

ANÁLISE DOS NÍVEIS DE ÓXIDO NÍTRICO NA SALIVA DE PACIENTES DESDENTADOS TOTAIS REABILITADOS COM IMPLANTES.

FABIANA MARIA SOARES ROCHA¹, CARLA SILVA SIQUEIRA², FLAVIANA SOARES ROCHA³, CAMILLA CHRISTIAN GOMES MOURA⁴, MARIA APARECIDA DE SOUZA⁵, DARCENY ZANETTA-BARBOSA⁶

Resumo

O óxido nítrico tem papel importante na resposta inflamatória do hospedeiro. Entretanto, seu potencial como possível ferramenta no diagnóstico de doenças peri-implantares tem sido pouco investigado. O presente estudo teve como objetivo determinar os níveis de nitrito na saliva de pacientes totalmente desdentados, portadores de implantes dentais, e verificar as correlações entre esses níveis e parâmetros clínicos de avaliação da saúde peri-implantar. Esta avaliação foi realizada de acordo com parâmetros clínicos: profundidade de sondagem (PS), índice gengival (IG) e índice de placa (IP). Foi coletada saliva e os níveis de nitrito foram avaliados pelo método de Griess. Os níveis de NO salivares foram maiores nos pacientes que apresentavam maior porcentagem de sítios peri-implantares que se incluíam no grupo saudável. Os menores níveis de NO encontrados foram nos pacientes que apresentavam maior porcentagem de sítios peri-implantares no grupo mucosite moderada. Devido ao importante papel do NO no metabolismo ósseo e na inflamação, bem como seu papel protetor no organismo, mais estudos são necessários para comprovar sua relevância como marcador no diagnóstico inicial ou no prognóstico dos implantes dentais.

Descritores: óxido nítrico, saliva, implante dental.

¹ Acadêmica do Curso de Odontologia-UFU (bolsista PIBIC UFU/Fapemig). Av. Pará, 1720-Bloco 2U Umuarama Uberlândia-MG Cep.: 38401-136

² Cirurgiã-dentista. Av. Pará, 1720-Bloco 2U Umuarama Uberlândia-MG Cep.: 38401-136

³ Mestranda da Faculdade de Odontologia UFU – Área de Concentração CTBMF – UFU - Av. Pará, 1720-Bloco 2U Umuarama Uberlândia-MG Cep.: 38401-136

⁴ Mestre em Odontologia e Doutora em Imunologia e Parasitologia Aplicadas – UFU - Av. Pará, 1720, Bloco 6T, Lab. Biologia Molecular Umuarama Uberlândia-MG Cep: 38400-902 (co-orientadora)

⁵ Professora titular Instituto de Ciências Biomédicas (Departamento de Imunologia) – UFU - Av. Pará, 1720, Bloco 6T, Lab. Biologia Molecular Umuarama Uberlândia-MG Cep: 38400-902

⁶ Professor titular da disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Implantodontia - Faculdade de Odontologia – UFU Av. Pará, 1720-Bloco 2U Umuarama Uberlândia-MG Cep.: 38401-136 zanetta@ufu.br (orientador)

ANALYSIS OF NITRIC OXIDE LEVELS IN SALIVA OF TOTALLY EDENTULOUS PATIENS REHABILITATED WITH DENTAL IMPLANTS.

Abstract

Nitric oxide has an important effect on host response. However its potential as a possible diagnostic tool in peri-implant disease has been little studied. In this study the nitrite levels in saliva of totally edentulous patients and the possible correlation between these levels and clinical parameters were determined. Peri-implant status was determined based on probing depth (PD), gingival index (GI) and plaque index (PI). Saliva was collected and the nitrite levels were evaluated by the Griess method. The salivary levels of NO were higher in patients with most of peri-implant sites within the healthy group. Lower levels of NO were found in patients with a higher percentage of sites in the moderate peri-implant mucositis group. Given the important role of NO in bone metabolism and inflammation and its protective role in the body, further studies are needed to prove its relevance as a marker for initial diagnosis or prognosis of dental implants.

Descriptors: nitric oxide, saliva, dental implant.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Implantodontia

A utilização de implantes dentais vem proporcionando inúmeros benefícios, principalmente aos pacientes desdentados totais, anteriormente conhecidos como “inválidos orais”, uma vez que a prótese removível total era sua única alternativa. O advento dos implantes possibilita que o paciente melhore a qualidade de vida e a auto-estima pelo conforto e estabilidade que as próteses implanto-suportadas fornecem.

O sucesso dos implantes de titânio adequadamente empregados é elevado, porém perdas ainda são encontradas. Fatores relacionados ao excesso de carga oclusal, bem como dificuldades de higienização estão entre as principais causas de perda (Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003B; Watzek, 2004; Degidi *et al.*, 2006).

