

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

**BÁRBARA BELLOCCHIO BERTOLDO**

**COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS DE HIF-1 $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  E IL-10 NO FLUIDO  
CREVICULAR PERI-IMPLANTAR DE PACIENTES COM E SEM PERI-IMPLANTITE**

Uberaba, MG

2020

BÁRBARA BELLOCCHIO BERTOLDO

COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS DE HIF-1 $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  E IL-10 NO FLUIDO CREVICULAR  
PERI-IMPLANTAR DE PACIENTES COM E SEM PERI-IMPLANTITE

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

Orientadora: Profa. Dra. Sanivia Aparecida Lima Pereira.

Uberaba, MG

2020

**Catálogo na fonte:**

**Biblioteca da Universidade Federal do Triângulo Mineiro**

B462c Bertoldo, Bárbara Bellocchio  
Comparação dos níveis de hif-1 $\alpha$ , vegf, tnf- $\alpha$  e il-10 no fluido crevicular peri-implantar de pacientes com e sem peri-implantite / Bárbara Bellocchio Bertoldo. -- 2020.  
80 f. : il., graf., tab.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2020  
Orientadora: Profa. Dra. Sanívia Aparecida de Lima Pereira

1. Implantação dentária. 2. Peri-implantite. 3. Citocinas. I. Pereira, Sanívia Aparecida de Lima. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 616.314-089.843

# *DEDICATÓRIA*

## **DEDICATÓRIA**

À toda minha família, de maneira particular, a meus pais Vanda e Arnaldo, minha querida irmã e  
ao meu esposo Renan.

# *AGRADECIMENTOS*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, em primeiro lugar sempre, sem Ele nada sou.

Aos meus pais Arnaldo e Vanda, pois de nada adiantaria minha caminhada se vocês não tivessem me ensinado os primeiros passos. Em todo o percurso, vocês estiveram presentes, mostrando-me a importância do estudo para ser uma excelente profissional. Pai e Mãe, vocês são exemplos de vida e essa vitória também é de vocês.

À Lara, irmã companheira, que sempre esteve ao meu lado durante toda a minha caminhada.

Ao meu esposo Renan pelo apoio, compreensão, amor e incentivo sempre.

A todos os meus familiares que me incentivaram a vencer os desafios.

Às minhas amigas Juliana Barbosa de Faria e Taíssa Cássia de Souza Furtado por todo apoio durante a elaboração do projeto.

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

À minha orientadora Profa. Dra. Sanivia Aparecida de Lima Pereira a quem venho agradecer pela amizade, carinho e confiança na realização do trabalho. Seus ensinamentos, seus conselhos, sua capacidade intelectual e principalmente sua clareza nas orientações sempre foram fatores importantes durante o período de construção desse trabalho. Para sempre serei grata ao seu apoio e cultivarei intenso respeito e admiração. 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:** Peri-implantite é definida como um processo inflamatório que afeta os tecidos ao redor dos implantes osseointegrados após estarem em função, resultando em perda óssea. Embora a peri-implantite seja uma das principais causas de insucesso dos implantes, muitos mecanismos envolvidos na patogênese dessa doença ainda não são totalmente compreendidos.

**Objetivo:** Comparar os níveis de HIF1- $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  e IL-10 no fluido crevicular peri-implantar de pacientes com e sem peri-implantite. **Material e Métodos:** Foram selecionados 40 pacientes em clínica odontológica da rede privada na cidade de Uberaba, Minas Gerais, Brasil, no período de novembro de 2016 a julho de 2018, sendo 16 pacientes com peri-implantite e 24 do grupo controle (sem peri-implantite). Posteriormente foi coletado o fluido crevicular peri-implantar e realizada a técnica de ELISA para avaliação dos níveis de HIF1- $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  e de IL-10. Para análise estatística foram utilizados os testes t de Student, Mann-Whitney, teste exato de Fisher e teste de correlação de Spearman. **Resultados:** Os níveis de HIF-1 $\alpha$  foram significativamente maiores no grupo com peri-implantite quando comparado ao grupo controle ( $p=0,0005$ ). Não houve diferença significativa entre os níveis de TNF- $\alpha$ , IL-10 e de VEGF entre os grupos. No grupo com peri-implantite houve correlação positiva e significativa entre os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-10 ( $p=0,0008$ ) e entre os níveis de TNF- $\alpha$  e VEGF ( $p=0,0246$ ). Houve correlação negativa e significativa entre os níveis de HIF-1 $\alpha$  e IL-10 no grupo com peri-implantite ( $p=0,0041$ ). **Conclusão:** O presente estudo nos permite concluir que na peri-implantite o aumento de TNF- $\alpha$  está associado ao aumento de VEGF e de IL-10. Podemos inferir que o aumento de TNF- $\alpha$  estaria contribuindo para a intensificação do quadro inflamatório na peri-implantite, contrabalanceado pelo aumento de IL-10. Além disso, como no grupo com peri-implantite os níveis de HIF-1 $\alpha$  apresentaram correlação inversa com os níveis de IL-10 sugerimos que o aumento da citocina anti-inflamatória IL-10 poderia estar implicada na diminuição de HIF-1 $\alpha$ , provavelmente devido a uma redução do estresse inflamatório e do dano tecidual nos tecidos peri-implantares em decorrência da inflamação.

Palavras chave: Implante dentário, peri-implantite citocinas.

*ABSTRACT*

## ABSTRACT

**Introduction:** Peri-implantitis is defined as an inflammatory process that affects the tissues around the osseointegrated implants after their function, resulting in bone loss. Although peri-implantitis is a major cause of implant failure, many mechanisms involved in the pathogenesis of this disease are not yet fully understood. **Objective:** To compare the levels of HIF1- $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  and IL-10 in periimplant crevicular fluid in patients with and without peri-implantitis. **Material and Methods:** Forty patients were selected at a private dental clinic in the city of Uberaba, Minas Gerais, Brazil, from November 2016 to July 2018, 16 patients with peri-implantitis and 24 from the control group. Subsequently, the periimplant crevicular fluid was collected and the ELISA technique was performed to evaluate the levels of HIF1- $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  and IL-10. For statistical analysis, Student's t-test, Mann-Whitney test, Fisher's exact test and Spearman's correlation test were used. **Results:** HIF-1 $\alpha$  levels were significantly higher in the peri-implantitis group compared to the control group ( $p = 0.0005$ ). There was no significant difference between TNF- $\alpha$ , IL-10 and VEGF levels between groups. In the peri-implantitis group, there was a positive and significant correlation between TNF- $\alpha$  and IL-10 levels ( $p = 0.0008$ ) and between TNF- $\alpha$  and VEGF levels ( $p = 0.0246$ ). There was a significant negative correlation between HIF-1 $\alpha$  and IL-10 levels in the peri-implantitis group ( $p = 0.0041$ ). **Conclusion:** The present study allows us to conclude that in peri-implantitis, increased TNF- $\alpha$  is associated with increased VEGF and IL-10. We can infer that the increase of TNF- $\alpha$  would be contributing to the intensification of the inflammatory picture in peri-implantitis, counterbalanced by the increase of IL-10. In addition, as in the peri-implantitis group HIF-1 $\alpha$  levels were inversely correlated with IL-10 levels, we suggest that the increase in the antiinflammatory cytokine IL-10 could be implicated in the decrease in HIF-1 $\alpha$ , probably due to a reduction in inflammatory stress and tissue damage in peri-implant tissues due to inflammation.

Keywords: Dental implant, cytokine peri-implantitis.

# *LISTA DE ILUSTRAÇÕES*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Comparação entre os níveis de TNF- $\alpha$ , IL-10, VEGF e HIF-1 $\alpha$ no fluido crevicular periimplantar dos grupos CP e SP.....	50
Figura 2: Correlação positiva e significativa entre os níveis de TNF- $\alpha$ e IL-10 no grupo CP (p = 0,0008).....	51
Figura 3: Correlação positiva e significativa entre os níveis de TNF- $\alpha$ e VEGF no grupo CP (p = 0,0246).....	52
Figura 4: Correlação negativa e significativa entre os níveis de HIF-1 $\alpha$ e IL-10 no grupo CP (p = 0,0041).....	53

## *LISTA DE TABELAS*



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características demográficas e dados clínicos peri-implantares dos grupos CP e SP **Erro!**  
**Indicador não definido.....51**

*LISTA DE ABREVIATURAS E  
SIGLAS*

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

B	Branços
CP	Com peri-implantite
DP	Desvio padrão
ELISA	Enzyme Immunosorbent Assay (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática)
FCP	Fluido crevicular peri-implantar
HIF-1 $\alpha$	Hypoxia-inducible factor 1-alpha (Fator indutor de hipóxia 1-alfa)
IL-10	Interleukin 10 (Interleucina 10)
NB	Não-Branços
PBS	Tampão Fosfato Salino
SP	Sem peri-implantite
TNF- $\alpha$	Tumor necrosis factor-alpha (Fator de Necrose Tumoral-alfa)
VEGF vascular)	Vascular Endothelial Growth Factor (Fator de crescimento endotelial vascular)
HIF-1 $\alpha$	Hypoxia-Induced Factors (Fatores indutores de hipóxia) (HIFs)
IL-10	Interleucina 10
MD	Marginal bleeding (Sangramento marginal)
PD	Probing Depth (Profundidade de sondagem)

# *SUMÁRIO*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	23
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	25
2.1 Implantes dentários .....	25
2.1.1 Tecidos peri-implantares .....	26
2.1.1.1 Tecido ósseo .....	26
2.1.1.2 Mucosa peri-implantar .....	27
2.2 Peri-implantite .....	28
2.2.1 Etiologia da Peri-implantite .....	28
2.2.2 Tratamento da Peri-implantite .....	29
2.3 TNF- $\alpha$ .....	30
2.4 IL-10 .....	31
2.4 VEGF .....	32
2.5 HIF-1 $\alpha$ .....	33
<b>3. JUSTIFICATIVA</b> .....	36
<b>4. OBJETIVO GERAL</b> .....	38
<b>4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	38
<b>5. ARTIGO</b> .....	40
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	60
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	62
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	66

# *INTRODUÇÃO*

## 1 1. INTRODUÇÃO

2 Nas últimas décadas os implantes dentários vêm sendo frequentemente utilizados  
3 como alternativa para a reabilitação estética funcional dos espaços edêntulos orais, com altos  
4 índices de sucesso, que tem sido atribuído principalmente a osseointegração, que nada mais é  
5 do que a união física do implante osseointegrado com o osso receptor, ou seja, “uma conexão  
6 direta entre osso vivo e a superfície de um implante submetido à carga funcional” (SOUZA e  
7 RAUSCH, 2019).

8 Atualmente, sugere-se que o sucesso de um implante osseointegrável deva-se não  
9 somente a osseointegração, mas sim a uma integração entre implante e tecidos intra-orais  
10 duros e moles. A manutenção de uma barreira de tecido mole saudável é tão importante quanto  
11 a osseointegração para o sucesso, a longo prazo, de uma prótese implantossuportada  
12 (HUMPHREY, 2006).

13 Apesar de todos os aspectos positivos, vários fatores têm sido relacionados com o  
14 insucesso dos implantes dentários. Entre eles estão a condição sistêmica do paciente, o  
15 tabagismo, a qualidade óssea, a experiência do profissional, o trauma cirúrgico, os  
16 procedimentos cirúrgicos inadequados, a utilização inadequada de antibióticos no pré e no  
17 pós-operatório, a pressão da prótese durante a cicatrização, a infecção bacteriana durante ou  
18 após a cirurgia, o carregamento inicial impróprio, o planejamento incorreto da prótese, a  
19 sobrecarga oclusal e a atividade parafuncional (DENTZ *et al.*, 2018).

20 A peri-implantite é uma das principais causas de insucesso dos implantes. O  
21 diagnóstico da peri-implantite é muito importante na prática do cirurgião-dentista, e  
22 determinante para o tratamento dessas doenças, criando novas vertentes de estudos na  
23 especialidade. Os sinais clínicos dos implantes insatisfatórios são semelhantes aos  
24 encontrados nos dentes periodontalmente comprometidos. Entre eles se observam supuração,  
25 sangramento, dor, profundidade da bolsa aumentada, mobilidade e a radiolucidez radiográfica,  
26 que indica perda óssea ao redor do implante (de OLIVEIRA *et al.*, 2015).

27

# *REVISÃO DE LITERATURA*



## 1 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2 2.1 Implantes dentários

3 O implante substitui dentes que não puderam ser mantidos na cavidade oral por meio  
4 do tratamento periodontal ou que foram perdidos por fracassos protéticos, endodônticos,  
5 fraturas, cáries, traumatismos, agenesias e iatrogenias (FRANCISCHONE *et al.*, 2006). O alto  
6 índice de sucesso dos implantes endósseos tem sido observado, o que tornou esse  
7 procedimento altamente previsível em pacientes parcialmente ou totalmente desdentados  
8 (FLORENTINO FILHO *et al.*, 2012).

9 A relação entre implante endósseo e osso ocorre por intermédio de mecanismos como  
10 a osseointegração, quando o osso está em contato íntimo com o implante de forma previsível  
11 e duradoura para estabelecer uma ancoragem do implante. O termo osseointegração é definido  
12 como a direta conexão, estrutural e funcional, entre o tecido ósseo vital e a superfície de um  
13 implante capaz de suportar esforços fisiológicos, quando instalados em sua intimidade  
14 (MENDES e DAVIES, 2016).

