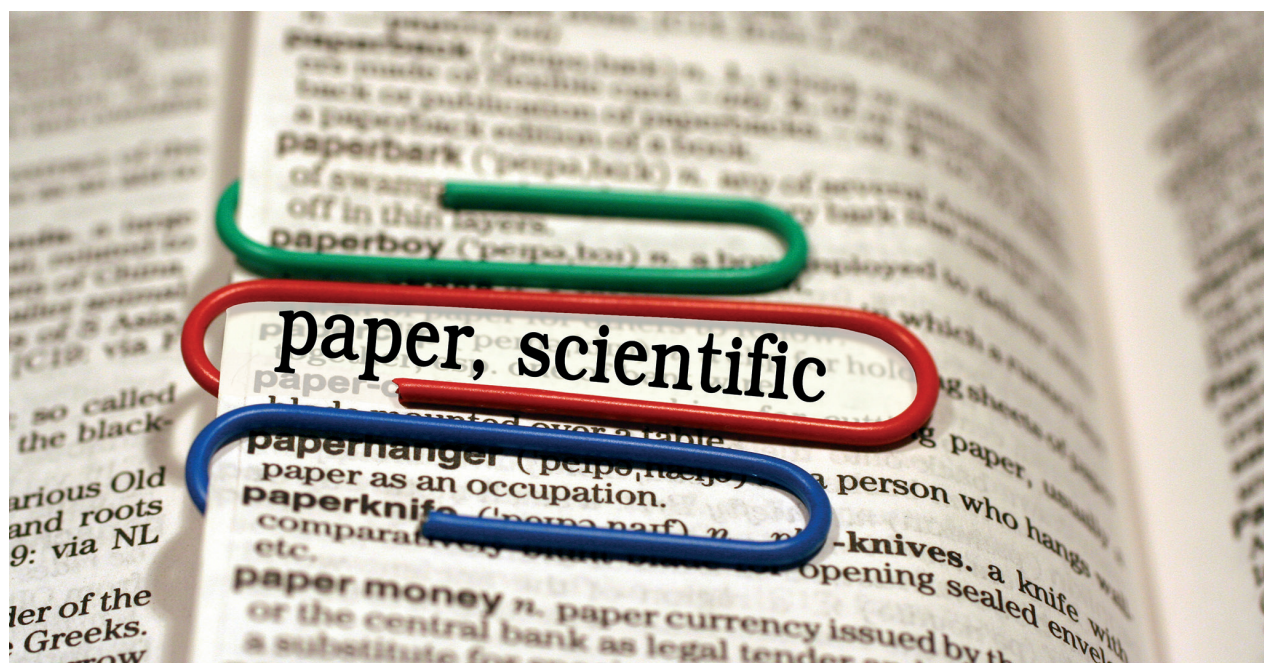


PASSO A PASSO DA PESQUISA



UMA NOVA ABORDAGEM GENÉTICA NO ESTUDO DA PERDA DE IMPLANTES



Paula Cristina Trevilatto PhD

Escola de Saúde e Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba-PR, Brasil.



Fabiano Alvim-Pereira PhD

Departamento de Odontologia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Campus Prof. Antonio Garcia Filho, Lagarto-SE, Brasil



Claudia Cristina Alvim-Pereira PhD

Departamento de Educação em Saúde, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Campus Prof. Antonio Garcia Filho, Lagarto-SE, Brasil.

