



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

PRISCILA ROSSI SANTOS STRABELLI

**ACOMPANHAMENTO CLÍNICO E DADOS MOLECULARES DE
PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA DE IMPLANTE – estudo de
casos**

São José dos Campos

2023

PRISCILA ROSSI SANTOS STRABELLI

**ACOMPANHAMENTO CLÍNICO E DADOS MOLECULARES DE
PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA DE IMPLANTE – estudo de
casos**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA.

Área: Prótese Dentária. Linha de Pesquisa: Desenvolvimento de materiais e novas tecnologias em odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Falchete do Prado

São José dos Campos
2023

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2023]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Strabelli, Priscila Rossi Santos

Acompanhamento clínico e dados moleculares de pacientes submetidos à cirurgia de implante: estudo de casos / Priscila Rossi Santos Strabelli. – São José dos Campos : [s.n.], 2023.
51 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Odontologia Restauradora) – Pós-Graduação em Odontologia Restauradora – Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2023.
Orientadora: Renata Falchete Do Prado.

1. Implantes dentais . 2. Marcadores moleculares. 3. Peri-implantite. 4. Relatos de casos. I. Prado, Renata Falchete Do, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' – Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra Renata Falchete do Prado (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Dra. Alessandra Manchini Tarallo

Força Área Brasileira

Centro Técnico de Aeronáutica (CTA)

São José dos Campos

Profa. Dra Luana Marotta Reis de Vasconcellos

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

São José dos Campos, 03 de fevereiro de 2023.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho primeiramente a **Deus** e a **Nossa Senhora Aparecida**, por terem me guiado durante todo o percurso.

Ao meu esposo **Ricardo Henrique Strabelli** e minha filha **Maria Alice Santos Strabelli** por serem a minha diária motivação profissional.

Aos meus pais, **Lourival Diniz Santos** e **Valéria Barbosa Rossi Santos**, que sempre apoiaram a minha iniciativa docente.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por me proporcionar alcançar esse grande desafio.

Agradecer meu esposo **Ricardo Henrique Strabelli** e minha filha **Maria Alice Santos Strabelli**, que são minhas motivações em querer me desenvolver intelectualmente e profissionalmente.

Aos meus pais, **Lourival Diniz Santos** e **Valeria Barbosa Rossi Santos** e minhas irmãs, **Jéssica Luiza Rossi Pereira** e **Luana Rossi Santos**.

Agradecer a minha orientadora, **Profa. Dra Renata Falchete do Prado**, por todos os momentos de aprendizado, me ensinando não somente a ser uma pesquisadora, mas também uma profissional de excelência e futura mestre.

Agradecer a minha banca examinadora, **Dra. Alessandra Manchini Tarallo** e **Profa. Dra Luana Marotta Reis de Vasconcelos**, que vem me auxiliando desde o exame geral de qualificação com seus sábios conselhos e sugestões.

Agradecer a **Univesp – Universidade Virtual do Estado de São Paulo**, pela bolsa de estudos e pela rica experiência docente que me proporcionaram.

A **UNESP** e ao **Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos**, pela rica oportunidade que me concederam como aluna regular de mestrado do programa de Pós Graduação em Odontologia Restauradora.

Agradeço também a cada um dos professores da pós-graduação dessa Universidade, por todo conhecimento compartilhado, por todos os ensinamentos práticos e teóricos, em especial aos professores: **Lafayette de Nogueira Jr**, **Alexandre Souto Borges**, **Marco Antônio Bottino**, **Renata Marques Mello de Faria** e **Tarcísio Arruda Paes Junior**.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 Peri-implantite.....	11
2.2 Tabagismo.....	13
2.3 Hipertensão.....	16
2.4 Métodos dos estudos epidemiológicos.....	17
2.5 Estudos de casos	18
3 PROPOSIÇÃO	20
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1 Avaliação da profundidade de sondagem.....	22
4.2 Índice de sangramento gengival	22
4.3 Índice de biofilme dental	23
4.4 Exame radiográfico	24
4.5 Avaliação das citocinas inflamatórias por ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)	26
4.6 Avaliação da expressão gênica por RT-PCR (tempo real)	28
5 RESULTADOS	30
6 DISCUSSÃO	39
7 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS.....	43
ANEXOS	49

Strabelli PRS. Acompanhamento clínico e dados moleculares de pacientes submetidos à cirurgia de implante: estudo de casos [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2023.

RESUMO

A prática clínica dos implantodontistas mostra uma importante taxa de insucesso pós reabilitações com implantes, cujas causas variam e muitas vezes não são identificadas. Este estudo de caso avaliou a presença de doenças peri-implantares em pacientes fumantes, pacientes fumantes em terapia anti-hipertensiva, pacientes em terapia anti-hipertensiva e pacientes controle, levando em consideração os seguintes dados: avaliação da expressão gênica por reação em cadeia da polimerase, por tempo real e transcrição reversa, do osso do leito receptor do implante; profundidade de sondagem (PS) das próteses implantadas; sangramento a sondagem; índice de biofilme dental; análise radiográfica da perda óssea e avaliação de citocinas inflamatórias do fluido gengival desses pacientes, por ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay). O presente estudo objetivou avaliar marcadores moleculares relacionados ao remodelamento ósseo e ao processo inflamatório expressos pelo osso no momento de inserção do implante, traçando correlações clínicas de 16 pacientes, que foram avaliados 3 anos após terem sido reabilitados com implantes dentais osseointegrados, na busca de fatores preditivos de sucesso do tratamento. Os dados foram avaliados por estatística descritiva (média, mediana, desvio padrão), pelos testes paramétricos (ANOVA) e não paramétricos (Kruskal Wallis) e por análises de correlação de Pearson. Não houveram correlações significativas entre os marcadores moleculares do metabolismo ósseo e citocinas inflamatórias do fluido gengival com as condições clínicas avaliadas após a reabilitação com próteses. A profundidade de sondagem foi maior nos pacientes fumantes e correlacionou-se significativamente à perda óssea. Concluiu-se os fatores moleculares não tiveram significância preditiva de sucesso dos tratamentos com implantes dentais osseointegrados e que pacientes com um ou mais fatores de risco apresentam um pior prognóstico cuja manifestação inicial ocorre com uma maior profundidade de sondagem correlacionada com maior perda óssea.

Palavras Chave: Implantes dentais. Marcadores moleculares. Peri implantite. Relatos de casos.

Strabelli PRS. Clinical follow-up and molecular data of patients undergoing implant surgery: case study [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (UNESP), Institute of Science and Technology; 2023.

ABSTRACT

The clinical practice of implant dentists shows an important failure rate after implant rehabilitations, whose causes vary and are often not identified. This present case study evaluated the presence of peri-implant diseases in smokers, smokers on antihypertensive therapy, patients on antihypertensive therapy and control patients, taking into account the following data: evaluation of gene expression by chain reaction of polymerase, by real time and reverse transcription, of the bone of the implant recipient bed; probing depth (PS) of implanted prostheses; bleeding on probing; dental biofilm index; radiographic analysis of bone loss and evaluation of inflammatory cytokines in the gingival fluid of these patients, by ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay). The present study aimed to evaluate molecular markers related to bone remodeling and the inflammatory process expressed by the bone at the time of implant insertion, tracing clinical correlations of 16 patients, who were evaluated 3 years after being rehabilitated with osseointegrated dental implants, in the search for predictive factors of treatment success. The data were evaluated by descriptive statistics (mean, median, standard deviation), by parametric (ANOVA) and non-parametric (Kruskall Wallis) tests and by Pearson transfer analysis. There was no correlation between molecular markers of bone metabolism and cytokines, inflammation of the gingival fluid with clinical conditions after rehabilitation with prostheses. Probing depth was greater in smokers and was significantly correlated with bone loss. It was concluded that molecular factors had no predictive significance for the success of treatments with osseointegrated dental implants and that patients with one or more risk factors had a worse prognosis whose initial manifestation occurs with a greater depth of probing correlated with greater bone loss.

Keywords: Dental implants. Molecular markers. Peri-implantitis. Case reports.

1 INTRODUÇÃO

Os implantes dentários são um dos tratamentos mais procurados do mundo, segundo um levantamento feito pela Abimo (Associação Brasileira da Indústria de Artigos e Equipamentos Médicos, Odontológicos, Hospitalares e de Laboratórios); o Brasil é o país onde mais se realizam implantes dentários no mundo. São cerca de 800 mil implantes e 2,4 milhões de componentes de próteses dentárias colocadas por ano. A reabilitação oral com implantes dentários osseointegrados apresenta atualmente grande longevidade e previsibilidade de tratamento para pacientes edêntulos parciais e totais. (Aksoy et al., 2009; Bassi et al., 2013).

A peri-implantite por sua vez, é descrita na literatura como uma inflamação dos tecidos que circunda o implante dental, suas características inflamatórias, são similares com a da periodontite, sua etiologia primaria também é através de bactérias, como *Prevotella Intermédia*, *Fusobacterium* sp, além dos micro-organismos anaeróbicos e gram-negativos presentes no biofilme dental, como ocorre na periodontite, portanto é coerente a literatura afirmar que o diagnóstico e o plano de tratamento das peri-implantites e das periodontites serem equivalentes.

Uma das causas de insucessos dos implantes dentários, ocorre através da peri-implantite. E o tabaco é um dos principais fatores de risco para essa doença. Para Albrektisson e Zarb as características dos pacientes quanto ao tipo ósseo, medicações e hábitos são de extrema importância para o processo de planejamento cirúrgico, o vício de fumar, por exemplo, afeta a cicatrização e a sobrevivência dos implantes. (Albrektisson, Zarb, 1998). O tabagismo possui um efeito nocivo gerando a perda óssea. (Clementini et al., 2014).

Muitos são os pacientes que necessitam de reabilitação dentária e são fumantes, entre eles, alguns optam por tratamento com implantes dentários, portanto nesse estudo comparativo avaliaremos a situação da osseointegração de implantes dentários em pacientes fumantes e não fumantes, levando em consideração exames clínicos, radiográficos e laboratoriais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A osseointegração é uma reação complexa e imuno-modulada, na qual o implante é reconhecido como material estranho, ativando o sistema imune, onde os peptídeos, as proteínas e as citocinas realizam suas funções reguladoras intercelulares, entoando por meio de suas manifestações a intensidade da resposta inflamatória no processo de cicatrização e/ou nos processos patológicos (Terheyden et al., 2012; Trindade et al., 2016). No entanto, com o decorrer do tempo, o osso deposita-se na superfície metálica, sendo que esta relação permanece estável por longos períodos de tempo (Branemark, 1983).

Os cigarros apresentam muitas substâncias tóxicas, como a nicotina, monócitos de carbono, cianeto de hidrogênio e várias outras substâncias com potencial carcinogênico. Essas substâncias por sua vez, afetam a cicatrização, e nos casos de tratamento com implantes bucais realizados em pacientes fumantes, eles agirão alterando o tecido ósseo ao redor do implante, comprometendo a sua osseointegração. (Miranda et al., 2018)

Outro tipo de falha do implante, está relacionada a susceptibilidade genética. A expressão de alguns genes, pró-inflamatórios como as interleucinas (IL) e o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF), são considerados fatores de risco para a perda de implantes dentais. (Chen, Zhao, 2019).

2.1 Peri-implantite

Os métodos tradicionais como exames radiográficos e avaliação clínica da saúde ou doença dos tecidos peri-implantares ajuda a determinar a presença de perda óssea nos implantes osseointegrados e indica processos inflamatórios, infecciosos, traumas entre outras complicações. (Papaspolidakis et al., 2012). No estudo de Astolfi et al. (2022), os autores avaliaram 555 implantes em 132 pacientes e constataram que os pacientes que não compareceram a consulta de manutenção

pós tratamento com implantes, tiveram uma incidência de peri-implantite de 61,4 % em comparação com 27,3 % daqueles que compareceram a consulta.