Clinicamente, um implante é considerado com sucesso se não for observada mobilidade, dor ou desconforto, ausência de sangramento e aparência saudável dos tecidos peri-implantares (Watzek, 2004). Para avaliar os diversos sistemas de implantes em função, avaliações clínicas e radiográficas são rotineiramente utilizadas (Tozum *et al.*, 2008). O exame radiográfico permite avaliar a altura da crista óssea em relação ao implante, possibilitando acompanhar a perda óssea com o decorrer do tempo. No entanto esses critérios de avaliação não permitem detectar alterações iniciais no sítio peri-implantar (Mombelli & Lang, 1994; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003A; Yalçin *et al.*, 2005).

Essas limitações dos exames disponíveis dificultam a detecção precoce de alterações peri-implantares por meio de dados clínicos (Mombelli & Lang, 1994). No entanto, o cirurgião dentista não pode abrir mão da avaliação clínica durante o acompanhamento longitudinal dos implantes, a qual deveria ser associada a métodos de diagnóstico complementar, que permitissem detectar uma inflamação antes que esta seja clinicamente visível (Liskmann *et al.*, 2004).

Alguns estudos têm verificado modificações na composição da saliva (Kaufman & Lamster, 2000; Gomes *et al.*, 2006; Liskmann *et al.*, 2006) e do fluido sulcular (Griffiths, 2003; Loos & Tjoa, 2005; Tozum *et al.*, 2005) de indivíduos com

periodontite e peri-implantite. Estes métodos, já estudados na doença periodontal, possibilitam a identificação de marcadores biológicos que estão presentes no fluido sulcular e na saliva (Murata et al., 2002; Kivela-Rajamaki et al., 2003B, Gurkan et al., 2006). Devido à semelhança entre os microambientes periodontal e peri-implantar este tipo de diagnóstico se torna viável na implantodontia (Yalçin et al., 2005; Duarte et al., 2009 A; Duarte et al., 2009 B).

Investigações dos níveis de quimiocinas na saliva de pacientes desdentados totais, portadores de implante, associados a avaliações clínicas da prótese e da mucosa implantar, podem ser mais acuradas que avaliações em pacientes parcialmente desdentados, um ambiente no qual os dentes presentes podem influenciar nos resultados, assim, em pacientes desdentados totais, avaliação dos componentes salivares também têm sido propostas para o monitoramento da saúde peri-implantar (Liskmann et al., 2006).

1.2. Saliva

A saliva, composta por água, eletrólitos, aminoácidos, imunoglobulinas e citocinas, juntamente com células de defesa, desempenha um importante papel protetor na cavidade oral, estando relacionada à imunidade da mucosa, dentes e seus tecidos de sustentação (Walker, 2004). Dentre as funções básicas da saliva estão as de proteção, digestão, gustação e ação antimicrobiana, bem como manutenção de um equilíbrio hídrico e integridade dos dentes.

Os componentes salivares que participam dos processos de defesa da cavidade oral podem ser divididos em componentes salivares ativos, inespecíficos, constituído principalmente por enzimas, e componentes salivares passivos, os quais fazem parte da resposta imune humoral e celular (De Souza *et al.*, 2001).

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

Em pacientes edêntulos, a análise de biomarcadores salivares torna-se interessante, pois além dos próprios componentes salivares, os componentes do fluido entram em íntimo contato com a saliva, podendo ser mensurados nesta (Liskmann et al., 2006). Além disto, a saliva é um fluido obtido facilmente através de método não invasivo e está diretamente relacionada à proteção da cavidade oral (Liskmann et al., 2006).

1.3. Óxido nítrico (NO)

O óxido nítrico é uma molécula pequena, relativamente instável e multifuncional. Pode agir como neurotransmissor e como vasodilatador, com funções importantes na defesa contra patógenos em geral, além de participar dos mecanismos fisiopatológicos da região periodontal e peri-implantar (Siqueira Jr & Sabóia Dantas, 2000; Ugar-Çankal & Ozmeric, 2006; Bryan & Grisham, 2007; Pacher et al., 2007). Atualmente já se sabe que o óxido nítrico é um dos mais potentes metabólitos com propriedades antibacterianas, possuindo também um papel modulador da proliferação bacteriana (Carossa et al., 2001).

Por ser um potente vasodilatador, o NO regula a resposta vascular inicial na reação inflamatória aguda, bem como as funções de outras células envolvidas nesse processo (Bryan & Grisham, 2007; Pacher et al., 2007), no entanto, em níveis elevados, possui efeito e pode levar à destruição tecidual nos sítios periodontal e peri-implantar (Tozum et al., 2005, Liskmann et al., 2007; Tozum et al., 2007; Tozum et al., 2008).

O papel específico do NO na doença periodontal ainda não foi completamente esclarecido e há informações limitadas a respeito da produção de NO pelos tecidos periodontais e peri-implantares. No entanto, sugere-se que o NO presente na saliva faça parte de um mecanismo de defesa não-específica contra bactérias periodontopatogênicas (Brennan et al., 2003).

Segundo Tozum et al. (2005, 2007, 2008), a inflamação e a sobrecarga oclusal, levaram ao aumento da concentração de nitrito nos tecidos peri-implantares com inflamação atribuindo a esta molécula um papel na progressão do processo inflamatório. Embora já se saiba que o nitrito possua diversos papéis no sistema imune, atuando na proteção e destruição dos tecidos (Bryan & Grisham, 2007), ainda são necessárias mais

investigações para uma melhor compreensão da atuação desse metabólito na cavidade oral (Brennan et al., 2003; Ugar-Çankal & Ozmeric, 2006).

