

**ALEXANDRE MARCELO REICHOW**

**Análise da associação entre aspectos clínicos e  
polimorfismos no gene da IL-6 e a susceptibilidade à  
perda de mini-implantes para ancoragem  
ortodôntica**

**CURITIBA**

**2012**

**ALEXANDRE MARCELO REICHOW**

**Análise da associação entre aspectos clínicos e  
polimorfismos no gene da IL-6 e a susceptibilidade à perda  
de mini-implantes para ancoragem ortodôntica**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Escola de Saúde e Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

**Orientadora: Profa. Dra. Paula Cristina Trevilatto**

**CURITIBA**

**2012**

## **Dedicatória**

Agradeço a **Deus**, pela minha família, meus amigos, colegas de trabalho, força interior, e oportunidade de realizar o meu sonho.

À minha esposa **Andréa**, incansável companheira e incentivadora de meus objetivos. Seu amor incondicional e carinho deram-me forças para a conclusão deste trabalho.

Aos meus queridos filhos **Arnon e Natan....** quantos momentos sem poder lhes dar a atenção necessária. Que seja um incentivo às suas futuras carreiras.

Aos meus pais, **Ronald e Ellen**, exemplos de caráter, dedicação e amor.

Ao meu irmão **Sandro**, grande profissional, meu amigo.

## **Agradecimentos especiais**

À minha orientadora **Profa. Dra. Paula Cristina Trevilatto**, presente em todos os momentos. Pude contar com seu apoio incondicional desde os primeiros momentos em que me inscrevi no programa de pós-graduação. Seu bom humor, conhecimento, ajuda e incentivo foram essenciais para a realização deste trabalho.

À **Profa. Dra. Ana Cláudia Melo**, amiga e colega de corpo docente. Por seu intermédio tive a oportunidade de conhecer a Profa. Paula e realizar a pesquisa na ILAPEO.

Ao **Prof. Dr. Fabiano Alvim-Pereira**, por sua amizade, pelos cálculos estatísticos, tabelas e pela desmistificação dos resultados genéticos.

Ao **Prof. Dr. Cleber Machado**, também pela amizade e por sua grande ajuda na fase laboratorial do estudo.

À **Profa. Dra. Márcia Olandonski**, obrigado pela ajuda nas análises estatísticas desta tese.

## **Agradecimentos**

Ao Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação, **Prof. Dr. Waldemiro Gremski** e ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, **Prof. Dr. Roberto Pecoits-Filho**.

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

Aos **Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - PPGCS** do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - CCBS da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR agradeço pelas aulas, cursos oferecidos e conhecimentos adquiridos.

À secretária do Programa de Pós-Graduação PUCPR, **Alcione Ap<sup>a</sup>. Slugovieski**, obrigado pela atenção e auxílio durante todo o curso.

## Recomeçar.....

Não importa onde você parou...  
Em que momento da vida você cansou...  
O que importa é que sempre é possível recomeçar.  
Recomeçar é dar uma nova chance a si mesmo...  
É renovar as esperanças na vida e, o mais importante...  
Acreditar em você de novo.  
Sofreu muito neste período? Foi aprendizado...  
Chorou muito? Foi limpeza da alma...  
Ficou com raiva das pessoas? Foi para perdoá-las um dia...  
Sentiu-se só diversas vezes? É porque fechaste a porta até para os anjos...  
Acreditou que tudo estava perdido? Era o início da tua melhora...  
Onde você quer chegar? Ir alto? Sonhe alto...  
Queira o melhor do melhor...  
Se pensarmos pequeno... Coisas pequenas teremos...  
Mas se desejarmos fortemente o melhor e, principalmente, lutarmos pelo melhor...  
O melhor vai se instalar em nossa vida.  
Porque sou do tamanho daquilo que vejo, e não do tamanho da minha altura.

Carlos Drummond de Andrade

## **Resumo**

Os Mini-implantes (MIs) têm sido cada vez mais utilizados para a ancoragem em ortodontia. O sucesso dos MIs podem necessitar de algum grau de osseointegração, o qual é influenciada pela resposta imuno-inflamatória do hospedeiro. A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina amplamente manifestada durante a resposta imuno-inflamatória após um trauma ou infecção. Polimorfismos (variações comuns) nos genes podem influenciar, na resposta do hospedeiro, a progressão e o prognóstico de traços complexos. Contudo, os métodos de estudo tem sido limitados a uns poucos polimorfismos funcionais, que não cobrem toda a extensão do gene, provavelmente perdendo informações genéticas. Uma nova abordagem, usando tag SNPs, analisa *bins* (seqüências gênicas com alto desequilíbrio de ligação-DL), podendo capturar a informação de todo o gene em termos de variabilidade. Os polimorfismos do gene *IL6* estão associados a inúmeros distúrbios imuno-inflamatórios, incluindo doenças da cavidade bucal. Contudo, não há estudos de sua influência sobre a perda de MIs. O objetivo deste estudo foi investigar a associação dos aspectos clínicos e tag SNPs do gene *IL6* com a perda de MIs para ancoragem ortodôntica. Dos 487 pacientes tratados com MIs ortodônticos (NEODENT® *Implante Osteointegrável*) de 2004 a 2010, 135 indivíduos de ambos os sexos, com média de idade de  $48,7 \pm 10$  (20-76 anos), foram divididos em dois grupos: (1) grupo controle, com 104 pacientes, apresentando um ou mais MIs em função por pelo menos 6 meses, sem perdas, e (2) grupo teste, com 31 pacientes, que perderam um ou mais MIs. As seguintes variáveis clínicas foram analisadas e comparadas entre os grupos: gênero e idade, grupo étnico, tabagismo, perfil socioeconômico, condição médica

geral, uso de medicação, reposição hormonal, consumo de álcool, hábitos de higiene, índice de dentes cariados/perdidos/obturados (CPOD) e índice comunitário periodontal das necessidades de tratamento (ICPNT). Também, foram averiguados o local de instalação (maxila ou mandíbula: vestibular, lingual e rebordo alveolar; lado direito ou esquerdo), diâmetro, comprimento, tipo de cinta, tipo de ancoragem e tipo de movimento foram comparados entre implantes saudáveis e perdidos. O DNA foi obtido da mucosa bucal e os indivíduos foram genotipados para os tag SNPs. Os seguintes parâmetros foram associados á perda de MIs: o local de instalação (mandíbula) e a quantidade de MIs instalados por pacientes. A perda de MIs foi duas vezes maior quando foram instalados na mandíbula. Quando o número de MIs instalados foi 3 ou mais, a perda de MIs foi maior que 50%. No grupo com múltiplas perdas, a porcentagem de MIs perdidos aumentou de 12,5 para 55%, o que foi interpretado como a primeira evidência na literatura sugestiva de clusterização para a perda de MIs. Com relação aos aspectos genéticos, o alelo A do rs2069843 ( $p=0,051$ ), assim como o alelo T do rs2069849 ( $p=0,053$ ) no modelo recessivo, foram associados com a perda de MIs para a ancoragem ortodôntica. Os tag SNPs rs2069843 e rs2069849 estiveram em completo DL na população brasileira estudada, o que significa que, em estudos futuros, somente um deverá ser genotipado para representar um *bin* correspondente. Conclui-se que havendo um maior número de MIs instalados, e se eles forem instalados na mandíbula, podem impactar negativamente o sucesso do tratamento com MIs. Também foi observado um sinal fraco de associação para dois polimorfismos (tag SNPs rs2069843 e rs2069849), localizados no quarto íntron e no quinto éxon do gene *IL6* respectivamente, em completo DL, com a perda de MIs. Outros estudos, com um maior número de amostras podem replicar esta associação.

# **ABSTRACT**

## **Abstract**

Mini-implant (MI) has increasingly been used for orthodontic anchorage. MI success may require some osseointegration, which is underlined by host immune-inflammatory response. Interleukin-6 (IL-6) is a cytokine widely expressed during the host immune-inflammatory response after a trauma or infection. Polymorphisms (common variation) in genes of the host response may influence progression and prognosis of complex traits. However, the approaches have been limited to a few functional polymorphisms, which do not cover the whole gene extension, probably losing genetic information. A novel physical approach, using tag SNPs, analyzes all the gene *bins* (blocks in high linkage disequilibrium - LD) and may capture the whole gene information in terms of variability. *IL6* gene polymorphisms were associated to several immune-inflammatory disturbs, including diseases of the oral cavity. However, no study is available concerning their influence over MI failure. Thus, the aim of this study was investigate the association of clinical aspects and *IL6* tag SNPs with loss of MIs for orthodontic anchorage. From 487 patients treated with orthodontic MIs (NEODENT<sup>tm</sup> *Implante Osteointegrável*) from 2004 to 2010, 135 subjects both gender, mean age 48.7±10 (20-76 yrs) were divided into two groups: (1) control group, 104 patients presenting one or more MIs at least for six months in function, with no loss, and (2) test group, 31 patients, who had lost one or more MIs. Patients' gender and age, ethnic group, smoking habits, socioeconomic status,

general medical condition, use of medication, hormone reposition, alcohol consumption, hygiene habits, Decayed/Missing/Filled Teeth (DMFT) and Community Periodontal Index Treatment Needs (CPITN) indices were assessed and compared between the groups. Also, local of installation (maxilla or mandible; buccal, lingual or alveolar ridge; right or left side), diameter, length, type of neck, type of anchorage, and type of movement were compared between healthy and lost implants. DNA was obtained from oral mucosa and the individuals were genotyped for the tag SNPs. The following clinical parameters were associated with loss of MIs: local of installation (mandible) and the amount of MIs installed per patients. The risk of losing MIs was twice as high when installed in the mandible. When the number of MIs installed was 3 or more, the loss of MIs was higher than 50%. In the group with multiple losses, the percentage of MIs lost increased from 12.5 to 55%, which was interpreted as the first evidence of the literature suggestive of clusterization for MIs loss. With regard to genetic aspects, Allele A of rs2069843 ( $p=0.051$ ) as well as the allele T of rs2069849 ( $p=0.053$ ) in the recessive model were associated with loss of MIs for orthodontic anchorage. The tag SNPs rs2069843 and rs2069849 were in complete LD in the Brazilian population studied, which means that in future studies only one should be genotyped to represent the corresponding bin. It was concluded that a higher number of MIs installed and if they are placed in the mandible may impact negatively the success of MI treatment. Also, a weak signal of association was observed for two polymorphisms (tag SNPs rs2069843 and rs2069849) located in the 4th intron and 5th exon of *IL6* gene, respectively, in complete LD, with loss of MIs. Other studies with a higher sample size may replicate such an association.

# Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
1.1. Aspectos gerais.....	01
1.2. Mini-implantes.....	03
1.2.1. Contexto histórico.....	03
1.2.2. A Ancoragem esquelética provisória.....	04
1.2.3. Características clínicas e fatores associados aos MIs.....	06
1.3. A Resposta imuno-inflamatória do hospedeiro frente a colocação de Mini-implantes.....	12
1.3.1. A Interleucina-6 (IL-6).....	15
1.3.2. O Gene da Interleucina-6 ( <i>IL6</i> ).....	19
<b>2.JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>24</b>
<b>3.PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>25</b>
<b>4.ARTIGO.....</b>	<b>26</b>
<b>5.CONCLUSÃO.....</b>	<b>50</b>
<b>6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>51</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>68</b>

Anexo 1 - Ficha Clínica

# **1.INTRODUÇÃO**

## **INTRODUÇÃO**

### **1.1 Aspectos gerais**

A demanda por tratamento ortodôntico tem aumentado significativamente nos últimos anos, assim como o tratamento em pacientes adultos (Melsen & Verna, 2005).

Em um estudo feito pela *U.S. Public Health Service*, entre 1988 e 1991, verificou-se uma estimativa de 52,2% de indivíduos de 8 a 50 anos que possuíam oclusão de Classe I de Angle. Nesta população, foram incluídas pessoas com apinhamento dos incisivos e dentes mal alinhados, ou seja, não havia uma oclusão ideal (Proffit, 1998).

Em uma pesquisa com 507 adolescentes latinos na Califórnia, somente 6,5% demonstraram oclusão normal de Classe I de Angle, permanecendo 93% dos participantes da pesquisa com algum tipo de maloclusão, que necessitavam de tratamento ortodôntico, ou seja, utilizariam algum tipo de aparelho de correção da posição dental (Silva & Kang, 2001).

A ancoragem foi definida como “resistência de um dente que não se quer movimentar” (Daskalogiannakis, 2000).

Tradicionalmente, ortodontistas usam dentes, aparelhos intra-orais, e aparelhos extra-orais, para controlar a ancoragem – minimizando o movimento de certos dentes, enquanto completa-se o movimento desejado de outros dentes (Cope, 2005). No entanto, devido à terceira lei de Newton, “toda ação corresponderá a uma reação de mesma força e intensidade porém em sentido contrário”, há

limitação na habilidade de controlar completamente todos os aspectos da movimentação dentária; eles dependem da cooperação do paciente (Ohnishia et al., 2005).

Um bom controle de ancoragem é um dos pré-requisitos para o sucesso da terapia ortodôntica. Ele afeta não somente o tratamento, mas também os resultados (Wua et al., 2009).

Os aparelhos de ancoragem esquelética provisória (TADs) são dispositivos que são introduzidos no osso cortical e alveolar, utilizados somente durante o tratamento ativo, os quais podem resistir às forças ortodônticas, produzindo uma ancoragem absoluta, ou seja, não há movimentação deste dispositivo, e não há a necessidade da cooperação dos pacientes.

Os mini-implantes (MIs) foram recentemente introduzidos na ortodontia como uma alternativa simples para controlar a ancoragem (Kanomi, 1997). Estes dispositivos (semelhantes a pequenos parafusos) são, em sua maioria, confeccionados de uma liga de titânio (Ti-6Al-4V) ou de titânio puro (Carano et al., 2005), variando quanto a sua forma, *design* e medidas, de acordo com a marca comercial. Possuem três porções distintas: cabeça (área para instalação dos dispositivos ortodônticos), pescoço (região entre a cabeça e a porção rosqueável do mini-implante) e a porção rosqueável (parte ativa do mini-implante) (Squeff et al., 2008). Eles são pequenos, podem ser usados em diferentes sítios na cavidade bucal, sua colocação é pouco traumática, podem receber força imediatamente (Deguchi et al., 2003), não requerem cooperação do paciente e seu custo é baixo (Carano et al., 2005).

As taxas de sucesso dos MIs variam muito, entre 37% a 100% (Moon et al., 2010, Miyawaki et al., 2003, Cheng et al., 2004), porém, a maioria dos artigos reporta uma taxa de sucesso maior que 80% (Reynders et al., 2009).

Apesar de as taxas de sucesso serem relativamente altas, a falha de MIs é um processo complexo e multifatorial. De fato, fatores clínicos parecem não esclarecer totalmente o processo de perda de MIs. A ausência de fatores clínicos que expliquem, em alguns casos, a perda dos MIs pode sugerir que a resposta imuno-inflamatória do hospedeiro possa influenciar o processo perda. Com o aumento do número de pacientes tratados com MIs, o estudo sobre fatores relacionados à sua perda tem se mostrado crescente.

## **1.2 Mini-implantes (MIs)**

### **1.2.1 Contexto histórico**

Implantes estão sendo usados na odontologia para substituir dentes perdidos desde há muitos anos. Em 1931, foi descoberto em Honduras um fragmento mandibular de origem Maia, datado do ano 600, o qual possuía 3 dentes esculpidos de conchas inseridos nos alvéolos (Ring, 1995). No entanto, a referência mais antiga sobre implantes na literatura moderna que se tem conhecimento foi descrita por J. Maggiolo, em 1809, na França (Ring, 1995).

Em relação à utilização de implantes para a movimentação em ortodontia, foi no ano de 1945 que Gainsforth e Higley propuseram a possibilidade da ancoragem ortodôntica (Gainsforth & Higley, 1945). Eles usaram implantes de vitalium e aço inoxidável para fazer movimentações dentárias em cães, porém, as bases biológicas

da osseointegração foram descritas no trabalho pioneiro de Bränemark, um cirurgião ortopédico sueco, que encontrou a afinidade do osso pelo titânio (Bränemark et al., 1969).

Devido à osseointegração, implantes dentais endósseos tem sido usados com sucesso na prática clínica em um primeiro momento para reposicionar dentes perdidos (Adell et al., 1990) e, posteriormente, também para a ancoragem ortodôntica (Turley, 1988; Roberts et al., 1990).

Implantes protéticos tem sido utilizados como ancoragem esquelética em estudos em animais (Roberts et al., 1989; Wherbein & Diedrich, 1993) e em estudos clínicos humanos (Roberts et al., 1990), porém, estão limitados em sua aplicação, devido ao seu tamanho. Eles podem ser instalados em áreas onde a ancoragem natural ou aparelhos ortodônticos convencionais são difíceis de serem colocados, incluindo espaços edêntulos e no alvéolo de ambas as arcadas.

Como desvantagem, os implantes dentais necessitam de um procedimento cirúrgico invasivo, há limitação dos sítios de colocação, o tempo necessário para osseointegração prévia à aplicação da força e o alto custo (Carano et al., 2005).

As vantagens clínicas de uma ancoragem esquelética sobre uma ancoragem dentária ou uma ancoragem extra-oral são a estabilidade absoluta e a independência da cooperação do paciente (Park et al., 2006).

### **1.2.2 Ancoragem esquelética provisória (*temporary anchorage devices* [TADs])**

O advento dos aparelhos de ancoragem provisória ampliou significativamente a simplicidade da biomecânica ortodôntica, providenciando ancoragem absoluta.

Algumas das características de um aparelho de ancoragem esquelética provisória ideal incluem a simplicidade de uso, baixo custo, colocação de força imediata, ser de pequenas dimensões, resistente a forças ortodônticas, imóvel, sem necessidade de cooperação do paciente, biocompatível e pode ter resultados equivalentes ou superiores quando comparados com os sistemas de ancoragem convencionais (Cope, 2005).

