

Fabiana Maria Soares Rocha

Uso potencial de CCL2 e MIF no diagnóstico  
precoce de inflamação periimplantar em pacientes  
desdentados parciais e totais

Dissertação apresentada à Faculdade  
de Odontologia da Universidade  
Federal de Uberlândia, para obtenção  
do Título de Mestre em Clínica  
Odontológica.

Uberlândia, 2013

Fabiana Maria Soares Rocha

Uso potencial de CCL2 e MIF no diagnóstico  
precoce de inflamação periimplantar em pacientes  
desdentados parciais e totais

Dissertação apresentada à Faculdade  
de Odontologia da Universidade  
Federal de Uberlândia, para obtenção  
do Título de Mestre em Clínica  
Odontológica.

Orientador(a): Profa. Dra. Paula Dechichi

Co-Orientador(a): Profa. Dra. Camilla Cristhian Gomes Moura

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Paula Dechichi

Profª Carla Silva Siqueira

Profª Virgínia Oliveira Crema

Profa. Dra. Camilla Cristhian Gomes Moura

Uberlândia, 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

R672u    Rocha, Fabiana Maria Soares, 1988-  
2013      Uso potencial de CCL2 e MIF no diagnóstico precoce de inflama-  
            ção peri-implantar em pacientes desdentados parciais e totais / Fabia-  
            na Maria Soares Rocha. -- 2013.  
            70 f.

Orientadora: Paula Dechichi.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pro-  
grama de Pós-Graduação em Odontologia.  
Inclui bibliografia.

1. Odontologia - Teses. 2. Implantes dentários - Teses. 3. Inflama-  
ção - Teses. 4. Citocinas - Teses. 5. Saliva - Teses. I. Dechichi, Paula.  
II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação  
em Odontologia. III. Título.

---

CDU: 616.314

Dedico este trabalho à minha família, que é o bem mais precioso que tenho. Especialmente à meus pais, Gerson e Rita Nilza, pelo incentivo dado e pelo apoio incondicional, e aos meus irmãos, Flaviana e Flávio, pelo exemplo que me dão à cada dia.

## **Agradecimentos**

À **Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia**, pelo apoio constante à pesquisa, ensino e extensão.

À **CAPES**, pela concessão da bolsa de Mestrado.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG)**, pelo auxílio financeiro e financiamento deste estudo.

Aos **professores da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia**, por transmitirem o conhecimento e ampliarem meu pensamento.

À **Coordenação do Curso de Pós Graduação**, pelo apoio dado durante o mestrado.

Ao **Curso de Especialização em Implantodontia da Universidade Federal de Uberlândia e à EIKON**, por me permitirem utilizar do espaço e dos pacientes.

Aos **pacientes**, que dispuseram de tempo para participar da pesquisa.

## **Agradecimentos Especiais**

À **Deus**, por sempre iluminar os meus passos, me dando forças para que eu continuasse seguindo em frente.

Aos meus pais, **Gerson Justino Rocha e Rita Nilza Soares Rocha**, tão especiais em minha vida. Nada disso seria possível sem a presença, o apoio, carinho e amor incondicional que vocês tiveram comigo todos estes anos. Com certeza essa é mais uma vitória que compartilho com vocês. Agradecimento é pouco diante da quantidade de coisas que vocês fizeram por mim. Amo vocês!

Ao meu irmão, **Flávio Soares Rocha**, pela torcida, alegria, pelas brigas, risadas, abraços, brincadeiras. Sem você a vida não teria o mesmo gosto. Você sabe o quanto é importante pra mim, e agradeço por tornar os meus dias menos cheios de “artigos e pesquisas para fazer”.

À minha irmã, que na verdade é minha mãe na universidade, **Flaviana Soares Rocha**. Não sei nem o que dizer neste momento. Você sabe o quanto você foi, e vai continuar sendo importante em qualquer decisão que eu tomar. O meu maior espelho para chegar aonde cheguei veio de você. Ajuda foi pouco, você me deu carinho, atenção, amor, conhecimento e o mais importante de tudo: você me deu confiança. Trabalhar com você foi muito gratificante e acima de tudo, muito bom. O que sei hoje muito se deve à sua ajuda. Amo você, mesmo que sem dizer. Obrigada!

Ao **Prof. Dr. Darceny Zanetta-Barbosa**, por acreditar em mim mesmo sem me conhecer. Obrigada por me aceitar como sua orientada de iniciação, pois graças à confiança depositada em mim, me mantive na pesquisa.

À **Profª. Drª. Camilla Christian Gomes Moura**. Acho que você não chega a ser apenas minha co-orientadora. Você se tornou uma amiga, e muito especial. Estar trabalhando com você foi muito gratificante. Obrigada pelos conselhos, pelas broncas, pelo estímulo a estar sempre crescendo. Você é um

espelho para nós, “filhos adotivos seus”! Torço muito pelo seu sucesso, e espero poder retribuir toda a ajuda sem medida para o nosso crescimento.

À **Profª. Drª. Paula Dechichi**, pela ética, que é inspiradora. Trabalhar com a senhora foi um aprendizado que levo para toda a vida. O gosto pela pesquisa é um estímulo, e grande parte disso foi o que me fez optar por pesquisa durante esse tempo. Obrigada por estar sempre aberta a ouvir, e principalmente, a motivar.

À **Profª. Drª Carla Silva Siqueira**. Nem sei como agradecer pela ajuda dada nestes últimos dias. É muito bom ver o seu crescimento e saber que hoje você transmite conhecimento. Obrigada pela amizade, pela paciência, pelas risadas, e pela calma que você me transmitiu neste término de mestrado. Espero poder retribuir toda ajuda e amizade depositada em mim.

À **Profª. Drª. Maria Aparecida Souza**, pela disponibilidade sempre que necessário. Gostaria de ter a capacidade de raciocinar que a senhora tem. Agradeço por me permitir aprender um pouco com a senhora. Sua ajuda, motivação e educação são coisas que levarei pra sempre comigo.

À **Profª. Drª Virgínia Oliveira Crema**, pelas palavras e contribuição dada a trabalhos anteriores. Com certeza nos permitem crescer e estimulam a aprimorar novas pesquisas. Agradeço sua disponibilidade em estar na minha banca de defesa.

Ao **Dr. Gustavo Rabelo**, pela disponibilidade e amizade sem medidas. Agradeço por estar na minha banca de qualificação, e mais que isso, agradeço por incentivar na busca pelo conhecimento. Você é uma motivação para querer continuar crescendo.

Aos meus **familiares e cunhada**, agradeço por entenderem as ausências, e principalmente pelo apoio e incentivo a continuar, mesmo que a compreensão do que estava executando não existisse. Sempre havia sorrisos e muita motivação para concretizar este desejo.

Às minhas amigas de longa data, **Marcella, Gabriela e Maria Gabriela**. Vocês também fazem parte dessa conquista. Agradeço demais por ter vocês como amigas, mesmo que na distância. Os encontros e as conversas jogadas fora sobre “nada” foram suficientes para tornar os meus dias mais suaves. Obrigada por escutarem minhas angústias, alegrias e raivas, e por fazerem o meu mestrado mais divertido.

Aos meus amigos e irmãos de coração, **Danilo, Éverton e Mário**. Como imaginar que uma viagem me faria ficar tão amiga de vocês! Ensinar sobre melissas, apelidar de babuínos, e sacanear o “brotinho” foi muito bom! Agradeço pelos momentos que tivemos, pelas festas, conversas, conselhos. Por me fazerem rir quando estava desabando; enfim, por me permitirem ser parte do ciclo de amizades de vocês. O quanto amo vocês não cabe nesta dissertação. A saudade existe de cada um, mas o sentimento que tenho por vocês não tem tamanho.

Às amigas do laboratório, **Manuella, Aline e Fabiane Maria**. Puxa vida, quem mais me viu de formas variadas! A confiança que sinto por vocês é muito grande, vocês são amigas que construí em um ambiente muito agitado. Passar por momentos difíceis, escutar o que cada uma tinha para falar, rir muito e pesquisar foi um crescimento com vocês ao meu lado. Agradeço por tudo que passamos juntas. Com a nossa união conseguimos vencer todos os obstáculos.

Ao meu querido amigo **Fabício**. Sem palavras para explicar o que você significa para mim Fafá! Muito obrigada por ser verdadeiro comigo, por cuidar de mim em momentos muito difíceis da minha vida em que parecia que nada valia a pena. Você foi o responsável por me levantar e me fazer seguir em frente e isso não tem preço. Espero manter a amizade construída nestes anos, desde minha graduação. Obrigada!

Aos amigos do mestrado, doutorado e pós- doutorado, **Ana Luisa, Giovana, Marcel, Luisa, Maiolino, Thiago, Rayssa, Cristiane, Aline, Crisnicaw, Andrea, Karla Zancopé, Marina, Kellen, Keller, Hanny, Marcos,**



**Patrícia, Laís, Luiz Fernando, Roberta, Juliana, Letícia Davi, Michelle, Rodrigo Dantas, Bruno.** Cada um sabe o valor que tem para mim. Ter tido a oportunidade de conviver dois anos com vocês foi mágico. Uma experiência que levo para toda vida. Obrigada por me permitirem conhecer um pouco mais de cada um de vocês e descobrir o quanto são especiais.

Aos orientados de iniciação científica, **Rainde, Huberth, Jéssica, Luisa e Tiago.** Acho que vocês são os meus filhotes do laboratório, e cuidar para que vocês tenham sucesso sempre é o que mais quero. Muito obrigada por permitir que eu pudesse passar um pouco do que sei a vocês. E mais ainda, por estarem comigo me fortalecendo nesta jornada, que não foi fácil. Espero que tenha contribuído para o crescimento de cada um, e sempre que precisarem, contem comigo.

Aos demais alunos de iniciação científica, **Larissa, Letícia, Camila, Pâmella, Gabriel, Beatriz, Silvana, Leandro, Mariana e Fernanda.** Agradeço pela oportunidade de poder partilhar um pouco do que aprendi com vocês. Obrigada por “quebrarem meu galho” algumas vezes, com certeza significou muito para mim.

Ao **Prof. Dr. Jonas Dantas Batista**, por me ensinar que a pesquisa é, além de um trabalho metódico, um ato que deve ser feito em equipe. Agradeço por me permitir adquirir conhecimento de outros temas da pesquisa que antes não teria tido oportunidade de ver. Obrigada pela amizade, e por usar as palavras certas e nas horas certas.

Aos colegas do **Laboratório de Histologia**, pela ajuda durante a parte experimental do projeto.

À **Flaviane, Irene, Maria das Graças e Aline**, pela colaboração sem medidas, dedicação e disposição em atender, sempre da melhor forma possível, às nossas necessidades.

Meus agradecimentos a todos que, de alguma forma, auxiliaram na concretização deste projeto.

