

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

MÁRCIA FERNANDES DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE CD15, CD57 E HIF-1 α EM
MUCOSA PERI-IMPLANTAR**

UBERABA-MG
2017

MÁRCIA FERNANDES DE ARAÚJO

AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE CD15, CD57 E HIF-1 α EM MUCOSA PERI-
IMPLANTAR

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração “Patologia Básica e Experimental”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora.

Orientadora: Prof. Dra. Sanívia Aparecida de Lima Pereira

Co-orientadora: Prof. Dra. Renata Margarida Etchebere

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

A69a Araujo, Marcia Fernandes de
Avaliação imuno-histoquímica de CD15, CD57 E HIF-1 α em mucosa
peri-implantar / Marcia Fernandes de Araujo. -- 2017.
98 f. : il., fig., graf., tab.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) -- Universidade Federal do
Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2017

Orientadora: Profa. Dra. Sanívia Aparecida de Lima Pereira
Coorientadora: Profa. Dra. Renata Margarida Etchebehere

1. Implantes dentários. 2. Inflamação. 3. Imuno-Histoquímica. 4. Hipó-
xia. I. Pereira, Sanivia Aparecida De Lima. II. Universidade Federal do
Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 616.314-089.843

MÁRCIA FERNANDES DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE CD15, CD57 E HIF-1 α EM
MUCOSA PERI-IMPLANTAR**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração “Patologia Básica e Experimental”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora.

Uberaba, 03 de Fevereiro de 2017.

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Sanívia Aparecida de Lima Pereira – Orientadora
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Profa. Dra. Polyanna Miranda Alves
Instituto Federal do Triângulo Mineiro

Profa. Dra. Elia Cláudia de Sousa Almeida
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof. Dr. Paulo César Simamoto Júnior
Universidade Federal de Uberlândia

Profa. Dra. Karla Zancope
Universidade Federal de Uberlândia

DEDICATÓRIA

À toda minha família, mas particularmente a meus pais Elita e Joaquim (*in memoriam*), a meu marido Clidenor e a meu querido filho Davi.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Expresso aqui minha sincera gratidão:

A Deus, por minha vida, por minha saúde, minha fé, e por colocar em meu caminho pessoas que me ajudaram durante e na conclusão de mais essa etapa em minha vida. E, principalmente, de colocar em meu caminho pessoas que me fizeram acreditar no amor ao próximo.

A meus pais, Elita e Joaquim (*in memoriam*), por minha existência nesse mundo, pelo amor, pela companhia e pelos exemplos inestimáveis que sempre me proporcionaram e que certamente me ajudaram em todos os sentidos da minha vida profissional e pessoal.

A meus irmãos, aos quais agradeço por terem ajudado minha mãe a cuidar dos filhos mais novos quando nosso pai não estava mais conosco, que abdicaram de tantas coisas em função do amor fraterno e que sempre me inspiram a melhorar.

Ao meu marido Clidenor, que sempre esteve ao meu lado nos momentos felizes, que me incentivou e me auxiliou nos momentos difíceis, quando achei que não iria aguentar. Sem o seu apoio e estímulo, certamente minha jornada seria muito mais espinhosa. E mais ainda, o agradeço por partilhar comigo o desafio e alegria de sermos pais.

A meu filho Davi, que mesmo sem saber me deu incentivo a querer melhorar cada dia mais, e que certamente entenderá minhas ausências em alguns momentos.

À minha orientadora Sanívia, pelo convite para ser sua orientada, pela confiança em mim depositada, pela paciência e compreensão nos momentos difíceis e por seu exemplo de professora, pesquisadora, mulher, filha e mãe.

À minha co-orientadora Renata, pela acolhida, atenção e carinho dispensados a mim sempre com muita alegria. Admiro sua objetividade e bondade.

À Universidade Federal do Triângulo Mineiro e aos órgãos de fomento, pelo apoio financeiro e acadêmico.

A todos os professores da pós-graduação, por sua dedicação e empenho em cultivar nos alunos o desejo pela pesquisa e pela docência.

Aos demais alunos da pós-graduação que me acompanharam nas disciplinas e muitos dos quais se tornaram meus amigos e companheiros nessa jornada de aprendizagem e de superação.

Aos técnicos dos laboratórios da UNIUBE e da UFTM, Alberto, Aloisio, Andréa, Drayna, Eliângela, Raiane, Soninha por sua atenção e inestimável ajuda no processamento de nosso material.

Aos meus demais amigos, pelo carinho, por torcerem por minhas realizações e por minha felicidade, e por entenderem minha ausência em alguns eventos importantes para nós.

Às pessoas que participaram como colaboradores do projeto e especialmente às que foram voluntárias nesta pesquisa e que, assim, contribuíram para o desenvolvimento da ciência e para a promoção da saúde.

Nossa! Hoje percebo a quantas pessoas sou grata, quantos amigos e pessoas queridas me ajudaram. Precisaria de muitas e muitas folhas para expressar minha gratidão. Me perdoem a quem não expressei aqui, mas tenham certeza que no meu coração sempre estarão.

Meu muito obrigada!

APOIO FINANCEIRO

APOIO FINANCEIRO

Este trabalho foi realizado graças aos auxílios financeiros recebidos da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), da Universidade de Uberaba (UNIUBE), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

RESUMO

RESUMO

Introdução: A peri-implantite é uma lesão inflamatória crônica de provável etiologia bacteriana caracterizada por inflamação da mucosa e perda de suporte ósseo ao redor do implante dentário. As lesões peri-implantares apresentam infiltrado inflamatório composto por plasmócitos, linfócitos, macrófagos e neutrófilos. Não foram encontrados estudos que relatassem associação entre hipóxia e peri-implantite. **Objetivos:** Avaliar as alterações histológicas e a expressão dos anticorpos anti-CD15, anti-CD57 e anti-HIF-1 α na gengiva peri-implantar de pacientes com e sem peri-implantite. **Material e Métodos:** Trata-se de estudo transversal empregando biópsias gengivais de 28 pacientes, sendo 18 com peri-implantite e 10 sem peri-implantite de serviço privado, realizado entre 2010 e 2012. Os fragmentos obtidos foram fixados em formol tamponado a 10%, processados e incluídos em parafina para avaliação histopatológica e estudo imuno-histoquímico. **Resultados:** Foi verificada a presença de acantose, espongiose e exocitose nos dois grupos, sem diferença significativa entre eles quanto à acantose e à espongiose, e significativamente maior quanto à exocitose no grupo com peri-implantite. No grupo com peri-implantite foi observada maior expressão dos anticorpos CD-15, marcador de neutrófilos, e HIF-1 α , marcador de hipóxia tecidual. Não foi observada diferença estatística na expressão do anti-CD57, marcador de células *natural killer*. **Conclusão:** A expressão significativamente mais forte de HIF-1 α no grupo com peri-implantite nos leva a concluir que, além da infecção bacteriana, a hipóxia representaria um fator importante na patogênese da doença peri-implantar. Além disso sugerimos que, embora a inflamação e a exocitose tenham sido mais intensas nos pacientes com peri-implantite, a acantose e a espongiose não seriam alterações epiteliais típicas dessa doença.

Palavras-chave: Hipóxia. Imuno-histoquímica. Inflamação. Peri-implantite.

ABSTRACT

ABSTRACT

Introduction: Peri-implantitis is a chronic inflammatory lesion of probable bacterial etiology characterized by inflammation of the mucosa as well as bone loss around the dental implant. Peri-implant lesions have infiltration of plasma cells, lymphocytes, macrophages and neutrophils. No studies reporting the association between hypoxia and peri-implantitis were found. **Objective:** The aim of this study was to evaluate histological changes and expression of antibodies anti-CD15, anti-CD57 and anti-HIF-1 α in the peri-implant gingiva of patients with and without peri-implantitis. **Material and Methods:** This cross-sectional study used gingival biopsies from 28 patients, 18 with peri-implantitis and 10 without peri-implantitis, and was conducted at a private health care center between 2010 and 2012. The sections were fixed in buffered formalin 10%, processed and embedded in paraffin for histopathological and immunohistochemical study. **Results:** Acanthosis, spongiosis and exocytosis were observed in both groups, without significant difference between them in acanthosis and spongiosis, and significantly higher in exocytosis in the peri-implantitis group. In the peri-implantitis group, there was an increased expression of CD-15 antibody, a marker of neutrophils, and HIF-1 α , a tissue hypoxia marker. There was no statistical difference in the expression of anti-CD57, a natural killer cell marker. **Conclusion:** Significantly stronger expression of HIF-1 α in the peri-implantitis group leads us to conclude that, besides bacterial infection, hypoxia would represent an important factor in the pathogenesis of peri-implant disease. In addition, we suggested that although inflammation and exocytosis were more severe in patients with peri-implantitis, acanthosis and spongiosis would not be epithelial changes typical of this disease.

Keywords: Hypoxia. Immunohistochemistry. Inflammation. Peri-implantitis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Esquema de um implante dentário osseointegrado e sua analogia com o dente natural..... | 29 |
| Figura 2 – Fotomicrografia de um corte vestibulo-lingual dos tecidos peri-implantares..... | 32 |
| Figura 3 – Esquema mostrando as diferenças entre tecido periodontal (A) e tecido peri-implantar (B) | 32 |
| Figura 4 – Exame clínico peri-implantar na região do segundo pré-molar inferior esquerdo em paciente com peri-implantite | 52 |
| Figura 5 – Sonda periodontal utilizada para sondagem peri-implantar..... | 52 |
| Figura 6 – Exame radiográfico periapical na região de pré-molares inferiores esquerdos em paciente com peri-implantite evidenciando exposição das roscas do implante..... | 54 |
| Figura 7 – Paciente com diagnóstico de peri-implantite (A) e coleta do fragmento na região do primeiro pré-molar inferior esquerdo (B)..... | 54 |
| Figura 8 – Presença de acantose nos grupos CP e SP | 60 |
| Figura 9 – Presença de acantose em corte histológico de gengiva peri-implantar de um paciente do grupo CP..... | 60 |
| Figura 10 – Presença de espongiose nos grupos CP e SP | 61 |
| Figura 11 – Presença de espongiose em corte histológico de gengiva peri-implantar de um paciente do grupo CP..... | 61 |
| Figura 12 – Presença de exocitose nos grupos CP e SP | 62 |
| Figura 13 – Presença de exocitose em corte histológico de gengiva peri-implantar de um paciente do grupo CP..... | 62 |
| Figura 14 – Presença de infiltrado inflamatório moderado em corte histológico de gengiva peri-implantar de um paciente do grupo CP | 63 |
| Figura 15 – Presença de infiltrado inflamatório intenso em corte histológico de gengiva peri-implantar de um paciente do grupo CP | 63 |
| Figura 16 – Intensidade de infiltrado inflamatório no grupo CP e SP | 64 |
| Figura 17 – Profundidade de sondagem (mm) nos grupos CP e SP..... | 64 |
| Figura 18 – Expressão ausente (0) de CD15 em um paciente do grupo CP..... | 65 |
| Figura 19 – Expressão intensa (3+) de CD15 em um paciente do grupo CP | 66 |
| Figura 20 – Expressão ausente (0) de CD57 em um paciente do grupo CP..... | 67 |
| Figura 21 – Expressão leve (1+) de CD57 em um paciente do grupo CP..... | 67 |
| Figura 22 – Expressão moderada (2+) de HIF-1 α em um paciente do grupo SP..... | 69 |

| | |
|--|----|
| Figura 23 – Expressão intensa (3+) de HIF-1 α em um paciente do grupo CP..... | 69 |
| Figura 24 – Correlação entre presença de exocitose e expressão de CD15 | 70 |
| Figura 25 – Correlação entre presença de exocitose e expressão de CD57 | 71 |
| Figura 26 – Correlação entre infiltrado inflamatório e expressão de CD57..... | 71 |

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Características demográficas e dados clínicos de pacientes dos grupos com peri-implantite (CP) e sem peri-implantite (SP) | 59 |
| Tabela 2 – Expressão dos anticorpos anti-CD15 e antiCD57 nos grupos com peri-implantite (CP) e sem peri-implantite (SP)..... | 65 |
| Tabela 3 – Expressão de anti-HIF-1 α nos grupos com peri-implantite (CP) e sem peri-implantite (SP)..... | 68 |
| Tabela 4 – Coeficientes de correlação de Spearman para expressão de CD15, CD57, HIF-1 α e alterações epiteliais..... | 70 |

*LISTA DE ABREVIATURAS
E SIGLAS*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------------|--|
| % | Porcentagem |
| B | Branços |
| CAPES | Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior |
| CD | <i>Cluster of differentiation</i> (Grupo de diferenciação) |
| CEP | Comitê de Ética em Pesquisa |
| CNPq | Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico |
| CP | Com peri-implantite |
| DAB | Diaminobenzidina |
| DP | Desvio padrão |
| EDTA | <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> (ácido etilenodiamino tetra-acético) |
| F | Feminino |
| FAPEMIG | Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais |
| FUNEP | Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba |
| HE | Hematoxilina e eosina |
| IFN- γ | Interferon gama |
| IL | Interleucina |
| M | Masculino |
| MHC | <i>Major Histocompatibility Complex</i> (complexo principal de histocompatibilidade) |
| mm | Milímetro |
| NB | Não-Branços |
| NKC | células <i>natural killer</i> |
| PBS | <i>Phosphate Buffered Saline</i> (Solução salina tamponada) |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| SP | Sem peri-implantite |
| TNF- α | <i>Tumor necrosis factor-alpha</i> (Fator de Necrose Tumoral-alfa) |
| UFTM | Universidade Federal do Triângulo Mineiro |
| UNIUBE | Universidade de Uberaba |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 23 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 26 |
| 2.1 IMPLANTES DENTÁRIOS E TECIDOS PERI-IMPLANTARES | 27 |
| 2.2 PERI-IMPLANTITE | 35 |
| 2.3 DIAGNÓSTICO DA DOENÇA PERI-IMPLANTAR | 38 |
| 2.5 CD15 | 42 |
| 2.6 CD57 | 43 |
| 2.7 HIF-1 α | 44 |
| 3 HIPÓTESE | 46 |
| 4 OBJETIVOS | 48 |
| 5 MATERIAL E MÉTODOS | 50 |
| 5.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES | 51 |
| 5.2 COLETA DOS FRAGMENTOS | 53 |
| 5.3 ANÁLISE MORFOLÓGICA MICROSCÓPICA | 53 |
| 5.4 ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA | 55 |
| 5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 57 |
| 6 RESULTADOS | 58 |
| 7 DISCUSSÃO | 72 |
| 8 CONCLUSÃO | 78 |
| REFERÊNCIAS | 80 |
| ANEXOS | 88 |

INTRODUÇÃO

1 1 INTRODUÇÃO

2

3 A perda dentária resulta principalmente da progressão da cárie dentária e da doença
4 periodontal (BARBATO *et al.*, 2015). É considerada um dos principais agravos à saúde bucal
5 devido à sua alta prevalência, aos danos estéticos, funcionais, psicológicos e sociais que
6 acarreta (SAINTRAIN e DE SOUZA, 2012). Para a substituição e reabilitação oral podem ser
7 realizadas próteses convencionais parciais ou totais, e mais atualmente os implantes dentários
8 osseointegrados, com resultados satisfatórios (SÁNCHEZ-GARCÉS; GAY-ESCODA, 2004).

9 Dentre as vantagens das próteses apoiadas sobre implantes, podem ser citadas, dentre
10 outras, a capacidade de manutenção do osso, melhora da estética dental e facial, da fonética e
11 da oclusão, além de melhora da performance mastigatória e melhora da saúde psicológica do
12 indivíduo (SALLUM; SILVA FILHO; SALLUM, 2008; MISCH, 2008).

13 O índice de sucesso e longevidade dos implantes é bem documentado na literatura, e
14 o aumento no número de implantes em função na cavidade oral também tem sido
15 acompanhado por aumento da prevalência de doenças peri-implantares, o que torna o
16 diagnóstico das doenças peri-implantares importante na prática clínica do cirurgião dentista. É
17 desejável que o diagnóstico de peri-implantite seja realizado num estágio inicial e reversível
18 da infecção (MOMBELLI *et al.*, 1997; KOLDSLAND *et al.*, 2010); caso contrário poderá
19 resultar na perda do implante decorrente, por exemplo, da peri-implantite.

20 A peri-implantite é caracterizada por inflamação e perda da crista óssea nos tecidos
21 circundantes aos implantes (LOMBARDO *et al.*, 2015). Sendo assim uma lesão que circunda
22 os implantes dentários, podendo ocorrer devido a fatores como esforços mecânicos
23 excessivos, corrosão e presença de bactérias agressivas, podendo provocar inflamação e/ou
24 infecção (MOUHYI *et al.*, 2009), além de perda óssea (SANTOS e DUARTE, 2009).

25 Os parâmetros mais sensíveis e confiáveis para verificar o desenvolvimento e a
26 presença de infecções peri-implantares são a profundidade de sondagem, o sangramento à
27 sondagem e a interpretação de exames de imagem. Estes visam detectar o mais cedo possível
28 estas lesões (HEITZ-MAYFIELD, 2008).

29 Durante vários anos o interesse clínico e de investigação científica concentrou-se
30 maioritariamente na interface osso/implante. Nos últimos anos, uma vez alcançados os níveis
31 de osseointegração desejados, as investigações tem sido mais direcionadas para a interface

1 tecido mole/implante. Nos implantes orais, o pilar e a coroa fazem emergência através do
2 tecido conjuntivo e epitelial, sendo por este motivo importante conhecer a anatomia e a
3 função dessa interface, pilar e coroa/tecido mole.

4 Neste sentido, a invasão do espaço biológico ao redor dos implantes pode originar o
5 mesmo tipo de efeitos adversos que se verificam na invasão do espaço biológico dentário.
6 Reações inflamatórias não controladas e a subsequente invaginação do epitélio podem
7 prejudicar a manutenção do implante (NEWMAN *et al.*, 2012).

8 Assim, sabendo do aumento crescente da instalação de implantes dentários nas
9 últimas décadas e que a peri-implantite é uma doença inflamatória, se fazem necessários
10 novos estudos para melhor compreensão da patogênese do processo inflamatório com a
11 finalidade de contribuir para novas terapias que irão prevenir a perda precoce do implante.

REVISÃO DE LITERATURA

1 2 REVISÃO DE LITERATURA

2

3 2.1 IMPLANTES DENTÁRIOS E TECIDOS PERI-IMPLANTARES

4

5 A perda dentária resulta, principalmente, da progressão da cárie dentária e da
6 doença periodontal (BARBATO *et al.*, 2015), e é considerada um dos principais agravos à
7 saúde bucal devido à sua alta prevalência, aos danos estéticos, funcionais, psicológicos e
8 sociais que acarreta (SAINTRAIN e DE SOUZA, 2012). Para a substituição e reabilitação
9 oral podem ser realizadas próteses convencionais parciais ou totais, podendo ser
10 removíveis ou fixas e suportadas por dentes, mucosa ou dentomucossuportada.
11 Entretanto, estas mesmas próteses convencionais podem apresentar diversas desvantagens
12 como a redução da função mastigatória, a estética desfavorável advinda da atrofia óssea e
13 muscular e a necessidade de utilização de dentes saudáveis para confecção de pilar/apoio
14 (no caso de próteses parciais fixas) (MISCH, 2008).

15 Desenvolver substitutos artificiais para dentes ausentes tem sido um objetivo
16 relatado há mais de 1.500 anos. Uma pedra escura e fina com o formato de um dente
17 datando de 600 dC foi encontrada implantada em um crânio maia na América Central e
18 existem relatos de tentativas de implantes no antigo Egito e Oriente Médio (PEPPAS;
19 LANGER, 1994 apud NEWMAN *et al.*, 2012). A atual ressurgência de implantes
20 começou com Per-Ingvar Brånemark, médico ortopedista sueco, que em 1952 conduziu
21 estudos clínicos e experimentais investigando a microcirculação sanguínea em tíbias de
22 coelhos utilizando o titânio. Branemark e seus colaboradores perceberam que o metal e o
23 osso se integravam perfeitamente, sem a presença de rejeição, e descreveram essa relação
24 entre o titânio e o osso com o termo osseointegração (BRANEMARK *et al.*, 1969;
25 ALBREKTSSON *et al.*, 1981; BRANEMARK; ZARB; ALBREKTSSON, 1985 apud
26 NEWMAN *et al.*, 2012).