Os sistemas de ancoragem esquelética provisória que tem sido usados são os implantes osseointegrados na sutura palatina (Wherbein & Diedrich, 1993), *onplants* (Block & Hoffmann, 1995), ligadura zigomática (Melsen et al., 1998), miniplacas (Umemori et al., 1999) e, mais recentemente, os mini-implantes (Kanomi, 1997).

Implantes na sutura palatina mediana (Wherbein et al., 1999) e *onplants* (Block & Hoffmann, 1995) utilizados para ancoragem ortodôntica não tinham problemas em relação ao espaço de colocação, porém, estavam limitados à maxila. Além desta situação, implantes na sutura palatina mediana necessitam de dois tempos cirúrgicos (para a sua colocação e remoção), apresentam alto custo, limitação quanto à direção da força, possibilidade de causar dano ou lesão no palato e dificuldade de manter o implante higienizado (Cheng et al., 2004).

As ligaduras zigomáticas introduzidas por Melsen et al. (Melsen et al., 1998) eram utilizadas também somente na maxila para a ancoragem em pacientes adultos parcialmente desdentados, para intrusão e retração dos incisivos superiores quando não havia a presença de dentes posteriores. Para a instalação da ligadura era necessária uma incisão na mucosa e a perfuração do arco zigomático, no qual era transpassado um fio de amarrilho.

As miniplacas foram inicialmente utilizadas para a fixação dos ossos em cirurgias ortognáticas. Devido a esta aplicação, elas também foram usadas como

uma ancoragem estacionária para movimentação ortodôntica. Umemori et al., em 1999, desenvolveram um sistema de ancoragem esquelética usando mini-placas na maxila e/ou na mandíbula como um sistema de ancoragem intraoral (Umemori et al., 1999), particularmente para intrusão e distalização dos molares (Sugawara et al., 2004). As desvantagens eram a dificuldade de fixação e o alto custo (Bezerra et al., 2004).

O conceito dos aparelhos de ancoragem provisória (TADs) é relativamente de aplicação nova e os clínicos podem procurar na literatura por muitas respostas, porém, há vastas lacunas do conhecimento ainda a serem preenchidas.

### **1.2.3 Características clínicas e fatores associados à perda de MIs**

Os mini-implantes (MIs) (Kanomi, 1997) (Fig. 1) foram recentemente introduzidos na literatura como uma simples alternativa à utilização de implantes osseointegráveis, com finalidade de ancoragem.

São dispositivos confeccionados de uma liga de titânio, introduzidos no osso cortical e alveolar, os quais são removidos após o tratamento ortodôntico ser realizado. Eles são pequenos, podem ser colocados em vários lugares, o procedimento de inserção é pouco traumático, e, podendo ser instaladas forças imediatamente (Deguchi et al., 2003). Outras vantagens incluem uma força relativamente grande de tração, independentemente do número e posição dos dentes; sua aplicação em qualquer estágio do desenvolvimento, incluindo a terapia em crianças; diminuição do tempo de tratamento, sem a necessidade do preparo dental da ancoragem; não há necessidade da cooperação do paciente; confortável, baixo custo (Carano et al., 2005), e opção para a manutenção do espaço edêntulo

após o tratamento ortodôntico até a futura restauração permanente (Jeong et al., 2011).



**Fig. 1.** Mini-implante (NEODENT® *Implante Osteointegrável*). Possuem três porções distintas: cabeça (área para instalação dos dispositivos ortodônticos), pescoço (região entre a cabeça e a porção rosqueável do mini-implante) e a porção rosqueável (parte ativa do mini-implante, o qual vai estar em contato com o osso). Estes dispositivos são, em sua maioria, confeccionados de uma liga de titânio (Ti-6Al-4V) ou de titânio puro, variando quanto a sua forma, *design* e medidas, de acordo com a marca comercial. Fonte: foto cedida pela Dra. Ana Claudia Melo do Instituto Latino Americano de Estudos Odontológicos (ILAPEO).

Dois tipos de MIs (em relação à sua instalação) foram introduzidos na ortodontia. Um tipo de mini-implante necessita uma perfuração prévia com uma broca, enquanto o outro tipo pode ser instalado diretamente, sem a necessidade do uso de brocas (Wang & Liou, 2008).

Independentemente da maneira de instalação, o MI permanece em sua posição, primeiramente por retenção mecânica e, em um segundo momento, pela osseointegração (Costa et al., 1998; Melsen & Verna, 1999).

Em relação aos MIs que não utilizam a perfuração prévia, estudos revelaram uma porcentagem de contato maior entre o parafuso e o osso (Çehreli & Özçirpici, 2012), sua inserção produz poucas falhas e pouco aquecimento (Heidemann et al., 1998), entretanto, a osseointegração foi geralmente encontrada nos dois grupos (Kim et al., 2005), não havendo diferenças estatísticas significantes em relação ao sucesso ou perdas de MIs (Gupta et al., 2011).

A estabilidade primária dos MIs é dependente de propriedades específicas e estruturais do tecido ósseo (Cha et al., 2010; Çehreli & Özçirpici, 2012), do torque de instalação (MacManus et al., 2011), do ângulo de instalação (Cha et al., 2010; Jasmine et al., 2012), do tipo de MI (cônico ou cilíndrico) (Cha et al., 2010) e do comprimento do parafuso (Lemieux et al., 2011).

A cortical óssea pode exibir grandes variações em relação à espessura, profundidade (Baumgaertel, 2011) e densidade (Lemieux et al., 2011).

Foi demonstrado que a espessura do osso cortical é decisiva para a manutenção dos MIs, sendo que resultados atestam que a força sobre os MIs é absorvida na maior parte por esse tipo de osso e muito pouco transmitido ao osso esponjoso.

Em relação às bases ósseas, o estresse foi maior, quando da colocação de força, no osso cortical da maxila do que no osso cortical da mandíbula (Jasmine et al., 2012). A espessura do osso cortical aumenta a estabilidade primária, mas pode diminuir a estabilidade secundária, devido à excessiva compressão do osso (Baumgaertel, 2010).

A estabilidade secundária é responsável pelo sucesso dos MIs após o período de cicatrização, é um fator determinante durante o período de aplicação da força ortodôntica e é um fator biológico muito influenciado pela resposta do hospedeiro em relação ao MI (Baumgaertel, 2010).

Para aumentar o sucesso, sugere-se a perfuração prévia com brocas para reduzir o torque de inserção e, portanto, ajudar o controle do nível de força durante a instalação dos MIs quando o osso cortical é excessivamente espesso (Chen et al., 2010; Baumgaertel, 2010); bem como o tratamento da superfície dos MIs com ácido para que sejam criadas rugosidades (Ikeda et al., 2011).

Alguns estudos reportam que não há osseointegração dos mini-implantes (Costa et al., 1998; Melsen & Verna, 1999), ocorrendo somente a presença de uma fibrose entre as roscas dos mini-implantes e o osso, a qual é relacionada a uma aplicação de força quase que imediata, sendo corroborado pela sua fácil remoção após sua utilização (Kim et al., 2005). A integração com fibras pode facilitar a infecção, uma desvantagem a longo prazo (Newman & Flemming, 1988).

A osseointegração, contudo, pode ocorrer ao redor dos parafusos (Lee et al., 2010) e a estabilização pode ser mantida, mesmo após a colocação de força imediata (Melsen & Costa, 2000; Kim et al., 2005; Chen et al., 2009; Chen et al., 2010). Estudos histológicos em animais tem demonstrado que a porcentagem de osseointegração dos MIs de titânio é menos que a metade dos implantes dentários convencionais (Melsen & Costa, 2000; Deguchi et al., 2003).

Osseointegração incompleta representa uma vantagem na aplicação ortodôntica, permitindo uma efetiva ancoragem com facilidade de instalação e remoção (Carano et al., 2004).

Os mini-implantes, usados como ancoragem ortodôntica, começam a receber força ortodôntica quase que imediata, para reduzir o tempo de tratamento, e devem ser removidos após a correção ortodôntica (Park et al., 2006). A colocação de força imediata não inibe a osseointegração dos MIs, mas estimula a adaptação óssea.

Estudos revelaram que uma maior aposição óssea foi encontrada na superfície dos ossos próxima aos MIs em pacientes e animais que sofreram movimentação dentária do que nos pacientes e animais que não sofreram a movimentação dos dentes (Chen et al., 2009; Serra et al., 2010).

À medida que o número de pacientes tratados com mini-implantes aumenta, a estabilidade deste dispositivo de ancoragem tem obtido mais atenção pelos pesquisadores.

O sucesso do tratamento com implantes dentais osseointegráveis tem sido analisado extensivamente. Longos estudos reportam uma taxa de sucesso de mais de 90% para os implantes dentais (Adell et al., 1981; Albrektsson et al., 1988). Contudo, estudos das taxas de sucesso dos MIs tem reportado uma variação entre 37% a 100% (Park, 2000; Moon, 2002; Miyawaki et al., 2003; Cheng et al., 2004, Moon et al., 2010). As taxas de sucesso diferem porque há diferenças significativas na duração de uso, idade dos pacientes, nível e direção de aplicação da força e lugares de instalação entre os MIs e os implantes protéticos (Moon et al., 2008).

Alguns autores demonstraram que variáveis clínicas dos MIs (tipo, diâmetro, comprimento e tratamento da superfície), fatores locais do hospedeiro (tipo de mucosa - ceratinizada ou não), fatores demográficos do hospedeiro (idade e sexo), e aspectos de manejo clínico (ângulo de instalação, início e método de aplicação da força, extensão do amarilhamento, exposição da cabeça do MI e higiene oral) não demonstraram diferenças estatísticas na taxa de sucesso (Miyawaki, 2003; Park et

al., 2006; Chaddad et al., 2008; Moon et al., 2010). Contudo, outros autores verificaram que a mobilidade dos MIs, a instalação na mandíbula, o lado direito de colocação, a proximidade das raízes, o ângulo mandibular alto (pacientes dolicofaciais), MIs com diâmetro com 1 mm ou menos, alterações sistêmicas do metabolismo ósseo, quantidade e qualidade do osso, o uso de medicações, tabagismo, ausência de mucosa ceratinizada, habilidade do cirurgião e inflamação demonstraram impacto significativo na taxa de sucesso (Miyawaki, 2003; Cheng et al., 2004; Melsen, 2005; Park et al., 2006; Kuroda et al., 2007; Moon et al., 2008; Park et al., 2008; Viwattanatipa et al., 2009; Moon et al., 2010; Kim et al., 2010; Oh et al., 2011).

Em resumo, o sucesso do tratamento com mini-implantes depende da habilidade do cirurgião, seleção do local adequado para sua colocação, estabilidade inicial, higiene oral, condição geral dos pacientes, biocompatibilidade dos materiais, procedimento de instalação, quantidade e qualidade do osso (Kyung, 2003; Park et al., 2008; Moon et al., 2008).

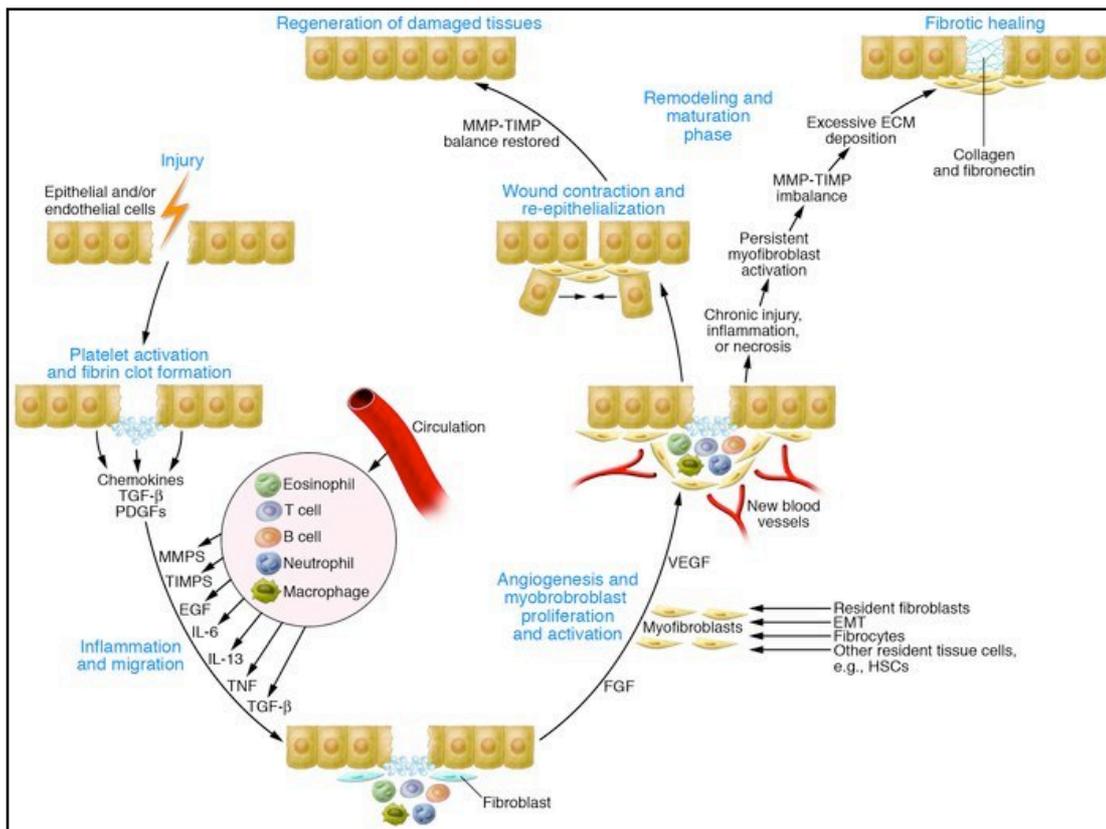
Verifica-se em alguns casos, porém, que mesmo quando o paciente tem osso apropriado em quantidade e qualidade e seguidas as recomendações e indicações clínicas precisas, algumas falhas na estabilidade de permanência dos mini-implantes podem ocorrer sem causa clínica aparente (Esposito, 1988; Viwattanatipa et al., 2009), apontando para fatores associados à resposta do hospedeiro como determinantes do sucesso no tratamento com MIs.

Muitos tipos de mini-implantes estão agora disponíveis e os ortodontistas os estão incorporando em várias situações clínicas. Contudo, com a introdução de novas técnicas, perguntas normalmente ocorrem. Clínicos desejam informações das taxas de sucesso atuais e os possíveis fatores relacionados a falhas dos MIs para

ancoragem ortodôntica. Eles querem de fato identificar os fatores que podem influenciar o seu sucesso (Reynders et al., 2009).

### **1.3 A resposta imuno-inflamatória do hospedeiro frente à colocação de MIs**

A inflamação é um mecanismo complexo iniciado devido a uma injúria local, causado por fatores físicos, químicos ou biológicos, a qual resulta em dano ou morte celular (O'Byrne & Dalgleish, 2001) (Fig.2). Os tecidos que sofreram injúria por esses traumas induzem a liberação de mediadores inflamatórios, incluindo citocinas como o fator de necrose tumoral *alpha* (TNF- $\alpha$ ) e a interleucina-1 (IL-1) dos leucócitos, monócitos e macrófagos (Peterson et al., 2003). Vários mediadores participam ativamente da resposta inflamatória: quimiocinas (realizam a quimiotaxia de leucócitos), enzimas plasmáticas (aumentam a permeabilidade vascular), plasminina (degrada coágulos e ativa proteínas do sistema complemento), opsoninas (induzem a opsonização de microorganismos), mediadores lipídicos (vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular) e citocinas (IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ ) com efeitos locais e sistêmicos (Bilate, 2007).



**Fig. 2.** Processo inflamatório. O processo inflamatório pode ser dividido em inflamação aguda, caracterizada por um começo rápido e de pouca duração, ocorrendo exudação de fluidos e proteínas do plasma, migração de leucócitos, principalmente neutrófilos, para a área injuriada e inflamação crônica, de duração mais prolongada, com a presença de linfócitos e macrófagos, resultando em fibrose ou necrose dos tecidos .

Fonte: <http://drtysoncarter.wordpress.com/>. February 23, 2004 issue of Time Magazine. Acessado 22/05/12.

Os sinais e sintomas da inflamação são caracterizados por dor, calor, vermelhidão, tumor e perda da função resultante da dilatação dos vasos sanguíneos principais, o qual aumenta o seu suprimento, e também aumenta os espaços

intercelulares, resultando no movimento de leucócitos, proteínas e fluídos na região inflamada (Parham, 2000).

O processo inflamatório pode ser dividido em duas partes: 1) inflamação aguda, caracterizada por um começo rápido e de pouca duração, ocorrendo exudação de fluidos e proteínas do plasma, migração de leucócitos, principalmente neutrófilos, para a área inflamada e 2) inflamação crônica, de duração mais prolongada, com a presença de linfócitos e macrófagos, resultando em fibrose ou necrose dos tecidos (Iwalewa et al., 2007).

O processo inflamatório é vital e necessário em nosso sistema de defesa e, quando esta resposta imune é temporária e local, a inflamação é benéfica. Contudo, um colapso na regulação da resposta inflamatória pode resultar em um processo que pode destruir tecidos e órgãos (Guilliams, 2006). Pesquisadores e clínicos reconhecem que a resposta imuno-inflamatória do hospedeiro pode ser de proteção ou de destruição, quando exacerbada. Como regra geral, mediadores inflamatórios tem sido associados com a destruição dos tecidos, enquanto os mediadores anti-inflamatórios podem combater e atenuar a progressão das doenças (Garlet, 2010).

A integridade do tecido ósseo depende da manutenção de um delicado equilíbrio entre reabsorção óssea, realizada por osteoclastos, e formação óssea, realizada por osteoblastos. Como o osso é um tecido dinâmico, ele está sendo constantemente remodelado através desta reabsorção e aposição, processo modulado pela produção de citocinas, como a IL-6, IL-8 e o TNF- $\alpha$  (Baloul et al., 2011).

Os mediadores pró-inflamatórios e do metabolismo ósseo parecem ser o foco de atenção neste momento em que a resposta do hospedeiro se mostra determinante na destruição do tecido ósseo (Alvim-Pereira et al., 2008).