15 Alguns fatores são reconhecidos como fundamentais para a obtenção e manutenção  
16 da osseointegração, definidos como “triângulo de sucesso de Massler”, e estão relacionados  
17 ao paciente ou hospedeiro, ao sistema de implantes e à equipe de profissionais (ZAVANELLI  
18 *et al.*, 2011). Os fatores relacionados aos pacientes são o tabagismo, a qualidade óssea, a  
19 utilização inadequada de antibióticos no pré e no pós-operatório, a pressão da prótese durante  
20 a cicatrização, a infecção bacteriana durante ou após a cirurgia, o carregamento inicial  
21 impróprio, o planejamento incorreto da prótese, a sobrecarga oclusal e a atividade  
22 parafuncional (FERREIRA *et al.*, 2006).

23 Os implantes dentais devem interagir com três diferentes tecidos: epitelial,  
24 conjuntivo e ósseo que obedecem a alguns requisitos como: características do material,  
25 desenho do implante, qualidade de superfície, padrão ósseo (quantidade e qualidade óssea),  
26 técnica cirúrgica e carga sobre o implante (DE CARVALHO, 2005).

27 Para que um implante possa ser considerado bem-sucedido, alguns critérios devem  
28 ser observados e incluem: imobilidade individual do implante quando testado clinicamente,  
29 ausência de evidência radiográfica de radioluscência peri-implantar, ausência de inflamação  
30 gengival ou mucosite peri-implantar, ausência de sinais de infecção e dor, ausência de danos

1 ao dente adjacente e sobrevida funcional de 90% após cinco anos e de 85% após 10 anos de  
2 instalação (MISCH *et al.*, 2008).

3 Se não ocorrer osseointegração, ou se ela se perder por algum motivo, forma-se um  
4 tecido conjuntivo fibroso ao redor do implante. Neste caso, a osseointegração jamais ocorrerá,  
5 pois para tal finalidade fatores importantes devem ser controlados como biocompatibilidade,  
6 desenho do implante, condições da superfície do implante, estado do hospedeiro, técnica  
7 cirúrgica usada e condições das cargas aplicadas sobre os implantes após sua instalação  
8 (MENDES e DAVIES, 2016).

### 9 **2.1.1 Tecidos peri-implantares**

10 Os tecidos que envolvem o implante são chamados de peri-implantares. Estes são  
11 compostos de uma porção de tecido duro, osso lamelar e medular e uma porção de tecido  
12 mole, a mucosa peri-implantar.

#### 13 **2.1.1.1 Tecido ósseo**

14 O tecido ósseo é um tecido conjuntivo mineralizado cuja função principal é servir de  
15 suporte para estruturas como os músculos, cuja contração transforma os ossos em um sistema  
16 de alavancas, permitindo a locomoção, armazena nos espaços entre as trabéculas do osso  
17 esponjoso a medula óssea vermelha, que produz células sanguíneas, ou a medula amarela ou  
18 adiposa. Nos ossos maxilares na idade adulta prevalece a medula amarela entre os espaços  
19 trabeculares. Uma das funções mais importantes do tecido ósseo é a de servir como reserva  
20 de cálcio para o organismo, necessário para a contração muscular, adesão celular e a fisiologia  
21 de diversos sistemas orgânicos (ARAUJO e LUBIANA, 2008).

22 As células responsáveis pela formação, destruição e remodelação óssea são,  
23 respectivamente, os osteoblastos, os osteoclastos e os osteócitos. Os osteoblastos provenientes  
24 de células osteoprogenitoras encarregam-se da síntese dos compostos orgânicos da matriz  
25 óssea, inclusive do colágeno, das proteoglicanas e glicoproteínas. Os osteócitos são células  
26 ósseas maduras, derivadas dos osteoblastos, que residem em lacunas dentro da matriz, e  
27 secretam substâncias necessárias para a manutenção do osso. Os osteoclastos são células  
28 derivadas de progenitores granulócitos macrófagos e desempenham papel na reabsorção óssea  
29 (GARTNER e HIATT, 2007).

30 A colocação de implantes requer o corte no tecido ósseo com instrumentos rotatórios  
31 gerando riscos de aquecimento e a destruição dos vasos sanguíneos existentes nos canais de  
32 Havers e de Volkman do osso cortical e de vasos existentes na medula óssea entre as

1 trabéculas do osso esponjoso. Estes dois fatores levam sempre a formação de uma zona  
2 necrótica de osso que ficará em contato com a superfície dos implantes (ARAUJO e  
3 LUBIANA, 2008).

4 A remoção de osso necrótico próxima ao implante é realizada pelos osteoclastos e  
5 novo tecido ósseo é produzido pelos osteoblastos. Quando a área de tecido necrótico e de  
6 coágulo é preenchida por novo tecido ósseo, é iniciado então o processo de remodelação que  
7 seguirá os parâmetros já bem conhecidos no tecido ósseo normal de todo o organismo  
8 (ARAUJO e LUBIANA, 2008).

### 9 **2.1.1.2 Mucosa peri-implantar**

10 A mucosa peri-implantar é análoga à gengiva que circunda dente e tem como função  
11 primordial a proteção do osso subjacente. A formação da mucosa peri-implantar ocorre após  
12 a instalação de implantes em um único estágio ou após a reabertura de implantes submersos e  
13 instalação do pilar ou conector intermediário (ELERATI e KAHN, 2009).

14 Assim como o tecido gengival ao redor do dente, a mucosa peri-implantar também  
15 exhibe um sulco que se localiza entre a superfície do pilar intermediário ou prótese e a mucosa.  
16 Este sulco peri-implantar pode variar muito em profundidade mesmo em condições onde o  
17 tecido está saudável. O local onde foi instalado o implante, forma do implante, o tipo de  
18 superfície, a força utilizada e o formato da prótese são fatores que dificultam o  
19 estabelecimento de uma profundidade padrão. Por outro lado, a extensão da penetração da  
20 sonda em tecidos peri-implantares saudáveis quando realizada com força adequada indica o  
21 final da barreira epitelial e o início da barreira conjuntiva (ABRAHANSSON, 2006). Além  
22 disso, uma sondagem com força adequada também revela que a mucosa peri-implantar  
23 saudável não sangra (ARAUJO e LUBIANA, 2008).

24 A margem entre o limite peri-implantar e o limite da prótese representa a porta de  
25 entrada para bactérias e suas toxinas (COSYN *et al.*, 2011). A formação do biofilme  
26 bacteriano durante o período pós-operatório à colocação do implante pode resultar em  
27 inserção epitelial comprometida às superfícies do implante. Inicialmente, em resposta à  
28 presença de biofilme na superfície do implante, ocorre a mucosite peri-implantar que é  
29 reversível (LÓPEZ-CERERO, 2008), caracterizada por tumefação da mucosa, sangramento à  
30 sondagem, exsudato ou micro abscessos e ausência radiográfica de reabsorção óssea  
31 (RENVERT *et al.*, 2008).

1 Com o agravamento desse processo e a evolução para uma lesão inflamatória de  
2 tecido mole, acompanhada de uma perda óssea peri-implantar, pode ocorrer uma doença  
3 denominada peri-implantite. A colonização bacteriana pode ser tanto da superfície externa,  
4 quanto dos espaços internos do implante. Internamente, a colonização bacteriana está  
5 relacionada com um espaço existente entre a porção protética do sistema (intermediário  
6 protético) e a porção endóssea (implante) (PIMENTEL *et al.*, 2010).

## 7 **2.2 Peri-implantite**

### 8 **2.2.1 Etiologia da Peri-implantite**

9 Peri-implantite é definida como um processo inflamatório que afeta os tecidos ao  
10 redor dos implantes osseointegrados após estarem em função, resultando em perda óssea  
11 (SANTOS e FERRAZ, 2017). Algumas características clínicas podem ser observadas nesse  
12 processo inflamatório, tais como: sangramento à sondagem, exsudato, profundidade de  
13 sondagem aumentada e edema (MARTINS *et al.*, 2019).

14 A peri-implantite é considerada a maior causa de falhas entre os implantes (LEITE  
15 *et al.*, 2015). A apresentação de tecido gengival saudável ao redor dos implantes dentários,  
16 com apropriada faixa de gengiva queratinizada, é um fator primordial não só para estética,  
17 mas para o sucesso em longo prazo. Estudos têm destacado a importância desta característica  
18 gengival na reabilitação em implantodontia e no desenvolvimento da peri-implantite, pois  
19 pode dificultar a higienização e acumular placa bacteriana no sulco peri-implantar (CASADO  
20 *et al.*, 2013).

21 Estudos relataram que os principais indicadores de risco para a peri-implantite são  
22 má higiene oral, histórico de periodontite, consumo de álcool e fumo, qualidade da superfície  
23 do implante e ausência de uma adequada largura de mucosa queratinizada (PADIAL-  
24 MOLINA *et al.*, 2014).

25 Clinicamente os sinais e sintomas principais da peri-implantite são: destruição  
26 vertical da crista óssea, presença de bolsa peri-implantar (> 5mm), sangramento à sondagem.  
27 Os tecidos podem estar edemaciados ou não e a presença de hiperplasia pode estar associada  
28 à utilização de overdentures ou a ausência de gengiva queratinizada. Dor não é uma  
29 característica típica da peri-implantite. Para um correto diagnóstico, segundo os autores,  
30 devem ser realizados: uma radiografia peri-implantar (se o implante já apresenta perda óssea  
31 ou não, sondagem peri-implantar (analisar a presença de bolsas, de sangramento e de

1 supuração), mobilidade, uma coleta de fluido e análise microbiológica (DE OLIVEIRA *et al.*,  
2 2015).

3 Estudos analisaram a microflora presente ao redor dos implantes e observaram que  
4 existe uma semelhança grande entre a microflora peri-implantar e a periodontal. Segundo os  
5 autores, a composição da microflora subgingival periodontal e peri-implantar podem ser  
6 consideradas similares, tanto a relacionada à saúde quanto a relacionada com a doença. A  
7 doença peri-implantar pode ser considerada como uma infecção causada por patógenos  
8 comuns à doença periodontal (FIGUEREDO e FISHER 2012).

9 A avaliação periodontal antes do tratamento, o controle de placa feitos  
10 periodicamente pelo profissional e a motivação do paciente para higiene oral são necessários  
11 para evitar a ocorrência da peri-implantite (DE OLIVEIRA *et al.*, 2015).

### 12 **2.2.2 Tratamento da Peri-implantite**

13 Para o sucesso do tratamento da peri-implantite o resultado deve incluir parâmetros  
14 que descrevam a resolução da inflamação e a preservação do osso de suporte. O tratamento  
15 deverá incluir medidas antimicrobianas já que o biofilme bacteriano parece ser o fator  
16 etiológico primário (LINDHE e MEYLE, 2008).

17 O objetivo do tratamento da peri-implantite é reduzir a perda óssea e consiste em  
18 duas etapas: a primeira é a terapia mecânica básica, ou seja, remoção da placa com curetas de  
19 plástico, seguida de ajuste oclusal. A segunda etapa consiste na descontaminação da superfície  
20 do implante que pode ser física ou química. A física consiste no alisamento da superfície do  
21 implante com brocas diamantadas, como também no jateamento com óxido de alumínio.  
22 Quimicamente, o jato de bicarbonato e o ácido cítrico apresentaram os melhores resultados e  
23 o uso de antibioticoterapia apresenta bons resultados na erradicação da infecção (De  
24 OLIVEIRA *et al.*, 2015).

25 Alguns estudos verificaram que, após a melhora na higiene bucal, lesões com  
26 considerável formação de bolsas (maior que 5 mm) e perdas ósseas depois de infecções agudas  
27 têm sido tratadas com sucesso com tratamentos cirúrgicos. A respeito de tratamento cirúrgico,  
28 concluíram que podem ocorrer regeneração óssea e reosseointegração ao usar membranas para  
29 recobrir osso autógeno particulado (ZANATTA *et al.*, 2009).

30 Outros autores também ressaltam que o tratamento da peri-implantite deve ser similar  
31 a terapêutica utilizada para a periodontite, focando a eliminação das bactérias presentes.

1 Devem ser utilizadas terapias antimicrobianas associadas ou não a métodos cirúrgicos  
2 ressectivos ou regenerativos, dependendo do grau de evolução da doença. Em casos onde o  
3 tratamento convencional é incapaz de eliminar completamente os microrganismos, pode-se  
4 optar pelo uso de um coadjuvante, a terapia fotodinâmica, que consiste na associação de uma  
5 fonte de luz em baixa intensidade associada a corante que quando aplicados no organismo  
6 alvo resulta em um efeito letal da bactéria por meio de apoptose celular (SOBREIRA *et al.*,  
7 2011).

8 Embora a placa bacteriana seja considerada o principal fator etiológico das doenças  
9 peri-implantares (FONSECA *et al.*, 2014; LISKMANN *et al.*, 2006), a intensidade da resposta  
10 inflamatória a produtos bacterianos, como lipopolissacarídeo e endotoxina, gera liberação de  
11 citocinas pelo hospedeiro. Essas citocinas podem estimular a perda óssea ao redor dos  
12 implantes (MURATA *et al.*, 2002; MONTES *et al.*, 2009). Dentre essas citocinas estão o  
13 TNF- $\alpha$ , IL-10, VEGF e HIF- 1 $\alpha$ .