O nitrito é um metabólito final da oxidação do NO, e por ser um produto estável e dosado com maior facilidade que o NO, tem sido freqüentemente usado nas pesquisas como marcador da inflamação (Leitão et al., 2005; Gyurko et al., 2005; Tozum et al., 2005). Portanto, quantificações dos níveis de nitritos salivares e do fluido sulcular peri-implantar associados aos parâmetros clínicos podem ser úteis no diagnóstico precoce de alterações no sítio peri-implantar, contribuindo para o sucesso dos implantes. O presente estudo teve como objetivo determinar os níveis de nitrito na saliva de pacientes totalmente desdentados, portadores de implantes dentais, e verificar as correlações entre esses níveis e parâmetros clínicos de avaliação da saúde peri-implantar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Seleção dos indivíduos

Foram previamente selecionados indivíduos adultos, desdentados totais que receberam implantes dentais na clínica de Especialização em Implantodontia da Universidade Federal de Uberlândia. Dentre estes, foram selecionados aqueles sistemicamente saudáveis (sem registro de complicações sistêmicas como diabetes e outras doenças auto-imunes) de ambos os sexos que já concluíram o tratamento (instalação dos implantes e próteses tipo overdenture), com faixa etária entre 25 e 65 anos. Estes indivíduos foram convidados a comparecerem a uma consulta-controle, cientes de que tratava-se de uma pesquisa. Todos os procedimentos foram previamente autorizados pelo comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos (217/08).



Figura 1: A- Paciente desdentado total com prótese total removível convencional superior e prótese inferior removível tipo overdenture (sobre implantes). B- Vista anterior dos implantes dentais inferiores, unidos por barra metálica. C- Vista oclusal da inferior removível tipo overdenture (sobre implantes). D- Grampo de retenção da overdenture na barra metálica.

2.2. Procedimentos clínicos

Na primeira consulta, os indivíduos foram questionados sobre a condição sistêmica atual, e foi preenchida uma nova ficha clínica para avaliar as condições de higiene oral, presença de placa, edema local e sangramento espontâneo.

O exame clínico foi conduzido da seguinte maneira: foram avaliados inicialmente os parâmetros clínicos índice de placa (IP), bem como as condições de higiene oral do indivíduo em todos os implantes. O IP foi avaliado de acordo com o critério definido por Mombelli et al. (1987).

Após o preenchimento desses dados, em cada indivíduo, foram coletadas, de forma não estimulada, as amostras de saliva (Figura 2A-F). Os indivíduos depositaram

em recipiente plástico Salivette® (Sarstedt, Newton, North Carolina, USA), não reutilizável, um volume de aproximadamente 2ml de saliva, que foi mantida em gelo até seu processamento.