Recebimento: 27/06/12 - Correção: 02/07/12 - Aceite: 08/08/12

A perda dental e a reabilitação oral na saúde bucal

A perda de dentes é um problema de saúde pública resultante das doenças mais prevalentes da Odontologia: cárie e periodontite (Pihlstrom *et al.*, 2005, Pitts *et al.*, 2011). Apesar de o edentulismo estar em decréscimo nas últimas décadas, ainda é um problema relevante no mundo

todo (Polzer *et al.*, 2010). A perda dental é um problema complexo, afetando desde crianças até idosos. Apesar de o edentulismo não levar à morte, a perda de dentes prejudica diversas estruturas orofaciais, como tecido ósseo, nervoso e muscular. Consequentemente, as funções são diminuídas em pacientes edêntulos (Polzer *et al.*, 2010). Dessa forma, a expectativa é de aumento de demanda

por reabilitação oral, para restabelecer função e estética (Felton, 2009). O desafio da Odontologia é, principalmente, melhorar o acesso e a qualidade da reabilitação oral (Tilman, 1985), porém, a pesquisa em saúde bucal ainda está sendo conduzida minimamente baseada em evidências científicas (Pang *et al.*, 2011).

Os implantes dentais osseointegráveis são considerados o tratamento de escolha para a reposição de dentes perdidos em termos estéticos e funcionais (Davarpanah *et al.*, 2002, Fugazzotto, 2005), mercado que movimentou mundialmente 6,8 bilhões de dólares em 2011 (Markets, 2012).

O tratamento com implantes dentais apresenta o maior nível de previsibilidade da Odontologia, com índice de sucesso de mais de 90%, demonstrado em estudos longitudinais (Adell *et al.*, 1990).

O processo da perda de implantes e seus impactos

Apesar da alta taxa de sucesso, a perda de implantes em números absolutos é significativa, apresentando grande impacto social e econômico (no mundo todo foi estimada impactar em mais de 237,3 milhões de dólares, em 2011, e deve superar os 369,6 milhões de dólares em 2016) para pacientes e implantodontistas. A perda de implantes osseointegráveis vem sendo extensamente estudada nos últimos anos (Esposito *et al.*, 1998a, Esposito *et al.*, 1998b), porém, ainda é pobremente compreendida. Independentemente dos fatores clínicos etiológicos associados com a perda de implantes, os eventos fisiopatológicos que fundamentam a osseointegração dependem da resposta imuno-inflamatória de cada paciente. A compreensão do processo de perda pode trazer novos *insights* sobre os mecanismos envolvidos na osseointegração (Mengatto *et al.*, 2011).

O termo osseointegração foi definido por Bränemark como o contato estrutural e funcional entre a superfície óssea e o biomaterial titânio (Branemark *et al.*, 1969, Albrektsson *et al.*, 1981). Uma significativa redução do contato implante-osso pode impactar negativamente o processo de osseointegração e levar à falha dos implantes.

A inflamação no sítio de instalação do implante é um processo crucial que objetiva a eliminação de tecido danificado e substituição por tecido viável, termo denominado regeneração. Porém, a exacerbação do processo inflamatório é diretamente relacionada ao aumento da quantidade de tecido substituído (Thomas & Puleo, 2011). A estabilidade entre o pino e o osso adjacente é um requisito fundamental para se atingir a osseointegração. A estabilidade primária é uma característica mecânica atingida durante a fase cirúrgica, que auxilia nos primeiros estágios, levando a um desfecho desejável (Szmukler-Moncler *et al.*, 1998). Dentre os eventos

pós-cirúrgicos, a estabilidade pino-osso adjacente tende a declinar, com menor valor atingido em três semanas (Han *et al.*, 2010). Após o processo de regeneração óssea se completar, a estabilidade atinge o valor máximo. Os dois principais fatores preditivos de sucesso são estabilidade e ausência de micromovimentação (Albrektsson *et al.*, 1981, Turkyilmaz *et al.*, 2009). Um processo inflamatório exacerbado pode levar a um declínio significativo da estabilidade do implante. A micromovimentação nessa fase crucial pode resultar na formação de tecido conjuntivo entre implante e osso adjacente, processo conhecido como encapsulação (Lioubavina-Hack *et al.*, 2006). Implantes dentais encapsulados não serão osseointegrados, não atingindo suficiente estabilidade e, por vezes, causando dor local. Esses implantes não podem ser utilizados como suporte da prótese dental e devem ser removidos, representando a maior causa de perda de implantes.