O processo imediato de reparação pós-injúria como a resposta humoral, a remodelação tecidual e angiogênese pode ser avaliada a partir de análise de coleta de fluido peri-implantar. (Schraufstatter et al., 2012). Analisando fluido peri-implantar também é possível avaliar a presença das interleucinas (IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23, que são mediadores da resposta inflamatória no periodonto e nos tecidos peri-implantares dos processos normais ou patológicos. Tais interleucinas também atuam no reparo imediato pós-injúria. Dessas citocinas a IL-1 β regula a produção de prostaglandinas (PG), de leucotrienos e de ativador de plaquetas em alguns tipos celulares, além de induzir a reabsorção óssea pela diferenciação de células precursoras em osteoclastos; é considerada uma das citocinas mais importantes no processo inflamatório (Macdonald, Gowen, 1993; Mundy, 2009; Tatakis et al., 1988).

Já a IL-6 é secretada pelas células T e macrófagos para ativar a resposta imune aguda na infecção e em processos pós-traumáticos, desencadeando a inflamação. (Kishimoto, 2005). A IL-8 tem como funções a indução da quimiotaxia no sítio infeccioso, induz também a fagocitose no local da inflamação e promove a angiogênese. A IL-10 apresenta características anti-inflamatórias, agindo na inflamação patológica e na modulação da cascata inflamatória da doença peri-implantar. (Duarte et al., 2009; Grütz, 2005; Hu et al., 2009). No estudo de Severino et al. (2016) os autores constataram que o nível de IL17 e IL33 estavam significamente aumentas nos pacientes que pertenciam ao grupo com mucosite peri-implantar.

No estudo de Kulakov, os autores analisaram as características moleculares e morfológicas dos processos inflamatórios e regenerativos em tecidos acometidos pela periodontite e pela peri-implantite. Com base nas diferenças imunohistoquímicas em marcador de diferenciação de células miofibroblásticas; Fator de crescimento endotelial vascular e o Marcador de atividade proliferativa (Ki-67), os autores concluíram que a peri-implantite apresentou maior processo inflamatório e destrutivo, pelo aumento da inflamação, processo de regeneração prejudicado e destruição do tecido ósseo periodontal. (Kulakov et al., 2020).

Cerca de dois milhões de componentes de próteses dentárias são instalados por ano no Brasil, e a doença peri-implantar pode afetar até cerca de meio milhão

deles; o correto diagnóstico dessas doenças deve ser realizado precocemente. Os acompanhamentos clínico e radiográfico são de grande valia para detectar e interromper as doenças peri-implantares. Para Mombelli et al. e Listgarten com a avaliação dos tecidos moles ao redor dos implantes dentários, na qual podem-se observar aspectos como inchaço, supuração, vermelhidão, sangramento, e bolsa periodontal é possível diagnosticar e prevenir precocemente o avanço da doença peri-implantar. (Listgarten, 1991; Mombelli et al., 1987).

2.2 Tabagismo

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 5,4 milhões de óbitos por ano são causadas por câncer de pulmão, doenças cardiovasculares e outras causas associadas ao tabagismo, sendo o mesmo, o maior causador de mortes preveníveis. Em 2016 a OMS também relatou que existiam 1,1 bilhão de fumantes adultos em todo o planeta.

Para Derks et al. (2015), o risco de perda dos implantes dentais em fumantes é 14.4 vezes maior do que nos não fumantes. (Derks et al., 2015). O fumo causa imunossupressão, uma resposta inflamatória exacerbada e atraso celular, aumentando a inflamação bucal pelo aumento dos níveis do fator de necrose tumoral (TNF) no fluido do sulco gengival. A nicotina aumenta a liberação monocítica da PGE2 (prostaglandina E2) e interleucina (IL1), aumentando a inflamação gengival. (Douglass, 2006).

Os fumantes têm maiores números de neutrófilos (células de defesa contra a infecção) na circulação periférica, provocando uma diminuição da quimiotaxia, fagocitose e adesão. (Carranza et al., 2012). A formação de anticorpos é outro fator alterado pelo tabagismo, em virtude da diminuição da proliferação de células T, afetando as funções de células B, consequentemente diminuindo a concentração de IgG e a formação de anticorpos.

Azar e Richard avaliaram que fumantes ativos têm níveis de proteína C reativa maior do que os não fumantes; a inflamação faz parte do nosso processo imune e guia a liberação da proteína C reativa para a corrente sanguínea. (Azar,

Richard, 2011). Já no estudo de Hertz Mayfield e Guy Huynh, os autores avaliaram o efeito do tabagismo no sistema imune e resposta inflamatória e, notaram que ocorreu inibição do processo biológico da osseointegração, assim como a inibição da cicatrização de feridas e redução da circulação periférica. O tabagismo pode afetar a microvascularização dos tecidos e a remodelação óssea. (Heitz-Mayfield, Huynh-Ba, 2009).

Outros fatores contribuem para insucessos de implantes, como um incorreto planejamento feito pelo implantodontista, má higiene, periodontite, entre outros; o conjunto desses fatores penderá ainda mais para o insucesso dos tratamentos com implantes. Negri et al. (2016) concluíram que fumantes com melhor higiene bucal mostram sinais de menor perda óssea marginal em torno do implante mandibular se comparado à indivíduos com má higiene oral, e também que implantes instalados em fumantes apresentam maior risco no desenvolvimento de peri-implantite. (Negri et al., 2016).

Barbour et al, avaliaram que os fumantes podem ter até 6 vezes mais probabilidade de ter doença periodontal do que os não fumantes. (Borbour et al., 1997). O tabagismo pode causar periodontite crônica, dependendo dos seus genes, em um estudo realizado por Polk et al. (2012), foi constatado que havia presença de periodontite em alguns grupos de pessoas e em outros não. (Polk et al., 2012). Também para Koldslund et al.(2009), todas as perdas de implantes finais foram precedidas por perda precoce associada a periodontite e ao tabagismo. (Koldslund et al., 2009). Estudos realizados por Deluca et al. (2006), mostrou que o tabagismo produz comprometimento da longevidade dos implantes. (Deluca, Zarb et al., 2006).

No estudo de Sánchez-Pérez et al. (2007), para fumantes moderados e pesados o uso do tabaco envolve risco relativo respectivamente de 10,1% na perda do implante, enquanto o consumo de mais de 20 cigarros/dia aumenta o risco para 30,8% nesta perda. (Sánchez-Pérez et al., 2007). Correa et al. também ressaltaram que o impacto do tabagismo sobre os implantes pode estar relacionado às moléculas de nicotina presentes na fumaça, podendo auxiliar de forma negativa no osso esponjoso (Correa et al., 2009). Em 2015 Sagolastra et al. confrontaram o hábito de fumar e efeitos sobre implantes dentais, e relataram que a peri-implantite esteve significativamente maior em fumantes quando comparados aos não fumantes. (Sagolastra et al., 2015).

Em um estudo sobre a altura do osso marginal em 46 pacientes reabilitados com 116 implantes, Wahlstrom et al. (2010), dividiu em três grupos, 5 pacientes eram fumantes, 26 ex-fumantes e 15 pacientes não fumavam. Os fumantes apresentaram maior número de dentes com bolsas periodontais maior que 6 mm em comparação com os não fumantes e ex-fumantes, e um paciente fumante entre os cinco, apresentou peri-implantite outros três deles apresentaram mucosite. Já o grupo de ex-fumantes, apresentou uma perda óssea marginal significativa e maiores bolsas periodontais em menor número de dentes; entre os 26 ex-fumantes, um apresentou peri-implantite e outros 5 apresentaram mucosite. (Wahlström et al., 2010). Em um estudo prospectivo por três anos realizado por Pozzi et al. (2016) com 54 pacientes, cada paciente recebeu uma única prótese; três desses pacientes eram fumantes. Um dos pacientes fumantes apresentou perda do osso marginal de 3,2 mm com sangramento a sondagem (Pozzi, Mura, 2016).

Atarchi e colaboradores (2020), realizaram recentemente um estudo sobre os fatores de risco que levam a perda precoce de implantes dentais, dentre esses fatores, os autores incluíram: sexo, idade, tabagismo, histórico médico, comprimento e diâmetro do implante, aumento de seio maxilar e perfuração da membrana do seio. Dentre todos esses fatores, o tabagismo foi o que apresentou maior porcentagem de insucesso de implantes. Na pesquisa de Prado et al. (2021) foram analisadas amostras ósseas de pacientes divididos nos seguintes grupos: fumantes, ex fumantes, hipertensos, fumantes hipertensos e um grupo de pacientes saudáveis (controle). Os resultados mostraram que os grupos de fumantes e hipertensos, apresentaram maiores valores nas expressões de RUNX, Fosfatase alcalina e Osteopontina. Os autores concluem que nos pacientes fumantes, a fumaça pode diminuir a expressão dos genes responsáveis pela formação de matriz óssea, além de aumentar os genes envolvidos na reabsorção óssea. (Prado et al., 2021).

2.3 Hipertensão

A hipertensão arterial é um importante fator de risco para a morte prematura em todo o mundo, principalmente por causar complicações cardiovasculares (Tibazarwa, Damasceno, 2014). Segundo o ministério da saúde em 2018, 24,7% da população que vive nas capitais brasileiras afirmaram ter diagnóstico de hipertensão, dentre eles os idosos com mais de 65 anos são os mais afetados pela hipertensão. Ao todo, 60,9% dessa população que vive nas capitais brasileiras afirma ter o diagnóstico; os dados também mostraram 388,7 mortes por dia em 2017.

Um levantamento epidemiológico em relação à prevalência da periodontite em pacientes hipertensos foi realizado por Marques (2016) e colaboradores, dos 170 pacientes hipertensos que participaram da pesquisa, todos apresentaram perda de inserção em decorrência da periodontite e 91% deles foram diagnosticados com periodontite crônica avançada.

A prevalência da periodontite em pacientes hipertensos é bastante relatada na literatura, porém mesmo sendo doenças muito similares, o mesmo não ocorre em relação a peri-implantite. Mulinari- Santos et al. (2018) revelam que os indivíduos hipertensos apresentam metabolismo anormal de cálcio resultando em concentrações inferiores desse mineral, de vitamina D, magnésio e altas concentrações de hormônio da paratireoide {PTH}, prejudicando a qualidade e a densidade do tecido ósseo. Portanto, uma questão que precisa ser abordada de forma adequada, refere-se à qualidade do tecido ósseo em pacientes hipertensos, e ainda, a capacidade de formação óssea em situações como a osseointegração após a instalação de implantes. Esse fato se confirma no estudo de Wang et al. (2022), onde os autores avaliaram a presença de peri-implantite em pacientes com doenças cardiovasculares e foi identificado uma prevalência significativamente maior (48,8%) de peri-implantite moderada a grave nesse grupo do que nos pacientes do grupo controle (30,4%).

Dada sua alta incidência na população, a terapia anti-hipertensiva foi uma das variáveis confundidoras encontradas e consideradas no decorrer desta pesquisa.

2.4 Métodos dos estudos epidemiológicos

Entende-se por “risco” o grau de probabilidade da ocorrência de um determinado evento: por exemplo, o risco de alguém perder um implante dentário. Nem todos os indivíduos têm os mesmos riscos. Há pessoas que vivem com implantes longevos em atividade mastigatória desde a época de instalação dos implantes pioneiros. Outras pessoas perderam seus implantes com 4 ou 6 meses de cirurgia, antes mesmo de iniciar a função mastigatória ou logo no seu início.

