Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Faculdade de Odontologia

Glaucia Schuindt Teixeira Neves

Impacto do tratamento na expressão de S100A8/A9 na saliva de pacientes com doença peri-implantar

Rio de Janeiro

2019

Glaucia Schuindt Teixeira Neves

Impacto do tratamento na expressão de S100A8/A9 na saliva de pacientes com doença peri-implantar

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Prótese Dentária.

Orientadores: Prof. Dr. Eduardo José Veras Lourenço
Prof. Dr. Carlos Marcelo da Silva Figueredo

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB/B

T266 Teixeira, G. S.
Impacto do tratamento na expressão de S100A8/A9 na saliva de pacientes com doença Peri-implantar / Glaucia Schuindt Teixeira Neves. – 2019.
54 f.

Orientadores: Eduardo José Veras Lourenço, Carlos Marcelo da Silva Figueredo
Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.

1. Implantes dentários. 2. Estomatite. 3. Peri-implantite. 4. Calgranulina A. 5. Calgranulina B. 6. Saliva. I. Lourenço, Eduardo José Veras. II. Figueredo, Carlos Marcelo da Silva. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. IV. Título.
CDU
616.314

Bibliotecária: Adriana Caamaño CRB7/5235

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

_____ _____

Assinatura Data

Glaucia Schuindt Teixeira Neves

Impacto do tratamento na expressão de S100A8/A9 na saliva de pacientes com doença peri-implantar

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Prótese Dentária.

Aprovada em: 02 de dezembro de 2019

Orientadores:

Prof. Dr. Eduardo José Veras Lourenço

Faculdade de Odontologia – UERJ

Prof. Dr. Carlos Marcelo da Silva Figueredo

Faculdade de Odontologia – UERJ

Banca Examinadora:

_____

Prof. Dr. Daniel de Moraes Telles

Faculdade de Odontologia – UERJ

_____

Prof.ª Dra. Tatiana Kelly da Silva Fidalgo

Faculdade de Odontologia – UERJ

_____

Prof.ª Dra. Mayla Kezy Silva Teixeira

Universidade Veiga de Almeida

Rio de Janeiro

2019

DEDICATÓRIA

Ao meu marido, que gerou esse sonho (e tantos outros) junto comigo. Ao meu pai, meu amor e minha saudade diária. A minha mãe, minha força e exemplo de garra.

AGRADECIMENTOS

A Deus, razão maior da minha vida, pelo qual vivo, existo e – sem o qual – nada disso teria acontecido. Meu coração é dEle e sempre será.

Ao meu marido, Davi, minha outra metade, meu anjo, meu herói, melhor amigo, meu suporte e meu príncipe. Você é meu pedaço do lado de fora, esteve junto em todas as fases nesses 15 anos e sabe o significado dessa para mim. Sem você, isso jamais seria possível. Te amo com a minha vida!

Aos meus pais, Arlete e Milton, por todo o apoio e base. Vocês são meus maiores exemplos de vida e força! Pai – o meu tudo - nós começamos essa caminhada juntos, como em tudo e sempre. Me levou pelas mãos em todas as fases e hoje vem junto no coração. A você, minha gratidão eterna, meu amor eterno e minha saudade eterna. Mãe, queria eu ter metade da sua força! Meu exemplo de garra, de determinação, de coragem e de superação. Eu me inspiro na senhora todos os dias. Te amo do fundo do meu coração! Obrigada por tudo!

A minha família inteira, que sempre apoiou, incentivou, se orgulhou e fez questão de me jogar pra frente. Vocês são a melhor do mundo! Ju e Mariele, minhas irmãs, sempre presentes e que sempre aguentam meus choros. Aos meus sobrinhos e sobrinhos-netos maravilhosos. Aos meus sogros, Marivânia e Davi, às minhas mais irmãs do que cunhadas, Isabel e Júlia, ao Rodrigo, por todo o incentivo, orações e preocupações. Vocês são a família que ganhei!

Ao meu orientador Eduardo Veras, cabeça a frente do seu tempo, pelo incentivo, disposição, apoio, dedicação e competência sem iguais. Obrigada pela oportunidade de fazer o Curso SobreImplantes, pelo apoio nas cirurgias e por sempre ser mais que professor: um mestre e amigo. Você é uma referência para mim!

Ao meu orientador Carlos Marcelo, pelas reuniões, por agregar tanto conhecimento, pela disponibilidade em ajudar, mesmo do outro lado do mundo. Você é um exemplo de seriedade, compromisso e palavra. Sua mente foi essencial para tudo que aconteceu nesse projeto. Não tenho como te agradecer o acolhimento!

Ao meu orientador, Daniel Telles, pela oportunidade de estar aqui, por quebrar paradigmas para ajudar na realização dos meus sonhos, por lutar por nós e

ser um grande apoiador e incentivador. É uma honra ser sua orientada e eu serei eternamente grata por tanto!

À minha amiga Mayla, a verdadeira mãe deste trabalho, a maior incentivadora, o meu maior exemplo de generosidade, inteligência, competência, seriedade e responsabilidade. Palavras não são suficientes para descrever o quanto eu me sinto privilegiada em trabalhar contigo nesse projeto. Que presente de Deus! Espero um dia ser, pelo menos, metade do que você é. Obrigada por tudo!

A CAPES, pela bolsa concedida durante o curso. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao professor César, por ser uma referência e um exemplo de como é ser professor e orientador. “Quando eu crescer, quero ser como você!”

À minha turma maravilhosa. Ain e Lanna, pela amizade leal, pelas eternas conversas no carro, pelos infinitos áudios. Adriano, por tanto incentivo, ouvidos atentos e mãos prestrativas. Ricardo, por nos trazer leveza e nos ajudar a rir e meditar sempre. Foi muito melhor porque dividi essa jornada com vocês.

Às meninas do doutorado, sempre tão presentes, aconselhadoras e apoiadoras, Ju Ramidam (junto com a Carolzinha, eu fui um pouco filha), Marcela e Carol. À Tati Flor, Jéssica, Lorelay e Daniela, que eu tive a honra de dividir a clínica e boas conversas. Às alunas de Iniciação Científica, Nathália Castro e Sara Gomes, que foram sempre muito gentis, competentes e ajudadoras.

Às amigas de todas as horas, Paula, Talita, Amiceline, Ainy, Laila, que me cobravam não desistir nunca dessa carreira, mesmo quando as coisas ficaram difíceis.

Aos professores que me inspiraram a querer ser professora, Osmar Agostinho, Elson Braga, Ana Paula Santos,Tatiana Fidalgo, Paulo, Aldo Guerra, Daniel Légora, Alexis Silveira, Cristiane Duque.

Aos funcionários da UERJ e do Curso Sobre Implantes. Bárbara, pela seriedade, competência e por sempre resolver tudo com tanta proatividade. Léa, Almir, Rita e Francisco, pela parceria, disponibilidade e gentileza de sempre. Rose e Tati, pelos agendamentos e por abrirem tantas portas para que essa pesquisa fosse possível. Aos professores Mário, Estevão e André Daniel, por tanta receptividade e conhecimento agregado. A Denise, por ser um exemplo de funcionária, por ser nossa mãe emprestada e o coração que bombeia a pós-graduação. Ao Pablo, pela

eficiência na comunicação, por toda paciência nos detalhes, agendamento da defesa e reserva de sala. Ao diretor, Fischer, pela gentileza e carinho de sempre ao facilitar nossas autorizações e assinaturas.

A todos os pacientes, pela confiança, contribuição e gentileza. Sem vocês, esse trabalho jamais teria saído.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram e fizeram tudo isso ser realidade. Muito obrigada!

O SENHOR é a minha força;
Ele faz os meus pés como os da corça e
faz-me andar sobre as minhas alturas.

Hab 3,19

RESUMO

TEIXEIRA, G. S. **Impacto do tratamento na expressão de S100A8/A9 na saliva de pacientes com doença peri-implantar**. 2019. 54 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto do tratamento na expressão do heterodímero S100A8/A9 e nos parâmetros clínicos em pacientes com mucosite peri-implantar e peri-implantite. Quarenta e sete pacientes foram avaliados e divididos em dois grupos: (1) Mucosite peri-implantar (n=27) e (2) Peri-implantite (n=20). Os parâmetros clínicos avaliados foram: profundidade de bolsa (PB), nível de inserção clínica (NIC), porcentagem de placa (%placa) e sangramento à sondagem (%sangramento). A saliva não estimulada foi coletada na consulta inicial (T0) e três meses após o tratamento (T1). A mucosite peri-implantar foi tratada com raspagem supra gengival e profilaxia; a peri-implantite com terapia cirúrgica ressectiva. Os níveis de S100A8/A9 foram mensurados através do ELISA. Os resultados das características clínicas de boca toda demonstraram que, no grupo 1, houve redução significativa na PB (p=0,001), %placa (p=0,005) e %sangramento (p<0,001) e não no NIC (p=0,740) após o tratamento. No grupo 2, houve redução significativa em PB(p<0,001) e %sangramento (p=0,001) após o tratamento, o que não aconteceu no NIC(p=702) e %placa (p=0,469). Nos parâmetros peri-implantares do grupo 1, houve redução da PB (p<0,001), NIC (p<0,001), %placa (p=0,022) e %sangramento (p<0,001). No grupo 2, também houve redução significativa em PB (p=0,02), %placa (p=0,017), %sangramento (p=0,002) e não houve diferença no NIC(p=0,052). A análise imunológica revelou que, após o tratamento, houve redução significativa na expressão de S100A8/A9 na mucosite peri-implantar (p=0,004) e na peri-implantite (p=0,010). Nas consultas de T0 (p=0,153) e T1 (p=0,982), não houve diferença signitificativa nessa expressão entre o grupo 1 e grupo 2. Assim, pôde-se concluir que o tratamento foi eficaz, uma vez que houve melhora clínica significante dos parâmetros clinicos e redução significativa na expressão de S100A8/A9 na saliva após o tratamento.

Palavras-chave: Implante dentário. S100A8/A9. Mucosite. Peri-implantite. Saliva.

ABSTRACT

TEIXEIRA, G. S. **Impact of treatment on S100A8 / A9 expression in saliva of patients with peri-implant disease**. 2019. 54 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

We aimed to evaluate the impact of treatment on S100A8 / A9 heterodimer expression in patients with peri-implant mucositis and peri-implantitis. Forty-seven patients were evaluated and divided into two groups: (1) Peri-implant mucositis, with a mean age (MI) of 63.1 years (Standard Deviation [SD] ± 7.7) and (2) Peri-implantitis with MI 61.2 (SD ± 7.0). The clinical parameters evaluated were: pocket depth (PD), clinical attachment level (CAL), percentage of visible plaque (%plaque), and percentage of bleeding on probing (%bleeding). Unstimulated whole saliva was collected at baseline (T0) and three months after treatment (T1). Peri-implant mucositis was treated with supra-gingival scaling and prophylaxis. Peri-implantitis was treated with open flap debridement. S100A8 / A9 levels were measured by ELISA. Our results showed that, in the mucositis group, there was a significant reduction in PD (p=0.001),% plaque (p=0.005) and % bleeding (p <0.001) after treatment. In the peri-implantitis group, there was a significant reduction in PD (p <0.001) and % bleeding (p=0.001) after treatment. Regrading only the Peri-implant parameters, the mucositis group showed a reduction in PD (p <0.001), CAL (p <0.001), %plaque (p=0.022) and %bleeding (p<0.001). In Peri-implantitis group, there was also a significant reduction in PD (p=0.02), %plaque (p=0.017), and % bleeding (p=0.002). S100A8/A9 expression reduced significantly after treatment both in peri-implant mucositis (p=0.004) and peri-implantitis (p=0.010). Therefore, we concluded that the treatment was effective to improve the clinical parameters and to reduce significantly the expression of S100A8 / A9 in patients having peri-implant diseases.