O próximo passo na Implantodontia moderna

O processo de perda envolve uma variedade de fatores clínicos e relacionados à resposta individual do paciente ao tratamento. Apesar de muitos estudos terem contribuído para a compreensão dos mecanismos de perda, em algumas situações, somente fatores clínicos não explicam porque alguns pacientes respondem mal ao tratamento. Somado a isso, a literatura demonstra que alguns pacientes tendem a concentrar perdas, fenômeno descrito como **clusterização** (Montes *et al.*, 2009, Montes *et al.*, 2007). A próxima meta a ser atingida pela implantodontia moderna é desenvolver ferramentas capazes de prever a resposta biológica do paciente mesmo antes da intervenção cirúrgica para a colocação de implantes.

O CÓDIGO GENÉTICO INFLUENCIA A PERDA DE IMPLANTES?

A perda de implantes é considerada um traço complexo. Traços complexos são definidos como resultantes da interação entre genes (geralmente mais de um gene: herança oligogênica ou poligênica) e fatores ambientais (Schutte & Murray, 1999). Classicamente, o primeiro passo para estudar geneticamente um traço complexo é detectar se existe um componente genético. Há diversos modos de se evidenciar a existência de um componente genético, como observar agregação familiar ou o fenômeno de clusterização, em casos em que o acesso a famílias que apresentam o traço complexo é limitado. Mesmo quando há evidência sugestiva de um componente genético, precisam ser definidos quantos e quais são os genes envolvidos na sua predisposição genética.

No caso da perda de implantes, como famílias não estão disponíveis para análise, apenas uma estratégia é plausível para a identificação desses genes: a análise de associação caso-controle. A análise de associação baseia-se no estudo de genes envolvidos na fisiopatologia do traço estudado, denominados genes candidatos (Alvim-Pereira *et al.*, 2008a). Na perda de implantes, os genes candidatos são escolhidos com base nas informações disponíveis acerca dos mecanismos moleculares envolvidos no processo da osseointegração. Variações comuns na sequência desses genes, denominadas polimorfismos, são comparadas entre casos e controles e, quando há o enriquecimento da frequência de uma dada variação genética no grupo caso, esta é dita associada ao risco ao traço. Os polimorfismos mais frequentes no genoma humano são os de troca de base única (SNP). Os SNPs preferencialmente escolhidos para análise são aqueles que modulam a quantidade ou qualidade da proteína correspondente e são ditos polimorfismos funcionais. Os polimorfismos funcionais mais comumente estudados para investigar a associação com falhas de implantes são variações em genes de mediadores da resposta imuno-inflamatória, como a interleucina-1 (IL-1), em particular os genes que codificam as citocinas pró-inflamatórias IL-1 α (*IL1A*), a IL-1 β (*IL1B*) e o antagonista do receptor da IL-1 (IL-1ra, codificada pelo gene *IL1RN*), este último atuando como mediador antiinflamatório, por competir com os receptores de ligação à IL-1 (Montes *et al.*, 2009, Dirschnabel *et al.*, 2011). Outros polimorfismos investigados são variações nos genes que codificam as metaloproteinases da matriz (MMPs), enzimas que regulam a degradação fisiológica e patológica dos componentes da matriz extracelular de tecidos periimplantares (Oum'hamed *et al.*, 2004, Takei *et al.*, 2000, Costa-Junior *et al.*, 2012), e no gene do fator de crescimento fibroblástico beta 1 (TGF- β 1, *TGFB1*) (Dos Santos *et al.*, 2004). Finalmente, polimorfismos genéticos envolvidos no metabolismo ósseo, como o gene do receptor da vitamina D (*VDR*) (Alvim-Pereira *et al.*, 2008b), o da proteína morfogenética óssea 4 (*BMP4*) (Shimpuku *et al.*, 2003) e do receptor de calcitonina (*CTR*) (Nosaka *et al.*, 2002), são investigados em estudos de associação com falhas na osseointegração e perda de implantes.