## **Sumário**

<b>Lista de abreviatura e Símbolos</b>	<b>1</b>
<b>Resumo</b>	<b>2</b>
<b>Abstract</b>	<b>3</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>4</b>
<b>2. Revisão de Literatura</b>	<b>7</b>
2.1. Implantodontia	8
2.2. Osseointegração	8
2.3. Tecido periodontal	10
2.4. Mucosa peri-implantar	10
2.5. Doença peri-implantar	11
2.6. Diagnóstico precoce	13
2.7. Saliva	14
2.8. Chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) ou Proteína quimiotática de monócitos-1(MCP-1)	15
2.9. Fator Inibitório de Migração de Macrófagos (MIF)	17
<b>3. Proposição</b>	<b>19</b>
<b>4. Materiais e Métodos</b>	<b>21</b>
4.1 Seleção dos pacientes	22
4.2 Procedimentos clínicos	23
4.2.1 Índice de Placa	23
4.2.2 Sangramento à sondagem	24
4.2.3 Sondagem do sulco periimplantar	24
4.2.4 Exame radiográfico	24
4.2.5 Coleta de saliva	25
4.2.6 Classificação dos pacientes	25
4.3 Procedimentos laboratoriais	26
4.3.1 Dosagem das citocinas	26
4.4 Análise estatística	29
<b>4. Resultados</b>	<b>30</b>

5.1 Análise dos dados clínicos e epidemiológicos	31
5.2 Níveis de citocinas na saliva dos pacientes	34
5.3 Correlação entre parâmetro clínico e citocinas	36
<b>5. Discussão</b>	<b>38</b>
<b>6. Conclusão</b>	<b>46</b>
<b>Referências</b>	<b>48</b>
<b>Anexos</b>	<b>57</b>

## **Lista de Abreviaturas e Símbolos**

MIF	- Fator Inibitório da Migração de Macrófagos
CCL2	- Quimiocina (C-C Motif) Ligante 2
MCP-1	- Proteína Quimiotática para Monócitos
Ig	- Imunoglobulina
LPS	- Lipopolissacarídeo
mIP	- Índice de Placa Modificado
PPPD	- Profundidade de sondagem periodontal
IPPD	- Profundidade de sondagem periimplantar
BOP	- Sangramento à sondagem
V	- Vestibular
L	- Lingual
D	- Distal
M	- Mesial
rpm	- Rotação por Minuto
PBS	- Tampão Fosfato Salino
TMB	- Tetrametilbenzina
M	- Molar
L	- Litro
N	- Normal
nm	- Nanômetro
pg	- Picograma
®	- Marca Registrada
<	- Menor
p	- Probabilidade
TNF	- Fator de Necrose Tumoral
ELISA	- Ensaio imunoenzimático
r	- Coeficiente de correlação

## Resumo

Diversos parâmetros clínicos são rotineiramente utilizados para avaliar a saúde periimplantar. Porém estes parâmetros não analisam estágios iniciais, o que justifica a implementação de métodos complementares na avaliação clínica. O objetivo deste estudo foi investigar a relação entre os níveis de dois mediadores pró-inflamatórios da saliva (CCL2 - / Fator Inibitório da Migração de Macrófagos – MIF) e a inflamação peri-implantar. Dez pacientes periodontalmente saudáveis (Grupo I), dez desdentados parciais reabilitados com implante (Grupo II) e dez desdentados totais reabilitados com overdentures inferiores e prótese total superior (Grupo III) foram incluídos neste estudo. Os pacientes foram classificados em subgrupos com mucosite de acordo com os parâmetros profundidade de sondagem, sangramento à sondagem e índice de placa. A saliva foi coletada de forma não estimulada e os níveis de CCL2 e MIF foram determinados por ensaio imunoenzimático (ELISA). Os valores obtidos foram analisados por testes estatísticos de ANOVA, Quiquadrado e teste de correlação de Spearman, com nível de significância de 5%. O parâmetro profundidade de sondagem apresentou diferença estatística entre todos os grupos ( $p < 0,05$ ). Os grupos II e III obtiveram diferença estatística quanto ao índice de placa ( $p < 0,0001$ ). O parâmetro clínico sangramento à sondagem não apresentou diferença estatística entre os grupos analisados. Os valores médios de CCL2 foram estatisticamente maiores no grupo II quando comparado aos grupos I e III ( $p < 0,05$ ). Houve correlação positiva entre os níveis de CCL2 e o parâmetro profundidade de sondagem ( $r = 0,4462$ ). É possível concluir que os níveis de CCL2 e MIF salivares apresentam uma correlação positiva com a inflamação peri-implantar, especialmente em desdentados totais. Caso haja persistência do processo inflamatório, é possível que ocorra elevação dos níveis dos mediadores avaliados e conseqüente perda do implante.

**Palavras-chave:** implantes dentários, inflamação, mucosite, citocinas, saliva

## **Abstract**

Several clinical parameters are routinely used to assess the periimplantar health. But these parameters do not analyze the initial stages, which justifies the introduction of complementary methods in clinical evaluation. The aim of this study was to investigate the relationship between salivary levels of two proinflammatory mediators in saliva (Monocytes Chemoattractant Protein 1 – MCP-1 and Macrophage Migration Inhibitory Factor – MIF) and peri-implant inflammation. Ten periodontally healthy patients (Group I), ten partial edentulous patients with implants (Group II) and ten total edentulous patients rehabilitated with maxilla dentures and mandible overdentures (Group III) were included. Patients were classified into subgroups with mucositis according to criteria of probing depth, bleeding on probing and plaque index. Saliva was collected without stimulation and the levels of CCL2 and MIF were determined by enzyme immunoassay (ELISA). The values obtained were analyzed by ANOVA, Chi-square test and Spearman correlation, with 5% of significance level. Probing depth showed significant differences among all the evaluated groups ( $p < 0.05$ ). Group II and Group III had significant difference in the modified plaque index score ( $p < 0.0001$ ). Bleeding on probing showed no statistical difference between the groups. Mean levels of CCL2 were significantly higher in Group II when compared to Group I and Group III ( $p < 0.05$ ). MIF levels were significantly lower in samples of Group II when compared to Group I and Group III ( $p < 0.05$ ). Probing depth in Group III showed significant positive correlation with the levels of CCL2 and probing depth ( $r = 0.4462$ ). Levels of CCL2 and MIF in saliva have a positive correlation with peri-implant inflammation, especially in edentulous patients. The persistence of the inflammatory process can raise levels of mediators and consequently lead to loss of the implant.

**Key words:** dental implants; inflammation; mucositis; cytokines; saliva

## ***1. Introdução***

## 1. Introdução

A implantodontia representa um grande avanço na área médica e odontológica, apresentando altas taxas de sucesso em pacientes acometidos por perdas dentais, possibilitando um aumento da qualidade de vida e auto-estima. O sucesso dos implantes de titânio, quando adequadamente empregados, é elevado, porém as perdas, tanto precoces como tardias, ainda existem (Liskmann *et al.*, 2004).

Entre as principais causas de perda precoce dos implantes temos fatores relacionados ao excesso de carga oclusal, presença de fatores sistêmicos, bem como o próprio procedimento cirúrgico. Já as perdas tardias de implantes estão relacionadas com a presença de um fator etiológico e o excesso ou não de carga mastigatória (Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003B; Watzek, 2004; Degidi *et al.*, 2006). O tabagismo também tem sido apontado como um dos possíveis responsáveis pelo fracasso de implantes (Watzek, 2004).

As características clínicas que evidenciam sucesso de um implante dentário incluem: ausência de mobilidade, dor ou desconforto, ausência de sangramento e aparência saudável dos tecidos peri-implantares (Watzek, 2004). Para avaliar os diversos sistemas de implantes em função, avaliações clínicas e radiográficas são rotineiramente utilizadas (Tozum *et al.*, 2008). No entanto, esses critérios de avaliação não permitem detectar alterações iniciais nos sítios peri-implantares clínicos (Mombelli & Lang, 1994).

No entanto, o cirurgião dentista não pode abrir mão da avaliação clínica durante o acompanhamento longitudinal dos implantes. Esta avaliação



deve ser associada a métodos de diagnóstico complementar, que permitissem detectar uma inflamação antes que esta seja clinicamente visível (Liskmann *et al.*, 2004).

Alguns estudos têm verificado, por meio de diversos métodos, modificações na composição da saliva (Kaufman & Lamster, 2000; Gomes *et al.*, 2006; Liskmann *et al.*, 2006) e do fluido sulcular (Griffiths, 2003; Loos & Tjoa, 2005; Tozum *et al.*, 2005) de indivíduos com periodontite e periimplantite. Estes métodos, já estudados na doença periodontal, possibilitam a identificação de marcadores biológicos (Murata *et al.*, 2002; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003B, Gurkan *et al.*, 2006) que podem auxiliar no diagnóstico precoce de processos inflamatórios em implantes devido à semelhança entre os microambientes periodontal e peri-implantar (Yalçin *et al.*, 2005). O objetivo deste estudo foi avaliar alguns marcadores na saliva que possam indicar alterações precoces periimplantares.

## **2. Revisão de Literatura**

## **2. Revisão de literatura**

### **2.1 Implantodontia**

Desde os primórdios da civilização, descobertas demonstram a preocupação do homem em repor dentes perdidos por meio de diferentes materiais. Até meados do século passado, várias técnicas e sistemas de implantes eram utilizados, embora com baixos índices de sucesso, razão pela qual foram abandonados. Na década de 60, foi introduzido por Branemark, um novo conceito na implantodontia, a osseointegração, que representa a ancoragem direta do implante no tecido ósseo, sem haver interposição de tecido mole (Lindhe & Berglundh, 2010).

Vários fatores podem influenciar no grau de incorporação do osso ao redor do implante, como a resposta tecidual, a biocompatibilidade do material, características da superfície do implante e seu desenho, a técnica cirúrgica, qualidade da prótese e a incidência de cargas, bem como a qualidade do leito cirúrgico. Portanto, em função desses fatores, apenas a evidência da osseointegração inicial não é suficiente para garantir sucesso da terapia com implantes (Liskmann *et al.*, 2004; Coelho *et al.*, 2009).

### **2.2 Osseointegração**

O advento da osseointegração na implantodontia proporcionou ao desdentado total ou parcial a possibilidade de reabilitação estética e funcional de forma eficaz e segura. Entretanto, a utilização desta tecnologia de maneira precisa e previsível exige da equipe profissional um diagnóstico correto e um planejamento detalhado (Lindhe & Berglundh, 2010). Além disto, é necessário

conhecer as etapas biológicas do processo de reparo nas reabilitações com implantes.

Osseointegração é a união estável e funcional entre o osso e uma superfície de titânio. Esta envolve a ancoragem de um implante pela formação de tecido ósseo ao seu redor sem crescimento de tecido fibroso na interface osso-implante (Amarante & Lima, 2001).

No procedimento cirúrgico para instalação dos implantes ocorre lesão do tecido ósseo e a resposta inicial consiste em uma reação inflamatória que se desenvolve devido ao trauma cirúrgico local (Davies, 2003), além de rompimento de vasos sanguíneos e consequente sangramento (Davies, 2003; Franchie, 2005). Estas células sanguíneas sofrem coagulação e formam uma rede de fibrina que se aloja ao redor do implante criando uma situação favorável para que os osteoblastos (células formadores de osso) colonizem a superfície do implante tornando-o imóvel (De Marco *et al.*, 2005). A proliferação fibroblástica, com consequente formação de cicatriz são as características mais comuns de todo o processo reparador. Este período de reparo das estruturas ao redor do implante está relacionado com a quantidade do tecido ósseo formado ao redor deste implante, e o aumento da resistência ao torque (Sennerby *et al.*, 1993).

Independente do processo pelo qual o tecido ósseo é formado ocorrerá diferenciação de células osteogênicas. Existem evidências de que citocinas exerçam funções diferentes sobre as células osteogênicas de acordo com seu estágio de diferenciação (Kim *et al.*, 2011; Madeira *et al.*, 2011).

## **2.3 Tecido periodontal**

O periodonto é um complexo formado por estruturas cuja principal função é inserir o dente no tecido ósseo dos maxilares e manter a integridade da superfície da mucosa mastigatória, que está sujeito a alterações morfológicas relacionadas a modificações funcionais no meio bucal (Katchburian & Arana, 2004).