27 O trabalho de Branemark e seus colaboradores nos anos 60 mostrou que os
28 implantes comerciais de titânio puro podem ser ancorados aos ossos da mandíbula e da
29 maxila e usados com sucesso para reposição de dentes. A pesquisa clínica controlada

1 mostrou excelentes resultados a longo prazo, alcançados após a seleção correta dos casos,
2 o preparo adequado dos biomateriais e a cuidadosa manipulação dos tecidos mole e duro
3 dos pacientes (NEWMAN *et al.*, 2012).

4 A reabilitação oral utilizando implantes dentários, quando bem realizada, é uma
5 técnica com resultados satisfatórios, indicada para reabilitar espaços decorrentes de
6 ausências dentais parciais ou totais (SÁNCHEZ-GARCÉS; GAY-ESCODA, 2004).

7 As próteses apoiadas em implantes, também chamadas de próteses
8 implantossuportadas, apresentam como vantagens a capacidade de manutenção do osso,
9 restauração e manutenção da dimensão vertical de oclusão, manutenção da estética facial
10 (no que se refere ao tônus muscular), melhora da estética em virtude do melhor
11 posicionamento dos dentes e redução da movimentação de próteses removíveis, melhora
12 da fonética e da oclusão, melhora da performance mastigatória, redução do tamanho da
13 prótese, melhora da estabilidade e retenção das próteses, aumento do tempo de vida das
14 próteses, além de melhorar a saúde psicológica do indivíduo (SALLUM; SILVA FILHO;
15 SALLUM, 2008; MISCH, 2008).

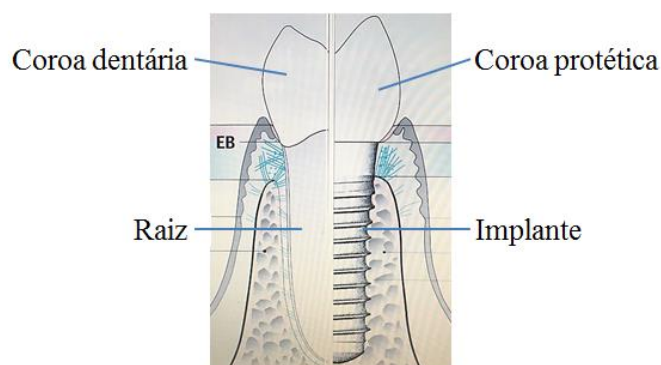
16 O implante dentário é um material aloplástico, inserido por meio de uma cirurgia
17 em um rebordo ósseo residual (Figura 1), principalmente como base protética
18 (AMERICAN ACADEMY OF IMPLANT DENTISTRY, 2016). Basicamente, os
19 implantes são constituídos por um parafuso metálico e um pilar, e sobre eles é
20 confeccionada uma coroa protética análoga à coroa dentária. Em conjunto, os
21 componentes parafuso e pilar representam uma analogia da raiz dentária (PETKOVIC-
22 CURCIN *et al.*, 2011) (Figura 1).

23 Por sua biocompatibilidade, o titânio é o material de escolha para o parafuso nos
24 implantes dentários, fornecendo uma superfície para cicatrização celular e epitelial,
25 processo que ocorre geralmente entre três a quatro meses na mandíbula e entre cinco e
26 seis meses na maxila (LINDHE; KARRING; LANG, 2010). Já para os pilares dos
27 implantes os materiais mais adequados são o titânio e a zircônia, por possuírem superfície
28 mais lisa, diminuindo a colonização por bactérias é menor (HAUSER-GERSPACH *et al.*,
29 2011).

1 O sucesso dos implantes está diretamente relacionado à obtenção e estabilidade
2 da osseointegração. O fenômeno da osseointegração foi primeiramente descrita por
3 Bränemark *et al.* (1969). É definido como o “contato direto entre o osso vivo e uma
4 superfície de implante sob cargas funcionais sem interposição de tecido mole a nível da
5 microscopia de luz comum” (MISCH, 2008).

6

7 Figura 1 – Esquema de um implante dentário osseointegrado e sua analogia com o dente
8 natural.



9

10 Fonte: WOLF; RATEITSCHACK, 2006.

11

12 Os fatores que determinam a osseointegração estão ligados ao paciente, ao
13 implante e ao protocolo cirúrgico e protético (DAVARPANAHI *et al.*, 2007). Os fatores
14 relacionados aos pacientes são os fatores gerais, como a idade, as afecções
15 cardiovasculares, fatores endócrinos, doenças reumáticas, alterações do metabolismo
16 ósseo, doenças hematológicas e uso de medicações. Além disso, existem outros fatores de
17 risco como o tabagismo, alcoolismo e fatores locais como o estado da mucosa, a presença
18 de doença periodontal, a quantidade e a qualidade óssea, a estabilidade primária do
19 implante e o grau de reabsorção óssea. Os fatores ligados ao implante se referem à
20 biocompatibilidade do material, forma e o estado da superfície do implante.

21 Quanto aos protocolos cirúrgicos e protéticos, a osseointegração acontece em
22 duas fases. A primeira, chamada de estabilização primária, que é a fase de ancoragem
23 mecânica no local preparado, que depende essencialmente da qualidade do osso, do

1 volume ósseo disponível, da técnica cirúrgica e da morfologia do implante. A segunda,
2 denominada estabilização secundária, é caracterizada pela formação de adesão biológica
3 entre a superfície do implante e o tecido ósseo, sendo determinada pela resposta biológica
4 ao traumatismo cirúrgico, pelas condições de cicatrização e pelo tipo da superfície do
5 implante (DAVARPANA *et al.*, 2007).

6 Qualquer que seja o tipo de traumatismo ósseo (fratura, enxerto ósseo ou
7 preparação do local do implante), o seu esquema de cicatrização, é idêntico. Existe um
8 processo de cicatrização seguido de remodelagem.

9 O tecido ósseo é um tecido mineralizado e dinâmico continuamente remodelado
10 por reabsorção e formação óssea (GARTNER; HIATT, 2007). As células responsáveis
11 pela formação, destruição e remodelação óssea são, respectivamente, os osteoblastos, os
12 osteoclastos e os osteócitos. Os osteoblastos provenientes de células osteoprogenitoras
13 encarregam-se da síntese dos compostos orgânicos da matriz óssea, inclusive do colágeno,
14 das proteoglicanas e glicoproteínas. Os osteócitos são células ósseas maduras, derivadas
15 dos osteoblastos, que residem em lacunas dentro da matriz, e secretam substâncias
16 necessárias para a manutenção do osso. Os osteoclastos são células derivadas de
17 progenitores granulócitos macrófagos e desempenham papel na reabsorção óssea
18 (GARTNER; HIATT, 2007).

19 Para que um implante possa ser considerado bem sucedido, alguns critérios
20 devem ser observados e incluem: imobilidade individual do implante quando testado
21 clinicamente, ausência de evidência radiográfica de radioluscência peri-implantar,
22 ausência de inflamação gengival ou mucosite peri-implantar, ausência de sinais de
23 infecção e dor, ausência de danos ao dente adjacente e sobrevida funcional de 90% após
24 cinco anos e de 85% após 10 anos de instalação (MISCH *et al.*, 2008).

25 Além da osseointegração, o selamento biológico proporcionado pela mucosa peri-
26 implantar ao redor dos implantes é de fundamental importância para a saúde peri-
27 implantar (YEUNG, 2008). O selamento biológico representa barreira contra penetração
28 de patógenos químicos e substâncias bacterianas (YEUNG, 2008).

1 A mucosa peri-implantar apresenta duas faces, uma externa e uma interna. A face
2 externa está voltada para a cavidade oral e é revestida por epitélio estratificado
3 pavimentoso queratinizado, e a face interna é revestida por fino epitélio estratificado não
4 queratinizado que constitui a junção implante-epitélio (LINDHE; KARRING; LANG,
5 2010). Este último epitélio é análogo ao epitélio juncional que ocorre ao redor de dentes e
6 é denominado barreira epitelial. Este epitélio está ligado à superfície do implante via
7 hemi-desmossomas (GOULD; WESTBURY; BRUNETTE, 1984), cobre o tecido
8 conjuntivo peri-implantar separando-o da superfície do implante por uma extensão de 2
9 mm e termina a uma distância de 1-1,5 mm da crista óssea.

10 A extensão de tecido conjuntivo que separa a porção apical do epitélio da barreira
11 e a crista óssea é denominada barreira conjuntiva, a qual é análoga a inserção conjuntiva
12 que ocorre ao redor de dentes. A barreira conjuntiva apresenta características diferentes da
13 inserção conjuntiva. Enquanto no dente as fibras colágenas da inserção conjuntiva se
14 inserem no cimento radicular, as fibras colágenas da barreira conjuntiva estão organizadas
15 paralelamente à superfície do implante e estende-se da crista óssea à margem peri-
16 implantar. Estas dimensões da barreira epitelial e conjuntiva parecem representar
17 dimensões biológicas mínimas que se estabelecem na mucosa peri-implantar saudável
18 (BERGLUNDH; LINDHE, 1996). Estas dimensões são independentes do sistema de
19 implante e do tipo de instalação usado (ABRAHAMSSON *et al.*, 1999). A composição do
20 tecido conjuntivo ao redor do implante difere da composição do tecido conjuntivo ao
21 redor do dente pelo seu maior conteúdo de fibras colágenas e menor conteúdo de células e
22 vasos sanguíneos (BERGLUNDH *et al.*, 1991). Esta composição, no entanto, pode variar
23 de acordo com o tipo de material e superfície do pilar ou conector intermediário com o
24 qual o tecido conjuntivo está em direto contato (ABRAHAMSSON *et al.*, 1998,
25 WELLANDER; ABRAHAMSSON; BERGLUNDH, 2008).

26 Apesar da mucosa peri-implantar apresentar semelhanças com a mucosa
27 periodontal, estudos tem sugerido que o selamento biológico é menor no peri-implante
28 quando comparado ao dente natural (ATSUTA *et al.*, 2005). Isto pode ocorrer devido às
29 diferenças observadas no peri-implante, como a ausência de cimento e ligamento
30 periodontal na região peri-implantar, e a orientação das fibras colágenas no tecido mole

1 peri-implantar, as quais se encontram paralelas ou oblíquas ao implante, não estando inseridas
 2 à superfície do implante como ocorre no dente natural, onde as fibras colágenas se inserem ao
 3 cimento de forma perpendicular (TETÈ *et al.*, 2009) (Figura 2, 3). Essas diferenças tornam o
 4 selamento biológico no peri-implante uma barreira menos eficiente em comparação com o
 5 selamento apresentado pelo periodonto (NEWMAN *et al.*, 2012).

6

7 Figura 2 – Fotomicrografia de um corte vestibulo-lingual dos tecidos peri-implantares.
 8 Coloração; Ludewig; aumento original: 5x.

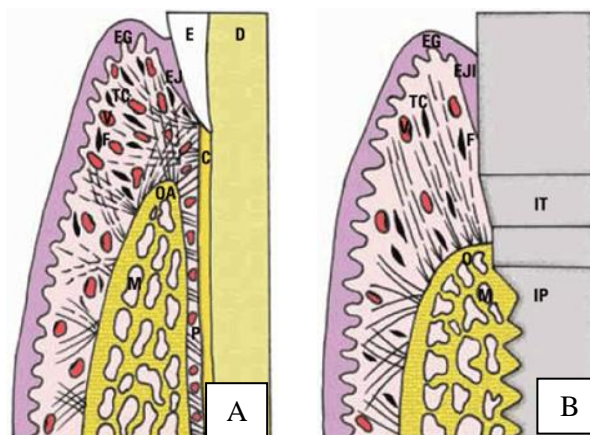


9

10 Fonte: ARAUJO; LUBIANA, 2008

11

12 Figura 3 – Esquema mostrando as diferenças entre tecido periodontal (A) e tecido peri-
 13 implantar (B).



14

15 **A.** (E) esmalte; (D) dentina; (C) cimento; (EG) epitélio gengival; (EJ) epitélio juncional; (TC) tecido conjuntivo;
 16 (OA) osso alveolar; F – fibroblasto; M – medula. **B.** (IT) intermediário; (IP) implante; (EJI) epitélio juncional
 17 implantar.

18

Fonte: CONSOLARO *et al.*, 2010.

1 A formação da mucosa peri-implantar ocorre após a instalação de implantes em
2 um único estágio ou após a reabertura de implantes submersos e instalação do pilar ou
3 conector intermediário. Em resumo, imediatamente após a instalação do componente
4 transmucoso e sutura, uma camada de coágulo, contendo uma rede fibrina, eritrócitos e
5 neutrófilos, é formada entre a mucosa e a superfície do implante. Durante as duas
6 primeiras semanas de cicatrização este coágulo é substituído primeiramente por tecido de
7 granulação e depois por tecido conjuntivo. Concomitantemente, o epitélio começa a
8 migrar apicalmente. Após oito semanas de cicatrização, a mucosa peri-implantar está
9 formada (BERGLUND *et al.*, 2007).

10 Assim como o tecido gengival ao redor dente, a mucosa peri-implantar também
11 exhibe um sulco que se localiza entre a superfície do pilar intermediário ou prótese e a
12 mucosa. Este sulco peri-implantar pode variar muito em profundidade mesmo em
13 condições onde o tecido está saudável. O local onde foi instalado o implante (região
14 estética versus não estética), forma do implante, o tipo de superfície, a força utilizada e o
15 formato da prótese são fatores que dificultam o estabelecimento de uma profundidade
16 padrão. Por outro lado, a extensão da penetração da sonda em tecidos peri-implantares
17 saudáveis quando realizada com força adequada indica o final da barreira epitelial e o
18 início da barreira conjuntiva (LANG *et al.*, 1994, ABRAHAMSSON; SOLDINI, 2006).
19 Além disso, uma sondagem com força adequada também revela que a mucosa peri-
20 implantar saudável não sangra (LANG *et al.*, 1994).

21 A margem entre o limite peri-implantar e o limite da prótese representa a porta de
22 entrada para bactérias e suas toxinas (COSYN *et al.*, 2011). Quando o biofilme se
23 acumula na superfície do implante, o tecido conjuntivo subepitelial é infiltrado por grande
24 número de células inflamatórias e o epitélio torna-se ulcerado, ocorrendo perda de
25 aderência e quebra do selamento biológico local com início de processo inflamatório
26 decorrente do desequilíbrio entre a agressão do microrganismo e a defesa do hospedeiro
27 (REZENDE *et al.*, 2005). Quando o biofilme continua a migrar em direção apical,
28 aparecem os sinais clínicos e radiográficos de destruição do tecido, principalmente por
29 degradação de colágeno e reabsorção óssea, devido à presença de enzimas proteolíticas e
30 células osteoclásticas, eventos biológicos necessários para a migração das células de

1 defesa ao local da lesão (SALLUM; SILVA FILHO; SALLUM, 2008). Essa resposta é
2 semelhante ao que ocorre em dentes naturais, entretanto o tamanho da lesão inflamatória
3 de tecido mole e a perda óssea resultante são maiores ao redor dos implantes do que em
4 volta dos dentes, o que acaba por gerar implicações mais sérias do que a inflamação
5 marginal nos dentes naturais (LINDHE; KARRING; LANG, 2010).

6 Assim, um implante bem sucedido ocorre quando se obtém a osseointegração e
7 quando se estabelece um eficiente selamento biológico da mucosa peri-implantar
8 (NEWMAN *et al.*, 2012). Falhas na osseointegração ou no selamento biológico podem
9 levar à perda de implantes nas fases iniciais (fase de cicatrização) bem como nas fases
10 finais, isto é, após a osseointegração e colocação da prótese (LISKMANN *et al.*, 2006).
11 Nas fases finais a perda de implantes geralmente ocorre devido à reação inflamatória nos
12 tecidos moles e tecido ósseo ao redor dos implantes (SÁNCHEZ-GARCÉS; GAY-
13 ESCODA, 2004; DUARTE *et al.*, 2009; HEASMAN; ESMAIL; BARCLAY, 2010).

14 A reação inflamatória apenas nos tecidos moles, denominada mucosite peri-
15 implantar, é a principal complicação registrada na literatura e está associada
16 frequentemente com a dificuldade de realização de correta higiene oral (REAL-OSUNA;
17 ALMENDROS-MARQUÉS; GAY-ESCODA, 2012). Esta condição afeta mais de 60%
18 dos pacientes portadores de implantes dentários e, embora seja mais prevalente, a
19 mucosite peri-implantar é mais facilmente controlada que a peri-implantite, a qual é
20 responsável pelas maiores causas de taxas de insucesso e o principal determinante das
21 perdas dos implantes (OPPERMANN; GOMES; FIORINI, 2008).

22 A mucosite peri-implantar afeta apenas a mucosa e tem caráter reversível, já a
23 peri-implantite apresenta caráter irreversível, sendo caracterizada por reabsorção óssea
24 além da inflamação na mucosa. A prevalência da mucosite peri-implantar tem sido
25 relatada entre 8 e 44%. Estudos relatam que a prevalência da peri-implantite varia entre
26 0% e 14,4% (BERGLUNDH; PERSSON; KLINGE, 2002), entretanto estudos mais
27 recentes relatam que a possibilidade dos pacientes com implantes dentários apresentarem
28 peri-implantite, de cinco a dez anos após a instalação do implante, varia de 16% a 28%
29 (FRANSSON *et al.*, 2010). No Brasil, os resultados de Ferreira *et al.* (2006), após

1 avaliarem 212 indivíduos, mostraram que as prevalências de mucosite peri-implantar e de
2 peri-implantite foram, respectivamente, 64,6% e 8,9%.

3

4 2.2 PERI-IMPLANTITE

5

6 A peri-implantite é definida como uma lesão inflamatória crônica de etiologia
7 bacteriana caracterizada por inflamação da mucosa e perda de suporte ósseo ao redor do
8 implante dentário (CHARALAMPAKIS *et al.*, 2012).

9 Em 1993, no Primeiro Workshop Europeu de Periodontia, foi acordado que este
10 termo deve ser utilizado especificamente para processos inflamatórios que conduzem à
11 formação de bolsa peri-implantar e perda de osso de suporte em torno de implantes
12 osteointegrados em função (ALBREKTSSON; ISIDOR, 1994).

13 A peri-implantite pode ser comparada a uma periodontite, uma vez que ambas as
14 situações apresentam diversas semelhanças clínicas, histológicas e microbiológicas. As
15 duas estão frequentemente associadas à supuração e bolsas profundas, tal como
16 mobilidade, dor ou sensação de corpo estranho (TRIPLETT, 2003).

17 Piatteli *et al.* (1998) descreveram as características histopatológicas de 230
18 implantes recuperados num período de 8 anos (1989-1996). As principais características
19 histológicas de peri-implantite encontradas nos implantes que foram removidos
20 consistiram na presença de bactérias na superfície do implante e na presença de um
21 infiltrado inflamatório composto de macrófagos, linfócitos e células plasmáticas
22 encontrado no tecido conjuntivo ao redor dos implantes.

23 Um estudo realizado em biópsias de tecidos moles a partir de 12 lesões de peri-
24 implantite em humanos, Berglundh *et al.* (2004) analisaram algumas das suas
25 características. Os autores encontraram uma grande quantidade de plasmócitos, linfócitos
26 e macrófagos nas grandes lesões da mucosa, e demonstraram que o infiltrado celular
27 inflamatório se estendia para a posição apical da bolsa e que a porção apical da lesão de
28 tecido mole frequentemente atingia o tecido ósseo. Observaram ainda que, um grande

1 número de células polimorfonucleares (PMN) estavam presentes no tecido conjuntivo
2 adjacente às bolsas epiteliais e nos compartimentos perivasculares.

3 Gualini e Berglundh (2003) utilizaram técnicas imunohistoquímicas para analisar
4 a composição das lesões ocorridas em amostras de mucosa peri-implantar de áreas com
5 peri-implantite em seis voluntários. As lesões de peri-implantite continham proporções
6 significativamente maiores de linfócitos B e um grande número de células PMN na porção
7 central do infiltrado do que as lesões de mucosite peri-implantar.

8 Lindhe *et al.* (1992) estudaram a capacidade de resposta da mucosa peri-
9 implantar à exposição prolongada ao acúmulo de placa, tal como a capacidade de lidar
10 com o infiltrado inflamatório e verificaram que a difusão do infiltrado inflamatório nos
11 tecidos peri-implantares era maior que nos tecidos periodontais e atingia osso alveolar.
12 Enquanto a lesão periodontal estava nitidamente separada do osso alveolar, por uma zona
13 de cerca de 1mm de altura de tecido conjuntivo não inflamado, a lesão peri-implantar
14 estendia-se para dentro do osso alveolar, envolvendo os espaços medulares. Os autores
15 concluíram que os tecidos peri-implantares são pouco preparados para conter uma lesão
16 progressiva associada à placa e que o padrão de disseminação da inflamação para os
17 tecidos periodontal e peri-implantares era diferente.

