

ACIR JOSÉ DIRSCHNABEL

Análise da associação do polimorfismo *IL1B* (C-511T) com a perda de implantes dentais e o fenômeno de clusterização

CURITIBA

2010

ACIR JOSÉ DIRSCHNABEL

Análise da associação do polimorfismo *IL1B* (C-511T) com a perda de implantes dentais e o fenômeno de clusterização

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO) do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Odontologia, Área de Concentração Estomatologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Paula Cristina Trevilatto

CURITIBA

2010

Dedicatória

A Deus, por me fortalecer diante de cada dificuldade,
por me conceder a oportunidade de cuidar da saúde
daqueles que realmente necessitam,
por minha saúde física e equilíbrio espiritual,
e pelo dom da vida!

À minha mãe Alcioneé, por maior que seja a distância que separa nossas vidas,
e mais longo seja o tempo, que aumenta cada vez mais a saudade de ti,
tenho certeza de que, em algum lugar, estará comemorando esta vitória comigo.

Vitória sua também, mais sua que minha, eu diria!
Devido aos ensinamentos, à sua dedicação, ao seu amor
e àqueles carinhos dos quais jamais esquecerei,
consegui chegar até aqui.
Com muito amor, dedico a você!

Ao meu Pai, João Dirschnabel, por me respeitar em minhas decisões,
por preocupar-se com meu bem estar,
pelo carinho e pelo companheirismo
diante dos momentos mais difíceis de nossas vidas,
por me compreender em todos os meus momentos
e apesar das divergências que muitas vezes nos distanciaram,
estar sempre ao meu lado e pronto para me ajudar.
Com muito amor e eterna gratidão, dedico a você!

Agradecimentos especiais

À **Prof^a. Dr^a. Paula Cristina Trevilatto**, a minha orientadora Paula, pessoa a quem muito admiro e profissional na qual me espelho.

Agradeço pelo aceite no desafio de me orientar a desenvolver esta Tese de Doutorado, por me ensinar cada letra de uma nova linguagem (a genética), pela dedicação, pelos ensinamentos, pela orientação e por sua paciência nas nossas reuniões nas tardes das sextas-feiras.

Agradeço também pela amizade (da Paula e do André), pelos momentos de confraternização, de descontração e pelo enorme carinho que demonstra por todos os seus orientados.

Aos colegas **Prof. Dr. Fabiano Alvim Pereira** e **Prof^a. Dr^a. Cláudia Cristina Montes** pela amizade e confiança em meu trabalho, e pela utilização da amostra coletada por vocês.

Agradecimentos aos parentes e amigos

À toda a minha família, meus pais, meus irmãos (de moradia em Curitiba e Florianópolis), meus tios, primos e meus amigos, agradeço à Deus, por vocês estarem presente em minha vida, e me darem suporte para eu enfrentar todas as dificuldades.

À minha “mãezona” Ana Maria dos Santos e toda sua família, pela dedicação, carinho, compreensão e amor dedicado. Agradeço por fazer parte de minha família, e por me fazer sentir seu filho de verdade, isso foi fundamental para que eu chegasse até aqui.

Ao meu padrinho Acir Leopoldino Zenoni (Zico), cirurgião-dentista que, desde a minha infância, despertou em mim a curiosidade pelos pequeninos aparelhos utilizados na odontologia, e hoje, além de meu conselheiro, é uma pessoa fundamental para meu sucesso pessoal e profissional.

À minha madrinha Rosemari Zenoni (Madi), pessoa que considero um exemplo de vida, exemplo de trabalho, exemplo de família, de dedicação, dignidade e honestidade. Minha madrinha, além de uma mãe espiritual, você é mais um dos motivos pelos quais eu cheguei até aqui.

À minha namorada Vanessa Bacelar de Souza, por todo o amor, carinho e dedicação neste último ano de Doutorado, agradeço por sua compreensão e por compartilhar meus momentos de ‘stress’.

Agradecimentos

Ao Reitor da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, **Professor Ivo Clemente Juliatto**, ao Decano do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, **Professor Alberto Accioly Veiga** e ao Diretor do Curso de Odontologia, **Professor Monir Tacla**, pelo acolhimento nesta instituição de ensino superior.

Ao Diretor do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, **Prof. Dr. Sérgio Vieira**, pela confiança, amizade e atenção dispensada.

Ao **Prof. Dr. Paulo Henrique Couto Souza** pela coordenação da área de concentração em Estomatologia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - **CNPq**, pelo auxílio financeiro no desenvolvimento desta pesquisa.

À Neodent® Implante Osseointegrável, na pessoa do **Prof. Geninho Thomé**, pelo auxílio financeiro no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao **Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico - ILAPEO**, pela disponibilização do acervo de prontuários e atendimento dos pacientes selecionados para a amostra.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia - PPGO, que com muita dedicação nos transmitiram muitos ensinamentos, entre estes a importância da constante renovação dos conhecimentos. **Prof^a. Dr^a. Ana Maria Trindade Grégio, Prof^a. Dr^a. Beatriz Helena Sottile França, Prof. Dr. Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa, Prof. Dr. Fernando Henrique Westphalen, Prof. Dr. Julio Cezar Bisinelli, Prof^a. Dr^a. Luciana Reis Azevedo Alanis, Prof^a. Dr^a. Marina de Oliveira Ribas, Prof^a. Dr^a. Paula Cristina Trevilatto, Prof. Dr. Paulo Henrique Couto Souza, Prof. Dr. Rodrigo Nunes Rached, Prof. Dr. Samuel Jorge Moysés, Prof. Dr. Sérgio Aparecido Ignácio, Prof^a. Dr^a. Simone Tetu Moysés, Prof. Dr. Wilson Denis Benato Martins.**

Ao aluno de PIBIC **José Fábio Bernardino** pela indispensável ajuda e acompanhamento durante a parte laboratorial deste estudo.

À **Prof^a. Dr^a. Márcia Olandonski**, pela orientação durante a realização da análise estatística desse estudo.

Ao **Prof. Dr. Fábio Rueda Faucz**, por disponibilizar o laboratório todas as vezes que precisamos e ao aluno de Mestrado **Rodrigo**, por esclarecer minhas dúvidas mais essenciais no laboratório.

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação PUCPR, **Neide Reis Borges, Alcione Aparecida Slucovieski, Fabíola Ferreira dos Santos e Erli Ivanilde Bianco**, pela atenção e auxílio durante todo o curso.

Aos professores componentes da banca de qualificação da Tese, **Prof^a. Dr^a. Paula Cristina Trevilatto, Prof. Dr. Sung Hyun Kim, Prof^a. Dr^a. Luciana Reis de Azevedo, Prof. Dr. Vinícius Augusto Tramontina**, por suas importantes sugestões que foram de grande valia para o engrandecimento deste trabalho.

À **Prof^a. Dr^a. Maria Cristina Leme Godoy dos Santos** por aceitar fazer parte da banca examinadora e despende seu valioso tempo com esta tese, enriquecendo-a sobremaneira.

À amiga **Lúcia Fátima de Castro Ávila** pela grandiosa amizade, por todos seus ensinamentos e conselhos e por me dar a oportunidade de aplicar todo o conhecimento adquirido até aqui.

À **Prof^a. Dr^a. Denise Maria Belliard Oleiniski**, por toda sua ajuda e por me ensinar a aplicar meu conhecimento nas aulas da graduação da UFSC, fazendo-me sentir realmente Professor de Estomatologia.

Aos amigos da pós-graduação em Ciências da Saúde da PUCPR, **Fabiano, Cláudia, Ana Paula, Cléber, Sônia, Andréa, Giovana, João Armando, Luciana e Maria Luiza** pela amizade e grande ajuda que prestaram a mim durante estes quatro anos.

Aos amigos da pós-graduação em Odontologia/Estomatologia da PUCPR, **Alessandra, Carla, Cíntia, Fernando, Ivana, Lauren, Lúcia, Luis Carlos (Gambus), Magna, Maria Helena, Mônica, Rosana, Sheila e Tatiana** pela amizade e momentos de aprendizado que pudemos compartilhar.

Aos **alunos de graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina**, os quais fazem parte da realização de um sonho: “ser professor”. Sem vocês, o meu esforço não teria sentido algum.

A todos os pacientes que fizeram parte da amostra desta pesquisa.

A todas as pessoas que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a realização desta pesquisa.

**”Pensamos demasiadamente
Sentimos muito pouco
Necessitamos mais de humildade
Que de máquinas.
Mais de bondade e ternura
Que de inteligência.
Sem isso,
A vida se tornará violenta e
Tudo se perderá.”**

Charles Spencer Chaplin

SUMÁRIO

SUMÁRIO

RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	5
PROPOSIÇÃO.....	7
ARTIGO EM PORTUGUÊS.....	9
ARTIGO EM INGLÊS.....	39
CONCLUSÃO.....	68
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	70
ANEXOS.....	72

RESUMO

Resumo

Implantes dentais osseointegráveis têm demonstrado uma ascensão em sua utilização clínica nos últimos anos. Trata-se de uma importante opção para reabilitar pacientes que apresentam dentes ausentes, considerando os aspectos funcionais e estéticos. O fenômeno da concentração das perdas de implantes em certos indivíduos, denominado clusterização, pode indicar que a resposta imuno-inflamatória do hospedeiro, em conjunto com o processo de osseointegração, são influenciados por fatores genéticos. Considerando que a interleucina-1 (IL-1) é um mediador-chave no processo inflamatório, genes *IL1* podem ser considerados genes candidatos funcionais como fatores de risco para o controle da susceptibilidade à falha de implantes dentais. Polimorfismos (variações na seqüência gênica) localizados na região promotora do gene podem ter um impacto nos níveis de expressão da proteína, sendo considerados, por isso, polimorfismos funcionais. O polimorfismo *IL1B* (C-511T) influencia os níveis de expressão da citocina IL-1 β . Portanto, este estudo objetiva investigar a associação entre o polimorfismo *IL1B* (C-511T) e a perda de implantes dentais osseointegráveis em uma população brasileira. A amostra foi composta de 277 pacientes não-aparentados, de ambos os sexos, com média de idade 53,63 \pm 11,14, divididos em: *Grupo Teste (GT)* - 92 indivíduos que perderam implantes, e *Grupo Controle (CG)* - 185 indivíduos com pelo menos um implante em função por pelo menos seis meses e sem nenhuma perda de implantes. Condições socioeconômicas, condições de saúde geral, padrões de higiene bucal e parâmetros clínicos odontológicos, como número de dentes e condições periodontais, foram analisados. O DNA coletado de células da mucosa bucal foi analisado por PCR-RFLP. Entre os dados clínicos avaliados, foi verificada uma diferença estatisticamente significativa (DES) entre os grupos em relação ao tratamento médico ($p=0,040$). Edentulismo apresentou DES entre os grupos ($p=0,019$), sendo mais frequente no GC (18%, 34/185) que no GT (8%, 7/92). Contudo, a média do número de implantes instalados foi maior no GT (5,82 \pm 3,65) que no CG (4,44 \pm 3,12) ($p=0,001$). Com relação ao polimorfismo *IL1B* (-511), não foi observada diferença estatisticamente significativa (NDS) entre GT e GC na frequência genotípica ($p=0,279$) ou na frequência alélica ($p=0,168$).

Quando indivíduos que apresentaram apenas uma ou nenhuma perda de implantes (n=254) foram comparados com pacientes que apresentaram dois ou mais implantes perdidos ou com perdas consecutivas (perdas múltiplas) (n=23), novamente NDS foi observada entre os grupos na frequência genotípica ($p=0,083$) e na distribuição alélica ($p=0,838$). Apesar de não estatisticamente significativa, os resultados sugerem que existe um componente genético que modula a susceptibilidade a perdas múltiplas de implantes (clusterização). A análise por meio de haplótipos poderá fornecer informações valiosas, uma vez que existem três genes principais localizados no braço longo do cromossomo 2, que codificam a IL-1 envolvida na modulação do processo de osseointegração.

ABSTRACT

Abstract

Endosteous dental implants have been applied in a crescent way. It consists in one of the most used alternatives to replace lost teeth in terms of function and aesthetics. The knowledge that implant loss tends to cluster in subsets of individuals, termed clusterization, may indicate that host immune-inflammatory response underlying the osseointegration process may be influenced by genetic factors. Since interleukin-1 (IL-1) is a key mediator of inflammatory processes, functional polymorphisms, which have an impact in the cytokine expression levels, could be candidate genetic risk factors underlying the control of susceptibility to implant failure. Thus, this study aimed to investigate the association between *IL1B* (C-511T) genetic polymorphism and endosteous dental implant loss in a Brazilian population. The sample was composed of 277 unrelated, both gender, mean age 53.63 ± 11.14 individuals, divided into: *Test group (TG)* - 92 subjects with implant loss, and *Control group (CG)* - 185 subjects with implant(s) in function for at least six months and with no implant loss. Patients' socioeconomic profile, general medical condition, oral hygiene parameters, and oral clinical measurements such as number of teeth and periodontal status were analyzed. Genomic DNA from oral mucosa was analyzed by PCR-RFLP. Among the clinical evaluated data, it was verified a significant statistical difference (SSD) between the groups in relation to medical treatment ($p=0.040$). Edentulism presented SSD between the groups ($p=0.019$), being more frequent in CG (18%, 34/185) than TG (8%, 7/92). However, the mean number of placed implants was increased in TG (5.82 ± 3.65) than in CG (4.44 ± 3.12) ($p=0.001$). There was no SSD in *IL1B* (-511) polymorphism between TG and CG, neither considering genotypes ($p=0.279$) nor alleles ($p=0.168$). When individuals showing up to one implant failure ($n=254$) were investigated versus patients presenting multiple implant loss ($n=23$), NSD was either observed between groups for genotype ($p=0.083$) and allele ($p=0.838$) frequencies. However, these results may reinforce the idea of a genetic component underlying individual susceptibility to multiple implant losses (clusterization). The analysis combining alleles in haplotypes may provide valuable information concerning genotype/phenotype relationship, as there are three main genes closely located in chromosome 2 long arm, codifying IL-1 mediators involved in the modulation of the osseointegration process.

PROPOSIÇÃO

Proposição

O presente estudo objetivou investigar a associação entre o polimorfismo *IL1B* (C-511T) e a perda de implantes dentais osseointegráveis em uma população brasileira. Também, investigou a associação deste polimorfismo com a perda múltipla de implantes dentais (fenômeno de *clustrização*).

ARTIGO EM PORTUGUÊS

ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO *IL1B* (C-511T) COM A PERDA DE IMPLANTES DENTAIS E COM O FENÔMENO DE CLUSTERIZAÇÃO

Dirschnabel A.J., Alvim-Pereira F., Montes C.C., Bernardino J.F.,
Rosa E.A.R., Faucz F.R., Trevilatto P.C.

Afiliação dos autores:

Acir José Dirschnabel, Fabiano Alvim Pereira, Cláudia Cristina Montes, José Fábio Bernardino, Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa, Fábio Rueda Faucz, Paula Cristina Trevilatto, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba - PR, Brasil.

Palavras chave: perda de implantes dentais, fatores de risco, polimorfismos gene *IL1*.

Autora correspondente:

Paula Cristina Trevilatto

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

Rua Imaculada Conceição, 1155

Curitiba – PR, CEP-80215-901

BRASIL

Telefone (41) 3271-2618

Fax (41) 3271-1657

e-mail: pctrev@yahoo.com.br

Introdução

Atualmente, os implantes dentais osseointegráveis têm sido utilizados como alternativa para reabilitação de pacientes com ausência de dentes (Henry 2005). Este tratamento pode restabelecer de forma satisfatória a função e a estética de pacientes com perdas dentais. Embora os percentuais de sucesso encontrados sejam altos (82 e 94%) após 10 anos (Holm-Pedersen, et al. 2007), a reabilitação com implantes tornou-se um procedimento clínico comum e provavelmente irá obter uma alta popularidade nos próximos anos, fato este que tornará mais frequente a falha de implantes e complicações relacionadas (Levin 2008).