Funcionalmente, as estruturas periodontais são divididas em periodonto de sustentação e de proteção, sendo o primeiro formado pelas estruturas responsáveis pela ancoragem do dente ao alvéolo, e o segundo a parte da mucosa bucal constituída pela gengiva marginal (Katchburian & Arana, 2004).

A principal função do periodonto de proteção é promover a adesão entre mucosa oral e superfície dental. Desta forma, constitui uma barreira biológica à medida que promove o vedamento do meio externo com o meio interno, protegendo não só as estruturas do periodonto de sustentação como também as demais estruturas internas (Katchburian & Arana, 2004; Ferraris & Muñoz, 2006).

## **2.4 Mucosa periimplantar**

A mucosa periimplantar possui a função de proteção, atuando como barreira biológica e promovendo vedamento entre meio externo e interno. É composta por uma lâmina própria rica em fibras colágenas e muito densa, sendo coberta por um epitélio oral delgado estratificado e pavimentoso (Lindhe & Berglundh, 1998).

Da mesma forma que no periodonto de proteção, o epitélio da mucosa periimplantar possui uma face que é voltada para o meio externo, composta por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado. Internamente, apresenta uma junção implante-epitélio, na qual a mucosa está aderida à superfície do implante por epitélio semelhante ao epitélio juncional (Lindhe & Berglundh, 1998).

Quanto à composição do tecido conjuntivo a mucosa periimplantar apresenta diferenças tanto na disposição de fibras colágenas, quanto na vascularização e densidade deste tecido. Nota-se a presença de um tecido conjuntivo, rico em fibras colágenas, dispostas paralelamente à superfície do implante. A ausência de cemento radicular impede a inserção destas fibras na parede do implante. Desta maneira, a adesão entre mucosa periimplantar e superfície do implante é mais frágil que a adesão dente e gengiva (Lindhe & Berglundh, 2010).

Da mesma forma, a vascularização se torna reduzida, pois há ausência de ligamento periodontal contornando o corpo do implante e, conseqüentemente, ausência de plexo sanguíneo proveniente desta região. Assim, a vascularização é garantida apenas pelo vaso sanguíneo suprapariosteal, que está localizado externamente ao processo alveolar (Lindhe & Berglundh, 2010).

## **2.5 Doença periimplantar**

A doença periimplantar é um termo genérico relacionado às reações infecciosas que ocorrem nos tecidos que circundam os implantes em função.

Estas reações resultam em processo inflamatório, com posterior perda óssea. O quadro denominado mucosite periimplantar é caracterizado por um processo inflamatório inicial, reversível. A mucosite é um evento restrito aos tecidos moles que circundam o implante (Yalçin *et al.*, 2005).

No entanto, na persistência do agente agressor, esse processo pode evoluir rapidamente para uma inflamação severa e não reversível, denominada periimplantite. Este estágio é caracterizado pela destruição do osso de suporte e dos tecidos moles adjacentes, que pode levar a um comprometimento do implante devido à perda de ancoragem óssea (Weber & Cochran 1998; Kivela-Rajamki *et al.*, 2003a, Lindhe & Berglundh, 2010).

Ao realizar uma análise do mecanismo patogênico das doenças periimplantares, Martelli e colaboradores (2004) observaram uma semelhança nos mecanismos responsáveis pela instalação da doença periodontal e a doença peri-implantar. Foi observado, ainda, uma progressão mais rápida da doença nas periimplantites, justificada pela ausência de cemento radicular, associado à influência das características da superfície dos implantes, o que impede a inserção das fibras colágenas na parede do implante.

De maneira geral, pode-se dizer que o sulco periimplantar, que é semelhante ao sulco gengival, atua como nicho propício para a colonização e o crescimento de microrganismos orais (Liskmann *et al.*, 2006). Desta forma, o acúmulo de placa na superfície dos implantes e no sulco periimplantar pode levar ao comprometimento do epitélio e aumento no infiltrado inflamatório do tecido conjuntivo. Caso haja progressão da doença, pode haver

comprometimento total da osseointegração e perda do implante (Misch, 2009; Lindhe & Berglundh, 2010).

## **2.6 Diagnóstico precoce**

Para garantir a saúde ao redor dos implantes devem ser estabelecidos protocolos de controle periódico realizado tanto pelo paciente como pelo cirurgião dentista (Misch, 2009). Pacientes portadores de próteses totais tipo Protocolo de Branemark ou Overdentures devem ser motivados quanto à higienização, evitando a instalação de uma mucosite. Os parâmetros clínicos utilizados para avaliação periimplantar são comuns aos utilizados nas avaliações periodontais. No entanto, no caso dos implantes, as avaliações das condições das próteses são muitas vezes negligenciadas (Dinato & Polido, 2001).

Um dos critérios utilizados para avaliação clínica dos tecidos periodontais é a profundidade de sondagem. No entanto, nos tecidos periimplantares, devido à inserção das fibras colágenas paralelamente à superfície do implante, este parâmetro foi bastante discutido quanto à sua relevância (Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b). O exame radiográfico é utilizado para determinar a condição de saúde dos implantes, porém só permite avaliar a perda óssea quando essa já se encontra em níveis elevados, e praticamente irreversíveis (Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003a). Essas limitações dos exames disponíveis dificultam a detecção precoce de alterações periimplantares. Assim, associação de métodos de diagnóstico complementar é importante, pois



permitem detectar uma inflamação antes que esta seja clinicamente visível (Liskmann *et al.*, 2004).

Os novos parâmetros pesquisados no estudo das doenças periimplantares baseiam-se em marcadores biológicos presentes na saliva e no fluido crevicular, os quais tem sido bastante pesquisados nas doenças periodontais (Ataoglu *et al.*, 2002; Yalçin *et al.*, 2005; Tözüm *et al.*, 2007).

Vários autores têm investigado citocinas inflamatórias salivares como auxiliares no diagnóstico de doenças com manifestação na cavidade oral (Boras, 2006; Rhodus *et al.*, 2006, Rocha *et al.*, 2012). No entanto, até o presente momento, existem poucos estudos relacionando a dosagem e expressão de citocinas (Liskmann *et al.* 2006) e quimiocinas na saliva com o monitoramento da saúde periimplantar.

## **2.7 Saliva**

A saliva é produzida pelas glândulas salivares e possui a função de manter a umidade na cavidade oral. É composta por 99% de água, além de eletrólitos, aminoácidos, enzimas, fatores de crescimento, imunoglobulinas e citocinas secretadas pelas células do epitélio oral ou originadas do fluido gengival, juntamente com células de defesa (leucócitos). Estão presentes ainda células descamadas do epitélio bucal, bem como microrganismos e seus produtos (Katchburian & Arana, 2004; Walker, 2004; Ferraris & Muñoz, 2006). Estes componentes salivares parecem agir de forma sinérgica na proteção e defesa contra a doença periodontal, embora fatores locais e sistêmicos possam influenciar na progressão das periodontites (Ozmeric, 2004).

A saliva também possui capacidade de tamponar o meio, atribuída ao bicarbonato e aos íons fosfato, que neutralizam a acidez da saliva e mantêm um pH inadequado para colonização de microrganismos (Katchburian & Arana, 2004; Ten Cate, 2001).

Este líquido desempenha um importante papel protetor na cavidade oral, estando relacionada à imunidade da mucosa, dentes e seus tecidos de sustentação (Walker, 2004). Dentre as funções básicas da saliva estão as de proteção, digestão, gustação e ação antimicrobiana, bem como manutenção de um equilíbrio hídrico e integridade dos dentes. Além disto, a saliva é um fluido obtido facilmente através de método não invasivo, facilitando sua coleta para estudos (Liskmann *et al.*, 2006).

Estudos recentes analisaram ferramentas de diagnóstico complementar baseados nos componentes salivares (Liskmann *et al.*, 2006; Rocha *et al.*, 2012). A dosagem destes parece ser um modelo interessante de avaliação da condição periimplantar através de um método de coleta simples e não invasivo. Associado a isto, a saliva é um componente relativamente abundante quando comparado ao fluido sulcular (Heitz-Mayfield, 2008).

## **2.8 Chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) ou Proteína quimiotática de monócitos-1(MCP-1)**

Na presença de um agente microbiano, diversos estímulos são liberados para iniciar uma resposta inflamatória. Estes estímulos induzem células precursoras do processo inflamatório, como macrófagos, linfócitos, fibroblastos e células endoteliais, à sintetizarem um largo espectro de citocinas.

As citocinas apresentam um potencial pró-inflamatório e, quando expressas, podem estimular outras citocinas, recrutar novas células para o local de interesse ou secretarem citocinas com potencial quimiotático. Este potencial quimiotático é o que caracteriza o que chamamos de quimiocina (Kurtis *et al.*, 2005).

As quimiocinas são uma família de proteínas, que se subdividem em duas subfamílias: CXC, que geralmente atrem e ativam neutrófilos; e CC, que usualmente são quimioatraentes tanto para monócitos, como para células T. A MCP-1 (Proteína quimiotática de monócitos-1), atualmente conhecido como CCL2 (Chemokine (C-C motif) ligand 2), está incluído neste segundo grupo (Kurtis *et al.*, 2005).

A MCP-1 é uma quimiocina potente que estimula a quimiotaxia de monócitos e parece ser expressa em várias doenças inflamatórias crônicas (Pradeep *et al.*, 2009). É essencial na mediação da migração seletiva e recrutamento de monócitos para a área com a inflamação. No periodonto inflamado, é sintetizada pelas células endoteliais e fagócitos, e está presente em níveis mais elevados em pacientes com periodontite crônica severa em comparação com indivíduos saudáveis (Pradeep *et al.*, 2009). Estudo realizado por Sakamoto e colaboradores (2003) observou que os níveis elevados de CCL2 na presença de periodontite não é um evento característico. Foi proposto que pode haver redução significativa na presença de *P.gingivalis* na placa dental, que inibe a expressão desta quimiocina (Sakamoto *et al.*, 2003).

Alguns autores também sugerem que a MCP-1 pode atuar sinergicamente com outros mediadores inflamatórios, como TNF- $\alpha$ . Este mediador determina a intensidade da resposta inflamatória e, conseqüentemente, a destruição do tecido (El-Awady *et al.*, 2010). A importância da MCP-1 na inflamação gengival é devido a maioria dos fagócitos mononucleares na gengiva inflamada expressar CCL2, e esta expressão estar altamente correlacionada com o grau de inflamação gengival presente. Além de CCL2 ser um dos principais monócitos com ação quimioatraente presentes no fluido crevicular gengival (Graves *et al.*, 1995).

## **2.9 Fator Inibitório de Migração de Macrófagos (MIF)**

O Fator Inibitório de Migração de Macrófagos (MIF) foi inicialmente definido como um composto responsável pela inibição aleatória da migração de macrófagos durante a resposta tardia de hipersensibilidade (Madeira *et al.*, 2011). Atualmente, MIF é conhecido por ser uma citocina pró-inflamatória envolvida com macrófagos, ativação de células T, síntese de IgE, liberação de insulina, metabolismo de hidratos de carbono, crescimento celular e apoptose, e angiogênese tumoral (Senter *et al.*, 2002). O seu papel como um mediador inflamatório tem sido implicado em diversas doenças, entre elas, choque séptico, glomerulonefrite e artrite (Kim *et al.*, 2011).

