FACULDADE DE TECNOLOGIA DE SETE LAGOAS

LEONARDO BATAGLIA PEREIRA

METALOPROTEINASES DE MATRIZ E SEU PAPEL NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DENTÁRIOS

NOVA FRIBURGO – RJ

2017

LEONARDO BATAGLIA PEREIRA

METALOPROTEINASES DE MATRIZ E SEU PAPEL NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DENTÁRIOS

Trabalho de conclusão de curso de Pós-graduação em Implantodontia, em caráter de especialização da Faculdade de Tecnologia de Sete Lagoas

Orientador: Professor Dr. Marcelo Rizzato

NOVA FRIBURGO – RJ

2017

FOLHA DE APROVAÇÃO

LEONARDO BATAGLIA PEREIRA

METALOPROTEINASES DE MATRIZ E SEU PAPEL NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DENTÁRIOS

Monografia apresentada como requisito para a obtenção do título de Especialista no curso de Pós-graduação em Implantodontia da Faculdade de Tecnologia de Sete Lagoas.

Aprovada em _____ de _____ de 2017.

Membros da banca examinadora:

_____
Instituto Friburguense de Pós Graduação de Nova Friburgo

_____
Instituto Friburguense de Pós Graduação de Nova Friburgo

_____
Instituto Friburguense de Pós Graduação de Nova Friburgo

NOVA FRIBURGO - RJ

2017

RESUMO

Como proposta para reposição de dentes perdidos, o implante dentário é uma alternativa eficaz que consiste em uma etapa cirúrgica e outra protética. O sucesso do procedimento depende da osseointegração, etapa crítica para a confecção da prótese sobre implante. Além dos fatores mecânicos que influenciam positivamente nas taxas de sucesso, existem também os fatores biológicos. As metaloproteinases de Matriz (MMP´S) são enzimas responsáveis por hidrolisar componentes da Matriz Extracelular (MEC) no tecido periimplantar. Quando mal reguladas, as MMPs causam um aumento da destruição proteolítica da interface osso/implante – processo inflamatório e osteolítico já existente mediado por citocinas e mediadores lipídicos secretados por células de defesa, células endoteliais, fibroblastos, queratinócitos, osteoblastos e osteoclastos em resposta imune anormal. As MMPs mais envolvidas nesse processo são MMP1, MMP2, MMP8 e MMP9. O objetivo desse trabalho será realizar um levantamento bibliográfico sobre os diferentes tipos de MMPs que podem atuar no processo de osseointegração de implantes dentários, enfatizando sua atuação e correlacionando com sucesso e falha dessa modalidade de reabilitação. Foi realizado um levantamento bibliográfico nos moldes de revisão integrativa com pesquisa das palavras-chave no Pubmed.

Palavras-chave: osseointegração; metaloproteinases da matriz; implante dental endo-ósseo; implantes dentários

ABSTRACT

As a proposal for replacement of missing teeth, the dental implant is an effective alternative consisting of a surgical and a prosthetic step. The success of the procedure depends on osseointegration, a critical stage for the preparation of the prosthesis on the implant. Matrix Metalloproteinases (MMP's) are enzymes responsible for hydrolyzing components of the extracellular matrix (ECM) in peri-implant tissue. When poorly regulated, MMPs cause an increase in proteolytic destruction of the bone / implant interface - an already existing inflammatory and osteolytic process mediated by cytokines and lipid mediators secreted by defense cells, endothelial cells, fibroblasts, keratinocytes, osteoblasts and osteoclasts in response Immune system. The MMPs involved in this process are MMP1, MMP2, MMP8 and MMP9. The objective of this work will be to perform a bibliographic survey about the different types of MMPs that can act in the process of osseointegration of dental implants, emphasizing their performance and correlating with success and failure of this rehabilitation modality. A bibliographical survey was carried out in the form of an integrative review with a search of keywords in Pubmed.

Keywords**:** Osseointegration; Matrix metalloproteinases; Endosteal dental implant; Dental implants

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....7

1.1 REVISÃO DE LITERATURA**.....9**

2 METODOLOGIA.....19

2.1 TIPO DE ESTUDO**.....19**

3 DISCUSSÃO.....20

4 CONCLUSÃO.....22

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....23

1 INTRODUÇÃO

Os implantes dentários têm mostrado ser uma alternativa eficaz e previsível de fazer a reposição de um dente perdido. O procedimento consiste em etapas distintas: cirúrgica e protética. A etapa cirúrgica consiste na instalação de um parafuso de titânio em íntimo contato com o osso; e a etapa protética consiste em confeccionar uma prótese semelhante a um dente sobre esse implante. O sucesso do implante dentário depende de múltiplos fatores, dentre eles: minuciosa anamnese, boa higienização bucal feita pelo paciente, um correto planejamento reverso, um bom manejo do leito cirúrgico, que as instruções pós-operatórias sejam estritamente seguidas e que se respeite o tempo mínimo de cicatrização óssea. Todos os fatores supracitados contribuem com o processo de osseointegração, que se define pela integração do implante dentário ao osso. A prótese sobre implante (PSI) só poderá ser confeccionada e instalada caso ocorra a osseointegração.

Durante o processo de osseointegração, existem vários eventos celulares e vasculares acontecendo ao mesmo tempo. Dentre eles, a atuação de enzimas responsáveis por hidrolisar componentes da matriz extracelular (MEC) tem sido cada vez mais estudada. Essas enzimas são chamadas metaloproteinases de matriz (MMP). Segundo Brinckerhoff e Matrisian (2002), desde que o primeiro membro da família das metaloproteinases de matriz foi descrito por Jerome Gross, em 1962, juntaram-se as peças ao longo do tempo para melhor compreender como essas estruturas agem nos mais diferentes processos fisiológicos e de doença. Visse e Nagase (2003) citaram a importância de MMPs em muitos processos biológicos, como o remodelamento tecidual fisiológico e angiogênese, além de reparo de feridas e em doenças como ateroma, artrite, câncer e ulceração tecidual. Como exemplo, as MMPs são encontradas na matriz extracelular do tecido conjuntivo, sendo sintetizadas e secretadas por suas células – fibroblastos, osteoblastos e odontoblastos.