Keywords: Dental implant. S100A8/A9. Mucositis. Peri-implantitis. Saliva

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Arquitetura estrutural de S100A8/A9..... 21

Figura 2 – Estruturas terciárias e quaternárias de S100A8/A9 apresentadas por diagramas em fita 22

Tabela 1 – Parâmetros imunológicos - expressão do heterodímero S100A8/A9 (ng/mL) na saliva de pacientes com mucosite peri-implantar e peri-implantite em cada um dos tempos 41

Tebela 2 – Parâmetros Clínicos de dentes e implantes nos grupos 1 e 2 antes e após o tratamento..... 42

Gráfico 1 – Parâmetros clínicos dos implantes. Profundidade de bolsa (PB) e nível de inserção clínica (NIC) antes (T0) e após (T1) o tratamento de pacientes com mucosite peri-implantar e peri-implantite..... 44

Gráfico 2 - Expressão de S100A8/A9 na saliva de pacientes com mucosite peri-implantar e peri-implantite, antes e após o tratamento 45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DP	Desvio padrão
Et al	E outros
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IL	Interleucina
MMP	Metaloproteases de matriz
MU	Mucosite peri-implantar
PBS	Solução salina fosfato-tamponada
PI	Peri-implantite
NIC	Nível de inserção clínica
OPG	Osteoprotegerina
PB	Profundidade de bolsa
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear Kβ
S100A8/A9	Calprotectina
TNF	Fator de necrose tumoral
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
µl	Microlitro
mL	Mililitro
ng	Nanograma
ºC	Grau Celsius
α	Alfa
β	Beta
RPM	Rotações por minuto
mm	Milímetro

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	15
1	**REVISÃO DE LITERATURA**	17
1.1	**Proteína S100**	17
1.1.1	Estrutura de S100A8/A9	21
1.1.2	S100 e RAGE	22
1.2	**Doença peri-implantar**	23
1.3	**Tratamento da doença peri-Implantar**	26
1.4	**S100A8/A9 na doença periodontal e peri-implantar**	30
1.5	**Saliva**	32
2	**OBJETIVO**	34
3	**MATERIAL E MÉTODOS**	35
3.1	**Local do estudo e aspectos éticos**	35
3.2	**Amostra do estudo**	35
3.3	**Exame clínico e radiográfico**	36
3.4	**Classificação dos pacientes**	36
3.5	**Coleta da saliva**	37
3.6	**Terapia peri-implantar**	37
3.7	**Análise Imunológica**	38
3.8	**Análise estatística**	38
4	**RESULTADOS**	39
4.1	**Resultados demográficos**	39
4.2	**Resultados T0**	39
4.2.1	Resultados Clínicos	39
4.2.2	Resultados Imunológicos	40
4.3	**Resultados T1**	40
4.3.1	Resultados Clínicos	40
4.3.2	Resultados Imunológicos	41
4.4	**Avaliação do Tratamento**	43
4.4.1	Resultados clínicos	43
4.4.2	Resultados Imunológicos	45

5 **DISCUSSÃO** 46
CONCLUSÃO 48
REFERÊNCIAS 49
ANEXO - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto..... 54

INTRODUÇÃO

A doença peri-implantar é o resultado de um desequilíbrio entre o desafio bacteriano e a resposta do hospedeiro (LANG, 2010). É dividida em duas entidades distintas: mucosite peri-implantar, quando afeta somente a mucosa ao redor do implante, e peri-implantite, quando afeta também o osso de suporte – o que pode levar a perda do implante (LINDHE; MEYLE, 2008). Apesar das associações e semelhanças quanto às características clínicas da peri-implantite com periodontite, bem como da mucosite com a gengivite, existem diferenças histopatológicas críticas entre as duas lesões. Ambas têm um denso infiltrado inflamatório, mas este é mais pronunciado na peri-implantite. Células plasmáticas e linfócitos dominam entre as células nos dois tipos de lesões, enquanto macrófagos e neutrófilos ocorrem em proporções maiores na peri-implantite (BERGLUNDH *et al.*, 2011).

Uma importante contribuição do macrófago e neutrófilo para a lesão inflamatória peri-implantar é a produção do heterodímero S100A8/A9, que participa do processo inflamatório ligando-se a receptores de superfície e induzindo a produção de citocinas inflamatórias (EHRCHEN *et al*., 2009; SHABANI *et al*., 2018; WANG *et al*., 2018). Sob condições fisiológicas, existe armazenamento suficiente de S100A8/A9 em neutrófilos e células dendríticas derivadas de mielóide, enquanto níveis mais baixos são expressos em monócitos (WANG *et al*., 2018). Vários estudos sugeriram que o heterodímero de S100A8/A9 poderia ser um marcador de periodontite (ESCOBAR *et al*., 2018; HAN *et al*., 2019; HEO *et al*., 2011; HOLMSTRÖM *et al*., 2019a; KARNA *et al*., 2019a). Quando avaliado no fluido peri-implantar, quantidades e concentrações de S100A8/A9 foram significativamente maiores em pacientes doentes quando comparado a pacientes saudáveis (SAKAMOTO *et al*., 2018). Apesar das pesquisas e evidências mostrando a associação da S100A8/A9 na saliva de pacientes com doença periodontal (ANDERSEN *et al*., 2010; HARIRIAN *et al*., 2015; HOLMSTRÖM *et al*., 2019b), ainda não existe evidência na literatura sobre a associação de S100A8/A9 na doença peri-implantar, tampouco a influência do tratamento sobre essa expressão.

O tratamento da doença peri-implantar tem sido utilizado tanto para controlar o biofilme quanto para modular a expressão de biomarcadores inflamatórios (VALDERRAMA; WILSON, 2013). Várias abordagens conservadoras e cirúrgicas estão disponíveis (LINDHE; MEYLE, 2008; SMEETS *et al*., 2014). A mucosite pode ser tratada efetivamente usando métodos conservadores - isso inclui raspagem manual, tratamentos a base de laser e terapia fotodinâmica ou mesmo antibióticos locais ou sistêmicos (SMEETS *et al*., 2014). Já o tratamento não cirúrgico da peri-implantite mostrou-se imprevisível (LINDHE ; MEYLE, 2008) e os resultados demonstraram que o tratamento cirúrgico parece apresentar uma melhor resolutividade da peri-implantite, porém não deve ser utilizado de forma isolada, mas através de uma sequência de procedimentos terapêuticos que aumenta o potencial de desinfecção da lesão (CRESPI *et al*., 2019; TAGLIARI *et al*., 2015).

Estudos imunológicos avaliando o impacto do tratamento em níveis de citocinas no fluido peri-implantar verificaram redução dos níveis de IL1-β, IL-6, TNF-α e OPG/RANKL após o tratamento da doença peri-implantar (DE MENDONÇA *et al*., 2009; RENVERT *et al*., 2017). No entanto, não existem evidências científicas da expressão de S100A8/A9 na doença peri-implantar. Seria fundamental sua análise, uma vez que S100A8/A9 pode estimular diretamente a atividade dos osteoclastos por meio do receptor toll-like 4, sugerindo um possível mecanismo pelo qual a imunidade inata pode regular a reabsorção óssea (GREVERS *et al*., 2011; WANG *et al*., 2018). O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto do tratamento peri-implantar nos parâmetros clínicos e na expressão de S100A8/A9 na saliva de pacientes com mucosite peri-implantar e peri-implantite.

1 **REVISÃO DE LITERATURA**

1.1 **Proteína S100**

Em 1965, Moore, estudando bovinos, isolou uma fração subcelular dos cérebros destes, que se pensava conter proteínas específicas do sistema nervoso. Essa fração isolada foi denominada S100 porque os constituintes eram solúveis em 100% de sulfato de amônio saturado com PH neutro (ISOBE ; OKUYAMA, 1978 apud ZIMMER *et al*., 1995). Estudos subsequentes demonstraram que essa fração continha, predominantemente, dois polipeptídeos, S100A1 e S100B, que contêm – em sua estrutura - dois domínios de ligação de alta afinidade ao cálcio (DONATO, 1999; ZIMMER *et al*., 1995). Desde o isolamento e a caracterização de S100A1 e S100B, dezenove proteínas adicionais foram atribuídas a essa família S100 com base na homologia da sequência de aminoácidos e propriedades estruturais semelhantes (ZIMMER *et al*., 1995).

Embora a distribuição dessas proteínas não se restrinja ao sistema nervoso, a implicação de vários membros dessa família no desenvolvimento do sistema nervoso, sua função e doença provocou um novo interesse nessas proteínas. Sabe-se, por exemplo, que os dois membros originais desta família, S100A1 e S100B, podem regular diversas funções celulares, incluindo comunicação célula-célula, crescimento celular, estrutura celular, metabolismo energético e sinais de contração e transdução intracelular (DONATO, 1999; ZIMMER *et al*., 1995). Atualmente, são conhecidas vinte e uma proteínas S100 humanas, com similaridade variando de 22% a 57% entre si e que cada uma delas exibe um padrão único de expressão específica em cada tipo de tecido/célula (HEO *et al*., 2011; ZIMMER *et al*., 1995). Os componentes dessa superfamília de proteínas S100 funcionam como proteínas moduladoras de cálcio, ou seja, modulam a atividade de outras proteínas, denominadas proteínas-alvo, de maneira dependente do cálcio. Os íons de cálcio atuam como segundos mensageiros nas células e participam de uma infinidade de processos celulares, incluindo secreção, contração, metabolismo, divisão e

crescimento celular. Essas proteínas moduladoras agem como moléculas intracelulares receptoras de cálcio, logo, elas participam das alterações nos níveis dele dentro da célula e – consequentemente – das alterações na função celular (ZIMMER *et al*., 1995).

A expressão alterada de proteína S100 em numerosas doenças, tais como câncer, doenças degenerativas, síndrome de Down e Alzheimer, despertou interesse em determinar mecanismos que regulam essa expressão nas células normais e como esses mecanismos são alterados nos estados de doença (ZIMMER *et al*., 1995). Cada membro da família S100 está associado a uma doença específica com base em seu padrão de expressão. Por exemplo, S100A1 está associado a cardiomiopatias; S100A2 é expressa no pulmão, rim e células musculares lisas e cardíacas; S100A4 é expressa em fibroblastos, células mioepiteliais, células musculares lisas e cardíacas e células tumorais; S100A6 é expresso em fibroblastos, células tumorais e células musculares lisas e cardíacas; S100A7 está associado à psoríase; S100A10, S100B e S100P estão associados ao câncer; S100B também está associado à neurodegeneração e, por fim, S100A8 e S100A9 estão associadas a distúrbios inflamatórios e são expressas em células epiteliais, granulócitos e monócitos (DONATO, 1999, 2003; MARENHOLZ *et al*., 2004). Estas últimas são o ponto de interesse deste trabalho.

S100A8 e S100A9 também são chamadas de fator inibitório de migração relacionada a proteína 8 (MRP-8) e MRP-14, respectivamente (HESSIAN *et al*., 1993), e o heterodímero S100A8/A9 formado a partir dessas duas proteínas também é chamado calprotectina, nome este proposto para descrever essa proteína antimicrobiana com propriedades de ligação ao cálcio (STEINBAKK *et al*., 1990). S100A8/A9 são proteínas relacionadas com várias doenças humanas, incluindo inflamações agudas e crônicas e doenças autoimunes (KARNA *et al*., 2019b; VOGL *et al*., 2007). Elas são liberadas no ambiente extracelular mediante estresse celular, onde atuam como potentes indutores do sistema imunológico (EHRCHEN *et al*., 2009). Especificamente, o complexo de S100A8 e S100A9 é secretado ativamente durante a resposta ao estresse dos fagócitos, que são produzidos na medula óssea e surgem dos mesmos precursores que os neutrófilos (ABBAS *et al*., 2015; EHRCHEN *et al*., 2009).