MIF desempenha um papel essencial na resposta do organismo à inflamação. Depois de qualquer penetração de agentes microbianos, a primeira linha de defesa é estimulada, e uma reação inflamatória é induzida, liberando citocinas (incluindo MIF) e quimiocinas por macrófagos teciduais. bem como

produtos de bactérias (tais como proteínas ou hidratos de carbono, como LPS (lipopolissacarídeo) (Kim *et al.*, 2011).

A expressão de MIF é feita de forma constitutiva no organismo por células imunes, endócrinas e epiteliais, em contato com o meio externo. Os produtos microbianos e outras citocinas pró-inflamatórias induzem a liberação de MIF pré- formada (Calandra e Roger, 2003).

### ***3. Proposição***

### **3. Proposição**

- Analisar os parâmetros clínicos de índice de placa, sangramento à sondagem e profundidade de sondagem relativos à cada implante.
- Determinar os níveis de CCL2 e MIF na saliva, em pacientes dentados, parcialmente edêntulos e totalmente edêntulos;
- Verificar a relação entre os níveis salivares dos mediadores pró- inflamatórios CCL2 e MIF e os parâmetros de análise da inflamação peri-implantar.

## **4. Materiais e Métodos**



## **4. Materiais e métodos**

### **4.1 Seleção dos pacientes**

Foram previamente selecionados indivíduos adultos, desdentados totais e parciais que receberam implantes dentais na clínica de Especialização em Implantodontia da Universidade Federal de Uberlândia. Dentre estes, foram selecionados aqueles sistemicamente saudáveis (sem registro de complicações sistêmicas como diabetes e outras doenças auto-imunes), que não fizessem uso de tabaco, medicamentos ou que fossem lactantes. Foram selecionados pacientes de ambos os sexos que já concluíram o tratamento (instalação dos implantes e próteses), com faixa etária entre 25 e 65 anos. Além destes, foram convidados alunos do curso de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, sistemicamente saudáveis, também de ambos os sexos, com faixa etária entre 20 e 24 anos, que não apresentavam histórico de cárie ou doença periodontal. Estes indivíduos foram convidados a comparecerem a uma consulta-controle, cientes de que tratava-se de uma pesquisa. Todos os procedimentos foram previamente autorizados pelo comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos (217/08). Participaram deste estudo 30 pacientes, sendo:

Grupo I (controle) - dez pacientes dentados e que não apresentavam nenhum histórico de cárie ou doença periodontal;

Grupo II (desdentados parciais) - dez pacientes desdentados parciais com pelo menos um implante já instalado e com prótese em função por no mínimo seis meses.

Grupo III (desdentados totais) - dez pacientes desdentados totais, que apresentavam implantes unidos por barra e prótese tipo overdenture na mandíbula, e prótese total na maxila, sendo ambas as próteses em função por no mínimo seis meses.

## **4.2 Procedimentos clínicos**

Foram, inicialmente, coletados dados referentes à identificação dos pacientes, e uma anamnese sobre a condição sistêmica destes indivíduos foi realizada. Após este procedimento, foi preenchida uma nova ficha clínica para avaliação dos parâmetros: índice de placa (mIP), profundidade de sondagem (PPPD) e sangramento à sondagem (BOP). O exame clínico foi feito em 4 sítios periimplantares, sendo eles vestibular (V), lingual (L), mesial (M) e distal (D). Para padronização, apenas um operador calibrado realizou as avaliações e registrava os dados em uma ficha confeccionada para este estudo (anexo).

A pós a coleta destes dados, foi solicitada a deposição não estimulada, em tubo tipo salivete, de aproximadamente 4 ml de saliva.

### **4.2.1 Índice de Placa**

O parâmetro índice de placa foi avaliado pelo método de Mombelli et al. (1987), sendo atribuídos os seguintes escores para cada critério:

Score 0: não detecção de placa bacteriana

Score 1: detecção de placa apenas com uso de sonda

Score 2: detecção de placa a olho nu

Score 3: placa em abundância

#### **4.2.2 Sangramento à sondagem**

Foi avaliado o parâmetro sangramento à sondagem, no qual uma sonda milimetrada estéril (Golgran/Brasil, São Paulo, SP, Brasil) era introduzida paralelamente ao longo eixo do implante de maneira suave, até que se encontrasse leve resistência. Escores eram atribuídos a cada sítio periimplantar, sendo:

Escore 0: ausência de sangramento

Escore 1: presença de sangramento

#### **4.2.3 Sondagem do sulco periimplantar**

As profundidades de sondagem periimplantar foram obtidas com o uso de uma sonda milimetrada estéril (Golgran/Brasil, São Paulo, SP, Brasil), que era introduzida paralelamente ao longo eixo do implante de maneira suave, até que se encontrasse leve resistência. Foi tomado o cuidado necessário para não agredir a região, e obteve-se 4 medidas em milímetros (mm): vestibular, lingual, mesial, distal.

#### **4.2.4 Exame radiográfico**

Foram obtidas tomadas radiográficas, de caráter complementar, da região de cada implante, padronizadas pela técnica do paralelismo ou cone longo, e com uso de posicionadores de filme radiográfico. O propósito de se obter estes exames radiográficos era avaliar a presença de perda óssea, ou

lesões nas regiões onde se localizavam os implantes. É importante ressaltar que estes exames radiográficos não foram utilizados para classificação dos pacientes do presente estudo.

#### **4.2.5 Coleta de saliva**

As amostras de saliva foram coletadas, de forma não estimulada com o auxílio de um tubo plástico Salivette® (Sarstedt, Newton, North Carolina, USA), não reutilizável. Neste tubo havia um rolo de algodão estéril, que era posicionado no assoalho de boca e mantido em posição até o término da avaliação clínica. Após este período, o rolo de algodão era removido e reposicionado no tubo Salivette®, sendo então mantido em gelo até seu processamento.

As células e sedimentos foram separados da porção solúvel por centrifugação (centrífuga mod243, série GV6618/São Paulo, Brasil) a 10.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado, distribuído em alíquotas de 1ml e congelado à -20°C para posterior dosagem de MIF e CCL2.

#### **4.2.6 Classificação dos pacientes**

Inicialmente foram determinados os parâmetros sangramento à sondagem (BOP), índice de placa (mIP) e profundidade de sondagem (PPPD/IPPD) como critério para a alocação dos pacientes (Tabela 1). A partir desta classificação e alocação dos pacientes, foram incluídos neste estudo apenas os pacientes caracterizados com mucosite. É importante ressaltar que a classificação se deu por análise do paciente, e não por análise dos implantes, individualmente. Sendo assim, pacientes que apresentaram 2 ou mais sítios

com sangramento (BOP) durante a avaliação, e índice de placa (mIP) com score maior ou igual a 1 foram alocados no grupo mucosite. Os pacientes que não apresentavam sítios com sangramento (BOP) e profundidade de sondagem peri-implantar (IPPD) menor ou igual à 3mm foram alocados no grupo saudável, e portanto, excluídos do estudo. Os pacientes incluídos no grupo controle apresentavam todos os sítios avaliados com profundidade de sondagem (PPPD) menor ou igual à 3mm e ausência de sangramento à sondagem (BOP).

**Tabela 1. Critérios utilizados para caracterização e alocação dos pacientes**

<b>Grupo I -</b>	<b>Grupo II –</b>		<b>Grupo III –</b>	
<b>Controle</b>	<b>Desdentados Parciais</b>		<b>Desdentados Totais</b>	
Sem cáries, PPPD ≤ 3mm e BOP = 0.	<b>Saudável*</b>	<b>Mucosite</b>	<b>Saudável*</b>	<b>Mucosite</b>
	Todos os sítios peri-implantares com BOP = 0 e IPPD ≤ 3mm	Mais do que 2 sítios peri-implantares com BOP > 0 e mIP ≥ 1	Todos os sítios peri-implantares com BOP = 0 e IPPD ≤ 3mm	Mais do que 2 sítios peri-implantares com BOP > 0 e mIP ≥ 1

\*pacientes incluídos no grupo saudável não foram utilizados neste estudo

### 4.3 Procedimentos laboratoriais

#### 4.3.1 Dosagem das citocinas

A dosagem dos marcadores CCL2 e MIF foram realizadas seguindo as recomendações do fabricante (BD OptEIA™, Human MCP-1 ELISA Kit - BD Biosciences®, USA; Human MIF ELISA – IBL America®).

Para a dosagem de CCL2, foi realizada uma sensibilização prévia de placas de alta afinidade de 96 poços, com 100 µl por poço de anticorpo de captura monoclonal anti-citocina humana, preparado na proporção de 1 parte de anticorpo para 250 partes de diluente, à 4°C por 24 horas. Posteriormente, foi realizada a lavagem das placas com solução de PBS Tween, preparada na proporção de 1 parte de PBS10X para 9 partes de água destilada e 500 µl de solução Tween. A lavagem era realizada 3 vezes, e em seguida era realizado o bloqueio dos sítios inespecíficos com 200 µl de “assay diluent” por poço, sendo mantidos por 60 minutos à temperatura ambiente. As placas foram, em seguida, lavadas 3 vezes com solução PBS Tween. Posteriormente, foi realizado o preparo das amostras e da curva conforme as recomendações do fabricante, e adicionou-se 100 µl por poço de cada amostra, sendo então, mantidas por 120 minutos à temperatura ambiente. Após este período, as placas foram lavadas 5 vezes com solução PBS Tween e foi adicionado 100 µl por poço de anticorpo de detecção, incubando-se por 60 minutos. Foi realizada lavagem das placas por 7 vezes e, em seguida, a reação foi revelada por um período de 30 minutos com a adição de 100 µl por poço de substrato (TMB). Posteriormente, foi realizada a parada da reação pela adição de 50 µl de ácido H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N. As placas foram lidas em Microplate Reader UVM 340 (Asys Hitech GmbH, Biochrom®, Cambs, United Kingdom) no comprimento de 450 nm. As

concentrações de cada quimiocina foram quantificadas utilizando-se uma curva padrão. Os resultados foram expressos em pg/mL.

Já a dosagem de MIF baseou-se na utilização de placas de 96 poços pré sensibilizadas. Foram adicionadas 100 µl por poço das amostras, que foram preparadas com diluente do kit comercial , na proporção de 1 parte da amostra para 3 partes de diluente. Adicionou-se em tubos separados 1ml do diluente da amostra ao padrão da curva, sendo realizado o preparo das diluições seriadas de 5000pg/ml à 156pg/ml (curva de seis pontos). Em seguida, foi adicionada às placas 100 µl por poço da curva preparada. Após a adição das amostras e da curva, as placas foram incubadas durante 90 minutos à temperatura ambiente. Decorrido este tempo, as placas foram vertidas e removeu-se o excesso com papel absorvente. Posteriormente, o anticorpo biotinilado foi preparado, na diluição de 1:99, sendo 1 parte de anticorpo biotinilado para 99 partes de diluente do anticorpo. Foram adicionados 100µl de anticorpo biotinilado por poço, e as placas foram incubadas à temperatura ambiente por 60 minutos. Após este tempo, as placas foram lavadas 3 vezes com solução PBS 0,1M, reconstituída com 2L de água destilada. Em seguida, foi adicionado 100 µl de solução conjugado peroxidase-estreptavidina, preparada na diluição de 1:99, sendo 1 parte de conjugado peroxidase-estreptavidina para 99 partes de diluente do conjugado, e mantidas à temperatura ambiente por 30 minutos. As placas, então, foram lavadas cinco vezes com solução PBS 0,1M. Foi adicionado 90µl por poço de substrato (TMB), preparado pelo fabricante, mantida à temperatura ambiente por 20 minutos e em seguida, adicionado 10 µl de solução de parada, preparada,

também pelo fabricante. As placas foram lidas em Microplate Reader UVM 340 (Asys Hitech GmbH, Biochrom®, Cambs, United Kingdom) no comprimento de 450 nm. Os resultados foram expressos em pg/mL.