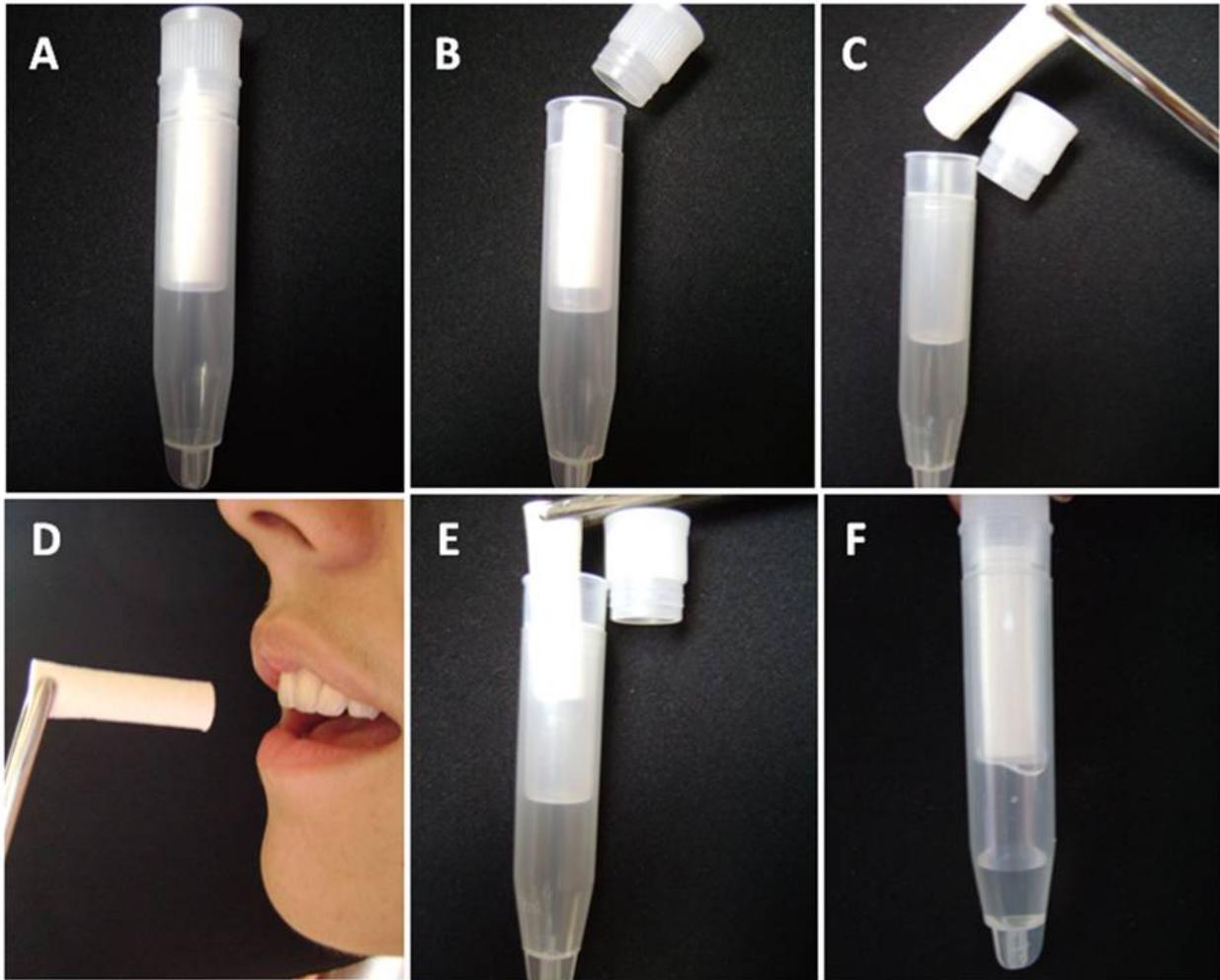


Figura 2: Método para coleta de saliva utilizando Salivette®. **A-** Salivette® utilizado para coleta de saliva. **B-** Abertura do recipiente. **C-** Remoção do algodão. **D-** Colocação do algodão sob a língua para coleta da saliva. **E-** Colocação do algodão com saliva no Salivette®. **F-** Saliva depositada no Salivette® após centrifugação.

Após essas coletas, foram medidos o índice gengival (IG), a profundidade do sulco peri-implantar (PS) e, em seguida, foram obtidas tomadas radiográficas de todos os implantes. O IG foi obtido de acordo com o critério definido por Mombelli et al.

(1987). A sondagem nos sítios peri-implantares foi realizada com uma sonda periodontal milimetrada estéril, que foi introduzida em todas as faces de forma suave, até encontrar ligeira resistência.

O exame clínico foi realizado em 6 sítios peri-implantares (disto-vestibular: DV, vestibular central: VC, mesial-vestibular: MV, disto-lingual: DL, lingual central: LC e mesio-lingual: ML) por um único examinador treinado e calibrado. Uma ficha clínica, especialmente confeccionada para a pesquisa, permitiu o registro dos parâmetros clínicos avaliados, bem como dados demográficos, comportamentais e biológicos de interesse.

Os sítios peri-implantares dos pacientes foram alocados em 2 grupos: sem inflamação e com inflamação (mucosite). Foram considerados sem inflamação os sítios que possuísem índice gengival igual a zero (Tozum et al., 2007), e com inflamação os com profundidade de sondagem menor ou igual a 4 mm, índice gengival maior ou igual a 1 e índice de placa maior ou igual a zero (Murata et al 2002 adaptado). Imediatamente após, os sítios peri-implantares com inflamação (mucosite) foram subdivididos considerando a severidade da inflamação, sendo que o índice gengival igual a 1 representa a inflamação leve e o índice gengival maior que 1 representa a inflamação moderada (Tozum et al., 2007). A peri-implantite não foi considerada neste estudo.

Em seguida, em laboratório, as células e os sedimentos das amostras de saliva coletadas foram separados da parte solúvel por centrifugação a 1000xg. O sobrenadante foi coletado, distribuído em alíquotas e congelado a -20°. Uma parte foi utilizada para a dosagem de NO.

2.3. Dosagem de NO pelo método de Griess

A produção de NO foi determinada pela dosagem do total de nitrito (NO₂⁻) nas amostras de saliva e de fluido sulcular, utilizando o método de Griess (Grisham et al., 1996). Para o preparo do reagente de Griess foram misturados quantidades iguais (1:1), de sulfanilamida à 1% e N-(1-naftil) etilenodiamina dihidrocloridrato à 0,1% em ácido fosfórico à 2,5%.

Em uma microplaca de 96 poços foram colocados 100µl de cada amostra. Foi criada uma curva padrão com nitrito de sódio 200µM até a 11° diluição na base 2. Em

seguida, foram adicionados 100µl de reagente de Griess aos poços que continham a curva e as amostras. O controle da reação (branco) foi feito pela adição de 100µl de solução tampão mais 100µl do reagente de Griess. Essa placa foi incubada à temperatura ambiente para permitir o desenvolvimento e a estabilização do cromóforo. A absorbância da reação foi medida em um leitor de microplacas no comprimento de onda entre 540 a 570nm. Após a leitura esses dados foram inseridos no programa Microplate Manager® 4.0. A análise de regressão linear foi usada para calcular as concentrações de nitrito nas amostras de saliva e fluido sulcular em relação à curva padrão de nitrito de sódio (NaNO₂, 200µM – 0,1 µM). Os níveis de nitrito das amostras foram expressos em µM NO₂- e foram analisadas estatisticamente.