Neutrófilos têm origem mieloide. As células mieloides, que se desenvolvem de uma célula tronco comum hematopoiética na medula óssea, dão origem às principais células do sistema imune, como os leucócitos polimorfonucleares e fagócitos mononucleares (ABBAS *et al*., 2015). O sistema de fagócitos mononucleares é composto por monócitos, macrófagos e células dendríticas e tem papel crucial na manutenção da homeostase orgânica (CHOW *et al*., 2011). Além disso, as diversas atividades dos fagócitos mononucleares são relevantes na inflamação, auto-imunidade, infecção, câncer, transplante de órgãos e têm papel fundamental na imunidade inata (CHOW *et al*., 2011). O sistema imune inato utiliza receptores de reconhecimento de padrão associados à célula. Esses receptores estão presentes no plasma, em membranas endossomais, no citosol e funcionam para reconhecer estruturas chamadas de padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs), que são compartilhadas por microrganismos, não estão presentes nas células de mamíferos e são frequentemente essenciais para a sobrevivência dos microrganismos, limitando, assim, a capacidade dos microrganismos de evadir à detecção com mutação ou perda da expressão destas moléculas. Além disso, esses receptores reconhecem moléculas produzidas pelo hospedeiro, mas cuja expressão ou localização indicam dano celular; eles são denominados padrões moleculares associados ao dano, as DAMPs (ABBAS *et al*., 2015). Os dois membros da família das proteínas S100, S100A8 e S100A9, foram identificados recentemente como importantes DAMPs endógenos e desempenham papéis críticos no processo inflamatório (EHRCHEN *et al*., 2009; MA *et al*., 2017). Neutrófilos e monócitos (os precursores dos macrófagos teciduais) migram do sangue para os locais inflamatórios durante as respostas imunes inatas por causa dos efeitos de citocinas e quimiocinas produzidas pelas células teciduais estimuladas por PAMPs e DAMPs (ABBAS *et al*., 2015). Além disso, o S100A8/A9 pode estimular diretamente a atividade dos osteoclastos por meio do receptor toll-like 4, sugerindo um possível mecanismo pelo qual a imunidade inata pode regular a reabsorção óssea (GREVERS *et al*., 2011; WANG *et al*., 2018).

É importante ressaltar que o S100A8/A9 não está apenas envolvido na promoção da resposta inflamatória nas infecções, mas também foi identificado como um potente amplificador de inflamação na autoimunidade, bem como no desenvolvimento de câncer e disseminação de tumores. Essa ação pró-inflamatória

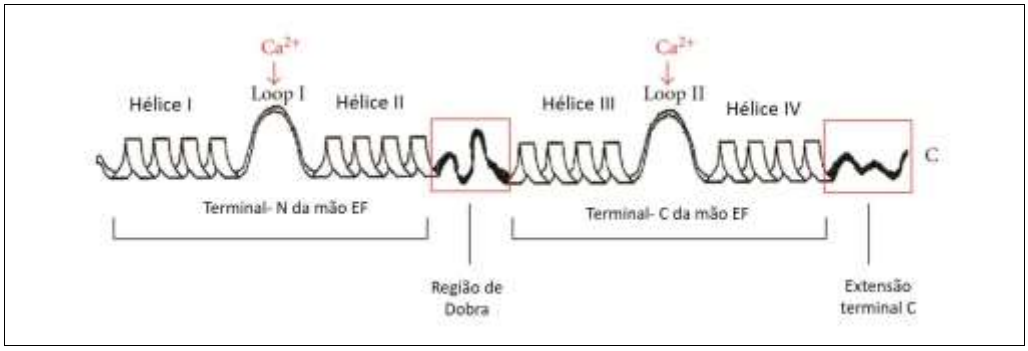
de S100A8/S100A9 envolve mecanismos autócrinos e parácrinos em fagócitos, endotélio e outras células. Como resultado, o extravasamento de leucócitos para os tecidos inflamados e sua subsequente ativação são aumentados. Assim, S100A8/A9 desempenha um papel central durante a amplificação da inflamação e representa um alvo terapeutico promissor (EHRCHEN *et al*., 2009).

A calprotectina (S100A8/A9) é abundante no citoplasma de neutrófilos, que são a primeira linha de defesa no local de uma infecção, e está envolvida em processos inflamatórios e em vários patógenos cancerígenos (SHABANI *et al*., 2018; URBAN *et al*., 2009). É amplamente considerada como tendo diversos papéis, incluindo inibição do crescimento e indução de apoptose em várias linhas de células tumorais e atividades antimicrobianas (IMANI *et al*., 2014). S100A8 e S100A9 são expressos principalmente em células de origem mieloide, como granulócitos, monócitos e estágios iniciais de macrófagos, também são expressos em queratinócitos e células epiteliais, mas apenas sob condições inflamatórias (VOGL *et al*., 2012). Sabe-se que S100A8/A9 agem de maneira semelhante a citocinas, ligando-se a receptores da superfície celular que acionam vias de sinalização envolvidas nos processos inflamatórios e desempenham papéis críticos em vários processos celulares, incluindo progressão do ciclo celular, sobrevivência celular, proliferação, diferenciação e migração celular (SHABANI *et al*., 2018). Verificou-se - por exemplo - que S100A8/A9 aumentou significativamente a secreção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral-α (TNF-α) e a interleucina-6 (IL-6) em células microgliais BV-2 cultivadas (MA *et al*., 2017). A proteína S100A8 mais alta pode regular positivamente os mediadores pró-inflamatórios que causam inflamação aguda, estimulando os efeitos de endotoxinas, o que leva a inflamação excessiva e subsequente ruptura tecidual (EHRCHEN *et al*., 2009).

1.1.1 Estrutura de S100A8/A9

As subunidades de calprotectina são proteínas de baixo peso molecular. As massas moleculares de S100A8 e S100A9 são 10,8 e 13,2 Kilodalton, que incluem 93 e 114 aminoácidos, respectivamente. As arquiteturas estruturais de todas as proteínas S100 são altamente conservadas. Cada monômero de S100A8/A9 compreende 4 hélices α (HI, HII, HIII e HIV) e 2 alças (Loop I e Loop II), como ilustrado na Figura 1 (IMANI *et al*., 2014; SHABANI *et al*., 2018; VOGL *et al*., 2012).

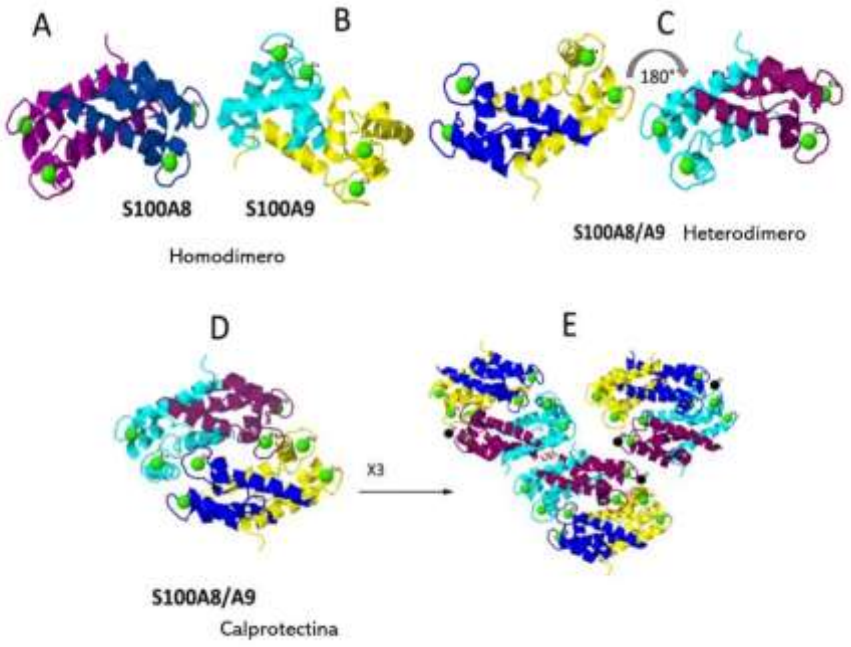
Figura 1- Arquitetura estrutural de S100A8/A9



Fonte: Shabani *et al.* (2018)

Ambos os monômeros de S100A8 e S100A9 também formam homodímeros não-covalentemente estáveis. As seqüências N e C-terminais são resíduos relativamente hidrofóbicos e a cauda C-terminal de S100A9 é a mais longa de toda a família de proteínas S100. A interface do dímero de proteína S100A8/A9 é formada por hélices, de ambos os monômeros, nos quais é criado um pacote compacto de quatro hélices (IMANI *et al*., 2014).

Figura 2 - Estruturas terciárias e quaternárias de S100A8/A9 apresentadas por diagramas em fita.



Fonte: VOGL *et al*. (2012)

Na figura 2, pode-se observar a ilustração do homodímero S100A8 (A), onde as subunidades individuais são mostradas em roxo e azul escuro; (B) homodimero S100A9 com as subunidades mostradas em azul marinho e amarelo; (C) heterodímeros S100A8 / A9 mostrados em duas projeções giradas em 180 ° e S100A8 / A9 calprotectina (D). Os íons Ca2 + ligados são mostrados por esferas ou quadrados verdes.

1.1.2 S100 e RAGE

O RAGE (*Receptor of advanced glycation end-products)* é um receptor para produtos finais de glicação (chamados AGE´s - *Advanced Glycation End-products*) . Ele ficou conhecido por ligar os produtos finais, que se acumulam em disturbios como doença renais e diabetes. RAGE é um receptor central da superfície celular e

é um receptor para EN-RAGE (proteína de ligação extracelular recentemente identificada por RAGE) e também para membros relacionados da superfamília S100. RAGE é um receptor de S100 tipo calproctectina (HOFMANN *et al*., 1999). Tomados em conjunto, dados sugerem que o S100A8 / A9 atua diretamente via ligação a TLR4 e RAGE na membrana e estimula a secreção de citocinas pró-inflamatórias. Portanto, o bloqueio de TLR4 ou RAGE pode enfraquecer o *feedback* positivo, diminuir a produção de S100A8/A9, por consequência, e suprimir completamente a elevação mediada por S100A8/A9 de outras citocinas inflamatórias, tais como IL-6 e TNF-α (MA *et al*., 2017).

1.2 **Doença peri-implantar**

A reabilitação oral com implantes dentários tornou-se bem estabelecida para pacientes desdentados e parcialmente dentados, devido à sua alta previsibilidade e taxa de sucesso (SIMONIS *et al*., 2010). No entanto, o apoio da literatura à terapia de implantes dentários osseointegrados tem sido desafiado recentemente pelo aparecimento de reações inflamatórias em torno dos implantes (PESCE *et al*., 2014).

A doença peri-implantar, após a integração bem-sucedida de um implante endósseo, é o resultado de um desequilíbrio entre o desafio bacteriano e a resposta do hospedeiro (LANG e HEITZ-MAYFIELD, 2010). Pode ser dividida em duas entidades distintas: mucosite peri-implantar, quando afeta somente a mucosa peri-implantar, e peri-implantite, quando afeta também o osso de suporte. Em 2017, no encontro mundial de classificação de doenças e condições periodontais e peri-implantares, co-apresentado pela Academia Americana de Periodontia e Federação Europeia de Periodontologia, as definições de doenças peri-implantares foram revisadas da seguinte forma: mucosite peri-implantar tem o biofilme como agente etiológico, é reversível e sua principal característica clínica é o sangramento por sondagem suave. Eritema, inchaço e/ou supuração também podem estar presentes

e a presença de sinais clínicos de inflamação é fundamental para o diagnóstico (BERGLUNDH *et al*., 2018).

Já a peri-implantite é uma condição patológica associada à placa, que ocorre nos tecidos ao redor dos implantes dentários, caracterizada por inflamação na mucosa peri-implantar e subsequente perda progressiva do osso de suporte. Os locais da peri-implantite exibem sinais clínicos de inflamação, sangramento à sondagem e/ou supuração, profundidades de sondagem aumentadas e/ou recessão da margem da mucosa, além de perda óssea radiográfica em comparação com exames anteriores. Nos locais com peri-implantite, a profundidade da sondagem está correlacionada com a perda óssea e, portanto, é um indicador da gravidade da doença. Na ausência de exames prévios, o diagnóstico de peri-implantite pode basear-se na combinação de: profundidades de sondagem ≥6 mm; presença de sangramento e/ou supuração em sondagem suave e níveis ósseos ≥ 3 mm apicais da porção mais coronária da parte intraóssea do implante (BERGLUNDH *et al*., 2018). A detecção de inflamação na mucosa peri-implantar requer o uso de sondas periodontais para identificar sangramento e / ou supuração sondagem. Para a avaliação da peri-implantite, também é necessária a detecção de perda óssea marginal em radiografias. Nesse contexto, é importante distinguir entre a remodelação óssea que ocorre logo após a instalação do implante e a perda de osso de suporte que pode ser detectada nos implantes durante a função, ou seja, após a conclusão do processo de osseointegração (ZITZMANN ; BERGLUNDH, 2008).