Recentes estudos mostraram que citocinas pró-inflamatórias inibem a diferenciação osteogênica (Lacey et al., 2009; Tomomatsu et al., 2009) e também que a ativação dos receptores *Toll-like* (TLRs) em osteoblastos induz a produção de citocinas (Bar-Shavit, 2008). Foi verificado que, quando neutrófilos e outras células não conseguem controlar um determinado estímulo mecânico ou biológico (como a colocação de um MI), a resposta do hospedeiro resulta em uma cascata de eventos (processo inflamatório) que induz à perda de osso alveolar (Offenbacher, 1996), o que pode resultar em falha na osseointegração e consequente perda de MIs. Essa exacerbação da resposta imuno-inflamatória pode ser devida a problemas técnicos ou de contaminação na colocação do MI ou relacionada ao *background* de resposta do hospedeiro.

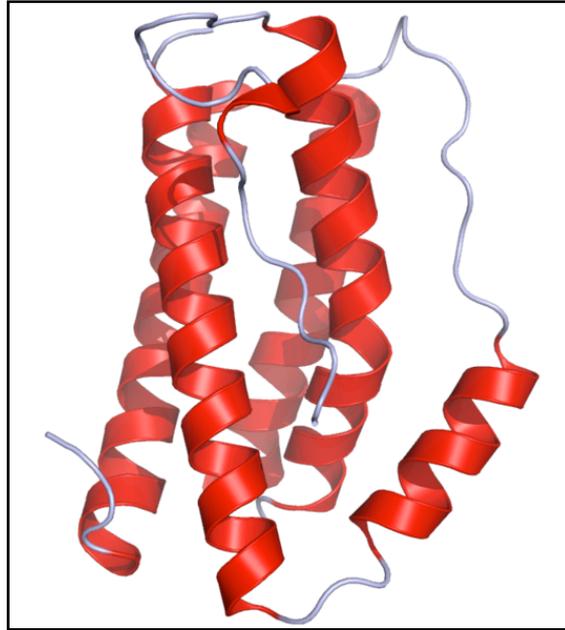
### **1.3.1 A Interleucina-6 (IL-6)**

Citocinas são proteínas de baixo peso molecular produzidas por diferentes tipos celulares do sistema imune e sua produção é desencadeada quando as células são ativadas por diferentes estímulos. As citocinas atuam na comunicação entre as células, promovendo a indução ou regulação da resposta imune (Bilate, 2007).

Podemos destacar as seguintes características das citocinas: podem ser produzidas por mais de uma célula, pleiotropismo (pode ter diferentes efeitos), podem exercer a mesma função, podem potencializar ou inibir o efeito de outras citocinas e produzem efeitos parácrinos, autócrinos e endócrinos (Bilate, 2007).

Foi somente no ano de 1988, na conferência de “Regulação da fase aguda e respostas imunes: Uma nova citocina”, em Nova York, que a citocina que primeiramente era chamada de Interferon  $\beta$ , proteína de 26 KDa, fator 2 de estímulo de células B, fator de crescimento de plasmócito, fator de estímulo de hepatócito,

interleucina HP1, e indutivo tipo 2 de monócito granulócito fosse denominada interleucina-6 (Hirano, 2010) (Fig.3).

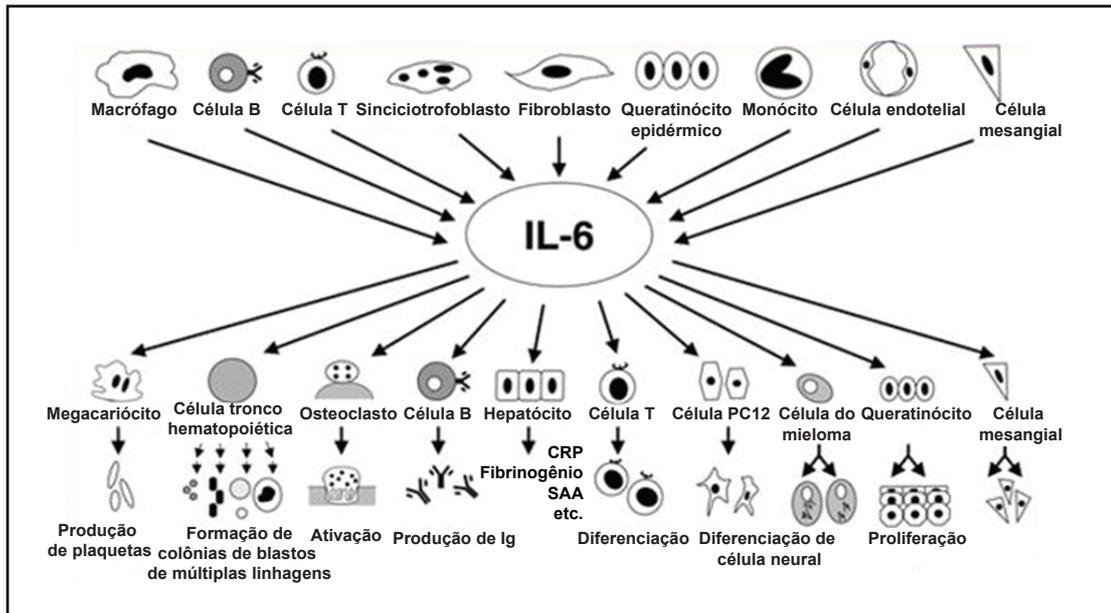


**Fig. 3.** IL-6. É uma citocina multifuncional de 26 KDa, com atuação principal na defesa do hospedeiro podendo ser sintetizada por muito tipos de células.

Fonte: banco de dados *Protein Data Bank*

[http://en.wikipedia.org/wiki/File:IL6\\_Crystal\\_Structure.rsh.png#file](http://en.wikipedia.org/wiki/File:IL6_Crystal_Structure.rsh.png#file) 07/07/11.

A IL-6 é uma citocina multifuncional de 26 KDa, com atuação principal na defesa do hospedeiro (Kishimoto, 1985) e pode ser sintetizada por muito tipos de células, como monócitos e macrófagos (May et al., 1988), fibroblastos (Mantovani et al., 1998), células endoteliais (Podor et al., 1989) e células T (Hoffmann et al., 2001). A IL-6 tem uma atuação importante na proliferação dos linfócitos T, diferenciação dos linfócitos B e ativação do sistema complemento em cascata (Lotz et al., 1988) (Fig. 4). Além disso, esta citocina atua sinergicamente com a IL-1 $\beta$ , induzindo a reabsorção óssea (Fridmann et al., 1990; Ishimi et al., 1990; Campos et al., 2004).



**Fig. 4.** Ação pleomórfica da IL-6 no organismo. É uma citocina que pode ser produzida por muitos tipos celulares e que esta envolvida não somente na resposta imune, mas também na hematopoiese, inflamação e metabolismo ósseo.

Fonte: Uma nova interleucina no tratamento das artrites: anti-interleucina-6. Scheinberg MA. Einstein. 2009; 7: 108-11.

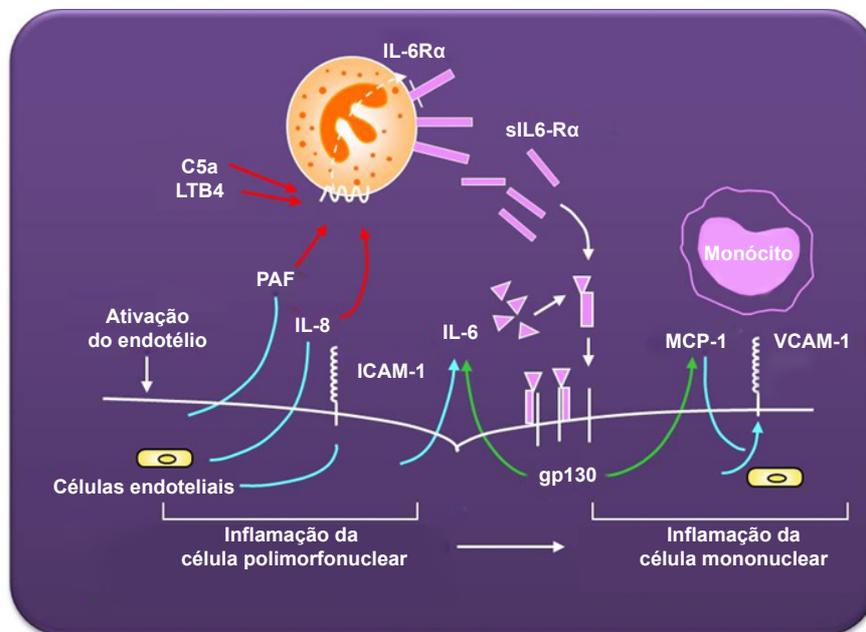
A IL-6 é uma citocina envolvida em uma série de atividades imunológicas, em especial a síntese de substâncias de fase aguda pelo fígado. Tal como seu receptor (gp 130), é amplamente expressa durante a reação inflamatória, produzindo efeitos indesejáveis em vários órgãos (Tonet et al., 2008; Gomes et al., 2009).

A caracterização da IL-6 revelou que é uma citocina que está envolvida não somente na resposta imune, mas também hematopoiese, inflamação e metabolismo ósseo. Altos níveis de IL-6 (normalmente é expressa em níveis baixos) foram encontrados em fluídos biológicos e no sangue quando havia áreas de trauma, infecção, doenças de inflamação crônica e neoplasias (Hirano et al., 1990). A IL-6 faz contribuições significativas para doenças auto-imunes e inflamatórias, como a

artrite reumatóide, (Hirano, 2010), danos endoteliais no início do evento de aterosclerose (Dienz & Ricon, 2009; Rauramaa, 2000), psoríase (Grossman et al., 1989), anemia crônica (Scheinberg, 2009), assim como altos níveis desta citocina foram encontrados em pacientes com gengivite (Atilla & Kütükçüler, 1998) e periodontite (Kamagata et al., 1989).

Após a menopausa e andropausa, os níveis da interleucina 6 são elevados, mesmo na ausência de trauma, infecção ou estresse, assim, foi proposto que o aumento da idade com elevação sérica da IL-6 está relacionado com o aparecimento de doenças inflamatórias crônicas (Ershler & Keller, 2000).

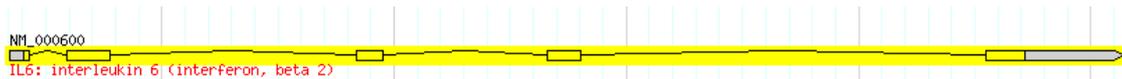
O entendimento da atuação da IL-6 tem pavimentado o caminho para novas abordagens terapêuticas para doenças auto-imunes e inflamatórias (Hirano, 2010) (Fig.5).



**Fig. 5.** Interação IL-6 na inflamação aguda e crônica. Fonte: Scheinberg MA . Einstein. 2009; 7:108-11.

### 1.3.2 O Gene da Interleucina-6 (*IL6*)

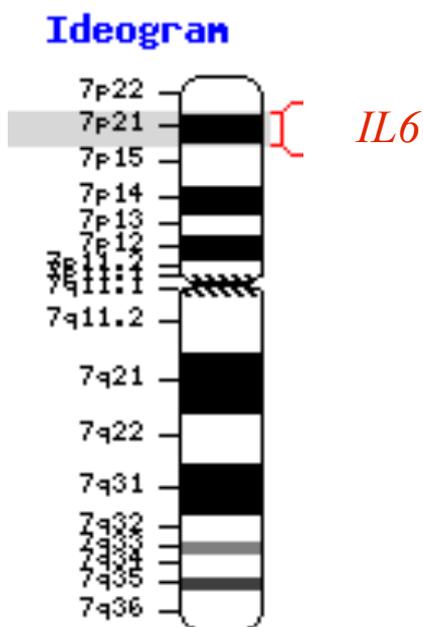
O gene da interleucina-6 (*IL6*) (Fig. 6), apresenta 5 éxons e 4 íntrons, e está localizado no cromossomo 7, na posição 7p21 (Fig. 7). A proteína é produzida principalmente nos locais de inflamação aguda e crônica, onde é secretada no soro e induz uma resposta inflamatória, através da transcrição do receptor de interleucina 6 alfa. O funcionamento deste gene está implicado em uma ampla variedade de situações associadas a estados de doenças (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>, 29/10/11).



Gene human figure: *Hapmap* release 24, 2008.

**Fig. 6.** Gene da interleucina-6. O gene apresenta cinco éxons e quatro íntrons

Fonte: [http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-perl/gbrowse/hapmap24\\_B36/](http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-perl/gbrowse/hapmap24_B36/).



**Fig. 7.** Cromossomo 7. O gene da *IL6* está localizado no cromossomo 7, na posição 7p21.

Fonte: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/maps.12/05/12>.

Os polimorfismos do gene da IL-6 afetam o nível da interleucina-6 circulante, sendo que a variação G>C na posição -174 foi encontrada influenciando a expressão e a produção da IL-6 (Laine et al., 2010). O alelo C revelou alterar a resposta de transcrição do gene a estímulos como lipopolissacarídeos (LPS) e IL-1 (Fishman et al., 1998).

Foi demonstrada a associação de polimorfismos do gene da IL-6 com várias características compatíveis com risco cardiovascular em idosos saudáveis (homozigose dominante estava atrelada a um efeito prejudicial, enquanto a homozigose recessiva apresentava um efeito benéfico) (Tonet et al., 2008), com doença periodontal crônica (o genótipo G/G esteve associado à doença periodontal, sugerindo que o alelo G seja importante no desenvolvimento da patogênese da

periodontite) (Trevilatto et al., 2003). Por outro lado, não foi encontrada associação deste polimorfismo (Campos, et al., 2005) com a perda de implantes dentais.

Polimorfismos são alterações na seqüência gênica, que geram formas variantes, denominadas alelos, cuja freqüência do mais raro é superior a 1% (Nussbaum et al., 2002).

A abundância e a grande freqüência de polimorfismos no genoma humano os transformam em alvo para explicar a variabilidade genética (Korstanje & Paigen, 2002; Guy et al., 2004) e sua influência no risco e progressão de algumas doenças (Morange et al., 2005; Rao et al., 2005; Sun et al., 2005). Assim, polimorfismos genéticos (variações na seqüência de DNA, resultando em alelos comuns na população) podem: 1) modificar a codificação de sua proteína (composição de aminoácidos, no caso de éxons) e 2) alterar a taxa de expressão (se em promotor), influenciando a suscetibilidade a doenças ou traços complexos, como é o caso da perda de mini-implantes.

Desequilíbrio de ligação (DL) é um fenômeno genético definido como associação não aleatória entre alelos de dois ou mais *loci* que estão estreitamente ligados (Slatkin, 2008).

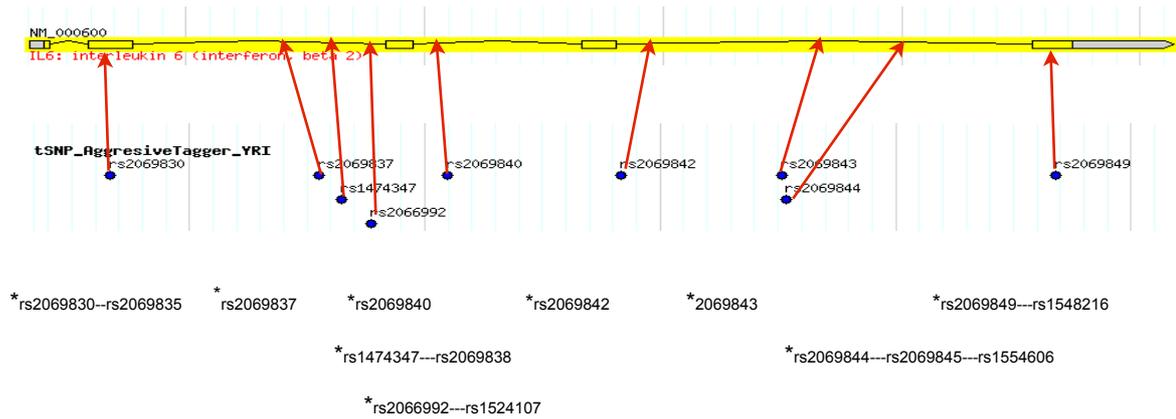
As principais medidas de DL são  $D'$  e  $r^2$ , sendo que a primeira identifica regiões em que há pouca recombinação e a segunda está relacionada com o poder de detectar a associação, pois avalia o DL completo, o qual se refere ao quadrado do coeficiente de correlação entre a freqüência dos alelos em dois *loci* (Nascimento, 2012), sendo que um  $r^2$  de pelo menos 0,8 entre um par de polimorfismos de base única (SNP) indica que eles estão em alto DL (Hinds et al., 2005).

A freqüência de polimorfismos genéticos costuma variar em diferentes grupos étnicos, os quais estão disponíveis no *HapMap project*, sendo divididos em

população Africana (YRI), a mais ancestral, apresentando blocos de DL menores que as demais populações (Gabriel et al., 2002), Asiática (CHB e JPT) e Européia (CEU). Portanto, é necessário determinar o aparecimento e exatidão de alelos específicos nas categorias étnicas para determinar se informações derivadas de um grupo podem ser extrapoladas para outro (Greenstein & Hart, 2002).

Para o gene da IL-6 foram selecionados, nesse estudo, marcadores do tipo tag SNPs, levando em consideração a estrutura de DL dos respectivos *loci*. Foram considerados marcadores independentes aqueles que, em uma análise pareada, apresentaram um grau de DL inferior a 0,8, conforme estimado pelo parâmetro  $r^2$ , e para a validação por frequência, os marcadores deveriam apresentar uma frequência alélica mínima (FAM) de 5%.

Foi realizada uma análise física, utilizando tag SNPs, que podem capturar a informação de todo gene em termos de variabilidade genética, na qual um tag SNP representa todos os outros polimorfismos em DL de um *bin*. *Bin*, portanto, é uma seqüência do gene que apresenta um conjunto de SNPs herdados em bloco (tag SNPs), por estarem em alto DL (Fig.8). A estratégia de análise de *bins* representa uma abordagem de satisfatório custo-benefício, diminuindo os recursos financeiros e tempo necessários para a genotipagem (Liu et al., 2010).