2.4. Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do programa GraphPad Prisma version 5.0 for windows. Foi utilizado o teste Kolmogorov-smirnov para verificação se os dados apresentavam distribuição normal e, posteriormente, foram utilizados os testes Mann-Whitney e Kruskal Wallis (pós-teste de Dunns).

3. RESULTADOS

Segundo os dados obtidos na anamnese, a respeito da história odontológica, a maioria dos indivíduos tinha conhecimento sobre os motivos que levaram à perda do elemento dentário e a colocação dos implantes. Dentre esses motivos 66,67% dos indivíduos relataram perda dental devido à doença periodontal e 33,33% perda devido à cáries dentais.

Dentre os trinta e seis sítios peri-implantares avaliados, dezoito apresentaram tecidos peri-implantares saudáveis. Nove sítios apresentaram mucosite leve e nove sítios apresentaram mucosite moderada. Sítios com peri-implantite não foram encontrados uma vez que os mesmos não foram considerados no presente estudo. A tabela 1 mostra os dados clínicos dos grupos. Para as variáveis categóricas os resultados foram apresentados como número e porcentagem e para variáveis contínuas os dados foram apresentados como média e desvio padrão (DP).

A profundidade de sondagem (PS) nos sítios peri-implantares saudáveis (2,13mm ± 0.63) foi menor quando comparada à dos sítios com mucosite leve (2,33mm

$\pm 0,43$) e moderada ($2,50\text{mm} \pm 0,90$). No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,36$) (Tabela 1).

A percentagem de sítios com índice de placa (IP) igual a zero é maior no grupo saudável (29,41%) se comparado aos grupos mucosite leve (9,09%) e moderada (0%). A percentagem de sítios com índice de placa igual a 1 foi maior no grupo mucosite leve (45,46%) em comparação com os grupos mucosite moderada (11,11%) e saudável (17,65%). A percentagem de sítios com índice de placa igual a 2 foi maior no grupo saudável (29,41%), seguido pelos grupos mucosite moderada (22,22%) e mucosite leve (18,18%). O grupo mucosite moderada (66,67%) apresentou maior percentagem de sítios com índice de placa igual a 3 em comparação com os grupos mucosite leve (27,27%) e saudável (23,53%) ($p=0,005$) (Tabela 1).

Tabela 1- Dados clínicos dos grupos saudável, mucosite leve e mucosite moderada.

	Saudável	Mucosite leve	Mucosite moderada
PS (média \pmDP)	2,13 \pm 0,63	2,33 \pm 0,43	2,50 \pm 0,90
% sítios com			
IP = 0	29,41	9,09	0
IP = 1	17,65	45,46	11,11
IP = 2	29,41	18,18	22,22
IP = 3	23,53	27,27	66,67

Em todos os sítios experimentais foi detectada a presença de óxido nítrico (NO). Os níveis de NO salivares foram maiores nos pacientes que apresentavam maior percentagem de sítios peri-implantares que se incluíam no grupo saudável. Os menores

níveis de NO encontrados foram nos pacientes que apresentavam maior porcentagem de sítios peri-implantares no grupo mucosite moderada (Tabela 2).

Tabela 2- Porcentagem de sítios peri-implantares nos grupos saudável, mucosite leve e mucosite moderada por paciente e níveis de óxido nítrico salivares.

	Saudável	Mucosite leve	Mucosite moderada	Nível de NO $\mu\text{M} \pm \text{DP}$
Paciente 1	75%	25%	0%	441,6 \pm 27,78
Paciente 2	33,33%	16,67%	50%	192,2 \pm 11,25
Paciente 3	41,67%	33,33%	25%	569,5 \pm 26,02

4. DISCUSSÃO

Parâmetros clínicos tradicionais já utilizados em outros estudos (Leonhardt et al., 2002; Paolantonio et al., 2000; Liskmann et al., 2006; Duarte et al., 2009 A; Duarte et al., 2009 B) foram usados para determinar as condições de saúde peri-implantar.

A profundidade de sondagem e a presença de placa foram maiores no grupo mucosite se comparado ao grupo saudável, sendo o de mucosite moderada o que apresentou os valores mais elevados. Esses valores condizem com a realidade clínica encontrada, visto que a mucosa se torna inflamada devido ao maior acúmulo de biofilme dental (placa) na superfície dentária (Dinato & Polido, 2001). As bactérias presentes no biofilme, através da liberação de toxinas, provocam um processo inflamatório, que leva à destruição tecidual e, conseqüentemente, elevação dos valores de profundidade de sondagem se comparada à pacientes saudáveis, que apresentam índices de placa menores.

