n. 3, p. 262-9, 2004.

SHIMPUKU, H.; NOSAKA, Y.; KAWAMURA, T. Implants and early marginal bone loss around. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 18, n. 4, 2003.

SILVA, I. I. F. G. *et al.* Interleukin (IL)-23 Receptor, IL-17A and IL-17F Gene Polymorphisms in Brazilian Patients with Rheumatoid ArthritisArch. **Immunol. Ther. Exp.**, v. 65, p. 537, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00005-017-0473-7>. Acesso em: 14 fev. 2019.

SIMMONS, *et al.* "Proinflammatory cytokines inhibit osteogenic differentiation from stem cells: implications for bone repair during inflammation". **Osteoarthritis Cartilage**, v. 17, n. 6, p. 735-742, 2009.

TAKAYANAGI, H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. **Nat Rev Immunol.**, v. 7, n. 4, p. 292-304, 2007.

The Genome Aggregation Database (gnomAD)

TREVILATTO, P. C.; LINE, S. R. P. Analysis of MMP-1 and MMP-9 Promoter. **Osseointegrated.**, v. 19, n. 1, p. 38-44, 2004.

TREVILATTO, P. C.; LINE, S. R. P. Use of buccal epithelial cells for PCR amplification of large DNA fragments. **J Forensic Odontostomatol.**, v. 18, n. 1, p. 6-9, 2000.

TWITO, D.; SADE, P. The effect of cigarette smoking habits on the outcome of dental implant treatment. **PeerJ.**, v. 2, p. e546, 2014. Published 2014 Sep 2. doi:10.7717/peerj.546

VIEIRA, Andreia Espíndola. **Caracterização morfolométrica e molecular do papel de citocinas pró e anti-inflamatórias no processo de reparo ósseo alveolar em condições homeostáticas e infecciosas.** 2013. Tese (Doutorado em Estomatologia e Biologia Oral) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2013.

WILSON, T. G.; NUNN, M. The relationship between the interleukin-1 periodontal genotype and implant loss. Initial data. **J Periodontol.** v. 70, p. 724-729, 1999.

YANG, A. *et al.* IL-8 Enhances Therapeutic Effects of BMSCs on Bone Regeneration via CXCR2-Mediated PI3k/Akt Signaling Pathway. **Cell Physiol Biochem.**, v. 48, p. 361-370, 2018. doi: 10.1159/000491742.

ANEXOS

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa Associação entre perdas de implantes dentários e polimorfismos em genes associados à resposta inflamatória e ao reparo do tecido ósseo. O motivo que nos leva a estudar o problema em questão é pelo pouco conhecimento sobre as causas de perdas de implantes. O objetivo desse estudo é verificar o papel dos polimorfismos em genes relacionados à resposta inflamatória e ao sistema de reparo ósseo associado a perdas de implantes dentários.

O(os) procedimento(s) de coleta dados será da seguinte forma: logo antes dos atendimento clínico e cirurgia de instalação de implantes pela equipe de professores da Associação Brasileira de Odontologia – Seção Ceará, serão colhidos 5ml de sangue para avaliação da presença de polimorfismos genéticos e para doação ao HEMOCE.

DESCONFORTOS E RISCOS E BENEFÍCIOS: O desconforto existente é a coleta de sangue como se fosse para um exame de sangue de rotina, sendo minimizada por ser realizada por um profissional de enfermagem experiente em coleta sanguínea. A pesquisa se justifica pelo benefício de aquisição do conhecimento sobre as causas de perdas de implantes.

FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSINTÊNCIA: Você será acompanhado(a) pela equipe de professores da Associação Brasileira de Odontologia – Seção Ceará, independente da participação ou retirada do estudo.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA

DE SIGILO: Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios.

O(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa serão para você e permanecerão confidenciais. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia desse consentimento informado será arquivada na Associação Brasileira de Odontologia – Seção Ceará e outra fornecida a você.

CUSTOS DA PARTICIPAÇÃO, RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO POR EVENTUAIS DANOS: A participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional.

ANEXO B - DECLARAÇÃO DO PARTICIPANTE OU DO RESPONSÁVEL PELO PARTICIPANTE

Eu, _____, fui informado(a)(o) dos objetivos da pesquisa acima, de maneira clara e detalhada, e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e motivar minha decisão, se assim o desejar. O pesquisador Raimundo Thompson Gonçalves Filho certifica-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais.

Também sei que, caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dúvidas, poderei chamar o professor orientador no telefone (85) 3486-6249 / 988977562.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia desse termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

O sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido –TCLE– apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

O pesquisador responsável deverá, da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido –TCLE– apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Nome do participante	Assinatura do Participante/Responsável	Impressão Datiloscópica	Data
Raimundo Thompson Gonçalves Filho	Assinatura do Pesquisador		Data

Em caso de dúvida em relação a esse documento, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (FAMETRO), no endereço R. Conselheiro Estelita, 500 - Fortaleza, Ceará, ou pelo telefone (85) 3206-6417.