#### **4.4 Análise estatística**

A análise estatística foi feita utilizando-se do programa GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Prism version 5.0 for Windows, San Diego, CA, USA). Foi verificado, inicialmente, a normalidade dos dados obtidos pelo teste Kolmogorov-Smirnov. Sendo detectada ausência de normalidade, foram realizados os testes não paramétricos ANOVA e Quiquadrado para analisar os parâmetros clínicos e os níveis das citocinas. O teste de correlação de Spearman foi realizado para testar possíveis relações entre as citocinas entre si e entre parâmetros clínicos. O nível de significância das análises foi estabelecido em 5% ( $p < 0,05$ ).



## ***5. Resultados***

## 5.Resultados

### 5.1 Análise dos dados clínicos e epidemiológicos

O grupo I (indivíduos dentados) apresentou faixa etária de 20 a 24 anos, tiveram 10 dentes avaliados, totalizando 40 sítios (19%). Já o grupo II (indivíduos parcialmente dentados com mucosite) apresentou faixa etária de 25 a 65 anos, tiveram 23 implantes avaliados (53%), totalizando 92 sítios (43%). O grupo III (desdentado total com mucosite) apresentou faixa etária de 25 a 65 anos, tiveram 20 implantes avaliados (47%), totalizando 80 sítios (38%). Dos 212 sítios avaliados, 40 pertenciam ao grupo I, 92 ao grupo II e 80 ao grupo III (Tabela 2). Para as variáveis categóricas analisadas (dados epidemiológicos e parâmetros clínicos), os resultados foram expressos em número e porcentagem e para as variáveis contínuas os dados foram apresentados como média e erro padrão (dados clínicos e dosagens das citocinas).

**Tabela 2. Dados epidemiológicos dos grupos analisados**

Parâmetros	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Número de implantes	-	23(53%)	20(47%)
Número de sítios	40(19%)	92(43%)	80(38%)
Faixa etária	20 a 24	25 a 65	25 a 65
Número homens	2(20%)	4(40%)	4(40%)
Número mulheres	8(40%)	6(30%)	6(30%)

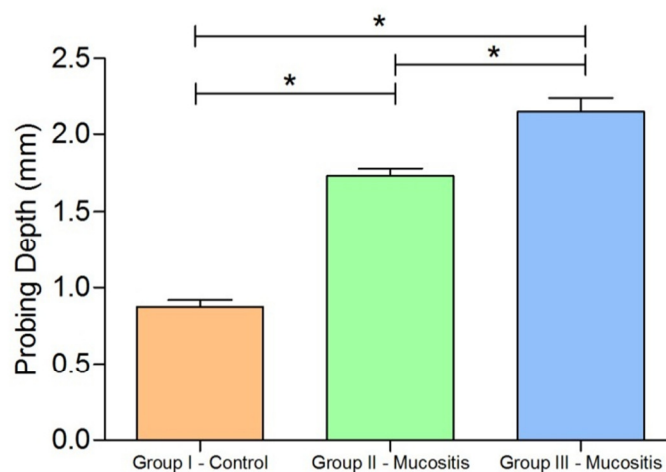
Para os parâmetros clínicos avaliados no presente estudo, a predominância apresentada no grupo II para índice de placa foi de score 1 e

para o grupo III foi score 0. Houve predominância do score 1 para sangramento à sondagem no grupo II e no grupo III o score 0 foi predominante. O grupo I apresentou todos os valores para índice de placa e sangramento à sondagem com score 0. A média obtida para a profundidade de sondagem no grupo I foi  $0,8\text{mm} \pm 0,1$ . No grupo II, foi observado um valor médio de  $1,9\text{mm} \pm 0,6$  e para o grupo III,  $2,1\text{mm} \pm 0,8$  (Tabela 3).

**Tabela 3. Predominância dos parâmetros clínicos índice de placa e sangramento à sondagem e valor médio obtido do parâmetro clínico profundidade de sondagem em cada grupo analisado**

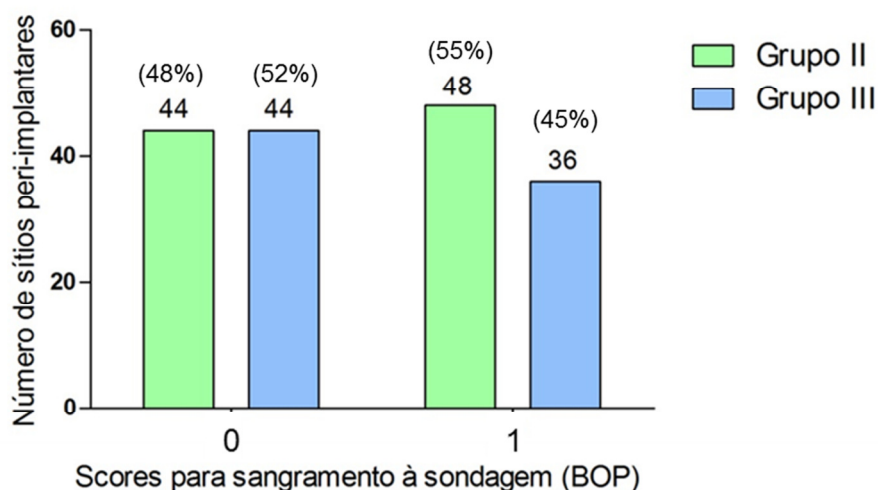
Parâmetros	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Predominância índice de placa	0	2	1
Predominância sangramento à sondagem	0	1	0
Média profundidade de sondagem	$0,8\text{mm} \pm 0,1$	$1,9\text{mm} \pm 0,6$	$2,1\text{mm} \pm 0,8$

A profundidade de sondagem nos sítios periodontais do grupo I ( $0,8 \pm 0,1\text{mm}$ ) foi significativamente menor quando comparado com os grupos II ( $1,9 \pm 0,6\text{mm}$ ) e III ( $2,1 \pm 0,8\text{mm}$ ) ( $p < 0,05$ ). Os sítios peri-implantares do grupo III apresentaram profundidade de sondagem com valores significativamente maiores que os grupos I e II ( $p < 0,05$ ). Para o grupo II, foi observado valores intermediários na profundidade de sondagem (Figura 1).



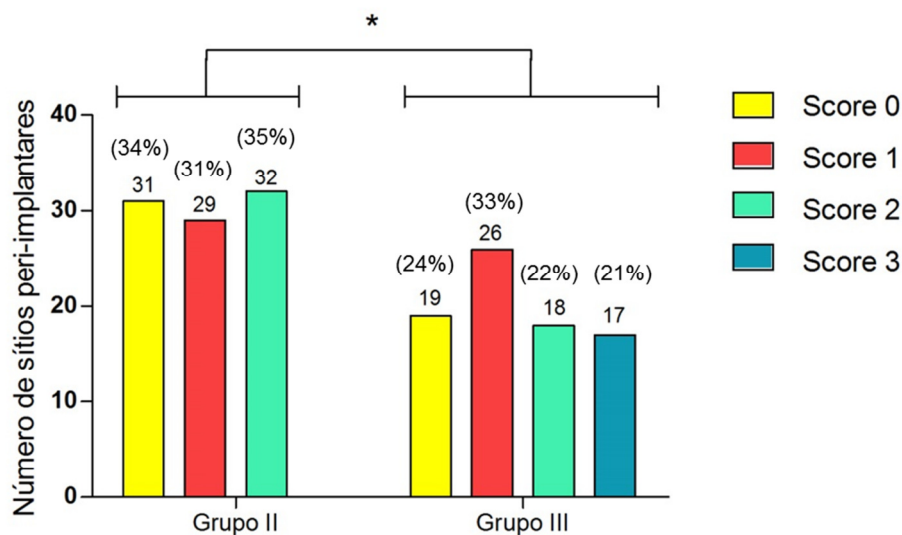
**Figura 1.** Profundidade de sondagem em milímetros analisados nos grupos I, II e III (\* $p < 0.05$ )

Com relação ao parâmetro sangramento à sondagem, observa-se que o grupo II (48 sítios – 55%) apresenta uma tendência a obter sítios com sangramento à sondagem presentes, porém não foi observada diferença estatística na análise entre os grupos (Figura 2).



**Figura 2.** Número e porcentagem de sítios com presença ou ausência de sangramento à sondagem entre os grupos II e III avaliados.

O número de sítios com índice de placa igual a zero é de 31 (34%) para o grupo II e 19 (24%) para o grupo III. O número de sítios com score para índice de placa igual a 1 foi de 29 (31%) para o grupo II e 26 (33%) para o grupo III. Do mesmo modo, para o score 2, o grupo II apresentou 32 (35%) sítios e o grupo III, 18 (22%). Apenas o grupo III apresentou score 3, sendo obtidos 17 (21%) sítios com este score. Para a análise de frequência de distribuição destes scores foi obtida diferença estatística entre o grupo II e III (\* $p < 0,05$ ) (Figura 3).

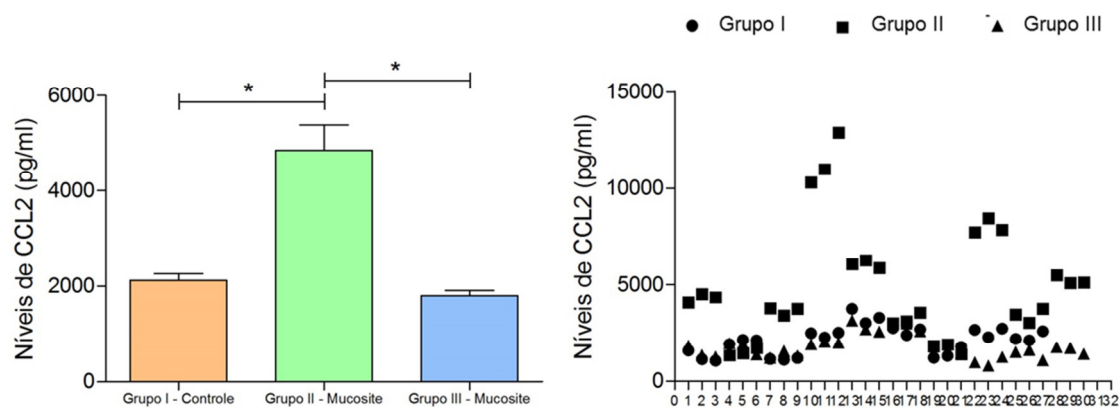


**Figura 3.** Frequência de distribuição do parâmetro índice de placa, por número e porcentagem de sítios, analisado nos grupos II e III (\* $p < 0,0001$ ).