**Fig.8.** Polimorfismos no gene *IL6*. O gene da *IL6*, na população Yoruba, possui 9 polimorfismos com frequência alélica mínima de 5%, sendo que o rs2069830 está em desequilíbrio de ligação com o rs2069835, o rs2069838 está em desequilíbrio de ligação com o rs1474347, o 2066992 está em desequilíbrio de ligação com o rs1524107, o rs2069844 está em desequilíbrio de ligação com o rs2069845 e o rs1554606 e o rs 2069849 está em desequilíbrio de ligação com o rs 1548216. Os rs 2069837, rs2069840, rs2069842 e o rs2069843 não estão em desequilíbrio de ligação com nenhum outro rs.

## **2. Justificativa**

Mediadores pró-inflamatórios e do metabolismo ósseo parecem ser o foco de atenção neste momento em que a resposta do hospedeiro se mostra determinante na destruição tecidual ao redor dos mini-implantes, afetando a sua estabilidade.

Polimorfismos nos genes que codificam citocinas inflamatórias e moduladores do processo de remodelação óssea podem alterar sua taxa de expressão, potencializando sua ação.

Além de identificar fatores de risco a falhas dos mini-implantes, a busca de marcadores genéticos que permitam a detecção de indivíduos que produzam mais mediadores inflamatórios frente a estímulos mecânicos ou infecciosos e, portanto, mais suscetíveis à ocorrência de perdas e falhas nos mini-implantes, pode permitir ao profissional adequada seleção do paciente, melhor planejamento do caso, estabelecimento de prognóstico seguro e instauração de terapêutica individualizada, proporcionando o aumento do índice de sucesso dos mini-implantes e tornando esta alternativa de tratamento cada vez mais previsível e confiável.

A hipótese é de que o valor dos parâmetros clínicos tradicionalmente usados na determinação de prognóstico e sucesso terapêutico de procedimentos clínicos individuais parece estar pelo menos em parte na dependência de genótipos específicos.

## **3.Proposição**

### **Objetivo geral**

O objetivo do presente trabalho é investigar a associação de aspectos clínicos e polimorfismos no gene *IL6* com a susceptibilidade à perda de mini-implantes para a ancoragem ortodôntica.

### *Objetivos específicos*

- a) Investigar aspectos clínicos envolvidos na perda de mini-implantes para a ancoragem ortodôntica;
- b) Analisar a associação entre tag SNPs do gene *IL6* e a perda de mini-implantes;
- c) Definir os *bins* (blocos de desequilíbrio de ligação) do gene *IL6* na amostra de pacientes do sul do Brasil.

# Analysis of the association of clinical aspects and *IL6* polymorphisms with orthodontic mini-implant loss

Alexandre Marcelo Reichow MS\*, Ana Claudia Melo PhD\*\*, Cleber Machado de Souza PhD\*, Márcia Olandoski PhD\*, Fabiano Alvim-Pereira PhD§, Paula Cristina Trevilatto PhD\*

\* School of Health and Biosciences, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba-PR, Brazil.

\*\* Researcher at Latin-American Dental Research Institute (ILAPEO), Curitiba-PR, Brazil.

§ School of Dentistry, Federal University of Sergipe (UFS), Lagarto *Campus*, Lagarto-SE, Brazil.

## **Corresponding author:**

Paula Cristina Trevilatto  
School of Health and Biosciences  
Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)  
Rua Imaculada Conceição, 1155  
Curitiba, PR  
Brazil  
80215-901  
Phone: +55 (41) 3271-2582  
Fax: +55 (41) 3271-1657  
E-mail: [paula.trevilatto@pucpr.br](mailto:paula.trevilatto@pucpr.br)

**Key words:** mini-implants, mini-implant loss, clinical risk factors, polymorphisms, *IL6*

## Abstract

Mini-implant (MI) has increasingly been used for orthodontic anchorage. MI success may require some osseointegration, which is underlined by host immune-inflammatory response. Interleukin-6 (IL-6) is a cytokine widely expressed during the host immune-inflammatory response after a trauma or infection. Polymorphisms (common variation) in genes of the host response may influence progression and prognosis of complex traits. However, the approaches have been limited to a few functional polymorphisms, which do not cover the whole gene extension, probably losing genetic information. A novel physical approach, using tag SNPs, analyzes all the gene *bins* (blocks in high linkage disequilibrium - LD) and may capture the whole gene information in terms of variability. *IL6* gene polymorphisms were associated to several immune-inflammatory disturbs, including diseases of the oral cavity. However, no study is available concerning their influence over MI failure. Thus, the aim of this study was investigate the association of clinical aspects and *IL6* tag SNPs with loss of MIs for orthodontic anchorage. From 487 patients treated with orthodontic MIs (NEODENT<sup>tm</sup> *Implante Osteointegrável*) from 2004 to 2010, 135 subjects both gender, mean age  $48.7 \pm 10$  (20-76yrs) were divided into two groups: (1) control group, 104 patients presenting one or more MIs at least for six months in function, with no loss, and (2) test group, 31 patients, who had lost one or more MIs. Patients' gender and age, ethnic group, smoking habits, socioeconomic status, general medical condition, use of medication, hormone reposition, alcohol consumption, hygiene habits, Decayed/Missing/Filled Teeth (DMFT) and Community Periodontal Index Treatment Needs (CPITN) indices were assessed and compared between the groups. Also, local of installation (maxilla or mandible; buccal, lingual or alveolar ridge; right or left side), diameter, length, type of neck, type of anchorage, and type of movement were compared between healthy and lost implants. DNA was obtained from oral mucosa and the individuals were genotyped for the tag SNPs. The following clinical parameters were associated with loss of MIs: local of installation (mandible) and the amount of MIs installed per patients. The risk of losing MIs was twice as high when installed in the mandible. When the number of MIs installed was 3 or more, the loss of MIs was higher than 50%. In the group with multiple losses, the percentage of MIs lost increased from 12.5 to 55%, which was interpreted as the first evidence of the literature suggestive of clusterization for MIs loss. With regard to genetic aspects, Allele A of rs2069843 ( $p=0.051$ ) as well as the allele T of rs2069849 ( $p=0.053$ ) in the recessive model were associated with loss of MIs for orthodontic anchorage. The tag SNPs rs2069843 and rs2069849 were in complete LD in the Brazilian population studied, which means that in future studies only one should be genotyped to represent the corresponding bin. It was concluded that a higher number of MIs installed and if they are placed in the mandible may impact negatively the success of MI treatment. Also, a weak signal of association was observed for two polymorphisms (tag SNPs rs2069843 and rs2069849) located in the 4th intron and 5th exon of *IL6* gene, respectively, in complete LD, with loss of MIs. Other studies with a higher sample size may replicate such an association.

Anchorage is defined as a “resistance to unwanted tooth movement”. Traditionally, orthodontists have used teeth, intra-oral appliances, and extra-oral devices, to guarantee adequate anchorage – minimizing the movement of certain teeth, while completing the desired movement of others. However, because of Newton’s third law, “for every action there is an equal and opposite reaction”, there are limitations in our ability to completely control all aspects of tooth movement; moreover, it depends on patient compliance (Ohnishi et al., 2005). Good anchorage control is a prerequisite to successful orthodontic therapy (Wu et al., 2009).

Implants are currently used in dentistry and orthopedics. In 1945, authors proposed the possibility of orthodontic anchorage using implants (Gainsforth and Higley, 1945), but, the biologic basis for osseointegration was provided by pioneering work of Bränemark (Branemark et al., 1969). Since then, dental endosseous implants have been successful in clinical practice for replacing missing teeth (Adell et al., 1990) and for orthodontic anchorage (Roberts et al., 1990, Turley et al., 1988).

The clinical advantages of skeletal anchorage over dental and extra-oral anchorage are absolute stability and independence from patient compliance (Chung et al., 2011, Park et al., 2006). Skeletal anchorage has been used as onplants (Block and Hoffman, 1995), osseointegrated implants in the palatine suture (Wehrbein and Diedrich, 1993), zygomatic ligatures (Melsen et al., 1998), mini-plates (Umemori et al., 1999), and mini-implants(Kanomi, 1997).

Mini-implants (MIs) were introduced as a simple alternative for orthodontic anchorage (Kanomi, 1997).They are small, can be used in a variety of host sites, insertion is a minimum traumatic procedure, and can be immediately loadable (Deguchi et al., 2003). Other advantages include withstanding orthodontic forces; applicability at any type of treatment, including interceptive therapy; shorter treatment

time, with no need to prepare dental anchorage; not requiring compliance; being biocompatible; having low cost (Carano et al., 2005), and can be used to maintain edentulous space after active orthodontic treatment (Jeong et al., 2011).

Osseointegration can occur around screws (Lee et al., 2010) and stabilization can be maintained, even under early loading (Melsen and Costa, 2000, Kim et al., 2005, Chen et al., 2010, Chen et al., 2009). Histological studies in animals have shown that osseointegration of MI titanium is lower than half the conventional dental implants (Melsen and Costa, 2000, Deguchi et al., 2003). Incomplete osseointegration represents a distinct advantage in orthodontic applications, allowing effective anchorage with easy insertion and removal (Carano et al., 2004). Mini-implants, used as orthodontic anchorage should be loaded early to reduce treatment time and should be removed after treatment (Park et al., 2006). Immediate loading does not inhibit osseointegration of MIs but stimulates bone adaptation (Chen et al., 2009).

With more patients being treated with screw implants as anchorage, factors underlying their success rates are gathering attention. While for dental implants there is success over 90% (Albrektsson et al., 1986, Adell et al., 1990) the success rates for MIs vary from 37 to 100% (Moon et al., 2010, Miyawaki et al., 2003, Cheng et al., 2004). The rates differ because there are significant differences between the MIs and prosthetic implants, such as the duration of use, patient age, level, and direction of the applied force and placement site (Moon et al., 2008).

Inflammation surrounding implants is a crucial physiopathological process that allows elimination of local tissue damage and substitution for a viable tissue. An augmentation of the inflammatory process is directly related to the quantity of tissue that may be substituted (Thomas and Puleo, 2011). A complete stabilization between

pins and surrounding bone is required to achieve a successful osseointegration. After the bone regeneration process, stability reaches the maximum value when the osseointegration is achieved.

Interleukin-6 is a 26 KDa pleotropic inflammatory cytokine produced by many cell types, including fibroblasts, monocytes, adipocytes, and endothelial cells (Monaco et al., 2004, Dienz and Rincon, 2009). Characterization of IL-6 revealed a multifunctional cytokine that is involved not only in immune responses but also in hematopoiesis, inflammation, and bone metabolism. In addition, this cytokine also acts synergistically with IL-1 $\beta$ , inducing bone resorption (Ishimi et al., 1990). Moreover, IL-6 makes significant contributions to such autoimmune and inflammatory diseases as rheumatoid arthritis (Hirano, 2010), endothelial damage and initiation of atherosclerotic event (Dienz and Rincon, 2009, Rauramaa et al., 2000), psoriasis (Grossman et al., 1989), chronic anemia (Marti and Scheinberg, 2009), gingivitis (Atilla and Kutukculer, 1998), and periodontitis (Kamagata et al., 1989). The understanding of IL-6 has paved the way for new therapeutic approaches for autoimmune and inflammatory diseases (Hirano, 2010).

Polymorphisms are gene sequence variations whose minimum allele frequency is higher than 1% in the population and are distributed throughout the entire genome (Chiba-Falek and Nussbaum, 2001). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are the most common form of DNA variation in the human genome. We used a novel genetic approach, genotyping tag SNPs, which are SNPs often highly linked to others by linkage disequilibrium (LD) forming a *bin* (a block with strong LD). Tag SNPs are representative of all other SNPs of a given bin, which reduces genotyping costs and time (Liu et al., 2010). Besides, this physical strategy is intended to capture the information of the whole gene, further than single functional SNPs. In this context,

the purpose of this study was to investigate the association of clinical aspects and polymorphisms (tag SNPs) in the *IL6* gene with mini-implant failure.

## **Methods**

### **Study Population**

A total of 487 patients were treated with orthodontic mini-implants (NEODENT™ *Implante Osteointegrável*) in Latin-American Dental Research Institute (ILAPEO), Curitiba, PR, from 2004 to 2010, and examined by chart review. From these, 196 (40.2%) patients were included (18 years or older, living in metropolitan area of Curitiba, who accepted participating in the study). One hundred forty-eight patients (n=148) signed a consent form within a protocol approved by an Institutional Review Board, after being advised of the nature of the study (approved by the Ethical Committee in Research at PUCPR, protocol 5693/10 CEP-PUCPR). Eight patients with syphilis, current pregnancy or lactation were excluded.

Then, our study was composed of 135 subjects, both genders, mean age  $48.7 \pm 10$ , range 20-76 (Table 1):

1. *Study group (S)*, 31 patients presented at least one mini-implant lost,
2. *Control group (C)*, 104 patients without any mini-implant lost, in function for at least 6 months.

Brazilian population is heterogeneous. Recent article have not recommended grouping Brazilians into ethnic groups bases on color, race, and geographical origin because Brazilian individuals classified as white or black have significantly overlapping genotypes, probably due to miscegenation (Parra et al., 2003).

Subjects were recalled and answered a personal, medical, and dental history anamnesis, as well as their socioeconomic profile, according to Brazilian

Socioeconomic Classification Criteria, data from 2009 (ABEP, 2003). Patients' gender and age, smoking habits, socioeconomic status, general medical condition, use of medication, hormone reposition, alcohol consumption, hygiene habits, and Decayed/Missing/Filled Teeth (DMFT) and Community Periodontal Index Treatment Needs (CPITN) indices were assessed. CPITN is a numerical rating scale for classifying the periodontal status of a person or population with a single figure which takes into consideration prevalence as well as severity of the condition. It is based upon probe measurement of periodontal pockets and on gingival tissue status. The index was proposed by World Health Organization (WHO), in 1977, to evaluate populations periodontal treatment needs. Periodontal indices were recorded in index-teeth using a conventional U.N.C periodontal probe (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). All clinical data were collected by one examiner (A.M.R).

### **Analysis of MI clinical parameters**

The mini-implants (NEODENT<sup>tm</sup> *Implante Osteointegrável*) used in the study were conical, titanium grade V, smooth surface, self drilling and immediately loaded.

A total of 311 MIs were installed in 135 patients (control and study). Independently on the group, the placed MIs were classified as healthy (H; n= 272) or lost (L; n=39).

The following clinical characteristics were assessed and compared between H and L: local of installation (maxilla or mandible; vestibular, lingual or alveolar ridge; right or left side), diameter, length, type of neck, type of anchorage, type of movement.

### **DNA collection and purification**

The individuals undertook a mouthwash after 1 min, containing 5 ml 3% glucose. Following mouthwash, a sterile wood spatula was used to scrape buccal mucosa (Trevilatto and Line, 2000). The tip of the spatula was then shaken into the retained mouthwash solution. Oral epithelial cells were pelleted by centrifugation at 2000 rpm for 10 min. The supernatant was discarded and the cell pellet resuspended in 1.300 ml of extraction buffer [10 mM Tris-HCl (pH 7.8), 5 mM EDTA, 0.5% SDS]. Ten  $\mu$ l proteinase K (20 mg/ml) were added to the solution, being left overnight at 65°C. DNA was purified by adding ammonium acetate 10 M, precipitated with isopropanol and resuspended with 50  $\mu$ l Tris 10mM (pH 7.6) and EDTA 1 mM (Aidar and Line, 2007).

### ***IL6* tag SNPs analysis**

*IL6* gene tag SNPs were selected according to the information available at the International HapMap Project website, release 24 (<http://www.hapmap.org>). All selected markers presented a minimum allele frequency (MAF) of 0.05 in YRI (Yoruba in Ibadan, Nigeria) population. The cutoff parameter to define LD between two markers was a multimarker  $r^2 > 0.8$ . Following these criteria, the following tag SNPs were included: rs2069835, rs2069837, rs2069838, rs1524107, rs2069840, rs2069842, rs2069843, rs2069845, and rs2069849 (Fig. 1). Patients were genotyped for the tag SNPs by the technique of real-time PCR (Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System) with the use of TaqMan™ Genotyping Master Mix technology (Applied Biosystems) (Lee et al., 1993).

## **Statistical analysis**

Nominal variables were expressed as frequencies and percents. To assess association between binary variables, Fisher's exact test was used. Continuous variables were primary classified by distribution as normal or non-normal. Normal continuous variables were analyzed by Student t-test and non-normal by U-Mann-Whitney test. Genetic models association between markers (tag SNPs) and mini-implant loss were assessed as follows: i) additive model – tested by binary logistic regression and ii) dominant or recessive models were tested by Fisher's exact test. Haploview software (Barrett et al., 2005) was used to analyze LD between the nine tag SNPs (bins). Haplotype association analysis and  $p$ -values were calculated using THESIAS test. Odds Ratio (OR) estimation and Confidence Interval (CI) were used when possible.

## **Results**

### **Patient clinical findings**

Out of 135 patients who had MIs placed, 31 patients presented at least one mini-implant lost, corresponding to 23% of the sample and, of these, 8 patients had multiple losses (more than two mini-implants lost per patient), corresponding 5.9% of all patients included.

No statistically significant differences were observed in gender and age, ethnic group, smoking habits, socioeconomic status, general medical condition, use of medication, hormone reposition, alcohol consumption, hygiene habits, DMFT and CPITN indices (Table 1).

Significant differences were found in the number of MIs installed per patient ( $p=0.001$ ) (Table 1). When the number of mini-implants installed was 3 or more, the loss of MIs was higher than 50%.

### **Mini-implant clinical findings**

311 mini-implants (NEODENT™ *Implante Osteointegrável*) were installed in 135 patients, from which 39 were lost, corresponding to 12.5% (39/311). In the group with multiple losses ( $n=8$ ), the percentage of mini-implants lost increased to 55% (16/29).