### 14 **2.3 TNF- $\alpha$**

15 TNF foi descoberto em 1975 como uma molécula indutora de necrose de tumores  
16 (CARSWELL *et al.*, 1975). Atualmente essa citocina pró-inflamatória é conhecida como a  
17 mais pleitrópica de todas as citocinas descritas em mamíferos (SEDGER e McDERMOTT,  
18 2014). TNF- $\alpha$  ainda exerce uma variedade de atividades biológicas incluindo inflamação,  
19 proliferação, diferenciação, apoptose e imunomodulação, promovendo a liberação de outras  
20 citocinas pró-inflamatórias bem como resposta patológica (choque séptico, caquexia)  
21 (AGGARWAL; GUPTA; BASU, 2012; AGGARWAL e LIMDI 2015).

22 O TNF- $\alpha$  também induz o aumento na adesão e exsudação de leucócitos, facilita a  
23 atividade antimicrobiana de neutrófilos e de macrófagos (JAFFER; WADE; GOURLAY,  
24 2010) e colabora na síntese de outras citocinas pró-inflamatórias, encontrando-se aumentado  
25 tanto na periodontite como na peri-implantite (UITTO *et al.*, 2003; NEGRI, 2016).

26 O TNF- $\alpha$  pode ser produzido por macrófagos ativados, linfócitos ou monócitos. O  
27 principal estímulo para a sua produção é a presença de lipopolissacarídeos que compõem a  
28 membrana das bactérias Gram-negativas. O principal efeito fisiológico do TNF- $\alpha$  é promover  
29 a resposta imune e inflamatória por meio do recrutamento de neutrófilos e monócitos para o  
30 local da infecção, além de ativá-los. Para isto, o TNF- $\alpha$  provocará uma série de efeitos no  
31 organismo (VITALE *et al.*, 2007).

32 Estudos demonstraram que o TNF- $\alpha$  estimula a reabsorção óssea diretamente por  
33 induzir a proliferação de progenitores de osteoclastos, e indiretamente por estimular a

1 atividade de reabsorção dos osteoclastos maduros e por aumentar a síntese de colagenases.  
2 Tem sido demonstrado que o bloqueio de TNF- $\alpha$  contribui com a inibição de  
3 aproximadamente 80% do recrutamento de células inflamatórias e redução de 60% da perda  
4 óssea que ocorre na periodontite (LIMA *et al.*, 2008).

5 Durante a inflamação o aumento do TNF- $\alpha$  é contrabalançado pelo aumento da síntese da  
6 citocina anti-inflamatória IL-10 (JAFFER, WADE e GOURLAY, 2010).

7

## 8 **2.4 IL-10**

9 A IL-10 é uma das citocinas com características imuno-regulatórias mais destacadas do  
10 sistema imune humano. É produzida por várias células do sistema imune de defesa, incluindo  
11 monócitos/macrófagos ativados, linfócitos T e linfócitos B (LIMA *et al.*, 2008). Essa citocina  
12 atua na inibição da síntese de citocinas pró-inflamatórias incluindo TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 e IL-  
13 12, bem como na supressão de várias atividades das células apresentadoras de antígenos  
14 (GRIMBALDESTON *et al.*, 2007).

15 A IL-10 é um polipeptídeo não glicosilado com cerca de 18 kDa, sintetizado em  
16 células imunológicas e tecidos neuroendócrino e neural. Seu receptor (IL-10R) pertence à  
17 família de receptores de citocina de classe II, semelhante aos receptores para interferons. A  
18 produção de IL-10 é prejudicada por muitas citocinas, como IL-4, IL-13 e IFN- $\gamma$ , e também  
19 pela sua própria autorregulação (SOMER e WHITE, 2010). Além disso, aumenta a  
20 proliferação de mastócitos e impede a produção de IFN- $\gamma$  pelas Células Natural Killer  
21 (ZHANG e AN, 2007).

22 A IL-10 é conhecida por apresentar propriedades imunossupressoras no controle da  
23 perda óssea periodontal por inibir a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- $\alpha$   
24 (GOUTOUDI *et al.*, 2004). Vale salientar, que os níveis dessa citocina podem ser críticos na  
25 regulação imune, controlando o balanço entre as respostas inflamatórias inatas e as respostas  
26 humorais adquiridas (LIMA *et al.*, 2008).

27 Após a geração de uma resposta imune pró-inflamatória, a IL-10 age para atenuar a  
28 inflamação que poderia ser deletéria para o hospedeiro, limitando o dano tecidual potencial  
29 (LIRA-JÚNIOR *et al.*, 2013).

30 Alguns estudos já demonstraram que a redução da produção de IL-10 pode estar  
31 associada com maior suscetibilidade a doenças infecciosas, dentre elas a peri-implantite  
32 (CASADO *et al.*, 2013). Até o presente momento nenhum estudo associou os níveis de IL-10  
33 e de TNF- $\alpha$  na peri-implantite.

## 1 2.4 VEGF

2 O VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular, é membro de uma família de  
3 citocinas que exercem funções críticas na angiogênese fisiológica e patológica e na  
4 linfangiogênese (CAPP *et al.*, 2009). Refere-se a uma família de moléculas semelhantes  
5 (isoformas), codificadas por um único gene e constituída por diversas proteínas identificadas  
6 por letras VEGF A a F (de FÁTIMA *et al.*, 2010).

7 O VEGF-A, ou apenas VEGF, é o fator mais bem estudado e compreendido. O VEGF  
8 nativo ou VEGF-A consiste de uma glicoproteína homodimérica básica de 45 kDa, ligante de  
9 heparina, codificada por um único gene diretamente relacionado à angiogênese, com  
10 habilidade de promover o crescimento das células endoteliais derivadas de artérias e veias  
11 (NOCITI *et al.*, 2010).

12 A angiogênese é definida como a formação de novos vasos sanguíneos a partir de  
13 vasos pré-existentes em um processo envolvendo migração e proliferação de células  
14 endoteliais já existentes. É um processo complexo e requer um delicado balanço entre  
15 promotores e inibidores (de FÁTIMA *et al.*, 2010).

16 A ativação do VEGF desencadeia diversas rotas de sinalização intracelular que  
17 resultam em proliferação, sobrevivência, mitogênese, migração e diferenciação das células  
18 endoteliais, assim como sua atuação no aumento da permeabilidade vascular (HICKLIN e  
19 ELLIS, 2005).

20 O VEGF induz a angiogênese atuando diretamente nas células endoteliais ao se ligar  
21 e ativar receptores de membrana pertencentes à família de receptores tirosina quinase. Eles  
22 são conhecidos como VEGFR-1 (fms-like tyrosine kinase 1 ou Flt-1), VEGFR-2 (fetal liver  
23 kinase, Flk-1 ou KDR) e VEGFR-3 (fms-like tyrosine kinase 4, Flt4) (de FATIMA *et al.*,  
24 2010).

25 A angiogênese é um processo essencial no desenvolvimento da doença inflamatória  
26 crônica, no qual ocorre a formação de novos capilares originados das células endoteliais de  
27 vasos sanguíneos preexistentes. Ela contribui para a inflamação com resultado da capacidade  
28 dos novos vasos sanguíneos transportarem células inflamatórias, suprimento de oxigênio e  
29 nutrientes para os tecidos inflamados (DAMICO *et al.*, 2007).

30 Sabe-se que o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) atua como mediador  
31 pró-inflamatório, colaborando para o aumento da permeabilidade microvascular, além de  
32 estimular a proliferação e migração de células endoteliais, monócitos e osteoblastos essenciais



1 na angiogênese (VALIATTI *et al.*, 2011; GUNERI *et al.*, 2004). Na inflamação dos tecidos  
2 periodontais já foi demonstrado que o VEGF está associado com a progressão da gengivite  
3 para a periodontite (YE e MC GUINNESS, 2013). No entanto os estudos desse fator de  
4 crescimento na peri-implantite ainda apresentam resultados controversos, uma vez que alguns  
5 sugeriram que este fator possa ter uma dupla função, atuando tanto na progressão como na  
6 homeostase tecidual (PRADEEP *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2008).

7 Um relacionamento entre doença periodontal e peri-implantite tem sido estabelecido  
8 por meio dos achados do aumento da microbiota anaeróbia gram negativa com elevados níveis  
9 de espiroquetas associadas com implantes perdidos. Tecidos inflamados mostram expressão  
10 aumentada de mediadores inflamatórios, muitos dos quais podem promover a angiogênese. A  
11 angiogênese pode contribuir para a severidade da inflamação com o surgimento de novos  
12 vasos sanguíneos, transporte de células pró-inflamatórias, suprimento de nutrientes e oxigênio  
13 para os tecidos inflamados e particularmente, a vascularização periodontal é profundamente  
14 afetada durante a progressão da doença periodontal (VASCONCELOS *et al.*, 2016).

## 16 **2.5 HIF-1 $\alpha$**

17 Fatores induzidos por hipóxia (HIFs) são fatores de transcrição heterodiméricos,  
18 consistindo de uma subunidade alfa (HIF1- $\alpha$ ), instável em oxigênio e uma subunidade beta,  
19 estável em oxigênio (HIF1- $\beta$ ). Os HIFs exercem papel fundamental na indução de respostas  
20 celulares à hipóxia, além de funcionar como o maior regulador da homeostase do oxigênio em  
21 praticamente todas as células (DENGLER *et al.*, 2014).

22 Hipóxia resulta em aumento dos níveis de proteína do fator 1 induzido por hipóxia  
23 (HIF-1) (FERNÁNDEZ-TORRES *et al.*, 2017). O HIF-1 é uma proteína nuclear que ativa a  
24 transcrição gênica em resposta à redução da tensão de oxigênio. HIF-1 é um heterodímero  
25 composto de subunidades HIF-1  $\alpha$  e HIF1- $\beta$ . O HIF1- $\beta$  é constitutivamente expresso enquanto  
26 o HIF-1 $\alpha$  é induzido por hipóxia. Embora a regulação do HIF-1  $\alpha$  ocorra nos estágios de  
27 transcrição, translocação, transcrição nuclear e transativação, a modulação da degradação é o  
28 principal método pelo qual os níveis de proteína HIF-I são alterados. Durante a normóxia, o  
29 HIF-1  $\alpha$  é degradado (FERNÁNDEZ-TORRES *et al.*, 2017).

30 Durante a hipóxia, a degradação cessa e o HIF-1 $\alpha$  se acumula. O heterodímero HIF-  
31 1, atuando em conjunto com as proteínas coativadoras CBP, p300, SRC-1 e TIF2, aumenta a  
32 expressão de genes relacionados à glicólise e à angiogênese. A proteína angiogênica mais

1 importante ativada pelo HIF-1 é o VEGF que alivia a condição hipóxica ao estimular o  
2 crescimento vascular (LORIER *et al.*, 2011).

3 Quando a disponibilidade de oxigênio é reduzida, não ocorre a hidroxilação e a  
4 subunidade HIF-1 $\alpha$  não degradada permanece estável no citoplasma. O acúmulo  
5 citoplasmático do HIF-1 $\alpha$  permite sua translocação para o núcleo e posterior dimerização com  
6 a subunidade  $\beta$ . Juntas, estas subunidades constituem o fator de transcrição HIF-1  
7 (BERCHNER-PFANNSCHMIDT *et al.*, 2008).

8 Em estudo anterior realizado por nosso grupo demonstramos maior expressão de  
9 HIF1- $\alpha$  nos tecidos peri-implantares de indivíduos com peri-implantite (ARAUJO *et al.*,  
10 2017). No entanto, até o presente momento, nenhum estudo avaliou a expressão desse fator  
11 de transcrição no fluido crevicular peri-implantar (FCP).

12 O FCP é localizado na região dos sulcos gengival e peri-implantar, o fluido é formado  
13 devido à permeabilidade do epitélio juncional, que permite a passagem de componentes  
14 macromoleculares provenientes do soro e do meio intersticial gengival. O fluido contém  
15 células descamadas dos epitélios juncional e sulcular, bem como células de defesa que migram  
16 constantemente do tecido conjuntivo subjacente para o sulco (BERGLUNGH e LINDHE,  
17 2010).

18 Por ser a peri-implantite uma doença inflamatória, levantamos a hipótese de que nos  
19 pacientes com peri-implantite exista aumento da expressão de VEGF, HIF-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  e IL-10  
20 no FCP.

*JUSTIFICATIVA*

### 1    **3. JUSTIFICATIVA**

2            Sabendo que a análise do fluido crevicular peri-implantar (FCP) é um método não  
3    invasivo que permite investigar uma variedade de marcadores inflamatórios, e que ainda  
4    existem muitas lacunas na compreensão da patogênese da peri-implantite, justifica-se a  
5    realização do presente estudo.

## ***OBJETIVOS***

## 1 **4. OBJETIVOS**

### 2 **4.1 OBJETIVO GERAL**

3 Comparar os níveis de HIF1- $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  e IL-10 no fluido crevicular peri-implantar de  
4 pacientes com e sem peri-implantite.

5

### 6 **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

7 Ao comparar o fluido peri-implantar de pacientes com e sem peri-implantite, tivemos como  
8 objetivos avaliar:

- 9 • Expressão de VEGF no fluido peri-implantar de pacientes com peri-implantite.
- 10 • Expressão de HIF-1  $\alpha$  no fluido peri-implantar de pacientes com peri-implantite.
- 11 • Expressão de TNF- $\alpha$  no fluido peri-implantar de pacientes com peri-implantite
- 12 • Expressão de IL-10 no fluido peri-implantar de pacientes com peri-implantite.