Portanto, não é surpreendente que, pelo menos, três MMPs, MMP2, MMP9 e MT1-MMP, influenciam o desenvolvimento dos ossos e homeostase (BJURSTEN, 1991) como exemplo a MMP-9 (gelatinase B) pode estar ligada ao controle da diferenciação dos osteoclastos e o recrutamento para a remodelação óssea (LE GUEHENNEC et al, 2007; TRISI, LAZZARA & REBAUDI, 2003).

Uma vez que já está comprovado a atuação ativa dessas MMPs diretamente na formação e remodelação óssea, também há indícios que elas têm um papel

fundamental na osseointegração. Algumas MMPs possuem algum tipo de polimorfismo podendo estar relacionadas ao insucesso da osseointegração, resultando na perda dos implantes.

O objetivo desse trabalho será realizar um levantamento bibliográfico sobre os diferentes tipos de MMPs que podem atuar no processo de osseointegração de implantes dentários, enfatizando sua atuação e correlacionando com sucesso e falha dessa modalidade de reabilitação.

1.1 REVISÃO DE LITERATURA

Os primeiros relatos de uso de implantes dentários ocorreram nas civilizações antigas. Dentre os materiais usados identificados por arqueólogos estão o ouro, a porcelana e a platina. Há séculos, o homem vem buscando alternativas para a substituição de dentes perdidos. Na busca por substitutos, inúmeros materiais foram avaliados como alumínio, prata, latão, cobre, magnésio, ouro, aço, níquel, cobalto e vanádio, até então sem sucesso clínico pela falta de biocompatibilidade. Forçar a inserção de um implante metálico no osso com injúria recente é um insulto ao tecido que pode produzir inflamação crônica ou encapsulação fibrosa do objeto introduzido (KINGLER et al, 1998). Por décadas, o consenso de especialistas é de que, caso haja a formação de uma camada de tecido conjuntivo fibroso ao redor de implantes dentários instalados, há o risco de comprometer sua estabilidade mecânica (SOUTHAM & SELWYN, 1971).

No final dos anos 1960, o professor Per Ingvar Bränemark, publicou uma série de estudos que culminou no desenvolvimento do termo “osseointegração”, definida como a capacidade dos implantes de se integrar permanentemente no osso vivo e está intimamente ligado ao sucesso de implantes dentários (FAVERANI, 2011).

Brånemark, em estudos para elucidar a microcirculação sanguínea em tíbias de coelho com ajuda de uma câmara de observação em titânio, percebeu que o metal e o osso se integravam perfeitamente. Após o observado, foram desenvolvidos cilindros personalizados para serem implantados na tíbia de coelhos e cães. Esta técnica serviu como fundamento para a implementação de implantes de titânio como base fixa de próteses de longa duração em maxila e mandíbula para aplicação humana (MCCLARENCE, 2003). O metal titânio, em condições atmosféricas, forma uma fina camada de seu óxido que, em contato com tecidos biológicos, essa camada aumenta por ação de enzimas proteolíticas, citocinas, superóxidos e peróxido de hidrogênio que são excretadas por células inflamatórias, especialmente macrófagos. Acredita-se que a interface entre o implante de titânio e o tecido vivo formam uma matriz de peróxido de titânio hidratado. A formação dessa matriz é exclusiva do titânio, já que o complexo peróxido dos outros metais de transição possíveis tem solubilidade ou estabilidade demasiadamente baixa. Esta propriedade confere ao titânio alta biocompatibilidade (SUNDGREN, BODÖ & LUNDSTRÖM, 1986; BJURSTEN, 1991).

Porém, para que se alcance o sucesso clinico de implantes dentários, existem fatores que devem ser observados, dentre eles: minuciosa anamnese, boa

higienização bucal feita pelo paciente, um correto planejamento reverso, que as instruções pós-operatórias sejam estritamente seguidas e que se respeite o tempo mínimo de cicatrização óssea, assim como a minimização dos danos aos tecidos adjacentes por trauma térmico e\ou cirúrgico (ADELL et al, 1981; LE GUEHENNEC et al, 2007).

Superfícies de implantes dentários tem papel importante na interação tecidual, bem como na taxa e na qualidade de osseointegração, uma vez que o design e a superfície irão influenciar diretamente na integração do implante com o osso circunjacente. Propriedades de superfície como: composição química, hidrofilicidade e rugosidade são parâmetros cruciais para o sucesso de implantes a curto e longo prazo, otimizando os fatores mecânicos (LE GUEHENNEC et al, 2007; DAVIES, 1998).

Além dos fatores mecânicos que influenciam na osseointegração, há fatores biológicos que participam desse processo, como a migração das células de defesa, atuação de enzimas da matriz extracelular (MEC), deposição de matriz óssea, adsorção proteica, diferenciação celular, entre outros (TRISI, LAZZARA & REBAUDI, 2003; KARAZISIS, 2016). Através do contato implante-osso forma-se uma interface estrutural e funcional chamada matriz extracelular (MEC) que é formada de proteoglicanos, glicoproteínas e moléculas de adesão (ALBREKTSSON, et al, 1981; SELA et al, 2000). A MEC tem sua resistência aumentada ao longo do tempo, sendo substituída por osso maduro através da migração de osteoblastos para a superfície de implante dentário (LINDER et al, 1983), promovendo sucesso clínico na fixação, através da reparação osteogênica (MCKEE & NANCI, 1993). Dentre as enzimas componentes da MEC, destacam-se as Metaloproteinases de Matriz (MMPs) que são responsáveis por hidrolisar componentes da matriz extracelular como: colágenos, fibrilar e não fibrilar; fibronectina, laminina e glicoproteinas da membrana basal sendo cada subtipo de MMP responsável por degradar seus respectivos substratos (BRINCKERHOFF & MATRISIAN, 2002; VISSE & NAGASE, 2003).

