

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

HIPERSENSIBILIDADE AO NÍQUEL PRESENTE NO
APARELHO ORTODÔNTICO FIXO METÁLICO.
AVALIAÇÃO CLÍNICA, PERIODONTAL, HISTOPATOLÓGICA
E IMUNOISTOQUÍMICA

Valéria Cristina Xavier de Paiva

BELO HORIZONTE
2005

Valéria Cristina Xavier de Paiva

**HIPERSENSIBILIDADE AO NÍQUEL PRESENTE NO
APARELHO ORTODÔNTICO FIXO METÁLICO.
AVALIAÇÃO CLÍNICA, PERIODONTAL,
HISTOPATOLÓGICA E IMUNOISTOQUÍMICA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em
Ortodontia da Pontifícia Universidade Católica de
Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do
título de Mestre em Odontologia

Área de concentração: Ortodontia

Orientador: Prof. Dr. Elton Gonçalves Zenóbio

Co-Orientadora: Profa. Dra. Helenice de Andrade
Marigo Grandnetti

Belo Horizonte

2005

Valéria Cristina Xavier de Paiva

**HIPERSENSIBILIDADE AO NÍQUEL PRESENTE NO
APARELHO ORTODÔNTICO FIXO METÁLICO.
AVALIAÇÃO CLÍNICA, PERIODONTAL, HISTOPATOLÓGICA
E IMUNOISTOQUÍMICA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ortodontia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestrado em Odontologia. Área de concentração: Ortodontia

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me iluminado e guiado durante esses 30 meses.

Ao meu pai pelo exemplo de perseverança e luta em busca dos ideais.

À minha mãe pelo amor e apoio incondicional.

Ao meu orientador Dr. Elton Gonçalves de Zenóbio pela orientação desse trabalho, pela disponibilidade, acessibilidade e profissionalismo.

A minha co-orientadora Helenice de Andrade Marigo pela orientação e profissionalismo.

Ao professor Martinho Campolina Rebello Horta pela demonstração de seriedade e ajuda, que muito contribuiu para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao Gleisson, Pedro e Reni cuja ajuda foi essencial para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao professor Rodrigo Vilamarim, pelas idéias e ajuda.

Aos professores: Dr. Armando, Dra Flávia, Dr. Hélio, Dr. Heloísio, Dr. Henrique, Dr. Flávio, Dr. Wellington, Dr. Bernardo, Dr. Júlio, Dr. José Maurício, Dr. José Eymard, Dr. Ênio, Dr. Marcos, Dr. Ildeu e Dr. Dauro, que muito contribuíram para a minha formação profissional.

Aos colegas de turma: Cássio, Jordana, Livia, Milena e Ludimila pelo convívio e amizade durante esses 30 meses.

Aos meus amigos por compreenderem a minha ausência durante esse período.

RESUMO

O presente estudo avaliou a hipersensibilidade ao metal níquel nos pacientes em tratamento ortodôntico da Clínica de Ortodontia da Pontifícia Universidade Católica de Minas. Para este fim, foram selecionados 22 pacientes em tratamento ortodôntico, utilizando aparatologia fixa com bráquetes da marca Morelli. Os pacientes foram avaliados em duas etapas: Na primeira etapa foram realizados exames clínicos e periodontais (índice de placa, índice de sangramento gengival, profundidade de sondagem, quantidade de aumento gengival presente), teste de sensibilidade cutânea com sulfato de níquel a 5% (*Patch test*), além do controle mecânico e químico da placa bacteriana. Na segunda etapa realizada 30 dias após a primeira, repetiu-se os exames clínicos e periodontais para a seleção dos pacientes que após o controle de placa ainda persistiram com aumento gengival maior do que 1/3 da coroa clínica. Nesta fase, foram selecionados 12 pacientes, dos quais sete eram positivos ao *Patch test* e ainda persistiram com aumento gengival e cinco negativos ao *Patch test* com aumento gengival também persistente; estes foram submetidos a cirurgia de gengivectomia para redução do aumento gengival. O tecido removido foi enviado para exame histopatológico e imunoistoquímico. Com os resultados obtidos pode-se observar que os exames clínicos e periodontais não são eficientes para o diagnóstico de alergia ao níquel e que não houve uma associação significativa entre resposta ao *Patch test* e controle do biofilme dentário, bem como resposta ao *Patch test* e aumento gengival ($p>0,05$). Além disso, o teste de sensibilidade cutânea é passível de gerar resultado falso positivo. No que diz respeito ao teste de imunoistoquímica foi observado uma diminuição do índice de imunomarcagem para CD8+ no tecido conjuntivo de pacientes *Patch test* positivos e *Patch test* negativos quando comparados ao grupo controle. Pode-se concluir que novos estudos são necessários, sendo o exame de imunoistoquímica uma alternativa para estabelecimento da condição do aumento gengival ao processo alérgico a metais.

Palavras-chave: hipersensibilidade ao níquel; alergia; aparelho ortodôntico; *Patch test*; testes de sensibilidade a metais.

ABSTRACT

This paper evaluated the hypersensitivity to nickel on the patients in treatment at the orthodontic clinic of Pontifícia Universidade Católica of Minas Gerais. For this purpose were selected 22 patients in orthodontic treatment, that were using conventional brackets from Morelli brand. The patients were evaluated in two stages: on the first one, were done clinical and periodontal exams (plaque index, gingival bleeding index, probing depths, gingival overgrowth), patch test with the nickel sulfate 5%, besides mechanical and chemical control of the dental plaque. The second stage was done 30 days after the first one, when the clinical and periodontal exam were repeated for the selection of the patients that after the dental plaque control continued with gingival overgrowth more than 1/3 of the crown. On this stage were selected 12 patients, seven of them were patch test positive and the other five were patch test negative, both with gingival overgrowth more than 1/3 of the crown. This patients were submitted to gingival surgery for the reduction of the gingival overgrowth. The tissue removed during the surgery was sent to histological and immunohistochemistry exams. As result this study indicated that clinical and periodontal exams are not efficient for the diagnose of allergic contact stomatitis to nickel, it did not have association between patch test response and dental plaque control, as well as patch test and gingival overgrowth ($p>0,05$). Besides that, patch test can give a false-positive results. On the immunohistochemistry exame was observed a reduction of the immune index for CD8+ in the connective tissue of the oral mucosa from patch test positive and patch test negative patients when compared with the control group. It can be concluded that more investigations are needed, and the immunohistochemistry is a great alternative for future studies to establish the condition of the gingival overgrowth to allergic reaction to metals.

Keywords: hypersensitivity to nickel; allergy; orthodontic device; Patch test; metals sensitivity tests

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1- Aumento gengival até 1/3 da superfície vestibular	41
FIGURA 2- Aumento gengival até 2/3 da superfície vestibular	41
FIGURA 3- Aumento gengival de + 2/3 da superfície vestibular	42
FIGURA 4- Índice de placa.....	43
FIGURA 5- Reação positiva ao <i>Patch test</i>	46
FIGURA 6- Aumento gengival cobrindo + 2/3 coroa dentária (pré -cirurgia)	49
FIGURA 7- Paciente um mês após procedimento cirúrgico	49
GRÁFICO 1 Coeficiente de variação/ número de campos.....	56
GRÁFICO 2 Caracterização da amostra segundo a idade.....	58
GRÁFICO 3 Caracterização dos pacientes segundo o gênero	59
GRÁFICO 4 Caracterização da amostra segundo aumento gengival na 1ª etapa	63
GRÁFICO 5 Caracterização da amostra segundo índice de placa	65
GRÁFICO 6 Caracterização da amostra segundo sangramento gengival	67
GRÁFICO 7 Caracterização da amostra segundo <i>Patch Test</i>	69
GRÁFICO 8 Valores do índice de imunomarcção para células CD8.....	81

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Escala para registro de leituras (ICDRG)	46
TABELA 2 - Associação entre o 1º e 2º Índice de placa	70
TABELA 3 - Evolução do índice de placa.....	71
TABELA 4 - Associação entre aumento gengival 1º e 2º exames.....	72
TABELA 5 - Evolução aumento gengival entre 1º e 2º exames	72
TABELA 6 - Associação entre <i>Patch test</i> e Índice de placa	74
TABELA 7 - Associação entre <i>Patch test</i> e Índice de sangramento gengival	75
TABELA 8 - Associação entre <i>Patch test</i> e aumento gengival	76
TABELA 9 - Estatística descritiva para imunoistoquímica.....	81

LISTA DE ABREVIATURAS

CL	- Células de Langerhans
HE	- Hematoxilina e Eosina
ICDRG	- International Contact Dermatologic Research Group
IFN- γ	- Fator de Necrose Tumoral
IgA	- Imunoglobulina A
IgE	- Imunoglobulina E
IgG	- Imunoglobulina G
IgM	- Imunoglobulina M
IL-2	- Interleucina 2
IL-5	- Interleucina 5
IL-10	- Interleucina 10
I.P.	- índice de placa
I.S.G.	- índice de Sangramento Gengival
LB	- Linfócito
LT	- Linfócito T
NiTi	- Fio de Níquel Titânio
PA	- Pró-Análise
PBMC	- Ensaio de Proliferação de Células Mononucleares do Sangue Periférico
PH	- Potencial Hidrogeniônico
PHA	- Fitohemaglutinina
TCD1	- Proteína presente na superfície das células de Langerhans
TCD3	- Moléculas ou receptor presente na superfície das células de linfócitos T, participam da transdução de sinais para o interior dessas células.
TCD4	- Linfócito Auxiliar
TCD8	- Linfócito Citotóxico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
 2. REVISÃO DA LITERATURA	
2.1. Reação de hipersensibilidade ao níquel.....	15
2.2. Teste de proliferação celular e de imunoistoquímica	21
2.3. Componentes ortodônticos e seu comportamento no meio bucal	24
2.4. Considerações sobre a concentração dos metais na saliva.....	27
2.5. Parâmetros clínicos e laboratoriais indicadores de alteração gengival	30
 3. OBJETIVOS.....	
3.1. Objetivo Geral	34
3.2. Objetivos específicos.....	34
 4. METODOLOGIA	
4.1.Amostra.....	36
4.1.1. <i>Padronização da amostra</i>	36
4.1.1.1. <u>Critérios de inclusão</u>	36
4.1.1.2. <u>Critérios de exclusão</u>	37
4.2.Consentimento para pesquisa	38
4.3.Comitê de Ética em Pesquisa	38
4.4.Método de avaliação	38
4.4.1. <i>Questionário histórico de alergia ao níquel, exames clínico e periodontal</i>	40
4.4.1.1. <u>Exames periodontais realizados</u>	40

4.4.2. <i>Controle de placa e instrução de higiene oral</i>	45
4.4.3. <i>Teste de sensibilidade cutânea (Patch test)</i>	45
4.4.3.1. <u>Crterios para a aplicao do Patch test</u>	47
4.4.4. <i>Reavaliao clnica e periodontal</i>	47
4.4.5. <i>Cirurgia de gengivectomia</i>	48
4.4.6. <i>Avaliao imunoistoqumica do tecido gengival aumentado</i>	49
4.4.6.1. <u>Tcnica histolgica para incluso em parafina e colorao em HE</u>	50
4.4.6.2. <u>Tcnica de Imunoistoqumica</u>	50
4.4.6.3. <u>Reao imunoistoqumica para marcaao de linfcitos T CD8 e TCD4</u> ...	51
4.4.6.4. <u>Anlise da imunomarcacao</u>	53
4.4.6.5. <u>Estabelecimento do nmero mnimo de campos a serem avaliados na anlise da imunomarcacao para CD8+ em cada regio da amostra</u>	54