A associação dos fatores de risco, entre si, é complexa, podendo resultar em efeitos somatórios ou multiplicativos. A probabilidade de o dano vir a ocorrer, no futuro imediato ou remoto, pode ser estimada para um fator de risco isolado ou para vários, simultaneamente. Embora as pessoas se exponham diferentemente a um fator, ocorre que, em termos populacionais, podem ser identificados subgrupos com aproximadamente os mesmos riscos. Estas estimativas são possíveis graças aos estudos epidemiológicos. (Pereira, 2018).

As pesquisas epidemiológicas podem ser divididas em duas vertentes, as experimentais e observacionais. Os estudos experimentais, são: Ensaios clínicos randomizados controlados, ensaios comunitários e ensaios de campo. Já os estudos observacionais, são classificados em analíticos e descritivos. Dentre os estudos analíticos, podemos citar: os estudos seccionais, os estudos ecológicos, os estudos de caso-controle e os estudos de coorte. Esses estudos analíticos têm como objetivo relacionar, o estado de saúde de um indivíduo ou de um grupo com outras variáveis.

Os estudos descritivos, são elaborados de forma qualitativa, um exemplo são os estudos de caso ou relatos de casos (Bonita et al., 2010), e usaremos esse método no presente estudo.

A classificação das evidências científicas dos estudos epidemiológicos, está hierarquizada conforme a sua qualidade metodológica, sua confiança e aplicabilidade. Na base dessa pirâmide se observam os estudos *in vivo* e *in vitro*, além das opiniões dos profissionais/especialistas, mais acima, tem-se os relatos e os estudos de casos, logo acima os estudos de caso – controle. No próximo nível estão os estudos coorte, acima deles os ensaios clínicos randomizados, e no topo

dessa pirâmide de evidências científicas, estão as revisões sistemáticas. Quanto mais ao topo, maiores as evidências científicas, como representado na Figura 1.

Figura 1 - Pirâmide das evidências científicas



Legenda - A pirâmide ilustra o nível de menor (base da pirâmide) a maior (topo da pirâmide) evidência científica.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2.5 Estudos de casos

Como citado anteriormente, os estudos de casos, se encontram na base da pirâmide de evidências científicas, ou seja, apresentam menores evidências, em relação aos outros estudos citados. Por outro lado, os estudos de casos, servem como base para os estudos com mais evidências, além de ser um dos primeiros estudos que descrevem ou analisam novas doenças, como no caso atual da pandemia pela COVID-19. Os primeiros estudos sobre a doença foram relatados através de estudos de casos, assim aconteceu também com outras doenças, como o *Zika vírus*, por exemplo.

A história dos estudos de casos é notada por transições entre seu grande uso e seu desuso. Entre os anos de 1900 a 1960, a pesquisa foi marcada por um

grande desuso dessa metodologia, a justificativa era que esse método de pesquisa, era mal fundamentado, nessa época tivemos então, um grande avanço dos métodos de pesquisa quantitativos, porém a partir da década de 60, os pesquisadores constataram que os métodos quantitativos apresentavam falhas, essas falhas se davam pelas limitações de alguns casos, onde esses não poderiam ser explicados por meio de esquemas estatísticos. A partir da década de 60 então, os estudos de casos voltaram a ser utilizado pelos pesquisadores. Para Yin, a inflexibilidade dos outros métodos de pesquisa, assim como seus requisitos, faz com que os estudos de casos, seja a única forma viável de pesquisa, em algumas instâncias. (Aberdeen, Yin, 2009).

Os estudos de casos são uma metodologia usada em todas as áreas do conhecimento, porém, foram primeiramente usados nas áreas da medicina e do direito, e seguem sendo fortemente usados, uma vez que os “casos” fazem parte do dia a dia dentro dessas áreas. Essa metodologia também vem sendo usada pelo governo, para avaliar se algum programa implementado, teve eficácia ou não, ou para analisar se as metas de um determinado programa estão sendo atingidas.

Portanto, a metodologia dos estudos de casos, se baseia em dados qualitativos por meio de acontecimentos reais, é um estudo detalhado que objetiva descrever ou explicar fenômenos atuais inseridos em seu próprio contexto. (Aberdeen, Yin, 2009).

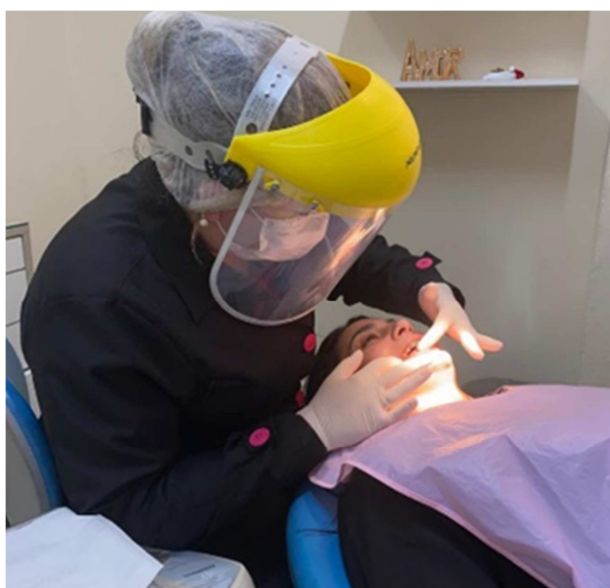
3 PROPOSIÇÃO

Avaliar a saúde peri-implantar dos implantes instalados em fumantes e não fumantes, assim como relacionar o vício de fumar com a presença de doenças peri-implantares, através de dados clínicos, como a profundidade de sondagem, o índice de sangramento e o biofilme dental. Avaliar marcadores moleculares relacionados ao remodelamento ósseo e ao processo inflamatório expressos pelo osso no momento de inserção do implante e no fluido gengival peri-implantar, traçando correlações clínicas com dados de pacientes, que foram coletados 3 anos após terem sido reabilitados com implantes dentais osseointegrados, na busca de fatores preditivos de sucesso do tratamento.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Seres Humanos, sob o número 36910420.5.0000.0077. A amostra de conveniência foi obtida com seguimento dos pacientes de pesquisa prévia de Prado et al. (2021), onde buscou-se atender os 32 pacientes que já haviam sido submetidos à cirurgia de implante dentário, atendidos no Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos em 2017 e 2018. No entanto, houve perdas de pacientes por diversos motivos e aqueles que compareceram para a nova pesquisa assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Os pacientes foram atendidos em uma clínica particular na cidade de São José dos Campos - Praça dos Expedicionários, 110, Jardim Bela vista, Figura 2, uma vez que os atendimentos clínicos no Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos estava interrompido por conta da pandemia de COVID-19. Assim, o método do estudo em questão se enquadra mais entre estudos de casos e não em amostragem.

Figura 2 - Ilustra o atendimento clínico realizado aos pacientes da pesquisa em consultório privado



Legenda - Atendimento clínico, realizado em consultório particular, para avaliação dos pacientes.
Fonte: Elabora pelo próprio autor.

Durante o exame clínico, foram realizadas as seguintes análises.

4.1 Avaliação da profundidade de sondagem

Foi realizada com o espelho clínico e sonda milimetrada OMS (Fava, São Paulo – SP, Brasil), nas próteses implantadas, em 6 pontos: mesiovestibular, vestibular, distovestibular, lingual, mesiolingual e distolingual, foi considerada a maior medida dentre elas, nos demais dentes remanescentes de cada paciente, foi realizada a sondagem apenas por vestibular. (Caton, 2018).

Figura 3 - Sondagem peri-implantar com sonda OMS



Legenda - Sondagem peri-implantar da prótese instalada na região anterior da maxila, realizada com sonda OMS.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2 Índice de sangramento gengival

Após a avaliação da profundidade de sondagem de todos os elementos dentais, de cada paciente, citada acima, conseguimos observar a presença ou

ausência de sangramento gengival, Figura 4, a porcentagem de sangramento foi calculada através da divisão do número de dentes que apresentou sangramento, pelo número total de dentes, multiplicado por 100. (Caton, 2018).

Figura 4 - Avaliação de sangramento à sondagem



Legenda - A imagem ilustra a avaliação do sangramento após o procedimento de sondagem peri-implantar e periodontal.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.3 Índice de biofilme dental

Utilizou-se o evidenciador de placa Eviplac (Biodinâmica Ibiporã – PR, Brasil) para a visualização do biofilme dental dos pacientes e cálculo da porcentagem de superfícies acometidas por placa dentária. O valor do índice de placa dental foi obtido pela soma total de faces dentais coradas divididos pelo total de faces dentais presentes, multiplicado por 100. Quando a porcentagem for menor que 20% a higiene do paciente foi classificada como aceitável, do contrário, a higiene é deficiente e se faz necessária um melhor controle do biofilme dental. (Caton, 2018). No entanto, após a evidenciação, foi realizada a orientação de

higiene individual conforme suas respectivas necessidades para cada paciente da pesquisa.

Após a evidenciação foi realizada profilaxia odontológica com a utilização de pasta profilática (Herjos F, Vigodent Rio de Janeiro – RJ, Brasil) e escova de Robinson (Preven, Guapirama – PR, Brasil), em caneta de baixa rotação (Kavo, São Paulo – SP, Brasil) para realizar a remoção da placa com evidenciador das superfícies dentárias.

Figura 5 - Evidenciação de biofilme dental



Legenda - Evidenciação e avaliação de biofilme dental realizado com Eviplac (Biodinâmica).
Fonte: Elaborada pelo autor.

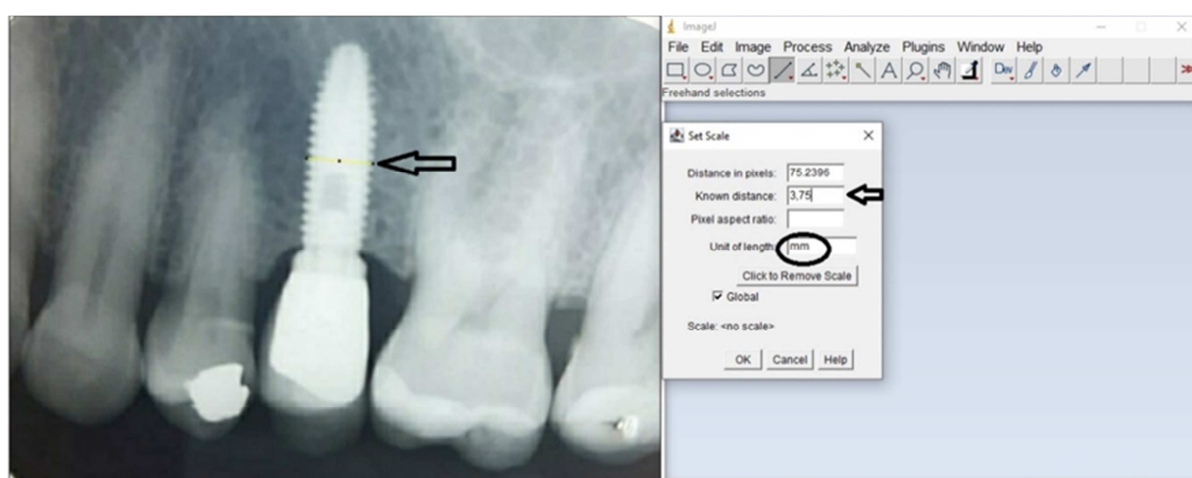
4.4 Exame radiográfico

Foi realizada a tomada radiográfica periapical com uso de posicionador radiográfico periapical (Indusbello, Londrina - PR, Brasil) e película radiográfica (Dentus E-Speed, Agfa, São Paulo - SP Brasil), da(s) região(ões) das próteses implantadas, a fim de avaliar a osseointegração dos implantes dentais instalados e medir a quantidade de reabsorção das mesmas. Após a tomada radiográfica, as periapicais foram digitalizadas e no intuito de padronizar uma correta medição, foi

utilizado o software Image J (Figuras 6 e 7). Para tanto, calibramos o programa, foi delimitado a quantidade de pixels do diâmetro do implante de cada paciente.