Atualmente 26 membros da família de MMPs bem caracterizados foram relatados; e podem ser definidos por muitos parâmetros, cujos quais: a capacidade de clivar componentes da matriz, a dependência do íon zinco para atividade, o requerimento de que a enzima seja ativada pela clivagem de um pró-domínio, a preservação de uma sequência de aminoácidos específicosentre membros de uma

mesma família, e a inibição destes pelos Inibidores Endógenos de Metaloproteinases (TIMP's) (BIRKEDAL-HANSEN, 1993; NAGASE & WOESSNER, 1999).

Brinckerhoff e Matrisian (2002) propuseram uma linha do tempo com os principais avanços científicos envolvendo metaloproteinases durante a história (Figura 1).

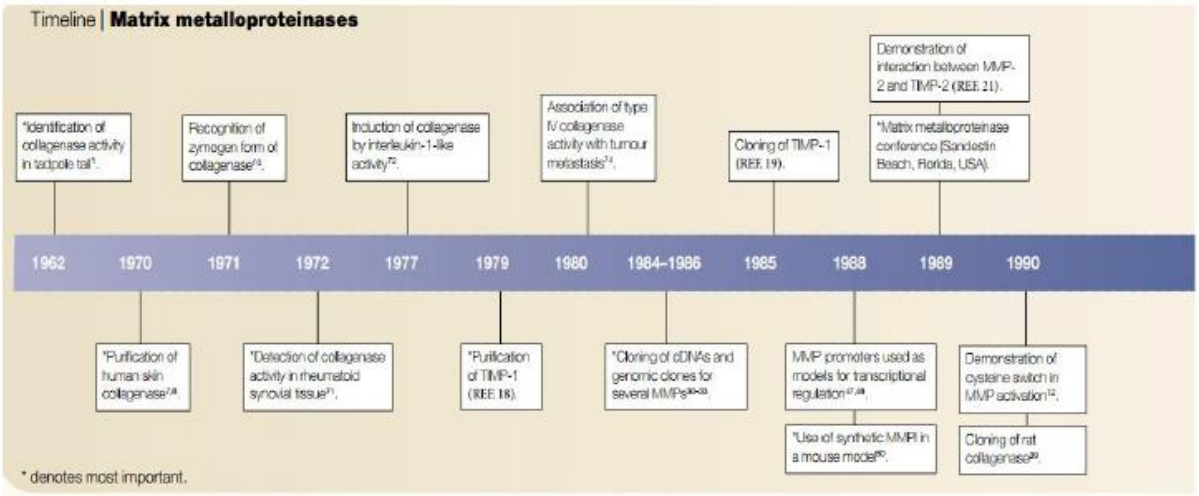


Figura 1. Linha do tempo sobre os avanços científicos de MMP´s. Fonte: BRINCKERHOFF & MATRISIAN, 2002.

A primeira MMP foi estudada num estudo de Jerome Gross e colaboradores em 1962, e possuía a função de degradar colágeno intersticial, na qual descreveram uma determinada atividade presente da metamorfose de girinos. Os girinos possuíam a capacidade de degradar 'tiras' (tripla-hélice) de colágeno. Para isso, utilizaram um método para permitir a difusão do processo de degradação de colágeno longe do tecido de origem e, então, mensurar essa atividade. Fragmentos de tecidos foram cultivados em gel fibroso formado de colágenos, purificado e solubilizado. A atividade de degradação do colágeno foi identificada por: uma área de lise ao redor do tecido explantado, identificação da hidroxiprolina ou C-14 (carbono-14) contido no colágeno radioativo degradado. Os critérios utilizados no experimento de Gross para que se evidenciasse a atividade da colagenase foram: a lise do gel fibroso em pH neutro em ambas as temperaturas 27°C e/ou 37°C e a presença de hidroxiprolina passível de diálise e radioatividade no fluido flutuante (GROSS & LAPIERE, 1962). A colagenase atua clivando a molécula de colágeno sem interromper a sua estrutura helicoidal, produzindo, assim, duas partes: ¼ de molécula e ¾ de molécula (LAZARUS, 1968). Gross concluiu que: há incrível similaridade, se não igualdade, com a forma de

clivagem da colagenase da pele de humanos com a colagenase encontrada na cauda de girinos.

Bauer, Eisen e Jeffrey (1970) purificaram colagenase provenientes da pele de humanos e,através disso, fizeram testes de imunoeletroforese e imunodifusão, utilizando um anticorpo criado especificamente para a colagenase, chamado de *Anti-fast-moving human skin collagenase.* A demonstração da presença de colagenase in vivo na pele humana indica que a enzima, em concentrações determinadas, é de grande importância fisiológica no remodelamento do colágeno. Também são apresentadas evidências de que esses achados não são exclusivos da pele humana. John J. Jeffrey e Jerome Gross (1970) utilizaram a purificação e caracterização da colagenase no útero de ratos que foram sacrificados 12 horas pós-parto, tendo seu útero extraído em condições estéreis. Os resultados foram obtidos através de testes de viscosidade e/ou radioatividade do C-14 das fibras e colágeno. As conclusões desse estudo ajudaram a entender melhor como as enzimas se comportam. Conseguiu-se identificar uma relação linear entre a degradação de colágeno, a quantidade de enzima e o tempo de incubação.

As MMPs têm grande importância em muitos processos biológicos, como o remodelamento tecidual fisiológico e angiogênese, além de reparo de feridas e em doenças como ateroma, artrite, câncer e ulceração tecidual (VISSE & NAGASE, 2003). Nagase e Woessner (1999), concluíram que no organismo, as células do tecido conjuntivo – como, por exemplo: fibroblastos, osteoblastos e odontoblastos – sintetizam e secretam MMPs na matriz extracelular. Em pH neutro, essas enzimas são ativadas geralmente pela clivagem proteolítica do terminal NH2 por proteinases bacterianas ou até mesmo por outra MMP da mesma família. Este processo é fisiológico e acontece quando há necessidade de remodelamento tecidual. Porém, quando não regulado, pode auxiliar nos processos de doença.