18 Desde 1988, Mombelli *et al.*, apontavam evidências de que a presença de uma
19 flora bacteriana patogênica constitui um fator etiológico primordial no desenvolvimento
20 das infecções peri-implantares. Desta forma a composição da microflora associada a estas
21 infecções é muito diferente daquela que está associada aos implantes bem sucedidos
22 (SCHWARZ *et al.*, 2006).

23 Segundo Lang *et al.* (1997), normalmente as lesões inflamatórias peri-implantares
24 iniciam-se como resultado do acúmulo de placa bacteriana e demonstram uma progressão
25 semelhante à encontrada ao redor dos dentes. Assim, afirma-se que a mucosite é um pré-
26 requisito para a ocorrência de peri-implantite. Evidências experimentais sustentam o
27 conceito de que a placa bacteriana constitui a principal causa da ocorrência de doença
28 peri-implantar.

1 O perfil microbiológico do tecido que circunda implantes sem infecção peri-
2 implantar é semelhante ao que rodeia dentes com a infecção peri-implantar. Por outro
3 lado, a microbiota identificada em infecções peri-implantares é muito semelhante à
4 encontrada nas bolsas com doença periodontal avançada (MOMBELLI & MERICSKE-
5 STERN, 1990; LANG; WILSON; CORBET, 2000).

6 Estudos publicados provam que em pacientes parcialmente êdentulos, os
7 microorganismos associados à peri-implantite são similares aos presentes nas bolsas
8 periodontais sendo, portanto, os principais fatores etiológicos da periodontite e peri-
9 implantite. Em indivíduos com doença periodontal, o principal grupo
10 periodontopatogénico presente inclui as espécies Gram-negativas anaeróbias:
11 *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter*
12 *actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsyntensis*, *Treponema denticola* e *Fusobacterium*
13 *nucleatum* (SHIBLI *et al.*, 2008; CORTELLI *et al.*, 2013).

14 Além disso, alguns microorganismos que não estão associados à periodontite,
15 como *Staphylococcus spp.*, *Candida spp.* e *Neisseria spp.* parecem também ter um papel
16 no desenrolar da peri-implantite (RAMS *et al.*, 1990; MEFFERT, 1996; LEONHARDT *et*
17 *al.*, 1999; KRONSTRÖM *et al.*, 2001).

18 Em pacientes parcialmente edêntulos, foi presenciada a transmissão de
19 microorganismos periodontopatogénicos das bolsas para regiões peri-implantares.
20 Portanto, as bolsas periodontais funcionam como reservatórios para a colonização
21 bacteriana no leito implantar e, conseqüentemente, que pacientes parcialmente edêntulos
22 possuam um maior risco de desenvolver peri-implantite, pois apresentam uma flora mais
23 patogênica que pacientes totalmente edêntulos (HEITZ-MAYFIELD *et al.*, 2010).

24 O estabelecimento de um biofilme maduro, a suscetibilidade do hospedeiro e a
25 capacidade de virulência dos microrganismos são fatores que podem influenciar
26 diretamente na severidade e no estabelecimento e evolução da doença peri-implantar
27 (MEIJNDERT *et al.*, 2010).

1 O desequilíbrio entre a presença de microrganismos e a resposta do hospedeiro
2 faz com que se instalem tanto as lesões periodontais quanto as lesões peri-implantares
3 (ZITZMANN; BERGLUNDH, 2008).

4 O diagnóstico precoce de peri-implantite é essencial para a prevenção da perda
5 óssea substancial e do sucesso do implante (ATA-ALI *et al.*, 2013). Clinicamente, a peri-
6 implantite é caracterizada pela formação de bolsa peri-implantar com profundidade acima
7 de 3 mm, além de sangramento à sondagem e/ou supuração. Radiograficamente, a peri-
8 implantite é diagnosticada pela visualização de perda óssea ao redor do implante,
9 representada por radioluscência peri-implantar devido à perda de suporte ósseo
10 (SÁNCHEZ-GARCÉS; GAY-ESCODA, 2004; HEITZ-MAYFIELD, 2008).

11 Além da microbiota dominante, outra semelhança das lesões peri-implantares
12 com as periodontais é a presença mais frequente de células T, o que sugere que a resposta
13 imune local também é regulada por estas células (BULLON *et al.*, 2004). Este fato marca
14 o processo de defesa peri-implantar como uma resposta imunológica mediada por células,
15 com características identificadoras do antígeno, estimuladora da produção e liberação de
16 citocinas, que resultam na inibição ou até destruição do antígeno; ações estas responsáveis
17 pelo processo inflamatório e lesões teciduais (SALLUM; SILVA FILHO; SALLUM,
18 2008; PILLAI; ABBAS; LICHTMAN, 2015).

19

20 2.4 DIAGNÓSTICO DA DOENÇA PERI-IMPLANTAR

21

22 Segundo Lang e Berglundh o parâmetro utilizado para o diagnóstico de mucosite
23 é a hemorragia discreta à sondagem, enquanto que para o diagnóstico de peri-implantite,
24 são as alterações no nível da crista óssea em conjunto com sangramento à sondagem e
25 concomitante aprofundamento da bolsa peri-implantar (WANG, ZHANG e MIRON,
26 2015).

27 Na avaliação da condição peri-implantar devem ser adotados os mesmos
28 parâmetros clínicos adotados na avaliação periodontal. No trabalho realizado por

1 Karoussis *et al.* (2004), comparando as alterações clínicas e radiográficas nas condições
2 periodontais e peri-implantares, observou-se que ao final do período de avaliação de dez
3 anos os parâmetros clínicos índice de placa, sangramento à sondagem, profundidade de
4 sondagem, nível clínico de inserção e o aspecto radiográfico, foram importantes para
5 caracterizar a semelhança no tipo de alterações que ocorre tanto nos tecidos periodontais
6 quanto nos peri-implantares. Fransson *et al.* (2010) mostraram, mais uma vez, a grande
7 importância de se incluir a avaliação clínica minuciosa e periódica da região reabilitada
8 com implantes.

9 Já em relação ao parâmetro mobilidade, o mesmo não pode ser levado em
10 consideração. Em implantes, diferentemente de como acontece com os dentes naturais, a
11 mobilidade, por si só, já é indicativo de insucesso. Pode indicar que não houve uma
12 osseointegração com justaposição entre a superfície do implante e o tecido ósseo.

13 Os eventos que ocorrem na doença peri-implantar começam com a adesão
14 bacteriana (biofilme) à superfície do implante, a quebra do selamento biológico local com
15 início de um processo inflamatório, em decorrência da agressão do parasita e da defesa do
16 hospedeiro. A inflamação pode ficar confinada apenas no tecido marginal ou progredir a
17 níveis mais profundos, atingindo os tecidos de sustentação peri-implantar, quando a
18 evolução do processo não é contida com a descontaminação local. Assim, o avanço da
19 infecção leva a destruição dos tecidos, principalmente por degradação de colágeno e
20 reabsorção óssea, devido a presença de enzimas proteolíticas e células osteoclásticas,
21 eventos biológicos necessários para a migração das células de defesa ao local da lesão.
22 Todo este processo reflete no aparecimento dos sinais clínicos da doença, confirmados
23 com o auxílio dos parâmetros clínicos periodontais, que devem também ser utilizados no
24 diagnóstico da condição peri-implantar (NEWMAN *et al.*, 2012).

25 Existem alguns parâmetros de diagnósticos, adaptados da periodontia, que podem
26 ser utilizados rotineiramente na prática clínica, a fim de monitorar tanto a osseointegração
27 quanto o estado de saúde das estruturas adjacentes ao implante. São eles: índice de placa,
28 índice de sangramento, exsudação e supuração, profundidade de sondagem, sangramento
29 à sondagem, mobilidade, avaliação radiográfica e avaliação microbiológica (ROMITO;
30 SARAIVA; FREITAS, 2008).

1 O índice de placa bacteriana modificado (MOMBELLI *et al.*, 1987) é o índice
2 utilizado para verificar a presença e o acúmulo de depósitos de biofilme sobre os
3 implantes. Entretanto, existem divergências na comunidade científica na utilização deste
4 índice para a previsibilidade de fracasso do implante (CHIAPASCO; ROMEO, 2007).

5 O índice de sangramento sulcular modificado (MOMBELLI *et al.*, 1987)
6 corresponde à presença de sangramento da mucosa durante o percurso da sonda
7 periodontal (1 mm dentro do sulco) ao redor do implante. Avalia a situação dos tecidos
8 peri-implantares para a formulação de um diagnóstico de mucosite peri-implantar. É
9 altamente sensível e medianamente específico para avaliar o estado de saúde dos tecidos
10 superficiais, enquanto não é nem sensível nem específico para prever o fracasso do
11 implante.

12 A presença de exsudato é altamente sensível para evidenciar zonas com presença
13 de inflamação, enquanto não é sensível para prever a evolução da doença. Já a supuração
14 está relacionada a uma alta concentração de neutrófilos e leucócitos, em um quadro
15 inflamatório avançado. É um parâmetro sugestivo para lesão peri-implantar avançada, mas
16 que não é utilizado para diagnóstico precoce (CHIAPASCO; ROMEO, 2007).

17 Associada à avaliação radiográfica e o grau de mobilidade, a sondagem peri-
18 implantar é sugerida como um procedimento diagnóstico extremamente útil. Sendo um
19 teste clínico manual, alguns fatores podem contribuir para a variabilidade entre diferentes
20 examinadores, como por exemplo, o diâmetro da sonda, o posicionamento dela, os pontos
21 de referência considerados, os tipos de medição, a pressão exercida no exame, as
22 condições de saúde do local, pelo desenho e superfície do implante e pela forma do
23 componente protético (HÄMMERLE; GLAUSER, 2004). Esta sondagem do sulco peri-
24 implantar permite definir a profundidade de sondagem peri-implantar, a distância entre a
25 margem gengival e um ponto de referência no implante, sangramento a sondagem e
26 presença de exsudação ou supuração (MOMBELLI; LANG, 1998). Para realizar a
27 sondagem peri-implantar são recomendadas sondas plásticas retas e com pontas
28 arredondadas para não danificar a superfície do implante. Em condições de saúde ou no
29 caso de uma inflamação leve, a penetração da ponta da sonda além de 3 mm é detida na
30 aderência epitelial, que é morfológicamente semelhante ao epitélio juncional da dentição

1 natural. Na presença de inflamações mais severas, a sonda penetra no tecido conjuntivo
2 supra crestal até se aproximar da crista óssea (CHIAPASCO; ROMEO, 2007).

3 O aumento da profundidade de sondagem está associado com a presença de
4 inflamação na mucosa peri-implantar. Um progressivo aumento da profundidade de
5 sondagem ao longo do tempo é um importante indicador da falha de um implante
6 (ESPOSITO *et al.*, 1998). É um exame altamente sensível para o diagnóstico da doença
7 inflamatória, mas por si só não é sensível para identificar a presença de uma reabsorção
8 óssea marginal. Vários estudos mostraram que a profundidade de sondagem em sítios
9 saudáveis deve ser de aproximadamente 3 mm (MOMBELLI *et al.*, 1987; BUSER;
10 WEBER; BRÄGGER, 1990; MERICSKE-STERN *et al.*, 1994). Estudos microbiológicos
11 em bolsas peri-implantares rasas e profundas mostraram que sítios mais profundos
12 apresentaram maiores proporções de microrganismos periodontopatogênicos.

13 Respeitando-se a força de sondagem, o sangramento à sondagem é um dado
14 altamente sensível para identificação da doença inflamatória, enquanto seu uso para
15 prever o fracasso do implante, ainda não está bem claro. Sítios peri-implantares saudáveis
16 não apresentam sangramento à sondagem, contrariamente aos sítios acometidos pela
17 doença peri-implantar que mostraram 67% de sangramento à sondagem em sítios com
18 mucosite peri-implantar e 91% de sangramento à sondagem em locais com peri-implantite
19 (LANG *et al.*, 1994). Assim como na doença periodontal, o índice de sangramento à
20 sondagem nos sítios peri-implantares não pode ser utilizado como preditor de progressão
21 da doença, mas a ausência de sangramento durante a sondagem pode ser utilizada como
22 indicador de estabilidade de perda óssea em implantes osseointegrados (JEPSEN *et al.*,
23 1996; LUTERBACHER *et al.*, 2000).

24 A perda progressiva do suporte ósseo peri-implantar provoca mobilidade do
25 implante. Este parâmetro permite reconhecer os fracassos precoces causados pela falta de
26 osseointegração, devido a fatores infecciosos ou traumáticos (CHIAPASCO; ROMEO,
27 2007). A mobilidade é pouco indicada para diagnosticar as fases iniciais das doenças peri-
28 implantares e, portanto, para estabelecer diagnóstico precoce. Esta avaliação é altamente
29 específica, mas não é um parâmetro sensível, já que não identifica as etapas precoces.

1 O exame radiográfico do osso alveolar é umas das técnicas de maior validade
2 para o controle e avaliação do implante no longo prazo. No entanto as radiografias podem
3 apresentar distorção, além de permitir examinar apenas duas superfícies dos implantes
4 (mesial e distal).

5 É prudente comparar as radiografias realizadas com as anteriores e avaliar as
6 dimensões horizontais e verticais do implante, para não se arriscar a erros de avaliação
7 devido à eventual distorção das imagens. As variações ósseas ao redor dos implantes
8 podem ser avaliadas comparando-se o nível da crista alveolar em relação aos pontos de
9 referência estáveis do implante, e nestes casos, podemos facilmente utilizar as espiras
10 como parâmetros.

11 Estudos clínicos em humanos e em animais mostraram a associação entre a
12 presença de lesões peri-implantares e o aumento de espécies bacterianas específicas
13 (MOMBELLI *et al.*, 1987; GEORGE *et al.*, 1994; MOMBELLI; LANG, 1998; HULTIN
14 *et al.*, 2002). Métodos de identificação de microrganismos como a cultura bacteriana e a
15 reação em cadeia da polimerase (PCR) foram propostos para monitorar o biofilme
16 subgingival e determinar o aumento do risco de desenvolvimento das doenças peri-
17 implantares. A análise conjunta dos aspectos clínicos, radiográficos e microbiológicos
18 pode ser útil no planejamento do tratamento das doenças peri-implantares, porém a análise
19 microbiológica ainda é restrita às pesquisas científicas (MOMBELLI; LANG, 1998;
20 HÄMMERLE; GLAUSE, 2004).

21 Marcadores antigênicos podem auxiliar no diagnóstico de doenças. Neste trabalho
22 foram utilizados os marcadores CD15, CD57 e HIF-1 α .

23

24 2.5 CD15

25

26 O antígeno CD15, também conhecido como hapteno-X, se expressa em 90% dos
27 granulócitos humanos em circulação, 30 a 60% de monócitos em circulação e está ausente
28 em linfócitos normais.

1 CD15 é um complexo de glicoproteínas da superfície celular e glicolípidos com
2 uma estrutura comum trissacárido, 3-fucosil-transferase-N-acetilactosamina (3-FL),
3 também referido como o antígeno de Lewis X (LeX). Este antígeno está envolvido nas
4 funções de neutrófilos, tais como, interações célula-célula, a fagocitose e a estimulação da
5 degranulação. O CD15 é expresso em células de Reed-Sternberg, células mielóides, bem
6 como células epiteliais. O anticorpo CD15 tem sido utilizado como um marcador imuno-
7 histoquímico, citoplasmático e de membrana, para identificar as células de Reed-
8 Sternberg no linfoma de Hodgkin clássico.

9 Os polimorfonucleares neutrófilos (PMN) maduros medem 10-20µm de diâmetro
10 e tem núcleo segmentado, com 3 a 5 lóbulos. Os neutrófilos são muito importantes na
11 fagocitose e digestão de agentes estranhos, sobretudo bactérias. Nas infecções agudas
12 ocorre mobilização rápida de neutrófilos ainda em maturação e seu lançamento na
13 circulação ainda jovens (BRASILEIRO FILHO, 2011).

14

15 2.6 CD57

16

17 O CD57 é um marcador expresso na membrana de células *natural killer* (NKC) e
18 outras células T (RITCHIE; JAMES; MICKLEM, 1983). Uma das funções das NKC é a
19 morte natural, ou seja, destruição de uma vasta gama de células alvo, como células
20 neoplásicas e células infectadas com vírus (FUJITA *et al.*, 1992). As NKC possuem
21 receptor de membrana (NKR) que reconhece uma gama variada de resíduos de
22 carboidratos nas células alvo. Após interação do ligante com o receptor, ocorrem liberação
23 dos grânulos das NKC e morte da célula alvo. Um outro receptor reconhece e se liga ao
24 MHC I da célula alvo. Esse fenômeno é importante porque impede que as NKC tenham
25 efeito citotóxico sobre células normais. As células cancerosas são um alvo fácil das NKC
26 porque não expressam MHC I, deixa livre a ação do receptor de membrana das NKC.
27 Vírus e parasitas intracelulares podem inibir a expressão e/ou síntese de MHC I, tornando
28 as células infectadas sujeitas à ação das NKC. Além do receptor NKR, as NKC possuem o
29 receptor FcγIII que, em células ou parasitas, descarrega os grânulos realizando o

1 fenômeno de citotoxicidade celular independente de anticorpo. O poder citotóxico das
2 NKC é amplificado pela IL-12, produzida por macrófagos, a qual estimula a produção de
3 IFN- γ , citocina fundamental na resistência a parasitas intracelulares (BRASILEIRO
4 FILHO, 2011).

5

6 2.7 HIF-1 α

7

8 O fator 1 induzido por hipóxia (HIF-1) é um fator de transcrição composto por
9 duas subunidades: α e β . Enquanto a subunidade β é constitutivamente expressa em todas
10 as células eucariontes, a expressão da subunidade α está na dependência da
11 disponibilidade de oxigênio. O HIF-1 funciona como o maior regulador da homeostase do
12 oxigênio em praticamente todas as células, desempenhando funções críticas no
13 desenvolvimento embrionário e fisiologia pós-natal (SEMENZA, 2004).

14 Em condições normais de suprimento de oxigênio, a subunidade HIF-1 β é
15 estável, enquanto a subunidade HIF-1 α é rapidamente degradada. A degradação do HIF-
16 1 α decorre da ação de enzimas prolil-hidroxilases que promovem a hidroxilação dos
17 resíduos de prolina presentes em um dos domínios da HIF-1 α . A hidroxilação marca a
18 molécula para que seja reconhecida pela via de degradação ubiquitina-proteossoma
19 (SEMENZA, 2004; BERCHNER-PFANNSCHMIDT *et al.*, 2008).

20 Quando a disponibilidade de oxigênio é reduzida, não ocorre a hidroxilação e a
21 subunidade HIF-1 α não degradada permanece estável no citoplasma. O acúmulo
22 citoplasmático do HIF-1 α permite sua translocação para o núcleo e posterior dimerização
23 com a subunidade β . Juntas, estas subunidades constituem o fator de transcrição HIF-1
24 (SEMENZA, 2004; BERCHNER-PFANNSCHMIDT *et al.*, 2008).

25 O complexo HIF-1 liga-se ao núcleo nas regiões correspondentes aos chamados
26 elementos responsivos de hipóxia, que estão localizados nas regiões promotora ou
27 amplificadora dos genes alvo (ZAREMBER; MALECH, 2005; BERCHNER-
28 PFANNSCHMIDT *et al.*, 2008).

1 A ligação do fator HIF-1 ao DNA culmina com a transcrição de genes que regular
2 os mecanismos de adaptação celular às alterações nas concentrações de oxigênio. O tipo
3 de resposta desencadeada será em função do tipo celular analisado, podendo ser ativados
4 genes envolvidos na angiogênese, transporte do oxigênio, metabolismo do ferro, glicólise,
5 captação rápida de glicose, sinalização de fatores de crescimento, apoptose, invasão e
6 metástase (SEMENZA, 2004; ZAREMBER; MALECH, 2005).