Para calibrarmos, foi traçado o comprimento do diâmetro do implante de cada paciente. E no software, em Analyze, Set scale, foi colocado o valor em milímetros, como ilustrado a seguir.

Figura 6 - Passo a passo para calibração do software Image J

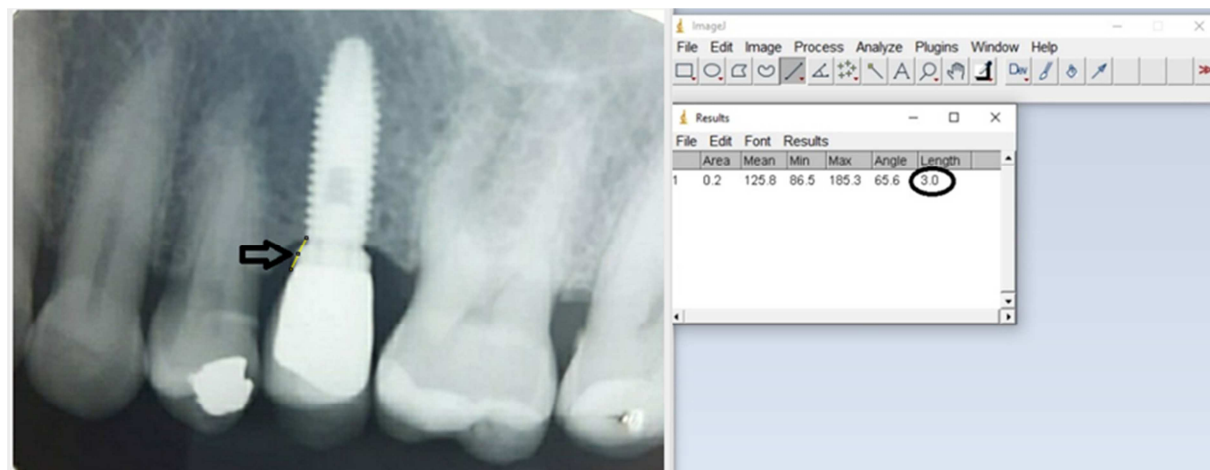


Legenda - Ilustração do passo a passo utilizado para padronizar a reabsorção óssea marginal nas radiografias periapicais através do software Image J.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Depois de calibrado, foi traçado o ponto mais cervical da coroa da prótese implantada até o ponto mais alto da crista óssea alveolar, como indicado pela seta na imagem a seguir. No software, clicamos em Measure onde foi apresentado o valor em milímetros da área traçada, no qual o valor de Length corresponde ao valor do comprimento da reabsorção óssea em milímetros.

Figura 7 - Resultado em milímetros do comprimento da reabsorção óssea pelo software Image J



Legenda - Ilustração do passo a passo utilizado para padronizar a reabsorção óssea marginal nas radiografias periapicais através do software Image J.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5 Avaliação das citocinas inflamatórias por ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)

Amostra de fluido peri-implantar foi coletada com cones de papel absorventes apirogênicos e estéreis (Cell Pack Pro, por 60 segundos (Figura 9). Esses cones foram armazenados em tubo de microcentrífuga a -80°C . O ensaio imunoenzimático para as citocinas inflamatórias Interleucinas: (IL)-1 β e IL17; foi realizado utilizando-se Kits ELISA. Placas de microtitulação de 96 poços sensibilizadas com anticorpos de captura foram específicos para cada citocina de interesse (R & D Systems, NE), sendo 100 μL /poço. As placas permaneceram overnight em temperatura ambiente. Posteriormente, as placas foram lavadas com 300 μL de Tampão de Lavagem (PBS acrescido de 0,05% de Tween 20) e bloqueadas com tampão de bloqueio (PBS acrescido de 0,1% de Soro Albumina Bovino - BSA). As placas foram mantidas em temperatura ambiente por uma hora. Após os procedimentos de lavagem, foi adicionado nas placas 100 μL do padrão de citocinas (curva-padrão) ou 100 μL das amostras (sobrenadantes obtidos da

agitação dos cones de papel contendo o fluido peri-implantar em solução fisiológica aprotínica). Os testes foram realizados em duplicata. As placas foram mantidas por duas horas em temperatura ambiente. Após os procedimentos de lavagem, foram acrescentados em cada poço das placas 100 µL de anticorpo de detecção marcado com biotina. As placas foram mantidas em temperatura ambiente por 2 h. Novas lavagens foram realizadas e logo após, adicionados em cada poço, 100 µL de estreptavidina conjugada com enzima peroxidase. As placas foram cobertas com papel alumínio e mantidas em temperatura ambiente por 20 minutos. Após os procedimentos de lavagem, foram adicionados em cada poço 100 µL da solução de substrato cromogênico, composto por Reagente A (peróxido de hidrogênio) e reagente B (tetrametilbenzidina) na proporção de 1:1. As placas foram mantidas cobertas com papel alumínio, à temperatura ambiente por 20 minutos. Logo após foi adicionado 50 µL da solução de parada da reação (ácido sulfúrico 2N). As placas foram imediatamente levadas ao leitor de microplacas (Nunc, Dinamarca), com comprimento de onda de 450 nm. Após obtenção das densidades ópticas, foi determinado, em pg/mL, os níveis de Interleucina (IL)-1 β e IL17 presentes nas amostras.

Figura 8 - Atendimento clínico demonstrando a coleta do fluido peri-implantar



Legenda - Ilustração da inserção do cone de papel estéril, para coleta do líquido peri-implantar.
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.6 Avaliação da expressão gênica por RT-PCR (tempo real)

Foi avaliada a expressão dos seguintes genes: Fosfatase Alcalina (ALP), Apolipoproteína (APO), Beta Actina, Prostaglandina E2, Integrina β 1, Osteocalcina, Osteopontina, Osteonectina, Sialoproteína óssea, TGF- β , Osterix, Runx2, Interleucina 6 (IL6), Fator estimulador de Colônias de Macrófagos (MCS-F) e Proteína óssea Morfogenética (BMP). Foi realizada a extração do RNA total das amostras utilizando-se o Trizol Reagent (Ambion®, Life Technologies Corporation, Van Allen Way, Carlsbad, California, USA), conforme as instruções do fabricante. As concentrações e purezas das amostras de RNA foram determinadas por densidade óptica em espectrofotômetro Nano Drop 2000 (Thermo Fisher Scientific Inc. - Wilmington, DE 19810, USA). Então o RNA foi armazenado a -80°C . A síntese de cDNA foi realizada com 500ng de RNA total nas reações de transcrição reversa seguindo instruções do fabricante do Kit comercial SuperScript III, First-Strand Synthesis Supermix (InvitrogenLife Technologies Corporation-Van Allen Way, Carlsbad, California, USA) e armazenamento do cDNA a -20°C . Os cDNA foram utilizados para o PCR em *real time* com o sistema de detecção Step one Plus 7000 Real Time PCR Systems (Applied Biosystems), utilizando o sistema Platinum SYBR Green qPCR SuperMix-UDG (InvitrogenLife Technologies Corporation-Van Allen Way, Carlsbad, California, USA). Primers específicos e 2 μL de cDNA foram utilizados em cada reação. As reações foram realizadas em triplicata. As condições da RT-PCR foram padronizadas com as curvas de eficiência e melting, sempre baseadas nas sugestões do fabricante do SYBER Green e nas temperaturas de melting dos primers com uma amostra calibrador. Eficiências entre 90% e 110% e coeficientes de correlação de 0,995 ou maiores foram aceitos.

As amostras foram submetidas à reação em cadeia da polimerase em tempo real para o gene endógeno proposto beta-actina e outros 2 genes constitutivos (HPRT1 e GAPDH), testados quanto à variação em todas as amostras para selecionar o melhor. O que menos variou foi selecionado e utilizado nas reações, para realização dos cálculos da Quantificação Relativa. Após determinação dos padrões da RT-PCR, a expressão de cada gene foi calculada para todas as amostras e foi subtraído o Ct do gene constitutivo: $\Delta C_t = C_{t(\text{gene})} - C_{t(\text{constitutivo})}$. O ΔC_t foi

subtraído da amostra calibrador resultando em $\Delta\Delta C_t$: $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t - \Delta C_{t(\text{calibrador})}$. Então a quantificação relativa (RQ - *Relative Quantification*) foi calculada para cada gene em cada amostra conforme a equação: $RQ = 2^{-\Delta\Delta C_t}$. Os dados da expressão gênica serão testados quanto à correlações com parâmetros clínicos e citocinas inflamatórias do fluido periimplantar pelo teste de correlação de Pearson.

5 RESULTADOS

A média de idade dos pacientes foi de 48,5 anos, variando de 29 a 68 anos. Como forma de sigilo para os pacientes dessa pesquisa, eles foram descritos por números, de 1 a 16. Dos demais pacientes selecionados anteriormente para a pesquisa: 11 pacientes (34,3%), não atenderam o telefone ou o número constava como inexistente; 3 deles (9,4%), havia se mudado para outra cidade; outros 2 pacientes (6,0%) se recusaram a participar da pesquisa.

Os 16 pacientes avaliados foram separados em quatro grupos. 3 pacientes eram fumantes (grupo fumante) 2 pacientes fumantes em terapia anti-hipertensiva, realizando o uso das medicações: Captopril 25mg e Losartana 50mg/ Atenolol 25mg (grupo fumante em terapia anti-hipertensiva), 1 estava em terapia anti-hipertensiva, fazendo o uso da medicação Losartana 50 mg (grupo em terapia anti-hipertensiva), os demais 10 pacientes não estavam em terapia anti-hipertensiva e não fumavam (grupo controle).

Durante as avaliações foi constatado que um dos pacientes do grupo fumante em terapia anti-hipertensiva perdeu um de seus implantes e somente em uma posterior consulta, o paciente relatou fazer uso de Alendronato de sódio. Um dos pacientes do grupo controle, não havia instalado a prótese sobre implante, impossibilitando a avaliação dos dados clínicos de profundidade de sondagem e reabsorção marginal óssea. Além disso alguns pacientes tinham mais de um implante instalado com suas respectivas amostras ósseas. Do grupo controle, um paciente tinha três amostras, e uma duas amostras. Do grupo fumante dois pacientes tinham duas amostras cada. Do grupo fumante em terapia anti-hipertensiva um paciente tinha duas amostras, e no grupo em terapia anti-hipertensiva o paciente apresentava duas amostras.

A Tabela 1, demonstra em porcentagem, o índice de sangramento a sondagem, e o índice de placa (biofilme dental), a região onde o implante foi instalado, além da quantidade em milímetros da profundidade de sondagem e da perda de inserção óssea radiográfica e seus respectivos valores de Interleucinas 1 β e 17 (IL1B e IL17) em pg/ml.