Desde então as pesquisas e as descobertas envolvendo o comportamento de MMPs foram amplificadas e culminou na realização da Conferência Internacional de MMPs, na cidade de Destin, Flórida, em 1989.O encontro serviu de incentivo para a criação da *MMP Gordon Research Conference*, inaugurada em 1993, como um fórum internacional de colaboração para avançar as fronteiras de pesquisa (BRINCKERHOFF & MATRISIAN, 2002).

Birkedal-Hansen et al (1993) e Nagase e Woessner (1999), identificaram os genes de uma família de MMPs em diferentes tecidos humanos. A maioria das

metaloproteinases dessa família é de proteínas com multidomínios, que podem ser classificadas por diferentes parâmetros: a habilidade de clivar componentes de matriz, a dependência de um íon de zinco para ativação, a necessidade das enzimas serem ativadas pela clivagem de um pró-domínio, a conservação de uma determinada sequência de aminoácidos entre membros da mesma família e pela inibição de sua atividade por um Inibidor Endógeno de Metaloproteinases chamados TIMP's (BIRKEDAL-HANSEN et al, 1993; VISSE & NAGASE, 2003).

Visse e Nagase (2003) afirmaram que todas as metaloproteinases de matriz possuem um domínio estrutural comum. As moléculas *Small integrin binding ligands n-linked glycoproteins* (SIBLINGs) são capazes de formar complexos diferentes com diferentes MMP's em qualquer forma, latente ou ativa. Após fazer a junção da MMP com a SIBLING correspondente tem a função também de restaurar a atividade da MMP previamente inibida pela TIMP específica.

Fedarko et al (2004), classificaram as MMPs em seis grupos baseados em suas estruturas moleculares homólogas e suas especificidades pelos respectivos substratos. São eles: colagenases (MMP-1, MMP-8, MMP-13, e MMP-18), gelatinases (MMP-2 e MMP-9), estromelisinas (MMP-3, MMP-10, e MMP-11), MMPs transmembrana ou MT-MMPs (MMP-14, MMP-15,MMP-16, MMP-17, MMP-24, e MMP-25), matrilosinas (MMP-7 e MMP-26), e "outras" (MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-22, MMP-23, MMP-27, e MMP-28).

Chaussain-Miller *et al*. (2006), verificou, em estudos, que a expressão, secreção e ativação do precursor das MMPs têm que ser precisamente reguladas, para que não haja uma superexpressão, ocasionando destruição tecidual observadas em muitas situações patológicas como: câncer, artrite reumatoide, periodontites, úlceras e fibroses. Lopez-Otín (2002), descreveram que vários são os sinais que induzem a transcrição, dentre eles: citocinas, fatores de crescimento, estresse mecânico e mudanças na matriz extracelular, juntamente com mudanças nas interações de suas células, como, por exemplo, ocorre com o desenvolvimento ósseo. Uma resposta imune anormal envolvendo diferentes células como: macrófagos, neutrófilos polimorfonucleares, linfócitos T e B, células endoteliais, fibroblastos, queratinócitos, osteoblastos e osteoclastos, pode destruir o tecido perimplantar. Se ativadas, essas células podem sintetizar e liberar citocinas e mediadores lipídicos que mediam o processo inflamatório e osteolítico (ADELL et al, 1986; LEKHOLM et al, 1986; SEYMOUR, 1989). De todo modo, MMPs são susceptíveis a causar um

aumento dessa destruição proteolítica no tecido. Se elevados níveis desses mediadores estão presentes nos sítios periimplantares doentes, analisar tal fato pode proporcionar um monitoramento efetivo da doença periimplantar instalada.

Okada et. Al (1995), juntamente com Sela et al (2000) e Sternlicht e Werb (2001), afirmaram a necessidade da diferenciação e atividade de vários tipos de células no desenvolvimento e remodelação ativa da cartilagem e de matrizes ósseas, e, por sua vez, requer atividade de MMPs para a sua manutenção e reparação, incluindo reabsorção e formação óssea, inclusive na superfície de implantes dentários

Takei et al (2000), elucidou que até 16 tipos diferentes de MMP, podem estar relacionados com perdas de implantes de quadril, porém o mecanismo não foi esclarecido.

Santos et al (2004), através de *Polimerase Chain Reaction* – PCR de DNA coletados da mucosa oral, realizou um estudo que teve como objetivo investigar as relações entre os polimorfismos das MMP-9 e MMP-1. Seus estudos concluíram que o polimorfismo da MMP-1, pode estar associado a perda de implantes recém-instalados. Entretanto, nenhuma correlação pode ser feita com a MMP-9. Com esse estudo, pode-se incluir o PCR como medida de diagnóstico para a pesquisa desse tipo de polimorfismo em pacientes que sofreram sucessivas falhas com implantes osseointegrados. Um estudo feito por Gómez-Florit et al (2014), tratou culturas de *Staphylococcus epidermidis* e fibroblastos gengivais humanos primários (HGFs) com diferentes doses de crisina, diosmetina, galangina, quercitrina e taxifolina. O efeito destas moléculas foi avaliado na velocidade de crescimento de *S. epidermidis* e na viabilidade do HGF, expressão gênica, produção de colágeno, níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS), cicatrização de feridas e produção de metaloproteinase de matriz (MMP-1) e inibidor tecidual de MMP-1 (TIMP-1). Foi verificado que a quercitrina poderia contribuir para proteger e recuperar a integridade dos tecidos gengivais diminuindo as concentrações de MMP-1 e TIMP-1, mostrando assim um potencial uso para o tratamento da doença periodontal ou para funcionalizar os pilares dos implantes dentários e melhorar a sua integração dos tecidos moles.