O procedimento cirúrgico (fase cirúrgica) é necessário para a inserção do implante de titânio e, em alguns casos específicos, tem se tornado menos invasivo. Apesar do procedimento cirúrgico iniciar um processo inflamatório com alterações vasculares, que pode levar à regeneração ou reparo tecidual, um processo inflamatório persistente ou exacerbado pode resultar em falha na osseointegração (Perala, et al. 1992, Harada, et al. 1996, Esposito, et al. 1998). Falhas relacionadas aos implantes dentais são um traço complexo que pode envolver vários fatores etiológicos (Weyant & Burt 1993, Montes, et al. 2007). A resposta imuno-inflamatória individual do hospedeiro pode influenciar o sucesso do tratamento com implantes dentais (Esposito, et al. 2007) e a interleucina-1 (IL-1) tem sido considerada um mediador inflamatório chave no processo de osseointegração (Panagakos, et al. 1996).

Um aumento de IL-1 β no fluido gengival na região peri-implantar foi observado com uma semana de pós-operatório (Khoury, et al. 2008). Além disso, níveis de IL-1 β aumentados foram encontrados no fluido gengival de

pacientes apresentando infecções avançadas na região peri-implantar (Salcetti, et al. 1997).

A IL-1 ativa a cascata de mediadores inflamatórios e tem sido relacionada com a patogênese de diversas doenças (Rogus, et al. 2008). Esta citocina pode promover a degradação dos componentes da matriz extracelular pelas metaloproteinases (Birkedal-Hansen 1993) e reabsorção óssea como resultado da interação do receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANK) / osteoprotegerina (OPG) e do ligante do RANK (RANKL) (Boyce & Xing 2007, Wright, et al. 2009).

Polimorfismos genéticos são variações na sequência do gene, as quais podem interferir em sua função (Cargill, et al. 1999). A maioria dos polimorfismos são trocas de uma única base nitrogenada (*Single Nucleotide Polymorphisms* - SNPs) que são encontrados com frequência no genoma humano (Venter, et al. 2001). Os polimorfismos funcionais mais comumente estudados em relação a falhas de implantes dentais são SNPs nos genes da IL-1 (*IL1*), principalmente nos genes da IL-1 α (*IL1A*) e IL-1 β (*IL1B*) (Rogers, et al. 2002, Campos, et al. 2005, Wilson & Nunn 1999, Jansson, et al. 2005, Shimpuku, et al. 2003, Feloutzis, et al. 2003, Gruica, et al. 2004, Lin, et al. 2007, Montes, et al. 2009).

O polimorfismo funcional na posição -511 (C/T) do gene *IL1B* tem sido associado à modificação na expressão da citocina correspondente (Rogus, et al. 2008) e o alelo T tem sido associado com o aumento da produção de IL-1 β (Braosi, et al. 2009). Além disso, esse polimorfismo foi associado com várias doenças imuno-inflamatórias: doença reumática auto-imune (Camargo, et al. 2004), lupus eritematoso sistêmico (Parks, et al. 2004), Síndrome de Sjögren (Muraki, et al. 2004), câncer do aparelho digestivo (Vincenzi, et al. 2008),

doença coronariana (Rechcinski, et al. 2009), e leiomioma uterino (Pietrowski, et al. 2009).

O fenômeno da concentração das perdas de implantes em certos indivíduos, denominado clusterização, sugere que a resposta imuno-inflamatória do hospedeiro, em conjunto com o processo de osseointegração, são influenciados por fatores genéticos (Montes, et al. 2007). Recentemente, nosso grupo de pesquisa reportou a primeira evidência de base genética para explicar o fenômeno de clusterização e associou um alelo de um polimorfismo funcional no segundo intron do gene *IL1RN*, que codifica o receptor do antagonista da IL-1 (IL-1ra), com perdas múltiplas de implantes (Montes, et al. 2009). Uma vez que a IL-1 exerce uma função importante no processo inflamatório, polimorfismos funcionais, os quais têm um impacto nos níveis de expressão da citocina, podem ser considerados fatores de risco genéticos para o controle da susceptibilidade à falha de implantes. Dessa maneira, o presente estudo objetivou investigar a associação do polimorfismo *IL1B* (C-511T) com a perda de implantes dentais osseointegráveis, bem como com o fenômeno de clusterização, em uma população brasileira.

Material e Método

Seleção da amostra

Um total de 3.578 prontuários do Instituto Latino-Americano de Pesquisa Odontológica (ILAPEO) de Curitiba/BR foi analisado. Todos os pacientes foram tratados com implantes dentais osseointegráveis (*NEODENT® Implante Osteointegrável*), entre 1996 e 2006, e destes 3.578 indivíduos tratados, 126 pacientes (3,5%) apresentaram perda de implantes. A maioria dos implantes perdidos estava em uma fase inicial de osseointegração, caracterizando uma

perda precoce 88,2% (187/212). Dos 126 indivíduos, 92 foram avaliados (34 indivíduos não foram avaliados por motivo de morte ou mudança de endereço). Desse modo, o grupo teste (GT) foi composto por 92 pacientes que apresentaram perda de implantes. O grupo controle (GC) foi composto de 185 pacientes com implantes dentais osseointegrados em função por no mínimo seis meses e sem perda de implantes. Os grupos foram pareados por sexo, idade e tabagismo (Tabela 1). A amostra, portanto, foi composta de 277 pacientes, de ambos os sexos e média de idade $53,63 \pm 11,14$ anos (entre 27,1 e 86,9 anos).

Os indivíduos que compuseram a amostra eram da região sul do Brasil, do Estado do Paraná. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2005, 73% da população do Estado do Paraná eram Caucasianos, 23,3% de descendência mista, 2,5% Afro-Americanos, e 1,2% descendentes de Asiáticos.

Todos os pacientes foram informados sobre a natureza do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, sendo que o projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR, (protocolo 323/06).

Os pacientes responderam uma ficha de anamnese médica e odontológica, contendo dados sobre as condições socioeconômicas de acordo com Critérios de Classificação Econômica do Brasil (ABEP 2003), saúde geral, higiene bucal, frequência de tratamento odontológico e dados clínicos bucais, como o número de dentes e de implantes dentais presentes (Tabela 2).

Com o objetivo de avaliar pacientes com perdas múltiplas (clusterização), a amostra foi reagrupada em: grupo A, 254 indivíduos com até uma perda (0 ou 1 implante perdido); grupo B, 23 pacientes que apresentaram

dois ou mais implantes perdidos ou com perdas consecutivas (perdas múltiplas).

Índices periodontais

Os seguintes parâmetros periodontais foram avaliados nos pacientes parcialmente dentados (n=236): índice gengival (IG) (Loe & Silness 1963), índice de placa (IP) (Silness & Loe 1964), índice de cálculo (IC) (Greene & Vermillion 1964), profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínica (NIC) e mobilidade (ausência ou presença). As medidas periodontais foram realizadas em 4 sítios de todos os dentes presentes, usando uma sonda periodontal milimetrada convencional U.N.C., Hu-Friedy™ (Chicago, IL) e todos os dados foram coletados por um único examinador (F.A.P.). As condições periodontais de todos os pacientes são mostradas na tabela 3.

Coleta e purificação de DNA

O DNA foi obtido por meio da coleta de células originárias do epitélio bucal de acordo com a técnica previamente preconizada (Trevilatto & Line 2000). Um protocolo utilizando acetato de amônio 10 M e EDTA 1 mM foi utilizado para extrair e purificar o DNA (Aidar & Line 2007).

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição (RFLP)

Polimorfismo no gene IL1B na posição C-511T (rs 16944)

Os oligonucleotídeos 5' - TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC - 3' e 5' - GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT - 3' foram usados. Reações de amplificação foram realizadas utilizando-se 1 µL de DNA genômico em um volume final de 25 µL,

contendo 22,5 µL de PCR Supermix™ (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) e 1 µM de cada oligonucleotídeo. As reações foram realizadas em um termociclador Endurance TC-512, Techne™ (Burlington, NJ) e consistiram de uma desnaturação inicial a 95°C por 5 min, seguida por 35 ciclos de desnaturação a 95°C por 1 min, hibridação a 51°C por 1 min, e extensão a 72°C por 1 min, com uma extensão final a 72°C por 7 min. A técnica de RFLP foi realizada com um volume de reação final de 20 µL, sendo 10 µL aliqüotados do produto da PCR com 1 U de Aval a 37°C por 12 horas para a obtenção do alelo C (114 bp + 190 bp) e alelo T (304 bp).

Gel de eletroforese

A quantidade total do produto da RFLP aliqüotado foi introduzida no gel de poliacrilamida a 10%, seguido de uma reação de eletroforese a 30 mA. O gel foi corado com o protocolo utilizando nitrato de prata (DNA Silver Staining Kit, Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden).

Análise estatística

Variáveis nominais foram expressas por frequências e percentuais. Para verificar a associação entre os grupos para as variáveis nominais foi utilizado o teste de Qui-quadrado (χ^2) ou teste exato de Fisher. Variáveis contínuas foram expressas por meio de médias e desvios-padrão. A distribuição das variáveis foi avaliada utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov. O teste t de Student foi utilizado para comparar as médias entre os dois grupos, quando as variáveis possuíam distribuição normal e o teste U de Mann Whitney, quando as variáveis contínuas apresentavam distribuição não-normal. O valor $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. A análise estatística foi realizada

utilizando-se o programa de informática Statistica v. 8.0 (StatSoft Inc, Tulsa, OK).

Resultados

Características da amostra

Constatou-se diferença estatisticamente significativa (DES) entre os grupos em relação ao tratamento médico ($p=0,040$). Foi observado que 54,35% (50/92) dos pacientes do GT e 40,54% (75/185) do GC estavam em tratamento médico. Contudo, quando as doenças sistêmicas (diabetes, artrite reumatóide, osteoporose, hipertensão arterial sistêmica, doença cardiovascular, hipotireoidismo e outras) ou o uso de medicações (anti-hipertensivo, antimicrobiano, AINEs, AIEs, reposição hormonal, outras drogas) foram estratificados, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa (NDS) entre os grupos (Tabela 2).

A variável edentulismo apresentou DES entre os grupos, sendo mais frequente em GC (18,38%, 34/185) que em GT (7,61%, 7/92) ($p=0,019$). Contudo, o número médio de implantes colocados mostrou-se aumentado no GT ($5,82 \pm 3,65$) quando comparado ao GC ($4,44 \pm 3,12$) ($p=0,001$) (Tabela 2).

Com relação às mensurações periodontais, somente a PS apresentou SSD entre os grupos ($p=0,005$), sendo GC = $2,72 \pm 0,46$ e GT = $2,54 \pm 0,47$ (Tabela 3).

As outras características avaliadas (nível socioeconômico, condições de saúde, medicamentos, hábitos de higiene bucal, frequência de tratamento odontológico e o número de dentes presentes) não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 2).

Análise da frequência genotípica e alélica - *IL1B* (C-511T) (rs 16944)

A distribuição genotípica do polimorfismo estudado esteve de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Não foi observada DES na frequência genotípica ($p=0,279$) e na frequência alélica ($p=0,168$) do polimorfismo *IL1B* (-511) entre GT e GC. O alelo T esteve presente em 67,4% dos pacientes (62/92) do GT, sendo 22,8% (21/92) em homozigose, e em 62,7% do CG (116/185), sendo 15,1% (28/185) em homozigose. A distribuição genotípica e a frequência alélica do polimorfismo estudado está mostrado na tabela 4.

Em um segundo momento, quando a amostra foi dividida segundo o critério de perdas múltiplas (grupos A *versus* B), NDS foi observada para a distribuição genotípica ($p=0,083$) nem para a frequência alélica ($p=0,838$) entre os grupos para o polimorfismo estudado (Tabela 5).

Discussão

Fatores ambientais e genéticos geralmente interagem e influenciam as doenças complexas (Schutte & Murray 1999, Muhle, et al. 2004). Este parece ser o caso da perda de implantes dentais osseointegráveis.

O insucesso dos implantes dentais está relacionado com diversos fatores: tabagismo (Baig & Rajan 2007), número de procedimentos cirúrgicos (um ou dois estágios), presença de procedimentos cirúrgicos reconstrutivos (enxertos) (McDermott, et al. 2003), iatrogenias (relacionadas à técnica cirúrgica, contaminação e carga oclusal), falta de qualidade ou quantidade

óssea, peri-implantite (Mouhyi, et al. 2009) e resposta imuno-inflamatória do hospedeiro (Esposito, et al. 1998).

Altos índices de falha de implantes dentais parecem estar concentrados em grupos específicos de indivíduos, sugerindo que a resposta do hospedeiro pode modular o sucesso dos implantes (Weyant & Burt 1993, Montes, et al. 2007). Nesse contexto, alguns polimorfismos genéticos têm sido investigados e associados com a falha de implantes (Alvim-Pereira, et al. 2008), visto que muitos dos aspectos relacionados à susceptibilidade do hospedeiro são regulados por fatores genéticos (Esposito, et al. 2007) e ainda não estão completamente esclarecidos.

A maioria dos indivíduos deste estudo (96,40%) era branca, dado este que está em concordância com o Censo Oficial do Estado do Paraná (Sul do Brasil), o que pode ser explicado pela predominância da colonização européia nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Entretanto, a população branca do Brasil é heterogênea e não se recomenda a classificação da população brasileira em grupos étnicos baseados em cor da pele, raça ou descendência (Parra, et al. 2003, Pimenta, et al. 2006).

O grupo teste (GT) apresentou um maior número de pacientes submetidos a algum tipo de tratamento médico que o grupo controle (GC). Porém, no momento em que os medicamentos ou as doenças foram analisados de forma individualizada, não foi constatada diferença significativa entre os grupos. Não foram identificados na literatura estudos conclusivos que estabeleçam uma associação positiva entre algum medicamento de uso contínuo com falhas na osseointegração de implantes dentais. Também, existem poucas evidências com fundamentação científica para contra-indicar a

colocação de implantes devido à presença de alguma doença sistêmica. Contudo, algumas condições sistêmicas têm sido apontadas como situações críticas para a utilização de implantes dentais; porém, pesquisas que comparem grupos de pacientes com presença e ausência de uma condição sistêmica específica são raras (Mombelli & Cionca 2006, Neukam & Flemmig 2006).

No presente estudo, o edentulismo foi encontrado com maior frequência em pacientes do grupo controle. A presença de biofilme nos dentes remanescentes em pacientes parcialmente desdentados pode ser considerado um fator de risco para a perda precoce de implantes (Apse, et al. 1989, Ellen 1998). Além disso, em pacientes parcialmente desdentados, o desequilíbrio oclusal presente é mais um fator desfavorável. Apesar do GC apresentar maiores necessidades de reabilitação bucal (mais pacientes edêntulos), um maior número de implantes foi instalado nos pacientes do GT. Este achado pode ser explicado devido ao protocolo de tratamento reabilitador com implantes, indicado para pacientes totalmente desdentados, o qual requer a colocação de uma quantidade menor de implantes para reabilitação bucal completa destes pacientes (Sadowsky 2001, Doundoulakis, et al. 2003, Klemetti 2008).

Em discordância com pesquisas previamente realizadas (Quirynen, et al. 2002, Karoussis, et al. 2007, Serino & Strom 2009), as condições periodontais, mensuradas por meio do IP, IG, IC, NIC e mobilidade dental, parecem não influenciar a perda de implantes na população estudada. Somente a PS apresentou DES entre os grupos; contudo, esta diferença (0,18 mm) não parece ser clinicamente relevante.

A presença aumentada de mediadores imuno-inflamatórios (ex: IL-1 β) pode resultar em uma resposta inflamatória exacerbada, a qual pode comprometer o mecanismo de osseointegração e resultar na perda do implante (Salcetti, et al. 1997, Nowzari, et al. 2008). Nesse contexto, mediadores inflamatórios como a IL-1 parecem ter um importante papel na fase pós-cirúrgica (Panagakos, et al. 1996).