## 5.2 Níveis de citocinas na saliva dos pacientes

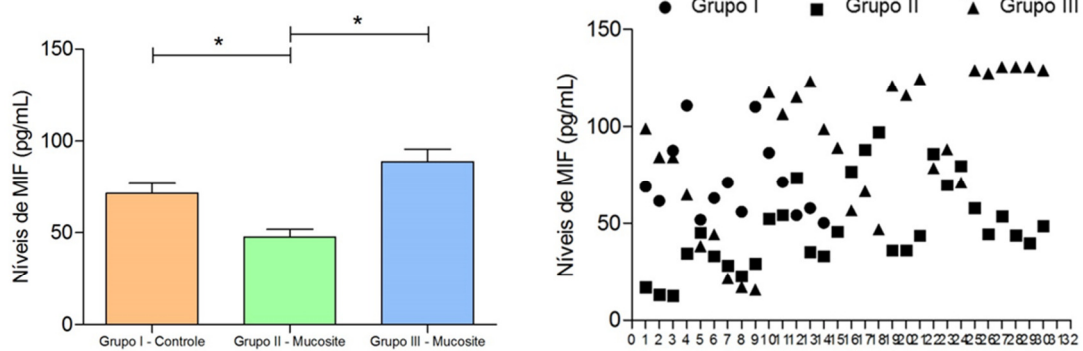
Em todos os sítios avaliados foi observada a expressão das quimiocinas incluídas do estudo. Os níveis de CCL2 foram maiores no grupo II ( $4846.00 \pm 537.3$ ) quando comparado com os grupo I ( $2120.00 \pm 139.2$ ) e com

o grupo III ( $1796.00 \pm 111.7$ ), sendo este resultado estatisticamente significativo ( $*p<0,05$ ). O grupo I apresentou valores intermediários quando comparado com os grupos II e III, porém não houve diferença estatística na comparação entre este grupo e o grupo III. Os menores valores encontrados foram obtidos para o grupo III, que apresentou diferença estatística quando comparado ao grupo II ( $*p<0,05$ ) (Figura 4)



**Figura 4.** Níveis de CCL2 em pg/ml analisados nos grupos I, II e III ( $*p<0,05$ ) apresentados em gráfico de colunas e por gráfico de dispersão.

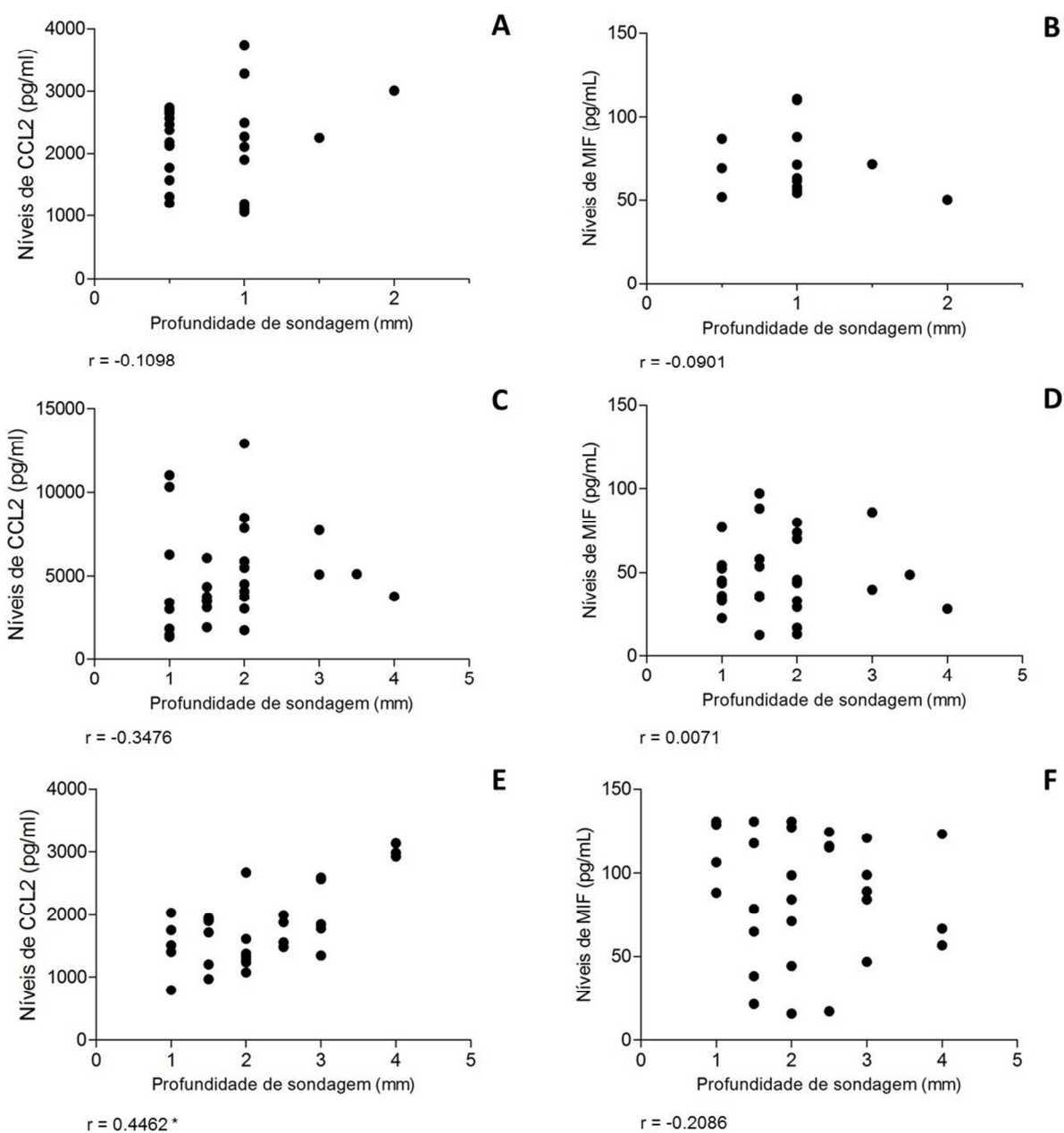
Os níveis de MIF foram maiores no grupo III ( $88.91 \pm 6.80$ ) quando comparado aos demais grupos, porém foi obtida diferença estatística na comparação com o grupo II ( $47.70 \pm 4.11$ ) ( $*p<0,05$ ). Os menores níveis de MIF foram encontrados no grupo II. Houve diferença estatística entre os níveis de MIF entre o grupo II e o grupo I ( $*p<0,05$ ). No entanto, não foi observada diferença estatística entre os níveis obtidos no grupo I ( $71.52 \pm 5.37$ ) quando comparado ao grupo III (Figura 5).



**Figura 5.** Níveis de MIF em pg/ml analisados nos grupos I, II e III (\* $p < 0.05$ ), apresentados em gráfico de colunas e por gráfico de dispersão.

### 5.3 Correlação entre parâmetro clínico e citocinas

O parâmetro clínico profundidade de sondagem no grupo III apresentou correlação positiva significativa com os níveis de CCL2 (\* $r = 0.4462$ ;  $p < 0.05$ ) (Figura 6). Os demais grupos não apresentaram correlação estatisticamente significativa com o parâmetro profundidade de sondagem.



**Figura 6.** Gráfico de correlação entre níveis dos mediadores e o parâmetro clínico profundidade de sondagem nos grupos avaliados (A e B – correlação dos mediadores e o parâmetro clínico para o grupo I; C e D - correlação dos mediadores e o parâmetro clínico para o grupo II; E e F - correlação dos mediadores e o parâmetro clínico para o grupo III (\* $r = 0.4462$ ;  $p < 0,05$ )).



## ***5. Discussão***

## 5. Discussão

A Implantodontia representar um sucesso no que diz respeito à Reabilitação Oral, mas ainda existe perda de implantes em várias fases pós tratamento.

A instalação de uma inflamação inicial, apenas nos tecidos moles peri-implantares (mucosite), pode evoluir rapidamente para uma inflamação severa, levando à perda óssea irreversível (periimplantite) e à perda de inserção dos implantes (Kivela-Rajamaki et al., 2003 a; Kivela-Rajamaki et al., 2003 b).

O presente estudo utilizou parâmetros clínicos tradicionais para avaliação da condição de saúde periimplantar, tais como profundidade de sondagem, índice de placa e sangramento à sondagem. Tais parâmetros consideram a realidade apresentada em clínicas odontológicas, sendo métodos simples e rápidos, rotineiramente utilizados para o acompanhamento clínico (Tozum et al., 2008). Vários estudos já utilizaram de parâmetros clínicos para determinar a condição de saúde periimplantar (Liskmann et al, 2006; Leonhardt et al, 2002), dentre eles muitos já associaram a quantificação de diversos marcadores de inflamação na saliva de pacientes reabilitados com implantes dentários (Liskmann et al, 2006; Leonhardt et al, 2002).

Analisando os parâmetros clínicos isoladamente, nota-se que, para a profundidade de sondagem, existem limitações quanto à sua utilização. Isto é justificado pois a disposição de feixes de fibras na presença de implantes é diferente. Por estarem dispostas paralelamente à superfície do implante, as fibras estão mais susceptíveis à pequenos traumas que podem mascarar as

coletas ou até mesmo induzir um processo inflamatório na região afetada (Lindhe & Berglundh, 2010). Embora esta situação possa ocorrer, este parâmetro é aceito e utilizado, não causando transtornos posteriores, se bem empregado (Lang & Brägger, 1991).

De modo semelhante ao nosso estudo, o trabalho de Duarte e colaboradores. (2009) realizaram avaliação periimplantar, com a utilização de sonda convencional, e não encontraram valores elevados de profundidade de sondagem nos grupos que se enquadravam nos estágios iniciais da doença. Isto sugere que a sondagem periimplantar convencional, quando adequadamente empregada e executada, pode ser utilizada para avaliação da saúde periimplantar associada à outras formas de diagnóstico.

Quanto ao sangramento à sondagem, existe um receio no que diz respeito ao seu uso, pois, assim como a profundidade de sondagem, ele pode lesar tecidos (Mombelli et al, 1987). É importante ressaltar que o parâmetro em si não gera controvérsias, mas a maneira como ele é utilizado. Operadores mal calibrados e a manipulação com sondas inadequadas são fatores que podem acarretar danos. Uma vez mal calibrado, o operador pode forçar o tecido pela pressão gerada ao manipular a sonda e isto lesiona feixes de fibras, que são importantes para evitar contaminação, mantendo a região saudável. Assim, é importante realizar uma eficaz calibração dos operadores, como realizado neste estudo.

Muito se diz sobre a utilização de sondas pré calibradas para realizar a análise da profundidade de sondagem e do sangramento à sondagem. A sua

manipulação é muito fácil e garante uma precisão de resultados muito importante (Liskmann et al, 2004; Tözüm et al, 2005). Porém, é um método de utilização limitado, já que não condiz com a realidade dos consultórios odontológicos devido ao seu valor elevado.

O parâmetro índice de placa é um método muito utilizado e mostrou resultados interessantes no presente estudo. É notório que a presença de placa pela deposição de biofilme ao longo do tempo gera um quadro inflamatório característico (Renvert et al., 2007). Sendo assim, na presença de implantes sua progressão é rápida, devendo ser contornado. Por isto, o controle de biofilme dental deve começar imediatamente após a exposição do implante na cavidade oral, sendo constantemente monitorado, uma vez que as coroas protéticas instaladas são frequentemente volumosas e sobrecontornadas, o que dificulta uma adequada higienização. Especialmente nos casos de perda dental causadas por doenças periodontais ou cáries, deve-se buscar maior conscientização devido ao histórico de higienização inadequada ou insuficiente (Jovanovic, 1997). Embora este parâmetro não seja considerado bom para avaliação devido à possibilidade do paciente melhorar a higienização apenas no dia do exame (Lachmann et al, 2007), houve coerência nos resultados observados. Isto define a presença de placa como um método que deve ser cuidadosamente avaliado nos implantes para seu monitoramento e manutenção.

Para a análise do grupo I - controle dentado, observou-se um resultado bastante interessante. A profundidade de sondagem não foi elevada e, como neste grupo a placa dental e o sangramento à sondagem estavam

ausentes, era esperado que não existisse inflamação, como realmente aconteceu.