7 O padrão de distribuição do HIF-1 α sofre modificações durante o
8 desenvolvimento fisiológico, transformação maligna ou sob isquemia. A distribuição
9 temporal e espacial do fator de hipóxia tem revelado que, em condições normais de
10 suprimento de oxigênio, o HIF-1 α apresenta expressão imuno-histoquímica localizada no
11 núcleo. A expressão a nível citoplasmático e nuclear do HIF-1 α tem sido encontrada em
12 resposta à hipóxia quando a concentração de oxigênio está reduzida. Este aumento na
13 concentração visa manter captura de energia e a homeostase das atividades celulares
14 (BERCHNER-PFANNSCHMIDT *et al.*, 2008).

15 A estabilização da subunidade α também pode ser induzida por outros fatores
16 além da hipóxia, como a ação de hormônios, citocinas (IL-1 β , TNF- α), fatores de
17 crescimento insulina-*like*, oncogenes, óxido nítrico, entre outros. Os estudos de Haddad
18 (2002) comprovaram que a estabilização, translocação nuclear e ativação do HIF-1
19 requerem a participação de espécies reativas ao oxigênio (ROS). Fundamentado nestes
20 achados, o autor afirma que existe uma via de ativação não hipóxia do fator HIF-1 e a
21 ativação desta via é dependente de citocinas inflamatórias, principalmente IL-1 β e TNF- α .

22

HIPÓTESE

1 **3 HIPÓTESE**

2

3 Por ser a peri-implantite uma doença inflamatória, levantamos a hipótese de que nos
4 pacientes com peri-implantite exista aumento da expressão de CD15, CD57 e HIF-1 α , bem
5 como maior intensidade de infiltrado inflamatório e alterações epiteliais.

OBJETIVOS

1 **4 OBJETIVOS**

2

3 **4.1 OBJETIVO GERAL**

4

5 Comparar a resposta inflamatória na mucosa peri-implantar entre pacientes com peri-
6 implantite e sem peri-implantite.

7

8

9 **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

10

11 Ao comparar a mucosa peri-implantar de pacientes com e sem peri-implantite,
12 tivemos como objetivos avaliar:

13

14 • Alterações epiteliais, como acantose, espongiose e exocitose.

15 • Intensidade de infiltrado inflamatório.

16 • Expressão de células imunomarcadas por anti-CD15.

17 • Expressão de células imunomarcadas por anti-CD57.

18 • Expressão de células imunomarcadas por anti-HIF-1 α .

19

MATERIAL E MÉTODOS

1 5 MATERIAL E MÉTODOS

2

3 5.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES

4

5 O presente estudo transversal foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em
6 Pesquisa em Humanos da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (CEP/UFTM),
7 Uberaba/MG, Brasil, sob o n.º. 1657 (ANEXO A). Os pacientes foram selecionados durante
8 consulta de acompanhamento dos implantes, no período de julho de 2010 a julho de 2012, em
9 clínica odontológica da rede privada na cidade de Uberaba, Minas Gerais, Brasil. Foram
10 obtidas informações médicas e odontológicas dos pacientes que concordaram participar do
11 estudo e que atenderam aos critérios de inclusão/exclusão (ANEXO B). Os dados
12 demográficos como a idade, o gênero e a etnia foram avaliados para obter uma distribuição
13 homogênea entre os grupos (Tabela 1). Todos os pacientes elegíveis foram informados da
14 natureza do estudo, os potenciais riscos e benefícios de sua participação no estudo e assinaram
15 o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO C). Foram utilizados 28 implantes de
16 28 pacientes, sendo 18 incluídos no grupo com peri-implantite (CP) e 10 incluídos no grupo
17 sem peri-implantite (SP).

18 Todos os pacientes deveriam possuir pelo menos um implante na cavidade oral, em
19 função há mais de seis meses. Para serem incluídos no grupo CP, os pacientes deveriam
20 apresentar, em pelo menos um sítio do implante, sangramento marginal e profundidade de
21 sondagem superior a 3 mm, além de perda óssea identificada radiograficamente. Já no grupo
22 SP a profundidade de sondagem deveria estar entre 0 e 3 mm, sem a presença de sangramento
23 marginal, supuração ou perda óssea. Apenas um implante de cada paciente foi incluído no
24 estudo e, caso possuísse mais de um implante, aquele com maior grau de doença foi utilizado
25 para a realização de biópsia. Nos casos onde todos os implantes eram saudáveis foi
26 selecionado aquele mais próximo à linha média. Além disso, os pacientes deveriam apresentar
27 boa saúde geral, ausência de hábitos parafuncionais e assinar o termo de consentimento livre e
28 esclarecido.

29 Os critérios de exclusão para a seleção dos pacientes foram os seguintes: realização
30 de terapia periodontal ou peri-implantar anterior; presença de doenças sistêmicas relevantes

1 não compensadas, como diabetes, hipertensão arterial e osteoporose; uso de antibióticos ou
2 anti-inflamatórios nos últimos seis meses; pacientes fumantes, etilistas crônicos; gestantes;
3 lactantes; implantes com mobilidade ou supuração e aqueles pacientes que não concordaram
4 assinar o termo de consentimento.

5 Os seguintes parâmetros foram avaliados em seis sítios de cada implante (mésio-
6 vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, lingual, disto-lingual) (DE
7 MENDONÇA *et al.*, 2009) (Figura 4), utilizando uma sonda periodontal milimetrada
8 PCPUNC-15BR (Hu-Friedy, São Paulo, Brasil) (Figura 5): (a) sangramento marginal – a
9 presença ou ausência de sangramento foi registrada pela passagem da sonda periodontal ao
10 longo da margem do tecido mole; (b) supuração – presença ou ausência de supuração
11 espontânea ou à sondagem; (c) profundidade de sondagem – distância, em milímetros, entre a
12 margem da mucosa até o fundo da sulco ou bolsa peri-implantar.

13

14 Figura 4 – Exame clínico peri-implantar na região do segundo pré-molar inferior esquerdo em
15 paciente com peri-implantite.



16

17 Fonte: Acervo pessoal.

18

19 Figura 5 – Sonda periodontal utilizada para sondagem peri-implantar.



20

21 Fonte: Acervo pessoal

22

23 Logo após o exame clínico, foram obtidas radiografias intraorais periapicais para
24 cada implante utilizando a técnica do paralelismo com posicionador radiográfico com o
25 objetivo de avaliar a perda óssea peri-implantar (Figura 6).

1 Foi considerada como perda óssea peri-implantar quando o implante apresentou
2 exposição de mais de duas roscas, comparando-se com exame radiográfico inicial.

3 O exame clínico e as tomadas radiográficas foram realizados pelo mesmo
4 examinador (MLRM), devidamente treinado e calibrado.

5 6 5.2 COLETA DOS FRAGMENTOS

7
8 Para a coleta dos fragmentos de gengiva, os pacientes foram submetidos a antissepsia
9 extra-oral com solução de digluconato de clorexidina a 2% e intra-oral com bochecho de
10 solução de digluconato de clorexidina a 0,12%. Posteriormente foi realizado bloqueio
11 anestésico local e recolhido um fragmento de gengiva marginal (Figura 7). No grupo CP os
12 fragmentos foram removidos do sítio com maior profundidade de sondagem e no grupo SP os
13 fragmentos foram removidos da região lingual. Cada fragmento possuía dimensões
14 aproximadas de 4x4 mm (GUALINI; BERGLUND, 2003), sendo destinado à análise
15 histopatológica .

16 O fragmento destinado à análise histopatológica foi imediatamente fixado em
17 formaldeído 10%, por um período não superior a 24 horas.

18 19 5.3 ANÁLISE MORFOLÓGICA MICROSCÓPICA

20
21 As amostras fixadas em formaldeído 10% por 24 horas foram desidratadas, incluídas
22 em parafina e processadas para análise histopatológica. Cortes sagitais seriados de seis
23 micrômetros foram montados em lâmina histológica e coradas com hematoxilina e eosina
24 (HE), sendo avaliadas em microscópio de luz (Olympus BX41) com ampliação de 400x do
25 tamanho original. Avaliou-se o epitélio quanto à presença ou ausência de exocitose,
26 espongirose e acantose, sendo atribuído o escore “0” para ausência ou o escore “1” para
27 presença.

28 A intensidade do infiltrado inflamatório foi agrupado de uma forma semiquantitativa
29 em grupos de expressão: Grupo 0 - nenhuma expressão (0% de células inflamatórias nos

1 campos analisados); Grupo 1 - expressão leve (máximo de 33% de células inflamatórias nos
2 campos analisados); Grupo 2 - expressão moderada (de 33% a 66% de células inflamatórias
3 nos campos analisados); e Grupo 3 - expressão intensa (superior a 66% de células
4 inflamatórias nos campos analisados) (SEMBEROVA *et al.*, 2013).

5

6 Figura 6 – Exame radiográfico periapical na região de pré-molares inferiores esquerdos em
7 paciente com peri-implantite evidenciando exposição das roscas do implante.

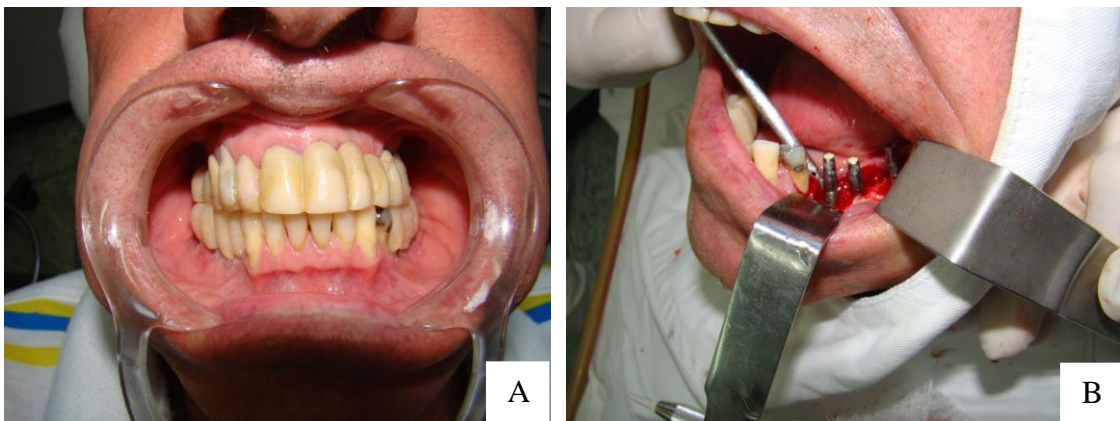


8

9 Fonte: Acervo pessoal.

10

11 Figura 7 – Paciente com diagnóstico de peri-implantite (A) e coleta do fragmento na região do
12 primeiro pré-molar inferior esquerdo (B).



13
14
15

Fonte: Acervo pessoal.

1 5.4 ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA

2

3 Os cortes histológicos foram montados em lâminas pré-tratadas com 3-
4 *aminopropyltriethoxy-silane* (Sigma Aldrich, St. Louis, MO., EUA) e utilizados para análise
5 imuno-histoquímica dos marcadores CD15, CD57 e HIF-1 α .

6 Para as reações imuno-histoquímicas, as lâminas com os cortes histológicos foram
7 desparafinizadas em 3 banhos de xilol, permanecendo por 5 minutos em cada um, e
8 hidratadas em 3 banhos de álcool absoluto e 1 banho de álcool a 80%, durante 10 segundos
9 cada um.

10 Posteriormente as lâminas permaneceram em um banho de solução salina tamponada
11 (PBS pH 7,2), durante 5 minutos para hidratação. Logo depois, o excesso de tampão foi
12 removido e a borda do corte foi seca com papel absorvente. As lâminas foram colocadas em
13 uma bandeja, sendo adicionada peróxido de hidrogênio a 6% sobre cada corte, durante 15
14 minutos, para bloqueio da peroxidase endógena. Novamente foi feita a lavagem em PBS. A
15 seguir foi realizada a recuperação dos antígenos através da panela Pascal (DAKO); as lâminas
16 foram colocadas dentro de cubas contendo o tampão citrato pH6 10 M e em seguida, essas
17 cubas foram colocadas na panela para que se realizasse a recuperação antigênica. Para o
18 anticorpo anti-CD15 foi utilizado o tampão tris-EDTA pH 9,0. Após essa etapa as lâminas
19 foram novamente lavadas em 3 banhos de 5 minutos no tampão PBS e incubadas com seus
20 respectivos anticorpos primários em torno de 18 horas, em câmara úmida com temperatura de
21 3 a 4°C. Os anticorpos foram diluídos em soro de albumina bovina (Sigma-Aldrich, Missouri,
22 USA), de acordo com as indicações presentes em suas especificações. Foram utilizados os
23 seguintes anticorpos: Anticorpo monoclonal de camundongo anti-CD15 (Zeta Corporation,
24 diluição 1:50, Arcadia, CA, USA), Anticorpo monoclonal de camundongo anti-CD57 (Bio
25 SB, diluição 1:200, Santa Barbara, CA, USA), Anticorpo monoclonal de camundongo anti-
26 HIF-1 α (Sigma-Aldrich, diluição 1:1000, Saint Louis, MO, USA).

27 Os cortes foram incubados com o anticorpo primário diluído por 18 horas
28 (*overnight*), em refrigerador entre 4-8° C. No dia seguinte, as lâminas foram retiradas do
29 refrigerador e deixadas à temperatura ambiente. Os cortes foram lavados três vezes com PBS,
30 sendo a última lavagem com duração de 5 minutos. Para a detecção dos anticorpos foi

1 utilizado o sistema de detecção de polímeros (Spring, Pleasanton, CA, USA), por ser um
2 sistema livre de biotina. Após os 5 minutos, foi adicionado o reagente pós-primário por 30
3 minutos, a temperatura ambiente e em câmara úmida. Em seguida, as lâminas foram lavadas
4 com tampão PBS por 3 vezes, sendo a última também com duração de 5 minutos. Foi então
5 adicionado o reagente polímero por 30 minutos, a temperatura ambiente e em câmara úmida.
6 As lâminas foram lavadas novamente com PBS por 3 vezes.

7 A reação imuno-histoquímica de cada anticorpo foi visualizada utilizando solução
8 cromógena de diaminobenzidina – DAB (Sigma Chemical CO, Missouri, USA), que foi
9 aplicada e incubada durante cinco minutos. Em seguida, os cortes foram lavados em água
10 destilada, contracolorados com hematoxilina de Harris por dez segundos, desidratados,
11 diafanizados e as lâminas montadas com Entellan (Merck, Darmstadt, Germany). Os controles
12 negativos foram obtidos por omissão dos anticorpos primários.

13 As lâminas foram examinadas por um patologista (R.M.E.) em um microscópio
14 Olympus BX41 comum. As células positivas foram observadas em campos microscópicos em
15 aumento de 400x e a percentagem de positividade resultante de cada anticorpo foi registrado
16 em cada exame.

17 As percentagens de células positivas para cada anticorpo, na avaliação geral e local,
18 foram agrupadas de uma forma semiquantitativa em grupos de expressão: Grupo 0 - nenhuma
19 expressão (0% de células positivas); Grupo 1 - expressão leve (máximo de 33% de células
20 positivas); Grupo 2 - expressão moderada (de 33% a 66% de células positivas); e Grupo 3 -
21 expressão intensa (superior a 66% de células positivas) (SEMBEROVA *et al.*, 2013). Devido
22 às baixas frequências nos cruzamentos entre as variáveis de interesse considerou-se no caso
23 de 3 ou mais níveis a soma de 2 deles. Dessa forma, para anti-CD15 e anti-CD57, somou-se
24 os grupos 0 e 1, e estes passaram a ser “expressão fraca”, e grupos 2 e 3, que passaram a ser
25 “expressão forte”. Para HIF-1 α , como não houve expressão fraca, comparou-se o Grupo 2 e
26 Grupo 3.

27

1 5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

2

3 Os dados foram inseridos em uma planilha do Microsoft Excel e analisados com o
4 auxílio do *software* estatístico *GraphPad Prism 5* (GraphPad, San Diego, California, USA). O
5 teste de *Shapiro-Wilk* foi utilizado para a avaliação da normalidade. Para comparação entre os
6 dois grupos de variáveis com distribuição não-normal foi realizado o teste *Mann Whitney*.
7 Para variáveis qualitativas (masculino/feminino; caucasiano/não caucasiano) foi utilizado o
8 teste exato de *Fisher*. Para as correlações foi utilizado o *software* BioEstat 5.0 (Sociedade
9 Civil Mimirauá, CNPq, Brasil). O nível de significância assumido foi de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

3 RESULTADOS

4

5 Foram selecionados 28 implantes de 28 pacientes desdentados parciais, sendo 18
6 pacientes com peri-implantite e 10 sem peri-implantite. Os dados demográficos dos grupos
7 foram: Brancos (16 *versus* 8) e não-Brancos (2 *versus* 2), gênero masculino (7 *versus* 5) e do
8 gênero feminino (11 *versus* 5). A média e desvio padrão de idade foi de $62,6 \pm 9,6$ anos no
9 grupo CP e $59,5 \pm 7,1$ anos no grupo SP. Não houve diferença estatisticamente significativa
10 em relação à cor, ao gênero e à idade entre os pacientes dos grupos, demonstrando distribuição
11 homogênea entre os dois grupos (Tabela 1).

12 Não houve sangramento marginal ou perda óssea radiográfica no grupo SP. No grupo
13 CP houve sangramento marginal em todos os locais avaliados. Nenhum dos grupos
14 apresentou supuração ou mobilidade (Tabela 1).

15

16 Tabela 1 – Características demográficas e dados clínicos de pacientes dos grupos com peri-
17 implantite (CP) e sem peri-implantite (SP).

| | Grupo CP (n = 18) | Grupo SP (n = 10) |
|--|----------------------|----------------------|
| Etnia ^a (B:NB) | 16:2 | 8:2 |
| Gênero ^b (M:F) | 7:11 | 5:5 |
| Idade ^c (anos, média \pm SD) | $62,6 \pm 9,6$ | $59,5 \pm 7,1$ |
| Sangramento marginal | 18 | 0 |
| Supuração | 0 | 0 |
| Profundidade de sondagem (mm) ^d | $4,83 \pm 0,09^*$ | $1,61 \pm 0,11^*$ |

18 B: Brancos; NB: Não-Brancos; M: Masculino; F: Feminino; SD: desvio padrão

19 ^a teste exato de Fisher p = 0,60.

20 ^b teste exato de Fisher p = 0,69.

21 ^c Teste “t” Student p = 0,90.

22 ^d Teste *Mann Whitney* p < 0,001.

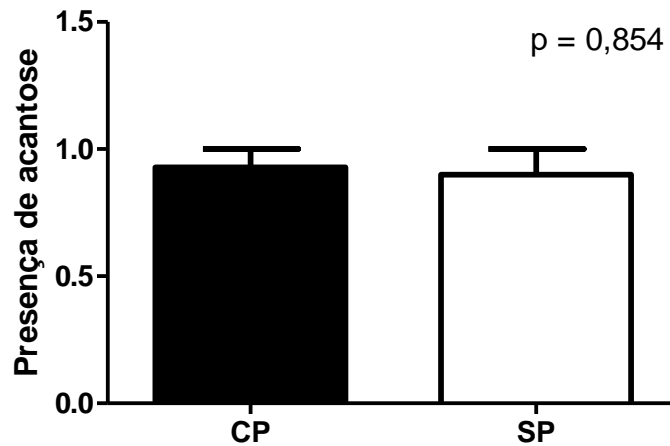
23 * Indica diferença significativa.

24

1 Em todos os pacientes dos grupos CP e SP foi observada a presença de acantose no
2 tecido epitelial, sem diferença estatística entre eles (Figuras 8 e 9).