Polimorfismos nos genes *IL1* podem interferir na produção das proteínas IL-1 α , IL-1 β e IL-1ra (Pociot, et al. 1992, Chen, et al. 2006). Atualmente, alguns alelos dos genes *IL1* têm sido associados com a prevalência e gravidade de diversas doenças inflamatórias e infecciosas (Rechcinski, et al. 2009, Pietrowski, et al. 2009, Papapanou, et al. 2001) e à falha de implantes dentais (Tabela 6).

Pesquisas que associam o polimorfismo *IL1B* (-511) e a suscetibilidade à falha de implantes são raras. No presente estudo, NDS foi encontrada entre o polimorfismo *IL1B* (-511) e o grupo que apresentou perda de implantes. No entanto, quando os indivíduos que apresentaram múltiplas perdas de implantes foram comparados com aqueles que não perderam ou perderam apenas um implante, os resultados indicaram um valor próximo da significância ($p=0,083$). Dessa forma, é possível sugerir uma associação entre o genótipo TT e a suscetibilidade a perdas múltiplas de implantes. O alelo T do polimorfismo funcional *IL1B* (-511) pode ser considerado um alelo de risco para as doenças complexas influenciadas pela resposta imuno-inflamatória do hospedeiro, pois, nesses casos, ocorre o aumento dos níveis de transcrição gênica (Braosi, et al. 2009, Chen, et al. 2006). Desse modo, estudos investigando outras populações podem contribuir na identificação de tal associação. Recentes pesquisas têm

associado o genótipo TT com a perda óssea marginal em pacientes tratados com implantes osseointegráveis (Shimpuku, et al. 2003, Lin, et al. 2007). Apesar do presente estudo não incluir a perda óssea marginal entre as variáveis diretamente avaliadas, apresentando esta uma grande influência na estabilidade dos implantes a longo prazo, o polimorfismo em questão pode ser considerado um fator de risco também à perda do implante. Além disso, apesar de um estudo recente não estabelecer associação entre *IL1B* (-511) e a peri-implantite (Laine, et al. 2006), um risco aumentado para periodontite crônica, a qual apresenta mecanismos etiopatogênicos comuns à peri-implantite, foi encontrado em pacientes que carregavam o alelo T (Nikolopoulos, et al. 2008). A tabela 7 mostra todos os estudos, até o momento, que investigaram o polimorfismo *IL1B* (C-511T) e a falha de implantes. A frequência genotípica e a distribuição alélica do polimorfismo *IL1B* (C-511T) em diferentes populações estão ilustradas na figura 1.

Apesar da ausência de evidência de associação entre o polimorfismo *IL1B* (-511) e a perda de implantes neste estudo, pesquisas têm reportado a associação de alelos e genótipos de outros polimorfismos nos genes *IL1* (Jansson, et al. 2005, Montes, et al. 2009) e em outros genes relacionados com a resposta imuno-inflamatória do hospedeiro (Santos, et al. 2004). Assim, como o peso relativo conferido por cada polimorfismo parece ser pequeno nas doenças complexas, a investigação de genes funcionais candidatos envolvidos na fisiopatogênese da falha da osseointegração pode esclarecer o componente genético de controle da suscetibilidade à perda de implantes (Greenstein & Hart 2002). A predisposição genética pode influenciar a falha do processo de osseointegração, através do efeito cumulativo de múltiplos polimorfismos.

É digna de nota a sugestiva, porém não estatisticamente significativa, associação do genótipo TT do polimorfismo *IL1B* (-511) com a perda múltipla de implantes osseointegráveis. A primeira evidência da literatura mundial da existência de uma base genética para explicar o fenômeno de clusterização foi recentemente relatada por nosso grupo (Montes, et al. 2009), que encontrou associação entre perdas múltiplas de implantes e o genótipo 2/2 do polimorfismo *IL1RN* (intron 2) (OR: 3,07, IC: 1,13-8,34, $p=0,027$). Os resultados encontrados no presente estudo podem reforçar a idéia de que há um componente genético de susceptibilidade individual para perdas múltiplas de implantes (clusterização).

Nesse contexto, as perspectivas futuras podem estar relacionadas à análise de haplótipos dos genes *IL1*. A análise combinando alelos em haplótipos pode proporcionar informações essenciais sobre a relação genótipo/fenótipo, já que existem três genes principais localizados no braço longo do cromossomo 2 codificando os mediadores IL-1, os quais modulam o processo de osseointegração.

Agradecimentos

Esta pesquisa foi financiada pelo Instituto Latino Americano de Ensino e Pesquisa em Odontologia (ILAPEO), Curitiba, PR, Brasil e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processo 475770/2004-8).

Tabela 1. Características gerais da amostra (n=277).

	Grupo controle (n=185)		Grupo teste (n=92)		
	n	%	n	%	valor <i>p</i>
Etnia					
Caucasiano	176	95,14	91	98,91	* 0,173
Não-Caucasiano	09	4,86	01	1,09	
Idade (anos)[‡]	53,13 ± 11,46		54,63 ± 10,44		† 0,293
Sexo	n	%	n	%	
Feminino	122	65,95	56	60,87	* 0,426
Masculino	63	34,05	36	39,13	
Tabagismo	n	%	n	%	
Não-fumante	142	76,76	74	80,43	* 0,540
Fumante	43	23,24	18	19,57	

* Teste exato de Fisher;

‡ Média ± desvio padrão;

† Teste t - Student.

Tabela 2. Dados da anamnese e exame físico (n=277).

	Grupo controle (n=185)		Grupo teste (n=92)		
	n	%	n	%	valor p
Classe socioeconômica					
A1/A2/B1	95	51,35	46	50,00	*0,899
B2/C/D	90	48,65	46	50,00	
Tratamento médico					
Sim	75	40,54	50	54,35	*0,040
Não	110	59,46	42	45,65	
Condições de saúde					
Doença sistêmica em geral	127	64,65	68	73,91	*0,404
Diabetes	09	4,86	02	2,17	*0,347
Doença reumática	34	18,38	25	27,17	*0,119
Osteoporose	03	1,62	02	2,17	*0,996
HAS ^a	35	18,92	24	26,09	*0,212
Doença cardiovascular	10	5,40	08	8,70	*0,309
Hipotireoidismo	18	9,73	10	10,87	*0,833
Medicamentos					
Medicação não-especificada	46	24,86	17	18,48	*0,287
Anti-hipertensivo	30	16,22	21	22,83	*0,191
Antimicrobiano	15	8,11	07	7,61	*1,000
AINEs ^b	06	3,24	06	6,52	*0,221
AIEs ^c	04	2,16	03	3,26	*0,688
Reposição hormonal	33	17,84	12	13,04	*0,388
Escovação (diária)					
01	09	4,86	06	6,52	**0,709
02	42	22,70	16	17,39	
03	110	59,46	56	60,87	
Mais que 03	24	12,97	14	15,22	
Fio dental (diário)					
Sim	122	65,95	61	66,30	**0,342
Não	37	20,00	23	25,00	
Infrequente	26	14,05	08	8,70	
Bochechos (diário)					
Sim	60	42,43	29	31,52	**0,769
Não	85	45,95	46	50,00	
Infrequente	40	21,62	17	18,48	
Freq. tratamento dentário/ano[‡]	6,42 ± 4,94		6,28 ± 4,59		†0,846
Dados clínicos					
Edentulismo	34	18,38	07	7,61	*0,019
# Dentes presentes [‡]	16,59 ± 9,76		17,05 ± 8,31		†0,879
Implantes instalados [‡]	4,44 ± 3,12		5,82 ± 3,65		† 0,001

* Teste exato de Fisher;

** Teste Qui-quadrado;

† Teste de U-Mann-Whitney;

‡ Média ± desvio padrão;

^a Hipertensão arterial sistêmica;^b Antiinflamatório não-esteroidal;^c Antiinflamatório esteroidal;

Grupo controle (n=151); Grupo teste (n=85).

Tabela 3. Condições periodontais dos pacientes parcialmente dentados (n=236).

Índices periodontais	Grupo Controle (n=151)	Grupo Teste (n=85)	Valor p
Índice Gengival [†]	0,64 ± 0,37	0,65 ± 0,53	**0,893
Índice de Placa [†]	0,12 ± 0,23	0,23 ± 0,41	* 0,965
Índice de cálculo [†]	0,07 ± 0,12	0,13 ± 0,24	* 0,281
PS ^a (mm) [†]	2,72 ± 0,46	2,54 ± 0,47	**0,005
NIC ^b (mm) [†]	3,62 ± 0,85	3,66 ± 1,07	**0,760
Mobilidade (ausente/presente)	132 / 19	70 / 15	‡ 0,335

* Teste de U-Mann Whitney;

** Teste t - Student;

‡ Teste exato de Fisher;

[†] Média ± desvio padrão;

^a Profundidade de sondagem;

^b Nível de inserção clínica.

Tabela 4. Frequência genotípica e alélica do polimorfismo da *IL1B* (C-511T).

Genótipos	Grupo controle (n=185)		Grupo teste (n=92)		valor <i>p</i>
	n	%	n	%	
C/C	69	37,30	30	32,61	
C/T	88	47,56	41	44,56	* 0,279
T/T	28	15,14	21	22,83	
Alelos #					
C	227	61,35	101	54,89	
T	143	38,65	83	45,11	** 0,168

* Teste Qui-quadrado;

** Teste exato de Fisher;

Grupo controle n=370, grupo teste n=184.

Tabela 5. Frequência genotípica e alélica do polimorfismo da *IL1B* (C-511T) considerando perdas múltiplas de implantes.

Genótipos	Grupo A (n=254)		Grupo B (n=23)		valor <i>p</i>
	n	%	n	%	
C/C	89	35,04	10	43,48	* 0,083
C/T	123	48,42	06	26,09	
T/T	42	16,54	07	30,43	
Alelos #					
C	301	59,25	26	56,52	* 0,838
T	207	40,75	20	43,48	

* Teste Qui-quadrado;

Grupo A: n=508, Grupo B: n=46;

Grupo A: pacientes sem nenhuma perda ou com apenas um implante perdido;

Grupo B: pacientes com perdas múltiplas de implantes.

Tabela 6. Impacto funcional dos polimorfismos gênicos *IL1* investigados em relação à susceptibilidade para a perda de implantes.

Autores	Polimorfismos	Caso (n) / Controle (n)	População	Resultados
Wilson & Nunn 1999	<i>IL1A</i> (-889) e <i>IL1B</i> (+3954)	27/38	?	Não associado com falha de implante
Rogers et al. 2002	<i>IL1A</i> (-889) e <i>IL1B</i> (+3954)	19/31	Australianos Caucasianos	Não associado com falha de implante
Feloutzis et al. 2003	<i>IL1A</i> (-889) e <i>IL1B</i> (+3954)	51/39	Europeus Caucasianos	Tabagistas + genótipo positivo para <i>IL1</i> associados com perda óssea marginal
Shimpuku et al. 2003	<i>IL1A</i> (-889) e <i>IL1B</i> (-511,+3954)	17/22	Japoneses	Associação do perda óssea marginal
Gruica et al. 2004	<i>IL1A</i> (-889) e <i>IL1B</i> (+3954)	34/146	Europeus Caucasianos	Tabagistas + genótipo positivo para <i>IL1</i> associados com perda óssea marginal
Campos et al. 2005	<i>IL1A</i> (-889), <i>IL1B</i> (-511,+3954), e <i>IL1RN</i>	28/34	Brasileiros	Não associado com falha precoce de implante
Jansson et al. 2005	<i>IL1A</i> (-889) e <i>IL1B</i> (+3954)	6/16	Europeus Caucasianos	Tabagistas + genótipo positivo para <i>IL1</i> associados com perda óssea marginal
Laine et al. 2006	<i>IL1A</i> (-889), <i>IL1B</i> (-511,+3954), e <i>IL1RN</i>	71/49	Suecos Caucasianos	Polimorfismo no gene <i>IL1RN</i> associado com peri-implantite
Lin et al. 2007	<i>IL1A</i> (-889), <i>IL1B</i> (-511) e <i>IL1B</i> (+3954)	29/30	Chineses	Polimorfismo no gene <i>IL1B</i> (C-511T) associado com perda óssea marginal
Montes et al. 2009	<i>IL1B</i> (+3954) e <i>IL1RN</i>	90/176	Brasileiros	Polimorfismo no gene da <i>IL1RN</i> associado com perdas múltiplas

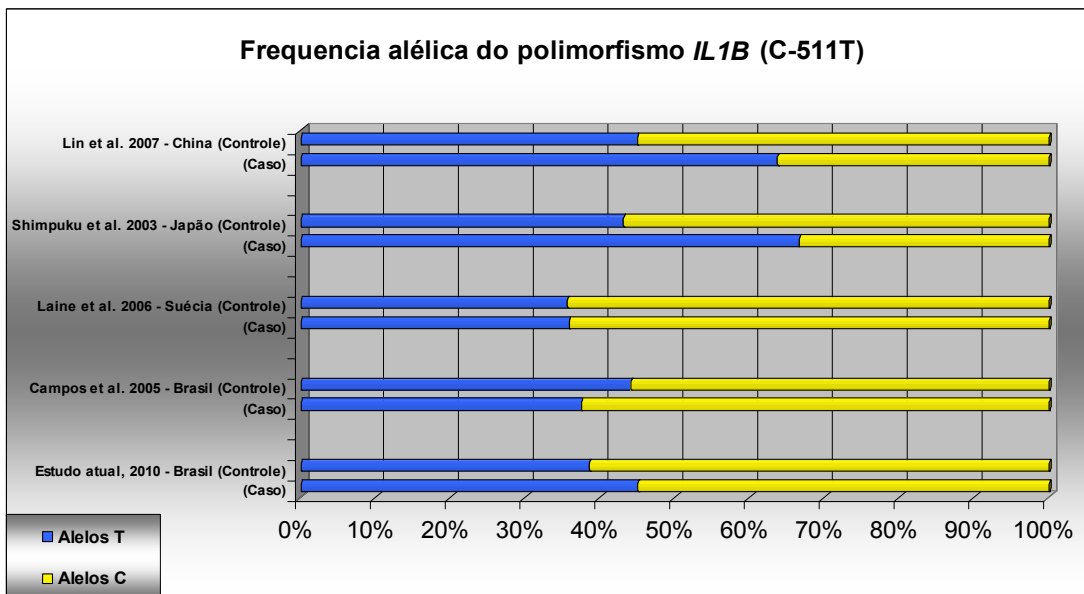
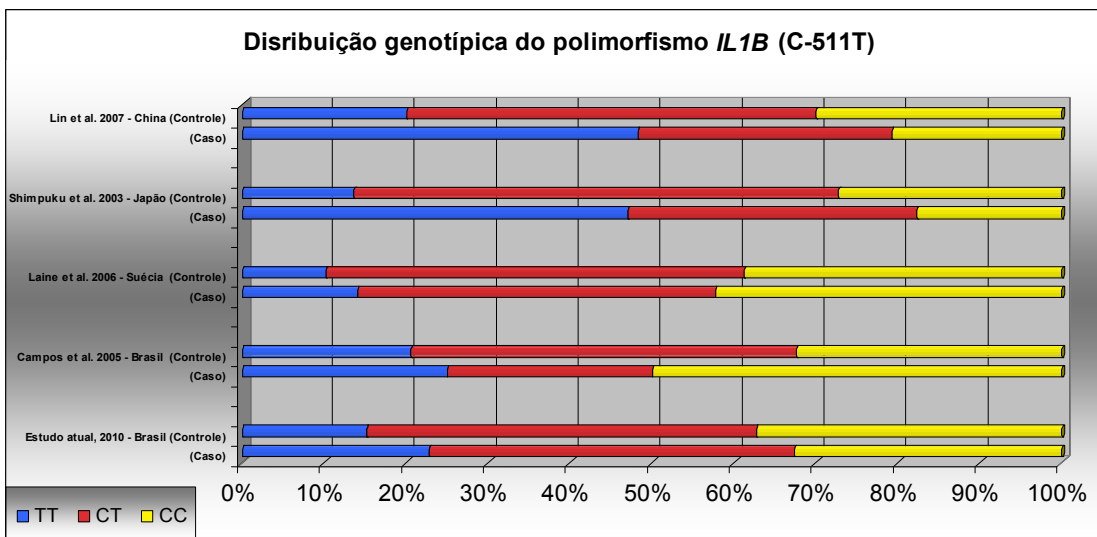
Tabela 7. Estudos investigando a associação do polimorfismo *IL1B* (C-511T) com falhas de implantes.