Tabela 1 – Representa os dados clínicos dos pacientes, o grupo ao qual eles pertencem e seus valores de IL1 β e IL17

Sangramento	Biofilme Dental	Implante	PS do implante	Radiografia	Grupo	IL 1 β	IL 17
12,50%	37,50%	24	3,5mm	3,9 mm	Fumante sob terapia anti-hipertensiva	0	2,830445
16,70%	16,70%	36	4,0mm	3,7 mm	Fumante sob terapia anti-hipertensiva	0	1,541465
16,70%	16,70%	46			Fumante sob terapia anti-hipertensiva	0	0
8,30%	25,00%	45			Controle	0	1,60981
20,00%	25,00%	15	3,5mm	3,0 mm	Controle	0	0
39,30%	35,70%	15	4,0mm	3,2 mm	Fumante	28,53459	4,25753
39,30%	35,70%	26	4,5mm	3,7 mm	Fumante	18,00234	5,316335
17,90%	19,60%	26	3,0mm	2,3 mm	Fumante	0	0,78401
14,30%	17,90%	45	2,0mm	2,5 mm	Controle	48,66289	0
18,80%	42,20%	25	3,0mm	2,2 mm	Controle	22,73015	4,671845
32,00%	36,00%	36	3,5 mm	3,2 mm	Controle	25,39832	0,85094
50,00%	34,60%	16	4,0mm	3,0 mm	Controle	93,66095	1,12715
50,00%	34,60%	26	4,0mm	4,6 mm	Controle	49,17771	1,21922
50,00%	34,60%	46	4,0mm	3,8 mm	Controle	6,72113	0,528695
23,80%	14,30%	14	4,0mm	4,2 mm	Em terapia anti-hipertensiva	81,14903	1,357325
23,80%	14,30%	16	3,5mm	4,1 mm	Em terapia anti-hipertensiva	0	3,4289
11,50%	21,20%	36	3,0mm	3,2 mm	Controle	47,91393	0,344555
11,50%	21,20%	46	3,0mm	2,5 mm	Controle	0	4,027355
28,80%	38,40%	24	4,0mm	3,3 mm	Fumante	51,89554	6,881525
28,80%	38,40%	26	4,0mm	3,7 mm	Fumante	4,89554	0,620765
29,10%	16,60%	36	2,0mm	2,1 mm	Controle	0	0
24,13%	10,70%	26	2,0mm	1,9 mm	Controle	16,59804	6,74342
26,26%	36,00%	26	3,5 mm	4,0 mm	Controle	34,52627	5,408765

Legenda - Tabela com os dados clínicos dos pacientes avaliados para pesquisa e seus respectivos valores de IL1 β e IL17 em pg/ml.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A análise dos resultados foi realizada de forma qualitativa por estatística descritiva, tanto os dados clínicos como os dados moleculares foram testados em relação a cada um dos grupos.

Os testes de normalidade "D'Agostino & Pearson omnibus", Shapiro-Wilk e Teste Kolmogorov-Smirnov foram utilizados para avaliar a distribuição dos dados.

Foi realizada estatística inferencial buscando-se identificar diferenças e correlações entre os resultados dos grupos. Para os dados paramétricos com distribuição normal, foi realizado o teste de Análise de Variância (ANOVA), já para os dados não paramétricos, foi utilizado o teste Kruskal Wallis. Ambos com nível de significância de 5%. As médias testadas de forma paramétrica, foram dos seguintes dados: Sangramento, Profundidade de Sondagem da prótese instalada sobre os implantes (PS do Implante), Radiografia, IL1B, Integrina, MCS-F, Osteonectina, Sialoproteína e RUNX2. Já os de forma não paramétrica foram: Biofilme, IL17, ALP, APO, Beta Actina, BMP, IL6, Osteocalcina, Osteopontina, Osterix, Prostaglandina e TGF-B.

A tabela 2, mostra o valor da média e desvio padrão dos dados clínicos e dos marcadores moleculares dos grupos: controle, fumante, fumante em terapia anti-hipertensiva a em terapia anti-hipertensiva. Além dos valores obtidos nos testes ANOVA e Kruskal Wallis.

Tabela 2 – Representa os valores de média±desvio padrão e os valores de p dos dados clínicos e moleculares dos 4 grupos

Dados clínicos e moleculares	Controle	Fumante	Fumante sob terapia anti-hipertensiva	Sob terapia anti-hipertensiva	Kruskal Wallis	ANOVA
Biofilme	28,20±9,82	33,56±7,92	27,1±14,7	14,3±0,00	p = 0,129	-
Sangramento	28,43±14,09	30,82±8,93	14,60±2,97	23,80±0,00	-	p = 0,441
PS do Implante	3,038±0,083	3,900±0,548	3,750±0,354	3,750±0,354	-	p = 0,120
Radiografia	3,000±0,822	3,240±0,573	3,800±0,141	4,150±0,070	-	p = 0,165
IL 1B	27,42±27,20	20,67±20,74	0,00±0,00	40,6±57,4	-	p = 0,499
IL17	2,312±2,475	3,57±2,78	2,186±0,911	2,39±1,46	p = 0,721	-
ALP	1,095±2,603	0,648±0,746	2,75±3,61	0,00± *	p = 0,350	-
APO	1888±5716	5833±10103	0,000±0,000	0,000± *	p = 0,944	-
Beta Actina	6,74±13,79	10,06±15,44	21,8±29,7	0,174± *	p = 0,391	-
BMP	0,994±1,607	0,549±0,491	1,127±1,233	0,000± *	p = 0,630	-
IL6	6,60±18,15	0,299±0,437	3,25±1,72	0,002± *	p = 0,309	-
Integrina	0,630±0,663	1,648±0,975	1,576±0,971	0,206± *	-	p = 0,144
MCS-F	1,864±2,199	2,03±2,68	4,66±2,10	0,000± *	-	p = 0,352
Osteocalcina	5,44±17,58	0,314±0,420	0,703±0,147	0,000±*	p = 0,252	-
Osteonectina	2,083±1,662	1,785±1,725	1,710±0,597	0,000±*	-	p = 0,673
Osteopontina	1,492±1,983	0,790±0,365	3,60±1,94	0,000±*	p = 0,252	-
Osterix	4788±1222	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±*	p = 0,957	-
Prostaglandina	1,163±3,375	0,968±1,644	0,000±0,000	0,000±*	p = 0,179	-
RUNX	1,280±1,695	0,915±0,769	7,96±9,77	0,000±*	-	P = 0,062
Sialoproteína	2,260±2,705	0,847±0,757	1,97±1,48	0,000±*	-	p = 0,707
TGF-B	0,912±1,484	2,53±3,66	1,421±0,960	0,000±*	p = 0,294	-

Legenda - Tabela com os valores das médias ± desvio padrão dos dados clínicos e genéticos dos quatro grupos e seus valores de significância. *um único paciente com duas amostras. O desvio padrão não foi calculado

Fonte: Elaborada pelo autor.

Foi realizada estatística inferencial quanto à existência de relações entre os marcadores genéticos e os dados clínicos. Para tanto, foi utilizado o teste de Correlação de Pearson, com nível de significância de 5%. Os marcadores genéticos que apresentam como função a formação e remodelação óssea, como a Osteocalcina, o Osterix e o RUNX2 por exemplo, foram correlacionados com os dados clínicos de profundidade de sondagem (PS do implante) e a reabsorção marginal óssea (Radiografia). Já os marcadores genéticos inflamatórios como a Prostaglandina e IL6, foram correlacionados aos dados clínicos de índice de

Sangramento a sondagem (Sangramento) e índice de placa dental (Biofilme), como ilustrado na tabela a seguir.

As Tabelas 3 e 4 ilustram os resultados dos testes de correlações entre os marcadores moleculares e os dados clínicos dos 16 pacientes.

Tabela 3 - Correlações entre os marcadores moleculares ósseos e os dados clínicos de profundidade de sondagem e radiográficos

Marcadores moleculares	PS do Implante	Radiografia
ALP	p = 0,798	p = 0,771
BMP	p = 0,956	p = 0,974
Osteocalcina	p = 0,753	p = 0,87
Osteonectina	p = 0,939	p = 0,269
Osteopontina	p = 0,168	p = 0,630
Osterix	p = 0,717	p = 0,350
RUNX2	P = 0,314	P = 0,524
IL1B	p = 0,316	p = 0,426
IL17	p = 0,920	p = 0,788

Legenda - Tabela 3 representam as correlações entre os dados moleculares e clínicos de profundidade de sondagem e radiografia e seus valores de significância. Test de Pearson.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4 - Correlações entre os marcadores moleculares e os dados clínicos de sangramento a sondagem e biofilme dental

Marcadores moleculares	Sangramento	Biofilme
APO	p = 0,857	p = 0,470
Beta Actina	p = 0,857	p = 0,936
IL6	p = 0,781	p = 0,679
Integrina	p = 0,485	p = 0,898
MCS-F	p = 0,286	p = 0,727
Prostaglandina	p = 0,840	p = 0,340
TGF- β	p = 0,227	p = 0,871
IL1 β	p = 0,146	p = 0,294
IL17	p = 0,669	p = 0,294

Legenda - Tabela 4 representam as correlações entre os dados moleculares e clínicos de sangramento a sondagem e biofilme e seus valores de significância. Test de Pearson.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Além das correlações descritas anteriormente, foram correlacionados os dados de profundidade de sondagem (PS do implante) com os dados de reabsorção marginal óssea (radiografia), e obtivemos um valor bastante significativo de $p = 0,00$.

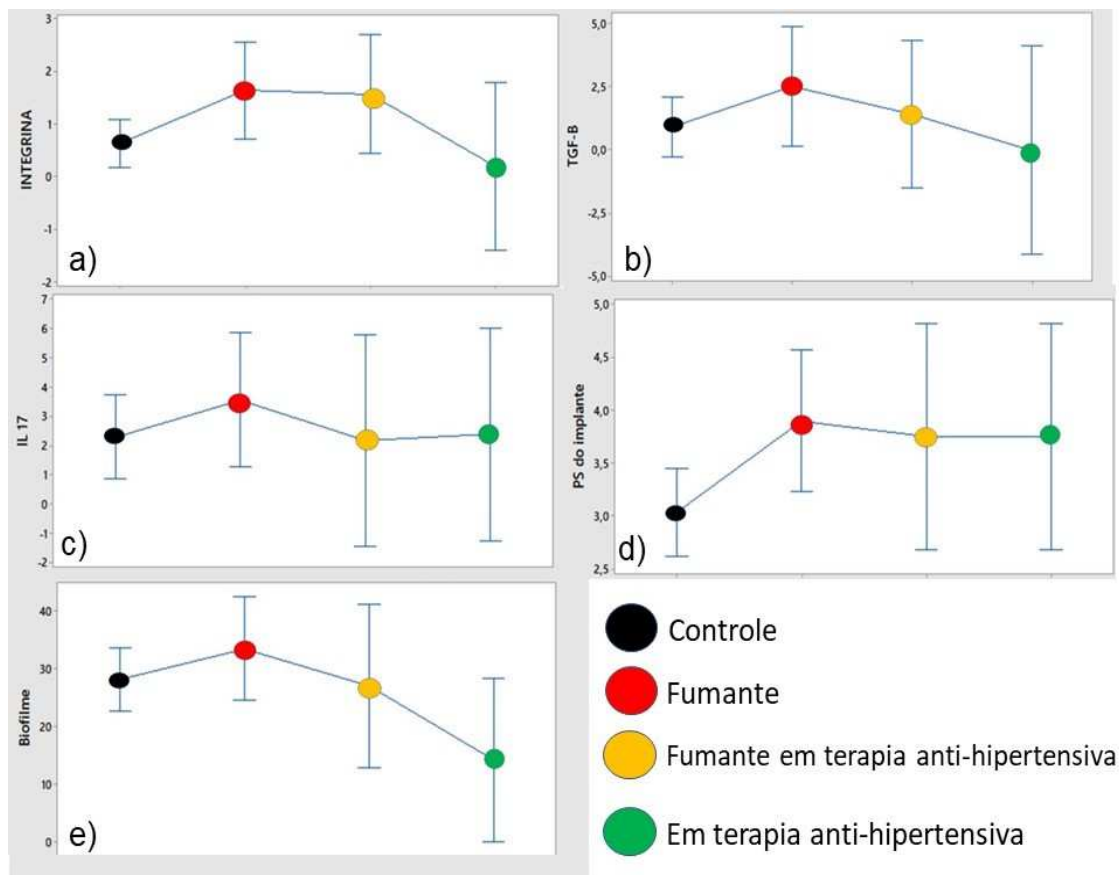
Quando os dados da profundidade de sondagem, somente dos grupos fumante e controle, foram comparados por meio de teste T de Student, houve significância estatística, demonstrando maior profundidade de sondagem no grupo fumante ($p=0,026$).