Shubayev e colaboradores (2004), em pesquisa para compreender os mecanismos moleculares envolvidos na osseointegração *in vivo*, desenvolveram um modelo de osseointegração intramendular em fêmur de rato e observaram alterações dinâmicas na atividade imunoneural da *protein gene product* (PGP 9.5) e *calcitonin gene-related peptide-positive* (CGRP-*positive*) nas fibras de nervos sensórios na

interface titânio-osso. Esse estudo reportou crescimento imunorreativo da MMP-2, MMP-7, MMP-9, TNF-alfa e TIMP-3, induzido pela presença de titânio puro na cavidade medular de fêmures de rato. Como conclusão, eles levantaram a hipótese que MMPs estão envolvidas na maturação da Matriz Extracelular e no processo de remodelamento ósseo que promove a integração da interface do titânio puro com o osso neoformado, assim demonstrado na Tabela 1. Ainda, em concordância com o que foi dito, as moléculas dependentes de MMP podem ser potenciais candidatas para o revestimento e outras modificações bioquímicas na superfície de implantes.

Tabela 1. Função proposta de moléculas relacionadas a MMP na osseointegração

Marcador	**Função proposta**
MMP-2	Solubilização do osteóide
MMP-7	Solubilização do osteóide Manter o conteúdo da matriz proteoglicana Função do condrócito na superfície de crescimento
MMP-9	Função e migração osteoclástica Angiogênesis Apoptose dos condrócitos hipertóficos
TNF-*a*	Transdução sensorial (osseoperceptiva) via macanosensores dos osteócitos
TIMP-3	Manutenção da espessura da matriz na interface titânio-osso Angiogênese da superfície de crescimento via regulação de MMP-9

Fonte: Shubayev, Brånemark, Steinauer & Myers (Nov/Dez 2004).

O exame para identificação de MMPs e seus polimórficos é a Reação em cadeia da polimerase (*Polimerase Chain Reaction – PCR)* que é um método qualitativo de amplificação, ou seja, criação de múltiplas cópias de DNA sem uso de um organismo vivo. Essa técnica é amplamente utilizada para o sequenciamento de genes, diagnóstico de doenças hereditárias, identificação de impressão digital genética - como testes de paternidade e medicina forense - diagnóstico de doenças

infecciosas e criação de organismo transgênicos. É considerado um método muito sensível e preciso, sendo considerado padrão-ouro para os casos descritos acima. Em relação ao procedimento, primeiramente extrai-se o material genético (DNA) da amostra biológica sem danificá-lo por técnicas de purificação. Depois, é adicionado a este um pré-mix contendo dNTPs (desoxirribonucleotídeos trifosfatos), os *primers* (iniciadores) e a enzimas Tag-polimerase em uma solução tampão. O material é colocado num termociclador, que faz ciclos de temperatura pré-estabelecidos com tempos exatos específicos para cada reação (fragmento a ser amplificado). Na primeira etapa do ciclo, a temperatura é elevada a 94 – 96°C para que haja a separação da dupla cadeia de DNA (desnaturação e quebra das pontes de hidrogênio). Na segunda etapa, a temperatura é reduzida para 50 a 60°C (dependendo da quantidade de citosina e graninha encontrada no primer) para que os primers se anelem com a fita molde de DNA (anelamento). Na última etapa, a temperatura é elevada a 72°C, ativando a enzima para a síntese da nova molécula (extensão). Na sequência, um novo ciclo é iniciado. Normalmente, são realizados de 25 a 40 ciclos com taxa de replicação exponencial 2x. Ao fim, o material passa por eletroforese – gradiente de separação – com um padrão, gerando um gel de agarose com a impressão da molécula que é analisado por especialistas (SAIKI et al, 1988; RAPLEY, 1996).

Leite, Santos e Souza (2008), realizaram um estudo avaliando polimorfismo da MMP-1 em pacientes não fumantes. A amostra consistia em dois grupos: Um grupo teste que apresentou falha de implantes, e um grupo controle, que possuía implantes saudáveis. O polimórfico G-1607GG teve frequência de 62% no grupo controle e de 34% no grupo teste. O alelo G foi encontrado numa frequência de 75% no grupo controle e 61,66% no grupo teste. Não foram observadas diferenças significativas nos genótipos e nas frequências alélicas no polimorfismo A-519G entre os grupos. O estudo concluiu que a MMP-1 pode possuir um tipo de polimorfismo que está associado a perda de implantes, o G-1607GG, e outro que não contribui para o processo, o A-519G.

Em 2011, uma pesquisa conduzida por Costa-Junior et al (2013), utilizando técnica de PCR de DNA coletados da mucosa oral, estudou o polimórfico C-799T da MMP-8 em 100 pacientes com um ou mais implantes saudáveis e 80 pacientes que tiveram uma ou mais falhas de implantes dentários. Através da análise estatística, demonstrou-se que o alelo T estava presente em 76,25% do grupo teste e o genótipo

T/T presente em 63,75% no mesmo grupo. Esta análise sugere que o polimórfico C-799T pode estar a associado à perda precoce de implantes dentários em pacientes não fumantes. Além disso, em um estudo realizado por René Thierback *et al* (2016), analisando o fluido intrasulcular periimplantar, detectaram um elevado nível de MMP-8 em pacientes que possuíam periimplantite, inflamação ao redor de um implante instalado. Entretanto, não foi identificado nível relevante de MMP-8 em pacientes que possuíam, ou não, doença periodontal.

Canullo et al, avaliaram, em uma análise bioquímica, o nível de MMP-8, um importante marcador inflamatório, nos sulcos periimplantares e nos dentes adjacentes a esses implantes, em que o intermediário protético se baseia no conceito de plataforma *switching*. Plataforma *switching* é um conceito protético, fugindo dos protocolos gerais, de colocar um componente intermediário horizontalmente menor que a plataforma do implante, no intuito de melhor distribuir a carga ao longo do eixo axial do implante (2009a; 2009b). Implantes reabilitados desta forma, de fato possuem o desempenho biomecânico melhorado, diminuindo a perda óssea marginal, fato comprovado histologicamente (BECKER et al., 2007; CAPPIELLO, et al., 2008; DEGIDI et al. 2008; WENG et al., 2008) e clinicamente (LUONGO et al., 2008; PROSPER et al., 2009; VIGOLO & GIVANI, 2009; CANULLO et al., 2009a; CANULLO et al., 2009b). Segundo esse estudo, não houve relevância estatística significativa desse marcador nesse tipo de abordagem protética, sugerindo que essa modalidade pode contribuir para a longevidade das reabilitações.