Autores	Ano	País	Teste	Controle	Falha do implante	OR	IC	Valor p	<i>IL1B</i> (-511)
Campos et al.	2005	Brasil	34	28	perda do implante	----	----	3,209	não associado
Shimpuku et al.	2003	Japão	17	22	perda óssea marginal	10,86	1,64 – 71,90	0,013	genótipo TT
Laine et al.	2006	Suécia	71	49	peri-implantite	0,46	0,2 – 1,2	0,120	não associado
Lin et al.	2007	China	29	30	perda óssea marginal	0,268	0,085 – 0,849	0,021	genótipo TT
Presente estudo	2010	Brasil	92	185	perda do implante	----	----	0,279	não associado

OR: *Odds Ratio*

IC: Intervalo de confiança

Figura 1. Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo da *IL1B* (C-511T) em diferentes populações.



Referências

- Henry, P.J., (2005) Oral implant restoration for enhanced oral function. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **32**: 123-127.
- Holm-Pedersen, P., Lang, N.P. & Muller, F., (2007) What are the longevities of teeth and oral implants? *Clin Oral Implants Res* **18 Suppl 3**: 15-19.
- Levin, L., (2008) Dealing with dental implant failures. *J Appl Oral Sci* **16**: 171-175.
- Perala, D.G., Chapman, R.J., Gelfand, J.A., Callahan, M.V., Adams, D.F. & Lie, T., (1992) Relative production of il-1 beta and tnf alpha by mononuclear cells after exposure to dental implants. *J Periodontol* **63**: 426-430.
- Harada, Y., Watanabe, S., Yssel, H. & Arai, K., (1996) Factors affecting the cytokine production of human t cells stimulated by different modes of activation. *J Allergy Clin Immunol* **98**: S161-173.
- Esposito, M., Hirsch, J.M., Lekholm, U. & Thomsen, P., (1998) Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (ii). Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci* **106**: 721-764.
- Weyant, R.J. & Burt, B.A., (1993) An assessment of survival rates and within-patient clustering of failures for endosseous oral implants. *J Dent Res* **72**: 2-8.
- Montes, C.C., Pereira, F.A., Thome, G., Alves, E.D., Acedo, R.V., de Souza, J.R., Melo, A.C. & Trevilatto, P.C., (2007) Failing factors associated with osseointegrated dental implant loss. *Implant Dent* **16**: 404-412.
- Esposito, M., Grusovin, M.G., Maghaireh, H., Coulthard, P. & Worthington, H.V., (2007) Interventions for replacing missing teeth: Management of soft tissues for dental implants. *Cochrane Database Syst Rev*: CD006697.
- Khoury, S.B., Thomas, L., Walters, J.D., Sheridan, J.F. & Leblebicioglu, B., (2008) Early wound healing following one-stage dental implant placement with and without antibiotic prophylaxis: A pilot study. *J Periodontol* **79**: 1904-1912.
- Salcetti, J.M., Moriarty, J.D., Cooper, L.F., Smith, F.W., Collins, J.G., Socransky, S.S. & Offenbacher, S., (1997) The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implant. *Int J Oral Maxillofac Implants* **12**: 32-42.
- Rogus, J., Beck, J.D., Offenbacher, S., Huttner, K., Iacoviello, L., Latella, M.C., de Gaetano, M., Wang, H.Y., Kornman, K.S. & Duff, G.W., (2008) Il1b gene promoter haplotype pairs predict clinical levels of interleukin-1beta and c-reactive protein. *Hum Genet* **123**: 387-398.
- Birkedal-Hansen, H., (1993) Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res* **28**: 500-510.

Boyce, B.F. & Xing, L., (2007) Biology of rank, rankl, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther* **9 Suppl 1**: S1.

Wright, H.L., McCarthy, H.S., Middleton, J. & Marshall, M.J., (2009) Rank, rankl and osteoprotegerin in bone biology and disease. *Curr Rev Musculoskelet Med* **2**: 56-64.

Cargill, M., Altshuler, D., Ireland, J., Sklar, P., Ardlie, K., Patil, N., Shaw, N., Lane, C.R., Lim, E.P., Kalyanaraman, N., Nemesh, J., Ziaugra, L., Friedland, L., Rolfe, A., Warrington, J., Lipshutz, R., Daley, G.Q. & Lander, E.S., (1999) Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nat Genet* **22**: 231-238.

Venter, J.C., Adams, M.D., Myers, E.W., Li, P.W., Mural, R.J., Sutton, G.G., Smith, H.O., Yandell, M., Evans, C.A., Holt, R.A., Gocayne, J.D., Amanatides, P., Ballew, R.M., Huson, D.H., Wortman, J.R., Zhang, Q., Kodira, C.D., Zheng, X.H., Chen, L., Skupski, M., Subramanian, G., Thomas, P.D., Zhang, J., Gabor Miklos, G.L., Nelson, C., Broder, S., Clark, A.G., Nadeau, J., McKusick, V.A., Zinder, N., Levine, A.J., Roberts, R.J., Simon, M., Slayman, C., Hunkapiller, M., Bolanos, R., Delcher, A., Dew, I., Fasulo, D., Flanigan, M., Florea, L., Halpern, A., Hannenhalli, S., Kravitz, S., Levy, S., Mobarry, C., Reinert, K., Remington, K., Abu-Threideh, J., Beasley, E., Biddick, K., Bonazzi, V., Brandon, R., Cargill, M., Chandramouliswaran, I., Charlab, R., Chaturvedi, K., Deng, Z., Di Francesco, V., Dunn, P., Eilbeck, K., Evangelista, C., Gabrielian, A.E., Gan, W., Ge, W., Gong, F., Gu, Z., Guan, P., Heiman, T.J., Higgins, M.E., Ji, R.R., Ke, Z., Ketchum, K.A., Lai, Z., Lei, Y., Li, Z., Li, J., Liang, Y., Lin, X., Lu, F., Merkulov, G.V., Milshina, N., Moore, H.M., Naik, A.K., Narayan, V.A., Neelam, B., Nusskern, D., Rusch, D.B., Salzberg, S., Shao, W., Shue, B., Sun, J., Wang, Z., Wang, A., Wang, X., Wang, J., Wei, M., Wides, R., Xiao, C., Yan, C., Yao, A., Ye, J., Zhan, M., Zhang, W., Zhang, H., Zhao, Q., Zheng, L., Zhong, F., Zhong, W., Zhu, S., Zhao, S., Gilbert, D., Baumhueter, S., Spier, G., Carter, C., Cravchik, A., Woodage, T., Ali, F., An, H., Awe, A., Baldwin, D., Baden, H., Barnstead, M., Barrow, I., Beeson, K., Busam, D., Carver, A., Center, A., Cheng, M.L., Curry, L., Danaher, S., Davenport, L., Desilets, R., Dietz, S., Dodson, K., Doup, L., Ferriera, S., Garg, N., Gluecksmann, A., Hart, B., Haynes, J., Haynes, C., Heiner, C., Hladun, S., Hostin, D., Houck, J., Howland, T., Ibegwam, C., Johnson, J., Kalush, F., Kline, L., Koduru, S., Love, A., Mann, F., May, D., McCawley, S., McIntosh, T., McMullen, I., Moy, M., Moy, L., Murphy, B., Nelson, K., Pfannkoch, C., Pratts, E., Puri, V., Qureshi, H., Reardon, M., Rodriguez, R., Rogers, Y.H., Romblad, D., Ruhfel, B., Scott, R., Sitter, C., Smallwood, M., Stewart, E., Strong, R., Suh, E., Thomas, R., Tint, N.N., Tse, S., Vech, C., Wang, G., Wetter, J., Williams, S., Williams, M., Windsor, S., Winn-Deen, E., Wolfe, K., Zaveri, J., Zaveri, K., Abril, J.F., Guigo, R., Campbell, M.J., Sjolander, K.V., Karlak, B., Kejariwal, A., Mi, H., Lazareva, B., Hatton, T., Narechania, A., Diemer, K., Muruganujan, A., Guo, N., Sato, S., Bafna, V., Istrail, S., Lippert, R., Schwartz, R., Walenz, B., Yooseph, S., Allen, D., Basu, A., Baxendale, J., Blick, L., Caminha, M., Carnes-Stine, J., Caulk, P., Chiang, Y.H., Coyne, M., Dahlke, C., Mays, A., Dombroski, M., Donnelly, M., Ely, D., Esparham, S., Fosler, C., Gire, H., Glanowski, S., Glasser, K., Glodek, A., Gorokhov, M., Graham, K., Gropman, B., Harris, M., Heil, J., Henderson, S.,

Hoover, J., Jennings, D., Jordan, C., Jordan, J., Kasha, J., Kagan, L., Kraft, C., Levitsky, A., Lewis, M., Liu, X., Lopez, J., Ma, D., Majoros, W., McDaniel, J., Murphy, S., Newman, M., Nguyen, T., Nguyen, N., Nodell, M., Pan, S., Peck, J., Peterson, M., Rowe, W., Sanders, R., Scott, J., Simpson, M., Smith, T., Sprague, A., Stockwell, T., Turner, R., Venter, E., Wang, M., Wen, M., Wu, D., Wu, M., Xia, A., Zandieh, A. & Zhu, X., (2001) The sequence of the human genome. *Science* **291**: 1304-1351.

Rogers, M.A., Figliomeni, L., Baluchova, K., Tan, A.E., Davies, G., Henry, P.J. & Price, P., (2002) Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants? *J Periodontal Res* **37**: 37-41.

Campos, M.I., Santos, M.C., Trevilatto, P.C., Scarel-Caminaga, R.M., Bezerra, F.J. & Line, S.R., (2005) Evaluation of the relationship between interleukin-1 gene cluster polymorphisms and early implant failure in non-smoking patients. *Clinical Oral Implants Research* **16**: 194-201.

Wilson, T.G., Jr. & Nunn, M., (1999) The relationship between the interleukin-1 periodontal genotype and implant loss. Initial data. *J Periodontol* **70**: 724-729.

Jansson, H., Hamberg, K., De Bruyn, H. & Bratthall, G., (2005) Clinical consequences of il-1 genotype on early implant failures in patients under periodontal maintenance. *Clin Implant Dent Relat Res* **7**: 51-59.

Shimpuku, H., Nosaka, Y., Kawamura, T., Tachi, Y., Shinohara, M. & Ohura, K., (2003) Genetic polymorphisms of the interleukin-1 gene and early marginal bone loss around endosseous dental implants. *Clin Oral Implants Res* **14**: 423-429.

Feloutzis, A., Lang, N.P., Tonetti, M.S., Burgin, W., Bragger, U., Buser, D., Duff, G.W. & Kornman, K.S., (2003) Il-1 gene polymorphism and smoking as risk factors for peri-implant bone loss in a well-maintained population. *Clin Oral Implants Res* **14**: 10-17.

Gruica, B., Wang, H.Y., Lang, N.P. & Buser, D., (2004) Impact of il-1 genotype and smoking status on the prognosis of osseointegrated implants. *Clin Oral Implants Res* **15**: 393-400.

Lin, Y.H., Huang, P., Lu, X., Guan, D.H., Man, Y., Wei, N., Wang, Y.Y. & Gong, P., (2007) The relationship between il-1 gene polymorphism and marginal bone loss around dental implants. *J Oral Maxillofac Surg* **65**: 2340-2344.

Montes, C.C., Alvim-Pereira, F., de Castilhos, B.B., Sakurai, M.L., Olandoski, M. & Trevilatto, P.C., (2009) Analysis of the association of il1b (c+3954t) and il1rn (intron 2) polymorphisms with dental implant loss in a brazilian population. *Clin Oral Implants Res* **20**: 208-217.

Braosi, A.P.R., Souza, C.M., Luczyszyn, S.M., Dirschnabel, A.J., Doetzer, A.D., Ávila, A.R., Olandoski, M., Garlet, G.P., Pecoits-Filho, R.F. & Trevilatto, P.C. (2009) Association of *il1* gene polymorphisms and transcript levels with periodontal disease and chronic kidney disease CC.

Camargo, J.F., Correa, P.A., Castiblanco, J. & Anaya, J.M., (2004) Interleukin-1beta polymorphisms in colombian patients with autoimmune rheumatic diseases. *Genes Immun* **5**: 609-614.

Parks, C.G., Cooper, G.S., Dooley, M.A., Treadwell, E.L., St Clair, E.W., Gilkeson, G.S. & Pandey, J.P., (2004) Systemic lupus erythematosus and genetic variation in the interleukin 1 gene cluster: A population based study in the southeastern united states. *Ann Rheum Dis* **63**: 91-94.

Muraki, Y., Tsutsumi, A., Takahashi, R., Suzuki, E., Hayashi, T., Chino, Y., Goto, D., Matsumoto, I., Murata, H., Noguchi, E. & Sumida, T., (2004) Polymorphisms of il-1 beta gene in japanese patients with sjogren's syndrome and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* **31**: 720-725.

Vincenzi, B., Patti, G., Galluzzo, S., Pantano, F., Venditti, O., Santini, D., Ruzzo, A., Schiavon, G., Caraglia, M., Marra, M., Graziano, F. & Tonini, G., (2008) Interleukin 1beta-511t gene (il1beta) polymorphism is correlated with gastric cancer in the caucasian population: Results from a meta-analysis. *Oncol Rep* **20**: 1213-1220.

Rehcinski, T., Grebowska, A., Kurpesa, M., Sztybrych, M., Peruga, J.Z., Trzos, E., Rudnicka, W., Krzeminska-Pakula, M. & Chmiela, M., (2009) Interleukin-1b and interleukin-1 receptor inhibitor gene cluster polymorphisms in patients with coronary artery disease after percutaneous angioplasty or coronary artery bypass grafting. *Kardiol Pol* **67**: 601-610.

Pietrowski, D., Thewes, R., Sator, M., Denschlag, D., Keck, C. & Tempfer, C., (2009) Uterine leiomyoma is associated with a polymorphism in the interleukin 1-beta gene. *Am J Reprod Immunol* **62**: 112-117.

Parra, F.C., Amado, R.C., Lambertucci, J.R., Rocha, J., Antunes, C.M. & Pena, S.D., (2003) Color and genomic ancestry in brazilians. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**: 177-182.

Pimenta, J.R., Zuccherato, L.W., Debes, A.A., Maselli, L., Soares, R.P., Moura-Neto, R.S., Rocha, J., Bydlowski, S.P. & Pena, S.D., (2006) Color and genomic ancestry in brazilians: A study with forensic microsatellites. *Hum Hered* **62**: 190-195.

ABEP, (2003) Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa - *Critério de classificação econômica Brasil*. São Paulo. [<http://www.abep.org/default.aspx?usaritem=arquivos&iditem=23>] (acessed 08 Dec 2008).

Loe, H. & Silness, J., (1963) Periodontal disease in pregnancy. 1. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* **21**: 533-551.

Silness, J. & Loe, H., (1964) Periodontal disease in pregnancy. 2. Correlation between oral higiene and periodontal condition. . *Acta Odontol Scand* **22**: 121-135.

Greene, J.C. & Vermillion, J.R., (1964) The simplified oral hygiene index. *J Am Dent Assoc* **68**: 7-13.

Trevilatto, P.C. & Line, S.R., (2000) Use of buccal epithelial cells for PCR amplification of large DNA fragments. *J Forensic Odontostomatol* **18**: 6-9.

Aidar, M. & Line, S.R., (2007) A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz dent J*.

Schutte, B.C. & Murray, J.C., (1999) The many faces and factors of orofacial clefts. *Hum Mol Genet* **8**: 1853-1859.

Muhle, R., Trentacoste, S.V. & Rapin, I., (2004) The genetics of autism. *Pediatrics* **113**: e472-486.