Não obstante alguns avanços proporcionados por estes estudos, o número exato e o papel destes fatores regulatórios são ainda vastamente desconhecidos (Alvim-Pereira *et al.*, 2008a). Até os dias de hoje os estudos genéticos em Implantodontia tem focado na análise de variações funcionais isoladas em genes candidatos. Com este foco, é bastante difícil atingir resultados de grande impacto, pois o genoma humano é composto de pelo menos 20.000 genes, contendo

um número de SNPs de aproximadamente 4,1 milhões (Hong *et al.*, 2012).

O próximo passo no avanço destes estudos será aumentar a abrangência genética. Isso quer dizer que a análise de polimorfismos funcionais isolados em genes candidatos, com potencial envolvimento nos mecanismos moleculares da osseointegração, não cobre a extensão completa dos genes, o que pode gerar perda de informação.

Diversos algoritmos tem sido usados para calcular o desequilíbrio de ligação (DL) entre SNPs, para a escolha de um menor número de SNPs que capturam toda a informação do gene em termos de variabilidade, garantindo um máximo de cobertura gênica. Polimorfismos-chave, que capturam a informação de outros SNPs em alto DL são denominados **tag SNPs**. Cada tag SNP representa um **bin**, isto é, uma sequência gênica ou bloco em alto DL dentro de um dado gene. Como exemplo, a figura 1 mostra os tag SNPs do gene da IL-6 (*IL6*) em uma população africana.

A abordagem de análise de tag SNPs possibilita englobar em um único estudo todos os SNPs representativos da variabilidade de um gene e que podem impactar em sua função. Assim, aumentam-se as chances de identificar marcadores genéticos de risco ou proteção a diversas doenças e traços complexos, como a perda de implantes dentais, que são influenciados pela resposta do indivíduo. Estudos baseados em tag SNPs, por cobrirem o gene todo, com um mínimo de SNPs, combinam maior abrangência com menor custo e economia de tempo e, ainda, aumentam o poder de análises estatísticas, por reduzir o número de testes.

Embora a abordagem seja promissora e possa lançar luz sobre o controle da suscetibilidade individual à falha de implantes, é importante salientar que algumas limitações estão presentes. Os tag SNPs ainda não são catalogados para todas as populações (<http://www.hapmap.org>, 2012, release 24), pela inexistência de estudos de DL em determinadas populações, o que pode acarretar erros na escolha de tag SNPs de populações semelhantes, porém, com história evolutiva (genética) particular.

Apesar das dificuldades, a motivação para continuar a aplicar as abordagens tradicionais e novas de análise genética no sentido de uma melhor compreensão dos mecanismos de falha de implantes dentais é clara. Por exemplo, estudos genéticos podem auxiliar na elucidação, não apenas da fisiopatologia da perda de implantes dentais, mas, também, em processos mais amplos, tal como a consolidação óssea. Além disso, um resultado direto de tais estudos pode ser a definição de alvos potenciais para um rastreamento eficaz de processos que auxiliem na prevenção e manutenção dos implantes dentais osseointegráveis.