FARINA et al. (2012) descreveram que o alendronato é capaz de promover a inibição direta e irreversível de várias formas da MMP-9 em uso terapêutico. A MMP-9 é responsável por degradar matriz colágena, permitindo a quimiotaxia das células na MEC. Na osseointegração, esta enzima degrada colágeno da MEC, permitindo que as células ósseas, como osteoblastos e osteoclastos, migrem para a superfície do implante dentário, permitindo assim a cicatrização tecidual e neoformação óssea (VU & WERB, 2000).

2 METODOLOGIA

O estudo foi realizado através de uma pesquisa bibliográfica, considerando a relevância do tema, buscando conhecer e entender sob o olhar de alguns autores a influência de metaloproteinases de matriz (MMP´s) na osseintegração de implantes dentários, utilizando diversos artigos entre a década de 90 e atualidade na base de dados PUBMED com as palavras chaves: osseointegração; metaloproteinases da matriz; implante dental endo-ósseo; implantes dentários, e, assim atender aos objetivos propostos.

A revisão bibliográfica, segundo Fogliatto (2007), é aquela que reúne ideias oriundas de diferentes fontes, visando construir uma nova teoria ou uma nova forma de apresentação para um assunto já conhecido. Para o desenvolvimento da pesquisa e melhor compreensão do tema, este trabalho foi elaborado a partir dos registros, análise e organização dos dados bibliográficos, instrumentos que permitem uma maior compreensão e interpretação crítica das fontes obtidas.

Para a organização do material, foram realizadas as etapas e procedimentos do Trabalho de Conclusão de Curso, onde se buscou a identificação preliminar bibliográfica, fichamento de resumo, análise e interpretação do material, bibliografia, revisão e relatório final.

2.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo de revisão integrativa da literatura. Este tipo de estudo corresponde a um método de pesquisa que viabiliza a análise de pesquisas científicas de modo sistemático e amplo, favorecendo a caracterização do conhecimento adquirido na odontologia.

Segundo Broome (2000), a revisão integrativa corresponde a uma técnica de pesquisa onde estudos desenvolvidos e concluídos por pesquisadores especializados são reunidos e sintetizados. Nessa revisão são analisados os achados de estudos, primando-se pelo rigor e sistemática, examinando os métodos e estratégias empregados, apreciando as fontes e sintetizando os resultados.

3 DISCUSSÃO

As MMPs têm papel fundamental em vários processos biológicos (VISSE & NAGASE, 2003), dentre eles os processos de remodelamento ósseo fisiológico inclusive na superfície de implantes dentários (OKADA et al., 1995; SELA et al., 2000; STERNLICHT & WERB, 2001).

Vista esta importância, convém estudar como essas MMPs atuam em tais processos. O método para realizar a identificação dessas dessas MMPs são o PCR (SANTOS et al., 2004) e a imunohistoquímica. O PCR, junto com a zimografia, é um método eficaz, porém pode ser de alto custo, necessita de uma etapa laboratorial e um profissional capacitado para a interpretação dos resultados. Análises de imunohistoquímica necessitam de sacrificar o espécime e/ou uma biópsia invasiva, pode ter o custo elevado para a obtenção do anticorpo e etapas laboratoriais, juntamente com um profissional competente, mas também é eficaz para a identificação e localização das MMPs.

As MMP's até agora mais relacionadas com a implantodontia são: MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-8 e MMP-9 (SANTOS et al., 2004; GÓMEZ-FLORIT, MONJO & RAMIS, 2014; SHUBAYEV et al., 2004), Decerto, em nossa fisiologia, estas MMPs estão em atividade constante, porém sendo reguladas por seus inibidores endógenos (VISSE & NAGASE, 2003; BIRKEDAL-HANSEN, 1993). Uma superexpressão dessas enzimas tem como resultado várias doenças como ateroma, artrite, câncer e ulceração tecidual.

Segundo Shubayev e colaboradores (2004) a função da MMP2 está concentrada na degradação do osteóide, durante a osseointegração. Já a MMP7, responsável pela Solubilização do osteóide, por manter o conteúdo da matriz proteoglicana e pela função do condrócito na superfície de crescimento.

Leite, Santos e Souza (2008), concluíram que existe um tipo polimórfico de MMP1 que está relacionado com a perda de implantes em pacientes não fumantes.

Pacientes que possuíram sucessivas falhas em implantes podem ter algum tipo de desregulação nessas enzimas, como por exemplo, a presença

de polimórficos das mesmas (SANTOS et al., 2004). Uma investigação em nível genômico pode detectar a presença deles.

Conhecer a fundo o mecanismo pelo qual essas enzimas atuam, pode ajudar ao desenvolvimento de novas superfícies que contenham moléculas reguladoras dessas enzimas no contato implante/osso para aprimorar a osseointegração e manutenção da remodelação óssea na região, aumentando a longevidade das reabilitações.

4 CONCLUSÃO

As MMPs de fato atuam regulando a cicatrização e remodelação do osso periimplantar. Algumas já tem seu mecanismo de ação e a sua atuação esclarecida, outras ainda não. De certo precisa-se de mais estudos para continuar investigando essas moléculas nos processos patológicos e fisiológicos no osso.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELL R, LEKHOLM U, ROCKLER B, BRANEMARK P, LINDHE J, ERIKSSON B, SBORDONE L. **Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures (I)**:A 3-year longitudinal prospective study. The International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery, vol. 1, n. 6, p. 39–52, fev 1986.

ADELL R, LEKHOLM U, ROCKLER B, BRÅNEMARK P. **A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw**. International Journal of Oral Surgery, vol. 10, n. 6, p. 387-416, dez 1981

ALBREKTSSON T, BRÅNEMARK P, HANSSON H, LINDSTROM J. **Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man**. Acta Orthopaedica Scandinavica, vol 52, n. 2, p.155-70, 1981.

BAUER, E. A,; EISEN, A. Z.; JEFFREY, J. J. **Immunologic relationship of a purified human skin collagenase to other human and animal collagenases**. Biochimica et Biophysica Acta, vol. 206, n. 1, p. 152-160, 1970.