5. ANLISE ESTATSTICA 57

6. RESULTADOS E DISCUSSO

6.1. Caracterizao da amostra quanto idade e gnero.....	58
6.2. Histrico de alergia ao nquel	60
6.3. Exame clnico e periodontal 1º etapa	61
6.3.1. <i>Resultados do teste de sensibilidade cutnea (Patch test)</i>	68
6.4. Exame clnico e periodontal na 2º etapa	70
6.5. Associao entre <i>Patch test</i> e variveis estudadas	73
6.5.1. <i>Associao entre Patch test e ndice de placa</i>	73
6.5.2 <i>Associao entre Patch test e ndice de sangramento gengival</i>	74
6.5.3. <i>Associao entre Patch test e aumento gengival</i>	75
6.6. Diviso dos pacientes em grupos e avaliao histopatolgica e de	

imunoistoquímica	77
6.6.1. <i>Cirurgia de gengivectomia e exame histopatológico</i>	79
6.6.2. <i>Exame de imunoistoquímica</i>	79
7. CONCLUSÕES	83
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	92
ANEXO B - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....	98
ANEXO C - FICHA CLÍNICA	99
ANEXO D - FICHA CLÍNICA PARA 2º EXAME	103

1. INTRODUÇÃO

O níquel é um metal amplamente utilizado na confecção da aparelhagem ortodôntica, com a intenção de aumentar a resistência do aço à corrosão e oxidação (PLATT *et al.*, 1997). Entretanto, as condições da cavidade bucal humana são tão peculiares, que nenhum metal utilizado na odontologia pode ser completamente resistente à corrosão. A influência da temperatura, da quantidade e qualidade da saliva, da quantidade de placa bacteriana, do pH, das propriedades físicas e químicas dos alimentos, das drogas, da condição de saúde geral e local, entre outros, determinam que todo o metal utilizado na odontologia pode ser passível de corrosão em maior ou menor escala (MAGNUSSON *et al.*, 1982). Além disso, deve-se considerar o tipo de liga utilizada, a quantidade de superfície exposta, a técnica de fabricação, procedimentos de polimento da liga e a presença de outras ligas metálicas em contato na cavidade bucal (MAGNUSSON *et al.*, 1982; PARK e SHEARER, 1983).

O aço inoxidável austenítico é o metal mais utilizado para a confecção de fios e acessórios ortodônticos (PLATT *et al.*, 1997; ELIADES, ELIADES e BRANTLEY, 2001). Esses aços são passíveis de corrosão e estão diretamente associados à ocorrência de hipersensibilidade. Marks e Deleo (1992) e Rycroft *et al.* (2001), relataram que a exposição ao níquel é uma das maiores causas de dermatite de contato, sendo este metal capaz de induzir a uma reação de hipersensibilidade do tipo IV, ou seja, tardia, mediada por células do mecanismo de hipersensibilidade.

Segundo Mariotti (1999), as manifestações bucais provocadas pelo níquel são: ulcerações, hiperplasia gengival, queilite labial descamativa e eritema multiforme. Todavia, estas reações não são específicas de uma manifestação

alérgica; elas podem ocorrer devido a outros agentes etiológicos; como por exemplo: alterações endócrinas e hormonais, uso de medicamentos, haptenos, doenças sistêmicas, e ainda segundo Van Der Velden *et al.* (1991), podem estar relacionadas a uma sobrecarga bacteriana proveniente de um controle inadequado do biofilme dentário. É importante ressaltar que, caso o biofilme seja removido e medidas eficazes de controle de placa sejam instituídas, os sinais clínicos indicadores de inflamação gengival como edema, mudança do contorno gengival, vermelhidão e sangramento são reversíveis, a menos que o tecido gengival apresente um aumento de fibras (LINDHE e RYLANDER, 1975).

Para que o tratamento das alterações gengivais seja eficaz, necessita-se de um diagnóstico preciso do fator causal. Em relação à alergia ao níquel, o diagnóstico é mais comumente baseado no relato da história pessoal e familiar de alergia ao contato com o metal, por meio da presença de sinais clínicos de alergia e resultados do teste de sensibilidade cutânea, o *Patch test* (BASS, FINE e CISNEROS, 1993; DAINESI, 1995; RYCROFT *et al.*, 2001).

Estima-se que a prevalência da reação de hipersensibilidade ao níquel apresenta uma incidência de 15% a 30% da população em geral (BASS, FINE e CISNEROS, 1993; DAINESI, 1995; RYCROFT *et al.*, 2001), sendo mais freqüente nas mulheres, cerca de 10%, enquanto, nos homens, está em torno de 1% a 2% (AL-TAWIL, MARCUSSON e MÖLLEK, 1981; JANSON *et al.*, 1994; KEROSUO *et al.*, 1996). O teste de sensibilidade cutâneo é comumente utilizado por dermatologistas para diagnóstico de alergia ao níquel, porém, este teste não é confiável para se elaborar um diagnóstico preciso, uma vez que reações cruzadas podem ocorrer, gerando resultados falso positivo ou falso negativo (BLANCO-DALMAU, CARRASQUILLO-ALBERTI e SILVA-PARRA, 1984; BASS, FINE e CISNEROS,

1993).

Um grande desafio, em relação ao diagnóstico de hipersensibilidade ao níquel, é o da descoberta e desenvolvimento de alternativas de avaliação que aumentem a especificidade e minimize os resultados falso-positivos. Neste contexto, torna-se necessário a busca por exames mais precisos.

Diante do desafio ainda presente na literatura em se estabelecer uma associação precisa entre os sinais clínicos e exames laboratoriais no que diz respeito à alergia aos metais presentes na aparatologia ortodôntica, este estudo, procurou comprovar a hipótese de hipersensibilidade ao níquel. Por meio de exames clínicos, periodontais, análises histopatológica e de imunoistoquímica; avaliou-se a presença de hipersensibilidade ao níquel presente no aparelho ortodôntico fixo metálico no grupo estudado.

REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Reação de hipersensibilidade ao níquel

As reações alérgicas da mucosa oral podem ser classificadas de duas maneiras: as do tipo I (imediate), a qual é mediada por IgE ou, mais comumente, as do tipo IV (tardia) mediada pelos linfócitos T (COTRAN, KUMAR e COLLINS, 2000). A resposta imune induzida pelo níquel é geralmente chamada de dermatite de contato, sendo considerada hipersensibilidade do tipo IV (RYCROFT *et al.* 2001).

A hipersensibilidade do tipo IV é desencadeada por células T CD4 e a citotoxicidade celular direta mediadas por células T CD8. O níquel induz o linfócito T a liberar várias citocinas, como IFN- γ , interleucinas IL-2, IL-5, IL-10, além de estimular a proliferação celular (FERNANDEZ-BOTRAN *et al.* 1988).

Morfologicamente, a hipersensibilidade do tipo tardia caracteriza-se pelo acúmulo de células mononucleares ao redor de pequenas veias e vênulas, produzindo um infiltrado de linfócitos; apresentando, assim, hipertrofia e, em alguns casos, hiperplasias endoteliais acentuadas. A coloração com imunoperoxidase revela um predomínio de células T CD4 auxiliares (COTRAN, KUMAR e COLLINS, 2000).

A reação do tipo IV apresenta duas fases distintas: a fase de sensibilização, que corresponde ao contato inicial com o metal até que o linfócito T reconheça e responda ao mesmo; e a fase de indução que se dá quando ocorre uma nova exposição à substância metálica, até a manifestação de estomatite de contato. O níquel é passível de estimular este tipo de resposta imune pela sua entrada através do tecido conjuntivo do hospedeiro, quando em contato direto com a pele ou mucosa

(GREPPI, SMITH e WOODSIDE, 1981; BLANCO-DALMAU, CARRAQUILLO-ALBERTI e SILVA-PARRA, 1984; MARKS e DELEO, 1992).

O níquel, por ter baixo peso atômico, funciona como um hapteno, ou seja, é incapaz de estimular resposta imune, caso não esteja associado a uma proteína. Apresenta-se atóxico para o homem, exceto quando ingerido em doses acima de 50mg/Kg (VREEBRURG *et al.*, 1984). O íon níquel, liberado por meio de processo corrosivo, pode se ligar a proteínas do meio bucal e agir como um antígeno capaz de provocar reações alérgicas (GRIMSDOTTIR, GJERDENT e HENSTEN-PETTERSEN, 1992).

A capacidade de sensibilização de uma substância é influenciada por quatro importantes fatores: o poder alergênico da substância, a concentração, a capacidade reacional do indivíduo alérgico e o tempo de exposição do alérgeno (CARVALHO, 1995).

A hipersensibilidade ao níquel apresenta-se mais freqüente nas mulheres, cerca de 10%, enquanto nos homens está em torno de 1% a 2% (PELTONEN, 1979; AL-TAWIL, MARCUCUSSON e MÖLLEK, 1981; JANSON *et al.*, 1994; KEROSUO *et al.*, 1996). Esta diferença pode ser justificada pelo maior contato das mulheres com o metal por meio do uso de bijuterias, principalmente brincos, os quais têm suas hastes normalmente confeccionadas com ligas de níquel, banhadas a ouro (BLANCO-DALMAU, CARRAQUILLO-ALBERTI e SILVA-PARRA, 1984; KEROSUO *et al.*, 1996; RYCROFT *et al.*, 2001). Segundo Moffa (1982), quanto maior o contato com o níquel, maior a propensão para o paciente desenvolver uma sensibilidade; por exemplo, uma mulher ao furar a orelha passa a ter seis vezes mais chances de ter sensibilidade ao níquel.

Para verificar a prevalência de pacientes alérgicos ao níquel antes do tratamento ortodôntico, determinar se a terapia ortodôntica poderia sensibilizar os pacientes e avaliar a resposta gengival de pacientes alérgicos ao níquel, após a montagem do aparelho ortodôntico; Bass, Fine e Cisneros (1993), realizaram um estudo em 29 pacientes, sendo 18 do gênero feminino e 11 do gênero masculino, sem tratamento ortodôntico prévio e sem história pregressa de alergia a níquel. Todos os pacientes foram submetidos ao *Patch test* com sulfato de níquel a 5%, passaram por avaliação do índice de placa e de sangramento gengival e, posteriormente, receberam o aparelho ortodôntico fixo. Os pacientes foram subdivididos em dois grupos, sendo um grupo positivo ao *Patch test*, e outro negativo ao *Patch test*. Os que apresentaram resposta positiva ao *Patch test* foram acompanhados mensalmente por meio dos índices de placa e sangramento gengival, para identificação de possíveis manifestações alérgicas. Adicionalmente, três meses após o início da terapia ortodôntica, os pacientes do grupo negativo se submeteram novamente ao *Patch test*. Os resultados mostraram que, dos 29 pacientes iniciais, cinco obtiveram resultado positivo ao *Patch test* (todos do gênero feminino), dos 23 pacientes negativos ao início da terapia ortodôntica, apenas dois apresentaram resultado positivo, após três meses de tratamento. Os autores advertem que cuidados devem ser tomados ao se tirar conclusões a respeito da sensibilização desse dois pacientes, uma vez que não houve um grupo controle constituído de pacientes não tratados com *Patch test* negativo e que foram submetidos a novo teste dermatológico. Todavia, eles concluíram que existe uma maior prevalência de alergia ao níquel para pacientes do gênero feminino, o tratamento ortodôntico pode levar a indução de sensibilidade ao níquel e que o

aparelho ortodôntico teve pouco ou nenhum efeito sob o tecido gengival ou saúde oral dos pacientes.