When comparing healthy (H;  $n=272$ ) and lost (L;  $n=39$ ) MIs, significant difference was found between maxilla and mandible ( $p=0.025$ ).

In the mandible, there was a higher prevalence of lost mini-implants (25/143, 17.5%) than in the maxilla (14/165, 8.5%). The Odds Ratio (OR) was 2.29 (CI 95%, 1.14-4.59) (Table 2).

No differences were observed in position (vestibular, lingual or alveolar ridge), side of installation (right or left side), diameter, length, type of neck, type of anchorage, and type of movement (Table 2).

### **Analysis of *IL* 6tag SNPs**

The allele frequencies of the 9 tag SNPs were consistent with the assumption of Hardy-Weinberg equilibrium in the control population sample. Borderline differences were found between the groups for the rs2069843 and rs2069849. Allele A of rs2069843 ( $p=0.051$ ) as well as the allele T of rs2069849 ( $p=0.053$ ) were associated with loss of mini-implants for orthodontic anchorage in the recessive model (Table 3). The tag SNPs rs2069843 and rs2069849 were in complete LD (Fig. 2). Allele T the

tag SNP rs2069835 ( $p=0.090$ ) and allele C of the rs2069838 ( $p=0.067$ ) in the additive model had also a borderline signal of association with mini-implant loss (Table 3).

Regarding patients who had multiple losses, the allele C for tag SNP rs2069840 had a weak signal of association with protection against multiple loss of mini-implants in the recessive model ( $p=0.062$ ).

## Discussion

Mini-implant failure is a complex trait. As a multifactorial process, several aspects may influence the success of treatment with mini-implants for orthodontic anchorage.

Although some controversy, clinical variables of MIs, such as i) design, type, diameter (Park et al., 2006), length (Miyawaki et al., 2003, Cheng et al., 2004, Park et al., 2006), surface characteristics and treatment (Moon et al., 2010); ii) local host factors, such as anatomical location, soft tissue emergence (Park et al., 2006, Moon et al., 2010, Chaddad et al., 2008); iii) general host factors such as age, and sex (Miyawaki et al., 2003, Cheng et al., 2004, Moon et al., 2010, Park et al., 2006), and iv) management factors, such as angle of placement (Park et al., 2006), onset and method of force application, oral hygiene (Miyawaki et al., 2003, Park et al., 2006), ligature wire extension, and exposure of screw head (Park et al., 2006) did not impact MI success. On the other hand, host related variables, such as mobility, the right side (Park et al., 2006), mandible (Cheng et al., 2004, Park et al., 2006), proximity of the root (Kuroda et al., 2007b), high mandibular plane (Miyawaki et al., 2003, Moon et al., 2010), systemic alterations in the bone metabolism, medication, heavy smoking (Melsen, 2005), absence of keratinized mucosa (Cheng et al., 2004, Viwattanatipa et al., 2009), and inflammation (Vivattanatipa et al., 2009, Miyawaki et al., 2003, Park et al., 2006) as well as and MIs characteristics, such as diameter up to with 1 mm (Miyawaki et al., 2003), and operators learning curve (Kim et al., 2010, Oh et al., 2011) have shown significant influence in success rates.

In our study, we had a high success rate of 87.5%, similar to other studies (Park et al., 2006, Miyawaki et al., 2003, Kuroda et al., 2007a, Kim et al., 2010). Usually the MIs are used in younger patients (Carano et al., 2005). It was found slightly lower success rate in patients younger than 20 years old (Miyawaki et

al., 2003, Chen et al., 2007). It was also found that the maxillary and mandibular cortical bones at commonly used MI placement sites are thicker in adults than in adolescents (Farnsworth et al., 2011). In our study, the mean age in the control group ( $48.69 \pm 10.31$ ) and in the study group ( $48.77 \pm 9.11$ ) was higher than that usually found in the literature because the patients selected were being prepared for prosthetic implant treatment. The high rate of success obtained in our study is possibly due to the increased mean age of the patients.

In the present study, no significant differences were observed between the groups for the clinical variables, with the exception of the number of installed MIs. The higher the number of MIs installed the greater was the loss rate. This fact may be partially explained by anatomical reasons that could influence the angle of installation and incidence of mechanical forces or by increased inflammation caused by the sum of surgical trauma which could impair MI stability.

In relation to the clinical findings for MIs, position and side of installation, diameter and length, type of neck, type of anchorage, and type of movement did not show any significant difference between the healthy and lost MIs. In our study, there was a higher prevalence of lost MIs in the mandible (64.1%). Our results showed that the risk of losing MIs was more than twice as high when installed in the mandible. Other studies also found a higher proportion of loss in the mandible (Cheng et al., 2004, Chen et al., 2007). The mini-implants used were self-drilling, but, if the cortex was very thick, an initial perforation was made with drill. The absence of keratinized mucosa around MIs and the posterior mandible (bone in the posterior mandible is dense and overheating is more likely to occur) significantly increased the risk of infection and failure (Cheng et al., 2004). Therefore, a thermal change during drilling might decrease success rate of screw anchorage in the mandible, which has thick

cortical bone (Kuroda et al., 2007a, Cheng et al., 2004), as well as might be related to the surgical difficulty caused by the anatomical structure (Kuroda et al., 2007b). We could not verify if the installed MIs were inserted in the keratinized mucosa, because there was not this information in the clinical records.

The mini-implant could fracture on installation or removal (Melsen, 2005, Park et al., 2006). In our study, only two MIs, out of 311, fractured (0.64%), but there was no information if it occurred during placement or removal.

Environmental and genetic factors interact with clinical variables to influence aspects of complex traits (Schutte and Murray, 1999, Muhle et al., 2004). This could be the case of mini-implant loss. In the group with multiple losses, the percentage of mini-implants lost increased from 12.5 to 55%. Groups of individuals seem to concentrate high levels of implant failure (Montes et al., 2007, Weyant and Burt, 1993), but, to the authors' knowledge, this is the first evidence of the clusterization phenomenon in MIs loss for orthodontic anchorage.

Increased levels of immune-inflammatory mediators 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). This study aimed to investigate the association of SNPs in *IL6* gene, together with clinical factors, with mini-implant loss. It is worth mentioning that *IL6* is considered a functional candidate gene due to its potential involvement in the physiopathological mechanisms underlying osseointegration process. Thus, this new physical tag SNP approach, which analyzes all the gene *bins*, may capture the whole gene information in terms of genetic variability. Several algorithms have been used to calculate LD blocks by selecting a minimum number of SNPs to achieve maximum gene coverage, thus leading to smaller tag SNP sets. Nowadays, the algorithm used by

the Hapmap browser is based on the correlation index ( $r^2$ ), which calculates LD between tag SNPs and uncollected SNPs, characterizing the *bins*. We chose Yoruba (YRI) population instead of the Caucasian, Utah population from Western and Northern European ancestry (CEU) because the YRI is older than the CEU. The Brazilian population is mixed and genetic background data could be more completely assessed if we used the YRI population. Yoruba population is expected to have more bins (and consequently more tag SNPs) than CEU. The reduced sample size and the low MAF may have impacted the significance of the results in the case of rs2069843 and rs2069849 (which were in high LD,  $r^2=90\%$ ). While rs2069843 is located in the 4th intron, rs2069849 is situated in exon 5, however, the codon TTC or TTI results in the definition of the same residue Phe. It is worth mentioning that if we had chosen the CEU population we would have missed the information from those two genetic markers. New studies with increased sample size should be conducted to confirm whether this association does exist.

In summary, a higher number of MIs installed and the mandible are associated with MI treatment failure. Also, a weak signal of association was observed for two polymorphisms (tag SNPs rs2069843 and rs2069849) with loss of MIs. The tag SNPs rs2069843 and rs2069849 were in complete LD in the Brazilian population studied, which means that in future studies only one should be genotyped to represent the corresponding bin. Other studies with a higher sample size may replicate such an association.

## **Acknowledgement**

To all patients that participated in this study. The study was partially supported by grant from Latin-American Dental Research Institute (ILAPEO), Curitiba, Paraná, Brazil.

## Disclaimer

All the authors claim to have no financial interest in any company or any of the products mentioned in this article.

## References

- ABEP (2003) Criterio de Classificação Econômica Brasil (CCEB). Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP).
- Adell, R., Eriksson, B., Lekholm, U., Branemark, P. I. & Jemt, T. (1990) Long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants***5**, 347-359.
- Aidar, M. & Line, S. R. (2007) A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Brazilian Dental Journal*.
- Albrektsson, T., Zarb, G., Worthington, P. & Eriksson, A. R. (1986) The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants***1**, 11-25.
- Atila, G. & Kutukculer, N. (1998) Crevicular fluid interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6 levels in renal transplant patients receiving cyclosporine A. *J Periodonto***69**, 784-790.
- Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J. & Daly, M. J. (2005) Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics***21**, 263-265. doi: 10.1093/bioinformatics/bth457  
bth457 [pii].
- Block, M. S. & Hoffman, D. R. (1995) A new device for absolute anchorage for orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***107**, 251-258. doi:S0889-5406 (95)70140-0 [pii].
- Branemark, P. I., Adell, R., Breine, U., Hansson, B. O., Lindstrom, J. & Ohlsson, A. (1969) Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg***3**, 81-100.
- Carano, A., Velo, S., Incorvati, C. & Poggio, P. (2004) Clinical applications of the Mini-Screw-Anchorage-System (M.A.S.) in the maxillary alveolar bone. *Prog Orthod***5**, 212-235.
- Carano, A., Velo, S., Leone, P. & Siciliani, G. (2005) Clinical applications of the Miniscrew Anchorage System. *J Clin Orthod***39**, 9-24; quiz 29-30.
- Chaddad, K., Ferreira, A. F., Geurs, N. & Reddy, M. S. (2008) Influence of surface characteristics on survival rates of mini-implants. *Angle Orthod***78**, 107-113. doi:0003-3219-78-1-107 [pii]  
10.2319/100206-401.1.
- Chen, Y., Kang, S. T., Bae, S. M. & Kyung, H. M. (2009) Clinical and histologic analysis of the stability of microimplants with immediate orthodontic loading in dogs. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***136**, 260-267. doi:S0889-5406(09) 00351-5 [pii]  
10.1016/j.ajodo.2007.10.046.

- Chen, Y., Lee, J. W., Cho, W. H. & Kyung, H. M. (2010) Potential of self-drilling orthodontic microimplants under immediate loading. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***137**, 496-502. doi:S0889-5406(09)01245-1 [pii]  
10.1016/j.ajodo.2008.06.030.
- Chen, Y. J., Chang, H. H., Huang, C. Y., Hung, H. C., Lai, E. H. & Yao, C. C. (2007) A retrospective analysis of the failure rate of three different orthodontic skeletal anchorage systems. *Clin Oral Implants Res***18**, 768-775. doi:CLR1405 [pii]  
10.1111/j.1600-0501.2007.01405.x.
- Cheng, S. J., Tseng, I. Y., Lee, J. J. & Kok, S. H. (2004) A prospective study of the risk factors associated with failure of mini-implants used for orthodontic anchorage. *Int J Oral Maxillofac Implants***19**, 100-106.
- Chiba-Falek, O. & Nussbaum, R. L. (2001) Effect of allelic variation at the NACP-Rep1 repeat upstream of the alpha-synuclein gene (SNCA) on transcription in a cell culture luciferase reporter system. *Human Molecular Genetics***10**, 3101-3109.
- Chung, K. R., Choo, H., Lee, J. H. & Kim, S. H. (2011) Atypical orthodontic extraction pattern managed by differential en-masse retraction against a temporary skeletal anchorage device in the treatment of bimaxillary protrusion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***140**, 423-432. doi:S0889-5406(11)00573-7 [pii]  
10.1016/j.ajodo.2009.08.036.
- Deguchi, T., Takano-Yamamoto, T., Kanomi, R., Hartsfield, J. K., Jr., Roberts, W. E. & Garetto, L. P. (2003) The use of small titanium screws for orthodontic anchorage. *J Dent Res***82**, 377-381.
- Dienz, O. & Rincon, M. (2009) The effects of IL-6 on CD4 T cell responses. *Clin Immunol***130**, 27-33. doi:S1521-6616(08)00803-6 [pii]  
10.1016/j.clim.2008.08.018.
- Farnsworth, D., Rossouw, P. E., Ceen, R. F. & Buschang, P. H. (2011) Cortical bone thickness at common miniscrew implant placement sites. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***139**, 495-503. doi:S0889-5406(11)00039-4 [pii]  
10.1016/j.ajodo.2009.03.057.
- Gainsforth, B. L. & Higley, L. B. (1945) A study of orthodontic anchorage possibilities in basal bone. *Am J Orthod Oral Surg***431**, 406-417.
- Grossman, R. M., Krueger, J., Yourish, D., Granelli-Piperno, A., Murphy, D. P., May, L. T., Kupper, T. S., Sehgal, P. B. & Gottlieb, A. B. (1989) Interleukin 6 is expressed in high levels in psoriatic skin and stimulates proliferation of cultured human keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A***86**, 6367-6371.
- Hirano, T. (2010) Interleukin 6 in autoimmune and inflammatory diseases: a personal memoir. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci***86**, 717-730. doi:JST.JSTAGE/pjab/86.717 [pii].
- Ishimi, Y., Miyaura, C., Jin, C. H., Akatsu, T., Abe, E., Nakamura, Y., Yamaguchi, A., Yoshiki, S., Matsuda, T., Hirano, T. & et al. (1990) IL-6 is produced by osteoblasts and induces bone resorption. *J Immunol***145**, 3297-3303.
- Jeong, D. M., Choi, B., Choo, H., Kim, J. H., Chung, K. R. & Kim, S. H. (2011) Novel application of the 2-piece orthodontic C-implant for temporary crown restoration after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***140**, 569-579. doi:S0889-5406(11)00607-X [pii]  
10.1016/j.ajodo.2009.10.051.

- Kamagata, Y., Miyasaka, N., Inoue, H., Hashimoto, J. & Iida, M. (1989) [Cytokine production in inflamed human gingival tissues--interleukin-6]. *Nihon Shishubyo Gakkai Kaishi***31**, 1081-1087.
- Kanomi, R. (1997) Mini-implant for orthodontic anchorage. *J Clin Orthod***31**, 763-767.
- Kim, S., Shevde, N. K. & Pike, J. W. (2005) 1,25-Dihydroxyvitamin D3 stimulates cyclic vitamin D receptor/retinoid X receptor DNA-binding, co-activator recruitment, and histone acetylation in intact osteoblasts. *Journal of Bone Mineral and Research***20**, 305-317.
- Kim, Y. H., Yang, S. M., Kim, S., Lee, J. Y., Kim, K. E., Gianelly, A. A. & Kyung, S. H. (2010) Midpalatal miniscrews for orthodontic anchorage: factors affecting clinical success. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***137**, 66-72. doi:S0889-5406(09)00948-2 [pii]  
10.1016/j.ajodo.2007.11.036.
- Kuroda, S., Sugawara, Y., Deguchi, T., Kyung, H. M. & Takano-Yamamoto, T. (2007a) Clinical use of miniscrew implants as orthodontic anchorage: success rates and postoperative discomfort. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***131**, 9-15. doi:S0889-5406(06)01089-4 [pii]  
10.1016/j.ajodo.2005.02.032.
- Kuroda, S., Yamada, K., Deguchi, T., Hashimoto, T., Kyung, H. M. & Takano-Yamamoto, T. (2007b) Root proximity is a major factor for screw failure in orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***131**, S68-73. doi:S0889-5406(07)00049-2 [pii]  
10.1016/j.ajodo.2006.06.017.
- Lee, H. J., Kim, S. Y., Kim, G. S., Hwang, J. Y., Kim, Y. J., Jeong, B., Kim, T. H., Park, E. K., Lee, S. H., Kim, H. L., Koh, J. M. & Lee, J. Y. (2010) Fracture, bone mineral density, and the effects of calcitonin receptor gene in postmenopausal Koreans. *Osteoporos Int***21**, 1351-1360. doi:10.1007/s00198-009-1106-8.
- Lee, L. G., Connell, C. R. & Bloch, W. (1993) Allelic discrimination by nick-translation PCR with fluorogenic probes. *Nucleic Acids Res***21**, 3761-3766.
- Liu, G., Wang, Y. & Wong, L. (2010) FastTagger: an efficient algorithm for genome-wide tag SNP selection using multi-marker linkage disequilibrium. *BMC Bioinformatics***11**, 66. doi:1471-2105-11-66 [pii]  
10.1186/1471-2105-11-66.
- Marti, L. & Scheinberg, M. (2009) Anti-interleukin 6: first line in rheumatoid arthritis? *Clin Rheumatol***28**, 877-879. doi:10.1007/s10067-009-1182-3.
- Melsen, B. (2005) Mini-implants: Where are we? *J Clin Orthod***39**, 539-547; quiz 531-532.
- Melsen, B. & Costa, A. (2000) Immediate loading of implants used for orthodontic anchorage. *Clin Orthod Res***3**, 23-28. doi:cor030105 [pii].
- Melsen, B., Petersen, J. K. & Costa, A. (1998) Zygoma ligatures: an alternative form of maxillary anchorage. *J Clin Orthod***32**, 154-158.
- Miyawaki, S., Koyama, I., Inoue, M., Mishima, K., Sugahara, T. & Takano-Yamamoto, T. (2003) Factors associated with the stability of titanium screws placed in the posterior region for orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***124**, 373-378. doi:10.1016/S0889540603005651  
S0889540603005651 [pii].
- Monaco, C., Andreakos, E., Kiriakidis, S., Feldmann, M. & Paleolog, E. (2004) T-cell-mediated signalling in immune, inflammatory and angiogenic processes: the