BECKER J, FERRARI D, HERTEN M, KIRSCH A, SCHAER A, SCHWARZ F. **Influence of platform switching on crestal bone changes at non-submerged titanium implants**: a histomorphometrical study in dogs. Journal of Clinical Periodontology, vol. 34, n.12, p. 1089-96, dez 2007.

BIRKEDAL-HANSEN, H. et al. **Matrix metalloproteinases**: a review. Critical Reviews in Oral Biology and Medicine, vol. 4, n. 2, p. 197-250, 1993.

BJURSTEN L-M. **The bone-implant interface in osseointegration**. In: RYDEVIK B, BRÅNEMARK P-I, SKALAK R, (ed.). International Workshop on Osseointegration in Skeletal Reconstruction and Joint Replacement. The Institute for Applied Biotechnology. Göteborg, Suécia, p. 25–31, 1991.

BRINCKERHOFF, C. E.; MATRISIAN, L. M. **Matrix Metalloproteinases**: a tail of a frog that became a prince. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 3, p. 207-214, mar. 2002.

CANULLO, L., IURLARO, G. IANNELLO, G. **Double-blind randomized controlled trial study on post-extraction immediately restored implants using the switching platform concept: soft tissue response**. Preliminary report. Clinical Oral Implants Research, vol. 20, n. 4, p. 414–426, abr 2009.

CANULLO, L. GOGLIA, G., IURLARO, G. IANNELLO, G. **Short-term bone level observations associated with platform switching in immediately placed and restored single maxillary implants**: a preliminary report. International Journal of Prosthodontics, vol. 22, n. 3, p. 277–282, mai/jun 2009.

CAPPIELLO, M. LUONGO, R. DI IORIO, D. BUGEA, C. COCCHETTO, R. CELLETTI, R. **Evaluation of peri-implant bone loss around platform-switched implants**. International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry, vol. 28, n. 4, p. 347–355, ago 2008.

CHAUSSAIN-MILLER, C. et al. **The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries**. Journal of Dental Research, vol. 85, n. 1, p. 22–32, jan 2006.

COSTA-JUNIOR, FR. ALVIM-PEREIRA, CC. ALVIM-PEREIRA, F. TREVILATTO, PC. DE SOUZA, AP. SANTOS Maria Cristna L.G. **Influence of MMP-8 promoter polymorphism in early osseointegrated implant failure**. Clinical Oral Investigations, vol 17, n. 1, p. 311–316, jan 2013.

DAVIES, J. E.. **Mechanisms of Endosseous Integration**. International Journal of Prosthodontics, vol. 11, n. 5, p. 391-401, 1998.

DEGIDI, M. IEZZI, G. SCARANO, A. PIATTELLI, A. **Immediately loaded titanium implant with a tissuestabilizing/maintaining design ('beyond platform switch') retrieved from man after 4 weeks**: a histological and histomorphometrical evaluation. A case report. Clinical Oral Implants Research, vol. 19, n. 3, p. 276–282, mar 2008.

FARINA, A.R. CAPPABIANCA, L. DI IANNI, N. RUGGERI, P. RAGONE, M. MEROLLA, S. GULINO, A. MACKAY, A.R. **Alendronate promotes plasmin-mediated MMP-9 inactivation by exposing cryptic plasmin degradation sites within the MMP-9 catalytic domain**. FEBS Letters, vol. 586, n. 16, p. 2366–2374, jun 2012.

FEDARKO, N. S. et al. **Three small integrinbinding ligand N-linked glycoproteins (SIBLINGs) bind and activatespecific matrix metalloproteinases**. The FASEB Journal, v. 18, p. 734-736, abr 2004.

FEVERANI, L.P. et al. **Implantes osseointegrados**: evolução e sucesso. Salusvita, Bauru, v.30, n.1, p.47-58, 2011.

GÓMEZ-FLORIT, M. MONJO, M. RAMIS, JM. **Identification of quercitrin as a potential therapeutic agent for periodontal applications**. Journal of Periodontology, vol. 85, ed. 7, p. 966-74, jul 2014.

GROSS, J. LAPIERE C. M. **Collagenolytic activity in amphibian tissues**: a tissue culture assay. Proceedings of the National Academy of Sciences, vol. 48, p. 1014-1022, 1962.

JEFFREY, J. J.; GROSS, J. **Collagenase from rat uterus**: Isolation and partial characterization. Biochemistry, v. 9, n. 2, p. 268-273, jan 1970.

KARAZISIS, D. BALLO, A. M. PETRONIS, S. AGHELI, H, EMANUELSSON, L. THOMSEN, P. OMAR, O.. **The role of well-defined nanotopography of titanium implants on osseointegration**: cellular and molecular events in vivo. International Journal of Nanomedicine, vol. 11, p. 1367-82, 2016.

KLINGER, M. M. RAHEMTULLA, F. PRINCE, C. W. LUCAS, LC. LEMONS, J. E. **Proteoglycans at thebone-implant interface**. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, vol 9, n. 4, p. 449-63, 1998.

LAZARUS, G. S. et al. **Degradation of Collagen by a Human Granulocyte Collagenolytic System**. The Journal of Clinical Investigation, v. 47, n. 12, p. 2622-2629, 1968.

LAZZARA, R. J. & PORTER, S.S. **Platform switching**: a new concept in implant dentistry for controlling postrestorative crestal bone levels. International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry, vol. 26, n. 1, p. 9–17, mar 2006.

LE GUEHENNEC, L. SOUEIDAN, A. LAYROLLE, P. AMOURIQ, Y. **Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration**. Dental Materials, vol. 23, n. 7, p. 844-854, 2007.

LEITE, M. F. SANTOS, M. C. DE SOUZA, A. P. LINE, S. R. **Osseointegrated implant failure associated with MMP-1 promotor polymorphisms (-1607 and -519)**. International Journal of Oral & Maxillofacial Implants, vol. 23, n. 4, p. 653-8, jul/ago 2008.