Em relação à idade, Prytowsky *et al.* (1979), encontraram que o intervalo de idade entre 10 e 20 anos corresponde ao período de maior prevalência de reações alérgicas ao níquel, em decorrência de ser este o período que comumente se colocam aparelhos ortodônticos. Entretanto, Marigo (1999) encontrou que quanto maior o tempo de exposição ao aparelho ortodôntico, menor a sensibilidade ao teste cutâneo, independente da idade em indivíduos do gênero feminino.

O diagnóstico de alergia ao níquel é usualmente baseado na história familiar de alergia ao níquel, sinais clínicos e resultados do *Patch test* com sulfatato de níquel em vaselina a 5% (MARCUSSEN, 1959; BASS, FINE e CISNEROS, 1993; LENZA *et al.*, 1997; MENEZES *et al.*, 1997). O diagnóstico de alergia de contato na cavidade oral é usualmente mais difícil do que na pele, porque os sintomas de vermelhidão ou pequeno edema são difíceis de serem detectados; acredita-se que para ocorrer uma reação de hipersensibilidade na mucosa bucal, seja necessário uma concentração mais alta do alérgeno do que a necessária pra provocar a mesma reação na pele; cerca de 5 a 12 vezes mais (MAGNUSSON *et al.*, 1982; LENZA *et al.*, 1997).

Moffa (1984) observou que a maioria das pessoas tendem a esquecer problemas menores de pele, tal como reação alérgica a algum metal, desaconselhando o diagnóstico unicamente através de questionário sobre exposições prévias ao níquel. Foi encontrado que 35% dos pacientes positivos ao *Patch test* não têm reações adversas ou decorrentes do contato com o metal. Apenas 54% dos pacientes, que relataram dermatite de contato a metais, manifestaram resposta positiva ao teste de sensibilidade ao níquel. Deve-se

questionar a confiabilidade das informações do questionário histórico, buscando uma acuidade maior no diagnóstico.

O *Patch test* é usado rotineiramente por dermatologistas e alergistas para determinar respostas alérgicas. A solução de preferência para uso rotineiro da avaliação de sensibilidade ao níquel é o sulfato de níquel na concentração de 5% (FISHER e SHAPIRO, 1956; MARCUSSEN, 1959; BLANCO-DALMAU, CARRASQUILLO-ALBERTI e SILVA-PARRA, 1984; DAINESI, 1995; KEROSUO *et al.*, 1996; RYCROFT *et al.*, 2001). Agrup (1968) realizou um estudo através do qual foi verificado que o sulfato de níquel, utilizado como *Patch test* em uma concentração que varia de 5 a 36%, não causou sensibilização nos pacientes que foram submetidos ao teste. Porém, Van Loon *et al.* (1988) e Spiechowicz *et al.* (1984), advertem que existe um risco de sensibilização do indivíduo quando o teste é aplicado. Além do mais, esse teste apresenta um risco de gerar resultados falso positivo ou falso negativo. As reações falso positivas podem ocorrer se uma grande quantidade de sal for usada devido a uma irritação local ou, até mesmo, serem detectadas por outras substâncias.

O paciente hipersensível em contato com o níquel pode desenvolver reação alérgica na pele, onde se desenvolvem eczemas na região de contato com o metal, como urticária e dermatites nas mãos, pescoço e olhos. A reação, usualmente, manifesta-se pelo contato com bijuterias mas, pode ser proveniente de alguns acessórios odontológicos como, por exemplo, aparelhos ortodônticos, implantes ortopédicos, restaurações e coroas (RYCROFT *et al.*, 2001).

Shelley (1981) relatou o caso de um menino de 14 anos de idade que apresentou crescimento gengival excessivo, alguns meses após a colocação do aparelho ortodôntico. No histórico familiar, foi revelado que o pai sofreu de um

episódio idiopático de hiperplasia gengival alguns anos antes. Foi recomendado para o menino a remoção do aparelho ortodôntico e a condição gengival se normalizou dois meses após. O autor concluiu que os bráquetes ortodônticos podem ter provocado o aumento gengival excessivo através de um trauma mecânico.

Kalkwarf (1984) relatou o caso de uma paciente do gênero feminino, com 36 anos de idade que, ao exame clínico, revelou uma gengiva hiperplasiada ao redor dos incisivos superiores. A profundidade de sondagem na região variou de 3mm à 7mm e houve sangramento logo após a sondagem. Durante o questionário histórico, foi relatada a colocação de coroa metaloplástica nos incisivos superiores, pouco tempo antes do aparecimento da inflamação gengival. Procedeu-se a avaliação por meio de imunohistologia do tecido gengival, obtendo o diagnóstico de hiperplasia gengival crônica. Ao teste de sensibilidade cutânea com sulfato de níquel a 5% , observou-se resposta positiva. As coroas metaloplásticas, que eram a base de liga de níquel-cromo-cobalto, foram removidas e, três meses após, as condições de normalidade se restabeleceram. O autor acredita que a inflamação gengival é uma consequência comum da sensibilidade ao níquel.

Dunlap, Vincent e Barker (1989) relataram o caso de uma menina de 14 anos de idade que iniciou tratamento com aparelho ortodôntico fixo convencional, utilizando bráquetes, bandas e fios de níquel-titânio. Poucos dias após o início do tratamento, a paciente apresentou sensação de queimação na mucosa bucal. À medida que a dor piorava, a paciente fazia uso de analgésicos e anestésicos tópicos bucais, não conseguindo se alimentar normalmente. Três meses após o início da terapia ortodôntica, apareceram lesões maculares eritematosas grandes, dentro e fora da boca, envolvendo a mucosa bucal, o dorso da língua e o palato, além de manifestações menores nos lábios. Os autores relataram história prévia de alergia a

jóias. Foi realizada uma biópsia da mucosa oral, onde observou, microscopicamente, edema intercelular no epitélio, leucócitos fora e dentro do epitélio, e diversas outras manifestações que caracterizavam reações alérgicas resistentes. Segundo esses mesmos autores, as observações clínicas e histológicas indicaram agressão ao tecido pelo arco de níquel-titânio. O fio ortodôntico foi removido e as manifestações desapareceram completamente, após o quarto dia.

Schultz *et al.* (2005) relataram um caso de um menino de 11 anos de idade que, uma semana após a colocação do aparelho ortodôntico, manifestou coceira e rachaduras no abdômen e no pulso. Após um ano da colocação do aparelho, o paciente desenvolveu inchaço, rachadura e descamação nos lábios, além de uma sensação de queimação por toda a boca. O aparelho ortodôntico foi removido e, após duas semanas, os sintomas oral e cutâneo melhoraram consideravelmente. Três meses após a remoção do aparelho, o paciente foi submetido ao *Patch test*, obtendo um resultado positivo forte (+++) ao níquel, fato este que contribuiu para levar os autores a acreditarem que o níquel foi o responsável pelas lesões orais do paciente.

2.2. Teste de proliferação celular e de imunoistoquímica

Girolomon *et al.*, (2001), citado por Cavani *et al.*, (2003) relataram que a compreensão do mecanismo, que governa a sensibilização por haptenos, foi recentemente determinada através de evidências de que a resposta imune silenciosa a haptenos como, por exemplo, o níquel, ocorre tanto em pacientes alérgicos, quanto em pacientes não alérgicos; e a ocorrência dessa resposta imune patológica depende do equilíbrio entre o agressor e as células T envolvidas no

controle da resposta aos haptenos.

Van Loon *et al.*, (1988) realizaram um estudo comparativo *in vivo* entre 15 pacientes do gênero feminino, que apresentavam resposta positiva ao *Patch test*. O objetivo era avaliar se o níquel presente em uma liga dentária, que continha níquel e metais preciosos, não corrosíveis, poderia induzir estomatite alérgica por contato. Os 15 pacientes foram divididos em três grupos distintos, em relação a resistência à corrosão do metal níquel-cromo recebido por cada um deles: grupos A, B, e C. No grupo A, quatro pacientes receberam uma liga intra bucal contendo níquel-cromo resistente à corrosão; no grupo B, cinco pacientes receberam uma liga intra bucal de níquel puro, fortemente corrosivo e, no lado contrário ao que foi colocado o níquel, foi colocada uma porção de paládium puro, resistente à corrosão. A reatividade da porção de níquel puro foi, também, testada na pele dos pacientes do grupo C. Após sete dias, foi realizado exame imunohistológico da mucosa oral nos locais de teste e controle de cada paciente, através da utilização de anticorpos específicos para (TCD4, TCD8, TCD3 TCD1). Os autores encontraram nos pacientes que receberam níquel puro, com alto potencial de corrosão, um aumento de aproximadamente quatro vezes o número das células de Langerhans (CL), presentes no tecido conjuntivo. Esses mesmos autores concluíram que o níquel puro pode causar uma forte infiltração de linfócitos T CD4, especialmente no tecido conjuntivo.

Everness *et al.* (1990) realizaram um estudo com 66 pacientes positivos ao *Patch test*, com o intuito de diferenciar indivíduos sensíveis ao níquel, de indivíduos não sensíveis. Para este fim, utilizaram o ensaio de proliferação de linfócitos T *in vitro*. Os resultados mostraram que 61 indivíduos sensíveis apresentaram índices significativos de estimulação de linfócitos após seis ou sete dias de cultura, (utilizando 5 µg/ml de sulfato de níquel), ao passo que nenhum dos 43 indivíduos do

grupo de controle apresentou resultado positivo. Os índices de estimulação não foram alterados pelo teste de sensibilidade cutânea realizado nos pacientes, antes do teste de proliferação de linfócitos. Uma fraca correlação foi observada entre os resultados de proliferação e o grau de reação no teste de sensibilidade cutânea. Os autores afirmaram, ainda, que a concentração de 5 µg/ml de sulfato de níquel utilizada no ensaio de proliferação celular, não causou efeito mitogênico.

Sivennoinen-kassinen *et al.* (1992) realizaram um estudo com o objetivo de examinar as mudanças na distribuição de linfócitos marcados, durante a estimulação pelo níquel, nas amostras de pessoas alérgicas e não alérgicas a este metal. Eles concluíram que a transformação de linfoblástos *in vitro*, induzida pelo níquel, ocorreu apenas nas células de indivíduos alérgicos a este metal, sendo que houve uma predominância de células CD4+ e CD45RO+ entre os linfoblástos de indivíduos sensíveis ao níquel; enquanto as células CD8+, CD8-CD11b+ e CD4+CD45R+ se encontravam pouco expressivas. Segundo esses mesmos autores, existem fortes evidências de que os linfócitos T CD8+ são as células que mais contribuem para a resposta a agentes químicos em dermatite de contato. O sangue periférico, de indivíduos alérgicos e não alérgicos ao níquel, possui células CD4+ específicas para o níquel, mas não possui as células CD8+, indicando que o desenvolvimento da célula CD4+, em resposta ao hapteno, não necessariamente correlaciona ao quadro clínico de alergia.