A despeito da correlação existente entre a profundidade de sondagem e a perda óssea aferida radiograficamente, o teste T de Student não mostrou significância estatística na diferença entre os grupos controle e fumante ($p=0,508$) quando os dados radiográficos foram comparados.

As figuras a seguir, representam os gráficos com os valores da média $\pm$ desvio padrão dos dados clínicos e moleculares dos grupos: controle, fumante, fumante em terapia anti-hipertensiva e em terapia anti-hipertensiva. Os mesmos foram agrupados segundo o seu comportamento.

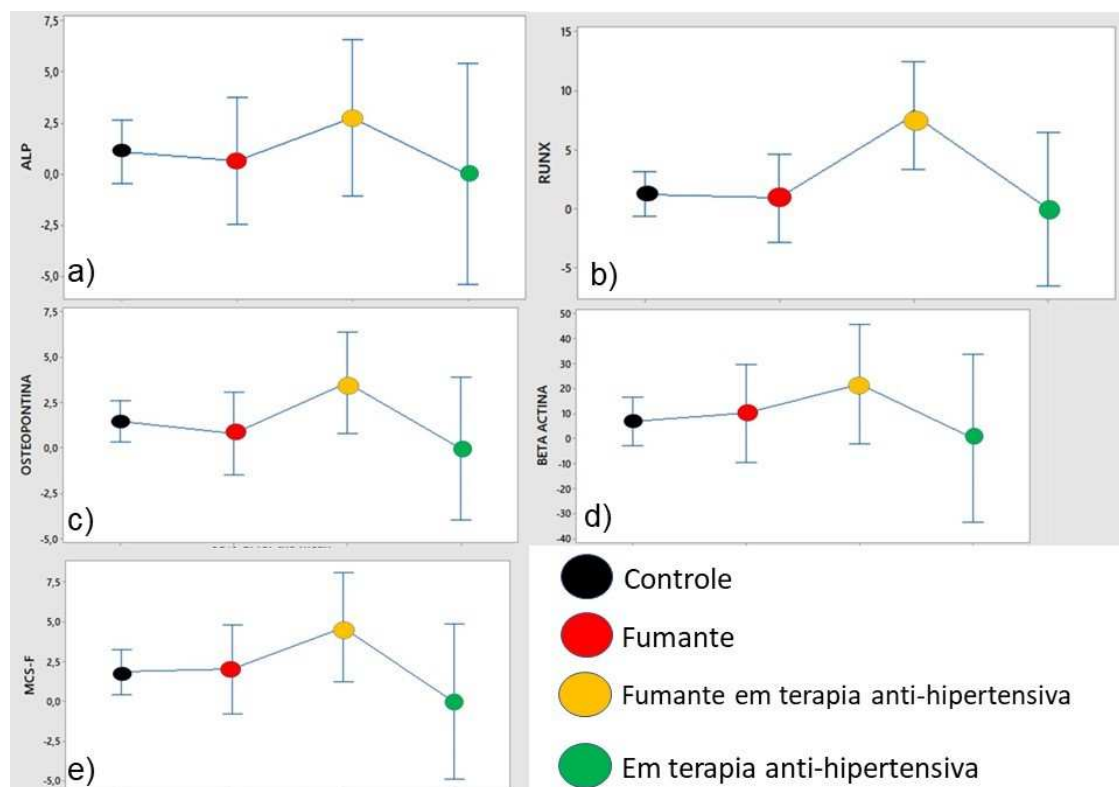
Na figura 9, os gráficos representam os valores da média $\pm$ desvio padrão, dos seguintes dados: a) (Integrina, quantificação relativa), b) (TGF- β , quantificação relativa), c) IL17 pg/mL, d) (PS do implante em mm), e) Biofilme (%). Os valores desses dados clínicos e moleculares foram maiores no grupo fumante em relação aos demais grupos.

Figura 9 – Representando os marcadores genéticos e clínicos mais expressados do grupo fumante



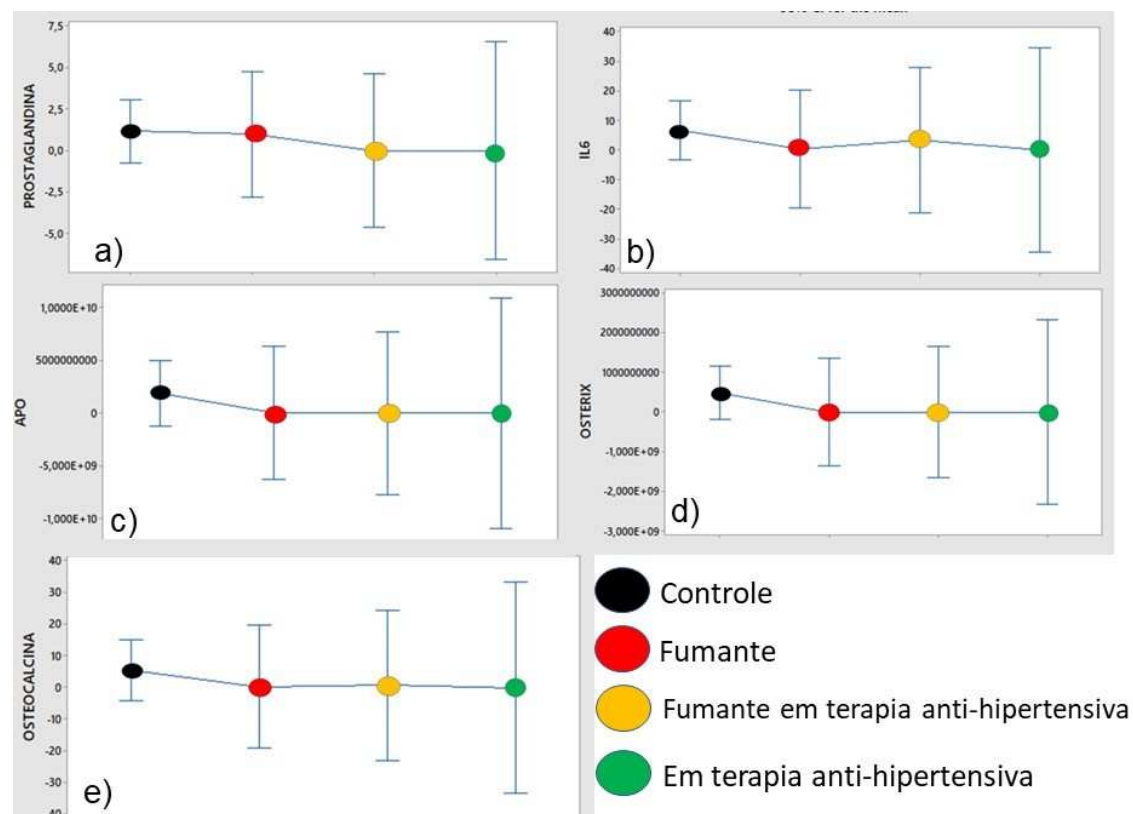
Já o grupo fumante em terapia anti-hipertensiva teve os valores de: a) ALP, b) RUNX2, c) Osteopontina, d) Beta Actina, e) MCS-F, mais expressados em relação aos outros grupos, como consta na figura 10.

Figura 10 – Representa os marcadores genéticos mais expressados do grupo fumante em terapia anti-hipertensiva



Na figura 11 observamos que os dados moleculares de: a) Prostaglandina, b) IL6, c) APO, d) Osterix, e) Osteocalcina, foram muito similares entre os grupos.

Figura 11 – Representa os marcadores genéticos expressados de forma similar entre os grupos



Legenda - Gráficos que representam os valores de média±desvio padrão dos dados moleculares de Prostaglandina, IL6, APO, Osterix e Osteocalcina.

Fonte: Elaborada pelo autor.

6 DISCUSSÃO

Após a reabilitação com prótese sobre implante, algumas complicações mecânicas ou estéticas podem surgir, porém quando se trata da longevidade desses tratamentos, a peri-implantite é o principal fator de risco para as perdas de implantes dentais. Uma boa higiene bucal, contribui de forma significativa para saúde periodontal e peri-implantar, sendo o biofilme dental o fator primário tanto da periodontite, como da peri-implantite, é certo que o seu controle deve ser observado durante as consultas periódicas pós-tratamento com implantes. Assim como nesse estudo, os autores Alécio et al. (2014) também utilizaram o índice de placa dental e chegaram à conclusão de que os pacientes com menor índice tinham menor propensão ao desenvolvimento de mucosite peri-implantar. No entanto, as bactérias provenientes do biofilme dental, provocam uma inflamação no tecido peri-implantar, essa inflamação por sua vez poderá ser mediada pelo índice de sangramento a sondagem.

Avaliar a inflamação do tecido peri-implantar também deve ser um importante fator para detecção da mucosite e peri-implantite, para tanto, o índice de sangramento gengival se mostra na literatura como um procedimento valioso para o diagnóstico da peri-implantite, como no estudo experimental de Lang et al. (1994), o sangramento esteve ausente nos pacientes que pertenciam ao grupo com saúde peri-implantar e 91% dos pacientes que tiveram sangramento a sondagem eram do grupo com peri-implantite. O índice de sangramento a sondagem foi avaliado nessa pesquisa como uma medida de detecção, prevenção e orientação aos pacientes sobre suas possíveis consequências.

A profundidade de sondagem das próteses instaladas sobre os implantes e suas respectivas radiografias também foram avaliadas, e concordando com o estudo de Robins, Ali (2022), foi constatado que a profundidade de sondagem foi maior no grupo fumante. Tal ocorrência pode ser explicada pelo fato dos compósitos do tabaco, principalmente a nicotina não serem tóxicos para os osteoclastos e estimularem a sua diferenciação (Henemyre et al., 2003). Além disso, esses compósitos apresentam uma forte ligação com os tecidos periodontais e peri-implantares, diminuindo sua vascularização (Farronato et al., 2022).

Para avaliar o processo inflamatório no fluido peri-implantar, as citocinas pró inflamatórias IL1 β e IL17, foram alvos da presente pesquisa. Estão relacionadas à resposta imune e são responsáveis por ativar o processo inflamatório local, atraindo células de defesa para combater alguma bactéria por exemplo, ou algum outro tipo de patógeno. Na recente revisão sistemática de Kensara et al. (2021), os autores analisaram que as citocinas IL1 β , IL17, IL6 e TNF- α , são os marcadores mais presentes associados a peri-implantite.

Na presente pesquisa, o teste escolhido para identificar a expressão de citocinas foi o ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), que é um ensaio imuno enzimático muito conceituado pela literatura. Somente nesse ano, muitos autores Chaparro et al. (2022), Wang (2022), Ahmed et al. (2022), também utilizaram papel estéril para coleta do fluido peri-implantar e o teste ELISA em suas pesquisas, e tiveram sucesso em identificar as citocinas inflamatórias presentes na região peri-implantar.

A pesquisa não demonstrou diferenças entre os grupos com os dados clínicos e moleculares nos testes paramétricos (ANOVA) e não paramétricos (Kruskal Wallis). Uma possível explicação para que essa falta de significância tenha acontecido foi pelo restrito número de pessoas que participaram do atual estudo, por se tratar de uma amostra de conveniência durante a primeira fase da pesquisa. Três a quatro anos após a cirurgia de implantes, e em meio à Pandemia de COVID-19, ocorreu uma grande perda de pacientes. Dos 32 pacientes selecionados para primeira fase da pesquisa, somente 16 retornaram para avaliação, limitando a formação de grupos. Grupos muito pequenos geram um maior desvio padrão.