LEKHOLM, U. ADELL, R. LINDHE, J. BRÅNEMARK, P. I. ERIKSSON, B. ROCKLER, B. LINDVALL, A. M. YONEYAMA, T. **Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures (II)**. A cross-sectional retrospective study International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, vol. 15, n. 1, p. 53-61, fev 1986.

LINDER, L. ALBREKTSSON, T. BRÅNEMARK, P. I. HANSSON, H. A. IVARSSON, B. JÖNSSON, U. LUNDSTRÖM, I. **Electron microscopic analysis of the bone-titanium interface**. Acta Orthopaedica Scandinavica. vol. 54, n. 1, p. 45-52, 1983.

LOPEZ-OTÍN, C. **Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era**. Nature Reviews Cancer, v. 2, p. 657-672, set 2002.

LUONGO, R. TRAINI, T. GUIDONE, P.C. BIANCO, G. COCCHETTO, R. CELLETTI, R. **Hard and soft tissue responses to the platform-switching technique**. International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry, vol. 28, p. 551–557, 2008.

MCCLARENCE, E. **Close to the Edge**: Brånemark and the Development of Osseointegration. Cap 1. Quintessence Books, Berlim, Alemanha, 2003

MCKEE, M. D. & NANCI, A. **Ultrastructural, cytochemical, and immunocytochemical studieson bone and its interfaces**. Cells and Materials, vol. 3, n. 3, p. 219-43, 1993.

NAGASE H. & WOESSNER, J. F. Jr. **Matrix metalloproteinases**. The Journal of Biological Chemistry, v. 274, p. 21491-21494, jul 1999.

OKADA, Y. NAKA, K. KAWAMURA, K. MATSUMOTO, T. NAKANISHI, I. FUJIMOTO, N. SATO, H. SEIKI, M. **Localization of matrix metalloproteinase-9 (92-kilodalton**

gelatinase/type IV collagenase = gelatinase B) in osteoclasts: implications for bone resorption. Laboratory Investigation, vol. 72, n. 3, p. 311-22, 1995.

PROSPER, L. REDAELLI, S. PASI, M. ZARONE, F. RADAELLI, G. & GHERLONE, E. F. **A randomized prospective multicenter trial evaluating the platform-switching technique for the prevention of postrestorative crestal bone loss**. The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants, vol. 24, p. 299–308, 2009.

RAPLEY, Ralph. **PCR Sequencing Protocols**, Humana Press, 1996.

THIERBACH, René. MAIER, Kurt. SORSA, Timo; MÄNTYLÄ, Päivi. **Peri-Implant Sulcus Fluid (PISF) Matrix Metalloproteinase (MMP) -8 Levels in Peri-Implantitis**. Journal of Clinical and Diagnostic Research. vol. 10, n. 5, p. 34-38. mai. 2016.

SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOFFEL, S.; SCHARF S. J.; HIGUCHI, R.; HORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. **Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase**. Science. vol. 239, p. 487-491. jan. 1988.

SANTOS, M. C.; CAMPOS, M. I.; SOUZA, A. P.; TREVILATTO, P. C.; LINE, S. R. **Analysis of MMP-1 and MMP-9 promoter polymorphisms in early osseointegrated implant failure**. The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. vol. 19, n. 1, p. 38-43. jan./fev. 2004.

SELA, J.; GROSS, U. M.; KOHAVI, D.; SHANI, J.; DEAN, D. D.; BOYAN, B. D.; SCHWARTZ, Z. **Primary mineralization at the surfaces of implants**. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine. vol. 11, n. 4, p. 423-36. 2000.

SEYMOUR, G. J.; GEMMELL, E. LENZ, L. J.; HENRY, P.; BOWER, R.; YAMAZAKI, K. **Immunohistologic analysis of the inflammatory infiltrates associated with osseointegrated implants**. The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. vol. 4, n. 3, p. 191–198. 1989.

SHUBAYEV, V. I.; BRÅNEMARK, R.; STEINAUER, J.; MYERS, R. R. **Titanium implants induce expression of matrix metalloproteinases in bone during osseointegration**. Journal of Rehabilitation Research & Development. vol. 41, n. 6A, p. 757-66. nov./dez. 2004.

SOUTHAM, J. C.; SELWYN, R. **Structural changes around screws used in the treatment of fractured human mandibles**. British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. vol. 8, p. 211-21. 1971.

STERNLICHT, M. D.; WERB, Z. **How matrix metalloproteinases regulate cell behavior**. Annual Review of Cell and Developmental Biology. vol. 17, p.463-516. 2001.

SUNDGREN, J. E.; BODÖ, P.; LUNDSTRÖM, I. **Auger electronspectroscopic studies of the interface between human tissue and implants of titanium and stainless steel**. Journal of Colloid and Interface Science. vol. 110, p. 9-20. 1986.

TAKEI, I.; TAKAGI, M.; SANTAVIRTA, S. et al. **Messenger ribonucleic acid expression of 16 matrix metalloproteinases in bone-implant interface tissues of loose artificial hip joints**. Journal of Biomedical Materials Research. vol. 52, p. 613-620. 2000.

TRISI, P.; LAZZARA R.; REBAUDI, A..et al. **Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla**. Journal of Periodontology. vol. 74, p. 945-56. 2003.

VIGOLO, P. & GIVANI, A. **Platform-switched restorations on wide-diameter implants**: a 5- year clinical prospective study. The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. vol. 24, p. 103-109. 2009.

VISSE, R; NAGASE, H. **Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases**: structure, function, and biochemistry. Circulation Research, v. 92, n. 8, p. 827–839, 2003

VU, T. H.; WERB, Z. **Matrix metalloproteinases**: effectors of development and normal physiology. Genes & Development. vol. 14, p. 2123-33. 2000.

WENG, D.; NAGATA, M. J.; BELL, M.; BOSCO, A. F.; DE MELO, L. G.; RICHTER, E. J. **Influence of microgap location and configuration on the periimplant bone morphology in submerged implants**. An experimental study in dogs. Clinical Oral Implants Research. vol. 11, p. 1141–114. 2008.