Existe consenso da associação da mucosite peri-implantar e da peri-implantite com o biofilme bacteriano, mas a evidência é inequívoca em relação ao efeito da mucosa queratinizada na saúde a longo prazo do tecido peri-implantar. Parece, no entanto, que a mucosa queratinizada pode ter vantagens em relação ao conforto do paciente e facilidade de remoção da placa (BERGLUNDH *et al*., 2018). Fransson *et al* (2005) estudaram a prevalência de implantes com perda óssea progressiva em 3.413 implantes (todos com o mínimo de cinco anos em função). O resultado da prevalência foi que 12,4% dos implantes apresentaram perda óssea. No mesmo estudo, quando a análise foi feita com base nos indivíduos, o resultado foi de 27,8% dos 662 indivíduos incluídos no estudo, ou seja, mais que o dobro. Esse achado demonstra a importância da aplicação de dados baseados em sujeitos nos relatórios clínicos da terapia com implantes (FRANSSON *et al*., 2005).

Rinke *et al.* (2011) avaliaram 89 pacientes e a taxa de prevalência da mucosite peri-implantar relacionada ao paciente foi de 44,9%, enquanto que essa taxa de prevalência em não fumantes sem histórico periodontal foi de 30,4% e em fumantes com histórico periodontal de 80%. A definição de mucosite usada neste estudo foi profundidade de sondagem ≥4 mm e sangramento à sondagem. Neste estudo, a taxa geral de prevalência de peri-implantite relacionada ao paciente foi de 11,2%; em fumantes com história periodontal, de 53,3% e em não fumantes, de 2,8%. A definição de peri-implantite utilizada neste estudo foi profundidade de sondagem ≥5mm, sangramento à sondagem e/ou supuração e perda óssea radiográfica.

Apesar de os implantes dentários estarem sendo utilizados como procedimento de rotina por mais de 25 anos no tratamento de indivíduos edêntulos e parcialmente desdentados (ZITZMANN ; BERGLUNDH, 2008), a prevalência da mucosite peri-implantar vem sendo relatada na literatura em aproximadamente 80% dos indivíduos com implantes osseointegrados e em 50% desses implantes. Já a prevalência de peri-implantite é apresentada variando entre 28% e 56% dos indivíduos e em 12% e 43% dos implantes. (ZITZMANN ; BERGLUNDH, 2008). Em uma revisão sistemática realizada por Lee *et al*., 2017, concluiu-se que as doenças peri-implantares foram prevalentes em indivíduos com implantes osseointegrados e a prevalência de peri-implantite aumentou ao longo do tempo.

A análise geral da literatura sobre etiologia e patogênese da periodontite e peri-implantite forneceu a impressão de que essas duas doenças têm mais semelhanças do que diferenças (HEITZ-MAYFIELD e LANG, 2010). No entanto, existe diferença na resposta do hospedeiro a essas duas infecções – o que pode explicar a rápida progressão ocasional das lesões de peri-implantite. Em virtude disso, vale salientar que uma peri-implantite diagnosticada deve ser tratada sem demora (LANG, 2010). Tanto o início da periodontite quanto o da peri-implantite depende da presença de um biofilme. A microbiota associada à periodontite é rica em bactérias gram-negativas e uma composição semelhante foi identificada nas doenças peri-implantares. Evidências crescentes sugerem que *Staphylococcus aureus* pode ser um patógeno importante no início de alguns casos de peri-implantite, mas ainda são indicadas novas pesquisas para melhor embasar este ponto (HEITZ-MAYFIELD ; LANG, 2010). Embora a resposta inicial do hospedeiro ao

desafio bacteriano na mucosite peri-implantar pareça ser idêntica à encontrada na gengivite, o acúmulo persistente de biofilme pode provocar uma resposta inflamatória mais pronunciada nos tecidos mucosos peri-implantares do que nos periodontais. Isso pode ser resultado de diferenças estruturais, como taxas de vascularização e fibroblastos/colágeno (HEITZ-MAYFIELD ; LANG, 2010).

Quando periodontite e peri-implantite foram pro-induzidas experimentalmente pela aplicação de ligaduras retentoras de placas em roedores, a progressão da mucosite para a peri-implantite seguiu uma sequência de eventos muito semelhante ao desenvolvimento da gengivite para periodontite. No entanto, algumas das lesões peri-implantite pareciam ter períodos de rápida progressão, nos quais a lesão infecciosa atingia a medula óssea alveolar. Portanto, é razoável supor que a peri-implantite em humanos também possa exibir períodos de destruição acelerada que são mais pronunciados (LANG, 2010).

1.3 **Tratamento da Doença Peri-Implantar**

As terapias existentes para o tratamento de doenças peri-implantares foram baseadas na remoção do biofilme, assim como é feito com dentes naturais. Embora a remoção bacteriana seja a pedra angular da manutenção do implante, existem distinções entre periodontite e peri-implantite, que justificam abordagens distintas de tratamento. Os defeitos da peri-implantite, por exemplo, podem progredir rapidamente e de forma mais agressiva do que a observada na periodontite (DAUBERT e WEINSTEIN, 2019). O biofilme nos implantes dentários não é igual aos dentes. Pacientes desdentados desenvolvem um biofilme que inclui espécies não encontradas antes da instalação do implante, incluindo espécies únicas e espécies associadas a bolsas periodontais (DAUBERT ; WEINSTEIN, 2019).

Por exemplo, Agerbaek *et al*., (2006) encontraram achados microbianos semelhantes nos locais dos dentes e implantes, mas a porcentagem de locais positivos para *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis,*

Tannerella forsythia e *Treponema denticola* foi menor nos locais dos implantes com profundidade de sondagem ≥ 5 mm que nos locais dos dentes com profundidade de sondagem ≥ 4 mm.

O objetivo do tratamento de doenças peri-implantares (mucosite e peri-implantite) é interromper o processo inflamatório e, se possível, reverter a perda óssea observada como resultado da doença. Se os estados de doença são iniciados e exacerbados por bactérias, logo, a remoção dessa microbiota e de seus subprodutos se torna essencial (VALDERRAMA ; WILSON, 2013). Sabe-se então que o tratamento da doença peri-impantar deve incluir medidas anti-infecciosas e que várias abordagens conservadoras e cirúrgicas estão disponíveis , mas é sabido também que a mucosite difere da peri-implantite em relação ao tratamento (LINDHE ; MEYLE, 2008; SMEETS *et al*., 2014). A mucosite pode ser tratada efetivamente usando métodos conservadores. Isso inclui raspagem manual, tratamentos a base de laser e terapia fotodinâmica ou mesmo antibióticos locais ou sistêmicos. (SMEETS *et al*., 2014). Constatou-se que a terapia mecânica não cirúrgica causou a redução do sangramento à sondagem na mucosite, mas também que o uso adjuvante de enxaguatórios bucais antimicrobianos teve um efeito positivo (LINDHE ; MEYLE, 2008). Na terapia não cirúrgica, são recomendadas combinações de limpeza mecânica com curetas e sistemas de polimento a ar. Lavagens anti-sépticas adjuvantes e antibióticos locais ou sistêmicos são eficazes para a redução de bactérias a curto prazo; laser e terapia fotodinâmica são opções adicionais de tratamento. No entanto, faltam resultados para benefícios a longo prazo para esses métodos (SMEETS *et al*., 2014).

Já nos casos de peri-implantite, terapias cirúrgicas são mais eficazes que as abordagens conservadoras citadas acima (SMEETS *et al*., 2014). Foi acordado que o resultado do tratamento não cirúrgico da peri-implantite era imprevisível (LINDHE ; MEYLE, 2008). Resultados demonstraram que o tratamento cirúrgico parece apresentar uma melhor resolutividade da peri-implantite quando comparado a abordagens não-cirúrgicas, porém o tratamento cirúrgico não deve ser utilizado de forma isolada, mas através de uma sequência de procedimentos terapêuticos que aumenta o potencial de desinfecção da lesão (CRESPI *et al*., 2019; TAGLIARI *et al*., 2015). Renvert *et al*. (2008) revisaram as opções de tratamento não cirúrgico para peri-implantite. Eles incluíram debridamento mecânico com e sem antibióticos locais

e sistêmicos e terapia com laser. Os autores concluíram que a terapia mecânica sozinha não foi eficaz no tratamento da peri-implantite. A terapia mecânica, além de antibióticos locais ou sistêmicos, ajudou a reduzir o sangramento nas profundidades de sondagem, mas foi incapaz de tratar efetivamente a peri-implantite. Demonstrou também que o laser não oferece mais benefício que a terapia mecânica.

O objetivo principal do tratamento cirúrgico na peri-implantite é obter acesso à superfície do implante para debridamento e descontaminação, a fim de alcançar a resolução da lesão inflamatória (LINDHE ; MEYLE, 2008). O acesso cirúrgico direto à superfície do implante permite técnicas adicionais de descontaminação da superfície que não eram possíveis sem acesso cirúrgico. Estes incluem – por exemplo - debridamento mecânico mais efetivo da superfície do implante, usando escovas de titânio ou nylon, remoção da superfície do implante por meio de implantoplastia (que objetiva deixar uma superfície menos retentora de placa, caso permaneça exposto) e tratamento de superfície com agentes químicos (DAUBERT ; WEINSTEIN, 2019). A terapia peri-implantar pode ser regenerativa, terapia ressectiva ou uma combinação de ambas. O objetivo da terapia ressectiva é reduzir a profundidade de bolsa para permitir uma limpeza mais eficaz das superfícies do implante. Alternativamente, os procedimentos regenerativos pretendem obter reosseointegração da superfície do implante, geralmente com o uso de materiais de enxerto e produtos biológicos. Ambas as modalidades de tratamento incluem esforços para eliminar o biofilme na superfície do implante e nos componentes do implante, utilizando alguns instrumentos específicos de debridamento e tratamentos de superfície (DAUBERT ; WEINSTEIN, 2019). Dependendo da configuração dos defeitos, a cirurgia ressectiva pode ser realizada para eliminar a bolsa peri-implantar, restabelecer áreas mais acessíveis à higienização e reduzir ou até interromper a progressão da peri-implantite, enquanto as terapias regenerativas podem ser aplicáveis ao preenchimento de defeitos (SMEETS *et al*., 2014). Abordagens regenerativas (por exemplo, com materiais de xenoenxerto em combinação com membranas reabsorvíveis) são promissores, mas devido à falta de estudos prospectivos randomizados de acompanhamento a longo prazo, muitas abordagens foram descritas, mas nenhuma "terapia ideal de peri-implantite" foi determinada. Existem muitos estudos com diferentes tipos de desenhos, em diferentes populações e com diferentes materiais utilizados, mas o tamanho das amostras

geralmente é muito pequeno e o acompanhamento é muito curto (SMEETS *et al*., 2014). Não havia evidências de que os chamados procedimentos regenerativos tivessem efeitos benéficos adicionais no resultado do tratamento (LINDHE ; MEYLE, 2008).

É possível recuperar a osseointegração. (SMEETS *et al*., 2014), mas pode ser difícil, se não impossível, sem acesso cirúrgico para garantir um debridamento completo do defeito e desinfecção da superfície do implante (VALDERRAMA ; WILSON, 2013). Em geral, ainda há muito o que ser elucidado no entendimento da mucosite e peri-implantite, bem como de seu tratamento (VALDERRAMA ; WILSON, 2013), mas dados os desafios do tratamento da peri-implantite e o aumento do risco de falhas do implante em pacientes que desenvolvem complicações relacionadas ao biofilme em torno dos implantes, é prudente educar os pacientes sobre a importância da redução do biofilme antes da terapia com implantes. O cumprimento de visitas regulares de manutenção é um pré-requisito importante para obter resultados bem-sucedidos a longo prazo (DAUBERT ; WEINSTEIN, 2019).