Quanto aos marcadores moleculares, mesmo diante da pequena amostra, os dados da expressão de RUNX2 entre os grupos gerou um valor de $p = 0,062$, muito próximo de validar uma diferença significativa entre o grupo controle expressando menos RUNX2, quando comparado ao grupo fumante em terapia anti-hipertensiva. O fator de transcrição 2 da runt (RUNX2) é um gene regulador da diferenciação de osteoblastos. No estudo de Prado et al. (2021), o grupo de pacientes fumantes e hipertensos também expressou maiores valores de RUNX2. Contrariamente, no estudo de Marques et al. (2018) os autores compararam a expressão de RUNX2, em ratos hipertensos e normotensos e relataram que esta foi menor no grupo de ratos hipertensos. O estudo de Theodoro et al. (2015), também

constatam esses achados em relação a periodontite, que após tratada passou a apresentar um maior número de células positivas para RUNX2.

As correlações realizadas entre os marcadores moleculares e os dados clínicos, foram separados de acordo com a função de cada marcador, onde os marcadores que estavam relacionados com o tecido ósseo, ou seja, tinham a função de diferenciação e ou remodelação óssea, foram correlacionados com os dados clínicos ósseos, que foram, a profundidade de sondagem e a perda óssea marginal através da radiografia. Já os marcadores genéticos que estavam relacionados com o processo inflamatório propriamente dito, foram correlacionados com os dados clínicos de higiene, que foram os dados de biofilme dental e sangramento a sondagem. Porém essas correlações não geraram resultados significativos. No entanto ao correlacionar os dois dados clínicos ósseos (PS do implante e radiografia), tivemos um significativo valor de $p=0,000$, isso nos mostra a importância clínica do procedimento de profundidade de sondagem dos implantes, uma vez que esses dados estiveram de absoluto acordo com os dados radiográficos.

7 CONCLUSÃO

As condições do metabolismo ósseo aferidas pela análise molecular no momento da inserção do implante não diferiram nos pacientes desta pesquisa. O status peri-implantar aferido após 3 anos de reabilitação também se mostrou similar entre todos pacientes, excetuando-se a profundidade de sondagem, que foi maior em pacientes fumantes. Este estudo de casos vem mostrar uma possível rota de busca de fatores moleculares preditivos do sucesso da reabilitação com implantes, no entanto amostras maiores são fundamentais para comprovação de sua validade. Conforme os resultados deste estudo, a avaliação clínica permanece como *Gold Standart* no acompanhamento e predição de prognóstico destes pacientes.

REFERÊNCIAS*

Aberdeen T, Yin, R.K. (2009). *Case study research: Design and methods* (4th Ed.). Thousand Oaks, CA: Sage. Can J Action Res. 2013;14(1):69–71. doi: 10.33524/CJAR.V14I1.73.

Ahmed AR, Kamran MA, Suleman G, Sharif RA, Abouzeid HL, Udeabor SE. Associação da expressão de HMGBP1 com parâmetros clínicos de periimplante entre fumantes e nunca fumantes com e sem peri-implantite. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2022;26(17):6169–6175. https://doi.org/10.26355/eurrev_202209_29633

Aksoy U, Eratalay K, Tözüm TF. The possible association among bone density values, resonance frequency measurements, tactile sense, and histomorphometric evaluations of dental implant osteotomy sites: a preliminary study. *Implant Dent*. 2009;18(4):316–25. doi: 10.1097/ID.0b013e31819ecc12.

Albrektsson T, Zarb GA. Determinants of correct clinical reporting. *Int J Prosthodont*. 1998;11(5):517–21. PMID: 9922743.

Alécio ABW, Souza JGO, Schuldt Filho G, Dalago HR, Bianchini MA. Relação entre o índice de placa modificado e a prevalência das doenças peri-implantares ao redor de implantes osseointegrados. *Full Dent Sci*. 2014;5(18):264--8.

Astolfi V, Ríos-Carrasco B, Gil-Mur FJ, Ríos-Santos JV, Bullón B, Herrero-Climent M, et al. Incidence of peri-implantitis and relationship with different conditions: a retrospective study. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Mar 31;19(7):4147. doi: 10.3390/ijerph19074147. PMID: 35409826; PMCID: PMC8998347.

Atarchi A, Miley D, Omran M, Abdulkareem A. Early failure rate and associated risk factors for dental implants placed with and without maxillary sinus augmentation: a retrospective study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2020;35(6):1187–94. doi: 10.11607/JOMI.8447. PMID: 33270059.

Azar R, Richard A. Elevated salivary C-reactive protein levels are associated with active and passive smoking in healthy youth: A pilot study. *J Inflamm (Lond)*. 2011 Dec 7;8(1):37. doi: 10.1186/1476-9255-8-37. PMID: 22152006; PMCID: PMC3266640.

Bassi F, Carr AB, Chang TL, Estafanous E, Garrett NR, Happonen R-P, et al. Clinical outcomes measures for assessment of longevity in the dental implant literature: ORONet approach. *Int J Prosthodont*. 2013;26(4):323–30. doi: 10.11607/ijp.3402. PMID: 23837161.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [cited 2019 Jan 20]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Bonita R, Beaglehole R, Kjellström T. *Epidemiologia básica*. 2 ed. São Paulo: Santos; 2010. ISBN: 213 ISBN: 978-85-7288-839-4.

Borbour SE, Nakashima K, Zhang JB, Tangada S, Hahn CL, Schenkein HA, et al. Tobacco and smoking: environmental factors modify the host response (immune system) and have an impact on periodontal health. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1997;8(4):437–60. doi: 10.1177/10454411970080040501. PMID: 9391754.

Branemark PI. Osseointegration and its experimental background. *J Prosthet Dent*. 1983;50(3):399–410. doi: 10.1016/S0022-3913(83)80101-2. PMID: 6352924.

Carranza FA, Takei HH, Klokkevold PR. *Periodontia Clínica*. 11 ed. Rio de Janeiro: Elsevier Saunders; 2012.

Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018 Jun;45 Suppl 20:S1-S8. doi: 10.1111/jcpe.12935. PMID: 29926489.

Chaparro A, Beltrán V, Betancur D, Sam YH, Moaven H, Tarjomani A. Molecular biomarkers in peri-implant health and disease: a cross-sectional pilot study. *Int J Mol Sci*. 2022;23(17):9802. doi: 10.3390/ijms23179802. PMID: 36077204; PMCID: PMC9456434.

Chaparro A, Beltrán V, Betancur D, Sam YH, Moaven H, Tarjomani A, et al. Biomarcadores moleculares na saúde e doença peri-implantar: um estudo piloto transversal. *Rev Int Ciên Molec*, 2022;23(17):9802. <https://doi.org/10.3390/ijms23179802>

Chen X, Zhao Y. Genetic involvement in dental implant failure: association with polymorphisms of genes modulating inflammatory responses and bone metabolism. *J Oral Implantol*. 2019;45(4):318–26. doi: 10.1563/AAID-JOI-D-18-00212. PMID: 31207194.

Clementini M, Rossetti PHO, Penarrocha D, Micarelli C, Bonachela WC, Canullo L. Systemic risk factors for peri-implant bone loss: a systematic review and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2014;43(3):323–34. doi: 10.1016/j.ijom.2013.11.012.

Correa MG, Gomes MLC, César-Neto JB, Casati MZ, Nociti FH, Sallum EA. Histometric evaluation of bone around titanium implants with different surface treatments in rats exposed to cigarette smoke inhalation. *Clin Oral Implants Res*. 2009;20(6):588–93. doi: 10.1111/j.1600-0501.2008.01695.x. PMID: 19302391.

DeLuca S, Habsha E, Zarb GA. The effect of smoking on osseointegrated dental implants. Part I: implant survival. *Int J Prosthodont*. 2006 Sep-Oct;19(5):491-8. PMID: 17323728

Derks J, Håkansson J, Wennström JL, Tomasi C, Larsson M, Berglundh T. Effectiveness of implant therapy analyzed in a Swedish population: Early and late implant loss. *J Dent Res*. 2015;94(3Suppl):44S-51S. doi: 10.1177/0022034514563077.

Douglass C. Uso de produtos de tabaco prejudica a saúde periodontal. *Prev News*. 2006;15(2):1-3.

Duarte PM, Mendonça AC, Máximo MBB, Santos VR, Bastos MF, Nociti FH. Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human periimplant diseases. *J Periodontol*. 2009;80(2):234-43. doi: 10.1902/jop.2009.070672.

Farronato D, Azzi L, Giboli L, Maurino V, Tartaglia GM, Farronato M. Impact of Smoking habit on peri-implant indicators following different therapies: a systematic review. *Bioengineering*. 2022;9(10):569. doi: 10.3390/BIOENGINEERING9100569.

Grütz G. New insights into the molecular mechanism of interleukin-10-mediated immunosuppression. *J Leukoc Biol*. 2005;77(1):3-15. doi: 10.1189/jlb.0904484.

Heitz-Mayfield LJA, Huynh-Ba G. History of treated periodontitis and smoking as risks for implant therapy. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24 Suppl:39-68. PMID: 19885434.

Henemyre CL, Scales DK, Hokett SD, Cuenin MF, Peacock ME, Parker MH, et al. Nicotine stimulates osteoclast resorption in a porcine marrow cell model. *J Periodontol*. 2003;74(10):1440-6. doi: 10.1902/JOP.2003.74.10.1440.

Hu KF, Huang KC, Ho YP, Lin YC, Ho KY, Wu YM, et al. Interleukin-10 (-592 C/A) and interleukin12B (+16974 A/C) gene polymorphisms and the interleukin-10 ATA haplotype are associated with periodontitis in a Taiwanese population. *J Periodontal Res*. 2009;44(3):378-85. doi: 10.1111/j.1600-0765.2008.01116.x.

Kensara A, Hefni E, Williams MA, Saito H, Mongodin E, Masri R. Microbiological profile and human immune response associated with peri-implantitis: a systematic review. *J Prosthodont*. 2021;30(3):210-34. doi: 10.1111/JOPR.13270.

Kishimoto T. INTERLEUKIN-6: From basic science to medicine-40 years in immunology. *Annu Rev Immunol*. 2005;23(1):1-21. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115806.

Kiyota Y, Muramatsu H, Sato Y, Kobayashi T, Miyamoto K, Iwamoto T, et al. Smoking cessation increases levels of osteocalcin and uncarboxylated osteocalcin in human sera. *Sci Rep*. 2020 Oct 8;10(1):16845. doi: 10.1038/s41598-020-73789-4.

Koch AE, Polverini PJ, Kunkel SL, Harlow LA, DiPietro LA, Elnor VM, et al. Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. *Science*. 1992 Dec 11;258(5089):1798-801. doi: 10.1126/science.1281554. PMID: 1281554.

Koldslund OC, Scheie AA, Aass AM. Prevalence of implant loss and the influence of associated factors. *J Periodontol*. 2009;80(7):1069–75. doi: 10.1902/jop.2009.080594.

Kulakov AA, Kogan EA, Brailovskaya TV, Vedyayeva AP, Zharkov NV. Morphological and molecular-biological features of inflammatory and regenerative processes in periodontal tissues with periimplantitis and periodontitis. *Dokl Biochem Biophys*. 2020;492(1):142–6. doi: 10.1134/S1607672920030060. PMID: 32632592.

Lang NP, Wetzel AC, Stich H, Caffesse RG. Penetração da sonda histológica em tecidos peri-implantares saudáveis e inflamados. *Pesq Clín Implant Orais*. 1994;5(4):191–201. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.1994.050401.x>

Listgarten MA, Lang NP, Schroeder HE, Schroeder A. Periodontal tissues and their counterparts around endosseous implants. *Clin Oral Implants Res*. 1991;2(3):1–19. doi: 10.1034/j.1600-0501.1991.020309.x.