Apesar da controvérsia a respeito do uso da profundidade de sondagem em torno de implantes (Ataoglu et al., 2002), esse parâmetro clínico parece ser confiável para avaliar o estado de saúde peri-implantar (Lang & Bragger, 1991). No entanto, é importante lembrar das limitações devido a fatores anatômicos porque os tecidos peri-implantares são estruturalmente diferente da dentição natural, especialmente quando a inflamação está presente (Mombelli et al., 1997).

Embora o índice de placa não seja considerado por alguns autores como um bom parâmetro a ser avaliado devido à possibilidade do paciente melhorar a higienização apenas no dia do exame, no presente trabalho, foi demonstrado coerência nos resultados. Embora tenha sido avaliada apenas estágios iniciais da doença peri-implantar, higiene bucal deficiente entre os sujeitos parecem ser um fator importante para o desenvolvimento da mucosite moderada, como observado por Renvert et al. (2007).

Os parâmetros analisados foram associados à quantificação de um marcador bioquímico da inflamação e da remodelação óssea – o óxido nítrico (NO), que foi quantificado na saliva como nível total de nitrito.

Tozum et al. (2005, 2007, 2008) observaram diferenças significantes entre os níveis de nitrito no fluido sulcular peri-implantar dos sítios inflamados quando comparados com os saudáveis, utilizando critérios semelhantes ao de presente estudo, classificando os implantes em grupos saudável ou inflamado, e também de acordo com a severidade da inflamação, em pacientes reabilitados com overdenture. Contraditoriamente, a presente análise, em que os níveis de nitrito foram dosados na saliva em pacientes em condições clínicas semelhantes aos estudos de Tozum et al. (2005, 2007, 2008) revelou que os níveis de nitrito salivares foram maiores nos pacientes que apresentavam maior porcentagem de sítios peri-implantares que se incluíam no grupo saudável. Os menores níveis de nitrito encontrados foram nos pacientes que apresentavam maior porcentagem de sítios peri-implantares no grupo mucosite moderada. A saliva da cavidade oral contém uma diversidade de mediadores inflamatórios, tais como: citocinas, enzimas e fatores de crescimento, além de fatores hormonais, que poderiam criar um microambiente capaz de interferir inibindo ou potencializando a ação do óxido nítrico.

Além disso, embora possa promover toxicidade e destruição dos tecidos quando em concentrações elevadas, o óxido nítrico também possui papel protetor na cavidade oral (Bryan & Grisham, 2007). Aparentemente, em condições fisiológicas, o NO possui função importante na defesa inespecífica do hospedeiro, bem como na destruição de patógenos intracelulares e células tumorais (Chi et al., 2003; Tozum et al., 2005). Assim, em estudos avaliando estágios iniciais do processo inflamatório, o NO pode estar com a função protetora no organismo sobrepondo à capacidade de destruição tecidual. Provavelmente, grande parte do NO oxida-se antes de atingir seu alvo (Kröncke et al., 1997). Por essa razão, é bastante difícil determinar qual a concentração de NO que leva à toxicidade celular.

O óxido nítrico, quando na presença de outras moléculas como o superóxido (O_2^-), reage rapidamente formando o peroxinitrito (ONOO), considerado um dos mais potentes oxidantes. Estas moléculas podem ser mais ou menos produzidas em algumas situações específicas e este provavelmente seja o motivo pelo qual o NO atua diferentemente em condições fisiológicas e patológicas. Alguns autores sugerem ainda que os efeitos inicialmente atribuídos ao NO seriam, na verdade, promovidos pelo peroxinitrito (Pacher et al., 2007; Wiley, 2007).

Um melhor entendimento da patogênese das doenças peri-implantares pode gerar um grande benefício terapêutico com relação à modulação da resposta imune do hospedeiro por meio da regulação da expressão dos mediadores inflamatórios, bem como por tratamentos com moléculas biológicas específicas.

5. CONCLUSÃO

Mais estudos são necessários para comprovar sua relevância como marcador no diagnóstico inicial ou no prognóstico dos implantes dentais.

6. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Paulo César Simamoto Júnior pelas fotos clínicas cedidas e colocadas na Figura 1 deste trabalho e à FAPEMIG pela bolsa de iniciação científica concedida e financiamento da pesquisa (APQ-01441-09).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ATAOGU, H.; ALPTEKIN, N.O.; HALILOGLU, S.; GURSEL, M.; ATAOGU, T.; SERPEK, B.; DURMUS, E. Interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid. *Clin Oral Implants Res.* 2002 Oct;13(5):470-6.
2. BORAS, V.V.; BRAILO, V.; LUKAC, J.; KORDIC, D.; BLAZIC-POTOCKI, Z. Salivary interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in patients with burning mouth syndrome. *Oral Dis* 2006; 12 (3): 353-355.
3. BRENNAN, P.A.; THOMAS, G.J.; LANGDON, J.D. The role of nitric oxide in oral diseases. *Arch Oral Biol* 2003; 48 (2): 93-100.
4. BRYAN, N.S.; GRISHAM, M.B. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. *Free Radic Biol Med* 2007; 43 (5): 645-657.
5. CAROSSA, S.; PERA, P.; DOGLIO, P.; LOMBARDO, S.; COLAGRANDE, P.; BRUSSINO, L.; ROLLA, G.; BUCCA, C. Oral nitric oxide during plaque deposition. *Eur J Clin Invest* 2001; 31 (10): 876-879.
6. CHI, D. S.; QUI, M.; KRISHNASWAMY, G.; LI, C.; STONE, W. Regulation of nitric oxide production from macrophages by lipopolysaccharide and catecholamines. *Nitric Oxide*, 2003; 8: 127-132.
7. DINATO, C. J.; POLIDO, D. W. *Implantes osseointegrados: cirurgia e prótese.* São Paulo: Artes Médicas, 2001.
8. DUARTE, P.M.; DE MENDONÇA, A.C.; MÁXIMO, M.B.; SANTOS, V.R.; BASTOS, M.F.; NOCITI, F.H. Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases. *J Periodontol.* 2009 Feb;80(2):234-43. A