É recomendado que o paciente com implante osseointegrado faça visitas regulares ao dentista. Nessas visitas, é importante que se faça sondagem peri-implantar, avaliação de sangramento à sondagem e, se necessário, um exame radiográfico (RENVERT *et al*., 2019). Um índice de placa rastreável, que pode ser usado no consultório, também pode ajudar na tomada de decisões sobre quando proceder com a terapia eletiva com implantes e fornecer aos pacientes um 'alvo' para seus esforços de higiene bucal (DAUBERT ; WEINSTEIN, 2019). A construção protética também deve ser verificada para permitir o acesso para uma higiene bucal ideal (RENVERT *et al*., 2019). No pós-operatório, o exame regular de sinais de mucosite peri-implantar e o aumento dos esforços de manutenção em pacientes que mostram sinais de mucosite peri-implantar podem reduzir potencialmente o risco de peri-implantite. O intervalo de manutenção deve ser adaptado ao paciente, embora as evidências apontem para manutenção a cada 6 meses (DAUBERT ; WEINSTEIN, 2019)

O número de estudos longitudinais avaliando diferentes tipos de tratamento para a peri-implantite ainda é muito limitado (ANDREA ; NIKLAUS, 1998). O debridamento mecânico com a terapia fotodinâmica adjunta demonstrou ser eficaz no tratamento da peri-implantite, mas a manutenção rotineira da higiene bucal é

quem desempenha um papel fundamental no sucesso do debridamento mecânico, independente se foi associado ou não um tratamento complementar, em pacientes com peri-implantite (ALQAHTANI *et al*., 2019). Sem a aplicação dos conceitos disponíveis e da terapia de prevenção, a peri-implantite pode levar à perda do implante (SMEETS *et al*., 2014).

Imunologicamente, ainda existe pouca evidência científica sobre o efeito do tratamento peri-implantar. Segundo um estudo de Duarte *et al*. (2009), as terapias não cirúrgicas para a mucosite e a terapia cirúrgica para a peri-implantite, após avaliação de três meses, demonstraram melhora significativa nos parâmetros clínicos e os níveis de TNF-α no fluido peri-implantar foram significativamente reduzidos em ambos os grupos. Renvert *et al*. (2017), após seis meses de tratamento não cirúrgico da peri-implantite, também encontraram redução em ≥30% dos níveis de IL1-β e IL-6 no fluido peri-implantar. Todavia, a literatura é escassa em relação a avaliação de uma modulação da proteína S100 após o tratamento peri-implantar. Com isso, deve-se questionar como a expressão dessas proteínas se comportaria frente ao tratamento peri-implantar.

1.4 **S100A8/A9 na doença periodontal e peri-implantar**

Vários membros da família S100 estão relacionados à periodontite. Vários estudos sugeriram que o heterodímero de S100A8/A9 está envolvido com a resposta imune inata e também poderia ser marcador de periodontite (ESCOBAR *et al*., 2018; HEO *et al*., 2011; HOLMSTRÖM *et al*., 2019; KARNA *et al*., 2019). A concentração plasmática de calprotectina também foi correlacionada com a gravidade da periodontite (XY *et al*., 2009). Ao investigar a expressão de S100A8 e S100A9 na saliva de pacientes com periodontite e sem periodontite, a quantidade de S100A8 foi maior em 71% para aqueles com periodontite ($p = 0,020$), mas a do S100A9 foi maior em 31% para aqueles sem periodontite (KARNA *et al*., 2019).

É evidente que a periodontite e a peri-implantite não são fundamentalmente diferentes das perspectivas de etiologia, patogênese, avaliação de risco, diagnóstico e terapia e a literatura afirma que pacientes suscetíveis à periodontite parecem ser mais suscetíveis à peri-implantite do que pacientes sem histórico de periodontite (LANG, 2010). O desenvolvimento da doença peri-implantar é caracterizado por um denso infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo, no qual os leucócitos polimorfonucleares e os macrófagos estão entre os mais abundantes (NGUYEN *et al*., 2016) , sugerindo que essas células estão envolvidas na patogênese da doença.

Um estudo genético de associação familiar concluiu que o rs3795391 (gene da proteína S100A8) pode contribuir para a suscetibilidade à periodontite (XY *et al*., 2009). Ainda em estudo genético e enfatizando a importância dessa família S100 em doenças relacionadas à cavidade bucal, Han *et al*. (2019) viram que a quantidade de mRNA (RNA mensageiro) de S100P, componente da família S100, detectada para os pacientes com câncer bucal foi três vezes maior que a de um grupo saudável.

Na odontologia, as proteínas da família S100 vêm sendo investigadas na saliva para possível diagnóstico precoce de câncer de boca e vêm sendo relacionadas a presença de periodontite (HAN *et al*., 2019). Quando investigadas na saliva de pacientes com periodontite, a proteína S100A8 apresentou uma associação positiva, enquanto que a S100A9, negativa – evidenciando que essas proteínas podem ser marcadores salivares individuais precisos para periodontite. (KARNA *et al*., 2019b). Além disso, o S100A8 foi identificado como uma das principais proteínas responsivas na periodontite crônica (LUNDY *et al*., 2000) e os níveis de S100A8 foram apresentados significativamente mais altos no tecido gengival inflamatório do que no tecido saudável (LUNDY *et al*., 2001).

Sakamoto *et al*., (2018) investigou a expressão de S100A8/A9 no fluido peri-implantar de implantes saudáveis e com doença peri-implantar. Concluíram que os níveis de calprotectina fluido peri-implantar foram significativamente maiores nos locais de doença peri-implantar do que nos locais saudáveis e que as quantidades de S100A8/A9 correlacionaram-se de forma positiva com a profundidade de bolsa.

1.5 **Saliva**

A saliva, um fluido notavelmente complexo, com um grande número de propriedades e funções indispensáveis à saúde bucal e geral, é considerada um fluido útil, capaz de carregar/refletir informações importantes sobre uma condição individual e, por isso, tem sido usada como fonte de investigação para diversas doenças (DAWES *et al*., 2015; SÁNCHEZ *et al*., 2014). Constatou-se que os constituintes da saliva refletem um estado fisiológico ou doentio do corpo humano e, portanto, poderiam ser utilizados - inclusive - para fins de diagnóstico (GOKUL, 2012; ZHANG *et al*., 2009). Com o uso de biomarcadores salivares, é possível identificar um diagnóstico mais precoce para evitar a ruptura do tecido na doença periodontal, por exemplo (JAEDICKE *et al*., 2016)

Uma revisão sistemática, desenvolvida por Jaedicke *et al.* (2016) demonstrou que a saliva é uma fonte local válida para a investigação de citocinas periodontais, com muitas vantagens sobre outras fontes, como o fluido gengival. Semelhante ao sangue, ela é um fluido complexo que contém uma variedade de hormônios, anticorpos, constituintes antimicrobianos e fatores de crescimento, muitos dos quais chegam à saliva vindo do sangue e passando através dos espaços entre as células por rotas transcelulares e paracelulares (AGUIRRE *et al*.,1993).

O diagnóstico racional também teria benefício concomitante para o paciente, pois a escassez de conhecimento baseado em evidências da progressão da doença em pacientes individuais pode levar a uma má administração clínica não intencional (JORGEN SLOTS, 2013). Além disso, estudos dos mediadores salivares associados à doença podem ajudar no desenvolvimento de novas terapias destinadas a controlar a biodisponibilidade de citocinas (por exemplo, através de anticorpos, antagonistas ou receptores solúveis) ou direcionar as vias de sinalização intracelular que eles ativam (SEDGER ; MCDERMOTT, 2014; ZHU *et al*., 2015). Objetivo importante da pesquisa é desenvolver métodos para detectar periodontite e peri-implantite no estágio mais precoce e possivelmente pré-clínico, a fim de iniciar o tratamento antes que a doença progrida. Por esse motivo, é tão importante o uso de

biomarcadores para distinguir entre níveis biológicos normais de processos e doenças progressivas (JORGEN SLOTS, 2013).

2 **OBJETIVO**

O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto do tratamento peri-implantar nos parâmetros clínicos e na expressão de S100A8/A9 na saliva de pacientes com mucosite peri-implantar e peri-implantite.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do estudo e aspectos éticos

Este trabalho clínico foi desenvolvido na Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, na clínica de Pós-graduação, localizada no bairro de Vila Isabel/Tijuca, envolvendo as disciplinas de prótese dentária e periodontia.

Todos os procedimentos desta pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Pedro Ernesto (UERJ, Rio de Janeiro, Brasil) registrado pelo número 857.106/HUPE/2014 (ANEXO 1). Todos indivíduos da pesquisa foram informados e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, autorizando todos os procedimentos propostos.

3.2 Amostra do estudo

Neste estudo clínico longitudinal, foram selecionados quarenta e sete pacientes sistemicamente saudáveis, edentados parciais com implantes osteointegrados (independente de sua marca comercial) e com a prótese sobre implante em função por, pelo menos, 6 meses. Os critérios de exclusão foram: (i) pacientes que receberam tratamento periodontal ou peri-implantar prévio até 6 meses antes do início do estudo; (ii) pacientes grávidas ou amamentando; (iii) fumantes; (iv) pacientes que fizeram uso de medicamento, como antibióticos e anti-inflamatórios nos últimos 6 meses.

Os pacientes foram divididos em dois grupos: grupo 1) mucosite peri-implantar (n=27); e grupo 2) peri-implantite (n=20).

3.3 **Exame clínico e radiográfico**

Todos os pacientes foram submetidos à radiografia periapical completa para avaliação imaginológica dos implantes. Esse exame, junto com a análise clínica, foi determinante para o diagnóstico e seleção das áreas escolhidas para coleta e posterior análise.

Os exames clínicos foram realizados no tempo zero (T0) e após 3 meses da realização do tratamento (T1) por dois profissionais previamente calibrados (GSTN e MKST). Os parâmetros analisados foram: (1) índice de placa visível (0 ou 1); (2) profundidade de bolsa [PB (mm)], distância entre a margem da mucosa e o fundo de bolsa (SCHWARZ ; BECKER, 2011); (3) nível de inserção clínica [NIC (mm)], distância entre a plataforma do implante e o fundo de bolsa (SCHWARZ ; BECKER, 2011); e (4) sangramento à sondagem (0 ou 1). Os exames foram realizados utilizando uma sonda milimetrada periodontal (PCR 15, Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA) e seis sítios foram analisados em cada implante: mesio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, disto-lingual, lingual e mesio-lingual. A sonda foi inserida paralela ao longo eixo do implante e as medições relatadas em milímetros (mm). A calibração entre examinadores incluiu 5 pacientes medidos por ambos e a concordância dentro de ± 1 mm foi de 95,6% para as medições de PB.

3.4 **Classificação dos pacientes**

Os pacientes foram divididos em dois grupos: Grupo 1: mucosite peri-implantar, com sítios inflamados e sem perda óssea radiográfica significante (perda óssea ao redor dos implantes não atingindo a primeira rosca) (LINDHE ; MEYLE, 2008). Esses pacientes não apresentaram peri-implantite; Grupo 2: peri-implantite, com sítios inflamados e com perda óssea atingindo duas ou mais roscas do implante (AAP, 2013). Os dois grupos foram avaliados nos dois tempos: T0 e T1.

3.5 **Coleta da saliva**

Para a coleta da saliva total não estimulada, os pacientes foram orientados a não comer, beber, ou realizar procedimentos de higiene bucal por pelo menos uma hora antes. As amostras foram coletadas solicitando aos pacientes inicialmente a bochechar água e em seguida expectorar a saliva em dois eppendorfs (0,5ml), que já continham 20µl do inibidor de protease (Sigma-Aldrich, St Louis, MO USA) cada. A solução foi centrifugada a 8000 rpm por 5 minutos e, em seguida, o sobrenadante foi removido, transferido para um tubo rosqueado e congelado a -70^{0}C até o momento da análise. Esse procedimento foi realizado no tempo zero (T0) e após 3 meses do tratamento (T1).

3.6 **Terapia peri-implantar**

Todos os pacientes portadores de implantes com sinais clínicos de inflamação foram submetidos à terapia peri-implantar. O dia do tratamento foi considerado como T0 e o T1, 3 meses após esta data. O tratamento de infecções peri-implantares compreende abordagens conservadoras no caso da mucosite peri-implantar e cirúrgicas no caso da peri-implantite. O tratamento das doenças peri-implantares foi realizado conforme os protocolos propostos por LANG *et al*., (2004).