Com o objetivo de desenvolver um novo mecanismo para testar o impacto do níquel nos ensaios de proliferação celular *in vitro*, Marigo *et al.* (2003) realizaram uma pesquisa em 35 pacientes com idades variando entre 10 a 21 anos, todos em tratamento ortodôntico. Os pacientes foram subdivididos em dois grupos: o grupo um era constituído de 26 pacientes, sendo 8 homens e 18 mulheres, com manifestações

clínicas de dermatite de contato, hiperplasia gengival e *Patch test* positivo. O grupo dois continha nove pacientes, três homens e seis mulheres que não apresentavam sinais clínicos nem histórico de hipersensibilidade ao níquel; além do mais, o *Patch test* era negativo. O teste de proliferação celular foi realizado de acordo com Gazzinelli *et al.* (1983), apud Marigo (2003). Os autores encontraram que o grupo positivo ao *Patch test* obteve um índice de proliferação celular significativamente maior do que o grupo negativo ao *Patch test*.

Vreeburg *et al.* (1984) relataram que uma tolerância imunológica parcial poderia contribuir para diminuir a incidência de processos alérgicos em pacientes em tratamento ortodôntico e protético, onde o níquel e o cromo são freqüentemente utilizados. Este achado é enfatizado pelo estudo de Cavani *et al.* (2003) que, através de evidências indiretas, demonstraram a redução da freqüência de alergia ao níquel entre os adolescentes usuários de aparelho ortodôntico fixo, que liberam este metal. Concluíram que a tolerância oral a haptenos também ocorre em humanos.

Com o propósito de investigar melhor a tolerância imunológica, Marigo *et al.* (2003) realizaram testes de ensaio de proliferação de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) de 21 pacientes com diferentes tempos de exposição à aparelhagem ortodôntica. Foi observado que pacientes com mais de 24 meses de tratamento ortodôntico apresentaram menor proliferação celular induzida pelo níquel. Este achado indica que um mecanismo de tolerância ao níquel pode ocorrer.

2.3. Componentes ortodônticos e o seu comportamento no meio bucal

Platt *et al.* (1997); Eliades, Eliades e Brantley (2001) e Gontijo (2001)

relataram que o aço inoxidável austenítico (aço inoxidável tipo 316L da AISI-American Iron and Steel Institute) é o metal mais utilizado na confecção de bráquetes, bandas e arcos ortodônticos. Sua composição constitui-se de 18% de cromo, 8% de níquel, 2% a 3% de molibdênio e baixo conteúdo de carbono (máximo de 0,03%). A sigla L, que acompanha a especificação 316 do aço inoxidável, refere-se ao baixo teor de carbono em comparação ao tipo 316 (GWINNETT, 1982; ELIADES, ELIADES e BRANTLEY, 2001). O molibdênio é adicionado para promover uma proteção adicional contra a corrosão (ELIADES, ELIADES e BRANTLEY, 2001). A incorporação de níquel nessas ligas tem a finalidade de melhorar a resistência à corrosão e a resistência à oxidação em altas temperaturas (PLATT *et al.*, 1997).

Nos últimos tempos, foram desenvolvidos fios ortodônticos contendo altas doses de níquel, com o objetivo de fornecer forças leves e contínuas e, assim, resultar em movimentos dentários mais fisiológicos. Alguns fios metálicos, com propriedades elásticas, podem conter mais de 50% de níquel (DUNLAP, VINCENT e BARKER, 1989). Como é o caso dos fios de níquel-titânio, que contêm aproximadamente 70% de níquel (BASS, FINE e CISNEROS, 1993).

Segundo Bergman (1986) e Platt *et al.* (1997), muitas ligas metálicas usadas na odontologia sofrem alterações em seu comportamento quando em contato com o meio bucal, devido a sua alta susceptibilidade ao processo corrosivo provocado em meio com baixo pH e com grande concentração de íons cloretos. Além do mais, a presença de diferentes ligas metálicas, em um mesmo ambiente bucal, pode gerar a liberação de íons metálicos, por meio de um mecanismo conhecido como corrente galvânica, que é um processo de oxidação e dissolução, aonde o metal menos nobre sofre oxidação e libera íons metálicos e o metal mais nobre torna-se mais resistente à corrosão (BERGMAN, 1986; ELIADES e ATHANASIOU, 2002).

Grimsdottir; Gjerdent e Hensten-Pettersen (1992), avaliaram a liberação de níquel e cromo em diferentes acessórios ortodônticos mantidos em solução salina. Os autores encontraram que a liberação de níquel e cromo parece estar relacionada com a composição e a manufatura do material e não com a quantidade de cada metal na liga.

Eiades, Eliades e Brantley (2001), analisaram os bráquetes logo após a sua remoção observou-se, clinicamente, um manchamento da camada de resina que adere o bráquete ao dente. Este manchamento ocorreu em decorrência do efeito da difusão dos produtos de corrosão da base do bráquete para a camada de resina. Os autores citaram a utilização de bráquetes não metálicos, como opção de material a ser utilizado em pacientes hipersensíveis ao níquel. Estes acessórios são confeccionados a partir de um policarboxilato ou porcelana (zircônia) e foram desenvolvidos nesta última década, impulsionados pela busca da otimização da estética nos aparelhos ortodônticos.

Huang, Yen, Kao (2001), comparando a liberação de íons metálicos de bráquetes novos e reciclados, constataram que os bráquetes reciclados liberam maior quantidade de íons. Entre eles, o níquel foi o metal mais liberado e este processo aumentou com o tempo. Os autores justificaram a corrosão pela presença de cloreto na saliva, o baixo pH, o processo de fabricação e a composição dos bráquetes. Todos estes elementos podem contribuir para o aumento da degradação do metal, quando em contato com o meio bucal. Recomenda-se, que o paciente hipersensível ao níquel não deva ser exposto a este metal, e que o bráquete de escolha seja isento de níquel.

Eliades *et al.* (2004) propuseram investigar se a exposição bucal ao arco de aço inoxidável ou de NiTi induziria a liberação de níquel na cavidade bucal. Para

este fim, foram utilizados fios novos e reciclados. Os autores concluíram que não houve diferenças significativas entre a liberação de níquel pelos fios novos e a liberação de níquel pelos fios reciclados.

Para pacientes hipersensíveis ao níquel, Matasa (1995) sugere a utilização de bráquetes ortodônticos isento de níquel, utilizando-se somente cromo e cobalto em sua composição. Ainda segundo como opção de acessório hipo-alérgico, são encontrados no mercado os bráquetes de titânio, que são manufaturados em monobloco, por um processo pelo qual o metal é injetado dentro de um molde, descartando a necessidade de solda; estes são bráquetes com propriedades e força de adesão igual ou até mesmo superior aos de aço inoxidável, além de oferecer maior resistência à corrosão e não liberar níquel na cavidade bucal (DEGUCHI *et al.*, 1996; HAMULA, MAULA e SERNETZ, 1996).

2.4. Considerações sobre a concentração dos metais na saliva

A associação de diferentes metais na cavidade bucal por intermédio da saliva pode produzir correntes galvânicas o que libera íons e componentes metálicos (JANSON, 1998). O aparelho ortodôntico também pode gerar corrente galvânica, em decorrência do atrito gerado por meio do deslizamento dos fios nos bráquetes, aliados à abrasão da mastigação de alimentos (VON FRAUNHOFER, 1997).

Wichelhaus, Culum e Sander (1997) por meio da microscopia eletrônica de varredura, investigaram a composição química, natureza da superfície e porcentagem de níquel encontrada em diferentes acessórios ortodônticos. Os autores concluíram que existem diferenças consideráveis em relação aos elementos

das ligas e sua superfície. Não foi encontrada uma padronização entre os fabricantes, especialmente em se tratando de bandas e bráquetes fabricadas de aço. A presença de porosidades e frestas nas superfícies pode favorecer o processo corrosivo. Diante disso o processo de reciclagem de bráquetes e bandas deve ser reconsiderado, pois causa uma influência deletéria à microestrutura do material. Segundo estes mesmos autores, os produtos da corrosão podem provocar reação alérgica em pacientes sensíveis ao níquel, e apontam para os pacientes uma atenção especial à higiene bucal, para manter a corrosão dos metais em níveis mais baixos possíveis.

Kerosuo, Moe e Hensten-Pettersen (1997) realizaram um trabalho com a intenção de investigar a concentração de níquel e cromo na saliva de pacientes que estivessem fazendo uso de diferentes tipos de aparelhos ortodônticos (extra oral, quadri-hélix e aparelho fixo). Foram avaliados 47 pacientes, sendo 19 do gênero masculino e 28 do gênero feminino, com idades variando entre 8 e 30 anos. As amostras de saliva foram coletadas em quatro fases distintas; primeira fase, antes da inserção do aparelho, segunda fase, de um a dois dias após a colocação do aparelho, terceira fase, uma semana após e a quarta fase, um mês após a colocação do aparelho. Os autores observaram que a concentração de níquel na saliva antes da inserção do aparelho ortodôntico variou de 0 a 205 ng/ml (média 55 ng/ml), com exceção de uma menina de 14 anos de idade, que apresentou uma concentração de 440 ng/ml. Não houve diferenças significantes entre a concentração de níquel na saliva de pacientes dos grupos sem aparelho ortodôntico e as amostras coletadas nos intervalos de um a dois dias, uma semana e um mês. Esse resultado sugere que a concentração de níquel na saliva não é significativamente afetada pelo aparelho ortodôntico fixo durante o primeiro mês de

tratamento. Apesar desse achado, os autores enfatizam que não pode ser excluída a possibilidade de que uma pequena quantidade de níquel, proveniente do aparelho ortodôntico dissolvido na saliva, possa ser importante nos casos de hipersensibilidade ao níquel (BISHARA, 1995; KEROSUO *et al.*, 1996).

Segundo Bennett (1982) e Moffa (1982), o níquel pode ser eliminado através do suor e da saliva e, em decorrência de efeitos agudos, encontra-se concentrado no sangue. A quantidade de níquel na saliva humana de indivíduos varia de 0,8 a 4,5 µg/litro. De acordo com Eliades e Athanasiou (2002), a concentração de íons níquel, encontrada no sangue de pacientes em tratamento ortodôntico, não foi diferente daquela encontrada em pacientes não submetidos a tratamento ortodôntico; entretanto, não se pode descartar a possibilidade de acúmulo de níquel no organismo.

Barret, Bishara e Quinn (1993), compararam, *in vitro*, a taxa de corrosão de diferentes acessórios ortodônticos, tais como: bráquetes, bandas, arcos de fio de aço inoxidável e fio de níquel titânio. Dez montagens de aparelhos (cinco com fios de aço e cinco com fio de níquel-titânio) foram imersas em saliva artificial, à 37°C. A liberação dos íons níquel e cromo foram quantificadas com um espectrofotômetro de absorção atômica. Os resultados mostraram que a máxima liberação de níquel ocorreu depois da primeira semana e que, a partir dessa época, a taxa foi decrescendo; por outro lado, nas duas primeiras semanas, a liberação de cromo aumentou. Não houve diferenças significantes entre as taxas de íons níquel e cromo liberadas pelos fios de aço inoxidável e níquel-titânio, entretanto, a liberação de níquel foi 37 vezes maior do que a de cromo. Porém, a quantidade de níquel liberada e encontrada na boca foi 10% menor que a ingerida numa dieta normal.

Agaoglu *et al.* (2001) relataram que podem ser encontrados níquel e cromo na saliva e no soro de pacientes com aparelho ortodôntico fixo, e que esses valores podem se alterar durante os diferentes períodos de tratamento; mas, a quantidade desses metais liberados na saliva e no soro em nenhum período do tratamento, atinge valores tóxicos, sendo esses valores similares aos dos indivíduos sadios.