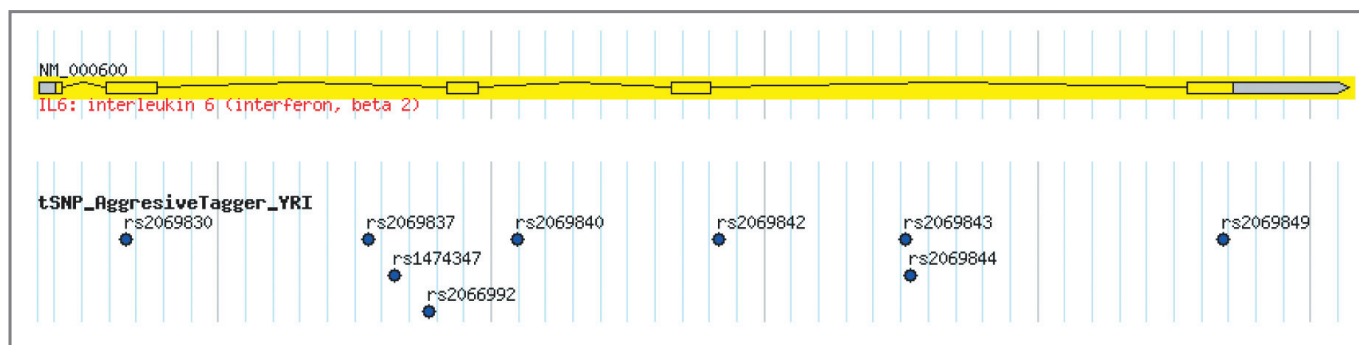


Fig. 1. Gene da IL-6 (notação em humanos, *IL6*) e os tag SNPs definidos no International HapMap Project (<http://www.hapmap.org>, 2012, release 24), que representam todo o gene, em termos de variabilidade, na população Yoruba (YRI) da Nigéria. Assim, o estudo de apenas nove polimorfismos (tag SNPs) do gene *IL6* nessa população pode capturar toda a informação gênica, com potencial impacto na modulação da suscetibilidade ou proteção a uma doença ou traço complexo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet* 2005; 366: 1809-1820.
- Pitts N, Amaechi B, Niederman R, Acevedo AM, Vianna R, Ganss C *et al.* Global oral health inequalities: dental caries task group--research agenda. *Advances in Dental Research* 2011; 23: 211-220.
- Polzer I, Schimmel M, Muller F, Biffar R. Edentulism as part of the general health problems of elderly adults. *International Dental Journal* 2010; 60: 143-155.
- Felton DA. Edentulism and comorbid factors. *J Prosthodont* 2009; 18: 88-96.
- Tilman HH. Oral rehabilitation to maintain independence. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 1985; 66: 117-118.
- Pang T, Therry RF, Editors TPm. WHO/PLoS Collection "No Health Without Research": a call for papers. *PLoS Med* 2011; 8:e1001008.
- Davarpanah M, Martinez H, Etienne D, Zabalegui I, Mattout P, Chiche F *et al.* A prospective multicenter evaluation of 1,583 3i implants: 1- to 5-year data. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2002; 17: 820-828.
- Fugazzotto PA. Success and failure rates of osseointegrated implants in function in regenerated bone for 72 to 133 months. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2005; 20: 77-83.
- Markets M. "Dental Implants & Prosthetics Market (Artificial Teeth, Dentures, Crowns & Bridges) Current Trends, Opportunities & Global Forecasts to 2016," 2012: pp. 212.
- 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: 347-359.
- 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* 1998a; 106: 527-551.
- Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (II). Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci* 1998b; 106: 721-764.
- Mengatto CM, Mussano F, Honda Y, Colwell CS, Nishimura I. Circadian rhythm and cartilage extracellular matrix genes in osseointegration: a genome-wide screening of implant failure by vitamin D deficiency. *PLoS One* 2011; 6: e15848.
- 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.
- Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthopaedica Scandinavica* 1981; 52: 155-170.
- Thomas MV, Puleo DA. Infection, Inflammation, and Bone Regeneration: a Paradoxical Relationship. *Journal Dental Research* 2011.
- Szmukler-Moncler S, Salama H, Reingewirtz Y, Dubruille JH. Timing of loading and effect of micromotion on bone-dental implant interface: review of experimental literature. *J Biomed Mater Res* 1998; 43: 192-203.
- Han J, Lulic M, Lang NP. Factors influencing resonance frequency analysis assessed by Osstell mentor during implant tissue integration: II. Implant surface modifications and implant diameter. *Clinical Oral Implants Research* 2010; 21: 605-611.
- Turkylmaz I, Sennerby L, McGlumphy EA, Tozum TF. Biomechanical aspects of primary implant stability: a human cadaver study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2009; 11: 113-119.
- Lioubavina-Hack N, Lang NP, Karring T. Significance of primary stability for osseointegration of dental implants. *Clin Oral Implants Res* 2006; 17: 244-250.
- Montes CC, Alvim-Pereira F, de Castilhos BB, Sakurai ML, Olandoski