3

4 Figura 8 – Presença de acantose nos grupos CP e SP.

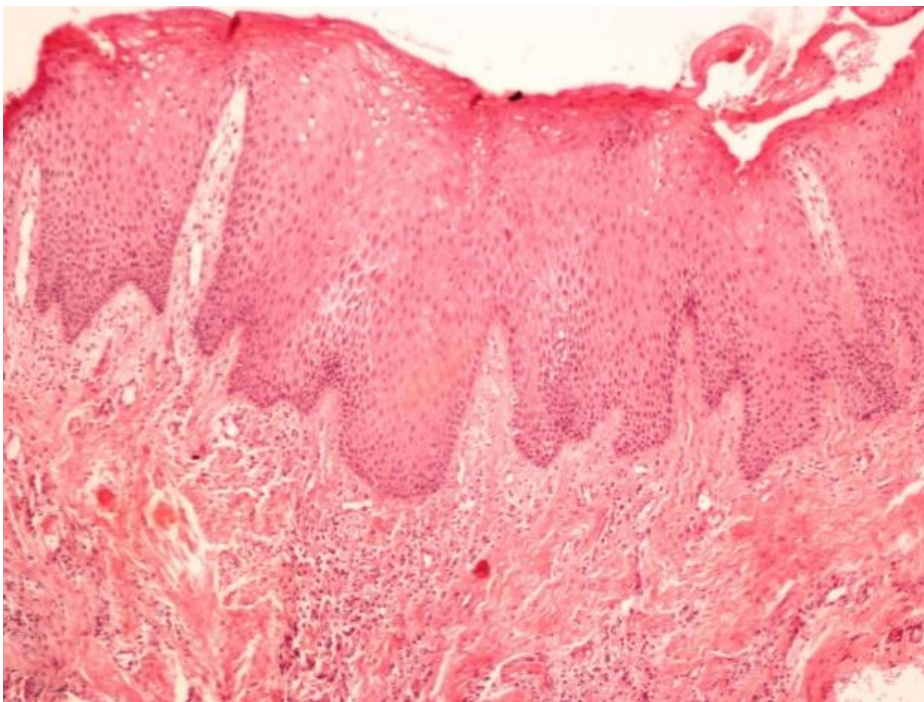


5

6 Teste Mann Whitney; p = 0,854.

7

8 Figura 9 – Presença de acantose em corte histológico de gengiva peri-implantar de um
9 paciente do grupo CP.



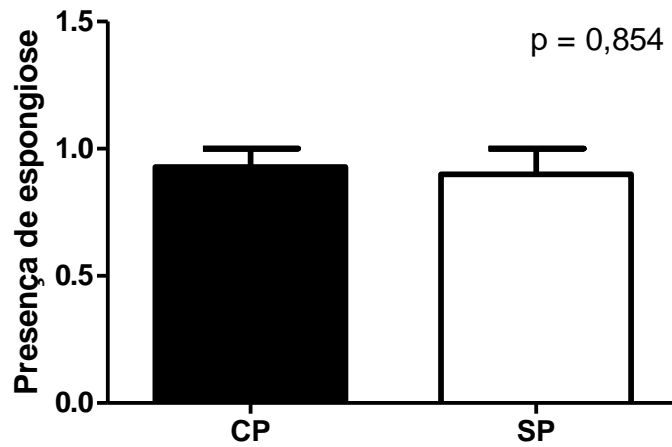
10
11
12

Hematoxilina e eosina (100x).

1 A presença de espongiose no tecido epitelial foi observada em todos os casos dos
2 grupos CP e SP, sem diferença estatística (Figuras 10 e 11).

3

4 Figura 10 – Presença de espongiose nos grupos CP e SP.

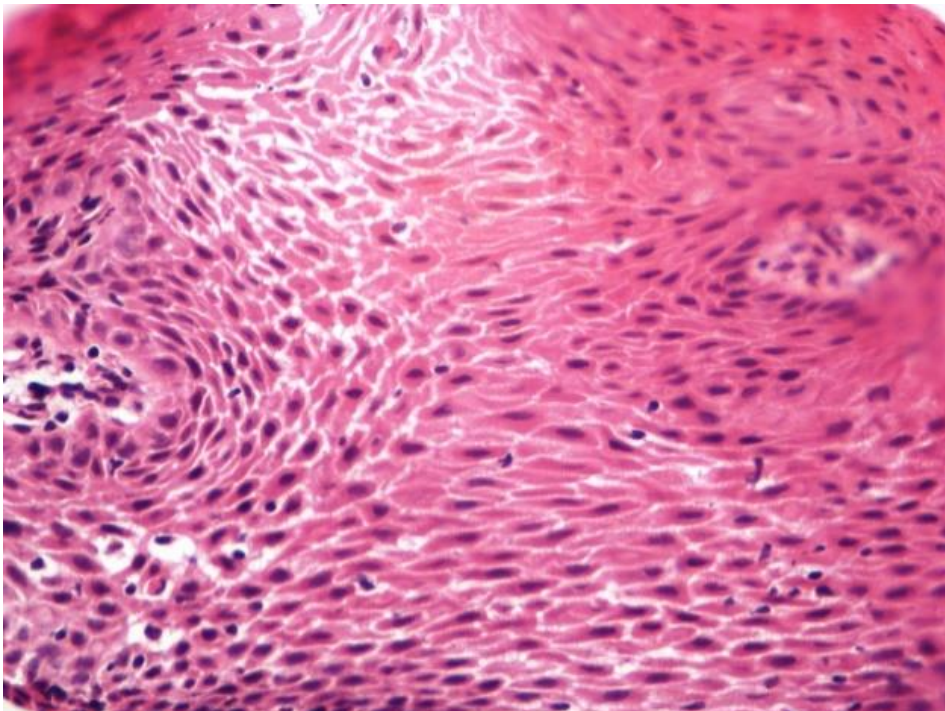


5

6 Teste Mann Whitney; $p = 0,854$.

7

8 Figura 11 – Presença de espongiose em corte histológico de gengiva peri-implantar de um
9 paciente do grupo CP.



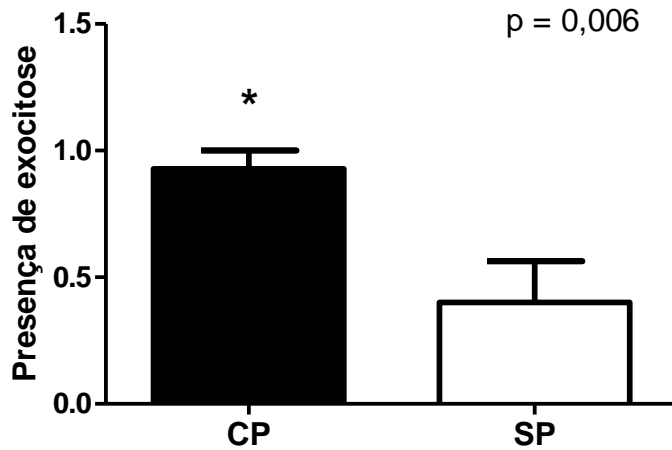
10
11

Hematoxilina e eosina (400x).

1 Foi observada maior presença de exocitose nos pacientes do grupo CP quando
2 comparados aos pacientes do grupo SP, estatisticamente significativa ($p = 0,006$) (Figuras 12
3 e 13).

4

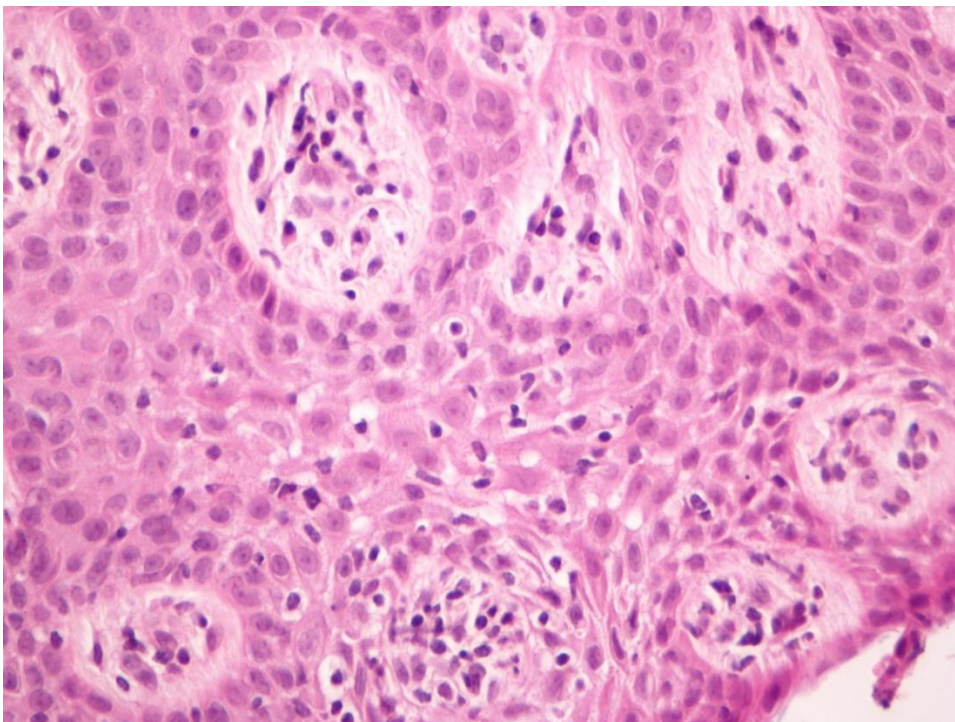
5 Figura 12 – Presença de exocitose nos grupos CP e SP.



6 Teste Mann Whitney; $p = 0,006$. * Indica diferença estatística.

8

9 Figura 13 – Presença de exocitose em corte histológico de gengiva peri-implantar de um
10 paciente do grupo CP.



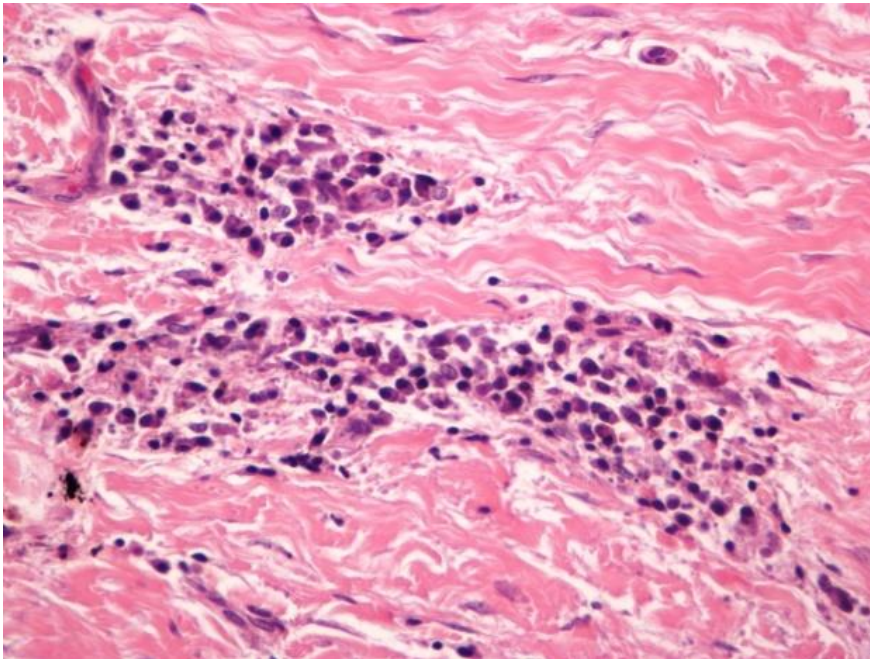
11 Hematoxilina e eosina (400x).

12

1 Foi encontrado infiltrado inflamatório mais intenso no grupo CP quando comparado
2 ao grupo SP ($p = 0,038$), com predomínio de plasmócitos nos dois grupos (Figuras 14, 15 e
3 16).

4

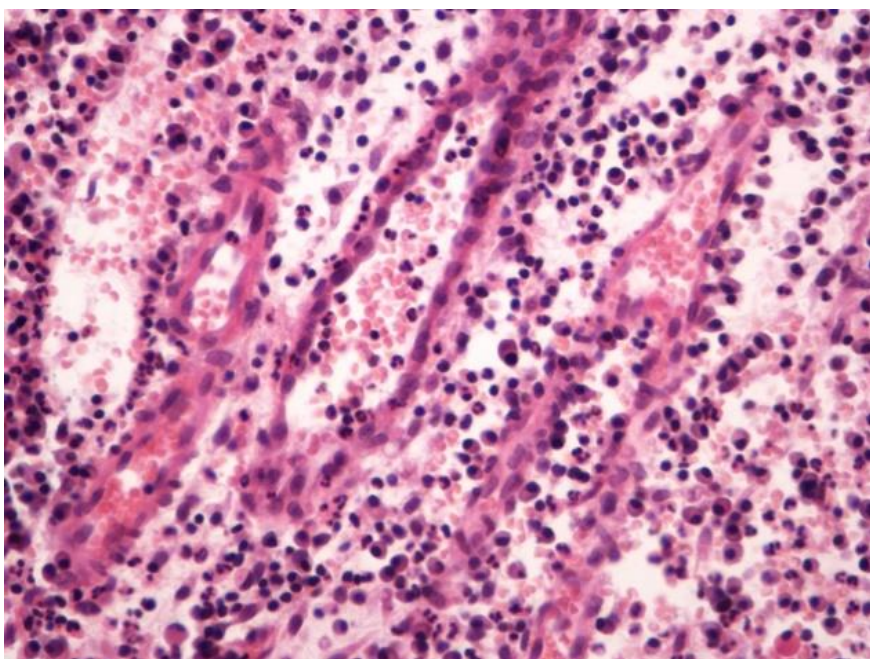
5 Figura 14 – Presença de infiltrado inflamatório moderado em corte histológico de gengiva
6 peri-implantar de um paciente do grupo CP.



8 Hematoxilina e eosina (400x).

9

10 Figura 15 – Presença de infiltrado inflamatório intenso em corte histológico de gengiva peri-
11 implantar de um paciente do grupo CP.

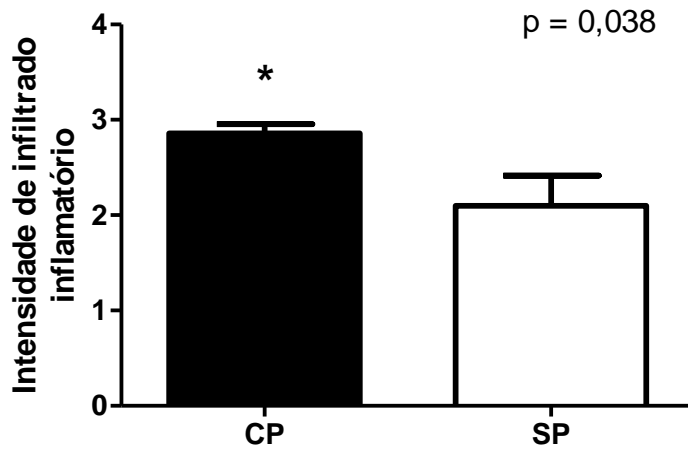


12

13

Hematoxilina e eosina (400x)

1 Figura 16 – Intensidade de infiltrado inflamatório no grupo CP e SP.



2
3 Teste Mann Whitney; $p = 0,038$. * Indica diferença estatística.

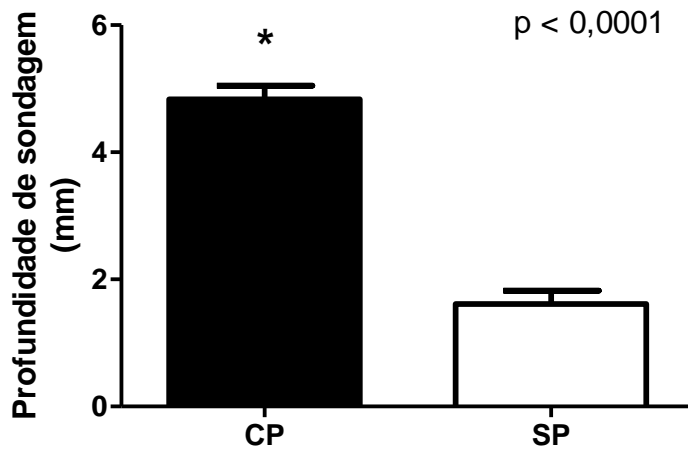
4

5

6 A média da profundidade de sondagem foi significativamente maior no grupo CP
7 quando comparado ao grupo SP (Figura 17).

8

9 Figura 17 – Profundidade de sondagem (mm) nos grupos CP e SP.



10
11 Teste Mann Whitney; $p < 0,0001$. * Indica diferença significativa.

12

1 O grupo com peri-implantite (CP) apresentou maior expressão forte (escores 2 + 3) de
2 anti-CD15 quando comparada ao grupo sem peri-implantite (SP) (Tabela 2) (Figuras 18 e 19).

3

4 Tabela 2 – Expressão dos anticorpos anti-CD15 e antiCD57 nos grupos com peri-implantite
5 (CP) e sem peri-implantite (SP).

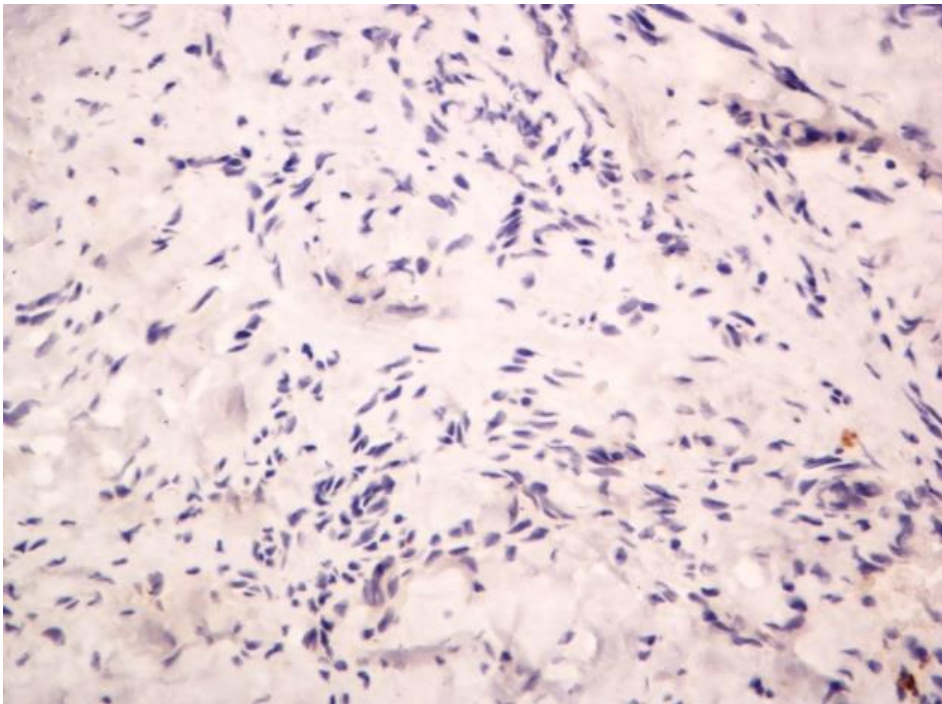
| Anticorpos | Grupo CP | | Grupo SP | |
|-------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | Expressão fraca (0 + 1) | Expressão forte (2 + 3) | Expressão fraca (0 + 1) | Expressão forte (2 + 3) |
| CD15 ^a | 5 | 9 | 9 | 1 |
| CD57 ^b | 14 | 0 | 10 | 0 |

6 ^a teste exato de Fisher p = 0,01.

7 ^b teste exato de Fisher p = 0,65.

8

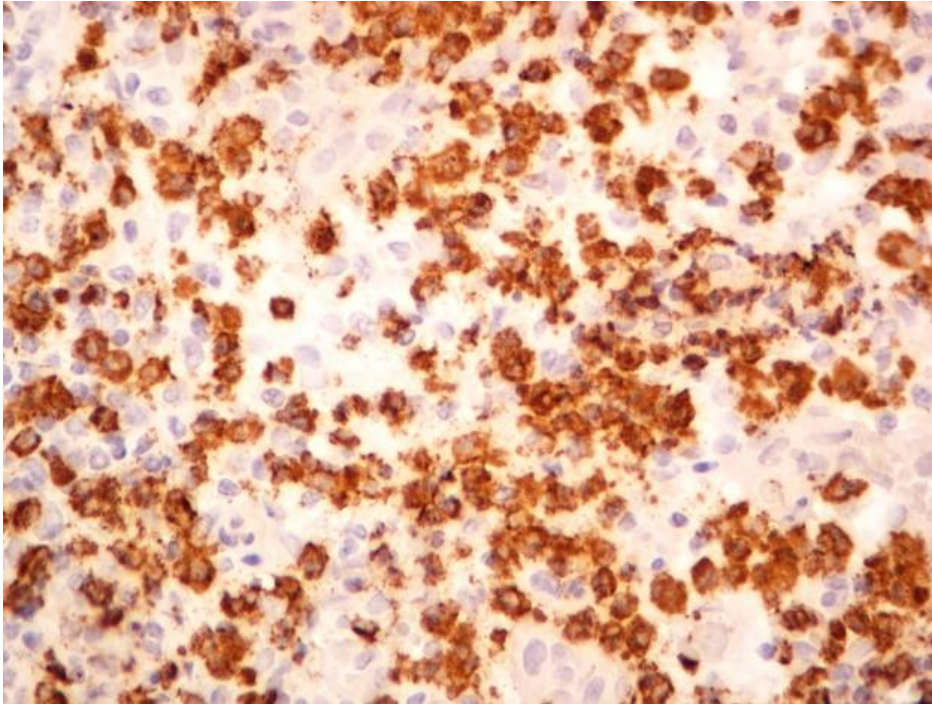
9 Figura 18 – Expressão ausente (0) de CD15 em um paciente do grupo SP.