2.5. Parâmetros clínicos e laboratoriais indicadores de alteração gengival

As características universais da doença periodontal incluem sinais clínicos de infecção, sinais e sintomas confinados à gengiva e reversibilidade da doença com a remoção da causa. Sinais clínicos da inflamação gengival envolvem aumento do contorno gengival devido ao edema ou fibrose, mudança da coloração gengival de rosa para vermelho ou arroxeadado, elevação da temperatura sulcular, sangramento e aumento do exsudato. A gengivite pode ser induzida pela placa bacteriana, onde sinais clínicos mais comuns são: eritema, edema, sangramento, sensibilidade, flacidez e aumento de volume. As mudanças histopatológicas podem ser vistas como proliferação do epitélio juncional basal, conduzindo à migração celular apical e lateral, vasculite dos vasos sanguíneos adjacentes ao epitélio juncional, progressiva destruição das fibras colágenas, mudanças no tipo de colágeno, alterações citopatológicas de fibroblastos residentes e uma progressiva infiltração de células inflamatórias, principalmente linfócitos, macrófago, plasmócitos e neutrófilos (MARIOTT, 1999).

Os indicadores clínicos mais usados na avaliação das condições gengivais são a coloração, a textura, o sangramento, a consistência, os contornos marginais e papilar, o aumento do fluido sulcular e a supuração. Alguns autores mencionam a presença de um ou mais dos seguintes sinais para indicar a inflamação gengival: mudança de coloração por aumento da irrigação sangüínea na área afetada, edema pela presença de fluidos no tecido conjuntivo infiltrado, sangramento detectado pela sondagem e exsudato do sulco constituído de células inflamatórias e o plasma dos tecidos afetados (LINDHE,1992).

Dentre os indicadores de inflamação gengival, o sangramento é bastante difundido e usado de forma exclusiva por vários autores (TOEVS e LUKKEN,1990; CLAFFEY *et al.*, 1990; LINDHE, 1992; RANNEY,1992). O sangramento gengival é um sinal precoce de inflamação, provavelmente mais consistente e representativo que alterações visuais isoladas (cor, textura, volume, consistência e forma) ou mesmo combinado com estes (MEITNER, ZANDER e TILK, 1979). Nesse sentido, Toevs e Lukken (1990) ressaltam que o sangramento à sondagem é um indicador seguro da presença de gengivite.

Estudos de Claffey *et al.* (1990) mostram que percentuais de sangramento à sondagem, entre 20 e 30%, determinam um alto risco para a progressão da doença periodontal. Além disso, Joss, Adler e Lang (1994), em um estudo retrospectivo em clínicas particulares, revelam que uma prevalência de 25% de sangramento à sondagem marcou um limite entre indivíduos com estabilidade periodontal, mantido por quatro anos, e indivíduos com recorrência de doenças no mesmo período (LINDHE *et al.*, 1999).

Manson e Eley, (1989); Ramford e Ash,(1991); Carranza e Newman,(1996) e Lindhe *et al.*,(1999), afirmam que em relação à profundidade de sondagem maior do

que 3mm, a literatura é unânime e soberana em afirmar que tal medida constitui um aprofundamento patológico do sulco gengival, sendo denominado por inúmeros autores de bolsa periodontal absoluta.

Portanto, a medida da bolsa periodontal pode ser aceita como um parâmetro quantitativo de doença e a sua rápida avaliação, através de medidas de sondagem, é necessária para diagnóstico e pesquisa epidemiológica (CAMPOS JÚNIOR *et al.*, 1999). Se as alterações patológicas se limitarem somente à gengiva, esta é chamada de pseudobolsa. Entretanto, se a bolsa penetrou mais fundo no periodonto, ela é chamada de bolsa periodontal (SHAFER, HINE e LEVY, 1987).

Segundo Toledo e Rossa Júnior (1999), o conceito atual de etiologia multifatorial das doenças periodontais inclui o hospedeiro como componente fundamental, sendo necessário um desequilíbrio entre as agressões microbianas e a resposta imune do hospedeiro, para a ocorrência do dano periodontal.

Lesões inflamatórias, causadas pela doença periodontal, podem ser diferenciadas de infiltrações celulares resultantes de reações alérgicas, pela presença na doença periodontal inflamatória de células B (linfócitos B) e a sua ausência na reação alérgica (SEYMOUR e GREENSPAN, 1979). Marcker *et al.* (1978) citado por Shafer, Hine e Levy (1987), relatam que lesões iniciais da gengivite leve contém predominância de linfócito (T), enquanto que lesões mais avançadas apresentam grande número de linfócitos B e plasmócitos.

O aumento gengival pode ficar restrito a uma papila ou envolver várias ou todas as papilas gengivais; é, geralmente, mais proeminente nas superfícies vestibulares e labiais. O aumento gengival pode ser devido a hipertrofia (aumento do tamanho das células) ou hiperplasia (aumento do número de elementos celulares). A hiperplasia gengival pode ser classificada como: (1) hiperplasia

gengival inflamatória; (2) hiperplasia gengival não inflamatória (fibrose); (3) ou uma combinação de hiperplasia inflamatória e fibrose. A hiperplasia inflamatória é hiperêmica, mole, edemaciada e sangrante; já na hiperplasia fibrosa, o aumento é denso, insensível, não mostra tendência para o sangramento, se apresenta com superfície pontilhada e coloração normal. O tratamento da hiperplasia gengival é a remoção da irritação local; porém, se a hiperplasia fibrosa for extensa, uma incisão cirúrgica é aconselhável (SHAFER, HINE e LEVY, 1987).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Esse estudo teve a finalidade de relacionar a condição do aumento gengival à hipersensibilidade ao íon Ni presente nos componentes ortodônticos dos pacientes da clínica de ortodontia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.

3.2. Objetivos específicos

- 1-** Determinar a hipersensibilidade ao níquel por meio do teste de sensibilidade cutânea com sulfato de níquel a 5% (*Patch test*).
- 2-** Determinar se há associação dos parâmetros clínicos e periodontais (índice de placa, índice de sangramento gengival, profundidade de sondagem e aumento gengival) com o processo alérgico.
- 3-** Avaliar, por meio de exame histopatológico, as alterações teciduais do tecido gengival obtido dos pacientes submetidos à cirurgia de gengivectomia (presença ou ausência de inflamação e característica do tecido; fibroso, fibrogranuloso ou granuloso).

4- Avaliar quantitativamente, por meio de imunoistoquímica, os tipos celulares presentes no infiltrado inflamatório do tecido gengival aumentado obtido de pacientes submetidos à cirurgia de gengivectomia.

4. METODOLOGIA

4.1. Amostra

Do universo de 650 pacientes, em tratamento ortodôntico da Clínica de Ortodontia da Pontifícia Universidade Católica de Minas, foram selecionados uma amostra de 29 pacientes. Dentre esses, sete foram eliminados durante o exame clínico e periodontal inicial. Cinco deles por se enquadrarem no critério de exclusão da amostra (três por serem respiradores bucal; dois por uso de medicamentos passíveis de gerar aumento gengival) e dois outros pacientes abandonaram a pesquisa.

A amostra final constituiu-se de 22 pacientes brasileiros, de grupos étnicos distintos, cuja idade variou de 12 a 23 anos, com uma idade média igual a 15,9 anos.

Do ponto de vista etário, eram: 12 pacientes com idade de 12 a 15 anos; 9 pacientes entre 16 a 20 anos; 1 paciente com idade entre 21 a 25 anos.

Quanto ao gênero, 16 pacientes eram do gênero feminino e 6 pacientes do gênero masculino.

4.1.1. Padronização da amostra

4.1.1.1. Critérios de inclusão

Para composição da amostra, foram selecionados apenas aqueles pacientes que estivessem fazendo uso de aparelho ortodôntico metálico fixo total nas duas arcadas, através de bráquetes convencionais metálicos, da marca Morelli, por um período máximo de tratamento de três anos. Todos os pacientes deveriam apresentar aumento gengival de pelo menos 1/3 da coroa clínica.

4.1.1.2. Critérios de exclusão

A) Pacientes que, durante o questionário histórico de alergia ao níquel, ou ao segundo exame, relataram uso contínuo de medicamentos antiepiléticos, bloqueadores de canais de cálcio e imunossupressores, pois, estes medicamentos podem induzir aumento gengival.

B) Pacientes que, através de uma avaliação visual e cefalométrica, apresentaram um excessivo grau de sobremordida e/ou acentuada diminuição da altura facial ântero-inferior, devido à possibilidade de manifestação de queilite angular.

C) Pacientes que, através de uma avaliação visual, apresentaram ausência de selamento labial passivo, concomitante com a posição evertida do lábio inferior; pois, este quadro favorece o ressecamento dos lábios, o que pode acarretar descamação dos mesmos e desenvolvimento de gengivite localizada nestas áreas.

D) Pacientes que, após o controle de placa pelo profissional e instrução de higiene bucal, persistiram com o índice de placa fraco ($>1,9$).

E) Mulheres grávidas, devido à possibilidade de manifestação de gengivite gravídica.

4.2. Consentimento para pesquisa

Os indivíduos selecionados receberam informações verbais e por escrito sobre o estudo e foram convidados a participar do mesmo. Aqueles, que se propuseram a participar, leram e assinaram o consentimento livres e esclarecidos (ANEXO A), o que está de acordo com a resolução 196/96 do CNS. No caso de pacientes menores de idade o consentimento livre e esclarecido foi lido e assinado pelos pais ou responsáveis.

4.3. Comitê de Ética em Pesquisa

Este trabalho está de acordo com as normas e diretrizes da resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, resolução esta que regulamenta a pesquisa com envolvimento de seres humanos. Este trabalho foi submetido previamente ao comitê de Ética e Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais e aceito pelo mesmo (ANEXO B).

4.4. Método de avaliação

Os pacientes foram avaliados em três etapas distintas:

1ª etapa: Avaliação clínica e periodontal

Avaliação Clínica:

- Questionário histórico de alergia ao níquel.

- Exame clínico para avaliação da presença de sinais sugestivos de hipersensibilidade ao níquel.
- Teste de sensibilidade cutânea através do *Patch test*.

Avaliação periodontal:

- Índice de placa, índice de sangramento gengival, aumento gengival, profundidade de sondagem.
- Controle de placa pelo profissional e instrução de higiene oral.

2ª etapa: Reavaliação clínica e periodontal

Esta etapa foi realizada 30 dias após a 1ª etapa, e constituiu-se de:

- Exame clínico para avaliação da presença de sinais sugestivos de hipersensibilidade ao níquel, que possam ter ocorrido durante este período.
- Avaliação periodontal: índice de placa, índice de sangramento gengival, aumento gengival e profundidade de sondagem.

3ª etapa: Cirurgia de gengivectomia

Aqueles pacientes, cujos tecidos gengivais permaneceram com aumento de 2/3 ou mais durante o segundo exame, foram encaminhados para a cirurgia de recontorno gengival, e o tecido removido foi enviado para análise histopatológica e de imunoistoquímica.

O procedimento cirúrgico só foi realizado após o consentimento do paciente. Cinco pacientes com necessidades cirúrgicas não fizeram a cirurgia, por não terem autorizado o procedimento.

Ao todo, foram encaminhados para a cirurgia 12 pacientes, sendo que alguns deles passaram por mais de um procedimento cirúrgico em diferentes áreas.

4.4.1. Questionário histórico de alergia ao níquel, exame clínico e periodontal

Todos os pacientes da amostra foram examinados no período de Abril de 2004 a Fevereiro de 2005. O questionário histórico de alergia ao níquel e o exame clínico periodontal, para verificar sinais sugestivos de hipersensibilidade ao níquel, foram registrados na ficha clínica de cada paciente (ANEXO C).