- Mucosite peri-implantar: Instrução de higiene oral, controle de placa, raspagem supragengival através de instrumentos manuais (curetas não metálicas para raspagem de Implante Implacare - Hu-Friedy®) e polimento com taça de borracha com pasta de polimento não abrasivo e Jato de Bicarbonato (Jetflex I - Dentflex®).

- Peri-implantite: Para o procedimento cirúrgico, a anestesia local (lidocaína a 2% com adrenalina a 1:100.000) foi administrada, incisões intrasulcular foram realizadas se estendendo além dos dentes e/ou implantes adjacentes. A remoção do biofilme e cálculo foi feita através de instrumentos manuais (curetas não metálicas

para raspagem de Implante Implacare - Hu-Friedy®) e polimento com taça de borracha com pasta de polimento não abrasivo e Jato de Bicarbonato (Jetflex I - Dentflex®). Em seguida, a região foi irrigada com solução de clorexidina a 2%. O retalho foi reposicionado e suturado. Os pacientes receberam prescrição de antibiótico (Amoxicilina 500 mg / 8 em 8 horas / 7 dias), anti-inflamatório não-esteroidal (diclofenaco potássico 50 mg / 8 em 8 horas / 3 dias) e antisséptico bucal (digluconato de clorexidina 0,12% / 2x ao dia / 7 dias).

3.7 **Análise Imunológica**

Os níveis das proteínas da S100A8/A9 foram mensurados utilizando um kit comercial de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) de acordo com as intruções do fabricante (ReD System, Minneapolis, MN, USA). As amostras foram descongeladas e centrifugadas a 3.000 rpm durante 5 minutos antes da análise.

As leituras foram feitas usando um espectrofotômetro de microplacas com comprimento de onda ajustado em 450 nm. Amostras abaixo do limite de detecção foram definidas como 0.

3.8 **Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote estatístico para as ciências sociais (SPSS), versão 24 (IBM Corporation, Armonk, NY, EUA). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Variáveis contínuas foram apresentadas como média e desvio padrão (DP) e variáveis categóricas como frequências. Dados que tiveram sua distribuição normal foram avaliados pelo teste T e os dados com distribuição não-normal foram avaliados utilizando os testes Mann-Whitney e Wilcoxon.

4 **RESULTADOS**

4.1 **Resultados demográficos**

No grupo de mucosite, a média de idade dos pacientes foi de 63,1 (DP± 7,7) anos e nos pacientes com peri-implantite, 61,2 (DP± 7,0) anos, não havendo diferença significativa entre os grupos (p=0,40). Também não houve diferença significativa na distribuição entre homens e mulheres (p=0,65) nos grupos, sendo 16 mulheres e 11 homens no grupo mucosite e 13 mulheres e 7 homens no grupo peri-implantite.

4.2 **Resultados T0**

4.2.1 Resultados Clínicos

Todos os dados clínicos estão apresentados na Tabela 1. Quando avaliados os parâmetros de boca toda, houve diferença significativa em PB (p=0,006), porcentagem de sítios com placa (p=0,039), sítios com profundidade de bolsa entre 1mm e 3mm (p=0,019) e acima de 6mm (p=0,03) entre os grupos mucosite e peri-implantite. Isso já não aconteceu no NIC (p=0,492), porcentagem de sítios com sangramento (p=0,365) e sítios com profundidade de bolsa entre 4mm e 5mm (p=0,088), onde não houve diferença significativa entre os grupos.

Na análise dos implantes, PB (p<0,001) e NIC (p<0,001) foram significantemente maiores no grupo de peri-implantite que no grupo de mucosite. Já na porcentagem de placa (p=0,669) e porcentagem de sangramento (p=0,234), não houve diferença significativa entre os grupos. Esses dados estão apresentados no Gráfico 1.

4.2.2 Resultados Imunológicos

S100A8/A9 foram detectados em 100% das amostras avaliadas. Não houve diferença estatística entre os grupos na expressão de S100A8/A9 antes do tratamento (p = 0,153). Embora a análise estatística não tenha apontado diferença significativa, vale ressaltar que o valor de mediana da peri-implantite é mais que o dobro encontrado na mucosite, como apresentado na Tabela 2.

Ao analisar a relação da expressão de S100A8/A9 com a profundidade de bolsa, percebeu-se que essa expressão foi significantemente maior em pacientes com média de profundidade de bolsa >3mm tanto no grupo mucosite (p=0,004) quanto em peri-implantite (p=0,017).

4.3 **Resultados T1**

4.3.1 Resultados Clínicos

Na consulta pós tratamento, houve diferença significativa entre os grupos nos seguintes parâmetros de boca toda: PB (p=0,031), porcentagem de sítios entre 1mm e 3 mm (p=0,027) e entre 4mm e 5 mm (p=0,028). No NIC (p=0,430), porcentagem de sítios com placa (p=0,430), porcentagem de sítios com sangramento (p=0,978) e sítios com profundidade de bolsa acima de 6mm (p=0,566) já não houve diferença estatística entre o grupo mucosite e o peri-implantite.

Na análise dos implantes, houve diferença significativa ente os grupos em PB (p=0,032) e NIC (p=0,003). Na porcentagem de placa (p=0,121) e porcentagem de sangramento (p=0,675), não houve diferença estatística.

4.3.2 Resultados Imunológicos

Na análise entre os grupos mucosite e peri-implantite, não houve diferença estatística na expressão de S100A8/A9 quando analisados após o tratamento (p= 0,982), como mostrado na Tabela 2.

Tabela 1 - Parâmetros imunológicos - expressão do heterodímero S100A8/A9 (ng/mL) na saliva de pacientes com mucosite peri-implantar e peri-implantite em cada um dos tempos

Tempo	Grupo	Mediana	IQ	p
T0	MU	1308.3	8467.5	0,153
	PI	5540.5	21141.25	
T1	MU	89.34	1832.51	0,982
	PI	26.5985	1907.3	

Fonte: a autora, 2019

Tabela 2 - Parâmetros Clínicos de dentes e implantes nos grupos 1 e 2 antes e após o tratamento

	Grupo: mucosite (n=27)				Grupo: peri-implantite (n=20)			
	Dados de boca toda							
	T0	**p1**	**T1**	**p2**	**T0**	**p3**	**T1**	**p4**
PB (mm)	2,3 (±0,3)	0,001	2,1 (±0,2)	0,006	2,6 (±0,3)	<0,001	2,3 (±0,3)	0,031
NIC (mm)	1,5 (±0,9)	0,740	1,4 (±0,8)	0,492	1,7 (±0,8)	0,702	1,7 (±0,7)	0,430
% sítios com placa	78,5% (±17,3)	0,005	68,8% (±20,8)	0,039	67,1% (±19,2)	0,469	62,1% (±26,1)	0,409
% sítios com sangramento	51,3% (±22,9)	<0,001	35,2% (±22,2)	0,365	57,3% (±20,8)	0,001	35,0% (±20,0)	0,978
% sítios com PB 1 a 3mm	88,7% (±9,1)	0,001	92,6% (±5,3)	0,019	82,0% (±9,9)	0,002	87,8% (±9,1)	0,027
% sítios com PB 4 a 5mm	10,8% (±9,0)	0,001	6,8% (±4,8)	0,088	15,6% (±9,2)	0,025	11,5% (±9,0)	0,028
% sítios com PB ≥ 6mm	0,6% (±1,3)	0,917	0,5% (±1,0)	0,003	2,5% (±2,6)	0,019	0,7% (±1,1)	0,566
	Dados dos Implantes							
PB (mm)	3,8 (±0,7)	<0,001	3,2 (±0,9)	<0,001	5,0 (±1,0)	0,002	3,9 (±1,2)	0,032
NIC (mm)	1,8 (±0,6)	<0,001	1,2 (±0,8)	<0,001	3,3 (±1,2)	0,052	2,5 (±1,7)	0,003
% sítios com placa	68,9 (±33,0)	0,022	48,1 (±34,9)	0,669	64,9 (±35,9)	0,017	33,3 (±45,9)	0,121
% sítios com sangramento	86,8 (±22,9)	<0,001	41,8 (±38,1)	0,234	94,1 (±14,7)	0,002	49,9 (±40,4)	0,675

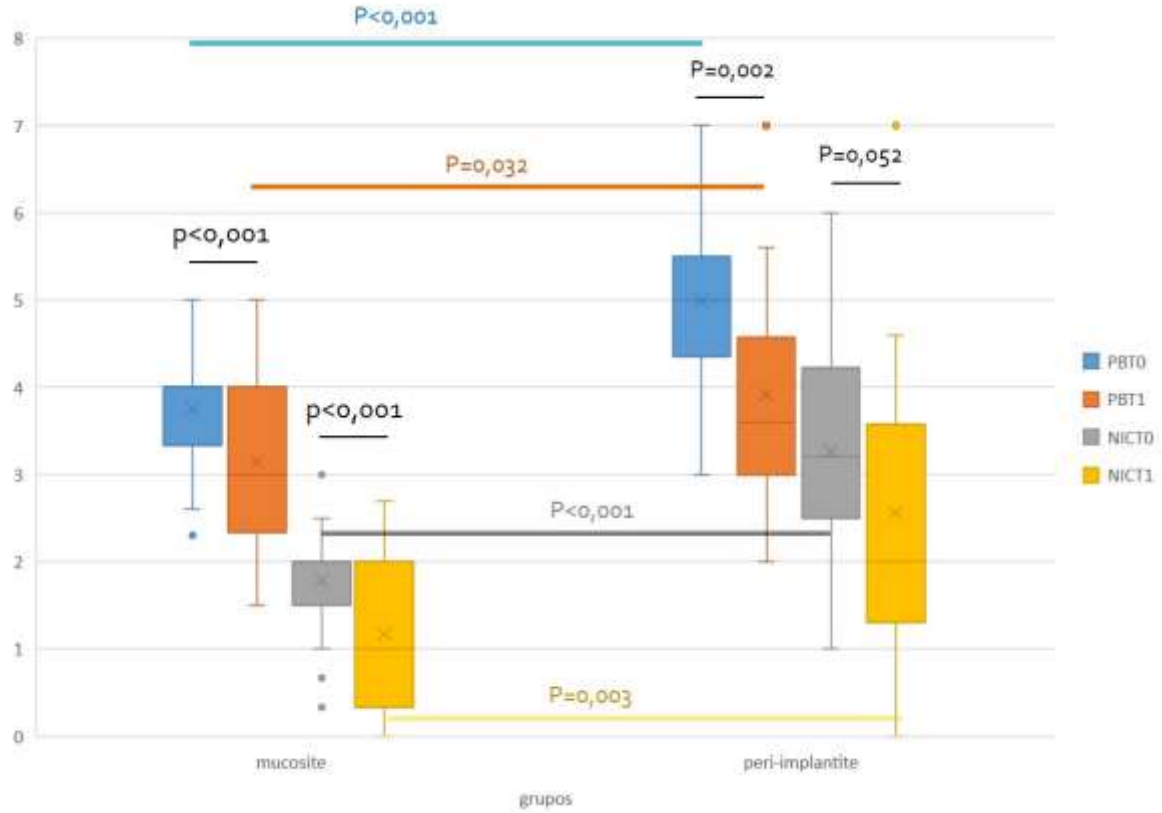
Nota: p1=T0xT1 na mucosite; p2= T0 mucosite x T0 peri-implantite; p3= T0xT1 na peri-implantite; p4=T1x mucosite xT1 na peri-implantite.
Valores de p dados pelo Teste T.
Fonte: a autora, 2019

4.4 **Avaliação do Tratamento**

4.4.1 Resultados clinicos

Na avaliação dos parâmetros de boca toda no grupo de mucosite peri-implantar, houve redução significante na profundidade de bolsa (p=0,001), porcentagem de sítios com placa (p=0,005) e na porcentagem de sítios com sangramento (p<0,001), mas não houve diferença estatística no NIC (p=0,74). A porcentagem de sítios com profundidade de bolsa entre 1mm-3mm foi significantemente maior no T1 (p=0,001) e houve diminuição significativa na porcentagem de bolsa com profundidade de 4-5mm no T1. Já na profundidade de bolsa maior do que 6mm, não houve diferença estatística (p=0,917), como apresentado na Tabela 1. Na análise específica dos implantes diagnosticados com mucosite, houve redução significante em todos os parâmetros clínicos antes e após o tratamento. Valores de p também apresentados na Tabela 1.