*ARTIGO*

1 **5. ARTIGO**2 **Comparison of HIF-1 $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$ , and IL-10 levels in periimplant crevicular fluid**  
3 **of patients with and without periimplantitis**4 Bárbara Bellocchio Bertoldo<sup>a</sup>, Guilherme Oliveira Paulo<sup>d</sup>, Virmondos Rodrigues Jr<sup>a</sup>, Denise  
5 Bertulucci Rocha Rodrigues<sup>a,c</sup>, Juliana Barbosa de Faria<sup>a</sup>, Taíssa Cássia de Souza Furtado<sup>b</sup>,  
6 Sanivia Aparecida de Lima Pereira<sup>a,c\*</sup>

7

8 Human Pathology Division, Federal University of Triangulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brazil<sup>a</sup>9 Laboratory of Biopathology and Molecular Biology, University of Uberaba (UNIUBE), Uberaba, MG, Brazil<sup>b</sup>10 Cefores, Federal University of Triangulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brazil<sup>c</sup>11 Funorte Post Graduate, Uberaba, MG, Brazil<sup>d</sup>

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22 \* Corresponding author at: University of Uberaba, Av. Nenê Sabino, 1801, Bairro Universitário, CEP 38.055-500,  
23 Uberaba, MG, Brazil. Tel.: +55 34 3319 8815; fax: +55 34 3314 8910. E-mail address: sanivia.pereira@uniube.br (S.A.  
24 de Lima Pereira). Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com) ScienceDirect journal homepage:  
25 <http://www.elsevier.com/locate/aob> 0003-9969/\$ – see front matter # 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

26



**1 ABSTRACT**

2 The aim of this article was to compare the levels of hypoxia-inducible factor-1 alpha  
3 subunit (HIF1- $\alpha$ ), vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor alpha  
4 subunit (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-10 (IL-10) in the peri-implant crevicular fluid (PICF) of  
5 patients with or without peri-implantitis. Forty patients were selected from a private clinic in  
6 the city of Uberaba, Minas Gerais, Brazil, from November 2016 to July 2017: 16 with peri-  
7 implantitis (PP) and 24 with healthy peri-implant tissues (HP). Subsequently, the PICF was  
8 collected and the ELISA technique was performed to evaluate the levels of HIF1- $\alpha$ , VEGF,  
9 TNF- $\alpha$  and IL-10. HIF-1 $\alpha$  levels were significantly higher in the PP group when compared to  
10 the HP group ( $p=0.0005$ ). There was no significant difference between TNF- $\alpha$ , IL-10 and  
11 VEGF levels between the PP and HP groups. In the PP group there was a positive and  
12 significant correlation between levels of TNF- $\alpha$  and IL-10 ( $p=0.0008$ ) and between TNF- $\alpha$   
13 and VEGF levels ( $p=0.0246$ ). There was a negative and significant correlation between HIF-  
14 1 $\alpha$  and IL-10 levels in the PP group ( $p=0.0041$ ). In the peri-implantitis the increase of TNF- $\alpha$   
15 is associated to the increase of VEGF and IL-10. In addition, as in the peri-implantitis group  
16 HIF-1 $\alpha$  levels showed an inverse correlation with IL-10 levels, we suggested that the increase  
17 in HIF-1 $\alpha$  would favor an increase in IL-10 synthesis which would be contributing to the  
18 reduction of tissue damage in peri-implant tissues due to inflammation.

19

20 **Keywords:** Dental Implantation, Peri-Implantitis , cytokine.

## 1 INTRODUCTION

2

3 In the last decades, dental implants have frequently been used as an alternative for the  
4 aesthetic and functional rehabilitation of oral edentulous spaces.<sup>1</sup> However, several factors  
5 have been related to the failure of dental implants, including bacterial infection, during or after  
6 surgery,<sup>2</sup> which is the main etiological factor of peri-implantitis and the main cause of implant  
7 failure.<sup>3</sup>

8 Although the bacterial plaque is considered the main etiological factor of peri-  
9 implant diseases,<sup>3,4</sup> the intensity of the inflammatory response to bacterial products such as  
10 lipopolysaccharides and endotoxins causes the release of cytokines leading to bone loss.<sup>5</sup>  
11 Among these cytokines are tumor necrosis factor alpha subunit (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-10  
12 (IL-10) that play opposite roles in the innate and specific immune response.<sup>6</sup> TNF- $\alpha$  is a  
13 proinflammatory cytokine that induces increased adhesion and leukocyte exudation, facilitates  
14 the antimicrobial activity of neutrophils and macrophages<sup>7</sup> and collaborates in the synthesis  
15 of other pro-inflammatory cytokines, being increased in both periodontitis and peri-  
16 implantitis.<sup>8,9</sup>

17 During inflammation, the increase in TNF- $\alpha$  is counterbalanced by increased  
18 synthesis of the anti-inflammatory cytokine IL-10.<sup>7</sup> IL-10 is known to have  
19 immunosuppressive properties in the control of periodontal bone loss by inhibiting the  
20 synthesis of proinflammatory cytokines, such as TNF- $\alpha$ .<sup>10</sup> Some studies have already shown  
21 that the reduction of IL-10 production may be associated with increased susceptibility to  
22 infectious diseases, such as peri-implantitis,<sup>11</sup> since this cytokine also inhibits the bactericidal  
23 activity of leukocytes.<sup>12</sup> At present, no studies have correlated IL-10 and TNF- $\alpha$  levels in peri-  
24 implantitis.

25 It is known that vascular endothelial growth factor (VEGF) acts as a proinflammatory  
26 mediator,<sup>13</sup> collaborating to increase microvascular permeability besides stimulating the  
27 proliferation and migration of endothelial cells, monocytes and osteoblasts which are essential  
28 in angiogenesis.<sup>14</sup> In inflammation of periodontal tissues it has been shown that VEGF is  
29 associated with the progression of gingivitis to periodontitis.<sup>15</sup> However, studies on this  
30 growth factor in the peri-implantitis still present controversial results.<sup>16</sup>

31 Hypoxia-inducible factors (HIFs) are heterodimeric transcription factors, consisting  
32 of an alpha subunit (HIF1- $\alpha$ ), unstable in oxygen and a beta subunit, stable in oxygen (HIF1-  
33  $\beta$ ). HIFs play a key role in the induction of cellular responses to hypoxia and act as the major

1 regulator of oxygen homeostasis in almost all cells.<sup>17</sup> In an earlier study conducted by our  
2 group, we demonstrated greater expression of HIF1-  $\alpha$  in peri-implant tissues of individuals  
3 with peri-implantitis.<sup>18</sup> However, to date, no study has evaluated the expression of this  
4 transcription factor in peri-implant crevicular fluid (PICF).

5 Knowing that the analysis of PICF is a non-invasive method that allows the investigation of  
6 a variety of inflammatory markers, and that there are still many gaps in the understanding of  
7 the pathogenesis of peri-implantitis, the present study is justified. Thus, the objective of the  
8 present study was to compare the levels of HIF-1 $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  and IL-10 in the PICF  
9 between patients with peri-implantitis (PP-group) and patients with healthy peri-implant  
10 tissues (HP-group).

11

## 12 **MATERIAL AND METHODS**

13

### 14 *Selection of patients*

15 The Ethics Committee of the University of Uberaba / MG, Brazil approved this study,  
16 under Approval Opinion Number 2.457.394. All patients agreed to participate in the study and  
17 gave written informed consent. All clinical investigation was conducted according to the  
18 principles expressed in the Declaration of Helsinki. The patients were selected during  
19 consultation to follow the implants, from November 2016 to July 2018, at a private dental  
20 clinic in the city of Uberaba, Minas Gerais, Brazil. Medical and dental information were  
21 obtained from patients who agreed to participate of study and who met the inclusion/ exclusion  
22 criteria. Demographic data such as age, gender and ethnicity were evaluated for a  
23 homogeneous distribution between groups. All eligible patients were informed of the nature  
24 of the study and the potential risks and benefits of participating through the signing of the  
25 informed consent form. Forty implants of 40 patients were used, 16 of them with clinical and  
26 radiographic diagnosis of perimplantitis (PP) and 24 with healthy peri-implant tissues (HP).

27 All patients should have at least one implant in the oral cavity. The inclusion criteria  
28 for patient selection were: a) For PP group: implants with depth of probing greater than 5 mm,  
29 with marginal bleeding and bone loss in at least one implant site; b) HP group: implants with  
30 probing depth of 0 to 3 mm, without marginal bleeding, suppuration or bone loss. In addition,

1 the patients should be in good general health, have no parafunctional habits and should sign  
2 the informed consent form. All implants were inserted for at least six months

3 The exclusion criteria for the selection of patients were: periodontal or peri-implant  
4 anterior therapy; presence of relevant and uncompensated systemic diseases, such as diabetes  
5 and osteoporosis; use of antibiotics or anti-inflammatory medication in the last six months;  
6 smoking patients; chronic alcoholics; pregnant women; infants; implants with mobility or  
7 suppuration, and those patients who did not agree to sign the consent form.

8 The following parameters were evaluated at six sites of each implant (mesiobuccal,  
9 vestibular, distobuccal, mesiolingual, lingual, distolingual)<sup>19</sup> using a periodontal probe  
10 PCPUNC-15BR Hu-Friedy, São Paulo, Brazil): (a) marginal bleeding - the presence or  
11 absence of bleeding was recorded by passage of the periodontal probe along the soft tissue  
12 margin; (b) suppuration - presence or absence of spontaneous suppuration or probing; (c)  
13 depth of probing - distance, in millimeters, between the margin of the mucosa to the bottom  
14 of the sulcus or peri-implant pocket.

15

#### 16 ***Collection of peri-implant crevicular fluid (PICF)***

17 For the collection of PICF the selected implants were isolated with sterile gauze and  
18 the collection sites were gently dried with air syringe. Four cones of absorbent paper number  
19 40 were placed alone at each collection site, approximately 2 mm into the sulcus/ pocket for  
20 30 seconds each. The cones contaminated with blood or saliva were reject. Subsequently the  
21 cones were placed in eppendorf containing 0.5 ml of Phosphate-Buffered Saline (PBS) buffer  
22 solution, pH 7.2, composed of 1.9 g of potassium phosphate monobasic (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>); 5.1 g  
23 sodium phosphate (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>); 42.5 g sodium chloride (NaCl) and 500 ml ultrapurified water,  
24 distilled in Milli Q® apparatus (Millipore). Then they were frozen at 70<sup>0</sup> C.

25

#### 26 ***Quantification of HIF-1 $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$ and IL-10 in the PICF***

27 The PICF samples were centrifuged at 5000 g for 15 minutes at 4° C. Aliquots of  
28 each sample were analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to determine  
29 the levels of HIF-1 $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  and IL-10 using specific antibody pairs commercially  
30 available according to the manufacturer's recommendations (Quantikine, R&D Systems,  
31 Minneapolis, MN, USA). High-sensitivity flat bottom 96-well plates (NUNC-Maxisorp,

1 Rochester, NY, USA) were sensitized with 50  $\mu$ L of primary monoclonal antibody in  
2 bicarbonate carbonate buffer (pH = 9.4) for 18 hours at 4°C. Subsequently, they were washed  
3 with PBS/0.05% Tween in an automatic washer, blocked with 200  $\mu$ L of PBS/2% BSA (4 h  
4 at room temperature) and washed again with PBS/0.05% Tween. Samples of tissue  
5 supernatants, diluted 1:1 in 1% PBS/BSA were added to the plates and, in parallel, the  
6 standard curve was run with serial dilution of the respective recombinant cytokine. Samples  
7 along the curve were incubated for 18 hours at 4 °C. The wells were then washed with  
8 PBS/Tween and subsequently dispensed 100  $\mu$ L/well with the respective biotin-conjugated  
9 secondary monoclonal antibody, remaining for 2 hours at room temperature and subsequently  
10 washing with PBS/Tween solution. After this step, 100  $\mu$ L/well of streptavidin-conjugated  
11 alkaline phosphatase in PBS/1% BSA was pipetted, remaining for 2 hours at room  
12 temperature. Afterwards, the plates were washed with PBS/Tween, then 100  $\mu$ L/well of the  
13 substrate inducer of enzymatic activity p-nitrophenyl phosphate. The results were obtained by  
14 absorbance measurements of 450 nm in ELISA automated reader (Enspire, Perkin Elmer,  
15 USA). The concentrations of the mediators were determined from linear regression with the  
16 absorbance values obtained in the curves and expressed in pg / ml. The results were calculated  
17 using standard curves created in each assay. The ELISA assay was performed blindly.

18

### 19 *Statistical analysis*

20 Statistical analysis was performed using EXCEL 2007 for WINDOWS (MICROSOFT -  
21 USA), STATVIEW (ABACCUS-USA). The Kolmogorov-Smirnov test was used to verify  
22 the normal distribution of quantitative variables. Continuous variables that presented normal  
23 distribution were expressed as mean  $\pm$  standard deviation and those with non-normal  
24 distribution were expressed in median and percentiles. The variables that presented normal  
25 distribution and homogeneous variance were analyzed by Student's t-tests for comparison of  
26 the two groups. Fisher's exact test was used for comparing ethnicity and gender between  
27 groups. The variables that did not present normal distribution or did not have homogeneous  
28 variance were analyzed by the Mann-Whitney tests. For the correlations, the Spearman  
29 correlation test was performed. The level of significance assumed was 5% ( $p < 0.05$ ).