Durante o questionário histórico, foi avaliada a história prévia de alergia a metais, histórico familiar de alergia, tempo de tratamento ortodôntico e uso de acessórios metálicos; como, por exemplo, brinco, pulseira, óculos.

Ao exame clínico, foram observadas a presença de descamação dos lábios, queilite angular, e quantidade de dentes com restaurações metálicas.

4.4.1.1. Exames periodontais realizados

- a) Índice de aumento gengival;
- b) Índice de placa;
- c) Profundidade de sondagem;
- d) Índice de sangramento gengival.

a) Índice de aumento gengival

O índice de aumento gengival utilizado nesse estudo foi uma modificação do índice de aumento gengival de Pernu *et al.* (1992). As superfícies vestibulares de todos os dentes foram avaliadas e os critérios adotados para esta avaliação foram:

- Ausente.
- Presente: cobrindo até 1/3 da superfície vestibular (FIGURA 1).
- Presente: cobrindo até 2/3 da superfície vestibular (FIGURA 2).
- Presente: cobrindo mais de 2/3 da superfície vestibular (FIGURA 3).



FIGURA 1 - Aumento gengival até 1/3 da superfície vestibular
Fonte: acervo da autora



FIGURA 2 – Aumento gengiva até 2/3 da superfície vestibular
Fonte: acervo da autora



FIGURA 3 – Aumento gengival de + de 2/3 superfície vestibular
Fonte: acervo da autora

b) Índice de placa (I.P.)

A presença de placa bacteriana foi avaliada de acordo com o índice de Higiene Bucal Simplificado de Greene e Vermillion (1960), por ser o índice mais utilizado em pesquisas que procuram obter uma quantificação da placa na superfície dentária. Segundo Lindhe (1992); Carranza e Newman (1996) o índice de Higiene Bucal Simplificado possibilita uma avaliação individual de higiene bucal, de fácil uso, realizado rapidamente, com alto grau de reprodutibilidade e um tempo mínimo de treinamento.

O exame foi realizado com o auxílio de espelho bucal e uma sonda exploradora milimetrada tipo UNC-15 Hu-Friedy® (sonda periodontal - Hufriedy. Chicago. Illinois). As superfícies dentárias examinadas foram as faces linguais dos dentes 11,17,27,31,37,47; foram escolhidas as faces linguais por não apresentarem acessórios ortodônticos. Aqueles pacientes, que apresentavam os 2º molares bandados, foram avaliados os 1º pré-molares. As superfícies dentárias foram coradas com fucsina básica a 0,5%, lavadas com água e avaliadas com auxílio de um espelho bucal. Para a avaliação, a superfície dentária foi dividida em três terços horizontais: gengival, médio e incisal. Os critérios de avaliação da placa foram descritos de acordo com a figura 4, página 43.

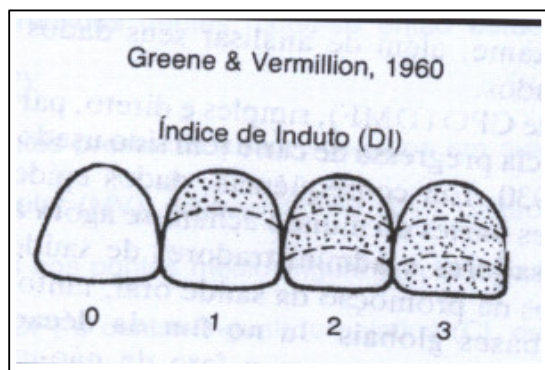


FIGURA 4--Índice de placa
Fonte: LINDHE, 1992, p. 44

O índice de placa do paciente foi obtido pela somatória da contagem de resíduos por superfície dentária, dividido pelo número de superfícies examinadas. Os resultados foram anotados na ficha clínica do paciente (ANEXO C).

A pontuação clínica é dada por:

- Bom 0,0 - 0,6;
- Regular... 0,7 -1,8;
- Fraco 1,9 - 3,0.

Foi considerado índice satisfatório aquele com pontuação boa (0,0 –0,6) e insatisfatório o com pontuação regular ou fraca (0,7-3,0).

c) Profundidade de sondagem

A profundidade de sondagem é a distância da margem gengival até o fundo do sulco gengival ou até a bolsa periodontal (nos casos de doença periodontal instalada).

Inserindo-se uma sonda milimetrada tipo UNC-15 Hu-Friedy®, paralela ao eixo vertical e deslizando-a em torno dos dentes, pode-se, então, detectar as profundidades de sondagens.

Todos os dentes presentes foram sondados em suas faces vestibulares nos

pontos méso-vestibular (MV), disto-vestibular (DV) e faces linguais ou palatinas nos pontos méso-lingual ou palatino (ML ou MP), disto-lingual ou palatino (DL ou DP). Todos os sítios que apresentaram valor igual ou superior a 4,0 mm foram registrados nas fichas clínicas dos pacientes (ANEXO C).

Foram avaliadas as radiografias periapicais e/ou interproximais de todos os pacientes, com o objetivo de verificar possíveis perdas de estrutura óssea interproximal.

d) Índice de sangramento gengival (I.S.G.)

O índice de sangramento gengival de Ainamo e Bay, modificado em 1975, foi utilizado como padrão para avaliação do sangramento gengival à sondagem. Este índice permite uma avaliação percentual dos sítios que sangram à leve sondagem, mostrando a presença de inflamação gengival. Os valores foram obtidos da seguinte forma: uma sonda periodontal tipo UNC-15 Hu-Fiedy® foi deslizada no momento da medida da profundidade de sondagem. A avaliação do sangramento foi feita de 30 até 60 segundos após a introdução da sonda. O valor foi anotado na ficha clínica nos campos específicos por superfície dental (vestibular e lingual ou palatina), a presença (+) ou ausência (-) de sangramento (ANEXO C). O número de superfícies com sangramento foi dividido pelo número total de superfícies examinadas e o resultado multiplicado por 100.

4.4.2. Controle de placa e instrução de higiene oral

Os pacientes passaram por um rigoroso controle de placa pela própria mestrandia, com o uso de ultrassom e jato de bicarbonato e, posteriormente, receberam instrução de higieneterapia bucal. Foi recomendado uso de Periogard (clorexidina a 0,12%) duas vezes ao dia, durante 30 dias; com o objetivo de auxiliar o paciente no controle da placa bacteriana. Um estudo realizado por Løe e Schiøtt (1970), mostrou que bochecho por 60 segundos duas vezes ao dia com 10ml de uma solução de gluconato de clorexidina a 0,2% (20mg a dose), na ausência de escovação normal inibiu o recrescimento da placa bacteriana e o desenvolvimento de gengivite.

4.4.3. Teste de sensibilidade cutânea (Patch test)

O teste foi realizado em todos os pacientes, e anotado em suas respectivas fichas clínicas (ANEXO C).

O *Patch test* foi realizado na parte superior do braço de cada indivíduo (pele normal da região deltóide), segundo técnica descrita por Marks e Deleo (1992), após a limpeza da área com gaze umedecida em álcool, para remover possíveis impurezas. O sulfato de níquel a 5%, tendo como veículo a vaselina (27-Sulfato de níquel 5% - FDA ALLERGENIC®-Rio de Janeiro), foi colocado sobre papel de filtro, aplicado na pele e coberto com uma fita protetora (micropore hipo - alergênico). A área do teste foi delineada no momento da aplicação com caneta tipo "pilot", de forma que qualquer reação positiva tardia pudesse ser precisamente identificada.

- A primeira leitura foi feita 48hs após a aplicação do teste, logo após a remoção da fita protetora e papel de filtro;
- A segunda leitura foi feita 48hs após a 1ª leitura, sem nova aplicação do sulfato de níquel 5%.
- Os resultados das leituras do *Patch test* foram registrados nas fichas clínicas (ANEXO C).
- A escala para o registro das leituras foi a proposta pelo Grupo Internacional de Dermatologia de Contato (International Contact Dermatologic Research Group – (ICDRG) e está representada na tabela 1 e ilustrada na figura 5.

TABELA 1
ESCALA PARA REGISTRO DE LEITURAS (ICDRG)

Reação negativa	(0)
Reação duvidosa ?+	Eritema brando
Reação positiva fraca +	Eritema, infiltração e algumas pápulas
Reação positiva forte ++	Eritema, infiltração, pápulas e vesículas
Reação positiva extrema +++	Eritema denso e vesículas acentuadas com exsudação

Fonte: Elaborado pela autora a partir de RICROFT *et al.*, 2001

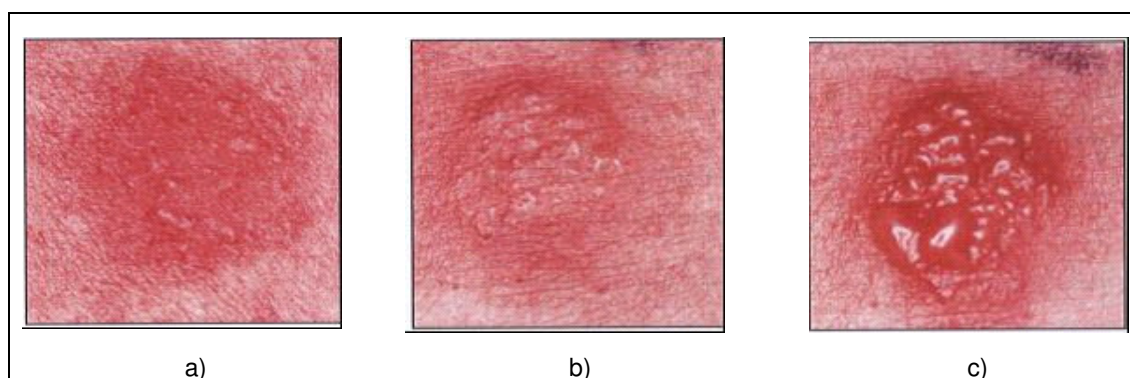


FIGURA 5 - Reação positiva ao *Patch test*
a) Reação positiva (+) ao *Patch test*
b) Reação positiva forte (++) ao *Patch test*
c) Reação positiva severa (+++) ao *Patch test*
Fonte: RICROFT *et al.*, 2001, p. 450

4.4.3.1. Critérios para a aplicação do *Patch test*

- A)** O *Patch test* não pode ser aplicado em mulheres grávidas.
- B)** Nos pacientes que estivessem em terapia imunossupressora (corticóide) contínua, seja sistêmica ou tópica; o teste só foi aplicado uma semana após a suspensão da terapia, para não provocar resultado falso negativo.
- C)** Os pacientes evitaram a exposição ao sol que atua como imunodepressor, no período de dois a três dias antes e durante o teste, para não causar resultado falso negativo.
- D)** Não foi aplicado o teste nos pacientes em fase aguda de reação alérgica, com o quadro clínico conhecido pelo nome de “pele excitada”, para não provocar um resultado falso positivo.
- E)** Os pacientes foram instruídos a não molhar, inclusive no banho, ou coçar as regiões demarcadas para o experimento, desde a aplicação do teste até o momento da 2º leitura.
- F)** Foram instruídos também a evitar exercícios físicos, desde a aplicação do teste até o momento da leitura, de acordo com Marks e Deleo (1992).

4.4.4. *Reavaliação clínica e periodontal*

Esta etapa foi realizada 30 dias após o 1º exame e controle de placa pelo profissional. Todos os pacientes passaram por novos exames clínicos periodontais (índice de placa, índice de sangramento gengival, aumento gengival e profundidade de sondagem), para identificação de sinais sugestivos de hipersensibilidade, que

pudessem ter desaparecidos após o controle de placa e ou desenvolvidos durante e após a aplicação do *Patch test* (ANEXO D).