Para a análise das quimiocinas na saliva, é possível notar que níveis intermediários tanto de CCL2 como de MIF foram adquiridos. Este fato pode ser explicado pois MIF é um importante mediador da imunidade inata (Calandra et al, 2003). Isto faz dele um mediador produzido de maneira constitutiva por células epiteliais, tanto de trato genito-urinário, como vagina e cavidade oral. Então, MIF seria uma quimiocina relacionada com o equilíbrio da saúde periodontal, justificando sua expressão em níveis consideráveis nos pacientes do grupo I. Entretanto, muitos fatores podem influenciar a produção deste mediador ou inibir a sua liberação na saliva, potencializando a expressão de CCL2. Estes fatores podem ser as alterações oclusais e até mesmo fatores externos, como o estresse (Calandra et al, 2003).

Observando os resultados obtidos para o grupo II – desdentado parcial, temos uma inversão, onde foram apresentadas baixas profundidades de sondagem e índices de placa. Sugere-se que, como os pacientes incluídos neste grupo apresentam alguns dentes, a hiperplasia de mucosa, anteriormente observada nos pacientes do grupo III, não estava presente. Isto provocaria uma redução na profundidade de sondagem quando comparado aos demais grupos. Ao analisarmos o parâmetro índice de placa, os menores scores apresentados no grupo II indicariam que a adesão de placa dental é reduzida nos sítios periimplantares. Porém, à menor presença deste fator etiológico é suficiente para a instalação de uma mucosite, como mostra o presente estudo, uma vez que não se obteve elevados scores para índice de

placa e profundidade de sondagem. Foi observada presença de sangramento à sondagem em sítios periimplantares avaliados, que poderia caracterizar um processo inflamatório (Mombelli et al, 1987). Entretanto, de acordo com Ericsson & Lindhe (1993), frequentemente ocorre sangramento à sondagem, mesmo ao redor de implantes saudáveis.

Justificando a redução nos níveis da quimiocina MIF no grupo II-desdentado parcial, é possível que ao reduzir significativamente a placa dental, não é possível haver um ambiente propício para a proliferação de *Porphyromonas gingivalis*, o que mantém os níveis de CCL2 elevados neste grupo. Outra hipótese para este comportamento seria a presença de dentes na cavidade oral. Apesar dos parâmetros clínicos terem sido analisados apenas nos implantes, a saliva coletada percorre todas as faces da boca. A saliva, ao entrar em contato com outras faces, que não somente as do implante, pode “misturar-se” ao fluido crevicular de dentes com inflamações periodontais caracterizadas como gengivite (Yalçın et al., 2005). Isto pode expressar de forma significativa os níveis de CCL2, inibindo MIF, que se manifesta de maneira elevada em tecidos com comprometimento periodontal ou periimplantar maior (Nonnenmacher et al, 2009).

Para análise do grupo III, houve um aumento dos níveis de índice de placa e profundidade de sondagem, em relação aos grupos I e II. Esses dados corroboram com a literatura, visto que a mucosa se torna inflamada devido um maior acúmulo de biofilme dental (placa) na superfície dentária que, através da liberação de toxinas provocam um processo inflamatório, aumentando os valores da distância biológica. Com vista nesses fatores, a PS apresenta

valores maiores se comparada à pacientes saudáveis, que apresentam índices de placa menores (Karring et al., 2005; Renvert et al., 2007). Para o parâmetro sangramento à sondagem foi observado ausência de sangramento em quase todos os sítios avaliados neste grupo. Isto sugere que, apesar da presença de um processo inflamatório em estágio inicial (mucosite), este evento pode não implicar na presença de sangramento durante à sondagem (Ericsson & Lindhe, 1993).

Para as análises de níveis das quimiocinas nesse mesmo grupo, foi observado um resultado inverso. Quanto aos níveis de CCL2 não se obteve valores elevados se comparado aos demais. Para a quimiocina MIF este quadro foi diferente, sendo o grupo III o que apresentou maiores níveis. Porém, ao realizar uma análise de correlação entre o parâmetro clínico profundidade de sondagem e os níveis de CCL2, foi obtida diferença estatística para o grupo III. Este comportamento diferente encontrado entre os níveis de CCL2 e a profundidade de sondagem sugere que altos índices obtidos para este parâmetro não determinam a presença de uma inflamação. Da mesma forma, a elevação nos níveis de CCL2 pode ser um evento induzido pela liberação de outros mediadores expressos de forma constitutiva na saliva (Kurtis et al, 2005).

Analisando o comportamento apresentado no grupo III com relação aos dados coletados e considerando a presença de eventos semelhantes nos mecanismos responsáveis pela instalação da doença periodontal e a doença periimplantar (Martelli et al., 2004), uma hipótese sugerida seria a de que, na presença de placa dental como agente etiológico, observa-se a proliferação de

diversas bactérias. Com o aumento da profundidade de sondagem, associada à placa dental, nota-se um crescimento de bactérias mais específicas, anaeróbias ou aeróbias facultativas, que sobrevivem a níveis mais profundos e promovem uma infecção, também, mais específica (Loesche et al., 1985). Uma das bactérias predominantes é a porphyromonas gingivalis que possui como uma de suas características, a inibição da produção de CCL2 (Lindhe & Berglundh, 2000; Liskmann et al, 2009), corroborando com os dados do presente estudo. Tratando-se da MIF, como é uma citocina pró-inflamatória regulada pela liberação de produtos microbianos (Calandra, Roger, 2003), seria esperada a elevação de seus níveis, com a progressão da doença, conforme visualizado nesse estudo.

As avaliações por meio do uso de parâmetros clínicos são eficazes para diagnosticar processos inflamatórios. O uso de métodos complementares aos parâmetros já existentes garante uma segurança no que diz respeito aos estágios iniciais do processo inflamatório, principalmente em pacientes reabilitados com implantes. Já é possível observar relação entre alguns parâmetros e marcadores, como foi visto neste estudo. Sendo assim, a possibilidade de se estabelecer marcadores específicos para inflamação precoce e avançada, compreendendo a ação de cada um na cavidade oral poderá permitir sucesso dos implantes.



## ***6. Conclusão***

## **6. Conclusão**

Após determinar os níveis dos marcadores CCL2 e MIF na saliva, foi possível observar que existe relação positiva entre as citocinas e os parâmetros clínicos analisados, principalmente em pacientes desdentados totais, reabilitados com implantes. Na progressão de um processo inflamatório os níveis destes mediadores tendem a elevar, sugerindo uma possível perda de implantes.

## ***Referências***

---

\* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver.  
Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).

Amarante ES, de Lima LA. Optimization of implant surfaces: titanium plasma spray and acid-etched sandblasting – current status. *Pesqui Odontol Bras* 2001; 15 (2): 166-173.

Ataoglu H, Alptekin NO, Haliloglu S, Gursel M, Ataoglu T, Serpek B, Durmus E. Interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid. *Clin Oral Implants Res*. 2002 Oct;13(5):470-6.

Bonachela WC, Rossetti PHO. Das raízes aos implantes osseointegrados: planejamentos, tendências e inovações. São Paulo: Santos; 2002. 216p.

Boras VV, Brailo V, Lukac J, Kordic D, Blazic-Potocki Z. Salivary interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in patients with burning mouth syndrome. *Oral Dis* 2006; 12(3): 353-355.

Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2003 Oct;3(10):791-800.

Coelho PG, Suzuki M, Guimaraes MV, Marin C, Granato R, Gil JN, Miller RJ. Early Bone Healing around Different Implant Bulk Designs na Surgical Techniques: A Study in Dogs. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2009 May 7.

Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 2003; 67 (8): 932-949.

Degidi M, Artese L, Scarano A, Perrotti V, Gehrke P, Piattelli A. Inflammatory infiltrate, microvessel density, nitric oxide synthase expression, vascular endothelial growth factor expression, and proliferative activity in peri-implant soft tissues around titanium and zirconium oxide healing caps. *J Periodontol*. 2006 Jan;77(1):73-80.

\* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver. Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).

De Marco AC, Jardim MA, Lima LP. Revascularization of autogenous block grafts with or without an e-PTFE membrane. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005 Nov-Dec;20(6):867-74.

Dinato, CJ, Polido, DW. *Implantes osseointegrados: cirurgia e prótese*. São Paulo: Artes Médicas, 2001

Duarte PM, de Mendonça AC, Máximo MB, Santos VR, Bastos MF, Nociti Júnior FH. Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases. *J Periodontol*. 2009 Feb;80(2): 234-43.

El-Awady AR, Messer RL, Gamal AY, Sharawy MM, Wenger KH, Lapp CA. Periodontal ligament fibroblasts sustain destructive immune modulators of chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2010 Sep;81(9):1324-35.

Ericsson I, Lindhe J. Probing depth at implants and teeth. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 1993; 20 (9): 623-627.

Ferraris MEG, Muñoz AC. *Histologia e embriologia bucodental*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.

Franchi M, Fini M, Martini D, Orsini E, Leonardi L, Ruggeri A, Giavaresi G, Ottani V. Biological fixation of endosseous implants. *Micron* 2005; 36 (7-8):665-671.

Gomes MA, Rodrigues FH, Afonso-Cardoso SR, Buso AM, Silva AG, Favoreto S, Jr., Souza MA. Levels of immunoglobulin A1 and Messenger RNA for interferon gamma and tumor necrosis factor alpha in total saliva from patients diabetes mellitus type 2 with chronic periodontal disease. *J Periodontal Res* 2006; 41(3): 177-183.

\* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver. Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).

Graves D. Chemokines. Adv Dent Res. 1995 Nov;9(3 Suppl):20. No abstract available.

Griffiths GS. Formation, collections and significance of gingival crevice fluid. Periodontol 2000. 2003; 31:32-42. Review. No abstract available.

Gürkan A, Emingil G, Çınarcık S, Berdeli A. Gingival crevicular fluid transforming growth factor- $\beta$ 1 in several forms of periodontal disease. Arch Oral Biol 2006; 51 (10): 906-912.

Heitz-Mayfield LJ, Lang NP. Antimicrobial treatment of peri-implant diseases. Int J Oral Maxillofac Implants. 2004;19 Suppl:128-39.

Jovanovic SA. Diagnóstico e tratamento da doença periimplantar. In: Carranza FA, Jr, Newman MG. Periodontia Clínica. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. P. 757-768.

Karring ES, Stavropoulos A, Ellegaard B, Karring T. Treatment of peri-implantitis by the Vector system. Clin Oral Implants Res. 2005 Jun;16(3):288-93.

Katchburian E, Arana V. Histologia e Embriologia Oral. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis – a review. J Clin Periodontol 2000; 27 (7): 453-465.

Kim HR, Kim KW, Jung HG, Yoon KS, Oh HJ, Cho ML, et al. Macrophage migration inhibitory factor enhances osteoclastogenesis through upregulation of RANKL expression from fibroblast-like synoviocytes in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther. 2011 Mar 14;13(2):R43.

\* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver. Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).

Kivela-Rajamaki M, Maisi P, Srinivas R, Tervahartiala T, Teronen O, Husa V, Salo T, Sorsa T. Levels and molecular forms of MM-7 (matrilysin -1) na MMP-8 (collagenase - 8 ) in diseased human peri-implant sulcular fluid. J Priodontol Res 2003; 38 (6): 583-590. a

Kivela-Rajamaki MJ, Teronen OP, Maise P, Husa V, Tervahartiala TI, Pirila EM, Salo TA, Mellanen L, Sorsa TA. Laminin-5 gamma2-chain and collagenase-2 (MMP-8) in human peri-implant sulcular fluid. Clin Oral Implants Res 2003; 14 (2):158-165. B

Kobayashi-Sakamoto M, Isogai E, Hirose K. Porphyromonas gingivalis modulates the production of interleukin 8 and monocyte chemotactic protein 1 in human vascular endothelial cells. Curr Microbiol. 2003 Feb;46(2):109-14.