30

31

32

## 1 RESULTS

2

3 A total of 40 implants from 40 partial edentulous patients were selected, 16 patients  
4 from the PP group and 24 from the HP group. Demographic data for patients in the PP and  
5 HP groups were: Caucasian (14 versus 21) and non-caucasian (2 versus 3), male (6 versus 9)  
6 and female (10 versus 15) respectively. The mean and standard deviation of age were  $56.06 \pm$   
7  $3.711$  years in the PP group and  $52.17 \pm 2.144$  years in the HP group. No statistically  
8 significant differences in ethnicity, gender and age were observed between PP and HP  
9 patients, showing homogeneous distribution between the two groups (Table 1).

10 There was no marginal bleeding or bone loss observed at the radiographic  
11 examination in the HP group. In the PP group there was marginal bleeding in all sites  
12 evaluated ( $p = 0.0001$ ) (Table 1). No suppuration or mobility was observed in any implant of  
13 both groups.

14 The PP group had significantly higher levels of HIF-1 $\alpha$  when compared to the HP  
15 group ( $p = 0.0005$ ) (Figure 1). There was no significant difference in TNF- $\alpha$ , IL-10 and VEGF  
16 levels between the groups.

17 There was a positive and significant correlation between the expression of TNF- $\alpha$   
18 and IL-10 ( $p = 0.0008$ ) (Figure 2) and between TNF- $\alpha$  and VEGF expression ( $p = 0.0246$ )  
19 (Figure 3) in the PP group.

20 There was a negative and significant correlation between HIF-1 $\alpha$  and IL-10  
21 expression in the PP group ( $p = 0.0041$ ) (Figure 4).

22 There was no significant difference in the other correlations in the group PP and no  
23 significant correlation regarding HIF1-alpha, VEGF, TNF-alpha and IL10 levels in the HP  
24 group.

25

## 26 DISCUSSION

27

28 In the present study HIF-1 $\alpha$  levels were significantly higher in the peri-implantitis  
29 group when compared to the group without peri-implantitis. Hypoxia inducible factors (HIFs)  
30 are heterodimeric transcription factors, consisting of an alpha subunit that is oxygen-unstable

1 (HIF- $\alpha$ ) and a constitutively stable beta subunit (HIF- $\beta$ ). HIF plays a key role in the induction  
2 of cellular responses to hypoxia, functioning as the major regulator of oxygen homeostasis in  
3 almost all cells.<sup>17</sup> The significantly higher levels of HIF-1 $\alpha$  in the peri-implantitis group  
4 corroborate an earlier study performed by our team in peri-implant tissue biopsies.<sup>18</sup> However,  
5 although the collection of this fluid is relatively simple and non-invasive, no study has so far  
6 evaluated this transcription factor in the peri-implant crevicular fluid of individuals of peri-  
7 implantitis. Thus, we suggest that hypoxia represents an important factor in the pathogenesis  
8 of peri-implant disease, similar to that described in gingival biopsies of periodontal tissues.<sup>20</sup>

9 In the present study there was no significant difference between the levels of TNF- $\alpha$ ,  
10 IL-10 and VEGF between the groups. However, there was a positive and significant  
11 correlation between TNF- $\alpha$  and IL-10 levels in the peri-implantitis group. Although some  
12 isolated studies of TNF- $\alpha$  and IL-10 have already been performed in peri-implantitis,<sup>21,22</sup> no  
13 studies have correlated these cytokines with peri-implant disease. TNF- $\alpha$  and IL-10 can be  
14 produced by activated macrophages and play opposite roles in the innate and adaptive immune  
15 response.<sup>23</sup> TNF- $\alpha$  is a proinflammatory cytokine that causes increased adhesion and  
16 leukocyte migration to the tissue space facilitating the antimicrobial activity of neutrophils  
17 and macrophages.<sup>24</sup> It is known that the increase of TNF- $\alpha$  induces the increase of the anti-  
18 inflammatory cytokine IL-10.<sup>25</sup> Thus, in the present study the concomitant increase of TNF-  
19  $\alpha$  and IL-10 may be a result of the ability of TNF- $\alpha$  to stimulate IL-10 production in an attempt  
20 to reduce inflammation and tissue damage associated therewith.

21 VEGF is a proinflammatory mediator,<sup>26</sup> collaborating to increase microvascular  
22 permeability, besides stimulating the proliferation and migration of endothelial cells,  
23 monocytes and osteoblasts, essential for angiogenesis.<sup>14</sup> Some authors have suggested that  
24 VEGF may contribute to the severity of inflammation in gingivitis and periodontitis by  
25 inducing the emergence of new blood vessels that would facilitate the transport of pro-  
26 inflammatory cells, nutrients and oxygen to inflamed tissues.<sup>27</sup> Although studies in peri-  
27 implantitis have demonstrated controversial levels of VEGF in the peri-implant tissues,<sup>16</sup> in  
28 the present study we found no significant difference between levels of this growth factor  
29 between groups. However, we found a positive and significant correlation between TNF- $\alpha$   
30 and VEGF in the peri-implantitis group, similar to that already demonstrated in periodontitis,  
31 where the authors concluded that the increase of TNF- $\alpha$  would be inducing the expression of  
32 VEGF.<sup>28</sup> Thus, since TNF- $\alpha$  and VEGF have proinflammatory activity, the concomitant  
33 increase of these factors would be contributing to the intensification of the inflammation in

1 the peri-implantitis. This was the first study to correlate TNF- $\alpha$  and VEGF in the peri-  
2 implantitis.

3 IL10 is an anti-inflammatory cytokine produced by T and B lymphocytes, activated  
4 monocytes and macrophages, presenting immunosuppressive properties in the control of  
5 periodontal bone loss.<sup>10</sup> A recent study in mice with arthritis has shown that high  
6 concentrations of HIF-1 $\alpha$  are associated with increased IL-10 production by B cells, thus  
7 contributing to the reduction of the inflammatory response in the joints.<sup>29</sup> However, our study  
8 demonstrated a negative and significant correlation between IL-10 and HIF-1 $\alpha$ . Our findings  
9 corroborate a study carried out in mice infected with *Histoplasma capsulatum* where the  
10 authors demonstrated that the absence of HIF-1 $\alpha$  in the infected mice caused an increase in  
11 the IL-10 cytokine and consequent increase in the fungal load and death of most animals.<sup>30</sup>  
12 The relationship between the production of HIF-1 $\alpha$  and IL-10 is complex and seems to depend  
13 on the cell type and the inflammatory environment in which it occurs.<sup>29</sup> In peri-implantitis,  
14 this relationship had not yet been studied.

15 Our results associate the decrease of HIF-1 $\alpha$  to the increase of the IL-10 synthesis,  
16 which, being an anti-inflammatory cytokine, would be contributing to the reduction of  
17 inflammatory conditions in peri-implantitis. Such reduction of inflammation could minimize  
18 tissue damage although we cannot rule out the risk of collaborating for the survival of  
19 pathogenic bacteria in peri-implant tissues.

20

## 21 **CONCLUSION**

22

23 The group with peri-implantitis presented significantly higher levels of HIF-1 $\alpha$   
24 compared to the control group. Although no significant differences in TNF- $\alpha$ , VEGF and IL-  
25 10 levels were observed in the peri-implantitis group, an inverse correlation between HIF-1 $\alpha$   
26 levels and IL-10 levels was observed, suggesting that the increase of the anti-inflammatory  
27 cytokine IL-10 could be implicated in the decrease of HIF-1 $\alpha$ , probably due to a reduction of  
28 inflammatory stress and tissue damage.

29

30

31



1

2

### 3 **Statement of human rights**

4 All procedures performed in studies involving human participants were in accordance  
5 with the ethical standards of the institutional and/ or national research committee and with the  
6 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

7

### 8 **Funding Source**

9 This work was supported by Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da  
10 Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM); by Coordenação de Aperfeiçoamento  
11 de Pessoal de Nível Superior (CAPES); by Programa de Pós Graduação em Odontologia and  
12 Programa de Iniciação Científica da Universidade de Uberaba (PIBIC-UNIUBE- 2015/004);  
13 by Cefores/ Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM); by Conselho Nacional de  
14 Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and by Fundação de Amparo à Pesquisa  
15 de Minas Gerais (FAPEMIG). The funding sources had no involvement in study design, in  
16 the collection, analysis and interpretation of data, in the writing and in the decision to submit  
17 the manuscript for publication.

18

### 19 **Acknowledgements**

20 We thank the Guilherme Oliveira Paulo, Fábio Rosa and Everton Seiti Shiaku for their  
21 collaboration in collecting the material.

**FIGURE LEGENDS**

Figure 1 Comparison between *TNF- $\alpha$* , *IL-10*, *VEGF* and *HIF-1 $\alpha$*  levels in the periimplant crevicular fluid of the HP and PP groups.

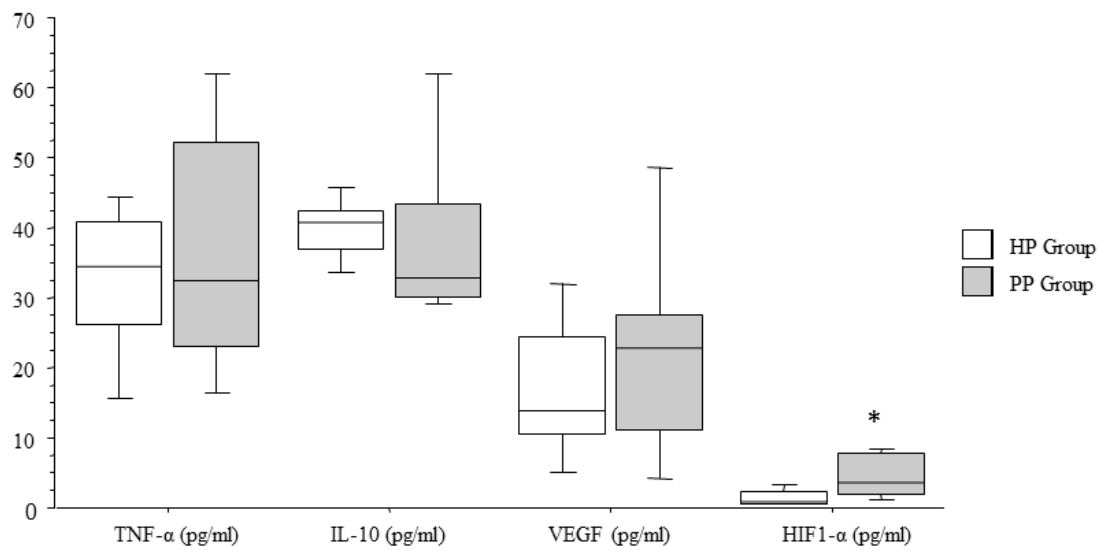


Figure 2 Positive and significant correlation between TNF- $\alpha$  and IL-10 levels in the PP group ( $p = 0.0008$ ).

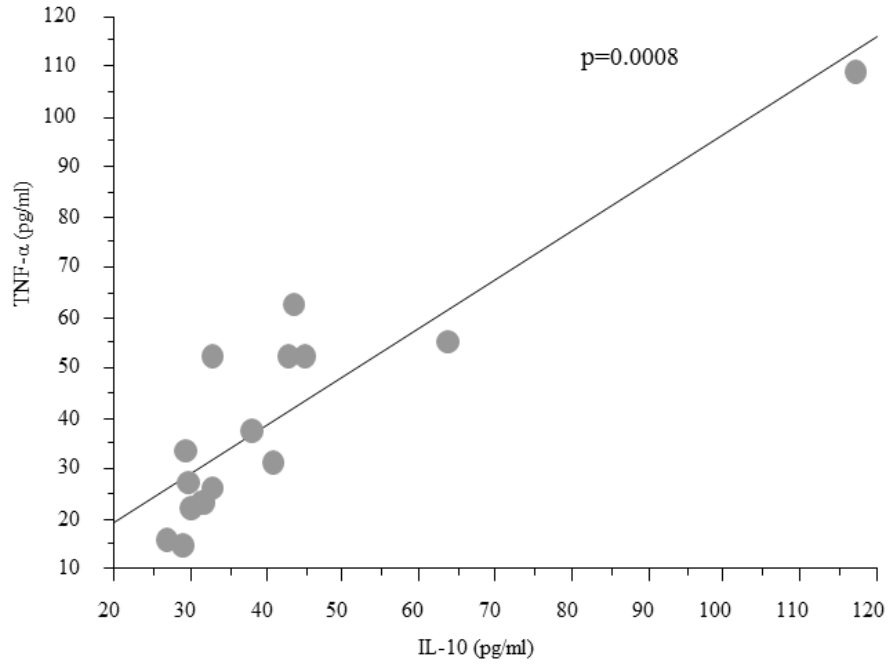


Figure 3 Positive and significant correlation between TNF- $\alpha$  and VEGF levels in the PP group ( $p = 0.0246$ ).