Baig, M.R. & Rajan, M., (2007) Effects of smoking on the outcome of implant treatment: A literature review. *Indian J Dent Res* **18**: 190-195.

McDermott, N.E., Chuang, S.K., Woo, V.V. & Dodson, T.B., (2003) Complications of dental implants: Identification, frequency, and associated risk factors. *Int J Oral Maxillofac Implants* **18**: 848-855.

Alvim-Pereira, F., Montes, C.C., Mira, M.T. & Trevilatto, P.C., (2008) Genetic susceptibility to dental implant failure: A critical review. *Int J Oral Maxillofac Implants* **23**: 409-416.

Mombelli, A. & Cionca, N., (2006) Systemic diseases affecting osseointegration therapy. *Clin Oral Implants Res* **17 Suppl 2**: 97-103.

Neukam, F.W. & Flemmig, T.F., (2006) Local and systemic conditions potentially compromising osseointegration. Consensus report of working group 3. *Clin Oral Implants Res* **17 Suppl 2**: 160-162.

Apse, P., Ellen, R.P., Overall, C.M. & Zarb, G.A., (1989) Microbiota and crevicular fluid collagenase activity in the osseointegrated dental implant sulcus: a comparison of sites in edentulous and partially edentulous patients. *J Periodontal Res* **24**: 96-105.

Ellen, R.P., (1998) Microbial colonization of the peri-implant environment and its relevance to long-term success of osseointegrated implants. *Int J Prosthodont* **11**: 433-41.

Sadowsky, S.J., (2001) Mandibular implant-retained overdentures: A literature review. *J Prosthet Dent* **86**: 468-473.

Doundoulakis, J.H., Eckert, S.E., Lindquist, C.C. & Jeffcoat, M.K., (2003) The implant-supported overdenture as an alternative to the complete mandibular denture. *J Am Dent Assoc* **134**: 1455-1458.

- Klemetti, E., (2008) Is there a certain number of implants needed to retain an overdenture? *J Oral Rehabil* **35 Suppl 1**: 80-84.
- Quirynen, M., De Soete, M. & van Steenberghe, D., (2002) Infectious risks for oral implants: A review of the literature. *Clin Oral Implants Res* **13**: 1-19.
- Karoussis, I.K., Kotsovilis, S. & Fourmoussis, I., (2007) A comprehensive and critical review of dental implant prognosis in periodontally compromised partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res* **18**: 669-679.
- Serino, G. & Strom, C., (2009) Peri-implantitis in partially edentulous patients: Association with inadequate plaque control. *Clin Oral Implants Res* **20**: 169-174.
- Nowzari, H., Yi, K., Chee, W. & Rich, S.K., (2008) Immunology, microbiology, and virology following placement of nobelperfect scalloped dental implants: Analysis of a case series. *Clin Implant Dent Relat Res* **10**: 157-165.
- Panagakos, F.S., Aboyoussef, H., Dondero, R. & Jandinski, J.J., (1996) Detection and measurement of inflammatory cytokines in implant crevicular fluid: A pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants* **11**: 794-799.
- Pociot, F., Molvig, J., Wogensen, L., Worsaae, H. & Nerup, J., (1992) A taqi polymorphism in the human interleukin-1 beta (il-1 beta) gene correlates with il-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* **22**: 396-402.
- Chen, H., Wilkins, L.M., Aziz, N., Cannings, C., Wyllie, D.H., Bingle, C., Rogus, J., Beck, J.D., Offenbacher, S., Cork, M.J., Rafie-Kolpin, M., Hsieh, C.M., Kornman, K.S. & Duff, G.W., (2006) Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1b gene affect transcription according to haplotype context. *Hum Mol Genet* **15**: 519-529.
- McDowell, T.L., Symons, J.A., Ploski, R., Forre, O. & Duff, G.W., (1995) A genetic association between juvenile rheumatoid arthritis and a novel interleukin-1 alpha polymorphism. *Arthritis Rheum* **38**: 221-228.
- Papapanou, P.N., Neiderud, A.M., Sandros, J. & Dahlen, G., (2001) Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. A case-control study. *J Clin Periodontol* **28**: 389-396.
- Laine, M.L., Leonhardt, A., Roos-Jansaker, A.M., Pena, A.S., van Winkelhoff, A.J., Winkel, E.G. & Renvert, S., (2006) Il-1m gene polymorphism is associated with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res* **17**: 380-385.
- Nikolopoulos, G.K., Dimou, N.L., Hamodrakas, S.J. & Bagos, P.G., (2008) Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: A meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. *J Clin Periodontol* **35**: 754-767.
- Santos, M.C., Campos, M.I., Souza, A.P., Trevilatto, P.C. & Line, S.R., (2004) Analysis of mmp-1 and mmp-9 promoter polymorphisms in early osseointegrated implant failure. *Int J Oral Maxillofac Implants* **19**: 38-43.

Greenstein, G. & Hart, T.C., (2002) A critical assessment of interleukin-1 (il-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. *J Periodontol* **73**: 231-247.

ARTIGO EM INGLÊS

**ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF *IL1B* (C-511T) POLYMORPHISM
WITH DENTAL IMPLANT LOSS AND THE CLUSTERIZATION
PHENOMENON**

Dirschnabel, A.J., Alvim-Pereira F., Montes C.C., Bernardino J.F.,
Rosa E.A.R., Faucz F.R., Trevilatto P.C.

Author's affiliations:

Acir José Dirschnabel, Fabiano Alvim Pereira, Cláudia Cristina Montes, José Fábio Bernardino, Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa, Fábio Rueda Faucz, Paula Cristina Trevilatto, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba - PR, Brazil.

Key Words: dental implant loss, risk factors, *IL1* genetic polymorphisms.

Running Title: *IL1* gene polymorphisms and dental implant loss

Corresponding Author:

Paula Cristina Trevilatto

Center for Health and Biological Sciences

Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

Rua Imaculada Conceição, 1155

Curitiba – PR, CEP-80215-901

BRAZIL

Phone +55 (41) 3271-2618

Fax +55 (41) 3271-1657

e-mail: pctrev@yahoo.com.br

Introduction

Nowadays, one of the most chosen alternatives to replace lost or irreversible damaged teeth is endosteous dental implants (Henry 2005). Dental function and aesthetics outcomes are suitably reestablished with this therapy. Regardless high success rate (82 to 94%) after 10 years (Holm-Pedersen, et al. 2007), implant therapy has become a common practice and will probably gain in popularity during the next several years, this implies that the frequency of implant failure and related complications tend to increase (Levin 2008).

Surgical procedure is mandatory in an implant therapy and in some selected situations this procedure is becoming less invasive. While all surgical procedure initiate an inflammatory process with vascular alterations, which may lead to repair or wound healing, a persistent inflammatory process may result in osseointegration failure (Perala, et al. 1992, Harada, et al. 1996, Esposito, et al. 1998). Dental implant failure is a complex trait that may involve more than one causative factor (Weyant & Burt 1993, Montes, et al. 2007). The individual immune-inflammatory host response may influence dental implant treatment success (Esposito, et al. 2007) and interleukin-1 (IL-1) cytokines have been considered a key mediator of the osseointegration process (Panagakos, et al. 1996).

An increase of IL-1 β in the peri-implant crevicular fluid was observed at one week postoperatively (Khoury, et al. 2008). Moreover, augmented IL-1 levels were found in gingival fluid of patients with advanced peri-implant infection (Salcetti, et al. 1997).

IL-1 activates inflammatory mediator cascades and has been implicated in the pathogenesis of several diseases (Rogus, et al. 2008). This cytokine can

promote the degradation of the extracellular matrix components by matrix metalloproteinases (Birkedal-Hansen 1993) and bone resorption as a result of the interaction of the receptor activator of nuclear factor kappa B (RANK) and RANK ligand (RANKL) / osteoprotegerin (OPG) (Boyce & Xing 2007, Wright, et al. 2009).

Genetic polymorphisms are variations in the gene sequences which may affect the function of genes (Cargill, et al. 1999). Most polymorphisms are single nucleotide exchanges (SNPs) that occur in a high frequency in the human genome (Venter, et al. 2001). The most commonly studied functional polymorphisms for dental implant failure are variations of the *IL1* gene cluster, in particular in the *IL-1 α* (*IL1A*) and *IL-1 β* (*IL1B*) genes (Rogers, et al. 2002, Campos, et al. 2005, Wilson & Nunn 1999, Jansson, et al. 2005, Shimpuku, et al. 2003, Feloutzis, et al. 2003, Gruica, et al. 2004, Lin, et al. 2007, Montes, et al. 2009).

A functional SNP at position -511 (C/T) of the *IL-1 β* gene has been observed to modify the expression of the corresponding cytokine (Rogus, et al. 2008) and allele T has been observed to increase cytokine production (Braosi, et al. 2009). Moreover, it is related with several immune-inflammatory diseases: autoimmune rheumatic disease (Camargo, et al. 2004), systemic lupus erythematosus (Parks, et al. 2004), Sjögren's syndrome (Muraki, et al. 2004), gastric cancer (Vincenzi, et al. 2008), coronary artery disease (Rehcinski, et al. 2009), uterine leiomyoma (Pietrowski, et al. 2009).

The knowledge that implant loss tends to cluster in subsets of individuals, termed clusterization, may indicate that host immune-inflammatory response underlying the osseointegration process may be influenced by genetic factors (Montes, et al. 2007). Our group has recently found an evidence of genetic

basis underlying the clusterization phenomenon. A specific allele of *IL1RN* polymorphism, gene that codes for IL-1 receptor antagonist (IL-1ra), was associated with multiple implant loss (Montes, et al. 2009). Since IL-1 plays a significant role in inflammatory processes, functional polymorphisms in its genes, which have an impact in the cytokine expression levels, could be candidate genetic risk factors in the control of implant failure susceptibility. Thus, this study aimed to investigate the association between *IL1B* (C-511T) genetic polymorphism and endosseous dental implant loss and its influence on the clusterization phenomenon in a Brazilian population.

Material and methods

Subject selection

A total of 3,578 patient records from the Latin-American Dental Research Institute (ILAPEO) of Curitiba/BR were analyzed in this study. All patients were implant treated (*NEODENT™ Implante Osteointegrável*) between 1996 and 2006, and out of 3,578 subjects treated, 126 patients (3.5%) presented implant loss. Early failure represented the majority of cases, 88.2% (187/212). From these 126 individuals, 92 were evaluated (34 were not evaluated because of death or address change). Thus, the test group (TG) was composed of 92 subjects who lost implants. The control group (CG) was composed of 185 patients treated with osseointegrated implants, in function for at least six months and without any loss. The groups were matched by gender, age, and smoking habits (Table 1). Thus, the convenient sample was composed of 277 unrelated, both gender, mean age 53.63 ± 11.14 years (range 27.1 to 86.9) individuals.

The study sample was from the south region of Brazil, in Paraná State. According to the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE), in 2005, 73% of the population from Paraná State were Caucasians, 23.3% were of mixed ancestry, 2.5% were Afro-Americans, and 1.2% was Asiatic descents.

All patients were previously advised about the nature of the study and signed a consent form within a protocol approved by an Institutional Review Board (Ethical Committee in Research at PUCPR, protocol 323/06).

Subjects answered a personal, medical and dental history anamnesis, as well as had their socioeconomic profile assessed according to Brazilian Economical Classification Criteria (ABEP 2003), general medical condition, current medication, tooth brushing, use of dental floss and mouthwash, dental appointment frequency, and clinical data such as number of teeth and placed dental implants (Table 2).

With the aim to evaluate multiple implant loss (clusterization), the sample was divided into: group A, 254 individuals showing no implant failure or up to one implant loss; group B, 23 patients presenting multiple implant loss, which means the same implant lost more than once or more than one implant loss (multiple loss).

Periodontal Status

The following parameters were recorded in partially edentulous patients (n=151, CG; n=85, TG): gingival index (GI) (Loe & Silness 1963), plaque index (PI) (Silness & Loe 1964), calculus index (CI) (Greene & Vermillion 1964), probing pocket depth (PPD), clinical attachment loss (CAL), and mobility (absent or present). Periodontal measurements were recorded from 4 sites each tooth using a millimeter conventional U.N.C periodontal probe, Hu-Friedy™ (Chicago,

IL) and all these clinical data were collected by one examiner (F.A.P.). The periodontal status of all subjects is shown in table 3.

DNA collection and purification

From all subjects, epithelial buccal cells were collected according to a previously described protocol (Trevilatto & Line 2000). DNA was extracted from epithelial buccal cells with ammonium acetate 10 M and EDTA 1 mM (Aidar & Line 2007).

Polymerase chain reaction (PCR) and Restriction fragment length polymorphism (RFLP)

Polymorphism in the IL1B gene at position C-511T (rs 16944)

The oligonucleotides 5' - TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC - 3' and 5' - GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT - 3' were used. Amplification reactions were performed with 1 µL genomic DNA in a total volume of 25 µL, containing 22.5 µL of PCR Supermix™ (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) and 01 µM of each primer. The reactions were performed in a thermal cycler Endurance TC-512, Techne™ (Burlington, NJ) and consisted of a initial denaturation at 95°C for 5 min, followed by 35 cycles with denaturation at 95°C for 1 min, annealing at 51°C for 1 min, and elongation at 72°C for 1 min, with a final extension at 72°C for 7 min. RFLP technique was performed in a final reaction volume of 20 µL, with 10 µL aliquot of PCR products digested with 1 U of Aval at 37°C overnight to yield allele C (114 bp + 190 bp) and allele T (304 bp).

Gel electrophoresis

The total amount aliquot of the digest was electrophoresed on a 10% vertical non-denaturing polyacrylamide gel at 30 mA. The gel was silver stained with DNA Silver Staining Kit (Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden).

Statistical analysis

Nominal variables were expressed as frequencies and percents. To assess association between nominal variables, Chi-square (χ^2) test or Fisher's exact test was performed. Continuous variables were expressed as mean and standard deviation. Distribution of the variables was evaluated using Kolmogorov-Smirnov test. Then, Student's t-test was used to compare means between two groups, when the variable was in a normal distribution and U-Mann Whitney was used when continuous variables presented non-normal distribution. A p -value < 0.05 was considered statistically significant. Statistical analysis was performed using statistical software Statistica v.8.0 (StatSoft Inc, Tulsa, OK).

Results

Clinical findings

Among the clinical evaluated data, it was verified a significant statistical difference (SSD) between the groups in relation to medical treatment ($p=0.040$). It was observed that 54.35% (50/92) patients of TG and 40.54% (75/185) of the CG were submitted to some medical treatment. However, when medical diseases (diabetes, rheumatoid diseases, osteoporosis, HAS, cardiovascular diseases, hypotireoidism, other systemic disease) or medication (antihypertensive, antimicrobials, NSAIDs, SAIDs, hormonal reposition, other

drugs) were stratified there was no significant differences (NSD) between the groups (Table 2).

Edentulism presented SSD between the groups, being more frequent in CG (18%, 34/185) than TG (8%, 7/92) ($p=0.019$). However, the mean number of placed implants was increased in TG (5.82 ± 3.65) than in CG (4.44 ± 3.12) ($p=0.001$) (Table 2).

Periodontal status was evaluated and PPD was the only variable which showed SSD between the groups ($p=0.005$), being CG = 2.72 ± 0.46 and TG = 2.54 ± 0.47 (Table 3).

Other clinical findings evaluated (social profile, tooth brushing, use of dental floss, mouth washing, dental clinical appointment frequency, and number of present teeth) did not show differences between the groups (Table 2).

Genotyping analysis - *IL1B* (C- 511T) (rs 16944)

The genotyping distributions were consistent with the assumption of Hardy-Weinberg equilibrium.

There was NSD in polymorphism *IL1B* (-511) between TG and CG, neither considering genotypes ($p=0.279$) nor alleles ($p=0.168$). Allele T was carried by 67.4% (62/92) of TG, being 22.8% (21/92) homozygous and 62.7% (116/185) of CG, being 15.1% (28/185). The genotype distribution for the polymorphism studied in the whole sample and the allele frequencies are shown in table 4.