9. DUARTE, P.M.; DE MENDONÇA, A.C.; MÁXIMO, M.B.; SANTOS, V.R.; BASTOS, M.F.; NOCITI JÚNIOR, F.H. Differential cytokine expressions affect the severity of peri-implant disease. *Clin Oral Implants Res.* 2009 Mar 9. [Epub ahead of print]. B
10. DEGIDI, M.; ARTESE, L.; SCARANO, A.; PERROTTI, V.; GEHRKE, P.; PIATTELLI, A. Inflammatory infiltrate, microvessel density, nitric oxide synthase expression, vascular endothelial growth factor expression, and proliferative activity in peri-implant soft tissues around titanium and zirconium oxide healing caps. *J Periodontol.* 2006 Jan;77(1):73-80.
11. GOMES, M.A.; RODRIGUES, F.H.; AFONSO-CARDOSO, S.R.; BUSO, A.M.; SILVA, A.G.; FAVORETO, S.; JR.; SOUZA, M.A. Levels of immunoglobulin A1 and messenger RNA for interferon gamma and tumor necrosis factor alpha in total saliva from patients with diabetes mellitus type 2 with chronic periodontal disease. *J Periodontal Res* 2006; 41 (3): 177-183.
12. GRIFFITHS, G.S. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol*2003; 31: 32-42.
13. GRISHAM, M.B.; JOHNSON, G.G.; LANCASTER, J.R.; JR. Quantitation of nitrate and nitrite in extracellular fluids. *Methods Enzymol* 1996; 268: 237-246.
14. GÜRKAN, A.; EMINGIL, G.; ÇINARCIK, S.; BERDELI, A. Gingival crevicular fluid transforming growth factor- β 1 in several forms of periodontal disease. *Arch Oral Biol* 51 (10): 906-912, 2006.
15. GYURKO, R.; SHOJI, H.; BATTAGLINO, R.A.; BOUSTANY, G.; GIBSON, F.C.; 3RD; GENCO, C.A.; STASHENKO, P.; VAN DYKE, T.E. Inducible nitric oxide synthase mediates bone development and P. gingivalis-induced alveolar bone loss. *Bone* 2005; 36 (3): 472-479.
16. KAUFMAN, E.; LAMSTER, I.B. Analysis of saliva for periodontal diagnosis--a review. *J Clin Periodontol* 2000; 27 (7): 453-465.
17. KIVELA-RAJAMAKI, M.; MAISI, P.; SRINIVAS, R.; TERVAHARTIALA, T.; TERONEN, O.; HUSA, V. SALO, T. ; SORSA, T. Levels and molecular

- forms of MMP-7 (matrilysin-1) and MMP-8 (collagenase-2) in diseased human peri-implant sulcular fluid. *J Periodontal Res* 2003; 38 (6): 583-590.
18. KIVELA-RAJAMAKI, M.J.; TERONEN, O.P.; MAISI, P.; HUSA, V.; TERVAHARTIALA, T.I.; PIRILA, E.M.; SALO, T.A.; MELLANEN, L. ; SORSA, T.A. Laminin-5 gamma2-chain and collagenase-2 (MMP-8) in human peri-implant sulcular fluid. *Clin Oral Implants Res* 2003; 14 (2): 158-165.
 19. KRÖNCKE, K.D.; FEHSEL, K.; KOLB-BACHOFEN, V. Nitric oxide: cytotoxicity versus cytoprotection--how, why, when, and where? *Nitric Oxide*. 1997 Apr;1(2):107-20. Review.
 20. LANG NP, BRÄGGER U. Periodontal diagnosis in the 1990s. *J Clin Periodontol*. 1991 Jul;18(6):370-9.
 21. LEITAO, R.F.; RIBEIRO, R.A.; CHAVES, H.V.; ROCHA, F.A.; LIMA, V.; BRITO, G.A. Nitric oxide synthase inhibition prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol* 2005; 76 (6): 956-963.
 22. LEONHARDT, A.; GRONDAHL, K.; BERGSTROM, C.; LEKHOLM, U. Long-term follow-up of osseointegrated titanium implants using clinical, radiographic and microbiological parameters. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13 (2): 127-132.
 23. LISKMANN, S.; ZILMER, M.; VIHALEMM, T.; SALUM, O.; FISCHER, K. Correlation of peri-implant health and myeloperoxidase levels: a cross-sectional clinical study. *Clin Oral Implants Res* 2004; 15 (5): 546-552.
 24. LISKMANN, S.; VIHALEMM, T.; SALUM, O.; ZILMER, K.; FISCHER, K. ; ZILMER, M. Correlations between clinical parameters and interleukin-6 and interleukin-10 levels in saliva from totally edentulous patients with peri-implant disease. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006; 21 (4): 543-550.
 25. LISKMANN, S.; VIHALEMM, T.; SALUM, O.; ZILMER, K.; FISCHER, K. ; ZILMER, M. Characterization of the antioxidant profile of human saliva in peri-implant health and disease. *Clin Oral Implants Res* 2007; 18 (1): 27-33.