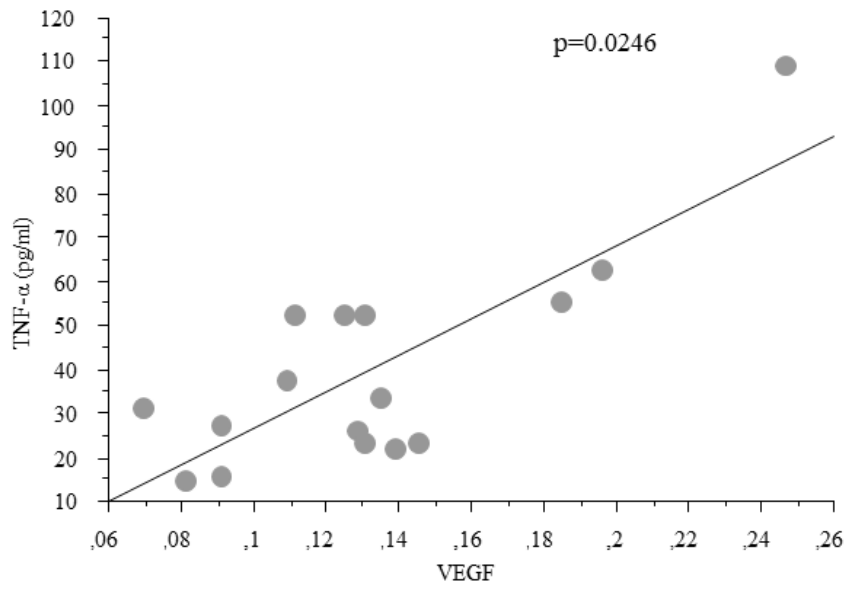
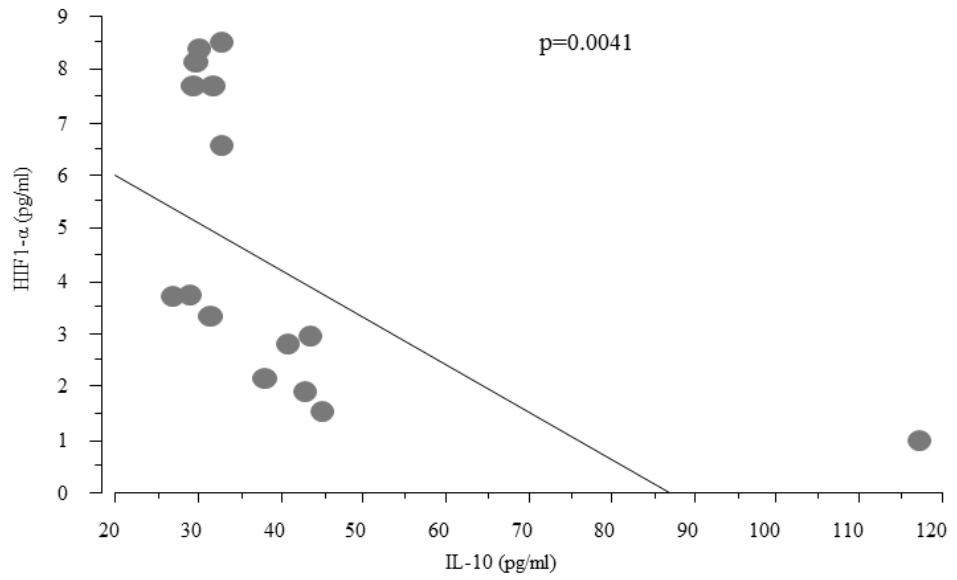


Figure 4 Negative and significant correlation between HIF-1 $\alpha$  and IL-10 levels in the PP group ( $p = 0.0041$ ).



**TABELA***Table 1 - Demographic characteristics, peri-implant clinical data of the PP and HP groups.*

	<b>PP (n=16)</b>	<b>HP (n=24)</b>
<b>Ethnicity<sup>a</sup> (C:NC)</b>	14:2	21:3
<b>Gender<sup>b</sup> (M:F)</b>	6:10	9:15
<b>Age (years; mean±SD)<sup>c</sup></b>	56,06± 3,711	52,17 ± 2,144
<b>MB<sup>d</sup> (%)</b>	16	0
<b>PD<sup>e</sup> (mm; mean±SD)</b>	5,719±0,2540*	2,354±0,2321*

SD: Standart desviation; C: Caucasian; NC: Non-caucasian; M: Male; F: Female.

<sup>a</sup>Fisher exact test p=1;

<sup>b</sup>Fisher exact test p=1;

<sup>c</sup>Student "t" test p = 0,7880;

<sup>d</sup>Student "t" test p<0.0001;

<sup>e</sup>Mann Whitney test, p<0.0001. \* indicate statistically significant differences

1 **REFERENCES**

- 2 1. López-Cerero L. Dental implant-related infections. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008  
3 Nov;26(9):589-592. Spanish. Available from: [https://www.elsevier.es/en-revista-](https://www.elsevier.es/en-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-infecciones-relacionadas-con-los-implantes-S0213005X08752662)  
4 [enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-infecciones-relacionadas-con-](https://www.elsevier.es/en-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-infecciones-relacionadas-con-los-implantes-S0213005X08752662)  
5 [los-implantes-S0213005X08752662](https://www.elsevier.es/en-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-infecciones-relacionadas-con-los-implantes-S0213005X08752662).  
6
- 7 2. Francio L, de Sousa AM, Storrer CLM, Deliberador TM, de Sousa AC, Pizzatto E, et al.  
8 Periimplantitis treatment: literature review. *Rev Sul-Bras Odontol*. 2008 Feb;5(2):75-81.  
9 Portuguese. Available from:  
10 <https://pdfs.semanticscholar.org/bfa0/a7f848a177df046dbc934b6c957dec5f7bf4.pdf>.
- 11
- 12 3. Liskmann S, Vihalemm T, Salum O, Zilmer K, Fischer K, Zilmer M. Correlations between  
13 clinical parameters and interleukin-6 and interleukin-10 levels in saliva from totally  
14 edentulous patients with peri-implant disease. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006 Jul-  
15 Aug;21(4):543-550. Available from:  
16 [http://www.quintpub.com/journals//omi/abstract.php?iss2\\_id=206&article\\_id=2364&article](http://www.quintpub.com/journals//omi/abstract.php?iss2_id=206&article_id=2364&article)  
17 [=5&title=Correlations%20Between%20Clinical%20Parameters%20and%20Interleukin-](http://www.quintpub.com/journals//omi/abstract.php?iss2_id=206&article_id=2364&article)  
18 [6%20and%20Interleukin-](http://www.quintpub.com/journals//omi/abstract.php?iss2_id=206&article_id=2364&article)  
19 [10%20Levels%20in%20Saliva%20from%20Totally%20Edentulous%20Patients%20with%](http://www.quintpub.com/journals//omi/abstract.php?iss2_id=206&article_id=2364&article)  
20 [20Peri-implant%20Disease#.XSIKCOhKjIU](http://www.quintpub.com/journals//omi/abstract.php?iss2_id=206&article_id=2364&article).  
21
- 22 4. Fonseca FJ, Moraes Junior M, Lourenço EJ, Teles Dde M, Figueredo CM. Cytokines  
23 expression in saliva and peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant disease.  
24 *Clin Oral Implants Res*. 2014 Feb;25(2):68-72. Available from:  
25 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/clr.12052>.  
26
- 27 5. Murata M, Tatsumi J, Kato Y, Suda S, Nunokawa Y, Kobayashi Y, et al. Osteocalcin,  
28 deoxypyridinoline and interleukin-1beta in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-  
29 implantitis. *Clin Oral Implants Res*. 2002 Dec;13(6):637-643. Available from:  
30 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1600-0501.2002.130610.x>.  
31
- 32 6. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Pathologic basis of disease*. 6th ed. Philadelphia:  
33 Saunders; 2000. 403-457 p.  
34
- 35 7. Jaffer U, Wade RG, Gourlay T. Cytokines in the systemic inflammatory response  
36 syndrome: a review. *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth*. 2010;2(3):161-175.  
37 Available from: <https://strathprints.strath.ac.uk/28580/>.  
38
- 39 8. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid.  
40 *Periodontol* 2000. 2003;31:77-104. Available from:  
41 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1600-0757.2003.03106.x>.  
42
- 43 9. Negri BM, Pimentel SP, Casati MZ, Cirano FR, Casarin RC, Ribeiro FV. Impact of a  
44 chronic smoking habit on the osteo-immunoinflammatory mediators in the peri-implant fluid  
45 of clinically healthy dental implants. *Arch Oral Biol*. 2016 Oct;70:55-61. Available from:  
46 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003996916301248>.  
47
- 48 10. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid  
interleukin-1 $\beta$  and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent*. 2004 Sep;32(7):511-

- 1 520. Available from:  
2 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300571204000703>.
- 3 11. Casado PL, Canullo L, de Almeida Filardy A, Granjeiro JM, Barboza EP, Leite Duarte  
4 ME. Interleukins 1 $\beta$  and 10 expressions in the periimplant crevicular fluid from patients with  
5 untreated periimplant disease. *Implant Dent*. 2013 Apr;22(2):143–150. Available from:  
6 [https://journals.lww.com/implantdent/Abstract/2013/04000/Interleukins\\_1\\_\\_and\\_10\\_Expres](https://journals.lww.com/implantdent/Abstract/2013/04000/Interleukins_1__and_10_Expressions_in_the.9.aspx?trendmd_shared=0)  
7 [sions\\_in\\_the.9.aspx?trendmd\\_shared=0](https://journals.lww.com/implantdent/Abstract/2013/04000/Interleukins_1__and_10_Expressions_in_the.9.aspx?trendmd_shared=0).  
8
- 9 12. Terra R, da Silva SAG, Pinto VS, Dutra PML. Effect of exercise on immune system:  
10 response, adaptation and cell signaling. *Rev Bras Med Esporte*. 2012 May-Jun;18(3):208-214.  
11 Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1517-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-86922012000300015)  
12 [86922012000300015](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-86922012000300015).  
13
- 14 13. Valiatti FB, Crispim D, Benfica C, Valiatti BB, Kramer CK, Canani LH. The role of  
15 vascular endothelial growth factor in angiogenesis and diabetic retinopathy. *Arq Bras*  
16 *Endocrinol Metab*. 2011 Mar;55(2):106-113. Available from:  
17 [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27302011000200002&script=sci_abstract&tlng=pt)  
18 [27302011000200002&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27302011000200002&script=sci_abstract&tlng=pt).  
19
- 20 14. Güneri P, Unlü F, Yesilbek B, Bayraktar F, Kokuludağ A, Hekimgil M et al. Vascular  
21 endothelial growth factor in gingival tissues and crevicular fluids of diabetic and healthy  
22 periodontal patients. *J Periodontol*. 2004 Jan;75(1):91-97. Available from:  
23 <https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1902/jop.2004.75.1.91>.  
24
- 25 15. Ye J, McGuinness OP. Inflammation during obesity is not all bad: evidence from animal  
26 and human studies. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013 Mar;304(5):466-477. Available  
27 from: <https://www.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpendo.00266.2012>.  
28
- 29 16. Cornelini R, Artese L, Rubini C, Fioroni M, Ferrero G, Santinelli A, et al. Vascular  
30 endothelial growth factor and microvessel density around healthy and failing dental implants.  
31 *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001 May-Jun;16(3):389-393. Available from:  
32 [http://www.quintpub.com/journals/omi/abstract.php?article\\_id=446#.XSIBLuhKjIU](http://www.quintpub.com/journals/omi/abstract.php?article_id=446#.XSIBLuhKjIU).  
33
- 34 17. Dengler VL, Galbraith M, Espinosa JM. Transcriptional regulation by hypoxia inducible  
35 factors. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2014 Jan-Feb;49(1):1-15. Available from:  
36 <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/10409238.2013.838205?journalCode=ibmg20>  
37 .  
38
- 39 18. de Araújo MF, Etchebehere RM, de Melo MLR, Beghini M, Severino VO, de Castro Cobo  
40 CE, et al. Analysis of CD15, CD57 and HIF-1 $\alpha$  in biopsies of patients with peri-implantitis.  
41 *Pathol Res Pract*. 2017 Sep;213(9):1097-1101. Available from:  
42 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0344033817304119>.  
43
- 44 19. de Mendonça AC, Santos VR, César-Neto JB, Duarte PM. Tumor necrosis factor-alpha  
45 levels after surgical anti-infective mechanical therapy for peri-implantitis: A 12-month