In the multiple implant loss analysis, NSD was observed for genotype ($p=0.083$) and allele ($p=0.838$) frequencies for the polymorphism *IL1B* (C-511T) between groups A and B (Table 5).

Discussion

Environmental and genetic factors usually interact to influence aspects of complex traits (Schutte & Murray 1999, Muhle, et al. 2004). This seems to be the case in relation to implant failure.

Implant failure is related in literature to several aspects: smoking (Baig & Rajan 2007), implant staging, use of reconstructive procedures (McDermott, et al. 2003), iatrogenic conditions (inadequate surgical technique, contamination and occlusal trauma), poor bone quality and quantity, peri-implantitis (Montes, et al. 2007) and genetic host immune-inflammatory response (Esposito, et al. 1998).

Groups of individuals seem to concentrate high levels of implant failure, which points to a host influence in modulating implant failure (Weyant & Burt 1993, Montes, et al. 2007). Although several gene polymorphisms have been investigated and associated with implant failure (Alvim-Pereira, et al. 2008), many aspects concerning genetic factors regulating host susceptibility remain yet to be clarified.

Concerning the sample of this study, the majority of subjects (96.40%) was Caucasoid, which is consistent with the data from the Official Brazilian Census of the population of Paraná State (Southern Brazil). This finding can be explained by the predominance of European ancestry in South and Southeast of Brazil. However, the Brazilian white population is heterogeneous and it is not recommended grouping Brazilians into ethnic groups based on color, race and geographical origin (Parra, et al. 2003, Pimenta, et al. 2006).

The TG had a significantly higher frequency of patients submitted to medical treatments than CG. This difference was not significant when each drug or each systemic condition was considered individually. To the authors' knowledge, the interference of continuous use drugs has not been previously reported in association with dental implant failure. Also, low evidence for contraindications due to the presence of systemic diseases has been related to implant therapy. Although many systemic diseases have been pointed as critical to implant treatment, studies comparing patients with and without specific conditions in controlled designs are rare (Mombelli & Cionca 2006, Neukam & Flemmig 2006).

In the present study, edentulism was found more frequent in patients from the control group. The bacterial reservoir in the remaining teeth may be considered a risk factor for implant failure (Apse, et al. 1989, Ellen 1998). Moreover, in partially dentate subjects, a desirable occlusal balance achievement is a hard task. Despite CG presented more needs for oral rehabilitation (high levels of edentulism), a higher mean number of implants were installed in TG patients. This fact is possibly due to the treatment considering implant management indicated for edentulous patients, who require a lower quantity of implants for total oral rehabilitation achievement (Sadowsky 2001, Doundoulakis, et al. 2003, Klemetti 2008).

Periodontal status, measured by PI, GI, CI, CAL, and tooth mobility, did not seem to influence implant failure, in discordance with previous studies (Quirynen, et al. 2002, Karoussis, et al. 2007, Serino & Strom 2009). Only PPD was significantly different between the groups; however, this mean difference (0.18 mm) may not be clinically relevant.

An increased presence of immune-inflammatory mediators (e.g. IL-1 β) may result in an exacerbated inflammatory response, which can compromise the osseointegration process and induce implant loss (Salcetti, et al. 1997, Nowzari, et al. 2008). In this context, inflammatory mediators such as IL-1 seem to have a role during the pos-surgical repair (Panagakos, et al. 1996).

Polymorphisms in the *IL1* gene cluster may account for variation in the production of IL-1 α , IL-1 β and L-1ra proteins (Pociot, et al. 1992, Chen, et al. 2006). In fact, *IL1* alleles have been associated with the prevalence and severity of several infectious and inflammatory diseases (Rehcinski, et al. 2009, Pietrowski, et al. 2009, Papapanou, et al. 2001, McDowell, et al. 1995), and implant failure (Table 6).

Studies related to *IL1B* (-511) polymorphisms and susceptibility of implant failure are rare. In the present study NSD was found between *IL1B* (-511) gene polymorphism and group that presented implant failure in according to Campos et al. (2005). However, when patients that presented multiple loss were compared to those who lost up to one implant, the results showed at a borderline significance ($p=0.083$), suggesting a possible association between TT genotype and multiple implant loss. Allele T of the functional polymorphism *IL1B* (-511) may be considered a risk allele in complex traits influenced by host immune-inflammatory aspects because it augments the gene transcript levels (Braosi, et al. 2009, Chen, et al. 2006). In this way, studies investigating other populations are maybe prone to identify such association. Studies have recently associated this genotype with marginal bone loss in patients treated with dental implants (Shimpuku, et al. 2003, Lin, et al. 2007). Although the present study does not include marginal bone loss in the variables that were directly analyzed,

it is known that it may greatly influence the long-term stability of implants and contribute to the implant failure. Moreover, although a study failed to detect an association of *IL1B* (-511) with peri-implantitis (Laine, et al. 2006), higher risk for chronic periodontitis, which share similar etiopathogenetic mechanisms with peri-implantitis, was found for patients carrying allele T (Nikolopoulos, et al. 2008). Studies investigating the association between *IL1B* (-511) polymorphism and dental implant failure are shown in table 7 and the genotype/allele distribution in different populations can be observed in figure 1.

In spite of the lack of association between the study polymorphism and implant loss, there are evidence for association of alleles of polymorphisms in *IL1* genes (Jansson, et al. 2005, Montes, et al. 2009) and other genes of the immune-inflammatory response (Santos, et al. 2004). Thus, as the relative weigh given by each polymorphism seems to be small in complex traits, the investigation of functional candidate genes involved in the physiopathogenesis of osseointegration failure may elucidate the genetic component of implant failure (Greenstein & Hart 2002). Genetic predisposition may influence the osseointegration process failure through the accumulated effect of multiple polymorphisms.

It is noteworthy mentioning the suggestive, although without statistical significance, association of TT genotype of *IL1B* (-511) polymorphism with endosteous multiple implant loss. Our group identified the first evidence of the literature of a genetic basis for the clusterization phenomenon (Montes, et al. 2009). Genotype 2/2 of *IL1RN* (intron 2) polymorphism was associated with multiple implant loss (OR: 3.07, IC: 1.13-8.34, $p=0.027$). The results found in this study may reinforce the idea of a genetic component underlying individual susceptibility to multiple implant losses (clusterization).

In this context, the next recommended step may be to analyze *IL1* genes as haplotypes. The analysis combining alleles in haplotypes may provide valuable information concerning genotype/phenotype relationship, as there are three main genes closely located in chromosome 2 long arm, codifying IL-1 mediators which modulate the osseointegration process.

Acknowledgement

The study was supported by grant from Instituto Latino Americano de Ensino e Pesquisa em Odontologia (ILAPEO), Curitiba, Brazil and National Counsel of Technological and Scientific Development (CNPq, grant 475770/2004-8).

Table 1. Baseline characteristics of all sampled subjects (n=277).

	Control group (n=185)		Test group (n=92)		
Ethnic group	n	%	n	%	<i>P</i> value
Caucasian	176	95.14	91	98.91	* 0.173
Non-Caucasian	09	4.86	01	1.09	
Age (years)[‡]	53.13 ± 11.46		54.63 ± 10.44		† 0.293
Gender	n	%	n	%	
Female	122	65.95	56	60.87	* 0.426
Male	63	34.05	36	39.13	
Smoking	n	%	N	%	
Non-smoking	142	76.76	74	80.43	* 0.540
Smoking	43	23.24	18	19.57	

*Fisher's test;

‡ Number-Mean ± Standard Deviation;

†Student's t-test.

Table 2. Patients' clinical findings and anamnesis data (n=277).

	Control group (n=185)		Test group (n=92)		p value
	n	%	n	%	
Social profile					
A1/A2/B1	95	51.35	46	50.00	*0.899
B2/C/D	90	48.65	46	50.00	
Medical treatment					
Yes	75	40.54	50	54.35	*0.040
No	110	59.46	42	45.65	
General medical condition					
Systemic disease	127	64.65	68	73.91	*0.404
Diabetes	09	4.86	02	2.17	*0.347
Rheumatoid diseases	34	18.38	25	27.17	*0.119
Osteoporosis	03	1.62	02	2.17	*0.996
High blood pressure	35	18.92	24	26.09	*0.212
Cardiovascular diseases	10	5.40	08	8.70	*0.309
Hypotireoidism	18	9.73	10	10.87	*0.833
Current medication					
Any medication	46	24.86	17	18.48	*0.287
Antihypertension	30	16.22	21	22.83	*0.191
Antimicrobials	15	8.11	07	7.61	*1.000
NSAIDs ^a	06	3.24	06	6.52	*0.221
SAIDs ^b	04	2.16	03	3.26	*0.688
Hormony reposition	33	17.84	12	13.04	*0.388
Brushing daily					
1 time	09	4.86	06	6.52	**0.709
2 times	42	22.70	16	17.39	
3 times	110	59.46	56	60.87	
More than 3 times	24	12.97	14	15.22	
Dental floss daily					
Yes	122	65.95	61	66.30	**0.342
No	37	20.00	23	25.00	
Infrequent	26	14.05	08	8.70	
Mouth washing daily					
Yes	60	42.43	29	31.52	**0.769
No	85	45.95	46	50.00	
Infrequent	40	21.62	17	18.48	
Clinical appointments[‡]	6.42 ± 4.94		6.28 ± 4.59		†0.846
Clinical measurements					
Edentulism	34	18.38	07	7.61	*0.019
#Present teeth [‡]	16.59 ± 9.76		17.05 ± 8.31		†0.879
Placed implants [‡]	4.44 ± 3.12		5.82 ± 3.65		† 0.001

* Fisher's test;

** Q-quadrado;

† U-Mann-Whitney's test;

‡ Number-Mean ± Standart Deviation;

^aNonsteroidal anti-inflammatory drugs;^bSteroidal anti-inflammatory drugs;

#Control group (n=151); Test group (n=85).

Table 3. Periodontal status of partially edentulous patients (n=236).

Periodontal Status	Control Group (n=151)	Test Group (n=85)	p value
Gingival Index †	0.64 ± 0.37	0.65 ± 0.53	**0.893
Plaque Index †	0.12 ± 0.23	0.23 ± 0.41	* 0.965
Calculus Index †	0.07 ± 0.12	0.13 ± 0.24	* 0.281
PPD ^a (mm) †	2.72 ± 0.46	2.54 ± 0.47	** 0.005
CAL ^b (mm) †	3.62 ± 0.85	3.66 ± 1.07	**0.760
Mobility (absence/presence)	132 / 19	70 / 15	‡ 0.335

* U-Mann-Whitney's test;

**Student's t-test;

‡ Fisher's test;

† Mean ± Standard Deviation;

^a Probing pocket depth;

^b Clinical attachment level.

Table 4. Genotype and allele frequencies of *IL1B* (C-511T) polymorphism of all sampled subjects.

Genotypes	Control group (n=185)		Test group (n=92)		p value
	n	%	N	%	
C/C	69	37.30	30	32.61	* 0.279
C/T	88	47.56	41	44.56	
T/T	28	15.14	21	22.83	
Alleles #					
C	227	61.35	101	54.89	** 0.168
T	143	38.65	83	45.11	

* Chi-square test:

** Fisher's exact test:

Control group n=370, Study group n=184.

Table 5. Genotype and allele frequencies of *IL1B* (C-511T) polymorphism considering multiple implant loss.

Genotypes	Group A (n=254)		Group B (n=23)		p value
	n	%	N	%	
C/C	89	35.04	10	43.48	* 0.083
C/T	123	48.42	06	26.09	
T/T	42	16.54	07	30.43	
Alleles #					
C	301	59.25	26	56.52	* 0.838
T	207	40.75	20	43.48	

* Chi-square test.

Group A - n=508, Group B - n=46.

Group A: patients showing up to one implant failure;

Group B: patients presenting multiple implant loss.

Table 6. Functional impact of the *IL1* gene polymorphisms investigated for susceptibility to implant failure.

Authors	Polymorphisms	Case (n) / Control (n)	Population	Results
Wilson & Nunn 1999	<i>IL1A</i> (-889) and <i>IL1B</i> (+3954)	27/38	?	Not associated with implant failure
Rogers et al. 2002	<i>IL1A</i> (-889) and <i>IL1B</i> (+3954)	19/31	Australian Caucasian	Not associated with implant failure
Feloutzis et al. 2003	<i>IL1A</i> (-889) and <i>IL1B</i> (+3954)	51/39	European Caucasian	Smoking + <i>IL1</i> positive genotype associated with marginal bone loss
Shimpuku et al. 2003	<i>IL1A</i> (-889) and <i>IL1B</i> (-511,+3954)	17/22	Japanese	Associated with marginal bone loss
Gruica et al. 2004	<i>IL1A</i> (-889) and <i>IL1B</i> (+3954)	34/146	European Caucasian	Smoking + <i>IL1</i> positive genotype associated with marginal bone loss
Campos et al. 2005	<i>IL1A</i> (-889), <i>IL1B</i> (-511,+3954), and <i>IL1RN</i>	28/34	Brazilian	Not associated with implant early failure
Jansson et al. 2005	<i>IL1A</i> (-889) and <i>IL1B</i> (+3954)	6/16	European Caucasian	Smoking + <i>IL1</i> positive genotype associated with marginal bone loss
Laine et al. 2006	<i>IL1A</i> (-889), <i>IL1B</i> (-511,+3954), and <i>IL1RN</i>	71/49	North Swedish Caucasian	That <i>IL1RN</i> gene polymorphism associated with peri-implantitis
Lin et al. 2007	<i>IL1A</i> (-889), <i>IL1B</i> (-511) and <i>IL1B</i> (+3954)	29/30	Chinese	Associated with early marginal bone loss: <i>IL1B</i> (-511) gene polymorphism
Montes et al. 2009	<i>IL1B</i> (+3954) and <i>IL1RN</i>	90/176	Brazilian	That <i>IL1RN</i> gene polymorphism associated with multiple losses

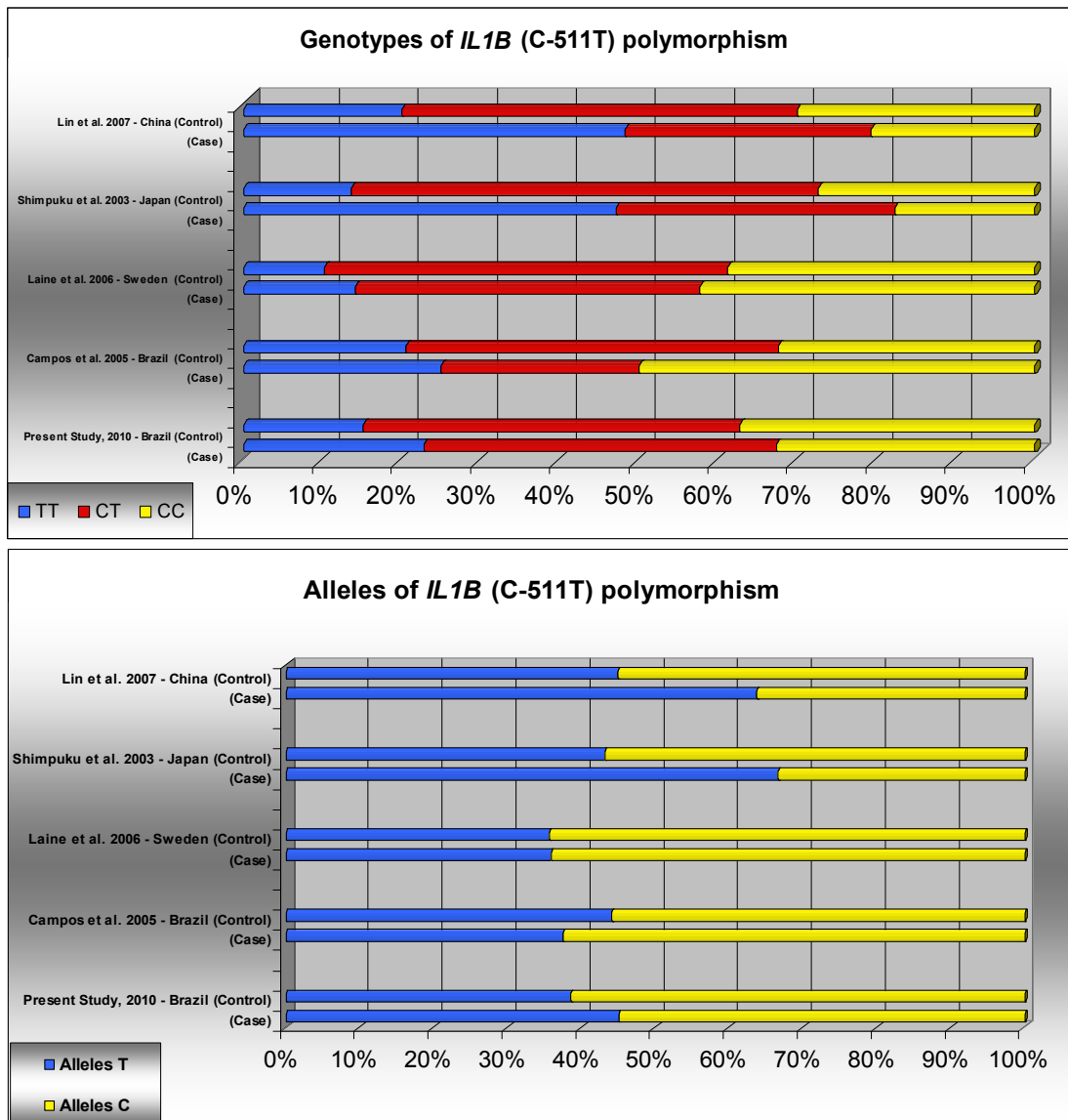
Table 7. Studies investigating the association of *IL1B* (C-511T) with dental implant failure.