26. LOOS, B.G.; TJOA, S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? *Periodontol* 2005; 39: 53-72.
27. MOMBELLI, A.; VAN OOSTEN, M.A.; SCHURCH E JR; LAND, N.P. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol*. 1987 Dec;2(4):145-51.
28. MOMBELLI, A.; LANG, N.P. Clinical parameters for the evaluation of dental implants. *Periodontol* 2000. 1994 Feb;4:81-6.
29. MOMBELLI, A.; MÜHLE, T.; BRÄGGER, U.; LANG, N.P.; BÜRGIN, W.B. Comparison of periodontal and peri-implant probing by depth-force pattern analysis. *Clin Oral Implants Res*. 1997 Dec;8(6):448-54.
30. MURATA, M.; TATSUMI, J.; KATO, Y.; SUDA, S.; NUNOKAWA, Y.; KOBAYASHI, Y.; TAKEDA, H.; ARAKI, H.; SHIN, K.; OKUDA, K.; MIYATA, T. ; YOSHIE, H. Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1beta in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13 (6): 637-643.
31. PACHER, P.; BECKMAN, J.S. ; LIAUDET, L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007; 87 (1): 315-424.
32. PAOLANTONIO, M.; DI PLACIDO, G.; TUMINI, V.; DI STILIO, M.; CONTENTO, A. ; SPOTO, G. Aspartate aminotransferase activity in crevicular fluid from dental implants. *J Periodontol* 2000; 71 (7): 1151-1157.
33. RENVERT, S.; ROOS-JANSÅKER, A.M.; LINDAHL, C.; RENVERT, H.; RUTGER PERSSON, G. Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation. *Clin Oral Implants Res*. 2007 Aug;18(4):509-16. Epub 2007 May 21.
34. RHODUS, N.L.; CHENG, B.; BOWLES, W.; MYERS, S.; MILLER, L.; ONDREY, F. Proinflammatory cytokine levels in saliva before and after treatment of (erosive) oral lichen planus with dexamethasone. *Oral Dis*. 2006; 12 (2): 112-6.

35. SIQUEIRA-JR, J.F.; SABÓIA-DANTAS, C.J. Mecanismos Celulares e Moleculares da Inflamação. In: Siqueira-Jr JF, Sabóia-Dantas CJ. Inflamação. 1 ed. Rio de Janeiro: MEDSI; 2000. p.238.
36. TOZUM, T.F.; TURKYILMAZ, I.; YAMALIK, N.; TUMER, C.; KILINC, A.; KILINC, K.; KARABULUT, E. ; ERATALAY, K. Analysis of thte possible impact of inflammation severity and early and delayed loading on nitric oxide metabolism around dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005; 20 (4): 547-556.
37. TOZUM, T.F.; TURKYILMAZ, I.; YAMALIK, N.; TUMER, C.; KILINC, A.; KILINC, K.; KARABULUT, E. ; ERATALAY, K. The effect of delayed versus early loading on nitric oxide metabolism around dental implants: an 18-month comparative follow-up study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; 22 (1): 53-62.
38. TOZUM, T.F.; GUNCU, G.N.; YAMALIK, N.; TURKYILMAZ, I.; GUNCU, M.B. The impact of prosthetic design on the stability, marginal bone loss, peri-implant sulcus fluid volume, and nitric oxide metabolism of conventionally loaded endosseous dental implants: a 12-month clinical study. *J Periodontol* 2008; 79 (1): 55-63.
39. UGAR-CANKAL, D.; OZMERIC, N. A multifaceted molecule, nitric oxide in oral and periodontal diseases. *Clin Chim Acta* 2006; 366 (1-2): 90-100.
40. WALKER, D.M. Oral mucosal immunology: an overview. *Ann Acad Med Singapore* 2004; 33 (4 Suppl): 27-30S.
41. WATZEK, G. Implants in qualitatively compromised bone. São Paulo: Quintessence Publishing Co, 2004, 181p.
42. WILEY, J.W. The many faces of nitric oxide: cytotoxic, cytoprotective or both. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19 (7): 541-544.
43. YALÇN, S.; BASEGMEZ, C.; MIJIRITSKY, E.; YALÇN, F.; ISIK, G.; ONAN, U. Detection of implant crevicular fluid prostaglandin E2 levels for the

assessment of peri-implant health: a pilot study. *Implant Dent* 2005; 14 (2): 194-200.