Macdonald BR, Gowen M. The cell biology of bone. *Baillieres Clin Rheumatol*. 1993;7(3):421–43. doi: 10.1016/S0950-3579(05)80071-8.

Mundy GR. Cytokines and growth factors in the regulation of bone remodeling. *J Bone Miner Res*. 1993 Dec;8 Suppl 2:S505-10. doi: 10.1002/jbmr.5650081315. PMID: 7510095.

Marques FV, Craveiro M, Rosalem Jr W, Medeiros BRCD, Fischer RG. Doenças periodontais e hipertensão primária grave: estudo transversal com 170 pacientes. *ImplantNewsPerio*. 2016;1(1):135-140.

Miranda TAC, Oliveira PC, Egas LS, Ponzoni D, Naves RC. A influência do fumo na reabilitação com implantes osseointegrados: revisão de literatura. *Rev Odontol Univ Cid São Paulo*. 2018 abr/jun;30(2):169-76.

Mombelli A, Oosten MAC, Schürch E, Lang NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol*. 1987;2(4):145–51. doi: 10.1111/j.1399-302X.1987.tb00298.x.

Mulinari-Santos G, Souza Batista FR, Kirchweiger F, Tangl S, Gruber R, Okamoto R. Losartan reverses impaired osseointegration in spontaneously hypertensive rats. *Clin Oral Implants Res*. 2018;29(11):1126–34. doi: 10.1111/clr.13376.

Mustapha AD, Salame Z, Chrcanovic BR. Smoking and dental implants: A systematic review and meta-analysis. *Medicina (Lithuania)*. 2022;58(1):39. doi: 10.3390/MEDICINA58010039/S1.

Negri BM, Pimentel SP, Casati MZ, Cirano FR, Casarin RC, Ribeiro FV. Impact of a chronic smoking habit on the osteo-immunoinflammatory mediators in the peri-implant fluid of clinically healthy dental implants. *Arch Oral Biol*. 2016;70:55–61. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.05.014.

Papaspyridakos P, Chen CJ, Singh M, Weber HP, Gallucci GO. Success criteria in implant dentistry: a systematic review. *J Dent Res*. 2012;91(3):242–8. doi: 10.1177/0022034511431252. PMID: 22157097.

Pereira MG. *Epidemiologia teórica e prática*. Rio de Janeiro: Grupo Gen; 2018. p.616.

Polk DE, Wang X, Feingold E, Shaffer JR, Weeks DE, Weyant RJ, et al. Effects of smoking and genotype on the psr index of periodontal disease in adults aged 18–49. *Int J Environ Res Public Health*. 2012;9(8):2839–50. doi: 10.3390/ijerph9082839.

Pozzi A, Mura P. Immediate loading of conical connection implants: up-to-2-year retrospective clinical and radiologic study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2016;31(1):142–52. doi: 10.11607/jomi.4061. PMID: 26800171.

Prado RF, Tarallo AMC, Vasconcellos LMR, Silva AM, Junio LN, Saavedra GSFA, et al. Gene expression in implant surgery patients: a description of bone and inflammation markers. *Res Soc Dev*. 2021;10(3):e46910313650. doi: 10.33448/rsd-v10i3.13650.

Robbins J, Ali K. How do periodontal indices compare among non-smokers, tobacco and e-cigarette smokers?. *Evid Based Dent*. 2022;23(3):116-117. doi: 10.1038/s41432-022-0809-y.

Sánchez-Pérez A, Moya-Villaescusa MJ, Caffesse RG. Tobacco as a risk factor for survival of dental implants. *J Periodontol*. 2007;78(2):351–9. doi: 10.1902/jop.2007.060299.

Schraufstatter IU, Zhao M, Khaldoyanidi SK, Discipio RG. The chemokine CCL18 causes maturation of cultured monocytes to macrophages in the M2 spectrum. *Immunology*. 2012;135(4):287–98. doi: 10.1111/j.1365-2567.2011.03541.x.

Severino VO, Beghini M, Araújo MF, Melo MLR, Miguel CB, Rodrigues WF, et al. Expressão de IL-6, IL-10, IL-17 e IL-33 no fluido crevicular peri-implantar de pacientes com mucosite peri-implantar e peri-implantite. *Arch Oral Biol*. 2016;72:194-199.

Sgolastra F, Petrucci A, Severino M, Gatto R, Monaco A. Smoking and the risk of periimplantitis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(4):62–7. doi: 10.1111/clr.12333.

Tatakis DN, Schneeberger G, Dziak R. Recombinant interleukin-1 stimulates prostaglandin E2 production by osteoblastic cells: synergy with parathyroid hormone. *Calcif Tissue Int.* 1988;42(6):358–62. doi: 10.1007/BF02556353.

Theodoro LH, Caiado RC, Longo M, Novaes VCN, Zanini NA, Ervolino E, et al. Effectiveness of the diode laser in the treatment of ligature-induced periodontitis in rats: a histopathological, histometric, and immunohistochemical study. *Lasers Med Sci.* 2015;30(4):1209–18. doi: 10.1007/S10103-014-1575-7.

Terheyden H, Lang NP, Bierbaum S, Stadlinger B. Osseointegration - communication of cells. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23(10):1127–35. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02327.x.

Tibazarwa KB, Damasceno AA. Hypertension in developing countries. *Can J Cardiol.* 2014;30(5):527–33. doi: 10.1016/j.cjca.2014.02.020.

Trindade R, Albrektsson T, Tengvall P, Wennerberg A. Foreign body reaction to biomaterials: on mechanisms for buildup and breakdown of osseointegration. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2016;18(1):192–203. doi: 10.1111/cid.12274.

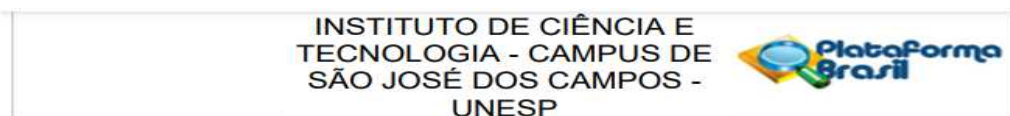
Wahlström M, Sagulin G-B, Jansson LE. Clinical follow-up of unilateral, fixed dental prosthesis on maxillary implants. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(11):1294–300. doi: 10.1111/j.1600-0501.2010.01948.x.

Wang IC, Ou A, Johnston J, Giannobile WV, Yang B, Fenno JC, et al. Association between peri-implantitis and cardiovascular diseases: a case-control study. *J Periodontol.* 2022 May;93(5):633–643. doi: 10.1002/JPER.21-0418. Epub 2022 Jan 3. PMID: 34724214.

Wang Z. Peri-implant crevicular fluid SIRT1 levels decrease in patients with peri-implant inflammatory: a prospective observational study. *Transpl Immunol.* 2022;74:101659.doi: 10.1016/j.trim.2022.101659. Epub 2022 Jun 30.

Yamamoto K, Yoshino S, Shue G, Nagashima M. Inhibitory effect of bone resorption and inflammation with etidronate therapy in patients with rheumatoid arthritis for 3 years and in vitro assay in arthritis models. *Rheumatol Int.* 2006;26(7):627–32. doi: 10.1007/s00296-005-0042-y

ANEXO A - Aprovação do comitê de ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do status periimplantar em pacientes fumantes e não fumantes, através da expressão genica por RT-PCR (tempo real) e citocinas inflamatórias.

Pesquisador: PRISCILA ROSSI SANTOS

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 36910420.5.0000.0077

Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.457.779

Apresentação do Projeto:

Será realizada a anamnese dos pacientes, e aferição da pressão arterial, Avaliação da profundidade de sondagem, Índice de sangramento gengival e Índice periodontal comunitário com sonda OMS, será realizado também o índice de biofilme dental através de pastilhas evidenciadora e posterior profilaxia dos dentes, serão realizados exames radiográficos das próteses implantadas, e por fim será

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1581500.pdf	29/10/2020 19:51:25		Aceito
Outros	formulario_resp_pendencia.doc	21/09/2020 19:50:04	PRISCILA ROSSI SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEmodificado.docx	21/09/2020 19:39:50	PRISCILA ROSSI SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOFAPESPfinal.pdf	06/08/2020 12:48:34	PRISCILA ROSSI SANTOS	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoPlataformaBrasil.pdf	06/08/2020 12:42:55	PRISCILA ROSSI SANTOS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 11 de Dezembro de 2020

Assinado por:
Denise Nicodemo
(Coordenador(a))

ANEXO B - Modelo do Termo de consentimento Livre e Esclarecido**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Caro(a) Senhor(a)

Este termo é um convite de participação na pesquisa que eu, Priscila Rossi Santos realizarei, intitulada “Avaliação do status peri-implantar em pacientes fumantes e não fumantes, através da expressão genica por RT-PCR (tempo real) e citocinas inflamatórias.”

Para a execução deste projeto, sua participação consistirá nos seguintes procedimentos, que ocorrerão nas consultas após seu tratamento de colocação de implante. Será necessário aferir sua pressão arterial, e que o(a) senhor(a) responda um questionário sobre seu histórico de saúde e de sua família. Também será necessário exame clínico com espelho e uma sonda periodontal (uma espécie de régua que mede sua gengiva). Também serão avaliados e medidos aspectos ósseos nos exames de imagem (radiografias periapicais), realizadas em nossa instituição, sem custo algum aos pacientes, que serão solicitados como prática de rotina para acompanhamento do seu tratamento de reabilitação com implantes.

Sua participação é voluntária, não precisa aceitar o convite se não se sentir confortável em participar da pesquisa.

O Sr.(a) tem a garantia de acesso, em qualquer etapa do estudo, sobre qualquer esclarecimento de eventuais dúvidas e sobre o andamento do trabalho. Informo que será garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento e assim deixará de participar do estudo. Também não haverá custo nem pagamento pela sua participação.

Cabe ressaltar que a participação do sujeito de pesquisa não implica em risco aumentado a nenhuma ocorrência que já não seja inerente do próprio tratamento já realizado com implante. A pesquisa em si, apresenta riscos mínimos aos pacientes.

Esperamos como benefícios determinar marcadores que podem prejudicar o sucesso do implante e posteriormente orientar tratamentos mais direcionados aos pacientes com necessidades individuais. Como exemplo: prescrição de remédios com ação específica em células que reabsorvem o osso, na tentativa de melhorar o sucesso a longo prazo do implante e da prótese instalada.

Eu, Priscila Rossi Santos, Mestranda em Odontologia restauradora – prótese dentária, vou coordenar a pesquisa cujo título é “Avaliação do status peri-implantar em pacientes fumantes e não fumantes, através da expressão genica por RT-PCR (tempo real) e citocinas inflamatórias.” Endereço profissional Av. Eng Francisco José Longo, 777, Bairro São Dimas, São José dos Campos-SP, telefone para contacto nº 012-981483972.

Esta pesquisa será desenvolvida no Instituto de Ciência Tecnologia da UNESP-Campus de São José dos Campos, no Departamento de Odontologia Restauradora. Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética (CEP) do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos-UNESP, situado na Av. Engº Francisco José Longo, 777 – CEP 12245000, em São José dos Campos-SP, fone 012-3947-9076, e-mail denise@ict.unesp.br e comunique-se com a Coordenadora Profa. Dra. DENISE NICODEMO.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Acredito ter sido esclarecido(a) a respeito das informações deste termo, descrevendo o estudo a ser realizado e concordo em participar da pesquisa. Declaro conhecer quais os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes, e que minha participação não implicará em nenhuma despesa.

NOME/RESPONSÁVEL: _____

RG: _____ CPF: _____

Endereço: _____

Assinatura Sujeito da Pesquisa

Assinatura Pesquisador