Gráfico 1 - Parâmetros clínicos dos implantes. Profundidade de bolsa (PB) e nível de inserção clínica (NIC) antes (T0) e após (T1) o tratamento de pacientes com mucosite peri-implantar e peri-implantite



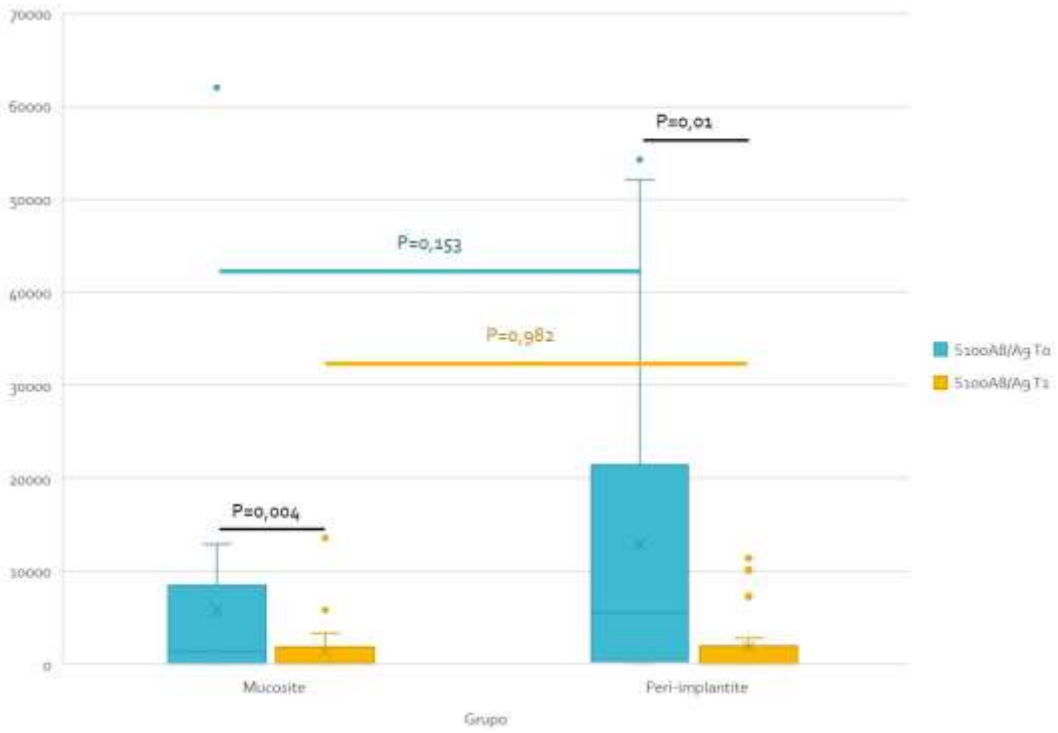
Fonte: a autora, 2019

Na avaliação dentro do grupo 2, também houve redução significativa na PB (p<0,001) e na porcentagem de sítios com sangramento (p=0,001). Já no NIC (p=0,702) e na porcentagem de sítios com placa (p=0,469), não houve diferença estatística significativa. Quando avaliada a porcentagem de sítios com profundidade de bolsa entre 1mm e 3mm, houve aumento significante (p=0,002), enquanto as porcentagens de sítios com profundidade de bolsa 4-5mm (p=0,025) e acima de 6 mm (p=0,019) tiveram redução significante. Na análise específica dos implantes diagnosticados com peri-implantite, houve redução significante em todos os parâmetros clínicos antes e após o tratamento, exceto no NIC (0,052) – como apresentado no Gráfico 1.

4.4.2 Resultados Imunológicos

Na comparação das consultas de antes e após o tratamento, houve redução significativa na expressão de S100A8/A9 no grupo de mucosite (p=0,004) e também no de peri-implantite (p=0,010). No grupo mucosite, houve redução da mediana de 1.308,3 (IQ= 8.467,5)ng/mL para 89,34 (IQ=1.832,51) ng/mL, enquanto na peri-implantite, a redução da mediana foi de 5.540,5 (IQ=21.141,25) ng/mL para 26,59 (IQ=1.907,3)ng/mL, assim como apresentado no Gráfico 2.

Gráfico 2 - Expressão de S100A8/A9 na saliva de pacientes com mucosite peri-implantar e peri-implantite, antes e após o tratamento



Fonte: a autora, 2019

5 **DISCUSSÃO**

Neste estudo, houve uma redução significativa na expressão de S100A8/A9 após o tratamento peri-implantar tanto no grupo de mucosite quanto no grupo peri-implantite. Essa redução foi acompanhada de relevante melhora clínica em todos os parâmetros clínicos dos implantes e redução significante nos níveis de sangramento e profundidade de bolsa na análise de boca inteira. A literatura é escassa em relação a avaliação de uma modulação do heterodímero S100A8/A9 após o tratamento peri-implantar, entretanto esse padrão de redução de algumas moléculas pró-inflamatórias após a terapia cirúrgica da peri-implantite já foi estudado previamente no fluido peri-implantar. Renvert *et al*. (2017), após seis meses do tratamento, também encontraram redução ≥30% dos níveis de IL1-β e IL-6. Bhavsar *et al*. (2019) perceberam redução na concentração de MMP-8 três meses após terapia. Duarte *et al*. (2009) pesquisaram níveis de TNF-α e perceberam redução significativa destes após três meses da terapia, tanto no grupo de mucosite, quanto no de peri-implantite. Esses dados corroboram com o nosso estudo, onde a redução dos níveis de S100A8/A9 sugere que o tratamento teve impacto positivo na redução da inflamação.

Na avaliação transversal de cada um dos tempos, não houve diferença significativa na expressão de S100A8/A9 na saliva de pacientes com peri-implantite e mucosite peri-implantar em nenhum dos tempos avaliados, sugerindo que a expressão dessas proteínas na saliva não foi afetada pela gravidade da doença. Como citado anteriormente, não encontramos trabalhos prévios avaliando a expressão de S100A8/A9 na saliva de pacientes com doença peri-implantar para comparar, mas Sakamoto *et al.* (2018) em um estudo transversal analisando essa expressão no fluido peri-implantar entre pacientes saudáveis e pacientes com doença peri-implantar, perceberam que os níveis de S100A8/A9 foram significativamente maiores nos locais de doença peri-implantar do que nos locais saudáveis. Sabe-se que a liberação de S100A8/A9 acontece mediante estresse dos fagócitos durante a resposta inflamatória (EHRCHEN *et al*., 2009), ou seja, o S100A8/A9 não é produzido em condição de latência, logo, entendemos que faz mais sentido comparar a expressão entre pacientes em diferentes estágios da

doença que comparar entre pacientes saudáveis e doentes, uma vez que o resultado da expressão menor de S100A8/A9 em pacientes saudáveis é esperado.

Clinicamente, houve uma redução significativa na profundidade de bolsa e porcentagem de sítios com sangramento em ambos os grupos após 3 meses do tratamento. Duarte *et al.* (2009) encontraram resultados similares ao nosso, demonstrando que houve redução significativa na profundidade de bolsa e índice de sangramento para mucosite e peri-implantite após três meses da terapia não cirurgica para mucosite e cirúrgica para peri-implantite. Isto corrobora com Lindhe e Meyle (2008), que afirmam que a terapia mecânica não cirúrgica e o reforço da higiene bucal são úteis no tratamento da mucosite peri-implantar e também com a revisão sistemática desenvolvida por Ramanauskaite *et al*. (2016), na qual o tratamento cirúrgico não regenerativo da peri-implantite mostrou-se eficaz para reduzir a inflamação dos tecidos moles e diminuir a profundidade da sondagem. Logo, é possível afirmar que a qualidade do protocolo de tratamento realizado neste estudo foi compativel com estes outros estudos, mostrando ser um protocolo confiável e reprodutível.

Ao analisar a relação da expressão de S100A8/A9 com a profundidade de bolsa, percebeu-se que essa expressão foi significantemente maior em pacientes com média de profundidade de bolsa >3mm nos dois grupos. Novamente, não encontramos estudos que avaliaram a relação entre a expressão de S100A8/A9 e parâmetros clínicos na doença peri-implantar. Analisando dados de periodontite, Holmstrom *et al.* (2019) perceberam que níveis de S100A8 / A9 foram maiores em indivíduos com ≥ 10% de profundidade da bolsa periodontal ≥4mm comparados àqueles com bolsas com profundidade menor que 4 mm. Logo, sugere-se que o comportamento da molécula é parecido na patogênese dessas doenças, uma vez que indivíduos com maior destruição tecidual tiveram níveis aumentados de S100A8/A9 nas duas.

CONCLUSÃO

Podemos concluir que houve melhora significante nos parâmetros clínicos após o tratamento peri-implantar nos grupos mucosite e peri-implantite e que essa melhora foi acompanhada por uma redução significante na expressão de S100A8/A9 na saliva destes pacientes. Percebeu-se também que áreas de maior destruição tecidual apresentaram maior concentração de S100A8/A9.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 8a. ed., Rio de Janeiro, Elsevier, p. 536, 2015.

AGERBAEK, M. R.; LANG, N. P.; PERSSON, G. R. Comparisons of bacterial patterns present at implant and tooth sites in subjects on supportive periodontal therapy: I. Impact of clinical variables, gender and smoking. **Clinical Oral Implants Research**, Copenhagen, v. 17, n. 1, p. 18–24, 2006.

AGUIRRE A.; TESTA-WEINTRAUB L.A.; BANDERAS J.A.; Haraszthy G.G.; Reddy M.S.; Levine M.J. Sialochemistry: a diagnostic tool?. **Crit Rev Oral Biol Med**, Boca Raton, v. 3-4, p: 343-50, 1993.

ALQAHTANI, F *et al*. Efficacy of mechanical debridement with adjunctive probiotic therapy in the treatment of peri-implant mucositis in cigarette-smokers and never-smokers. **Photodiagnosis Photodyn Ther**, Amsterdam, v.21, p. 30334-5, 2019.

ANDERSEN, E *et al*. Myeloid-related protein gingival crevice fluid in periodontal health and disease and after treatment. **Journal of Periodontal Research**, Copenhagen, v.45, p. 458–463, 2010.

ANDREA, M.; LANG, N. P.**T**he diagnosis and treatment of peri-implantitis. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 17, p. 63–76, 1998.

BERGLUNDH, T *et al*. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 45, p. S286–S291, 2018.

BERGLUNDH T, ARMITAGE G, *et al*. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **Journal Periodontoly**, Indianapolis, v.89, p S313-S318, 2018.

BERGLUNDH, T.; ZITZMANN, N.; DONATI, M. Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions? **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 38, n. 11, p. 188–202, 2011.

BHAVSAR I, et al. Biological response to peri-implantitis treatment. **Journal of periodontal research**, Copenhagen, v. 54 (6), p. 720-728, 2019

CHOW, A.; BROWN, B. D.; MERAD, M. Studying the mononuclear phagocyte system in the molecular age. **Nature Reviews Immunology**, Londres, v. 11, n. 11, p. 788–798, 2011.

CLOHESSY, P. A.; GOLDEN, B. E. Calprotectin-Mediated Zinc Chelation as a Biostatic Mechanism in Host Defence. **Scand J Immunol**, Oslo, v. 42 (5), p. 551–557, 1995.

CRESPI, R *et al*. Nonsurgical Treatment of Peri-implantitis Without Eliminating Granulation Tissue: A 3-Year Study. **Implant Dentistry**, Baltimore, v. 28, n. 1, p. 4–10, 2019.

DAUBERT, D. M.; WEINSTEIN, B. F. Biofilm as a risk factor in implant treatment. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 81, p. 29–40, 2019.

DAWES, C. *et al*. The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. **Archives of Oral Biology**, Oxford, v. 60, n. 6, p. 863–874, 2015.