Authors	Year	Country	Case	Control	Implant failure	OR	CI	p-value	<i>IL1B</i> (-511)
Campos et al.	2005	Brazil	34	28	implant loss	----	----	3.209	not associated
Shimpuku et al.	2003	Japan	17	22	marginal bone loss	10.86	1.64 - 71.90	0.013	genotype TT
Laine et al.	2006	Sweden	71	49	peri-implantitis	0.46	0.2 - 1.2	0.120	not associated
Lin et al.	2007	China	29	30	marginal bone loss	0.268	0.085 - 0.849	0.021	genotype TT
Present study	2010	Brazil	92	185	implant failure	----	----	0.279	not associated

OR: Odds Ratio

CI: Confidence Interval

Figure 1. Genotype and allele distributions of *IL1B* (C-511T) polymorphism in different populations.



References

- Henry, P.J., (2005) Oral implant restoration for enhanced oral function. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **32**: 123-127.
- Holm-Pedersen, P., Lang, N.P. & Muller, F., (2007) What are the longevities of teeth and oral implants? *Clin Oral Implants Res* **18 Suppl 3**: 15-19.
- Levin, L., (2008) Dealing with dental implant failures. *J Appl Oral Sci* **16**: 171-175.
- Perala, D.G., Chapman, R.J., Gelfand, J.A., Callahan, M.V., Adams, D.F. & Lie, T., (1992) Relative production of il-1 beta and tnf alpha by mononuclear cells after exposure to dental implants. *J Periodontol* **63**: 426-430.
- Harada, Y., Watanabe, S., Yssel, H. & Arai, K., (1996) Factors affecting the cytokine production of human t cells stimulated by different modes of activation. *J Allergy Clin Immunol* **98**: S161-173.
- Esposito, M., Hirsch, J.M., Lekholm, U. & Thomsen, P., (1998) Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (ii). Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci* **106**: 721-764.
- Weyant, R.J. & Burt, B.A., (1993) An assessment of survival rates and within-patient clustering of failures for endosseous oral implants. *J Dent Res* **72**: 2-8.
- Montes, C.C., Pereira, F.A., Thome, G., Alves, E.D., Acedo, R.V., de Souza, J.R., Melo, A.C. & Trevilatto, P.C., (2007) Failing factors associated with osseointegrated dental implant loss. *Implant Dent* **16**: 404-412.
- Esposito, M., Grusovin, M.G., Maghaireh, H., Coulthard, P. & Worthington, H.V., (2007) Interventions for replacing missing teeth: Management of soft tissues for dental implants. *Cochrane Database Syst Rev*: CD006697.
- Khoury, S.B., Thomas, L., Walters, J.D., Sheridan, J.F. & Leblebicioglu, B., (2008) Early wound healing following one-stage dental implant placement with and without antibiotic prophylaxis: A pilot study. *J Periodontol* **79**: 1904-1912.
- Salcetti, J.M., Moriarty, J.D., Cooper, L.F., Smith, F.W., Collins, J.G., Socransky, S.S. & Offenbacher, S., (1997) The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implant. *Int J Oral Maxillofac Implants* **12**: 32-42.
- Rogus, J., Beck, J.D., Offenbacher, S., Huttner, K., Iacoviello, L., Latella, M.C., de Gaetano, M., Wang, H.Y., Kornman, K.S. & Duff, G.W., (2008) Il1b gene promoter haplotype pairs predict clinical levels of interleukin-1beta and c-reactive protein. *Hum Genet* **123**: 387-398.
- Birkedal-Hansen, H., (1993) Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res* **28**: 500-510.

Boyce, B.F. & Xing, L., (2007) Biology of rank, rankl, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther* **9 Suppl 1**: S1.

Wright, H.L., McCarthy, H.S., Middleton, J. & Marshall, M.J., (2009) Rank, rankl and osteoprotegerin in bone biology and disease. *Curr Rev Musculoskelet Med* **2**: 56-64.

Cargill, M., Altshuler, D., Ireland, J., Sklar, P., Ardlie, K., Patil, N., Shaw, N., Lane, C.R., Lim, E.P., Kalyanaraman, N., Nemesh, J., Ziaugra, L., Friedland, L., Rolfe, A., Warrington, J., Lipshutz, R., Daley, G.Q. & Lander, E.S., (1999) Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nat Genet* **22**: 231-238.

Venter, J.C., Adams, M.D., Myers, E.W., Li, P.W., Mural, R.J., Sutton, G.G., Smith, H.O., Yandell, M., Evans, C.A., Holt, R.A., Gocayne, J.D., Amanatides, P., Ballew, R.M., Huson, D.H., Wortman, J.R., Zhang, Q., Kodira, C.D., Zheng, X.H., Chen, L., Skupski, M., Subramanian, G., Thomas, P.D., Zhang, J., Gabor Miklos, G.L., Nelson, C., Broder, S., Clark, A.G., Nadeau, J., McKusick, V.A., Zinder, N., Levine, A.J., Roberts, R.J., Simon, M., Slayman, C., Hunkapiller, M., Bolanos, R., Delcher, A., Dew, I., Fasulo, D., Flanigan, M., Florea, L., Halpern, A., Hannenhalli, S., Kravitz, S., Levy, S., Mobarry, C., Reinert, K., Remington, K., Abu-Threideh, J., Beasley, E., Biddick, K., Bonazzi, V., Brandon, R., Cargill, M., Chandramouliswaran, I., Charlab, R., Chaturvedi, K., Deng, Z., Di Francesco, V., Dunn, P., Eilbeck, K., Evangelista, C., Gabrielian, A.E., Gan, W., Ge, W., Gong, F., Gu, Z., Guan, P., Heiman, T.J., Higgins, M.E., Ji, R.R., Ke, Z., Ketchum, K.A., Lai, Z., Lei, Y., Li, Z., Li, J., Liang, Y., Lin, X., Lu, F., Merkulov, G.V., Milshina, N., Moore, H.M., Naik, A.K., Narayan, V.A., Neelam, B., Nuskern, D., Rusch, D.B., Salzberg, S., Shao, W., Shue, B., Sun, J., Wang, Z., Wang, A., Wang, X., Wang, J., Wei, M., Wides, R., Xiao, C., Yan, C., Yao, A., Ye, J., Zhan, M., Zhang, W., Zhang, H., Zhao, Q., Zheng, L., Zhong, F., Zhong, W., Zhu, S., Zhao, S., Gilbert, D., Baumhueter, S., Spier, G., Carter, C., Cravchik, A., Woodage, T., Ali, F., An, H., Awe, A., Baldwin, D., Baden, H., Barnstead, M., Barrow, I., Beeson, K., Busam, D., Carver, A., Center, A., Cheng, M.L., Curry, L., Danaher, S., Davenport, L., Desilets, R., Dietz, S., Dodson, K., Doup, L., Ferriera, S., Garg, N., Gluecksmann, A., Hart, B., Haynes, J., Haynes, C., Heiner, C., Hladun, S., Hostin, D., Houck, J., Howland, T., Ibegwam, C., Johnson, J., Kalush, F., Kline, L., Koduru, S., Love, A., Mann, F., May, D., McCawley, S., McIntosh, T., McMullen, I., Moy, M., Moy, L., Murphy, B., Nelson, K., Pfannkoch, C., Pratts, E., Puri, V., Qureshi, H., Reardon, M., Rodriguez, R., Rogers, Y.H., Romblad, D., Ruhfel, B., Scott, R., Sitter, C., Smallwood, M., Stewart, E., Strong, R., Suh, E., Thomas, R., Tint, N.N., Tse, S., Vech, C., Wang, G., Wetter, J., Williams, S., Williams, M., Windsor, S., Winn-Deen, E., Wolfe, K., Zaveri, J., Zaveri, K., Abril, J.F., Guigo, R., Campbell, M.J., Sjolander, K.V., Karlak, B., Kejariwal, A., Mi, H., Lazareva, B., Hatton, T., Narechania, A., Diemer, K., Muruganujan, A., Guo, N., Sato, S., Bafna, V., Istrail, S., Lippert, R., Schwartz, R., Walenz, B., Yooseph, S., Allen, D., Basu, A., Baxendale, J., Blick, L., Caminha, M., Carnes-Stine, J., Caulk, P., Chiang, Y.H., Coyne, M., Dahlke, C., Mays, A., Dombroski, M., Donnelly, M., Ely, D., Esparham, S., Fosler, C., Gire, H., Glanowski, S., Glasser, K., Glodek, A., Gorokhov, M., Graham, K., Gropman, B., Harris, M., Heil, J., Henderson, S., Hoover, J., Jennings, D., Jordan, C., Jordan, J., Kasha, J., Kagan, L., Kraft, C.,

Levitsky, A., Lewis, M., Liu, X., Lopez, J., Ma, D., Majoros, W., McDaniel, J., Murphy, S., Newman, M., Nguyen, T., Nguyen, N., Nodell, M., Pan, S., Peck, J., Peterson, M., Rowe, W., Sanders, R., Scott, J., Simpson, M., Smith, T., Sprague, A., Stockwell, T., Turner, R., Venter, E., Wang, M., Wen, M., Wu, D., Wu, M., Xia, A., Zandieh, A. & Zhu, X., (2001) The sequence of the human genome. *Science* **291**: 1304-1351.

Rogers, M.A., Figliomeni, L., Baluchova, K., Tan, A.E., Davies, G., Henry, P.J. & Price, P., (2002) Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants? *J Periodontal Res* **37**: 37-41.

Campos, M.I., Santos, M.C., Trevilatto, P.C., Scarel-Caminaga, R.M., Bezerra, F.J. & Line, S.R., (2005) Evaluation of the relationship between interleukin-1 gene cluster polymorphisms and early implant failure in non-smoking patients. *Clinical Oral Implants Research* **16**: 194-201.

Wilson, T.G., Jr. & Nunn, M., (1999) The relationship between the interleukin-1 periodontal genotype and implant loss. Initial data. *J Periodontol* **70**: 724-729.

Jansson, H., Hamberg, K., De Bruyn, H. & Bratthall, G., (2005) Clinical consequences of il-1 genotype on early implant failures in patients under periodontal maintenance. *Clin Implant Dent Relat Res* **7**: 51-59.

Shimpuku, H., Nosaka, Y., Kawamura, T., Tachi, Y., Shinohara, M. & Ohura, K., (2003) Genetic polymorphisms of the interleukin-1 gene and early marginal bone loss around endosseous dental implants. *Clin Oral Implants Res* **14**: 423-429.

Feloutzis, A., Lang, N.P., Tonetti, M.S., Burgin, W., Bragger, U., Buser, D., Duff, G.W. & Kornman, K.S., (2003) Il-1 gene polymorphism and smoking as risk factors for peri-implant bone loss in a well-maintained population. *Clin Oral Implants Res* **14**: 10-17.

Gruica, B., Wang, H.Y., Lang, N.P. & Buser, D., (2004) Impact of il-1 genotype and smoking status on the prognosis of osseointegrated implants. *Clin Oral Implants Res* **15**: 393-400.

Lin, Y.H., Huang, P., Lu, X., Guan, D.H., Man, Y., Wei, N., Wang, Y.Y. & Gong, P., (2007) The relationship between il-1 gene polymorphism and marginal bone loss around dental implants. *J Oral Maxillofac Surg* **65**: 2340-2344.

Montes, C.C., Alvim-Pereira, F., de Castilhos, B.B., Sakurai, M.L., Olandoski, M. & Trevilatto, P.C., (2009) Analysis of the association of il1b (c+3954t) and il1rn (intron 2) polymorphisms with dental implant loss in a brazilian population. *Clin Oral Implants Res* **20**: 208-217.

Braosi, A.P.R., Souza, C.M., Luczyszyn, S.M., Dirschnabel, A.J., Doetzer, A.D., Ávila, A.R., Olandoski, M., Garlet, G.P., Pecoits-Filho, R.F. & Trevilatto, P.C. (2009) Association of *il1* gene polymorphisms and transcript levels with periodontal disease and chronic kidney disease CC.

Camargo, J.F., Correa, P.A., Castiblanco, J. & Anaya, J.M., (2004) Interleukin-1beta polymorphisms in colombian patients with autoimmune rheumatic diseases. *Genes Immun* **5**: 609-614.

Parks, C.G., Cooper, G.S., Dooley, M.A., Treadwell, E.L., St Clair, E.W., Gilkeson, G.S. & Pandey, J.P., (2004) Systemic lupus erythematosus and genetic variation in the interleukin 1 gene cluster: A population based study in the southeastern united states. *Ann Rheum Dis* **63**: 91-94.

Muraki, Y., Tsutsumi, A., Takahashi, R., Suzuki, E., Hayashi, T., Chino, Y., Goto, D., Matsumoto, I., Murata, H., Noguchi, E. & Sumida, T., (2004) Polymorphisms of il-1 beta gene in japanese patients with sjogren's syndrome and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* **31**: 720-725.

Vincenzi, B., Patti, G., Galluzzo, S., Pantano, F., Venditti, O., Santini, D., Ruzzo, A., Schiavon, G., Caraglia, M., Marra, M., Graziano, F. & Tonini, G., (2008) Interleukin 1beta-511t gene (il1beta) polymorphism is correlated with gastric cancer in the caucasian population: Results from a meta-analysis. *Oncol Rep* **20**: 1213-1220.

Rehcinski, T., Grebowska, A., Kurpesa, M., Sztybrych, M., Peruga, J.Z., Trzos, E., Rudnicka, W., Krzeminska-Pakula, M. & Chmiela, M., (2009) Interleukin-1b and interleukin-1 receptor inhibitor gene cluster polymorphisms in patients with coronary artery disease after percutaneous angioplasty or coronary artery bypass grafting. *Kardiol Pol* **67**: 601-610.

Pietrowski, D., Thewes, R., Sator, M., Denschlag, D., Keck, C. & Tempfer, C., (2009) Uterine leiomyoma is associated with a polymorphism in the interleukin 1-beta gene. *Am J Reprod Immunol* **62**: 112-117.

Parra, F.C., Amado, R.C., Lambertucci, J.R., Rocha, J., Antunes, C.M. & Pena, S.D., (2003) Color and genomic ancestry in brazilians. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**: 177-182.

Pimenta, J.R., Zuccherato, L.W., Debes, A.A., Maselli, L., Soares, R.P., Moura-Neto, R.S., Rocha, J., Bydlowski, S.P. & Pena, S.D., (2006) Color and genomic ancestry in brazilians: A study with forensic microsatellites. *Hum Hered* **62**: 190-195.