- 1 follow-up. J Periodontol. 2009 Apr;80(4):693-699. Available from:  
2 <https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1902/jop.2009.080521>.
- 3 20. Ng KT, Li JP, Ng KM, Tipoe GL, Leung WK, Fung ML. Expression of hypoxia-inducible  
4 factor-1 $\alpha$  in human periodontal tissue. J Periodontol. 2011 Jan;82(1):136-141. Available from:  
5 <https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1902/jop.2010.100100>.
- 6 21. Duarte PM, de Mendonça AC, Máximo MB, Santos VR, Bastos MF, Nociti Júnior FH.  
7 Differential cytokine expressions affect the severity of peri-implant disease. Clin Oral  
8 Implants Res. 2009 May;20(5):514-520. Available from:  
9 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0501.2008.01680.x>.
- 10 22. Persegani FJ, Moraes Junior M, Lourenço EJ, Telles Dde M, Figueredo CM, Bastos E.  
11 Expressão de citocinas na saliva de pacientes com peri-implantite. ImplantNewsPerio. 2012  
12 Nov-Dec;9(7):13-16. Portuguese. Available from:  
13 <http://www.inpn.com.br/InPerio/Artigo/Index/660>.
- 14 23. Speretta GFF, Leite RD, Duarte ACGO. Obesidade, inflamação e exercício: foco sobre o  
15 TNF-alfa e IL-10. Rev HUPE. 2014 Jan;13(1):61-69. Portuguese. Available from:  
16 <https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/revistahupe/article/view/9807/8769>.  
17
- 18 24. Cruvinel WM, Mesquita Júnior D, Araújo JAP, Catelan TTT, de Souza AWS, da Silva  
19 NP, et al. Immune system. Part I: Fundamentals of innate immunity with emphasis on  
20 molecular and cellular mechanisms of inflammatory response. Bras J Rheumatol. 2010 Jul-  
21 Aug;50(4):448-461. Available from: [http://www.scielo.br/pdf/rbr/v50n4/en\\_v50n4a08.pdf](http://www.scielo.br/pdf/rbr/v50n4/en_v50n4a08.pdf).  
22
- 23 5. Grimaldeston MA, Nakae S, Kalesnikoff J, Tsai M, Galli SJ. Mast cell-derived interleukin  
24 10 limits skin pathology in contact dermatitis and chronic irradiation with ultraviolet B. Nat  
25 Immunol. 2007 Oct;8(10):1095-1104. Available from:  
26 <https://www.nature.com/articles/ni1503>.  
27
- 28 26. de Oliveira CMB, Sakata RK, Issy AM, Gerola LR, Salomão R. Cytokines and Pain. Rev  
29 Bras Anesthesiol. 2011 Mar-Apr;61(2):255-259. Available from:  
30 [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-70942011000200014](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-70942011000200014).  
31
- 32 27. Mierzwinska-Nastalska E, Lomzynski L, Jaworska-Zaremba M, Kostrzewa-Janicka J.  
33 Vascular endothelial growth factor in gingival crevicular fluid around dental implants. Eur J  
34 Med Res. 2010 Nov;15(2):88-91. Available from:  
35 <https://link.springer.com/content/pdf/10.1186/2047-783X-15-S2-88.pdf>.  
36
- 37 28. Afacan B, Öztürk VO, Paşali C, Bozkurt E, Köse T, Emingil G. Gingival crevicular fluid  
38 and salivary HIF-1 $\alpha$ , VEGF, and TNF- $\alpha$  levels in periodontal health and disease. J  
39 Periodontol. 2019 Jul;90(7):788-797. Available from:  
40 <https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/JPER.18-0412>.  
41
- 42 29. Meng X, Grötsch B, Luo Y, Knaup KX, Wiesener MS, Chen XX, et al. Hypoxia-inducible  
43 factor-1 $\alpha$  is a critical transcription factor for IL-10-producing B cells in autoimmune disease.  
44 Nat Commun. 2018 Jan;9(1):1-17. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41467-017-02683-x>.  
45
- 46  
47 30. Fecher RA, Horwath MC, Friedrich D, Rupp J, Deepe GS Jr. Inverse Correlation between  
48 IL-10 and HIF-1 $\alpha$  in Macrophages Infected with Histoplasma capsulatum. J Immunol. 2016

1 Jul;197(2):565-579. Available  
2 <https://www.jimmunol.org/content/early/2016/06/03/jimmunol.1600342>.  
3

from:

## *CONCLUSÕES*

## 1 **6. CONCLUSÕES**

2 O aumento da citocina anti-inflamatória IL-10 poderia estar implicada na diminuição  
3 de HIF-1 $\alpha$ , provavelmente devido a uma redução do estresse inflamatório e do dano tecidual.  
4 Este foi, até o presente momento, o primeiro estudo a associar os níveis de IL-10 e de TNF- $\alpha$   
5 na peri-implantite. Até o presente momento, nenhum estudo avaliou a expressão desse fator  
6 de transcrição (HIF-1 $\alpha$ ) no fluido crevicular peri-implantar (FCP). Sendo assim são  
7 necessários novos estudos para melhor compreensão da patogênese do processo inflamatório  
8 com finalidade de contribuir para novas terapias que irão prevenir a perda precoce do  
9 implante.

10

## *CONSIDERAÇÕES FINAIS*

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

1           As doenças peri-implantares são possíveis complicações do tratamento com  
2 implantes dentais osseointegráveis e podem indicar risco para insucesso, mas podem também  
3 ser temporárias ou passíveis de tratamento.

4           A utilização de implantes osseointegrados na reabilitação de pacientes parcialmente  
5 ou totalmente desdentados tem sido empregada com frequência na clínica odontológica. Um  
6 adequado planejamento, e a utilização regular e efetiva de medidas preventivas são os  
7 procedimentos mais eficazes no caso das doenças peri-implantares evitando a instalação de  
8 biofilme e o conseqüente avanço de uma infecção. Embora a placa bacteriana seja considerada  
9 o principal fator etiológico das doenças peri-implantares, a intensidade da resposta  
10 inflamatória a produtos bacterianos como lipopolissacarídeos e endotoxinas causa a liberação  
11 de citocinas, como demonstrado no presente estudo, levando à perda óssea.

12           O estudo realizado apresentou limitações importantes quanto ao número de pacientes  
13 com peri-implantite e ao tamanho da amostra que apresentou em número reduzido em relação  
14 ao grupo controle.

15           No início deste presente estudo tivemos como objetivo comparar os níveis de HIF1-  
16  $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  e IL-10 no fluido crevicular peri-implantar de pacientes com e sem peri-  
17 implantite através da técnica de ELISA e com os resultados do presente estudo conseguimos  
18 alcançar esses objetivos. Dessa forma, após concluído o trabalho as expectativas foram  
19 alcançadas, já que conseguimos, através de análise estatística, obter resultados comparativos  
20 de uma variedade de marcadores inflamatórios pela análise do fluido crevicular peri-implantar  
21 (FCP).

22           Verificou-se que os níveis de HIF-1 $\alpha$  foram significativamente maiores no grupo com  
23 peri-implantite quando comparado ao grupo sem peri-implantite. Os HIFs exercem papel  
24 importante na indução de respostas celulares à hipóxia, além de ser responsável pela regulação  
25 da homeostase do oxigênio em praticamente todas as células. Sendo assim, a hipóxia  
26 representa um fator importante na patogênese da doença peri-implantar. Observou-se,  
27 também, que houve uma correlação positiva e significativa entre os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-10  
28 no grupo com peri-implantite, pois o TNF- $\alpha$  estimula a produção de IL-10 na tentativa de  
29 reduzir a inflamação e o dano tecidual a ela associado. Durante a inflamação o aumento do  
30 TNF- $\alpha$  é contrabalanceado pelo aumento da síntese da citocina anti-inflamatória IL-10.

1           Foi evidenciado que no grupo CP houve correlação positiva e significativa entre a  
2 expressão de TNF- $\alpha$  e IL-10 e entre a expressão de TNF- $\alpha$  e VEGF. O TNF- $\alpha$  colabora na  
3 síntese outras citocinas pró-inflamatórias, podendo estar aumentado tanto na periodontite  
4 como na peri-implantite.

5           Houve correlação negativa e significativa entre a expressão HIF-1 $\alpha$  e IL-10 no grupo  
6 CP, sugerindo que o aumento da citocina anti-inflamatória IL-10 poderia estar implicada na  
7 diminuição de HIF-1 $\alpha$ , provavelmente devido a uma redução do estresse inflamatório e do  
8 dano tecidual.

9           Portanto, embora a peri-implantite seja uma das principais causas de insucesso dos  
10 implantes, muitos mecanismos dessa doença ainda não são totalmente compreendidos. Diante  
11 disso, tal contribuição científica, aliada a outros estudos anteriores, torna-se uma ferramenta  
12 fundamental para entender melhor a inflamação da peri-implantite, servindo de base para  
13 ampliar ainda mais o campo científico, possibilitando, como consequência benéfica, uma  
14 maneira de tentar reverter o quadro inflamatório. Sendo assim são necessários novos estudos  
15 para melhor compreensão da patogênese do processo inflamatório com finalidade de  
16 contribuir para novas terapias que irão prevenir a perda precoce do implante.

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33





## *REFERÊNCIAS*

## REFERÊNCIAS

1. Abrahansson I, Soldini C. Probe penetration in periodontal and periimplant tissues. *Clinical oral implants research*. 2006; 17(6): 601-605.
2. Aggarwal D, Limdi J.K. Anti-tnf therapy is associated with a reduction in radiation exposure in patients with crohn's disease. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2015; 27::13-19.
3. Aggarwal B, Guptam S.C, Kim J.H. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25years later, a golden journey. *Blood*. 2012; 119:651–665.
4. Araujo M, Lubiana N.F. Características dos tecidos peri-implantares. *Revista de Periodontia*. 2008; 18 (4): 8-13.
5. Araújo M.F, Etchebehere R.M, De melo M.L.R, Beghini M, Severino V.O, De castro C.E, Rocha rodrigues D.B; De lima pereira SA. Analysis of CD15, CD57 and HIF-1 $\alpha$  in biopsies of patients with peri-implantitis. *Pathology research and practice*. 2017; 213(9):1097-1101.
6. Berchner-Pfannschmidt U, Frede S, Wotzlaw C, Fandrey J. Imaging of the hypoxia-inducible factor pathway: insights into oxygen sensing. *The European respiratory journal*. 2008; 32(1):210-7.
7. Berglundh T, Lindhe J. Reosseointegração. In: Lindhe J, Karring T, Niklaus P, editores. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. 5ed. Rio de Janeiro: GuanabaraKoogan; 2010. p. 1004- 1009.
8. Capp C, Zennig N, Wajner S, Maia A.L. Papel do fator de crescimento endotelial vascular nos carcinomas de tireóide. *Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre*. 2009;29(1):51-59.
9. Carswell E.A, Old L.J, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson, B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1975; 72: 3666.-3670.

10. Casado P.L, Canullo L, De Almeida Filardy A, Granjeiro J.M, Barboza E.P, Leite Duarte M.E. Interleukins 1 beta and 10 expressions in the periimplant crevicular fluid from patients with untreated periimplant disease. *Implant Dentistry*. 2013; (22):143-150.
11. Cosyn J, Van Aelst L, Collaert B, Persson GR, De Bruyn H. The Periimplant Sulcus Compared with Internal Implant and Suprastructure Components: A Microbiological Analysis. *Clinical implant dentistry and related research*. 2011; 13(4): 286-295.
12. Damico F.M. Angiogênese e doenças da retina. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 2007 70(3): 547-553.
13. De Carvalho J. Morfologia dos tecidos peri-implantares. *Revista Uningá*. 2005; (6): 75-88.
14. de Fátima L.A, Papa P.C. Fator de crescimento do endotélio vascular (vegf): regulação transcricional e pós-transcricional. *Revista da Biologia*. 2010; 4:22-27.
15. De Oliveira M.C, Corrêa D.F.M, Laurêdo L.F.B, Mendonça L.P.F, Lemos A.B, Carmo G.G.W. Peri-implantite: etiologia e tratamento. *Revista Brasileira de Odontologia*. 2015; 72(1): 96-99.
16. Dengler V.L, Galbraith M, Espinosa J.M. Transcriptional regulation by hypoxia inducible factors. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2014; 49(1):1-15.
17. Dentz D.C, Barcellos M.S, Anziliero A.H; Correa J, Marchiori P.M, Takemoto M.M. Osseointegração em implantes. *Revista tecnológica*. 2018 8(2):28-33.
18. Elerati E.L, Kahn S. Introdução a importância da mucosa ceratinizada na área periimplantar. *Revista de Periodontia*. 2009; 19(2): 71-77.
19. Elerati EL, Kahn S. A importância da mucosa ceratinizada na área peri-implantar. *Revista Periodontia*. 2009; 19(2): 71-77.
20. Fernández-Torres J, Martínez-Navaa G.A, Gutiérrez-Ruíz M.C, Gomez-Quiroz L.H, Gutiérrez M. Papel da via de sinalização do HIF-1 na osteoartrite: revisão sistemática. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2017; 57(2):162-173.
21. Ferreira RCQ, Kuguimya RN, Rodrigues RA, Lins RAU, Dias AHM, Gade-Neto CR. Abordagem clínica da peri-implantite. *Revista brasileira de implantodontia e prótese sobre implantes*. 2006; 13(51): 150-4.
22. Figueredo, CMS, Fisher, RG. Aspectos microbiológicos da flora bacteriana em torno de implantes osteointegrados [texto na internet]. 2001 [citado 2012 ago 15]. Disponível em: <http://www.periodontiamedica.com.br/aspectos-microbiologicos-da-flora-bacteriana-em-torno-de-implantes-osteointegrados>.

23. Florentino filho, ATC; Ataíde, WS; Pereira, AFV. O Implante dentário como uma alternativa para pacientes periondontais: uma revisão de literatura. *Revista de Ciências da Saúde, São Luís*. 2012; 14(1): 53-59.
24. Fonseca F.J, Moraes Junior M, Lourenço E.J, Teles Dde M, Figueredo C.M. Cytokines expression in saliva and peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant disease. *Clinical Oral Implants Research*.. 2014; 25(2):68-72.
25. Francischone CE, Filho HN, Matos DAD. Osseointegração e tratamento multidisciplinar. São Paulo: Quintessence Editora Ltda. 2006; 4: 55-66.
26. Gartner P, Hiatt J.L. Tratado de histologia. 2007, 3ª edição.
27. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1 $\beta$  and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *Journal of dentistry*. 2004; 32(7): 511-520.
28. Grimbaldston MA, Nakae S, Kalesnikkoff J, Tsai M, Galli SJ. Mats cell-derived interleukin 10 limits skin pathology in contact dermatitis and chronic irradiation with ultraviolet B. *Nature Immunology*. 2007; 8(10): 1095-104
29. Guneri P, Unlu F, Yesilbek B, Bayraktar F, Kokuludag A, Hekimgil M. Vascular endothelial growth factor in gingival tissues and crevicular fluids of diabetic and healthy periodontal patients. *Journal of Periodontology*. 2004; 75:91-97.
30. Hicklin D.J, Ellis L.M. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *Journal of Clinical Oncology*. 2005; 23:1011-27.
31. Humphrey S. Implant Maintenance. *Dental Clinics of North America*. 2006; 50: 463-478.
32. Jaffer U, Wade R.G, Gourlay T. Cytokines in the systemic inflammatory response syndrome: a review. *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth*. 2010; 2(3):161-175.
33. Leite M, Escobar A.L, Magalhães D. Epidemiologia e microbiologia da peri-implantite. *Brazilian Journal of Periodontology*. 2015; 25(3): 07-13.
34. Lima V, Bezerra M.M, Leitão R.F.C, Brito G.A.C, Rocha F.A.C, Ribeiro R.A. Principais mediadores inflamatórios envolvidos na fisiopatologia da periodontite – papel de moduladores farmacológicos. *Revista Periodontia*. 2008; 18(3):7-19.
35. Lindhe J, Meyle J, Group D of European Workshop on Periodontology. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology *Journal of Clinical Periodontology*. 2008; 35(8 Suppl): 282-285.