DE MENDONGA, A. C. *et al*. Tumor Necrosis Factor-Alpha Levels After Surgical Anti-Infective Mechanical Therapy for Peri-Implantitis: A 12-Month Follow-Up. **Journal of Periodontology**, Copenhagen, v. 80, n. 4, p. 693–699, 2009.

DONATO, R. Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, Amsterdam, v. 1450, n. 3, p. 191–231, 1999.

DONATO, R. Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. **Microscopy Research and Technique**, Nova Iorque, v. 60, n. 6, p. 540–551, 2003.

DUARTE, P. M. *et al*. Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases. **Journal of periodontology**, Copenhagen, v. 80, n. 2, p. 234–43, Feb. 2009.

EHRCHEN, J. M. *et al*. The endogenous Toll-like receptor 4 agonist S100A8/S100A9 (calprotectin) as innate amplifier of infection, autoimmunity, and cancer. **Journal of Leukocyte Biology**, Winston-Salem, v. 86, n. 3, p. 557–566, 2009.

ESCOBAR, G. F. *et al***.** Levels of Pro and Anti-inflammatory Citokynes and C-Reactive Protein in Patients with Chronic Periodontitis Submitted toNonsurgical Periodontal Treatment. **Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP**, Bangkok, v. 19, n. 7, p. 1927–1933, 2018.

FRANSSON, C. *et al*. Prevalence of subjects with progressive bone loss at implants. **Clinical Oral Implants Research**, Copenhagen, v. 16, n. 4, p. 440–446, 2005.

S. Gokul (2012). Salivary Diagnostics in Oral Cancer, Oral Cancer, Dr. Kalu U. E. Ogbureke (Ed.), ISBN: 978- 953-51-0228-1, InTech, Available from: http://www.intechopen.com/books/oral-cancer/salivary-diagnostics-in- oral-cancer

GOKUL, S. Salivary Diagnostics in Oral Cancer. **Oral Cancer**, p. 953-51, 2012.

GREVERS, L. C. *et al*. S100A8 enhances osteoclastic bone resorption in vitro through activation of Toll-like receptor 4: Implications for bone destruction in murine antigen-induced arthritis. **Arthritis and Rheumatism**, Atlanta, v. 63, n. 5, p. 1365–1375, 2011.

HAN, S. *et al*. Nanoparticle-based assay for detection of S100P mRNA using surface-enhanced Raman spectroscopy. **Journal of Biomedical Optics**, Estados Unidos, v. 24, n. 05, p. 1, 2019.

HARIRIAN, H. *et al*. Comparative Analysis of Calcium-Binding Myeloid-Related Protein-8/14 in Saliva and Serum of Patients With Periodontitis and Healthy Individuals, **Journal of periodontology,** Copenhagen, v. 87, n. 2, 2015.

HEITZ-MAYFIELD, L.J.A.; LANG, N. P. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 53, n. 1, p. 167–181, Jun. 2010.

HEO, S. H. *et al*. S100A2 level changes are related to human periodontitis. **Molecules and Cells**, Seoul ,v. 32, n. 5, p. 445–450, 2011.

HESSIAN, P. A.; EDGEWORTH, J.; HOGG, N. MRP-8 and MRP-14, two abundant Ca(2+)-binding proteins of neutrophils and monocytes**. Journal of leukocyte biology**, Winston-Salem, v. 53, n. 2, p. 197–204, 1993.

HOFMANN, M. A. *et al*. RAGE Mediates a Novel Proinflammatory Axis : A Central Cell Surface Receptor for S100 / Calgranulin Polypeptides. **Cell**, Cambridge, v. 97, p. 889–901, 1999.

HOLMSTRÖM, S. B. *et al*. MMP-12 and S100s in saliva reflect different aspects of periodontal inflammation. **Cytokine**, San Diego, v. 113, n. June, p. 155–161, 2019.

IMANI, M.; BAHRAMI, Y.; ZAREI, H. In Solution Cation-Induced Secondary and Tertiary Structure Alterations of Human Calprotectin. **Protein J**, Dordrecht, p. 465–473, 2014.

JAEDICKE, K. M.; PRESHAW, P. M.; TAYLOR, J. J. Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 70, n. 1, p. 164–183, 2016.

JORGEN, S. Periodontal diagnostics: how far have we come? **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 62, p. 7–19, 2013.

KARNA, S. *et al*. Salivary S100 proteins screen periodontitis among Korean adults. **Journal of clinical periodontology**, Copenhagen, v. 46, n. 2, p. 181–188, Feb, 2019.

LANG, N. P.; HEITZ-MAYFIELD L. J. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 53, p. 167–181, 2010.

LANG, N. P.; BERGLUNDH, T.; HEITZ-MAYFIELD, L. J. Group 4 Consensus Statement Consensus Statements and Recommended Clinical Procedures Regarding Implant Survival and Complications. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 19, p. 150–154, 2004.

LEE, C. T. *et al*. Prevalences of peri-implantitis and peri-implant mucositis: systematic review and meta-analysis. **Journal of Dentistry**, Guildford, v. 62, p. 1–12, 2017.

LINDHE, J.; MEYLE, J. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, p.282-285, 2008.

LUNDY, F. T. *et al*. Identification of MRP-8 (calgranulin A) as a major responsive protein in chronic periodontitis. **Journal of Pathology**, Edinburgh, v. 192, n. 4, p. 540–544, 2000.

LUNDY, F. T. *et al*. Quantitative analysis of MRP-8 in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease using microbore HPLC. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 28, n. 12, p. 1172–1177, Dec. 2001.

MA, L. I. *et al*. Proinflammatory effects of S100A8 / A9 via TLR4 and RAGE signaling pathways in BV-2 microglial cells. **International journal of molecular medicine,** Atenas**,** p. 31–38, 2017.

MARENHOLZ, I.; HEIZMANN, C. W.; FRITZ, G. S100 proteins in mouse and man: From evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 322, n. 4, p. 1111–1122, Oct. 2004.

NGUYEN et al. Ligature induced peri-implantitis : tissue destruction and inflammatory progression in a murine model. **Clin Oral Implants**, Copenhagen, v. 28 (2), p. 129–136, 2016.

PESCE, P. *et al*. Peri-implantitis: A Systematic Review of Recently Published Papers. **International journal of prosthodontics**, Lombard, v. 27, n. 1, p. 15–25, 2014.

RAMANAUSKAITE A *et al*. Surgical Non-Regenerative Treatments for Peri-Implantitis: a Systematic Review. **J Oral Maxillofac Res**, Lituania, v. Sep 9, p. 1-11, 2016.

RENVERT, S.; WIDÉN, C.; PERSSON, R. G. Cytokine and microbial profiles in relation to the clinical outcome following treatment of peri-implantitis. **Clinical Oral Implants Research**, Copenhagen, v. 28, n. 9, p. 1127–1132, 2017.

RENVERT, S. *et al*. Diagnosis and non-surgical treatment of peri-implant diseases and maintenance care of patients with dental implants – Consensus report of working group 3. **International Dental Journal**, Londres, v. 69, p. 12–17, 2019.

RENVERT, S.; ROOS-JANSÅKER, A. M.; CLAFFEY, N. Non-surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: A literature review. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 35, n. 8, p. 305–315, 2008.

RENVERT, S.; WIDÉN, C.; PERSSON, R. G. Cytokine and microbial profiles in relation to the clinical outcome following treatment of peri-implantitis. **Clinical Oral Implants Research**, v. 28, n. 9, p. 1127–1132, 2017.

RINKE, S. *et al*. Prevalence of periimplant disease in partially edentulous patients: A practice-based cross-sectional study. **Clinical Oral Implants Research**, Copenhagen, v. 22, n. 8, p. 826–833, 2011.

SAKAMOTO, E. *et al*. Calprotectin and cross-linked N-telopeptides of type I collagen levels in crevicular fluid from implant sites with peri-implant diseases: a pilot study. **International Journal of Implant Dentistry**, Alemanha, v. 4, n. 1, p. 2–9, 2018.

SÁNCHEZ, G. A. *et al*. Total salivary nitrates and nitrites in oral health and periodontal disease. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, Estados Unidos, v. 36, p. 31–35, 2014.

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 and Growth Factor Reviews**, Oxford, v. 25, n. 4, p. 453–472, 2014.

SHABANI, F. *et al*. Calprotectin (S100A8 / S100A9): a key protein between inflammation and cancer. **Inflammation Research**, Basel, v. 67 (10), p. 801–812, 2018.

SIMONIS, P.; DUFOUR, T.; TENENBAUM, H. Long-term implant survival and success: A 10-16-year follow-up of non-submerged dental implants. **Clinical Oral Implants Research**, Copenhagen, v. 21, n. 7, p. 772–777, 2010.

SMEETS, R. *et al*. Definition , etiology , prevention and treatment of peri-implantitis – a review. **Head and face medicine**, London, v.3 p. 10–34, 2014.

STEINBAKK, M. *et al*. Antimicrobial actions of calcium binding leucocyte L1 protein, calprotectin. **Lancet**, Londres, v. 336, n. 8718, p. 763–765, 1990.

SCHWARZ, F.; BECKER, J**. Infecção Per-implantar: Etiologia, diagnóstico e tratamento**. 1ª ed. São Paulo: **Quintessence Editora**, p.296, 2011.

TAGLIARI, D.; TAKEMOTO, M.; ROTTA DE ANDRADE, M. Tratamento da Peri-implantite: revisão de literatura. **Journal of Chemical Information and Modeling**, Washington, v. 3, n. 2, p. 68–77, 2015.

URBAN, C. F. *et al*. Neutrophil Extracellular Traps Contain Calprotectin , a Cytosolic Protein Complex Involved in Host Defense against Candida albicans. **PLoS pathogens**, San Francisco, v. 5, n. 10, 2009.

VALDERRAMA, P.; WILSON, T. G. Detoxification of implant surfaces affected by peri-implant disease: An overview of surgical methods. **International Journal of Dentistry**, Brasil, v. 16, p. 77–84, 2013.

VOGL, T. *et al*. Mrp8 and Mrp14 are endogenous activators of Toll-like receptor 4, promoting lethal, endotoxin-induced shock. **Nature Medicine**, New York, v. 13, n. 9, p. 1042–1049, 2007.

VOGL, T.; GHARIBYAN, A. L.; MOROZOVA-ROCHE, L. A. Pro-Inflammatory S100A8 and S100A9 Proteins : Self-Assembly into Multifunctional Native and Amyloid Complexes. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v.13, p. 2893–2917, 2012.

WANG, S. *et al*. S100A8/A9 in inflammation. **Frontiers in Immunology**, Switzerland, v. 9, p. 1298 , 2018.

XY, R. *et al*. Family-based association analysis of S100A8 genetic polymorphisms with aggressive periodontitis. **Journal of periodontal research**, Copenhagen, v.44, n.2, p. 184–192, 2009.

ZHANG, L.; XIAO, H.; WONG, D. T. Salivary biomarkers for clinical applications. **Molecular Diagnosis and Therapy**, Nova Zelandia, v. 13, n. 4, p. 245–259, 2009.

ZHU, G. Q. *et al*. Network meta-analysis of randomized controlled trials: Efficacy and safety of UDCA-based therapies in primary biliary cirrhosis. **Medicine,** United States, v. 94, n. 11, p. e609, 2015.

ZIMMER, D. B. *et al*. The S100 protein family: History, function, and expression. **Brain Research Bulletin**, Phoenix, v. 37, n. 4, p. 417–429, 1995.

ZITZMANN, N. U.; BERGLUNDH, T. Definition and prevalence of peri-implant diseases. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 35, n. 8, p. 286–291, 2008.

ANEXO – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
PEDRO ERNESTO/
UNIVERSIDADE DO ESTADO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Marcadores de risco para doenças perimplantares no fluido gengival e saliva de pacientes edentados parciais e portadores de implantes osteointegrados

Pesquisador: Mayla Kezy Silva Teixeira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 36888414.0.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 857.106

Data da Relatoria: 21/10/2014

Apresentação do Projeto:

O projeto está bem apresentado

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar portadores de doença perimplantar através de marcadores presentes no fluido gengival

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O assunto é atual e relevante

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Toda a documentação pertinente foi apresentada

Recomendações:

Não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O trabalho pode ser realizado da forma como foi apresentado

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br