- M, Trevilatto PC. Analysis of the association of IL1B (C+3954T) and IL1RN (intron 2) polymorphisms with dental implant loss in a Brazilian population. *Clinical Oral Implants Research* 2009; 20: 208-217.
- 22- Montes CC, Alvim-Pereira F, Thome G, Alves ED, Acedo RV, de Souza JR *et al.* Failing factors associated with osseointegrated dental implant loss. *Implant Dentistry* 2007; 16: 404-412.
- 23- Schutte BC, Murray JC. The many faces and factors of orofacial clefts. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 1853-1859.
- 24- Alvim-Pereira F, Montes CC, Mira MT, Trevilatto PC. Genetic susceptibility to dental implant failure: a critical review. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2008a; 23: 409-416.
- 25- Dirschnabel AJ, Alvim-Pereira F, Alvim-Pereira CC, Bernardino J F, Rosa EA, Trevilatto PC. Analysis of the association of IL1B(C-511T) polymorphism with dental implant loss and the clusterization phenomenon. *Clinical Oral Implants Research* 2011.
- 26- Oum'hamed Z, Garnotel R, Josset Y, Trenteseaux C, Laurent-Maquin D. Matrix metalloproteinases MMP-2, -9 and tissue inhibitors TIMP-1, -2 expression and secretion by primary human osteoblast cells in response to titanium, zirconia, and alumina ceramics. *J Biomed Mater Res A* 2004; 68: 114-122.
- 27- Takei I, Takagi M, Santavirta S, Ida H, Ishii M, Ogino T *et al.* Messenger ribonucleic acid expression of 16 matrix metalloproteinases in bone-implant interface tissues of loose artificial hip joints. *J Biomed Mater Res* 2000; 52: 613-620.
- 28- Costa-Junior FR, Alvim-Pereira CC, Alvim-Pereira F, Trevilatto PC, de Souza AP, Santos MC. Influence of MMP-8 promoter polymorphism in early osseointegrated implant failure. *Clin Oral Investig* 2012.
- 29- Dos Santos MC, Campos MI, Souza AP, Scarel-Caminaga RM, Mazzonetto R, Line SR. Analysis of the transforming growth factor-beta 1 gene promoter polymorphisms in early osseointegrated implant failure. *Implant Dent* 2004; 13: 262-269.
- 30- Alvim-Pereira F, Montes CC, Thome G, Olandoski M, Trevilatto PC. Analysis of association of clinical aspects and vitamin D receptor gene polymorphism with dental implant loss. *Clinical Oral Implants Research* 2008b; 19: 786-795.
- 31- Shimpuku H, Nosaka Y, Kawamura T, Tachi Y, Shinohara M, Ohura K. Bone morphogenetic protein-4 gene polymorphism and early marginal bone loss around endosseous implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18: 500-504.
- 32- Nosaka Y, Tachi Y, Shimpuku H, Kawamura T, Ohura K. Association of calcitonin receptor gene polymorphism with early marginal bone loss around endosseous implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17: 38-43.
- 33- Hong CB, Kim YJ, Moon S, Shin YA, Cho YS, Lee JY. KAREBrowser: SNP database of Korea Association Resource Project. *BMB Rep* 2012; 45: 47-50.

Endereço para correspondência:
Paula Cristina Trevilatto
E-mail: pctrev@yahoo.com.br