36. Lira-Júnior R, Ribeiro M.S.M, Macedo J.M.B, Fischer R.G. Papel da interleucina-10 na patogênese da doença periodontal: revisão da literatura. *Brazilian Journal of Periodontology*. 2013 23(2):39-44.
37. Liskmann S, Vihalemm T, Salum O, Zilmer K, Fischer K, Zilmer M. Correlations between clinical parameters and interleukin-6 and interleukin-10 levels in saliva from totally edentulous patients with peri-implant disease. *International Journal Oral Maxillofacial Implants*. 2006; 21(4):543-550.
38. López-Cerero L. Dental implant-related infections. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008; Nov;26(9):589-592.
39. Lorier G , Cristina Touriño C, Renato A. K. Kalil R.A.K. Angiogênese Coronariana como Resposta Endógena da Isquemia Miocárdica no Adulto. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2011;97(6):140-148.
40. Martins E.O.B, Martins F, Anjos E.D, Marques D.D.M. Doenças peri-implantares, etiologia, diagnóstico e classificação. revisão de literatura. *Brazilian Journal of Periodontology*. 2019; 29(1):53-64.
41. Mendes VC, Davies JE. *Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas*. 2016; 70(2): 166-71.
42. Misch CE. *Implantes dentais contemporâneos*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.
43. Montes C.C, Alvim-Pereira F, Thome G, Alves E.D, Acedo R.V, de Souza J.R, Melo AC, Trevilatto P.C. Failing factors associated with osseointegrated dental implant loss. *Implant Dentistry*. 2007; 16(4):404-12.
44. Murata M, Tatsumi J, Kato Y, Suda S, Nunokawa Y, Kobayashi Y, et al. Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1beta in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*. 2002; 13(6):637-643.
45. Negri B.M, Pimentel S.P, Casati MZ, Cirano F.R, Casarin R.C, Ribeiro F.V. Impact of a chronic smoking habit on the osteo-immunoinflammatory mediators in the peri-implant fluid of clinically healthy dental implants. *Archives Oral Biology* 2016; 70:55-61.
46. Nociti R.P, Macente B.I, Tavares M.R, Santos F.C, Camacho RR, Vicente W.R.R, Feliciano M.A.R. O papel do fator de crescimento endotelial (VEGF) na formação e progressão de neoplasias mamárias de cadelas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2015 39(3):341-346.
47. Oliveira T.M, Sakai V.T, Machado M.A, Dionísio T.J, Cestari T.M, Taga R, Amaral S.L, Santos C.F. COX-2 inhibition decreases VEGF expression and alveolar bone loss

- during the progression of experimental periodontitis in rats. *Journal of Periodontology*. 2008; 79(6):1062-9.
48. Padial-molina M, Suarez F, Rios H.F, Galindo-Moreno P, Wang H.L. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Peri-implant Diseases. *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*. 2014; 34(6): 102-111.
  49. Pimentel GHD, Martins LM, Ramos MB, Lorenzoni FC, Queiroz AC. Peri-implant bone loss and diferent implant systems. *Innovations Implant Journal: Biomaterials and Esthetics*. 2010; 5(2): 75-81.
  50. Pradeep A.R, Prapulla D.V, Sharma A, Sujatha P.B. Gingival crevicular fluid and sérum vascular endothelial growth factor:their relationship in periodontal health, disease and after treatment. *Cytokine*. 2011 54(2):200-4.
  51. Renvert S, Roos-Jansaker AM, Claffley N. Non-surgical treatment peri-implant mucositis and peri-implantitis: a literature review. *J Clin Periodontol* 2008; 35(8):305-315.
  52. Santos O.C.B, Ferraz M.A. Correlações entre parâmetros clínicos e doenças peri-implantares: revisão de literatura. *Revista de Periodontia*. 2017; 27(3): 37-43.
  53. Sedger L.M, Mcdermott M.F. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants – past, present and future. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2014; 25:453-472.
  54. Sobreira F.M.S, Júnior G.R.S, Lopes N.M.A, Vildes A, Cimões R. Peri-implantite: bases científicas para diagnóstico e tratamento. *International Journal of Dentistr*. 2011; 10(3):180-185.
  55. Sommer C, White F. Cytokines, Chemokines, and Pain, em: Beaulieu P, Lussier D, Porreca F. *Pharmacology of Pain*. 2010; 279-302.
  56. Souza L.S, Rausch Z. Implante unitário com provisionalização imediata:relato de caso clínico. *Revista UNINGÁ, Maringá*. 2019; 56(3):101-112.
  57. Uitto V.J, Overall C.M, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*. 2003; 31:77-104.
  58. Valiatti F.B, Crispim D, Benfica C, Valiatti B.B, Kramer C.K, Canani L.H. Papel do fator de crescimento vascular endotelial na angiogênese e na retinopatia diabética. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. 2011 55(2):106-113.
  59. Vasconcelos R.S, Costa A.L.L, Freitas R.A, Bezerra B.A, Santos B.R.M, Pinto L.P, Gurgel B.C.V. Immunoexpression of HIF-1 $\alpha$  and VEGF in Periodontal Disease and Healthy Gingival Tissues. *Brazilian. Dental Journal*. 2016 27(2):117-122.

60. Vitale R.F, Ribeiro F.A.Q. O papel do Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) no processo de erosão óssea presente no colesteatoma adquirido da orelha média. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*. 2007; 73(1):123-7.
61. Ye J, McGuinness O.P. Inflammation during obesity is not all bad: evidence from animal and human studies. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2013; 304(5):466-477.
62. Zanatta F.B, Ravello F, Antoniazzi R.P, Rösing C.K. Tratamento da periimplantite: uma revisão sistemática. *Revista de Periodontia*. 2009; 19(4):111-120.
63. Zavarelli A, Guilherme A.S, Castro A.T.J, Fernandes M.A, Pereira E, Garcia R.R. Fatores locais e sistêmicos relacionados aos pacientes que podem afetar a osseointegração. *Revista Gaúcha de Odontologia*. 2011; 59:133-146.
64. Zhang J.M, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *International Anesthesiology Clinics*. 2007; 45:27-37.

*ANEXOS*



## ANEXO A – APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE DE UBERABA -  
UNIUBE



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA DO FLUIDO CREVICULAR E DA GENGIVA MARGINAL DE PACIENTES COM PERIODONTITE E COM PERI-IMPLANTITE.

**Pesquisador:** Sanívia Aparecida de Lima Pereira

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 64947717.0.0000.5145

**Instituição Proponente:** Sociedade Educacional Uberabense

**Patrocinador Principal:** Sociedade Educacional Uberabense

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.457.394

UNIVERSIDADE DE UBERABA -  
UNIUBE



Continuação do Parecer: 2.457.394

De acordo com a avaliação realizada assinalo o referido projeto como APROVADO, salvo melhor juízo feito pelos membros do CEP-UNIUBE.

#### Considerações Finais a critério do CEP:

Em 21/12/2017 a plenária votou de acordo com o relator, pela aprovação da proposta, lembrando o proponente do compromisso com o que trata as Resoluções 466/12 e 510/2016, especialmente no que diz respeito a entrega dos Relatórios Parcial e Final da pesquisa ao CEP.

#### Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_832915.pdf	05/12/2017 15:31:32		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.doc	04/12/2017 16:48:14	Sanívia Aparecida de Lima Pereira	Aceito
Parecer Anterior	PARECER.pdf	04/12/2017 16:22:16	Sanívia Aparecida de Lima Pereira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE.docx	04/12/2017 15:42:22	Sanívia Aparecida de Lima Pereira	Aceito

## ANEXO B- ANAMNESE



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO- Uberaba-MG

Dados pessoais			
Nome:			Data: / /
Data de nascimento: / /	Idade:	Raça: <input type="checkbox"/> Branco <input type="checkbox"/> Negro	
Estado civil:	Profissão:	Gênero: <input type="checkbox"/> Feminino <input type="checkbox"/> Masculino	
Endereço: n°:		Bairro:	
Telefone:	Celular:		
Motivo da perda dos dentes:			
Sistema cardiovascular: Pressão arterial:		Hipertensão arterial ( ) sim ( ) não	
<b>Sistema respiratório</b> (asma, pneumonia, bronquite, enfisema, fibrose...) ( ) sim ( ) não Qual? _____ _____		<b>Sistema genito-urinário</b> (cistite, nefrite, insuficiência renal...) ( ) sim ( ) não Qual? _____ _____	
<b>Sistema digestório</b> (gastrites, úlceras...) ( ) sim ( ) não Qual? _____ _____		<b>Distúrbios hemorrágicos</b> (distúrbios de coagulação, púrpuras...) ( ) sim ( ) não Qual? _____ _____	
<b>Sistema endócrino</b> (diabetes, paratireoidismo. Tireoidite...) ( ) sim ( ) não Qual? _____ _____		<b>Alergias</b> ( ) sim ( ) não Qual? _____ _____	

<p><b>Discrasias sanguíneas</b> (leucemia, agranulocitose)</p> <p>( ) sim ( ) não</p> <p>Qual? _____</p> <p>_____</p>	<p><b>Doenças infecciosas</b> (hepatite, DST, AIDS, tuberculose...)</p> <p>( ) sim ( ) não</p> <p>Qual? _____</p> <p>_____</p>
<p><b>Sedentarismo</b> ( ) sim ( ) não</p>	<p><b>Está sob tratamento médico?</b> ( ) sim ( ) não</p> <p>Detalhar _____</p> <p>_____</p>
<p><b>Tabagismo</b> ( ) sim ( ) não</p> <p>Quantos cigarros por dia: _____</p> <p>( ) ex-fumante Há quanto tempo? _____</p> <p>( ) fumante passivo</p>	<p><b>Índice de massa corporal</b></p> <p>(IMC) = <math>\frac{\text{peso}}{(\text{altura})^2}</math> = _____ = _____</p> <p>peso= _____ altura= _____</p>
<p><b>Está sob tratamento médico?</b> ( ) sim ( ) não</p>	<p><b>Faz uso de algum medicamento?</b> ( ) sim ( ) não</p> <p>Quais? _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p><b>Possui alguma neoplasia (tumores)?</b></p> <p>( ) sim ( ) não</p> <p>Qual? _____</p> <p>_____</p>	<p>1) <b>Possui alguma doença auto-imune (pênfigo, tireoidite de Hashimoto ...)</b> ( ) sim ( ) não</p> <p>Qual? _____</p> <p>_____</p>
<p><b>Deficiência de vitamina C?</b> _____</p> <p><b>Ingere fontes de vitamina C?</b> _____</p>	<p><b>Osteoporose</b> ( ) sim ( ) não</p>
<p><b>Já teve problemas periodontite antes da colocação do implante?</b> ( ) sim ( ) não</p>	<p><b>Se a resposta anterior foi sim: Fez tratamento periodontal?</b> ( ) sim ( ) não quando? _____</p>

**Condição dental (coroa)**

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

<b>Higienização</b> ( ) satisfatória ( ) deficiente	<b>Há antagonista ao implante?</b> ( ) sim ( ) não  ( ) dente ( ) prótese removível ( ) prótese fixa
---	--

**Sangramento à sondagem**

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

**Supuração**

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

**Profundidade de sondagem (em milímetros)**

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=
	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=
	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

<input type="checkbox"/> Implante <input type="checkbox"/> Dente	Índice de Placa	Índice Gengival	Escore – índice de placa		Escore – índice gengival (sangramento)	
			0	Sem placa	0	Ausência
			1	Uso de sonda	1	Presença de pontos
			2	Olho nu	2	Colar
			3	Abundância	3	Abundante

- Situação do provisório (quando houver): \_\_\_\_\_

- Contato prematuro? \_\_\_\_\_ Dente antagonista é dente ou prótese? (de que material?) \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Assinatura do paciente**

**ANEXO C- TERMO DE ESCLARECIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO- Uberaba-MG

**TERMO DE ESCLARECIMENTO**

Peri-implantite 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 “*Comparação dos níveis de HIF-1 $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  e IL-10 no fluido crevicular peri-implantar de pacientes com e sem peri-implantite*” tem como objetivo comparar os níveis de HIF1- $\alpha$ , VEGF, TNF- $\alpha$  e IL10 no fluido crevicular peri-implantar de pacientes com e sem peri-implantite. Como os avanços na área da saúde ocorrem por meio de estudos como este, sua participação é importante. Caso você participe, será necessário fazermos coletas de amostra de fluido crevicular peri-implantar, exames radiográficos, perguntas sobre sua saúde geral e odontológica. Este estudo permitirá identificar se você tem peri-implantite 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.

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: Sanivia Aparecida de Lima Pereira:  
(034) 99153-5353 – Bárbara Bellocchio Bertoldo: (034) 98833-9176

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.