10 Imunohistoquímica (400x).

11
12
13

- 1 Figura 19 – Expressão intensa (3+) de CD15 em um paciente do grupo CP.



2

3

4

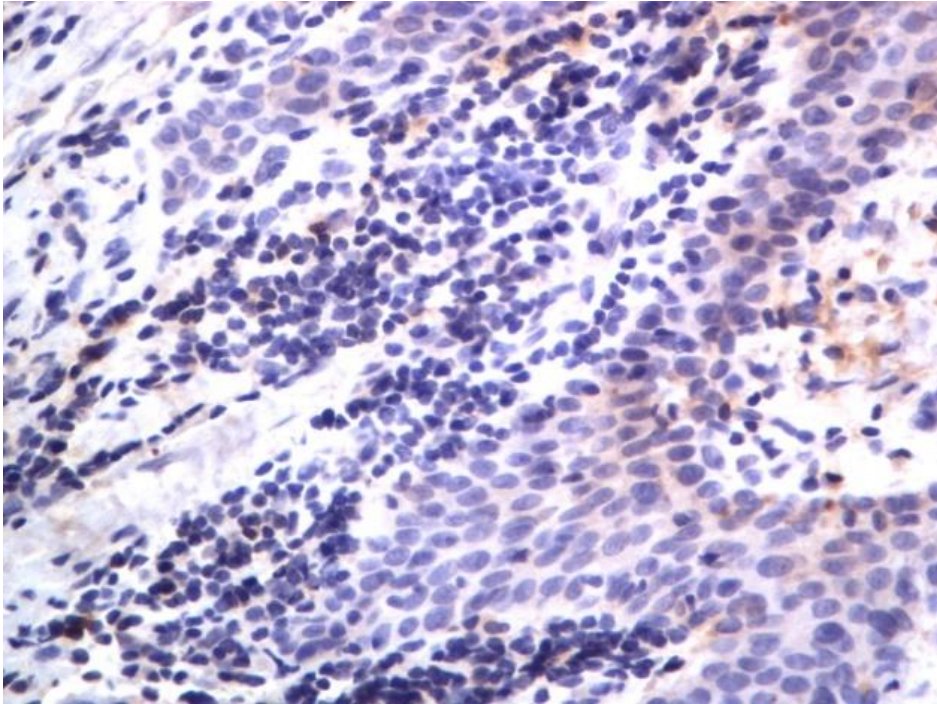
5

Imunohistoquímica (400x).

1 Não foi observada diferença significativa na comparação da expressão de CD57 nos
2 grupos CP e SP (Tabela 2) (Figuras 20 e 21).

3

4 Figura 20 – Expressão ausente (0) de CD57 em um paciente do grupo CP.



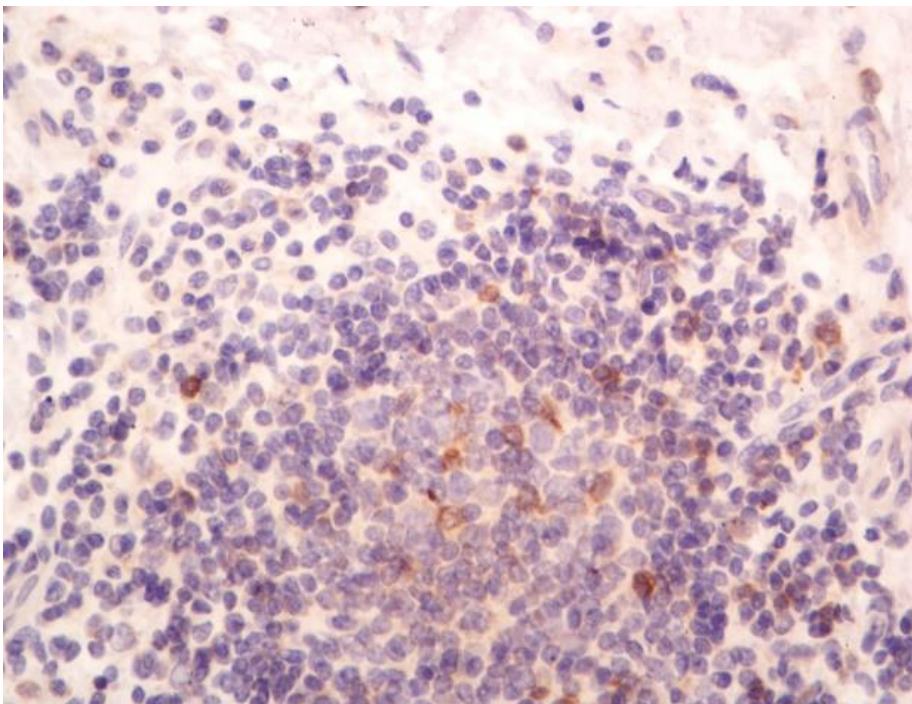
5

6 Imunohistoquímica (400x).

7

8

9 Figura 21 – Expressão leve (1+) de CD57 em um paciente do grupo CP.



10

11 Imunohistoquímica (400x).

1 Não foram observadas expressões ausente (0) e leve (1) de HIF-1 α nos grupos CP e
 2 SP. Sendo assim, foram comparados as expressões moderada (2) e intensa (3). O grupo CP
 3 apresentou maior expressão intensa de anti-HIF-1 α quando comparada ao grupo SP,
 4 estatisticamente significativa (p=0,048) (Tabela 3; Figuras 22 e 23).

5

6 Tabela 3 – Expressão de anti-HIF-1 α nos grupos com peri-implantite (CP) e sem peri-
 7 implantite (SP).

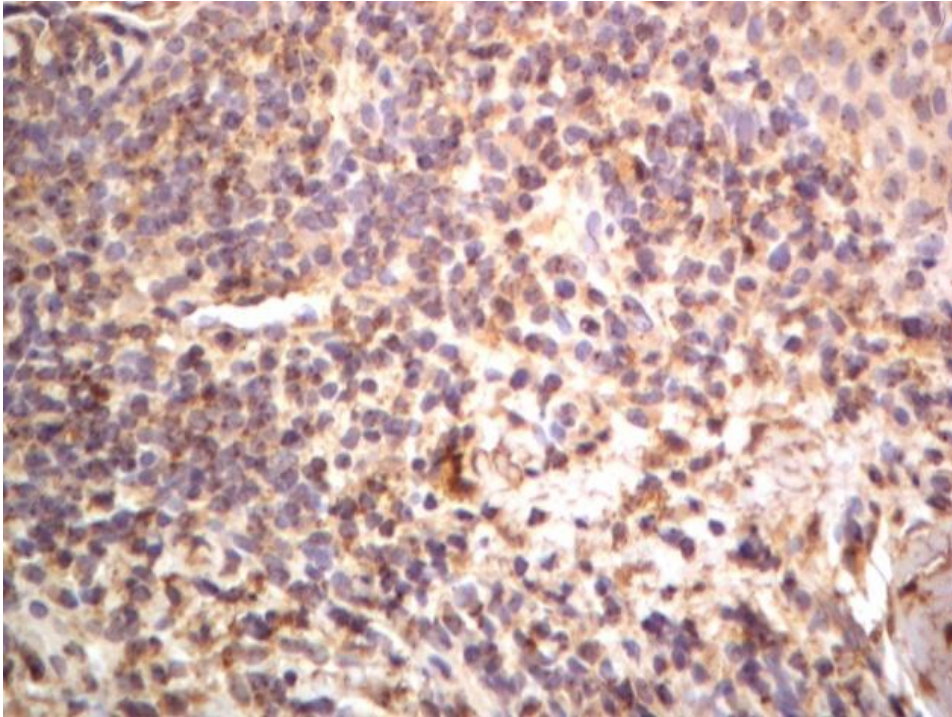
| Anticorpos | Grupo CP | | Grupo SP | |
|-----------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | Expressão moderada | Expressão intensa | Expressão moderada | Expressão intensa |
| HIF-1 α ^a | 9 | 9 | 9 | 1 |

8 ^a teste exato de Fisher p = 0,048

9

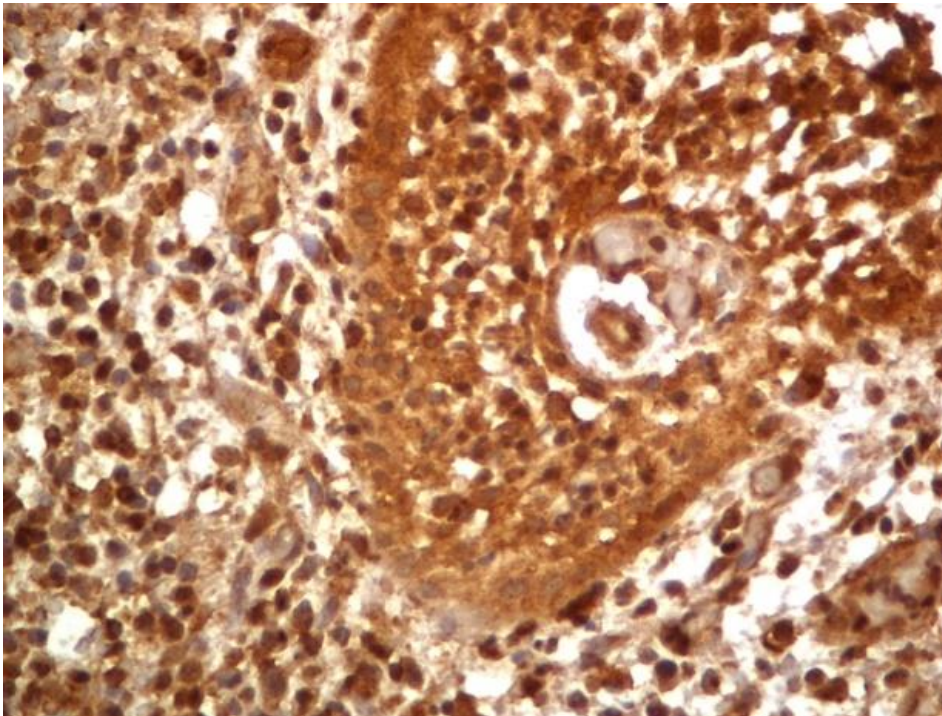
10

1 Figura 22 – Expressão moderada (2+) de HIF-1 α em um paciente do grupo SP.



2
3 Imunohistoquímica (400x).

4
5
6 Figura 23 – Expressão intensa (3+) de HIF-1 α em um paciente do grupo CP.



7
8 Imunohistoquímica (400x).
9

1 Houve correlação positiva e significativa entre exocitose e a expressão de CD15
 2 ($p=0,043$); entre exocitose e a expressão de CD57 ($p= 0,018$); entre a intensidade do infiltrado
 3 inflamatório e a expressão de CD57 ($p = 0,006$) (Tabela 4) (Figuras 24, 25 e 26).

4

5 Tabela 4 – Coeficientes de correlação de Spearman para expressão de CD15, CD57, HIF-1 α e
 6 alterações epiteliais.

| | CD15 | CD57 | HIF-1 α |
|-------------------------|--------------------|--------------------|----------------|
| CD57 | 0,375 | | |
| HIF-1 α | 0,255 | 0,248 | |
| Acantose | -0,130 | -0,120 | 0,161 |
| Exocitose | 0,415 ^a | 0,47 ^b | 0,307 |
| Infiltrado inflamatório | -0,004 | 0,535 ^c | 0,134 |

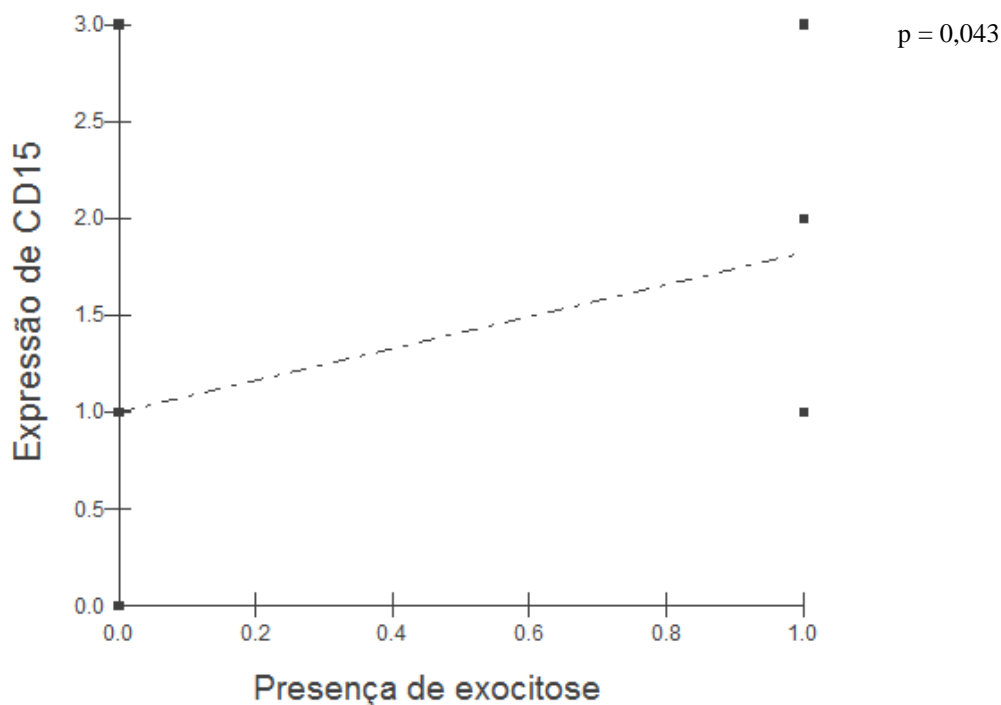
7 ^a Correlação de Spearman; $p = 0.043$.

8 ^b Correlação de Spearman; $p = 0.018$.

9 ^c Correlação de Spearman; $p = 0.006$.

10

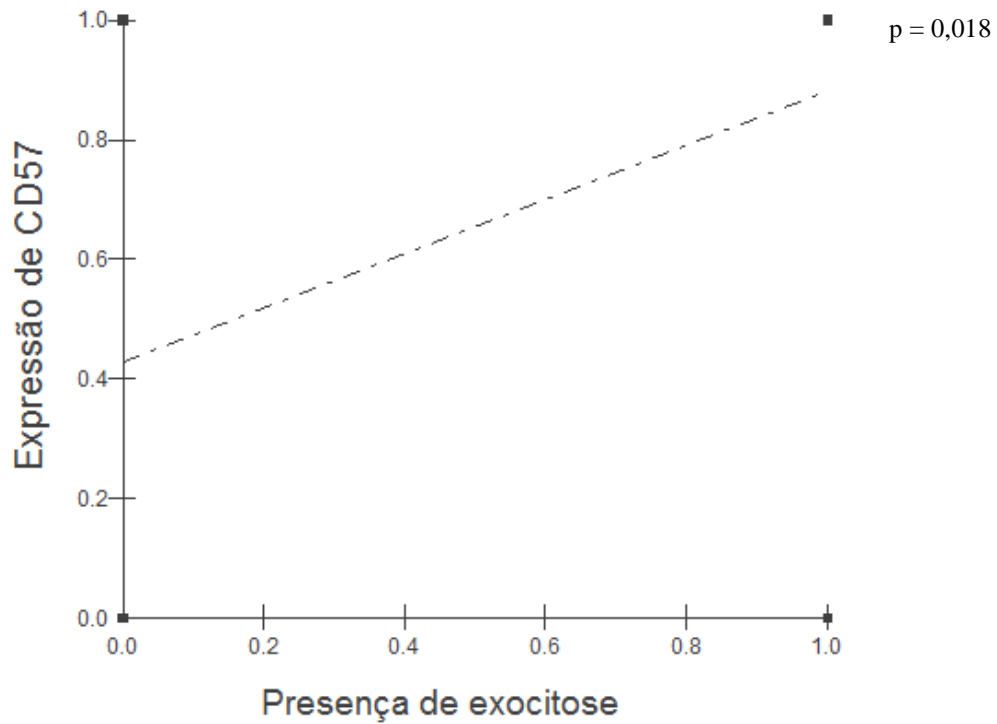
11 Figura 24 – Correlação entre presença de exocitose e expressão de CD15.



12

13 Correlação de Spearman; $p = 0,043$.

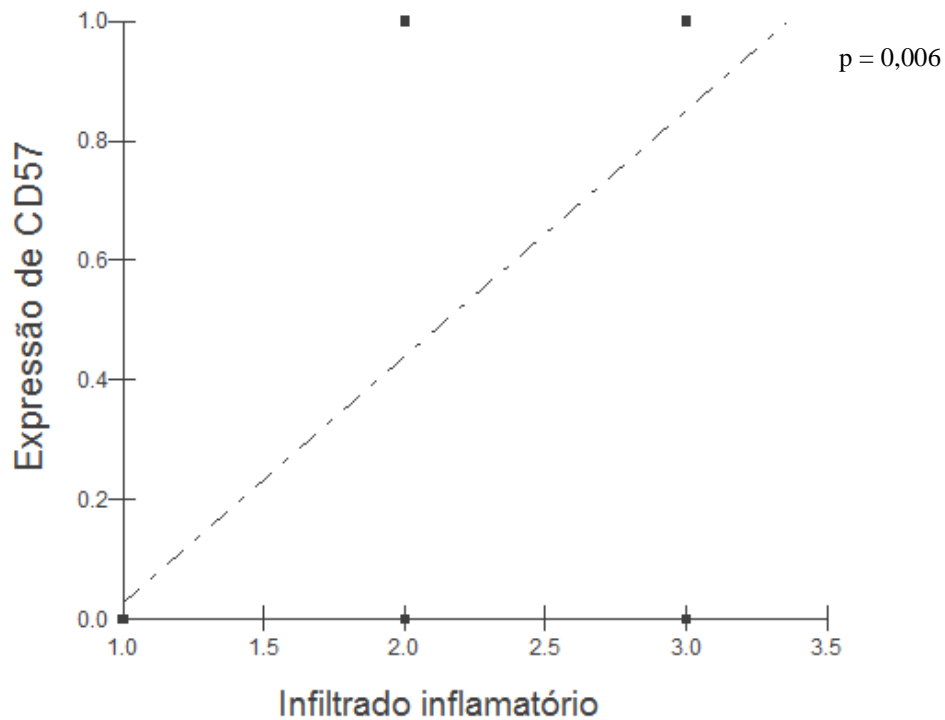
1 Figura 25 – Correlação entre presença de exocitose e expressão de CD57.



2
3
4

Correlação de Spearman; $p = 0,018$

5 Figura 26 – Correlação entre intensidade de infiltrado inflamatório e expressão de CD57.



6

7 Correlação de Spearman; $p = 0,006$.

DISCUSSÃO

1 7 DISCUSSÃO

2

3 No presente estudo foram analisadas características histopatológicas de amostras da
4 gengiva em locais com e sem peri-implantite. Foi observada a presença de acantose,
5 espongirose e exocitose nos dois grupos, sem diferença significativa com relação à acantose e
6 espongirose.

7 A acantose é definida como um espessamento excessivo da camada espinhosa do
8 epitélio escamoso, resultando no aumento e no alongamento de cristas epiteliais que se
9 projetam no tecido conjuntivo, não apresentando atipias celulares (HILDEBRAND *et al.*,
10 2010; SAPP; EVERSOLE; WYSOCKI, 2012). Tem sido relacionada com uma resposta a
11 irritações crônicas como próteses totais removíveis mal adaptadas, hábito de fumar ou mascar
12 tabaco e infecções, como a candidíase (SAPP; EVERSOLE; WYSOCKI, 2012). É um achado
13 comum nas camadas superiores do epitélio e pode representar uma resposta tissular
14 inespecífica à agressão (MONTEBUGNOLI, 2010). Como nenhum dos pacientes era
15 fumante, não utilizava prótese mal adaptada e não apresentava sinais de candidíase,
16 acreditamos que a acantose observada no grupo com peri-implantite e no grupo sem peri-
17 implantite decorra de trauma local que ocorre, por exemplo, durante a escovação e a
18 alimentação, e não esteja associada ao implante.