- cascade of events leading to inflammatory diseases. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy***3**, 35-42.
- 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 Dentistry***16**, 404-412. doi: 10.1097/ID.0b013e31815c8d31  
00008505-200712000-00012 [pii].
- Moon, C. H., Lee, D. G., Lee, H. S., Im, J. S. & Baek, S. H. (2008) Factors associated with the success rate of orthodontic miniscrews placed in the upper and lower posterior buccal region. *Angle Orthod***78**, 101-106. doi: 0003-3219-78-1-101 [pii]  
10.2319/121706-515.1.
- Moon, C. H., Park, H. K., Nam, J. S., Im, J. S. & Baek, S. H. (2010) Relationship between vertical skeletal pattern and success rate of orthodontic mini-implants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***138**, 51-57. doi:S0889-5406(10)00214-3 [pii]  
10.1016/j.ajodo.2008.08.032.
- Muhle, R., Trentacoste, S. V. & Rapin, I. (2004) The genetics of autism. *Pediatrics***113**, e472-486.
- 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. doi:CID075 [pii]  
10.1111/j.1708-8208.2007.00075.x.
- Oh, Y. H., Park, H. S. & Kwon, T. G. (2011) Treatment effects of microimplant-aided sliding mechanics on distal retraction of posterior teeth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***139**, 470-481. doi:S0889-5406(11)00038-2 [pii]  
10.1016/j.ajodo.2009.05.037.
- Ohnishi, H., Yagi, T., Yasuda, Y. & Takada, K. (2005) A mini-implant for orthodontic anchorage in a deep overbite case. *Angle Orthod***75**, 444-452. doi: 10.1043/0003-3219(2005)75[444:AMFOAI]2.0.CO;2.
- Park, H. S., Jeong, S. H. & Kwon, O. W. (2006) Factors affecting the clinical success of screw implants used as orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***130**, 18-25. doi:S0889-5406(06)00302-7 [pii]  
10.1016/j.ajodo.2004.11.032.
- Parra, F. C., Amado, R. C., Lambertucci, J. R., Rocha, J., Antunes, C. M. & Pena, S. D. (2003) Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proceedings of the National Academy of Sciences***100**, 177-182.
- Rauramaa, R., Vaisanen, S. B., Luong, L. A., Schmidt-Trucksass, A., Penttila, I. M., Bouchard, C., Toyry, J. & Humphries, S. E. (2000) Stromelysin-1 and interleukin-6 gene promoter polymorphisms are determinants of asymptomatic carotid artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol***20**, 2657-2662.
- Roberts, W. E., Marshall, K. J. & Mozsary, P. G. (1990) Rigid endosseous implant utilized as anchorage to protract molars and close an atrophic extraction site. *Angle Orthod***60**, 135-152. doi:10.1043/0003-3219(1990)060<0135:REIUAA>2.0.CO;2.
- 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. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants***12**, 32-42.
- Schutte, B. C. & Murray, J. C. (1999) The many faces and factors of orofacial clefts. *Human Molecular Genetics***8**, 1853-1859.
- Thomas, M. V. & Puleo, D. A. (2011) Infection, Inflammation, and Bone Regeneration: a Paradoxical Relationship. *Journal Dental Research*. doi:0022034510393967 [pii]  
10.1177/0022034510393967.
- 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.
- Turley, P. K., Kean, C., Schur, J., Stefanac, J., Gray, J., Hennes, J. & Poon, L. C. (1988) Orthodontic force application to titanium endosseous implants. *Angle Orthod***58**, 151-162. doi:10.1043/0003-3219(1988)058<0151:OFATTE>2.0.CO;2.
- Umemori, M., Sugawara, J., Mitani, H., Nagasaka, H. & Kawamura, H. (1999) Skeletal anchorage system for open-bite correction. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***115**, 166-174. doi:S0889540699000281 [pii].
- Viwattanatipa, N., Thanakitcharu, S., Uttraravichien, A. & Pitiphat, W. (2009) Survival analyses of surgical miniscrews as orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop***136**, 29-36. doi:S0889-5406(09)00184-X [pii]  
10.1016/j.ajodo.2007.06.018.
- Wehrbein, H. & Diedrich, P. (1993) Endosseous titanium implants during and after orthodontic load--an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res***4**, 76-82.
- Weyant, R. J. & Burt, B. A. (1993) An assessment of survival rates and within-patient clustering of failures for endosseous oral implants. *Journal Dental Research***72**, 2-8.
- Wu, J., Bai, Y. X. & Wang, B. K. (2009) Biomechanical and histomorphometric characterizations of osseointegration during mini-screw healing in rabbit tibiae. *Angle Orthod***79**, 558-563. doi:0003-3219-79-3-558 [pii]  
10.2319/031108-138.1.

**Table 1.** Results of univariate analyzes, considering the clinical variables for groups control and study.

Patients Data	Control Group		Study Group		p-value	Univariate OR (CI 95%)
	n=104	%	n=31	%		
<b>Gender</b>						
Male	29	27.9	7	22.6	0.648*	1.33 (0.52-3.41)
Female	75	72.1	24	77.4		
<b>Age</b>	48.69 ± 10.31		48.77 ± 9.11		0.968	
<b>Ethnic Group</b>						
Caucasian	73	70.2	22	71.0	1.000*	0.96 (0.40-2.33)
Non-Caucasian	31	29.8	9	29.0		
<b>Smoking habits</b>	26	25.0	12	38.7	0.172*	1.89 (0.81-4.42)
<b>Socioeconomic status</b>						
A1/A2/B1	81	77.9	22	71.0	0.473*	1.44 (0.58-3.56)
B2/C/D	23	22.1	9	29.0		
<b>General medical condition</b>	61	58.7	19	61.3	0.838*	1.12 (0.49-2.54)
<b>Hormony reposition</b>	7	6.7	3	9.7	0.696*	1.48 (0.36-6.12)
<b>Alcohol consumption</b>	40	38.5	14	45.2	0.536*	1.32 (0.59-2.96)
<b>Use of medication</b>						
Drugs within 3 mouths	52	50	15	48.4	1.000*	0.94 (0.42-2.09)
Drugs of continuous use	44	42.3	18	58.1	0.152*	1.89 (0.84-4.26)
<b>Hygiene habits</b>						
Brushing daily over 3 times	90	86.5	24	77.4	0.260*	0.53 (0.19-1.47)
Dental floss use	97	93.3	28	90.3	0.696*	0.67 (0.16-2.78)
Monthwash	98	94.2	30	96.8	1.000*	1.84 (0.21-15.87)
<b>DMFT</b>						
up to 10	8	7.7	2	6.5	1.000*	1.21 (0.24-6.01)
more than 10	96	92.3	29	93.5		
<b>CPITN</b>						
zero	66	63.5	17	54.8	0.407*	1.43 (0.63-3.22)
1, 2 and 3	38	36.5	14	45.2		
<b>Number of installed mini-implants per patient</b>						
up to 1	27	26.0	0	0.0	<b>0.001*</b>	
more than 1	77	74.0	31	100.0		

\* Fisher's exact test

Student t-test

**Table 2.** Clinical findings for all mini-implants (n=311).

Local MI Data	Health MI Group		Lost MI Group		p-value	Univariate OR (CI 95%)
	n=272	%	n=39	%		
<b>Jaw of installation</b>	269	98.90	39	100.00	0.025**	2.29 (1.14-4.49)
Maxilla	151	91.52	14	8.48		
Mandible	118	82.52	25	17.48		
<b>Position of installation</b>	269	98.90	39	100.00	0.890*	
Buccal	196	87.11	29	12.89		
Lingual	42	89.36	5	10.64		
Alveolar ridge	31	86.11	5	14.89		
<b>Side of installation</b>	166	61.03	17	43.58	0.316*	
Right	95	88.79	12	11.21		
Left	71	93.42	5	6.58		
<b>Diameter (mm)<sup>ψ</sup></b>	272	100.00	39	100.00	0.802**	
1.3	36	85.71	6	14.29		
1.6/2.0	236	87.73	33	12.27		
<b>Length (mm)<sup>¥</sup></b>	272	100.00	39	100.00	0.948*	
5.0	9	90.00	1	10.00		
7.0	145	86.83	22	13.17		
9.0	82	87.23	12	12.77		
11.0	36	90.00	4	10.00		
<b>Type of neck<sup>€</sup></b>	272	100.00	39	100.00	0.542*	
CB (low neck)	116	89.92	13	10.08		
CM (middle neck)	125	85.62	21	14.38		
CA (high neck)	31	86.11	5	13.89		
<b>Type of anchorage</b>	220	80.88	31	79.49	0.474**	
Direct	177	88.50	23	11.50		
Indirect	43	84.31	8	15.69		
<b>Type of movement</b>	233	85.66	35	89.74	0.109*	
Intrusion	123	90.44	13	9.56		
Verticalization	54	79.41	14	20.59		
Forward	17	80.95	4	19.05		
Backward	39	90.70	4	9.30		

\*\*Fisher's exact test

\* Pearson Chi-Squared test

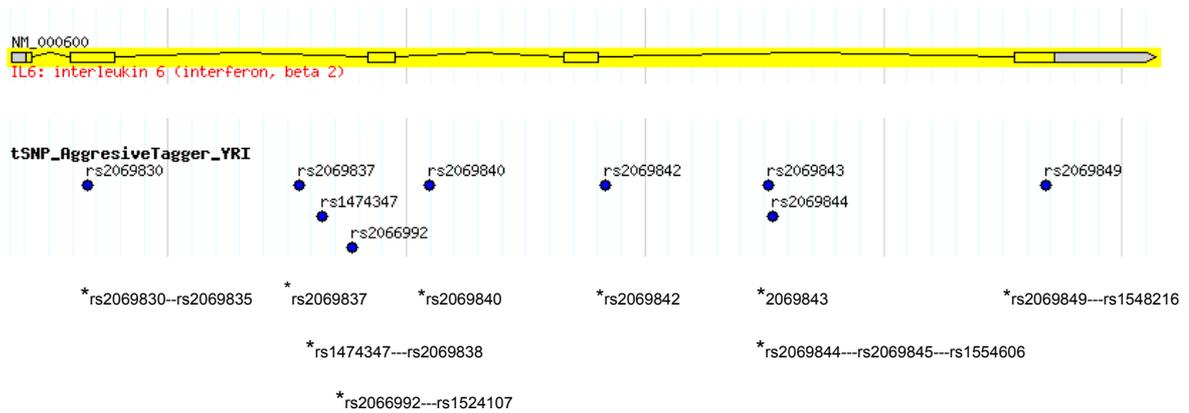
<sup>ψ</sup> diameter of 1.6 mm was used in 85% of the cases, 1.3 mm in 13.50%, and 2.0 mm in 0.64%<sup>¥</sup> length of 5 mm was used in 2.89% of the cases, 7 mm in 53.70%, 9 mm in 30.23%, and 11 mm in 11.57%<sup>€</sup> middle neck was used in 46.95% of the cases, low neck in 41.48%, and high neck in 9.96%

**Table 3.** Results of univariate analyses of *IL6* tag SNPs between control (n=104) and study (n=31) groups.

Gene	tag SNP	Variation [1/2]	% de genotyping	Genetic Model	Groups	Genotype (%)			p-value	Univariate OR (CI 95%)
						Homozygous 1	Heterozygous	Homozygous 2		
<i>IL6</i>	rs2069835	[T/C]	100.0	Additive	Control	89 (85.6)	15 (14.4)	0 (0.0)	0.090 <sup>§</sup>	
					Study	30 (96.8)	1 (3.2)	0 (0.0)		
					Dominant <sup>1</sup>	Control	104 (100.0)	0 (0.0)		
				Study	31 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)			
				Recessive <sup>2</sup>	Control	89 (85.6)	15 (14.4)	0 (0.0)	0.118*	0.20 (0.03 - 1.56)
				Study	30 (96.8)	1 (3.2)	0 (0.0)			
				Dominant <sup>1</sup>	Control	83 (79.8)	21 (20.2)	0 (0.0)		
<i>IL6</i>	rs2069837	[A/G]	100.0	Additive	Control	25 (80.6)	6 (19.4)	0 (0.0)	0.919 <sup>§</sup>	
					Study	104 (100.0)	0 (0.0)	-		
					Dominant <sup>1</sup>	Control	104 (100.0)	0 (0.0)		
				Study	31 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)			
				Recessive <sup>2</sup>	Control	83 (79.8)	21 (20.2)	0 (0.0)	1.000*	0.95 (0.34 - 2.61)
				Study	25 (80.6)	6 (19.4)	0 (0.0)			
				Dominant <sup>1</sup>	Control	81 (78.6)	22 (21.4)	0 (0.0)		
<i>IL6</i>	rs1524107	[C/T]	99.3	Additive	Control	25 (80.6)	6 (19.4)	0 (0.0)	0.810 <sup>§</sup>	
					Study	103 (100.0)	0 (0.0)	-		
					Dominant <sup>1</sup>	Control	103 (100.0)	0 (0.0)		
				Study	31 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)			
				Recessive <sup>2</sup>	Control	81 (78.6)	22 (21.4)	0 (0.0)	1.000*	0.88 (0.32 - 2.42)
				Study	25 (80.6)	6 (19.4)	0 (0.0)			
				Dominant <sup>1</sup>	Control	103 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		
<i>IL6</i>	rs2069838	[C/T]	99.3	Additive	Control	30 (96.8)	1 (3.2)	0 (0.0)	0.067 <sup>§</sup>	
					Study	103 (100.0)	0 (0.0)	-		
					Recessive <sup>2</sup>	Control	103 (100.0)	0 (0.0)		
				Study	31 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)			
				Dominant <sup>1</sup>	Control	103 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.231*	
				Study	30 (96.8)	1 (3.2)	0 (0.0)			
				Recessive <sup>2</sup>	Control	52 (50.5)	37 (35.9)	14 (13.6)		
<i>IL6</i>	rs2069840	[C/G]	99.3	Additive	Control	14 (45.2)	16 (51.6)	1 (3.2)	0.717 <sup>§</sup>	
					Study	89 (86.4)	14 (13.6)	0 (0.0)		
					Dominant <sup>1</sup>	Control	52 (50.5)	51 (49.5)		
				Study	30 (96.8)	1 (3.2)	0 (0.0)			
				Recessive <sup>2</sup>	Control	52 (50.5)	51 (49.5)	0 (0.0)	0.684*	1.24 (0.55 - 2.77)
				Study	14 (45.2)	17 (54.8)	0 (0.0)			
				Dominant <sup>1</sup>	Control	101 (98.1)	2 (1.9)	0 (0.0)		
<i>IL6</i>	rs2069842	[G/A]	99.3	Additive	Control	31 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.434 <sup>§</sup>	
					Study	103 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		
					Dominant <sup>1</sup>	Control	103 (100.0)	0 (0.0)		
				Study	31 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)			
				Recessive <sup>2</sup>	Control	101 (98.1)	2 (1.9)	0 (0.0)	1.000*	
				Study	31 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)			
				Dominant <sup>1</sup>	Control	92 (88.5)	12 (11.5)	0 (0.0)		
<i>IL6</i>	rs2069843	[G/A]	100.0	Additive	Control	28 (90.3)	1 (3.2)	2 (6.5)	0.548 <sup>§</sup>	
					Study	104 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		
					Recessive <sup>2</sup>	Control	92 (88.5)	12 (11.5)		
				Study	29 (93.5)	2 (6.5)	0 (0.0)			
				Dominant <sup>1</sup>	Control	92 (88.5)	12 (11.5)	0 (0.0)	1.000*	0.82 (0.22 - 3.12)
				Study	28 (90.3)	3 (9.7)	0 (0.0)			
				Recessive <sup>2</sup>	Control	47 (45.2)	46 (44.2)	11 (10.6)		
<i>IL6</i>	rs2069845	[A/G]	100.0	Additive	Control	12 (38.7)	15 (48.4)	4 (12.9)	0.517 <sup>§</sup>	
					Study	93 (88.5)	11 (10.6)	0 (0.0)		
					Recessive <sup>2</sup>	Control	46 (44.2)	58 (55.8)		
				Study	27 (87.1)	4 (12.9)	0 (0.0)			
				Dominant <sup>1</sup>	Control	46 (44.2)	58 (55.8)	0 (0.0)	0.681*	1.26 (0.55 - 2.85)
				Study	12 (38.7)	19 (61.3)	0 (0.0)			
				Recessive <sup>2</sup>	Control	92 (90.2)	10 (9.8)	0 (0.0)		
<i>IL6</i>	rs2069849	[C/T]	98.5	Additive	Control	28 (90.3)	1 (3.2)	2 (6.5)	0.393 <sup>§</sup>	
					Study	102 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		
					Recessive <sup>2</sup>	Control	92 (90.2)	10 (9.8)		
				Study	29 (93.5)	2 (6.5)	0 (0.0)			
				Dominant <sup>1</sup>	Control	92 (90.2)	10 (9.8)	0 (0.0)	1.000*	0.99 (0.25 - 3.83)
				Study	28 (90.3)	3 (9.7)	0 (0.0)			

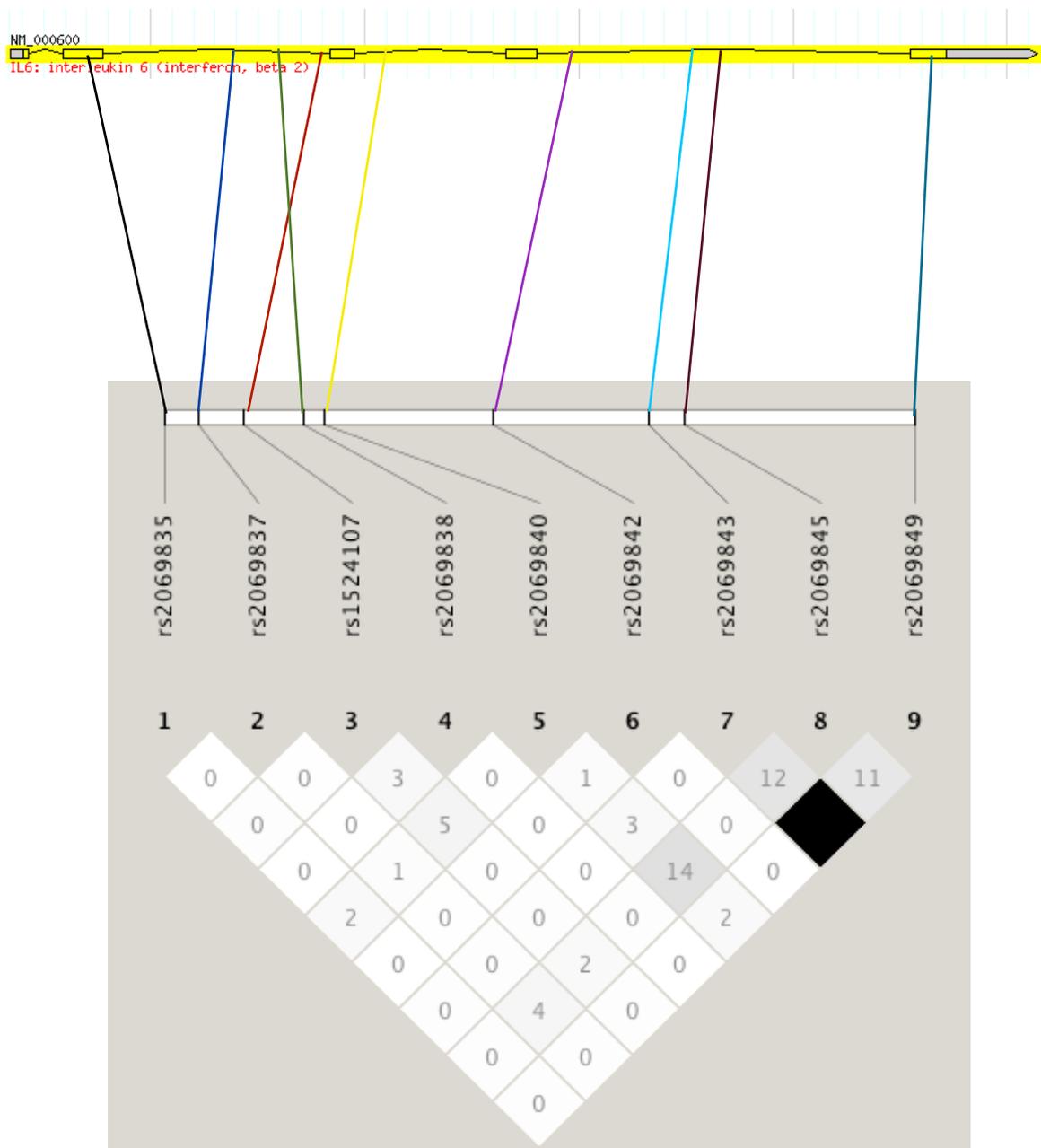
\* Fisher's exact test two-sided

§ Binary logistic regression model



Gene figure: Hapmap release 24, 2008.