Nesta fase, os pacientes foram subdivididos em quatro grupos:

- A)** Grupo I - Pacientes positivos ao *Patch test* que, após o controle de placa, obtiveram melhora no contorno gengival.
- B)** Grupo II - Pacientes positivos ao *Patch test* que, após o controle de placa, ainda persistiram com o tecido gengival aumentado.
- C)** Grupo III - Pacientes negativos ao *Patch test* que, após o controle de placa, obtiveram melhora no contorno gengival (Grupo controle).
- D)** Grupo IV - Pacientes negativos ao *Patch test* que, após o controle de placa, ainda persistiram com o tecido gengival aumentado.

4.4.5 Cirurgia de gengivectomia

Aqueles pacientes, positivos ou não ao *Patch test*, que durante o segundo exame apresentaram um índice de aumento gengival maior ou igual a 2/3 da coroa clínica dentária, associado ao índice de placa regular ou bom e sangramento gengival menor do que 30%, foram submetidos a cirurgia de gengivectomia, com o objetivo de restabelecer o contorno gengival normal, e obter material para exame laboratorial (FIGURAS 6 e 7).



FIGURA 6- Aumento gengival cobrindo mais de 2/3 da coroa dentária
Fonte: acervo da autora

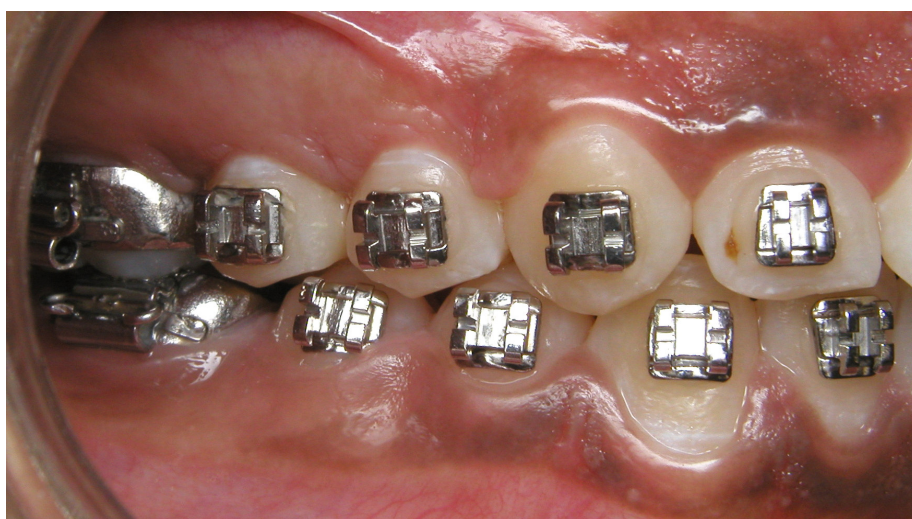


FIGURA 7 – Paciente 1 mês após o procedimento cirúrgico
Fonte: acervo da autora

4.4.6. Avaliação imunoistoquímica do tecido gengival aumentado

O tecido removido foi colocado em uma solução de formol a 10% tamponado e processado rotineiramente para inclusão em parafina.

4.4.6.1. Técnica histológica para inclusão em parafina e coloração em HE

Cortes de 4mm foram desparafinadas em 3 banhos de xilóis durante 5 minutos cada um. Em seguida, elas foram hidratadas em álcoois de concentrações decrescentes (álcool absoluto, álcool 70% e álcool 50%), três minutos cada. Logo após, as lâminas foram coradas na hematoxilina de Harris durante 1 minuto. As lâminas foram, então, lavadas em água corrente durante 10 minutos e, em seguida, coradas na Eosina durante 30 segundos. As lâminas foram rapidamente lavadas em água e desidratadas em álcoois de concentrações crescentes (álcool 70% e álcool absoluto durante 5 minutos cada) e diafanizadas em 3 banhos de xilóis 3 minutos cada. Logo após, foram montadas com Entelan para avaliação ao microscópio.

4.4.6.2. Técnica Imunoistoquímica

As reações para marcação e diferenciação dos linfócitos foram executadas no laboratório de Biologia Oral da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, utilizando-se a técnica manual de Streptavidina e peroxidase biotina.

As reações foram desenvolvidas sobre cortes histológicos de 4µm de espessura, estendidos em lâminas de vidro previamente preparadas com fixador de cortes 3-aminopropyltriethoxy-silane (Sigma Chemical, ST. Louis, USA) a 4% em acetona. Para o emprego deste adesivo, as lâminas foram mergulhadas em banho maria de água e detergente neutro por 24 horas; logo após foram enxaguadas em

água corrente e mergulhadas em álcool absoluto. As lâminas foram secadas com gaze e mergulhadas em solução de ácido clorídrico (HCL) 1N durante 20 minutos. Em seguida foram realizados 3 banhos rápidos em água destilada e mergulhadas em solução de ácido acético durante 20 minutos. O passo seguinte foi mergulhar as lâminas em solução de organosilano a 2% em acetona e logo em seguida foram lavadas rapidamente em água destilada. Posteriormente, as lâminas foram deixadas em uma bandeja de madeira para secar à temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos. Ao término dessa fase, as lâminas foram transferidas para estufa a 60°C, a onde permaneceram por 12 horas.

4.4.6.3. Reação imunoistoquímica para marcação de linfócitos TCD8 e TCD4

Os cortes foram desparafinizados em três banhos de xilóis, sendo o banho de xilol I por 30 minutos em estufa a 58°C; o banho de xilol II de 15 minutos e o de xilol III de 5 minutos. Logo em seguida foram reidratadas em três banhos de álcool absoluto, álcool 95% e álcool 80% por 5 minutos cada. Para remoção do pigmento formólico, as lâminas foram imersas por dez minutos em solução de hidróxido de amônio a 10%, em etanol a 95% e lavados em sete banhos de água destilada.

Foi realizado tratamento para recuperação antigênica, que consistiu na imersão da lâmina em solução de ácido cítrico a 10mM, em banho Maria a 95°C, durante 30 minutos. Posteriormente, essa solução de ácido cítrico foi colocada em banho maria à temperatura de 95° C por 30 minutos, logo após, as lâminas foram lavadas em água corrente por 5 minutos.

Para inibição da peroxidase endógena, os cortes passaram por dois banhos de 5 minutos em peróxido de hidrogênio 10 volumes e foram, posteriormente,

lavados em cinco banhos de água destilada.

Cada um dos procedimentos de incubação descritos a seguir foram precedidos por três lavagens de cinco minutos em solução tampão TRIS-HCL pH 7,4 (Tris-hidroxi-meti-aminometano, Sigma Chemical, St. Louis, USA).

Os cortes foram incubados com o anticorpo primário anti linfócitos TCD8+ e anti linfócitos TCD4+ diluídos em solução tampão TRIS-HCL pH 7,4, sendo o tempo de incubação de 18 horas a 4°C.

Os espécimes foram então incubados com o anticorpo secundário biotinilado polivalente (Kit LSAB+ - DAKO), em solução tampão TRIS-HCL pH 7,4, em câmara úmida, à temperatura ambiente, durante trinta minutos. Logo após foram lavados em três banhos tampão TRIS-HCL de 5 minutos cada. Seqüencialmente, foi efetuado a incubação com o complexo streptavidina-peroxidase (Kit LSAB+ - DAKO)), em solução tampão TRIS-HCL pH 7,4, em câmara úmida, à temperatura ambiente, durante 30 minutos. Posteriormente foram lavadas em três banhos de solução tampão TRIS-HCL por 5 minutos.

A reação foi revelada pelo emprego de solução cromógena contendo 14mg de diaminobenzidina (3,3 diaminobenzidina, Sigma Chemical, St Luis, USA) diluídos em 120 ml de tampão TRIS-HCL pH 7,4, aos quais foi adicionado 1,2 ml de peróxido de hidrogênio 10 volumes. Os cortes permaneceram nessa solução por 3 minutos, quando, então, foram lavados em água corrente por cinco minutos.

A contra coloração foi realizada em solução de hematoxilina de Mayer por 5 minutos. As lâminas foram, então, imersas rapidamente em solução com concentrações crescentes de etanol (70º, 90º, absoluto I, II e II) por 5 minutos

diafanizados em xilol e montados em Permount (Fisher Scientific, Fair Lawn, USA).

4.4.6.4. Análise da imunomarcção

Esta análise foi realizada por um único observador, utilizando-se um retículo de contagem para delimitação de campos, ajustado a um microscópio de luz. Optou-se pelo aumento de 1000X para avaliação da imunomarcção para linfócitos TCD8 e TCD4.

Em cada campo delimitado pelo retículo de contagem, foram mensurados o número total de células e o número de células positivas. Foram consideradas como positivas as células que apresentaram citoplasma de coloração castanha, como resultado da precipitação do cromógeno diaminobenzidina. Foram consideradas como negativas as células que apresentaram citoplasma de coloração azul, contraincorados pela hematoxina de Mayer.

O objetivo final dessa análise foi a geração de dois índices de contagem para cada região avaliada em cada uma das amostras descritas a seguir:

- **ÍNDICE DE MARCAÇÃO:** indica a percentagem de células positivas entre o número total de células.

Antes de se realizar o procedimento de contagem, para o estabelecimento do índice de marcação foi necessário estabelecer:

- O número mínimo de campos a serem avaliados na análise da imunomarcção de linfócitos TCD8+ na amostra.
- A forma de distribuição destes campos em cada região da amostra.

Descreveremos, a seguir, o método utilizado para o estabelecimento deste

número mínimo de campos e para a sua distribuição em cada região. Posteriormente, serão descritos os métodos utilizados para a obtenção do índice de marcação e do grau de marcação.

Não foi possível realizar a análise de imunomarcação para as lâminas incubadas com linfócito TCD4, porque não houve reativação dessas lâminas.

4.4.6.5. Estabelecimento do número mínimo de campos a serem avaliados na análise da imunomarcação para CD8+ em cada região da amostra

Para a determinação do número mínimo de campos a serem avaliados na análise da imunomarcação, foi utilizado o método descrito por Sampaio (1998).

Foi selecionada uma única lâmina para a avaliação de LTCD8+.

Nas lâminas selecionada, foi avaliado o total máximo de campos e quantificados o número total de células positivas. Após a avaliação do número máximo de campos existentes, foram formados, através de sorteio, 20 grupos aleatórios para cada categoria de determinado número de campos, como descrito a seguir:

- 20 grupos aleatórios de 2 campos;
- 20 grupos aleatórios de 4 campos;
- 20 grupos aleatórios de 6 campos;
- 20 grupos aleatórios de 8 campos;
- 20 grupos aleatórios de 10 campos;
- 20 grupos aleatórios de 12 campos;
- 20 grupos aleatórios de 14 campos;

- 20 grupos aleatórios de 16 campos;
- 20 grupos aleatórios de 18 campos;
- 20 grupos aleatórios de 20 campos;
- 20 grupos aleatórios de 22 campos;
- 20 grupos aleatórios de 24 campos;
- 20 grupos aleatórios de 26 campos;
- 20 grupos aleatórios de 28 campos;
- 20 grupos aleatórios de 30 campos;
- 20 grupos aleatórios de 32 campos.

Quando a variável for mensurada em toda a extensão do aumento gengival, onde for possível avaliar 50 campos, as categorias de números de campos obedecerão aos seguintes intervalos: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 e 26 campos.