19 A espongirose ou edema intercelular é o acúmulo de fluido no espaço extracelular
20 resultando na separação das células epiteliais e, por vezes, destacando as junções existentes
21 entre elas (CAMPISI, 2009). Desordens iônicas podem contribuir para um aumento na
22 quantidade de líquido intra e extracelular (ALMEIDA *et al.*, 2013). Pode ser causada pela
23 ação de agentes nocivos ao epitélio (CAMPISI, 2009). No presente estudo, foi encontrada nos
24 dois grupos, sem diferença entre eles.

25 A exocitose de células inflamatórias é caracterizada pela migração destas células no
26 epitélio (KUMAR *et al.*, 2005). É mais frequente na gengiva que na bochecha e na língua e
27 também está associada a diversos fatores, dentre eles infecções locais ou sistêmicas como, por
28 exemplo, a síndrome da imunodeficiência humana (ALMEIDA *et al.*, 2013). No presente
29 estudo houve presença de exocitose maior no grupo com peri-implantite quando comparada
30 ao grupo sem peri-implantite e também correlação positiva e significativa entre a exocitose e

1 a imunomarcção para CD15, demonstrando que os neutrófilos também exercem atividade
2 relevante na destruição do tecido epitelial na peri-implantite.

3 Acreditamos que a presença de biofilme bacteriano na superfície dentária ou
4 implantar, próxima ao epitélio, representa um fator irritativo que faz com que os leucócitos se
5 mobilizem até o local para tentar conter a inflamação. Além disso, a cavidade oral tem contato
6 com meio externo, está sujeita a traumas mecânicos, químicos e térmicos que podem justificar
7 a ausência de diferença entre os grupos estudados. Por outro lado, não encontramos estudos
8 relacionando as alterações epiteliais como acantose, espongirose e exocitose à doenças peri-
9 implantares.

10 As infecções peri-implantares ocorrem em resposta à uma flora bacteriana
11 patogênica, sendo este um fator etiológico primordial (MOMBELLI *et al.*, 1998).
12 Normalmente as lesões inflamatórias peri-implantares iniciam-se como resultado do acúmulo
13 de placa bacteriana e progridem de forma semelhante ao que ocorre no periodonto, porém de
14 forma mais rápida e mais intensa devido a disposição paralela das fibras de colágeno neste
15 sítio (LANG *et al.*, 1997). Assim como a anatomia, o perfil microbiológico é semelhante em
16 lesões peri-implantares e periodontais, e incluem *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella*
17 *intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema*
18 *denticola* e *Fusobacterium nucleatum* entre os agentes etiológicos mais comuns (YONEDA *et*
19 *al.*, 2005; SHIBLI *et al.*, 2008).

20 Quando a placa dental bacteriana se acumula por muito tempo na superfície do
21 implante, o tecido conjuntivo subepitelial é infiltrado por grande número de células
22 inflamatórias e o epitélio pode tornar-se ulcerado, ocorrendo perda de aderência e quebra do
23 selamento biológico local com início de processo inflamatório decorrente do desequilíbrio
24 entre a agressão do microrganismo e a defesa do hospedeiro (REZENDE *et al.*, 2005).
25 Quando o biofilme continua a migrar em direção apical, aparecem os sinais clínicos e
26 radiológicos de destruição do tecido, principalmente por degradação do colágeno e reabsorção
27 óssea, devido à presença de enzimas proteolíticas e células osteoclásticas (SALLUM; SILVA
28 FILHO; SALLUM, 2008). Estes dados corroboram a maior profundidade de sondagem
29 observada nos casos com peri-implantite do presente estudo.

30 A doença peri-implantar é caracterizada por aumento na profundidade da sondagem
31 advinda da perda óssea e consequente formação de uma bolsa peri-implantar. As lesões peri-
32 implantares apresentam grande quantidade de plasmócitos, linfócitos, macrófagos e

1 neutrófilos que se estendem para a posição apical da bolsa e frequentemente atingem o tecido
2 ósseo.

3 O acúmulo de biofilme e a contaminação microbiana dos tecidos peri-implantares
4 causam inflamação e conseqüentemente exsudação de células inflamatórias e
5 neovascularização (PETKOVIC-CURCIN *et al.*, 2011). Neste estudo observamos maior
6 intensidade do infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo no grupo com peri-implantite.
7 Observamos também sangramento marginal apenas no grupo com peri-implantite. Nossos
8 resultados concordam com outros que demonstraram aumento da permeabilidade vascular e
9 exsudação de leucócitos na doença periodontal, os quais liberam enzimas que causam
10 destruição dos tecidos, incluindo destruição da parede vascular, contribuindo ainda mais para
11 o quadro hemorrágico observado no processo inflamatório (ALBOUY; ABRAHAMSSON;
12 BERGLUNDH, 2012; JUNG *et al.*, 2012). Por outro lado, a ação de enzimas leucocitárias
13 causando a destruição dos tecidos pode promover a degradação das fibras colágenas que, por
14 serem apenas paralelas à superfície do implante, seriam mais sensíveis à lise, justificando a
15 maior profundidade de sondagem observada no grupo com peri-implantite.

16 Encontramos maior expressão de células imunomarcadas pelo anticorpo anti-CD15
17 no grupo com peri-implantite. O CD15 ou 3-fucosyl-N-acetyllactosamine é uma proteína
18 transmembrana encontrada na superfície de neutrófilos (PINKUS *et al.*, 1985). Sabe-se que,
19 frente à agressão bacteriana uma importante população leucocitária é representada pelos
20 neutrófilos, leucócitos polimorfonucleares, que são mobilizados em infecções agudas. Há
21 relatos na literatura demonstrando maiores quantidades de substâncias derivadas de neutrófilos,
22 como β -glucuronidase, colagenase e elastase, no fluido crevicular (LAMSTER *et al.*, 2003;
23 GUSTAFSSON; ASMAN, 1996) e em tecido de biópsia (GUALINI; BERGLUNDH, 2003)
24 em pacientes com periodontite quando comparados com pacientes sem periodontite. Desta
25 forma, os autores concluíram que o aumento da liberação de elastase por neutrófilos em
26 pacientes com periodontite indicaria uma reação inflamatória tecidual destrutiva
27 (GUSTAFSSON; ASMAN, 1996). Os neutrófilos são muito importantes na fagocitose e
28 digestão de agentes estranhos, sobretudo bactérias (WEISS, 1989; PILLAI; ABBAS;
29 LICHTMAN, 2015). Sendo assim, por ser frequentemente provocada por infecção bacteriana,
30 o fato de encontrarmos maior expressão de anti-CD15 no grupo com peri-implantite corrobora
31 o fato de a peri-implantite ser uma doença inflamatória causada por bactérias
32 (GUSTAFSSON; ASMAN; BERGSTRIIM, 2000).

1 Observamos ainda expressão fraca do anticorpo anti-CD57 nos dois grupos, sem
2 diferença significativa. O anti-CD57 (anti-NK-1) evidencia um subconjunto de linfócitos
3 conhecidos como células citotóxicas naturais (NKC, *Natural Killer Cells*). As NKC são uma
4 variedade de linfócitos diferentes dos T e B por apresentarem efeito citotóxico natural,
5 independentemente de sensibilização e ativação prévias (PILLAI; ABBAS; LICHTMAN,
6 2015). Embora não tenhamos encontrado outros estudos relacionando as células NKC com
7 doenças peri-implantares, pesquisas realizadas em biópsias gengivais humanas apontam que,
8 embora mesmo sendo pouco clara, há uma elevação de NKC imunomarcadas com o CD57 em
9 pacientes com doença periodontal quando comparado a pacientes controle (YAMAZAKI;
10 OHSAWA; YOSHIE, 2001; STELIN *et al.*, 2009; KRÄMER *et al.*, 2013). Em nosso estudo,
11 de modo diferente, não encontramos diferença entre os grupos quanto à imunomarcagem pelo
12 anti-CD57. As NKC também exercem atividade citotóxica contra células cancerosas e células
13 infectadas por vírus ou parasitas intracelulares (PILLAI; ABBAS; LICHTMAN, 2015).
14 Tendo em vista que a peri-implantite é provavelmente iniciada por bactérias, acreditamos que,
15 como as NKC tem ação principalmente em células infectadas por vírus, seja justificável a
16 fraca expressão deste anticorpo observada em nosso estudo.

17 As membranas mucosas de animais são normalmente colonizadas por uma ampla e
18 diversa flora microbiana. Particularmente na cavidade oral, a flora bacteriana é constituída por
19 anaeróbios facultativos, uma vez que a tensão do oxigênio na boca está em torno de 12 a 14%,
20 sendo em torno de 21% para o ar atmosférico fora da cavidade oral e ainda mais baixa no
21 interior de uma bolsa periodontal, em torno de 1 a 2% (NISENGARD, 1997). Na doença
22 periodontal, as bactérias presentes na bolsa periodontal promovem um local com redução dos
23 níveis de oxigênio (GÖLZ *et al.*, 2015). Além da doença periodontal, outras condições
24 promovem situação de hipóxia, como por exemplo a mastigação (GÖLZ *et al.*, 2015). Não
25 encontramos estudos relatando associação entre hipóxia e peri-implantite. Uma forma de
26 mensurar a hipóxia num tecido é a avaliação da expressão do fator indutor de hipóxia 1 alfa
27 (HIF-1 α). Em condições normais de suprimento de oxigênio, a subunidade HIF-1 α é
28 rapidamente degradada em decorrência da ação de enzimas prolil-hidroxilases que promovem
29 a hidroxilação dos resíduos de prolina presentes em um dos domínios da HIF-1 α (SEMENZA,
30 2004; BERCHNER-PFANNSCHMIDT *et al.*, 2008). Quando a disponibilidade de oxigênio é
31 reduzida, não ocorre a hidroxilação e a subunidade HIF-1 α não degradada permanece estável
32 no citoplasma. O acúmulo citoplasmático do HIF-1 α permite sua translocação para o núcleo e

1 posterior dimerização com a subunidade β . Juntas, estas subunidades constituem o fator de
2 transcrição HIF-1 (SEMENZA, 2004; BERCHNER-PFANNSCHMIDT *et al.*, 2008). O
3 complexo HIF-1 liga-se ao núcleo nas regiões correspondentes aos chamados elementos
4 responsivos de hipóxia, que estão localizados nas regiões promotora ou amplificadora dos
5 genes alvo (ZAREMBER; MALECH, 2005; BERCHNER-PFANNSCHMIDT *et al.*, 2008).
6 Em nosso estudo, a expressão de HIF-1 α foi significativamente mais intensa no grupo com
7 peri-implantite, embora houvesse expressão no grupo sem peri-implantite. Mesmo em
8 condições de normóxia é observada a presença do HIF-1 α no meio extracelular, devido
9 provavelmente à ação constante de bactérias anaeróbias na cavidade oral, ou mesmo pela ação
10 da mastigação (GÖLZ *et al.*, 2015). Entretanto, a expressão significativamente mais forte no
11 estroma no grupo com peri-implantite nos faz concluir que a hipóxia represente um fator
12 importante na patogênese da doença peri-implantar, de modo semelhante ao descrito na
13 doença periodontal (NG *et al.*, 2011).
14

CONCLUSÃO

1 **8 CONCLUSÃO**

2

3 A expressão significativamente mais forte de HIF-1 α no grupo com peri-implantite
4 nos leva a concluir que, além da infecção bacteriana, a hipóxia representaria um fator
5 importante na patogênese da doença peri-implantar. Além disso sugerimos que, embora a
6 inflamação e a exocitose tenham sido mais intensas nos pacientes com peri-implantite, a
7 acantose e a espongiose não seriam alterações epiteliais típicas dessa doença.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABRAHANSSOM, I. *et al.* Peri-implant tissues at submerged and non-submerged titanium implants. An experimental study in dogs. **Journal of clinical periodontology**, v. 26, p. 600-607, 1999.
- ABRAHANSSOM, I. *et al.* The mucosal attachment at different abutments. An experimental study in dogs. **Journal of clinical periodontology**, v. 25, p. 721-727, 1998.
- ABRAHANSSON, I.; SOLDINI, C. Probe penetration in periodontal and periimplant tissues. **Clinical oral implants research**, v. 17, p. 601-605, 2006.
- ALBOUY, J.P.; ABRAHAMSSON, I.; BERGLUNDH, T. Spontaneous progression of experimental peri-implantitis at implants with different surface characteristics: an experimental study in dogs. **Journal of clinical periodontology**, v. 39, n. 2, p. 182-187, 2012.
- ALBREKTSSON, T. *et al.* Osseointegrated titanium implants: requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v. 52, n. 2, p. 155-170, 1981.
- ALMEIDA, E.C.S. *et al.* Oral epithelial changes in HIV-positive individuals. **Pathology, research and practice**, v. 209, n. 7, p. 399-403, 2013.
- AMERICAN ACADEMY OF IMPLANT DENTISTRY. **Glossary of implant terms**, 2016. Disponível em: <http://www.brightcopy.net/allen/orim/Glossary/index.php#/0>. Acesso em 26 ago 2016.
- ARAUJO, M.; LUBIANA, N.F. Características dos tecidos periimplantares. **Periodontia**, v. 18, n. 4, p. 8-13, 2008.
- ATA-ALI, J. *et al.* Clinical, microbiologic, and host response characteristics in patients with peri-implant mucositis. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 28, n. 3, p. 883-890, 2013.
- ATSUTA, I. *et al.* Ultrastructural localization of laminin-5 (gamma2 chain) in the rat peri-implant oral mucosa around a titanium-dental implant by immuno-electron microscopy. **Biomaterials**, v. 26, n. 32, p. 6280-6287, 2005.
- BARBATO, P. R. *et al.* Contextual and individual indicators associated with the presence of teeth in adults. **Revista de saúde pública**, v. 49, p. 1-10, 2015.
- BERCHNER-PFANNSCHMIDT, U. *et al.* Imaging of the hypoxia-inducible factor pathway: insights into oxygen sensing. **The European respiratory journal**, v. 32, n. 1, p. 210-217, 2008.

BERGLUNDH, T. *et al.* Morphogenesis of the peri-implant mucosa: an experimental study in dogs. **Clinical oral implants research**, v. 18:, p. 1-8, 2007.

BERGLUNDH, T. *et al.* Histopathological observations of human periimplantitis lesions. **Journal of clinical periodontology**, v. 31, n. 5, p. 341-347, 2004.

BERGLUNDH, T. *et al.* The soft tissue barrier at implants and teeth. **Clinical oral implants research**, v. 2, n. 2, p. 81-90, 1991.

BERGLUNDH, T.; LINDHE, J. Dimensions of the peri-implant mucosa. Biological width revised. **Journal of clinical periodontology**, v. 23, p. 971-973, 1996.

BERGLUNDH, T.; PERSSON, L.; KLINGE, B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. **Journal of clinical periodontology**, v. 29, n. 3, p. 197-212, 2002.

BRANEMARK, P.I. *et al.* Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. **Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery**, v. 3, n. 2, p. 81-100, 1969.

BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo patologia**. 8. ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 2011, 1501p.

BULLON, P. *et al.* Immunohistochemical analysis of soft tissues in implants with healthy and peri-implantitis condition, and aggressive periodontitis. **Clinical oral implants research**, v. 15, n. 5, p. 553-559, 2004.

BUSER, D.; WEBER, H.P.; BRÄGGER, U. The treatment of partially edentulous patients with ITI hollow-screw implants: presurgical evaluation and surgical procedures. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 5, n. 2, p. 165-175, 1990.

CAMPISI, G. *et al.* Histomorphology of healthy oral mucosa in untreated celiac patients: Unexpected association with spongiosis. **Journal of oral pathology & medicine**, v. 38, n. 1, p. 34-41, 2009.

NEWMAN, M.G. *et al.* **Carranza Periodontia clínica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

CHARALAMPAKIS, G. *et al.* Clinical and microbiological characteristics of peri-implantitis cases: a retrospective multicenter study. **Clinical oral implants research**, v. 23, n. 9, p. 1045-1054, 2012.

CHIAPASCO, M.; ROMEO, E. **Reabilitação oral com prótese implantossuportada para casos complexos**. Editora Santos, 2007.

CONSOLARO, A. *et al.* Saucerization of osseointegrated implants and planning of simultaneous orthodontic clinical cases. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 15, n. 3, p. 19-30, 2010.

CORTELLI, S.C. *et al.* Frequency of periodontal pathogens in equivalent peri-implant and periodontal clinical statuses. **Archives of oral biology**, v. 58, n. 1, p. 67-74, 2013.

COSYN, J. *et al.* The Periimplant Sulcus Compared with Internal Implant and Suprastructure Components: A Microbiological Analysis. **Clinical implant dentistry and related research**, v. 13, n. 4, p. 286-295, 2011.

DE MENDONÇA, A.C. *et al.* Tumor necrosis factor-alpha levels after surgical anti-infective mechanical therapy for peri-implantitis: a 12-month follow-up. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 4, p. 693-699, 2009.

DUARTE, P.M. *et al.* Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human periimplant diseases. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 2, p. 234-243, 2009.

ESPOSITO, M. *et al.* Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants,(II). Etiopathogenesis. **European journal of oral sciences**, v. 106, n. 3, p. 721-764, 1998.

FERREIRA, S. D. *et al.* Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. **Journal of clinical periodontology**, v. 33, n. 12, p. 929-935, 2006.

FRANSSON, C. *et al.* Severity and pattern of periimplantitis – associated bone loss. **Journal of clinical periodontology**, v. 37, n. 5, p. 442-448, 2010.

GARTNER, L. P.; HIATT, L. J. **Tratado de histologia em cores**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

GEORGE, K. Clinical and microbiological status of osseointegrated implants. **Journal of periodontology**, v. 65, n. 8, p. 766-770, 1994.

GÖLZ, L. *et al.* Hypoxia and *P. gingivalis* synergistically induce HIF-1 and NF- κ B activation in PDL cells and periodontal diseases. **Mediators of inflammation**, v. 2015, 2015.

GOULD, T.R.L.; WESTBURY, L.; BRUNETTE, D.M. Ultrastructural study of the attachment of human gingival to titanium in vivo. **The Journal of prosthetic dentistry**, v. 52, n. 3, p. 418-420, 1984.

GUALINI, F.; BERGLUNDH, T. Immunohistochemical characteristics of inflammatory lesions at implants. **Journal of clinical periodontology**, v. 30, n. 1, p. 14-18, 2003.

GUSTAFSSON, A.; ÅSMAN, B. Increased release of free oxygen radicals from peripheral neutrophils in adult periodontitis after Fc γ -receptor stimulation. **Journal of clinical periodontology**, v. 23, n. 1, p. 38-44, 1996.

GUSTAFSSON, A.; ÅSMAN, B.; BERGSTRÖM, K. Cigarette smoking as an aggravating factor in inflammatory tissue-destructive diseases. Increase in tumor necrosis Factor- α priming of peripheral neutrophils measured as generation of oxygen radicals. **International journal of clinical & laboratory research**, v. 30, n. 4, p. 187-190, 2000.

HÄMMERLE, C.H.F.; GLAUSER, R. Clinical evaluation of dental implant treatment. **Periodontology** 2000, v. 34, n. 1, p. 230-239, 2004.

HAUSER-GERSPACH, I. *et al.* Influence of gaseous ozone in periimplantitis: bactericidal efficacy and cellular response. An in vitro study using titanium and zirconia. **Clinical oral investigation**, v. 16, n. 4, p. 1049-1059, 2011.

HEASMAN, P., ESMAIL, Z., BARCLAY, C. Peri-implant diseases. **Dental update**, v. 37, n. 8, p. 511-512, 2010.

HEITZ-MAYFIELD, L. J. Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. **Journal of clinical periodontology**, v. 35, n. 8, p. 292-304, 2008.

HILDEBRAND, L. D. C. *et al.* Evaluation of cell proliferation rate in non-dysplastic leukoplakias. **Medicina oral, patología oral y cirugía bucal**, v. 15, n. 2, p. e328-e334, 2010.

HULTIN, M. *et al.* Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. **Clinical oral implants research**, v. 13, n. 4, p. 349-358, 2002.

JEPSEN, S. *et al.* Progressive peri-implantitis. Incidence and prediction of peri-implant attachment loss. **Clinical oral implants research**, v. 7, n. 2, p. 133-142, 1996.