**Fig. 1.** *IL6* gene and the corresponding bins, whose SNPs present a minimum allele frequency (MAF) of at least 0.05. The SNP rs2069835 (MAF 0.059) was in LD with SNP rs2069830, rs2069837 (MAF 0.100) is a singleton, rs2069838 (MAF 0.004) was in LD with SNP rs1474347, rs1524107 (MAF 0.104) was in LD with SNP rs2066992, rs2069840 (MAF 0.313) is a singleton, rs2069842 (MAF 0.007) is a singleton, 2069843 (MAF 0.063) is a singleton, rs2069845 (MAF 0.344) was in LD with SNP rs1554606 and rs2069844, and rs2069849 (MAF 0.056) was in LD with SNP rs1548216 .



**Fig. 2.** Analysis of linkage disequilibrium (LD) between *IL6* tag SNPs. The number inside squares indicates the proportion of LD in %. The intensity of the color inside the squares reflects the LD between two loci: the darker intensity represents the highest LD between SNPs ( $r^2 > 80$ ).

## **5. Conclusão**

Em resumo, conclui-se que:

1) Em relação aos aspectos clínicos, a base óssea mandibular e a quantidade de mini-implantes instalados por paciente foram associados com a perda de MIs para ancoragem ortodôntica.

2) Em relação aos aspectos genéticos, o alelo A do rs2069843, e o alelo T do rs2069849 estiveram fracamente associados com a perda de mini-implantes para a ancoragem ortodôntica.

3) O rs2069843 e rs2069849 estiveram em completo desequilíbrio de ligação na população estudada, podendo somente um deles ser utilizado no estudo de *bins* na população brasileira.

## **6.Referências Bibliográficas**

ABEP (2003) Criterio de Classificação Econômica Brasil (CCEB). Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP).

Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Sug* 1981; 6:387-416.

Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Branemark PI, Jemt T. Long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 1990; 5: 347-59.

Aidar M, Line SR. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J.* 2007; 18(2):148-52 .

Albrektsson T, Dahl E, Enbom L, Engevall S, Engquist B, Eriksoson AR, Feldman G, et al. Osseointegrated oral implants. A Swedish multicenter study of 8139 consecutively Nobelpharma implants. *J Periodontol.* 1988; 59:287-96.

Alvim-Pereira F, Montes CC, Thomé G, Olandoski M, Trevilatto PC. Analysis of association of clinical aspects and vitamin D receptor gene polymorphism with dental implant loss. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19(8):786-95.

Atilla G & Kütükçüler N. Crevicular fluid interleukin-1 $\beta$ , tumor necrosis factor- $\delta$  and interleukin-6 levels in renal transplant patients receiving cyclosporine. *A Journal of Periodontology.* 1998; 69:784-90.

Baloul SS, Gerstenfeld LC, Morgan EF, Carvalho RS, Dyke TEV, Kantarci,A. Mechanism of action and morphologic changes in the alveolar bone in response to

selective alveolar decortication-facilitated tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011; 139:(4) s83-s101.

Bar-Shavit Z. Taking a toll on the bones: regulation of bone metabolism by innate immune regulations. *Autoimmunity.* 2008; 41:195-203.

Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics.* 2005; 21(2):263-65.

Baumgaertel S. Cortical bone thickness and bone depth of the posterior palatal alveolar process for mini-implant insertion in adults. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011; 140(6):806-11.

Baumgaertel S. Predrilling of the implant site: Is it necessary for orthodontic mini-implants?. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2010; 137:(6) 825-28.

Bezerra V, Laboissière Júnior M, Diaz L. Ancoragem absoluta utilizando microparafusos ortodônticos de titânio. Planejamento e protocolo cirúrgico (Trilogia - Parte 1). *Implant News.* 2004; 1(6):469-75.

Bilate AMB. Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações terapêuticas. *Temas de reumatologia clínica.* 2007; 8(2):47-51.

Block MS & Hoffman DR. A new device for absolute anchorage for orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1995; 107(3):251-58.

Branemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindstrom J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1969; 3:81-100.

Campos MI, dos Santos MC, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, Bezerra, FJ, Line SR. Early failure of dental implants and TNF-alpha (G-308A) gene polymorphism. *Implant Dentistry.* 2004; 13:95-101.

Campos MI, dos Santos MC, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, Bezerra, FJ, Line SR. Interleukin-2 and Interleukin-6 Gene Promoter Polymorphism, and Early Failure of Dental Implants. *Implant Dentistry*. 2005. 14; 4:391-397.

Carano A, Velo S, Leone P, Siciliani G. Clinical Applications of the Miniscrew Anchorage System. *J Clin Orthod*. 2005; 39(1):9-24.

Carano A, Velo S, Leone P, Siciliani G. Clinical Applications of the Miniscrew Anchorage System (M.A.S) in the maxillary alveolar bone. *Progress in Orthodontic*. 2004; 5(2):212-30.

Çehreli S & Özçirpici A. Primary stability and histomorphometric bone-implant contact of self-drilling and self-tapping orthodontic microimplants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2012; 141(2):187-95.

Cha JY, Kil JK, Yoon TM, Hwang CJ. Miniscrew stability evaluated with computerized tomography scanning. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010; 137:(1) 73-9.

Chaddad K, Ferreira AFH, Geurs N, Reddy M. Influence of Surface Characteristics on Survival Rates of Mini-implants. *Angle Orthod*. 2008; 78(1):107-13.

Chen Y, Lee JW, Cho WH, Kyung HM. Potential of self-drilling orthodontic microimplants under immediate loading. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010; 137:(4) 496-502.

Chen, YJ, Chang HH, Huang CY, Hung HC, Lai EH, Yao CC. A retrospective analysis of the failure rate of three different orthodontic skeletal anchorage system. *Clin Oral Implants Res*. 2007; 18:768-75.

Chen Y, Kang ST, Bae SM, Kyung HM. Clinical and histological analysis of the stability of microimplants with immediate orthodontic loading in dogs. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2009; 136(2):260-67.

Cheng SJ, Tseng IY, Lee JJ, Kok SH. A prospective study of the risk factors associated with failure of mini-implants used for orthodontic anchorage. *Int J Oral Maxillo Fac Implants*. 2004; 19(1):100-6.

Chiba-Falek O & Nussbaum RL. Effect of allelic variation at the NACP-Rep1 repeat upstream of the alpha-synuclein gene (SNCA) on transcription in a cell culture luciferase reporter system. *Human Molecular Genetics*. 2001; 10:3101-9.

Chung KR, Choo HR, Lee JH, Kim SH. Atypical orthodontic extraction pattern managed by differential en-masse retraction against a temporary skeletal anchorage device in the treatment of bimaxillary protrusion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011; 140:(3) 423-32.

Cromossomo. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/maps.12/05/12>

Cope JB. Temporary Anchorage Devices in Orthodontics: A Paradigm Shift. *Semin Orthod*. 2005; 11:3-9.

Costa A, Raffaini M, Melsen B. Miniscrews as orthodontic anchorage: a preliminary report. *Int J Adult Orthod Orthognath Surg*. 1998; 13(3):201-9.

Daskalogiannakis J. Glossary of Orthodontic Terms. Leipzig, Quintessence Publishing Co. 2000.

Deguchi T, Takano-Yamamoto T, Kanomi R, Hartsfield JK, Roberts WE, Garetto LP. The use of small titanium screws for orthodontic anchorage. *J Dent Res*. 2003; 82:377-81.

Dienz O & Ricon M. The effects of IL-6 on CD4T cell responses. *Clin Immunol*. 2009; 120:27-33.

Ershler WB & Keller ET. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. *Annu Rev Med*. 2000; 51:245-70.

Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (I). Success criteria and epidemiology. *Eur J Oral Sci.* 1998; 106:527-51

Farnsworth D, Rossouw PE, Ceen RF, Buschang PH. Cortical bone thickness at common miniscrew implant placement sites. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011; 139:(4) 495-503.

Fridman WH & Michan J. Phato-physiology of cytokines. *Leuk Res.* 1990; 14:675-77.

Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudin JS, Humphries S, Woo P. The effect of novel polymorphism in the interelukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *Journal of Clinical Investigation.* 1998; 102:1369-76.

Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, et al. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science.* 2002; 21:296 (5576):2225-29.

Gainsforth BL & Higley LB. A study of orthodontic anchorage possibilities in basal bone. *Am J Orthod Oral Surg.* 1945; 431: 406-17.

Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: A reappraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res.* 2010; 89 (12):1349-63.

Gene da interleucina-6. Disponível em: [http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-perl/gbrowse/hapmap24\\_B36/](http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-perl/gbrowse/hapmap24_B36/)

Gomes MAM, Macêdo Neto NC, Bispo IGA. Interleucina-6, Moléculas de adesão intercelular-1 e microalbuminúria na avaliação da lesão endotelial: Revisão de literatura. *Rev SOCERJ.* 2009; 22(6):398-403.

Greenstein G & Hart TC. Clinical utility of a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. A critical evaluation. JADA. 2002; 133:452-59

Grossman RM, Krueger J, Yourish D, Granelli-Piperno A, Murphy DP, May L T, Kupper TS, Shegal PB, Gottlieb AB. Interleukin-6 is expressed in high levels in psoriatic skin and stimulates proliferation of cultured human keratinocytes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1989; 86:6367-71.

Guilliams TG. A concise update of important issues concerning natural health ingredients. Managing Chronic Inflammation: Natural Solution. The Standard. 2006; 7 (2).

Gupta N, Kotrashetti SM, Naik V. A comparative clinical study between self tapping and drill free screws as a source of rigid orthodontic anchorage. J Maxillofac Oral Surg (online first). 2011.

Guy M, Lowe LC, Bretherton-Watt D, Mansi JL, Peckitt C, Bliss J, Wilson RG, Thomas V, Colston KW. Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk. Clin Cancer Res. 2004; 10:5472-81.

Heidemann W, Gerlach KL, Gröbel KH, Köllner HG. Drill free screws: a new form of osteosynthesis screw. J Craniomaxillofac Surg. 1998; 26:163-8.

Hinds DA, Stuve GB, Halperin E, Eskin E, Ballinger DG. et al. Whole-genome patterns of common DNA variation in three human populations. Science. 2005.

Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T. Biological and clinical aspects of interleukin 6. Immunology Today. 1990; 11:443-49.

Hirano T. Interleukin 6 in autoimmune and inflammatory diseases: a personal memoir. Proc. Jpn. Acad. 2010; Ser. B 86:717-30.

Hoffmann SC, Stanley EM, Darrin Cox E, Craighead N, DiMercurio BS, Koziol DE, Harlan DM, Kirk AD, Blair PJ. Association of cytokine polymorphic inheritance and in vitro cytokine production in anti-CD3/CD28-stimulated peripheral blood lymphocytes. *Transplantation*. 2001; 72:1444-50.

Ikeda H, Rossouw PE, Campbell PM, Kontogiorgos E, Buschang PH. Three-dimensional analysis of peri-bone-implant contact of rough-surface miniscrew implants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011; 139: e153-e163.

Ishimi Y, Miyaura C, Jin CH, Akatsu T, Abe E, Nakamura Y, Yamaguchi A, Yoshiki S, Matsuda T, Hirano T, Kishimoto T, Suda T. IL-6 is produced by osteoblasts and induces bone resorption. *J Immunol*. 1990; 145:3297-303.

Iwalewa EO, McGaw LJ, Naidoo V, Eloff JN. Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytochemicals of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biochemistry*. 2007; 6(25): 2868-85.

Jasmine IF, Yezdani AA, Tajir F, Venu RM. Analysis of stress in bone and microimplants during en-masse retraction of maxillary and mandibular anterior teeth with different insertion angulations: A 3-dimensional finite element analysis study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2012; 141(1):71-80.

Jeong DM, Choi B, Choo HR, Kim JH, Chung KR, Kim SH. Novel application of the 2-piece orthodontic C-implant for temporary crown restoration after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011; 140(4):569-79.

Kamagata Y, Miyasaka N, Inoue H, Hashimoto J, Lida M. Cytokine production in inflamed human gingival tissues-interleukin-6. *Journal of Japanese Association of Periodontology*. 1991; 31:1081-87.

Kanomi R. Mini-implant for orthodontic anchorage. *J Clin Orthod.* 1997; 31 (11):764-67.

Kim YH, Kim S, Lee YJ, Kim KE, Gianelly AA, Kyung SH. Midpalatal miniscrews for orthodontic anchorage: Factors affecting clinical success. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2010; 137(1):66-72.

Kim JW, Ahn SJ, Chang YL. Histomorphometric and mechanical analyses of the drill-free screw as orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2005; 128(2):190-94.

Kim, S., Shevde, N. K. & Pike, J. W. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 stimulates cyclic vitamin D receptor/retinoid X receptor DNA-binding, co-activator recruitment, and histone acetylation in intact osteoblasts. *Journal of Bone Mineral and Research.* 2005; 20: 305-17.

Kishimoto T. Purification to homogeneity and characterization of human B-cell differentiation factor (BCDF or BSFp-2). *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985; 82:5490-94.

Korstanje R & Paigen B. From QTL to gene: the harvest begins. *Nat Genet.* 2002; 31:235-36.

Kuroda S, Sugawara Y, Degushi T, Kyung HM, Takano-Yamamoto T. Clinical use of miniscrew implants as orthodontic anchorage: Success rates and postoperative discomfort. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2007; 131(1):9-15.

Kuroda S, Yamada K, Degushi T, Hasimoto T, Kyung HM, Yamamoto TT. Root proximity is a major factor for screw failure in orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2010; 131(4):s68-s73.

Kyung SH, Hong SG, Park YC. Distalization of maxillary molars with a mildpalatal miniscrew. *J Clin Orthod.* 2003; 37(1):22-6.

Lacey DC, Simmons PJ, Graves SE, Hamilton JA. Proinflammatory cytokines inhibit osteogenic differentiation from stem cell: implications for bone repair during inflammation. *Osteoarthritis Cartilage*. 2009; 17:735-42.

Laine ML, Loos BG, Crielaard W. Gene Polymorphisms in Chronic Periodontitis. *Int J of Dentistry*. 2010. 1-22.

Lee HJ, Kim SY, Kim GS, Hwang JY, Kim YJ, Jeong B, Kim TH, Park EK, Lee SH, Kim HL, Koh JM, Lee JY. Fracture, bone mineral density, and the effects of calcitonin receptor gene in postmenopausal Koreans. *Osteoporos Int*. 2010; 21: 1351-60.

Lee LG, Connel CL, Bloch W. Allelic discrimination by nick-translation PCR with fluorogenic probes. *Nucleic Acids Res*. 21:3761-6.

Lee SJ, Ahn SJ, Lee JW, Kim SH, Kim TW. Survival analysis of orthodontic min-implants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010; 137:(2) 194-99.

Lemieux G, Hart A, Cheretakis C, Goodmurphy C, Trexler S, McGary C, Retrouvery JM. Computed tomographic characterization of mini-implant placement pattern and maximum anchorage force in human cadavers. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011; 140(3):356-65.

Liu G, Wang Y, Wong L, FastTagger: an efficient algorithm for genome-wide tag SNP selection using multi-marker linkage disequilibrium. *BMC Bioinformatics*. 2010; 11(1):66.

Lotz M, Jirik F, Kabouridis P, Troukas C, Hirano T, Kishimoto T, Carson D. B cell stimulating factor 2/ interleukin 6 is a costimulant for human thymocytes and T lymphocytes. *J Exp Med*. 1988; 167:1253-58.

Mantovani L, Mertelsmann R, Henschler R. Regulation of gene expression of macrophage-colony stimulating factor in human fibroblasts by the acute phase

response mediators interleukin (IL) -1 beta, tumor necrosis factor-alpha and IL-6. FEBS Lett. 1998; 426-29.