ABEP, (2003) Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa - *Critério de classificação econômica Brasil*. São Paulo. [<http://www.abep.org/default.aspx?usaritem=arquivos&iditem=23>] (accessed 08 Dec 2008).

Loe, H. & Silness, J., (1963) Periodontal disease in pregnancy. 1. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* **21**: 533-551.

Silness, J. & Loe, H., (1964) Periodontal disease in pregnancy. 2. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* **22**: 121-135.

- Greene, J.C. & Vermillion, J.R., (1964) The simplified oral hygiene index. *J Am Dent Assoc* **68**: 7-13.
- Trevilatto, P.C. & Line, S.R., (2000) Use of buccal epithelial cells for pcr amplification of large DNA fragments. *J Forensic Odontostomatol* **18**: 6-9.
- Aidar, M. & Line, S.R., (2007) A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz dent J*.
- Schutte, B.C. & Murray, J.C., (1999) The many faces and factors of orofacial clefts. *Hum Mol Genet* **8**: 1853-1859.
- Muhle, R., Trentacoste, S.V. & Rapin, I., (2004) The genetics of autism. *Pediatrics* **113**: e472-486.
- Baig, M.R. & Rajan, M., (2007) Effects of smoking on the outcome of implant treatment: A literature review. *Indian J Dent Res* **18**: 190-195.
- McDermott, N.E., Chuang, S.K., Woo, V.V. & Dodson, T.B., (2003) Complications of dental implants: Identification, frequency, and associated risk factors. *Int J Oral Maxillofac Implants* **18**: 848-855.
- Alvim-Pereira, F., Montes, C.C., Mira, M.T. & Trevilatto, P.C., (2008) Genetic susceptibility to dental implant failure: A critical review. *Int J Oral Maxillofac Implants* **23**: 409-416.
- Mombelli, A. & Cionca, N., (2006) Systemic diseases affecting osseointegration therapy. *Clin Oral Implants Res* **17 Suppl 2**: 97-103.
- Neukam, F.W. & Flemmig, T.F., (2006) Local and systemic conditions potentially compromising osseointegration. Consensus report of working group 3. *Clin Oral Implants Res* **17 Suppl 2**: 160-162.
- Apse, P., Ellen, R.P., Overall, C.M. & Zarb, G.A., (1989) Microbiota and crevicular fluid collagenase activity in the osseointegrated dental implant sulcus: a comparison of sites in edentulous and partially edentulous patients. *J Periodontal Res* **24**: 96-105.
- Ellen, R.P., (1998) Microbial colonization of the peri-implant environment and its relevance to long-term success of osseointegrated implants. *Int J Prosthodont* **11**: 433-41.
- Sadowsky, S.J., (2001) Mandibular implant-retained overdentures: A literature review. *J Prosthet Dent* **86**: 468-473.
- Doundoulakis, J.H., Eckert, S.E., Lindquist, C.C. & Jeffcoat, M.K., (2003) The implant-supported overdenture as an alternative to the complete mandibular denture. *J Am Dent Assoc* **134**: 1455-1458.
- Klemetti, E., (2008) Is there a certain number of implants needed to retain an overdenture? *J Oral Rehabil* **35 Suppl 1**: 80-84.

Quirynen, M., De Soete, M. & van Steenberghe, D., (2002) Infectious risks for oral implants: A review of the literature. *Clin Oral Implants Res* **13**: 1-19.

Karoussis, I.K., Kotsovilis, S. & Fourmoussis, I., (2007) A comprehensive and critical review of dental implant prognosis in periodontally compromised partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res* **18**: 669-679.

Serino, G. & Strom, C., (2009) Peri-implantitis in partially edentulous patients: Association with inadequate plaque control. *Clin Oral Implants Res* **20**: 169-174.

Nowzari, H., Yi, K., Chee, W. & Rich, S.K., (2008) Immunology, microbiology, and virology following placement of nobelperfect scalloped dental implants: Analysis of a case series. *Clin Implant Dent Relat Res* **10**: 157-165.

Panagakos, F.S., Aboyoussef, H., Dondero, R. & Jandinski, J.J., (1996) Detection and measurement of inflammatory cytokines in implant crevicular fluid: A pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants* **11**: 794-799.

Pociot, F., Molvig, J., Wogensen, L., Worsaae, H. & Nerup, J., (1992) A taqi polymorphism in the human interleukin-1 beta (il-1 beta) gene correlates with il-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* **22**: 396-402.

Chen, H., Wilkins, L.M., Aziz, N., Cannings, C., Wyllie, D.H., Bingle, C., Rogus, J., Beck, J.D., Offenbacher, S., Cork, M.J., Rafie-Kolpin, M., Hsieh, C.M., Kornman, K.S. & Duff, G.W., (2006) Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1b gene affect transcription according to haplotype context. *Hum Mol Genet* **15**: 519-529.

McDowell, T.L., Symons, J.A., Ploski, R., Forre, O. & Duff, G.W., (1995) A genetic association between juvenile rheumatoid arthritis and a novel interleukin-1 alpha polymorphism. *Arthritis Rheum* **38**: 221-228.

Papapanou, P.N., Neiderud, A.M., Sandros, J. & Dahlen, G., (2001) Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. A case-control study. *J Clin Periodontol* **28**: 389-396.

Laine, M.L., Leonhardt, A., Roos-Jansaker, A.M., Pena, A.S., van Winkelhoff, A.J., Winkel, E.G. & Renvert, S., (2006) Il-1rn gene polymorphism is associated with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res* **17**: 380-385.

Nikolopoulos, G.K., Dimou, N.L., Hamodrakas, S.J. & Bagos, P.G., (2008) Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: A meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. *J Clin Periodontol* **35**: 754-767.

Santos, M.C., Campos, M.I., Souza, A.P., Trevilatto, P.C. & Line, S.R., (2004) Analysis of mmp-1 and mmp-9 promoter polymorphisms in early osseointegrated implant failure. *Int J Oral Maxillofac Implants* **19**: 38-43.

Greenstein, G. & Hart, T.C., (2002) A critical assessment of interleukin-1 (il-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. *J Periodontol* **73**: 231-247.

CONCLUSÃO

Conclusão

Não foi observada associação entre o polimorfismo *IL1B* (C-511T) e a perda de implantes dentais osseointegráveis. No entanto, foi identificada uma sugestiva, porém não estatisticamente significativa, associação do genótipo TT deste polimorfismo com a perda múltipla de implantes osseointegráveis.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Perspectivas futuras

Os resultados encontrados no presente estudo podem reforçar a idéia de que há um componente genético de susceptibilidade individual para perdas múltiplas de implantes dentais osseointegráveis, contribuindo para o fenômeno de clusterização, que é a predisposição à recorrência de perdas de implantes.

Nesse contexto, as perspectivas futuras podem estar relacionadas à análise de haplótipos dos genes *IL1*. A análise combinando alelos em haplótipos pode proporcionar informações essenciais sobre a relação genótipo/fenótipo, já que existem três genes principais localizados no braço longo do cromossomo 2 codificando os mediadores IL-1, os quais modulam o processo de osseointegração.

A associação entre um traço complexo e um marcador genético conhecido, além de permitir a identificação de indivíduos de maior risco, pode fornecer bases moleculares para o entendimento da sua etiopatogênese e progressão. No futuro, pode ser possível o desenvolvimento de uma ferramenta de diagnóstico de suscetibilidade genética a falhas de implantes, a partir do conhecimento das bases moleculares que controlam a suscetibilidade a essas condições complexas.

ANEXOS

Anexos:

Outros artigos desenvolvidos no curso de Doutorado, submetidos à publicação:

Association of *IL1* gene polymorphisms and transcript levels with periodontal disease and chronic kidney disease

A. P. Ribeiro Braosi¹; C. M. de Souza¹; S. M. Luczyszyn¹; A. J. Dirschnabel¹; A. D. Doetzer¹; A. R. Ávila²; A. C. Dominguez²; M. C. Riella³; M. Olandoski⁴; C. M. Probst²; G. P. Garlet⁵; R. F. Pecoits-Filho⁴; P. C. Trevilatto⁴

¹ Graduate students of the Center for Health and Biological Sciences at Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba, PR, Brazil.

² Researcher at Instituto de Biologia Molecular do Paraná (IBMP) - FIOCRUZ, Curitiba, PR, Brazil.

³ Professor of the Center for Health and Biological Sciences at Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), and President of Renal, Diabetes and Hypertension Research Center of Pro-Renal Foundation (Pro-Renal), Curitiba, PR, Brazil.

⁴ Professor of the Center for Health and Biological Sciences at Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba, PR, Brazil.

⁵ Department of Biological Sciences, School of Dentistry of Bauru, University of São Paulo, Bauru, São Paulo, Brazil; Bauru, SP, Brazil.

Running title: *IL1* gene polymorphisms and chronic kidney disease and periodontitis.

Key Words: chronic kidney disease; periodontal disease; interleukin-1, genetic polymorphisms, gene transcripts.

Corresponding author:

Paula Cristina Trevilatto, DDS, PhD
Center for Health and Biological Sciences (CCBS)
Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)
Rua Imaculada Conceição, 1155
80215-901
Curitiba, PR, Brazil
Phone/Fax: +55 (41) 3271-2618 / +55 (41) 3271-1657
e-mail: pctrev@yahoo.com.br

Abstract

Background and Objective: Chronic kidney disease (CKD) and periodontal disease (PD) are complex inflammatory disturbances, which may be influenced by environmental and genetic factors. Interleukin (IL)-1 genes code for inflammatory mediators that play a central role in the pathogenesis of both diseases. Functional polymorphisms in *IL1* genes modulate their expression levels and have been associated with susceptibility to several immune-inflammatory conditions. The aim of this study was to investigate the association of the functional polymorphisms in the *IL1* genes and gene transcripts levels with susceptibility to CKD and PD.

Material and Methods: The study population consisted of 246 individuals, mean age 44.8 years, and was divided into: *group 1* (64 patients without CKD and without PD), *group 2* (58 patients without CKD and with PD), *group 3* (52 patients with CKD and without PD) and *group 4* (72 patients with CKD and with PD). Genomic DNA was obtained from cells of oral mucosa and the polymorphisms *IL1AC-889T*, *IL1BC-511T*, *IL1BC+3954T* and *IL1RN* (intron 2) were analyzed by PCR-RFLP. Interleukin-1 gene transcripts from gingival tissues were analyzed by real time-PCR technique. The risk associated with genotypes, alleles and haplotypes was calculated as the odds ratio (OR) with 95% confidence intervals (CI). To assess possible differences in the intensity of mRNA expression among the groups was used ANOVA ($p < 0.05$).

Results: The *IL1RN*1* allele was associated with a roughly 3-fold increased risk of CKD (OR 2.86 95% CI=1.1-7.4, $p=0.045$). The *IL1RN*2* allele was associated with PD in CKD patients (OR 3.53 95% CI=1.5-8.4, $p=0.005$), as well as *IL1B+3954*T* allele associated with CKD when patients with PD were analyzed (OR 1.96 95% CI=1.10-3.48, $p=0.030$). Increased levels of transcripts of *IL1A*, *IL1B* and *IL1RN* genes were observed in PD patients, although no statistically significant differences were observed between groups without and with CKD.

Conclusion: It was observed an association between *IL1* gene polymorphisms and susceptibility to CKD and PD. Moreover, higher levels of *IL1* gene transcripts were found in PD patients. The present study suggests that the association of *IL1* gene cluster polymorphisms with PD and CKD maybe remains in the fact that both are immune-inflammatory diseases which share common mechanisms influencing their onset, severity and progression.

Association between matrix metalloproteinase-1 promoter polymorphism and transcript levels with periodontal disease and chronic kidney disease in a Brazilian population

Sônia Mara Luczyszyn¹, MS; Cléber Machado de Souza¹, DDS; Ana Paula Ribeiro¹, MS; Acir José Dirschnabel¹, MS; Fábio Rueda Faucz², DDS, PHD; Marcela Claudino³, DDS, MS; Carlos E Repeke³, DDS, MS; Gustavo P. Garlet³, DDS, PHD; Sung H. Kim², DDS, PHD; Vinícius A. Tramontina², DDS, PHD; Vula Papalexiou², DDS, PHD; Miguel Carlos Riella⁴, MD, PHD; Roberto Pecoits-Filho², MD, PHD; Paula Cristina Trevilatto², DDS, PHD.

¹ Graduate students of the Center for Health and Biological Sciences at Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba, PR, Brazil.

² Professor of the Center for Health and Biological Sciences at Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba, PR, Brazil.

³ Department of Biological Sciences, School of Dentistry of Bauru, University of São Paulo, Bauru, São Paulo, Brazil; Bauru, SP, Brazil.

⁴ Professor of the Center for Health and Biological Sciences at Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), and President of Renal, Diabetes and Hypertension Research Center of Pro-Renal Foundation (Pro-Renal), Curitiba, PR, Brazil.

Short title: Association between MMP-1 promoter polymorphism with periodontitis and chronic kidney disease.

Key words: periodontal disease; chronic kidney disease; MMP-1; genetic polymorphisms; transcript levels.

Corresponding author:

Paula Cristina Trevilatto, DDS, PhD
Center for Health and Biological Sciences (CCBS)
Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)
Rua Imaculada Conceição, 1155
80215-901
Curitiba, PR, Brazil
Phone/Fax: +55 (41) 3271-2618 / +55 (41) 3271-1657
e-mail: pctrev@yahoo.com.br

Abstract

Objective: Chronic periodontal disease (PD) is an infectious illness of the oral cavity, characterized by inflammatory cell accumulation in the periodontal tissues. The bacteria activate inflammatory mechanisms promoting extracellular matrix (ECM) destruction of the supportive periodontal tissues. Chronic kidney disease (CKD) is an inflammatory progressive disorder characterized by the destruction of the kidneys' functional units (nephrons), which can result from a wide spectrum of diseases such as hypertension and diabetes. Renal patients show higher prevalence of PD and its pronounced progression in these patients can be considered a complication of CKD. Bacteria are essential to PD initiation; however, there are other factors that may not cause the disease, but amplify some progression and severity mechanisms such as tabagism, psychosocial stress, systemic diseases (e.g. CKD) and genetic polymorphisms. Polymorphisms are genetic variations frequently found in the population. There are polymorphisms that can influence the activity of regulator factors of inflammatory response, promoting tissue destruction by matrix metalloproteinases (MMPs) action. MMP-1 participates on EMC turnover, and a disequilibrium between its synthesis and degradation may result in tissue destruction, as observed in inflammatory diseases. Higher levels of MMP-1 were found in both fluid and gingival tissues from PD patients, and in both blood and tissues from CKD patients. Higher or inappropriate MMP expression has been associated with CKD complications and PD progression. *MMP1-1607* (1G/2G) is considered a functional polymorphism as it can alterate MMP-1 expression rate. Thus, the aim of this study was investigate the association of *MMP1-1607* (1G/2G) polymorphism and susceptibility to PD and CKD.

Material and Methods: The study population consisted of 254 individuals divided into 4 groups: *Group 1*, individuals without PD and without CKD (n=67); *Group 2*, with PD and without CKD (n=60); *Group 3*, without PD and with CKD under hemodialysis (n=52), and *Group 4*, with PD and with CKD under hemodialysis (n=75). Polymorphism *MMP1-1607* was analyzed by polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP). *MMP1* gene transcripts from gingival tissues were analyzed by real time-PCR technique.

Results: It was not observed evidence for association between *MMP1-1607* polymorphism and PD or CKD. In the expression evaluation, increased levels of transcripts of *MMP1* gene were observed in PD patients gingival tissues. This expression was higher in CKD patients, but the difference was not statistically significant. Within the groups, it was not observed differences in the transcript levels according to genotypes; although in the presence of 2G allele a progressive increase of *MMP1* expression was noted.

Conclusions: It was concluded that *MMP1*-1607 polymorphism was not associated with PD or CKD. However, higher levels of *MMP1* gene transcripts were found in gingival sites with PD.