JUNG, S.R. *et al.* Histological analysis of soft and hard tissues in a periimplantitis Lesion: A Human Case Report. **Implant dentistry**, v. 21, n. 3, p. 186-189, 2012.

KRÄMER, B. *et al.* Role of the NK cell-activating receptor CRACC in periodontitis. **Infection and immunity**, v. 81, n. 3, p. 690-696, 2013.

KUMAR, M. *et al.* Let-7 microRNA-mediated regulation of IL-13 and allergic airway inflammation. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 128, n. 5, p. 1077-1085, 2011.

LANG, K. *et al.* Histologic probe penetration in healthy and inflamed peri-implant tissues. **Clinical oral implants research**, v. 5, n. 4, p. 191-201, 1994.

LANG, N. *et al.* Clinical trials on therapies for peri-implant infections. **Annals of periodontology**, v. 2, n. 1, p. 343-356, 1997.

LANG, N.; WILSON, T.G.; CORBET, E.F. Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment. **Clinical oral implants research**, v. 11, n. s1, p. 146-155, 2000.

LAMSTER, I. B. *et al.* β -glucuronidase activity in saliva: relationship to clinical periodontal parameters. **Journal of periodontology**, v. 74, n. 3, p. 353-359, 2003.

LINDHE, J. *et al.* Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. **Clinical oral implants research**, v. 3, n. 1, p.9-16, 1992.

LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N.P. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 1304p.

LISKMANN, S. *et al.* Correlation between clinical parameters and interleukin-6 and interleukin-10 levels in saliva from totally edentulous patients with peri-implant disease. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 21, n. 4, p. 543-550, 2006.

LUTERBACHER, S. Diagnostic characteristics of clinical and microbiological tests for monitoring periodontal and peri-implant mucosal tissue conditions during supportive periodontal therapy (SPT). **Clinical oral implants research**, v. 11, n. 6, p. 521-529, 2000.

MERICSKÉ-STERN, R. *et al.* Peri-implant mucosal aspects of ITI implants supporting overdentures. A five-year longitudinal study. **Clinical oral implants research**, v. 5, n. 1, p. 9-18, 1994.

MISCH, C. E. **Implantes dentais contemporâneos**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

MISCH, C.E. *et al.* Implant success, survival, and failure: the International Congress of Oral Implantologists (ICOI) Pisa Consensus Conference. **Implant dentistry**, v. 17, n. 1, p. 5-15, 2008.

MOMBELLI, A. *et al.* The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. **Oral microbiology and immunology**, v. 2, n. 4, p. 145-151, 1987.

MOMBELLI, A.; LANG, N. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. **Periodontology 2000**, v. 17, p. 63-76, 1998.

MONTEBUGNOLI, L. *et al.* Glycogenic acanthosis presenting as leukoplakia on the tongue. **BMJ case reports**, v. 2010, 2010.

NG, K. T. *et al.* Expression of hypoxia-inducible factor-1 α in human periodontal tissue. **Journal of periodontology**, v. 82, n. 1, p. 136-141, 2011.

NISENGARD, R. J. **Microbiologia oral e imunologia**. Guanabara Koogan, 1997.

OPPERMANN, R. V.; GOMES, S. C.; FIORINI, T. Epidemiologia e fatores de risco para as doenças periimplantares. **Periodontia**, v. 18, n. 4, p. 14-21, 2008.

PETKOVIĆ-CURCIN, A. *et al.* Cytokines in pathogenesis of peri-implantitis. **Vojnosanitetski pregled**, v. 68, n. 5, p. 435-440, 2011.

PILLAI, Shiv; ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew HH. **Imunologia celular e molecular**. Elsevier Brasil, 2015.

PINKUS, G. S. *et al.* Leu-M1-a marker for Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease. An immunoperoxidase study of paraffin-embedded tissues. **The American journal of pathology**, v. 119, n. 2, p. 244-252, 1985.

REAL-OSUNA, J.; ALMENDROS-MARQUÉS, N.; GAY-ESCODA, C. Prevalence of complications after the oral rehabilitation with implant-supported hybrid prostheses. **Medicina oral, patología oral y cirugía bucal**, v. 17, n. 1, p. 116-121, 2012.

REZENDE, C. P. *et al.* Peri-implantite. **Revista Gaúcha de Odontologia**. v. 53, n. 4, p. 321-324, 2005.

RITCHIE, A. W.; JAMES, K.; MICKLEM, H. S. The distribution and possible significance of cells identified in human lymphoid tissue by the monoclonal antibody HNK-1. **Clinical and experimental immunology**, v. 51, n. 3, p. 439, 1983.

ROMITO, G.A.; SARAIVA, L.; FREITAS, N.M. Diagnóstico clínico e complementar das doenças periimplantares. **Periodontia**, v. 18, n. 4, p.40-43, 2008.

SAINTRAIN, M. V.; DE SOUZA, E. H. Impact of tooth loss on the quality of life. **Gerodontology**, v. 29, n. 2, p. 632-636, 2012.

SALLUM, A. W.; SILVA FILHO, W. L. S.; SALLUM, E. A. Etiopatogenia da doença periimplantar. **Periodontia**, v. 18, n. 4, p. 22-29, 2008.

SÁNCHEZ-GARCÉS, M. A.; GAY-ESCODA, C. Periimplantitis. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 9, p. 69-74, 2004.

SAPP, J. P.; EVERSOLE, L. R.; WYSOCKI, G.P. **Patologia Bucomaxilofacial Contemporânea**. Editora Santos, 2012.

SCHWARZ, F. *et al.* Healing of intrabony peri-implantitis defects following application of a nanocrystalline hydroxyapatite (Ostim™) or a bovine-derived xenograft (Bio-Oss™) in combination with a collagen membrane (Bio-Gide™). A case series. **Journal of clinical periodontology**, v. 33, n. 7, p. 491-499, 2006.

SEMBEROVA, J. *et al.* The immune status in situ of recurrent tonsillitis and idiopathic tonsillar hypertrophy. **Bratislavské lekárske listy**, v. 114, n. 3, p. 140-4, 2013.

SEMENZA, G. L. Hydroxylation of HIF-1: oxygen sensing at the molecular level. **Physiology**, v. 19, n. 4, p. 176-182, 2004.

SHIBLI, J. A. *et al.* Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. **Clinical oral implants research**, v. 19, n. 10, p. 975-82, 2008.

STELIN, S. *et al.* Immunohistological analysis of CD1a+ langerhans cells and CD57+ natural killer cells in healthy and diseased human gingival tissue: A comparative study. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 13, n. 3, p.150, 2009.

TETÈ, S. *et al.* Collagen fiber orientation around machined titanium and zirconia dental implant necks: an animal study. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 24, n. 1, p. 52-58, 2009.

WEISS, S. J. Tissue destruction by neutrophils. **The New England journal of medicine**, v. 320, n. 6, p. 365-376, 1989.

WELLANDER, M.; ABRAHANSSOM, I.; BERGLUNDH, T. The mucosa barrier at implant abutment of different materials. **Clinical oral implants research**, v. 19, p. 635-641, 2008.

WOLF, H.F.; RATEITSCHAK, K.H. **Periodontia**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 532p.

YAMAZAKI, K. *et al.* Elevated proportion of natural killer T cells in periodontitis lesions: a common feature of chronic inflammatory diseases. **The American journal of pathology**, v. 158, n. 4, p.1391-1398, 2001.

YEUNG, S. C. Biological basis for soft tissue management in implant dentistry. **Australian dental journal**, v. 53, p. 39-42, 2008.

YONEDA, M. *et al.* Stimulation of growth of porphyromonas gingivalis by cell extracts from Tannerella forsythia. **Journal of periodontal research**, v. 40, p. 105-109, 2005.

ZAREMBER, K. A.; MALECH, H. L. HIF-1 α : a master regulator of innate host defenses?. **The Journal of clinical investigation**, v. 115, n. 7, p. 1702-1704, 2005.

ZITZMANN, N. U.; BERGLUNDH, T. Definition and prevalence of peri-implant disease. **Journal of clinical periodontology**, v. 35, n. 8, p. 286-291, 2008.

ANEXOS

ANEXO A – APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Ministério da Educação

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Av. Frei Paulino, 30 (Centro Educacional e Administrativo da UFTM) – 2º andar, Sala H – Bairro Abadia

38025-180 - Uberaba-MG - TELEFAX: 34-3318-5854

E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que o Projeto denominado AVALIAÇÃO DA MUCOSA PERIIMPLANTAR EM PACIENTES COM PERIIMPLANTITE UTILIZANDO HISTOQUÍMICA, IMUNOHISTOQUÍMICA E ELISA, de autoria de SANÍVIA APARECIDA L. PEREIRA (pesquisadora responsável), foi protocolado para análise no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro sob o nº 1657 e considerado aprovado em reunião do dia 6/8/2010.

Uberaba, 29 de novembro de 2012.

pl *73*
Maria José Ferrreira de Sousa
Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa da UFTM

ANEXO B – ANAMNESE



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO - Uberaba-MG

Data: ____/____/____ Prontuário: _____

Nome: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Sexo: ____ Estado civil: _____

Endereço: _____ Bairro: _____

Telefone: _____ (com) _____ celular: _____

Profissão: _____ Raça: _____

Gênero: () masculino () feminino Gravidez: () sim () não

Implantes: _____

Motivo da perda os dentes: _____

1) Sistema cardiovascular

- Pressão arterial: _____ hipertensão arterial () sim () não

- outras cardiopatias (angina, infarto, AVC ou derrame, insuficiência cardíaca congestiva, marcapso cardíaco, endocardite bacteriana, cardiopatia isquêmica, reumática, chagásica, prolapso...) _____

2) Sistema respiratório (asma, pneumonia, bronquite, enfisema, fibrose...)

() sim () não _____

3) Sistema digestório (gastrites, úlceras...)

() sim () não _____

4) Sistema genito-urinário (cistite, nefrite, insuficiência renal...)

() sim () não _____

5) Sistema endócrino (diabetes, tireoidite, paratireoidismo...)

() sim () não _____

6) Alergias

() sim () não _____

7) Distúrbios hemorrágicos (distúrbios de coagulação, púrpuras...)

() sim () não _____

8) Discrasias sanguíneas (leucemia, agranulocitose...)

() sim () não _____

9) Doenças infecciosas (hepatite, DST, AIDS, tuberculose...)

sim não _____

10) Tabagismo

sim não Quantos cigarros por dia: _____

ex-fumante Há quanto tempo não fuma? _____

fumante passivo _____

11) Sedentarismo sim não _____

12) Índice de massa corporal (IMC) = peso / (altura)² - peso= altura=

13) Está sob tratamento médico? sim não _____

14) Faz uso de algum medicamento? sim não _____

15) Possui alguma neoplasia (tumores)? sim não _____

16) Possui alguma doença auto-imune (pênfigo, tireoidite de Hashimoto ...)

sim não _____

17) Toma algum medicamento com ação imunossupressora?

sim não _____

18) Deficiência de vitamina C? _____ Inger fontes de vitamina C? _____

19) Osteoporose sim não _____

20) Já teve problemas periodontite antes da colocação do implante? sim não

21) Se a resposta anterior foi sim: Fez tratamento periodontal?

sim não quando? _____

22) Condição dental (coroa)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|---------------|
| 18 | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | Índice | Condição |
| | | | | | | | | | | | | | | | | 0 | Dente natural |
| | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | Ausente |
| 48 | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 2 | Implante |

23) Higienização satisfatória deficiente

24) Sangramento à sondagem (somente no implante)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|----------|
| 18 | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | Índice | Condição |
| | | | | | | | | | | | | | | | | 0 | Ausência |
| | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | Presença |
| 48 | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | | |

25) Supuração (somente no implante)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------|----------|
| 18 | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | Índice | Condição |
| | | | | | | | | | | | | | | | | 0 | Ausência |
| | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | Presença |
| 48 | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | | |

26) Profundidade de sondagem (em milímetros) do(s) implante(s):

| Implante (dente) | Recessão | | | | Profundidade de sondagem | | | | Sangramento | | | |
|------------------|----------|----|----|----|--------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|
| | V= | L= | M= | D= | V= | L= | M= | D= | V= | L= | M= | D= |
| | V= | L= | M= | D= | V= | L= | M= | D= | V= | L= | M= | D= |
| | V= | L= | M= | D= | V= | L= | M= | D= | V= | L= | M= | D= |

| Implante (dente) | Tipo de implante | Data do implante | Data do cicatrizador | Data de instalação da prótese sobreimplante |
|------------------|------------------|------------------|----------------------|---|
| | | | | |
| | | | | |

27) Há antagonista ao implante? () sim () não
 () dente natural () prótese removível () prótese fixa

28) Implante com coroa:
 () sem coroa () provisória () definitiva Qual material? _____
 Em que condição encontra-se? () satisfatória () insatisfatória

 Assinatura do paciente

ANEXO C – TERMO DE ESCLARECIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO - Uberaba-MG

TERMO DE ESCLARECIMENTO

Periimplantite é um termo utilizado para identificar o processo de inflamação que ocorre em torno de um implante dentário. O diagnóstico desta doença é extremamente importante, pois se não for identificada e tratada, pode levar à perda do implante. O presente estudo “*Avaliação da mucosa perimplantar em pacientes com periimplantite utilizando histoquímica, imuno-histoquímica e ELISA*” tem como objetivo avaliar a resposta inflamatória observada em implantes dentários, utilizando métodos laboratoriais (histoquímica, imuno-histoquímica e ELISA) e verificar se essa resposta está aumentada em pacientes fumantes e portadores de diabetes mellitus. Como os avanços na área da saúde ocorrem através de estudos como este, sua participação é importante. Caso você participe, será necessário fazermos coletas de amostra de tecido gengival (biópsia), exames radiográficos, perguntas sobre sua saúde geral e odontológica. Este estudo permitirá identificar se você tem periimplantite e também lhe oferecerá todo o suporte de informações sobre sua prevenção e tratamento. Não será feito nenhum procedimento que traga risco a sua vida ou maior desconforto, além da remoção do fragmento.

Você poderá ter todas as informações que quiser e poderá não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Por sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade. Seu nome não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois você será identificado com um número.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE, APÓS ESCLARECIMENTO

Eu, _____, li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento a que serei submetido. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer/ momento, sem justificar minha decisão e que isso não afetará meu tratamento. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo. Eu concordo em participar do estudo.

Uberaba, ___/___/_____

Assinatura do voluntário ou seu responsável legal

Documento de identidade

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do pesquisador orientador

Telefone de contato dos pesquisadores: Sanívia: _____ – Marcelo Ribeiro: _____

Em caso de dúvida em relação a esse documento, você pode entrar em contato com o Comitê Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pelo telefone 3318-5854

ANEXO D – PROTOCOLO IMUNO-HISTOQUÍMICO

Protocolo de Imunohistoquímica

Laboratório de Patologia Cirúrgica – Universidade Federal do Triângulo Mineiro

1. Completar a panela Pascal® com 500ml de água destilada ou deionizada e ligá-la.
2. Preparar os tampões* alto e/ou baixo de acordo com os anticorpos que serão utilizados.
3. Separar os casos com seus respectivos controles positivos e identificar as lâminas com o anticorpo correspondente.
4. Submeter as lâminas a 3 banhos de xilol, à temperatura ambiente, por 5 minutos cada, para desparafinização.
5. Imergir as lâminas em 3 banhos de álcool absoluto, por aproximadamente 10 segundos cada, e em 1 banho de álcool a 80%, para hidratação.
6. Colocar as lâminas em água destilada e, em seguida na solução tampão ideal para cada anticorpo.
7. Colocar as lâminas com os tampões dentro da panela, fechá-la, verificar o modo de segurança e acionar o botão START. Ao acionar o primeiro alarme apertar o botão STOP e aguardar o segundo alarme.
8. Retirar as lâminas da panela e desprezar o tampão, colocar água destilada nas mesmas.
9. Diluir os anticorpos primários em diluente próprio, utilizando as concentrações ideais de cada reagente.
10. Colocar as lâminas na prancha de incubação.
11. Lavar as lâminas com água destilada e enxugar, cuidadosamente, em torno do corte (não permitir que os cortes fiquem completamente secos).

12. Fazer o bloqueio da peroxidase endógena, utilizando água oxigenada a 3%, por 15 minutos em temperatura ambiente.
13. Lavar as lâminas com tampão PBS 3x por 5 minutos e enxugar, cuidadosamente, em torno do corte (não permitindo que os cortes fiquem completamente secos).
14. Adicionar o bloqueador de proteínas sobre os cortes por 10 minutos.
15. Adicionar o anticorpo primário correspondente a cada lâmina.
16. Incubar 1 hora á temperatura ambiente entre 22-25°C ou overnight em geladeira entre 4-8°C por 16 horas, ambas em câmara úmida.
17. Retirar as lâminas da geladeira (caso a incubação tenha sido overnight), para que estas fiquem à temperatura ambiente.
18. Retirar o reagente nº1 Pós-Primário da geladeira, para que este fique à temperatura ambiente.
19. Lavar as lâminas com tampão PBS* por 3x, sendo a última lavagem com duração de 5 minutos.
20. Enxugar as lâminas, cuidadosamente, em torno do corte (não permitindo que os cortes fiquem completamente secos).
21. Adicionar o reagente pós-primário por 30 minutos, a temperatura ambiente e em câmara úmida.
22. Retirar o reagente nº2 polímero da geladeira, para que este fique à temperatura ambiente.
23. Escorrer o excesso de reagente e lavar as lâminas com tampão PBS por 3x, sendo a última lavagem com duração de 5 minutos.
24. Enxugar, cuidadosamente, em torno do corte (não permitindo que os cortes fiquem completamente secos).

25. Adicionar o reagente Polímero por 30 minutos, a temperatura ambiente e em câmara úmida.
26. Retirar o DAB da geladeira, para que este fique à temperatura ambiente.
27. Escorrer o excesso de reagente e lavar as lâminas com tampão PBS por 3x, sendo a última lavagem com duração de 5 minutos.
28. Preparar a solução cromógena de DAB para o número de lâminas a serem reveladas.
29. Enxugar, cuidadosamente, em torno do corte (não permitindo que os cortes fiquem completamente secos).
30. Adicionar o DAB sobre as lâminas por 5 minutos.
31. Descartar o excesso de reagente dentro da prancha com hipoclorito de sódio.
32. Colocar as lâminas dentro do carrinho e enxaguar em água destilada.
33. Contra-corar com hematoxilina de Harris por 10 segundos e lavar em água corrente.
34. Desidratar em 3 banhos de álcool absoluto, colocar na estufa por 40 minutos, colocar as lâminas no xilol e montar com entellan.

***Tampões e reagentes utilizados em Imuno-histoquímica:**

1. Tampão Citrato pH 6.0:

2,1g de ácido cítrico + 1.000ml de água destilada

Homogeneizar a solução e acertar o pH até 6.0, utilizando solução de Hidróxido de sódio (NaOH a 2N). Conservar em temperatura ambiente.

2. Tampão TRIS/EDTA pH 9.0:

0,09g de EDTA+ 0,30g de TRIZMA BASE + 250ml de água destilada

Homogeneizar a solução e acertar o pH até 9.0, utilizando solução de Hidróxido de sódio (NaOH a 2N). Essa solução é bastante instável, portanto, deve ser utilizada apenas no dia que for feita.

3. Tampão de lavagem PBS (Phosphate Buffered Saline) pH 7.2:

Solução Mãe:

81,7g de Cloreto de sódio

2,69g de Fosfato de sódio dibásico

10,5g de Fosfato de sódio monobásico heptahidratado

0.5 ml de Tween 20 (DAKO-51966)

Homogeneizar a solução e conservar em geladeira.

PBS de uso:

100ml de PBS (solução mãe) + 900ml de água destilada.

Conservar a temperatura ambiente.

4. Solução diluente para anticorpo primário (BSA):

2g de Albumina Bovina + 100ml de PBS de uso

OPÇÃO (DAKO-53022)

Homogeneizar a solução e conservar em geladeira.

5. Solução de água oxigenada a 3%:

3ml de água oxigenada 30volumes + 97ml de água destilada

6. Silano - adesivo de lâminas

12 ml.....3-aminopropiltriétoxissilano Sigma

500ml.....Metanol

Colocar as lâminas no carrinho, dar um banho de metanol puro, um banho de silano (pronto para uso), um banho de água torneiral e estufa por 2 horas, ou até que lâminas fiquem secas.