Kurtiş B, Tüter G, Serdar M, Akdemir P, Uygur C, Firatli E, et al. Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 and tumor necrosis factor-alpha in patients with chronic and aggressive periodontitis. J Periodontol. 2005 Nov;76(11):1849-55.

Lachmann S, Kimmerle-Müller E, Axmann D, Gomez-Roman G, Weber H, Haas R. Reability of findings around healthy implants in association with oral hygiene measures: a clinical, micro biological, and immunological follow-up in edentulous patients. Clin Oral Implants Res. 2007 Dec: 18 (6): 686-698.

Lang NP, Brägger U. Periodontal diagnosis in the 1990s. J Clin Periodontol. 1991 Jul;18(6):370-9. Review.

Leonhardt A, Grodahl K, Bergstrom C, Lekholm U. Long-term follow-up osseointegrated titanium implants using clinical, radiographic and microbiological parameters. Clin Oral Implants Res 2002; 13(2): 127-132.

\* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver. Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).

Lindhe J, Berglundh T. The interface between the mucosa and the implant. *Periodontol* 2000. 1998 Jun;17:47-54. Review. No abstract available.

Lindhe J, Lang N, Karring T. Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010, 1326p.

Liskmann S, Zilmer M, Vihalemm T, Salum O, Fischer K. Correlation of peri-implant health and myeloperoxidase levels: a cross-sectional clinical study. *Clin Oral Implants Res* 2004; 15(5): 546-552.

Liskmann S, Vihalemm T, Salum O, Zilmer K, Fischer K, Zilmer M. Correlations between clinical parameters and interleukin-6 and interleukin-10 levels in saliva from totally edentulous patients with peri-implant disease. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006;21(4):543-50.

Loesche WJ, Syed SA, Schmidt E, Morrison EC. Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. *J Periodontol*. 1985 Aug;56(8):447-56.

Loos BG, Tjoa S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevicular fluid? *Periodontol* 2000. 2005;39: 53-72.

Madeira MF, Queiroz-Junior CM, Costa GM, Santos PC, Silveira EM, Garlet GP, Cisalpino PS, Teixeira MM, Silva TA, Souza Dda G. MIF induces osteoclast differentiation and contributes to progression of periodontal disease in mice. *Microbes Infect*. 2012 Feb;14(2):198-206. doi: 10.1016/j.micinf.2011.09.005. Epub 2011 Oct 6.

Martelli FS, Gonçalves F, Zanetti RV, Zanetti AL. Novas perspectivas para o tratamento das doenças periimplantares. IN: Querido MRM, Fan, YL (coord) *Implantes osseointegrados – Inovando soluções*. São Paulo: Artes Médicas; 2004. P.57-77.

\* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver. Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).



Misch C. Implantes dentais contemporâneos. 3ed. São Paulo: Elsevier, 2009, 1120p.

Mombelli A, Van Oosten MA, Schurch E Jr, Land NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol*. 1987 Dec;2(4):145-51.

Mombelli A, Lang NP. Clinical parameters for the evaluation of dental implants. *Periodontol 2000*. 1994 Feb;4:81-6. No abstract available.

Murata M, Tatsumi J, Kato Y, Suda S, Nunokawa Y, Kobayashi Y, Takeda H, Araki H, Shin K, Okuda K, Miyata T, Yoshie H. Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1 $\beta$  in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13(6): 637-643.

Nonnenmacher C, Helms K, Bacher M, Nüsing RM, Susin C, Mutters R, et al. Effect of age on gingival crevicular fluid concentrations of MIF and PGE<sub>2</sub>. *J Dent Res*. 2009 Jul;88(7):639-43.

Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 2004; 343(1-2): 1-16.

Pradeep AR, Daisy H, Hadge P. Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 in periodontal health and disease. *Arch Oral Biol*. 2009 May;54(5):503-9.

Renvert S, Roos-Jansåker AM, Lindahl C, Renvert H, Rutger Persson G. Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation. *Clin Oral Implants Res*. 2007 Aug;18(4):509-16. Epub 2007 May 21.

\* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver. Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).

Rocha FS, Jesus RN, Rocha FM, Moura CC, Zanetta-Barbosa D. Saliva versus peri-implant inflammation: Quantification of IL-1 $\beta$  in partially and totally edentulous patients. J Oral Implantol. 2012 Mar 1. [Epub ahead of print]

Rodhus NL, Cheng B, Bowles W, Myles S, Miller L, Ondrey F. Proinflammatory cytokine levels in saliva before and after treatment of (erosive) oral lichen planus with dexamethasone. Oral Dis, 2006; 12(2): 112-116.

Kobayashi-Sakamoto M, Isogai E, Hirose K. Porphyromonas gingivalis modulates the production of interleukin 8 and monocyte chemotactic protein 1 in human vascular endothelial cells. Curr Microbiol. 2003 Feb;46(2):109-14.

Sennerby L, Thomsen P. Tissue response to titanium implants in experimental antigen-induced arthritis. Biomaterials. 1993 May;14(6):413-22.

Senter PD, Al-Abed Y, Metz CN, Benigni F, Mitchell RA, Chesney J, Han J, Gartner CG, Nelson SD, Todaro GJ, Bucala R. Inhibition of macrophage migration inhibitory factor (MIF) tautomerase and biological activities by acetaminophen metabolites. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 Jan 8;99(1):144-9. Epub 2002 Jan 2.

Ten Cate AR. Histologia bucal – Desenvolvimento, estrutura e função. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

Tozum TF, Turkyilmaz I, Yamalik N, Tumer C, Kilinc A, Kilinc K, Karabulut E, Eratalay K. Analysis of the possible impact of inflammation severity and early and delayed loading on nitric oxide metabolism around dental implants. Int J Oral Maxillofac Implants 2005; 20(4): 547-556.

\* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver. Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).

Tozum TF, Turkyilmaz I, Yamalik N, Tumer C, Kilinc A, Kilinc K, Karabulut E, Eratalay K. The effect of delayed versus early loading on nitric oxide metabolism around dental implants: an 18-month comparative follow-up study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; 22(1): 53-62.

Tözüm TF, Turkyilmaz I, Yamalik N, Karabulut E, Türkyilmaz AS, Eratalay K. Analysis of the possibility of the relationship between various implant-related measures: an 18-month follow-up study. *J Oral Rehabil.* 2008 Feb;35(2):95-104.

Walker DM. Oral mucosal immunology: an overview. *Ann Acad Med Singapore* 2004; 33(4 Suppl): 27-30S.

Watzek G. Implants in qualitatively compromised bone. São Paulo: Quintessence Publishing Co, 2004, 181p.

Weber HP, Cochran DL. The soft tissue response to osseointegrated dental implants. *J Prosthet Dent* 1998; 79(1): 78-89.

Yalçın S, Basegmez C, Mijiritsky E, Yalçın F, Isik G, Onan U. Detection of implant crevicular fluid prostaglandin E2 levels for the assessment of peri-implant health: a pilot study. *Implant Dent* 2005; 14 (2): 194-200.

\* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver.  
Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).

## ***Anexos***

---

## FICHA CLÍNICA

---

Grau de Higiene do paciente:

☐

bom

☐

regular

☐

ruim

Índice de Placa (Mombelli):

M \_\_\_\_\_

V \_\_\_\_\_

L \_\_\_\_\_

D \_\_\_\_\_

Profundidade de sondagem:

M \_\_\_\_\_

V \_\_\_\_\_

L \_\_\_\_\_

D \_\_\_\_\_

Sangramento à sondagem:

M \_\_\_\_\_

V \_\_\_\_\_

L \_\_\_\_\_

D \_\_\_\_\_

## FICHA DE AVALIAÇÃO

Prontuário: \_\_\_\_\_ F M  
 Nome: \_\_\_\_\_  
 Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_ Data de nascimento: \_\_\_\_\_

Saúde geral: Tem ou teve alguma das alterações abaixo citadas?

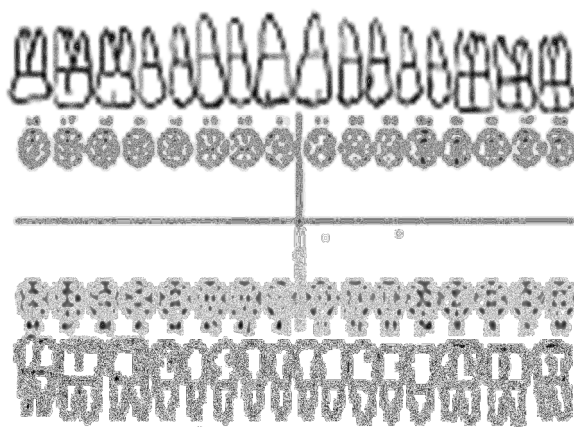
- ( ) Diabetes Faz uso de insulina? \_\_\_\_\_  
 ( ) Febre reumática  
 ( ) Doença auto imune  
 ( ) Hepatite  
 ( ) Tuberculose  
 ( ) Câncer Região \_\_\_\_\_ Quanto tempo? \_\_\_\_\_  
 Qual tratamento? \_\_\_\_\_

- ( ) AIDS  
 ( ) Disfunção tireóide ou paratireoide  
 ( ) Osteoporose  
 ( ) Disfunção supra-renal  
 ( ) Gravidez  
 ( ) Alergia  
 ( ) Esteve internado recentemente? Razão: \_\_\_\_\_  
 ( ) Faz reposição hormonal?  
 ( ) Fuma ou ex-fumante?  
 ( ) Faz uso de algum medicamento? Qual? \_\_\_\_\_  
 ( ) Faz ou fez uso de antibióticos ou anti-inflamatórios nos últimos 3 meses?  
 ( ) Esteve ou está em tratamento dentário?  
 ( ) Possui algum problema de saúde não citado na lista? Qual? \_\_\_\_\_

Declaro que as informações acima prestadas são totalmente verdadeiras

Local e data

Assinatura do paciente ou responsável



I: Implante  
 D: Dente  
 X: Ausente



Universidade Federal de Uberlândia  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP

Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG –  
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4531/4173; e-mail: [cep@propp.ufu.br](mailto:cep@propp.ufu.br);  
[www.comissoes.propp.ufu.br](http://www.comissoes.propp.ufu.br)

ANÁLISE FINAL Nº. 442/08 DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA PARA O PROTOCOLO  
REGISTRO CEP/UFU 217/08

Projeto Pesquisa: "Saliva e fluido sulcular implantar como possíveis ferramentas no monitoramento da saúde peri-implantar: Estudo em pacientes desdentados totais".

Pesquisador Responsável: Darcey Zanetta-Barbosa

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, o CEP manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

O CEP/UFU lembra que:

a- segundo a Resolução 196/96, o pesquisador deverá arquivar por 5 anos o relatório da pesquisa e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo sujeito de pesquisa.

b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.

c- a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFU dá-se em decorrência do atendimento a Resolução 196/96/CNS, não implicando na qualidade científica do mesmo.

Data para entrega do relatório final: dezembro de 2010.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEP/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEP PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 26 de setembro de 2008.

Profa. Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado  
Coordenadora do CEP/UFU