ANEXO C - FICHA CLINICA DO PROJETO

**FICHA CLINICA DO PROJETO: ASSOCIAÇÃO ENTRE PERDAS DE
IMPLANTES DENTÁRIOS E POLIMORFISMOS EM GENES
ASSOCIADOS À RESPOSTA INFLAMATÓRIA E AO REPARO DO
TECIDO ÓSSEO**

<i>Identificação</i>			
Nome: _____			
Residência: _____			
Bairro: _____	CEP: _____	Cidade/UF: _____	Tel: () _____
End. Com: _____		Tel: () _____	
Nasc.: _____	Sexo: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	Est. Civil: _____	
R.G: _____	CPF: _____	Profissão: _____	
Motivo da Consulta: _____			

<i>História Médica</i>			
01) Está ou esteve recentemente sob cuidados médicos?			
Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>	Por quê? _____	
02) Mesmo não estando em tratamento, está tomando algum medicamento?			
Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>	Qual (is)? _____	
03) Já foi acometido de algumas destas doenças ?			
<input type="checkbox"/> Anemia	<input type="checkbox"/> Hepatite	<input type="checkbox"/> Diabete	<input type="checkbox"/> Nefrite
<input type="checkbox"/> Úlcera	<input type="checkbox"/> Tuberculose	<input type="checkbox"/> Febre Reumática	<input type="checkbox"/> Epilepsia
<input type="checkbox"/> Sífilis	<input type="checkbox"/> Doença de Chagas	<input type="checkbox"/> Hemofilia	<input type="checkbox"/> Hipertensão
<input type="checkbox"/> Problemas Cardíacos	<input type="checkbox"/> Distúrbios Psíquicos	<input type="checkbox"/> Problemas Hepáticos	<input type="checkbox"/> Sinusite
<input type="checkbox"/> Doença Met. Óssea (Osteoporose)			
04) Você tem alguma outra doença, condição ou problema não citado acima? _____			
05) Toma habitualmente bebidas alcoólicas?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
06) Sente frequentes náuseas?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
07) A salivação é abundante?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
08) Sente frequentemente falta de ar?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
09) Tem alguma alergia?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	A que? _____
10) Já teve problemas hemorrágicos?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
11) Já teve problemas de cicatrização?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
12) Seus tornozelos incham?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Quando? _____
13) Quando recebe anestésicos p/ tratamento odontológico sente-se mal?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
14) Tabagista?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Quanto por dia? _____
15) Está grávida?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	De quantos meses? _____

Declaro que o respondido acima é verdadeiro.

_____, ____ de _____ de _____. Assinatura do Paciente _____

Exame Bucal

Examine os tecidos mole e duro da cavidade bucal e anote as anormalidades.

Anote as ausências dentais (A).

<i>Superior Direito</i>							<i>Superior Esquerdo</i>						
17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
<i>Inferior Direito</i>							<i>Inferior Esquerdo</i>						

PREPARAÇÃO PRÉVIA DO PACIENTE

<input type="checkbox"/> Provisória Fixa	<input type="checkbox"/> Provisória Removível	<input type="checkbox"/> Provisória Total
<input type="checkbox"/> Exodontia:		
<input type="checkbox"/> Enxerto Ósseo Onlay	<input type="checkbox"/> Levantamento de Assoalho de Seio Maxilar	
<input type="checkbox"/> Enxerto Livre de Gengiva	<input type="checkbox"/> Tratamento Periodontal	
<input type="checkbox"/> Movimentação Ortodôntica	<input type="checkbox"/> Tratamento Endodôntico	
<input type="checkbox"/> Outros		

IMPRESSÃO DIAGNÓSTICA

Favorável Reservado Desfavorável

Porquê? _____

Planejamento e Seleção dos Implantes

	<i>Superior Direito</i>							<i>Superior Esquerdo</i>						
	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
Diâmetro														
Comprimento														
Comprimento														
Diâmetro														
	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
	<i>Inferior Direito</i>							<i>Inferior Esquerdo</i>						

ANEXO D - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

ACADEMIA CEARENSE DE
ODONTOLOGIA - ACO/
CENTRO DE EDUCAÇÃO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASSOCIAÇÃO ENTRE PERDAS DE IMPLANTES DENTÁRIOS E POLIMORFISMOS EM GENES ASSOCIADOS À RESPOSTA INFLAMATÓRIA E AO REPARO DO TECIDO ÓSSEO

Pesquisador: RAIMUNDO THOMPSON GONÇALVES FILHO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 55420016.7.3001.5034

Instituição Proponente: EMPREENDIMENTO EDUCACIONAL MARACANAÚ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.872.161

Apresentação do Projeto:

Os implantes osseointegráveis consistem no tratamento de escolha para substituir perdas dentárias. Apesar da alta taxa de sucesso no tratamento, alguns pacientes apresentam falhas no processo normal de osseointegração. A complexidade de se encontrar a etiologia para perdas de implantes naqueles casos onde todos os outros possíveis fatores foram cuidadosamente controlados é ainda um desafio. A identificação da predisposição do paciente a este tipo de acontecimento por meio da análise integrada que associa polimorfismos genéticos do hospedeiro e análise do nível de expressão gênica, abre novas possibilidades diagnósticas. De fato, alguns trabalhos mostram que polimorfismos genéticos influenciam no processo de osseointegração. O objetivo deste estudo será verificar o papel dos polimorfismos em genes relacionados à resposta inflamatória (IL-2 (-330); IL-6 (-174); IL-1A (-889); IL-1B (+3953)) e ao sistema de reparo ósseo BMPs pathway: BMP-2 (rs1005464; rs235768; rs23576), BMP-7 (rs4811822; rs1475000; rs186659), NOGGIN (rs1442828; rs1372857; rs9915822) e SMAD6 (rs2053423; rs2119261; rs3934908), nas perdas de implantes. **Materiais e Métodos:** A população de nossa pesquisa será de pacientes atendidos na Associação Brasileira de Odontologia seção Ceará em um período de 24 meses. Da nossa população inicial iremos retirar a nossa amostra que irá ser composta por três grupos: Grupo 1 (grupo teste) - composto de 25 pacientes que serão submetidos à cirurgia de

Endereço: Av. Sabino do Monte, 3580

Bairro: Tauapé

CEP: 60.120-230

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3272-7776

Fax: (85)3272-7776

E-mail: cep@aco.org.br