Marti, L. & Scheinberg, M. Anti-interleukin 6: first line in rheumatoid arthritis? Clin Rheumatol. 2009; 28: 877-79.

May LT, Ghrayeb J, Santhanam U, Tatter SB, Sthoeger Z, Helfgott DC, Chiorazzi N, Grieninger G, Sehgal PB. Synthesis and secretion of multiple forms of beta 2-interferon/B-cell differentiation factor 2/hepatocyte-stimulating factor by human fibroblasts and monocytes. J Biol Chem. 1988; 263:7760-66.

McManus MM, Qian F, Grosland NM, Marshall SD, Southard TE. Effect of miniscrew placement torque on resistance to miniscrew movement under load. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2011; 140:e93-e98.

Melsen B, Petersen JK, Costa A. Zygoma ligatures: an alternative form of maxillary anchorage. J Clin Orthod .1998; 32:154-8.

Melsen B & Verna C. A rational approach to orthodontic anchorage. Prog Orthod. 1999; 1:10-22.

Melsen B & Costa A. Immediate loading of implants used for orthodontic anchorage. Clin Orthod Res. 2000; 3:23-8.

Melsen B & Verna C. Miniscrew Implants: The Aarhus Anchorage System. Semin Orthod. 2005; 11:24-31.

Melsen B. Mini-implants: Where are We? JCO. 2005; 39(9):545.

Miyawaki S, Koyama I, Inoue M, Yamamoto TT, Mishima K, Sugahara T. Factors associated with the stability of titanium screw placed in the posterior region for orthodontic anchorage. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2003; 124(4):373-78.

Monaco C, Andreakos E, Kiriakidis S, Feldmann M, Paleolog E. T-cell-mediated signalling in immune, inflammatory and angiogenic processes: The cascade

of events leading to inflammatory diseases. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2004; 3:35-42.

Montes CC, Alvim-Pereira F, de Castilhos BB, Sakurai ML, Olandoski M, Trevilatto PC. Analysis of the association of *ilrb* (c+3954t) and *ilrn* (intron2) polymorphisms with dental implant loss in Brazilian population. *Clinical Oral Implants Research*. 2009; 20:208-17.

Moon CH. *Clinical Use and Failure of Skeletal Anchorage System*. Narae Publishing Inc. 2002; 3-4:14-79.

Moon CH, Lee DG, Lee HS, Im JS, Baek S.H. Factors Associated with the Success Rate of Orthodontic Miniscrews Places in the Upper and Lower Posterior Buccal Region. *Angle Orthod*. 2008; 78(1):101-6.

Moon CH, Park HK, Nam JS, Im JS, Baek SH. Relationship between vertical skeletal pattern and success rate of orthodontic mini-implants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010; 138:(1) 51-7.

Morange PE, Saut N, Alessi MC, Frere C, Hawe E, Yudkin JS, Tremoli E, Margaglioni M, Di Minno G, Hamsten A, Humphries SE, Juhan-Vague I. Interaction between the C-260T polymorphism of the CD14 gene and the plasma IL-6 concentration on the risk of myocardial infarction: the HIFMECH study. *Atherosclerosis*. 2005; 179:317-23.

Muhle R, Trentacoste SV, Rapin I. The genetics of autism. *Pediatrics*. 2004; 113:e472-e486.

Nascimento LM. Estudo de fatores de risco genético de suscetibilidade ao vitiligo-análise de genes candidatos. 2012. Tese. [Doutorado em Ciências da Saúde] PUCPR.

NEODENT® *Implante Osteointegrável*.

Newman MG & Flemming TF. Periodontal considerations of implants and implant associated microbiota. *J Dent Educ.* 1988; 52:737-44.

Nowzari H, Yi K, Chee W, Rich SK. Immunology, microbiology, and virology following placement of nobelperfect scalloped dental implants: analysis of a case series. *Clinical Implant Dentistry and Related Research.* 2008; 10:157-65.

Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Individual genetics variations: mutation and polymorphism, in *Genetics in medicine.* Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ. 2002; 69-82.

O'Byrne KJ & Dalgleish AG. Chronic immune activation and inflammation as the cause of malignancy. *Br J Cancer.* 2001; 85:473-83.

Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol.* 1996; 1:821-78.

Oh YH, Park HS, Kwon TG. Treatment effects of microimplant-aided sling mechanics on distal retraction of posterior teeth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011; 139:(4) 470-81.

Ohnishia H, Yagib T, Yasudac Y, Takadad K. A Mini-Implant for Orthodontic Anchorage in a Deep Overbite Case. *Angle Orthodontist.* 2005; 75 (3):444-52.

Parham P. The immune system, Chapter 1. *Elements of the immune systems and their roles in defense.* New York: Garland Publishing., pp.1-31.

Park HS. A new protocol of the sliding mechanics with micro-implant anchorage (MIA). *Korea J Orthod.* 2000; 30:677-85.

Park HS, Lee SK, Kwon OW. Group distal movement of teeth using microscrew implant anchorage. *Angle Orthod.* 2005; 75:602-9.

Park HS, Jeong SH, Kwon OW. Factors affecting the clinical success of screw implants used as orthodontic anchorage. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2006; 130(1):18-25.

Park HS, Lee YJ, Jeong SH, Kwon TG. Density of the alveolar and basal bones of the maxilla and the mandible. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2008;133(1):30-6.

Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2003; 100:177-82.

Paterson HM, Murphy TJ, Purcell EJ, Shelley O, Kriynovich SJ, Lien E, Mannick JA, Lederer JA. Injury primes the innate immune system for enhanced Toll-like receptor reactivity. J Immunol. 2003; 171:1473-83.

Podor TJ, Jirik FR, Loskutoff DJ, Carson DA, Lotz M. Human endothelial cells produce IL-6. Lack of responses to exogenous IL-6. Ann N Y Acad Sci. 1989; 557:374-38.

Processo inflamatório. Disponível em: <http://drtysoncarter.wordpress.com/>. February 23, 2004 issue of Time Magazine. Acessado 22/05/12.

Proffitt WR, Fields HW, Moray LJ. Prevalence of malocclusion and orthodontic treatment need in the United States: estimates from the NHANES III survey. Int J Adult. Orthod Orthogn Surg. 1998; 13:97-106.

Protein Data Bank. Disponível em: [http://en.wikipedia.org/wiki/File:IL6\\_Crystal\\_Structure.rsh.png#file 07/07/11](http://en.wikipedia.org/wiki/File:IL6_Crystal_Structure.rsh.png#file 07/07/11).

Rao SH, Austin H, Davidof MN, Zafari AM. Endothelial nitric oxide synthase intron 4 polymorphism is a marker for coronary artery disease in African-American and Caucasian men. Ethn Dis. 2005; 15:191-7.

Rauramaa R, Väisänen SB, Luong LA, Schmidt-Trücksäss A, Penttilä IM, Bouchard C, et al.. Stromelyin -1 and interleukin-6 gene promoter polymorphism are determinants of asymptomatic carotid artery atherosclerosis. *Artheroscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20:2657-62.

Reynders R, Ronchi L, Bipat S. Mini-implants in orthodontics: A systematic review of the literature. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009; 564e.1-564-19.

Ring ME. A thousand years of dental implants: a definitive history. Part 1. *Compend Cont Educ Dent.* 1995; 16:1060-69.

Roberts WE, Helm FR, Marshall KJ, Gongloff RK. Rigid endosseous implants for orthodontic and orthopedic anchorage. *Angle Orthod,* 1989; 59(4):247-56.

Roberts WE, Marshall KJ, Mozsary PG . Rigid endosseous implant utilized as anchorage to close an atrophic extraction site. *Angle Orthod.* 1990; 60:135-52.

Salcetti JM, Moriarty JD, Cooper LF, Smith FW, Collins JG, Socransky SS, Offenbacher S. The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implant. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 1997; 12:32-42.

Schutte BC & Murray JC. The many faces and factors of orofacial clefts. *Human molecular genetics.* 1999; 8:1853-59.

Scheinberg MA. Uma nova interleucina no tratamento das artrites: anti-interleucina-6. *einstein.* 2009; 7(1 Pt 1):108-11.

Serra G, Morais LS, Elias CN, Meyers MA, Andrade L, Müller CA, Müller M. Sequential bone healing of immediately loaded mini-implants: histomorphometric and fluorescence analysis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2010; 137:(1) 80-90.

Silva RG & Kang DS. Prevalence of malocclusion among Latino adolescents. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.* 2001; 119(3):313-15.

Slatkin M. Linkage disequilibrium-undestanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Nat Rev Genet.* 2008;9(6):477-85.

Squeff LR, Simonson MBA, Elias CN, Nojima LI. Caracterização de mini-implantes utilizados na ancoragem ortodôntica. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial.* 2008; 13(5):49-56.

Sugawara J, Daimaruya T, Nagasaka H, Takahashi I, Kawamura H, Umemori M, Mitani H. Distal movement of mandibular molars in adult patient with skeletal anchorage system. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2004; 125(2):130-38.

Sun JF, Wiklund F, Zheng SL, Chang B, Li L, Johansson JE, Li G, Adami H O, Liu W, Tolin A, Turner AR, Meyers DA, Isaacs WB, Xu J, Gronberg H. Sequence variants in Toll-like receptor gene cluster (TLR6-TLR1-TLR10) and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2005; 97:525-32.

Thomas, MV & Puleo DA. (2011) Infection, Inflammation, and Bone Regeneration: a Paradoxical Relationship. *Journal Dental Research.*

Tomomatsu N, Aoki K, Alles N, Soysa NS, Hussain A, Nakachi H. et al. LPS-induced inhibition of osteogenesis in TNF-alpha dependent in a murine tooth extraction model. *J Bone Miner Res.* 2009; 24:1770-81.

Tonet AC, Karnikowiski M, Moraes CF, Gomes L, Karnikowiski MGO, Córdova C. et al. Association between the -174 G/C promoter polymorfism of the inteleukin-6 gene and cardiovascular disease risk factors in Brazilian older women. *Bras J Rev Med.* 2000; 51:245-70.

Trevilatto PC & Line SR. Use of buccal epithelial cells for PCR amplification of large DNA fragments. *The Journal of Forensic odonto-Stomatology.* 2000; 18:6-9.

Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, de Brito RB. Jr, de Souza AP, Line SR. Polymorphism at position 174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic

periodontitis in a Caucasian Brazilian population. *J. Clin. Periodontol.* 2003; 30(5): 438-42.

Turley PK, Kean C, Schur J, Stefanac J, Gray J, Hennes J, et al. Orthodontic force application to titanium endosseous implant. *Angle Orthod.* 1988; 58(2):151-62.

Umemori M, Sugawara J, Mitani H, Nagasaka H, Kawamura H. Skeletal anchorage system for open-bite correction. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999; 115(2):166-74.

Viwattanatipa N, Thanakitcharu S, Uttraravichien A, Pitiphat W. Survival analyses of surgical miniscrews as orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009; 136(1):29-36.

Wang YC & Liou EJW. Comparison of the loading behavior of self-drilling and predrilled miniscrews throughout orthodontic loading. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2008; 133(1): 38-43.

Weyant RJ & Burt BA. An assessment of survival rates and within patient clustering of failures of endosseous oral implants. *Journal of Dental Research.* 1993; 72:2-8.

Wherbein H & Diedrich P. Endosseous titanium implants during and after orthodontic load: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1993; 4 (2):76-82.

Wherbein H, Feifel H, Diedrich P. Palatal implant anchorage reinforcement of posterior teeth: a prospective study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999; 116(6): 678-86.

World Health Organization. *Oral health surveys: basic methods.* 4th ed. Geneva. 1997.

Wua J, Baib YX, Wangb BK. Biomechanical and Histomorphometric Characterizations of Osseointegration during Mini-Screw Healing in Rabbit Tibiae. *Angle Orthodontist*. 2009; 79(3):558-63.

## Prontuário

### Dados Geográficos

Nome	<input type="text"/>	Sexo	Masculino <input type="checkbox"/>	Feminino <input type="checkbox"/>		
RG	<input type="text"/>	Etnia	Branco <input type="checkbox"/>	Negro <input type="checkbox"/>	Pardo <input type="checkbox"/>	Oriental <input type="checkbox"/>
Nacionalidade	<input type="text"/>	Etnia Paterna	<input type="text"/>			
Profissão	<input type="text"/>	Etnia Materna	<input type="text"/>			
End. Residencial:	<input type="text"/>					
Telefone Residencial	<input type="text"/>	Telefone Comercial	<input type="text"/>			
Telefone Celular	<input type="text"/>	Telefone Recado	<input type="text"/>			
Data de Nascimento	<input type="text"/>					

### Perfil Sócio-econômico

#### Quantidade de Ítems

Televisão em cores	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	>4 <input type="checkbox"/>
Rádio	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	>4 <input type="checkbox"/>
Banheiro	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	>4 <input type="checkbox"/>
Automóvel	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	>4 <input type="checkbox"/>
Empregada Mensalista	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	>4 <input type="checkbox"/>
Aspirador de pó	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	>4 <input type="checkbox"/>
Máquina de lavar	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	>4 <input type="checkbox"/>
Videocassete e/ou DVD	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	>4 <input type="checkbox"/>
Geladeira	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	>4 <input type="checkbox"/>
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0 <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/>	2 <input type="checkbox"/>	3 <input type="checkbox"/>	>4 <input type="checkbox"/>

Grau de instrução do chefe da família	<input type="checkbox"/>	até 3ª série do fund.	<input type="checkbox"/>	4ª série do fund. (primário completo)
	<input type="checkbox"/>	Fund. completo (antigo ginásio)	<input type="checkbox"/>	Médio completo (antigo colegial)
	<input type="checkbox"/>	Superior completo		

Histórico Médico											
Data da última consulta médica		mês	ano								
Está em tratamento médico?		<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	Qual Especialidade?							
Fez algum tipo de cirurgia?		<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	Ano	Qual?						
<b>Doenças</b>		<b>Paciente</b>		<b>Familiares de 1 grau</b>							
Diabetes	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>	DMI	<input type="checkbox"/>	DMII	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	C
Hepatite	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>	A	<input type="checkbox"/>	B	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	C
HIV	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>						
Sífilis	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>						
Febre Reumática	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>						
Tuberculose	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>						
Doenças Renais	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>	Qual?					
Doenças Respiratórias	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>	Qual?					
Doenças Cardíacas	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>	Qual?					
Doenças Gastrointestinais	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>	Qual?					
Doenças Reumáticas	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>	Qual?					
Doenças Sanguíneas	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>	Qual?					
Doenças Auto Imunes	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>	Qual?					
Hipertensão	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/>						
Faz uso de medicação contínua?		<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	Qual?							
<b>Medicação nos últimos 3 meses</b>											
Antibióticoterapia	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	Qual?								
Antiinflamatórios	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	Qual?								
Corticóides	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	Qual?								
Antidepressivos	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	Qual?								
É alérgico a algum medicamento?		<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	Qual?							
Fumante?		<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	Quantidade de cigarros?							
Ex-fumante?		<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	A quanto tempo parou?							
Consome bebida alcoólica?		<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	Frequência?							
Faz reposição hormonal?		<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não								
<b>Se paciente do sexo feminino</b>		<input type="checkbox"/> Grávida	<input type="checkbox"/> Lactante	Faz uso de anticoncepcional		<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não				

Histórico Odontológico															
Data da última consulta odontológica			mês		<input type="text"/>	ano		<input type="text"/>							
Está em tratamento Odontológico?			<input type="checkbox"/>	Period.	<input type="checkbox"/>	não		Qual Especialidade?							
<b>Hábitos de higiene oral</b>															
Escovação		<input type="checkbox"/>	até uma vez ao dia		<input type="checkbox"/>	de uma a três vezes ao dia		<input type="checkbox"/>	mais de três vezes ao dia						
Fio dental		<input type="checkbox"/>	até uma vez ao dia		<input type="checkbox"/>	de uma a três vezes ao dia		<input type="checkbox"/>	mais de três vezes ao dia						
Enxaguatório		<input type="checkbox"/>	até uma vez ao dia		<input type="checkbox"/>	de uma a três vezes ao dia		<input type="checkbox"/>	mais de três vezes ao dia						
Qual?		<input type="text"/>													
Já fez tratamento periodontal?			<input type="checkbox"/>	sim		<input type="checkbox"/>	não		<input type="checkbox"/>	RAP Supra	<input type="checkbox"/>	RAP Cirúrgica	<input type="checkbox"/>	Outra	
Gengiva sangra na escovação?			<input type="checkbox"/>	sim		<input type="checkbox"/>	não								
Apresenta tratamento endodôntico?			<input type="checkbox"/>	sim		<input type="checkbox"/>	não								
Bruxismo			<input type="checkbox"/>	sim		<input type="checkbox"/>	não								
Apertamento dental			<input type="checkbox"/>	sim		<input type="checkbox"/>	não								
Xerostomia			<input type="checkbox"/>	sim		<input type="checkbox"/>	não								
Ardência Bucal			<input type="checkbox"/>	sim		<input type="checkbox"/>	não								
<b>Índice Comunitário Periodontal das Necessidades de Tratament Dentes</b>															
17		<input type="checkbox"/>	26		<input type="checkbox"/>	36		<input type="checkbox"/>	47		<input type="checkbox"/>	Score		Critérios	
16		<input type="checkbox"/>	27		<input type="checkbox"/>	41		<input type="checkbox"/>			0		Gengiva normal		
11		<input type="checkbox"/>	37		<input type="checkbox"/>	46		<input type="checkbox"/>			1		Sangram. após sond.. S/cálculo e BP<4mm		
										2		Cálc. sentido e c/BP <4mm			
										3		Bolsa Period. com 4 a 5mm			
Número de dentes cariados		<input type="checkbox"/>								4		Bolsa Period. > 6mm			
Número de dentes perdidos		<input type="checkbox"/>													
Número de dentes restaurados		<input type="checkbox"/>													

Fig.10 Modelo de Ficha Clínica utilizada.