Para cada um dos 20 campos que forem formados, será gerado um índice a partir da fórmula:

$$\text{Índice} = \frac{\text{Soma do número de células positivas no campo} \times 100}{\text{Soma do número total de células nos campos}}$$

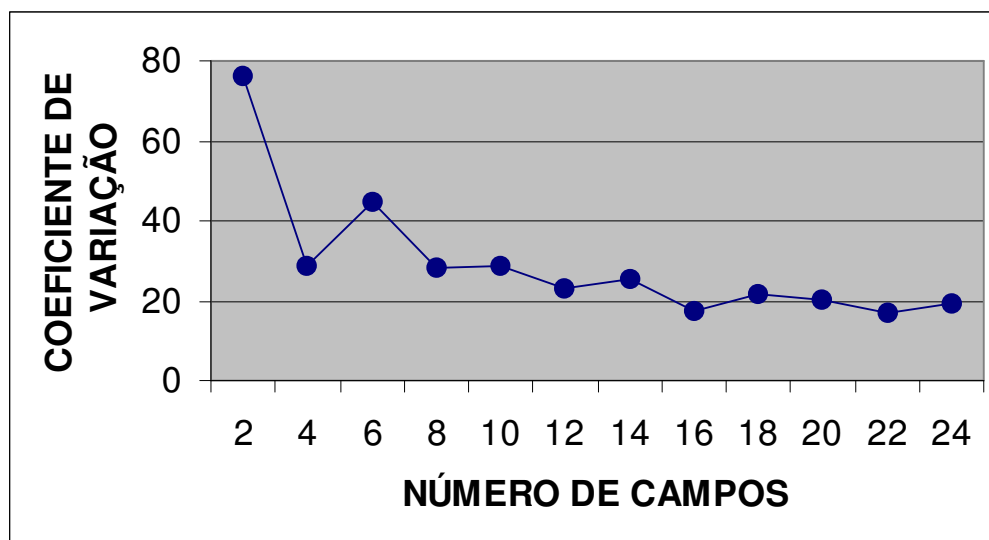
Portanto, serão gerados 20 índices para cada categoria de número de campos. Serão calculadas a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação dos 20 índices. O coeficiente de variação é uma medida de dispersão obtida, dividindo-se o desvio padrão pela média e multiplicando-se este produto por 100. Como cada categoria de número de campos passa a apresentar um coeficiente de variação, torna-se possível a elaboração do gráfico: coeficiente de variação *versus* número de campos.

A tendência lógica desse gráfico é apontar uma diminuição do coeficiente de

variação, na medida em que a categoria de números de campos aumenta. Portanto, o número mínimo de campos a ser avaliado será escolhido a partir do momento em que um aumento do número de campos não reflita uma diminuição significativa no coeficiente de variação.

De acordo com o gráfico 1, foram necessários avaliar 16 campos em cada lâmina.

GRÁFICO 1
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO/ NÚMERO DE CAMPOS



5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para comparar as variáveis estudadas (*Patch test*, índice de placa, índice de sangramento e aumento gengival) e fazer a associação entre *Patch test* e índice de placa, *Patch test* e aumento gengival e *Patch test* e índice de sangramento gengival, foi utilizado o teste Qui-quadrado (X^2) com nível de significância de 0,05 ou 5%, sendo que o valor de $p < 0,05$ indica existência de associação entre as variáveis sob comparação. Foi realizado, também, o procedimento de ajustamento de Fisher, devido ao número reduzido da amostra.

Para a análise de imunoistoquímica (contagem de células CD8+), foi realizada a estatística descritiva (mediana, média, desvio padrão, variância, coeficiente de variação, valor máximo e valor mínimo), além do teste não paramétrico de Mann-Whitney, para verificar se houve diferença significativa entre pacientes *Patch test* positivos e pacientes *Patch test* negativos.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Caracterização da amostra quanto à idade e gênero

A amostra constituiu-se de 22 pacientes, sendo 12 pacientes (54,55%) com idade entre 12 e 15 anos; 9 pacientes (40,90%) entre 16 e 20 anos e um paciente (4,55%) com idade entre 21 e 25 (GRÁFICO2), a média de idade dos pacientes desse estudo foi de 15,9 anos. Esta característica da amostra está de acordo com Prytowsky et al. (1979), que relatam ser na idade entre 10 e 20 anos o período que mais comumente se colocam aparelhos ortodônticos, correspondendo, assim, ao período de maior prevalência de reações alérgicas ao níquel.

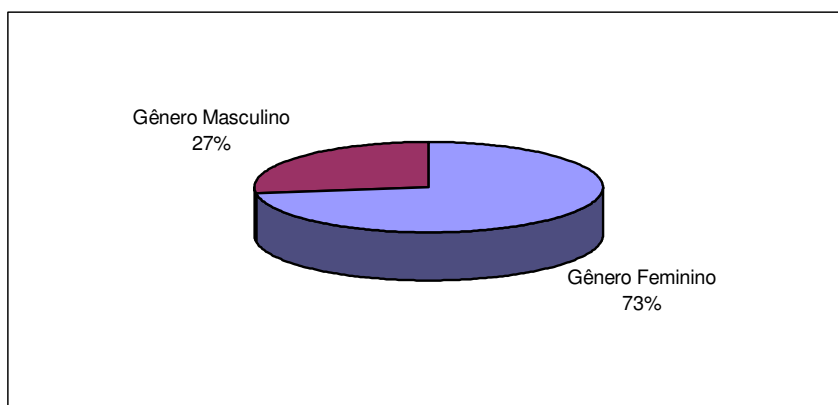
GRÁFICO 2
CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA SEGUNDO A IDADE



Foi observado, também, que 73% da amostra constituiu-se de pacientes do gênero feminino e apenas 27% do gênero masculino (GRÁFICO 3). Este achado,

também, está de acordo com a literatura, uma vez que esta diferença pode ser justificada pelo fato dos pacientes do gênero feminino procurarem o tratamento ortodôntico com uma maior frequência do que os pacientes do gênero masculino, devido às razões estéticas (VILANI, 2003). Além disto, a obtenção da amostra apresentou como critério de inclusão a presença do aumento gengival; este achado é uma das manifestações da reação alérgica ao níquel (MARIOTT,1999; LINDHE,1992). Deve-se considerar, ainda, que a hipersensibilidade ao níquel se apresenta mais freqüente nas mulheres do que nos homens cerca de 10% (PELTONEN, 1979; AL-TAWIL, MARCUSSON e MÖLLEK, 1981; JANSON *et al.*,1994; KEROSUO *et al.*, 1996).

GRÁFICO 3
CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES SEGUNDO O GÊNERO



6.2. Histórico de alergia ao níquel

Segundo Moffa (1982), quanto maior o contato com o níquel, maior a propensão para o paciente desenvolver uma sensibilidade. A partir desse conceito, os pacientes desta pesquisa foram avaliados quanto ao uso rotineiro de objetos contendo metal. Foi encontrado que dois pacientes, um do gênero masculino e outro do gênero feminino, não faziam uso freqüente de objetos metálicos, o que correspondeu a 9,09% da amostra. Três (13,63%) pacientes iniciaram o uso de objetos metálicos após a instalação do aparelho ortodôntico e o restante dos pacientes, ou seja 77,27%, relataram fazer uso de objetos metálicos previamente ao tratamento ortodôntico. Esse achado nos mostra que a maioria dos pacientes (77,27%) relatam contato com o níquel antes do início do tratamento ortodôntico, podendo, assim, já terem sido previamente sensibilizados a este metal. No entanto, Bass, Fine e Cisneros (1993) relataram que o tratamento ortodôntico pode levar a indução de sensibilidade ao níquel, com conseqüente manifestação de reação alérgica. Levando-se em consideração que 77% da amostra apresentava chances de serem sensibilizadas ao níquel, a colocação do aparelho ortodôntico pode ter desencadeado a fase de indução com conseqüente manifestação alérgica nestes pacientes.

Em relação ao histórico familiar de alergia a metais, oito pacientes (36,36% do total da amostra) relataram a ocorrência de alergia, pelo menos em um dos membros da família. Destes oito pacientes, três (37,5%) foram sensíveis ao *Patch test*.

Em relação ao histórico pessoal de alergia, somente quatro pacientes (18,18%) relataram reação alérgica prévia a metais; sendo que destes quatro,

apenas um era *Patch test* positivo. Os outros oito pacientes, que reagiram positivamente ao *Patch test*, não relataram nenhum tipo de história prévia de alergia a metais. Estes achados nos levam a questionar a confiabilidade das informações do questionário histórico, o que está de acordo com Moffa (1984), que observou que a maioria das pessoas tendem a esquecer problemas menores de pele, como por exemplo, reações alérgicas a metais, diminuindo, assim, a confiabilidade do diagnóstico baseado unicamente no questionário histórico.

6.3. Exame clínico e periodontal 1ª etapa

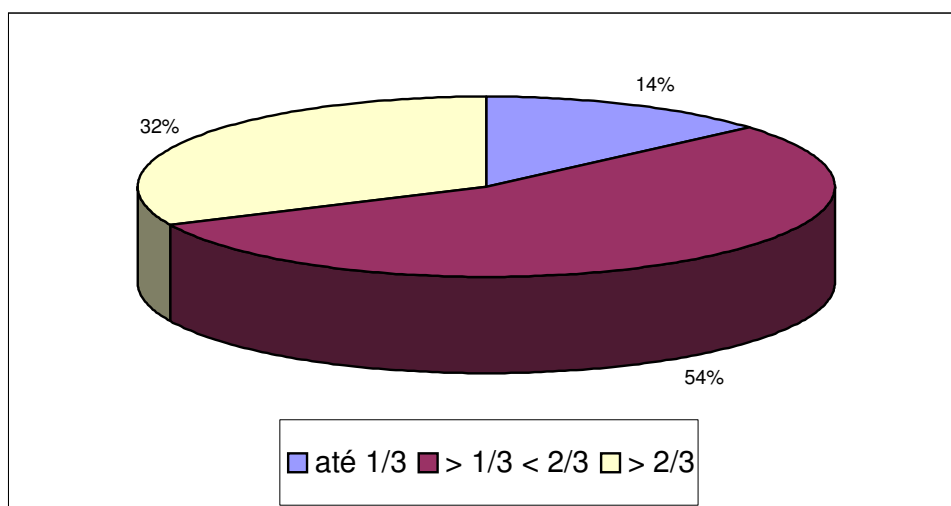
Os sinais de hipersensibilidade podem ser diagnosticados erroneamente ou até mesmo não serem diagnosticados (GREPPI, SMITH, WOODSIDE, 1981); além disto a estomatite é mais difícil de ser detectada clinicamente do que a dermatite. Magnusson *et al.* (1982) relatam que para ocorrer uma reação de hipersensibilidade na cavidade bucal é necessário uma concentração do alérgeno de cinco a 12 vezes mais alta do que a necessária para provocar reação na pele. Segundo Mariotti (1999), as manifestações bucais provocadas pelo níquel incluem ulcerações, hiperplasia gengival, queilite labial descamativa e eritema multiforme. Porém, estas reações não são específicas de uma manifestação alérgica; podem ser decorrentes de situações diversas, como a queilite labial descamativa em pacientes com dimensão vertical de oclusão diminuída e a hiperplasia gengival, em pacientes usuários de certos tipos de medicamentos, tais como, anticonvulsivantes, imunossupressores e bloqueadores de canais de cálcio.

Com o intuito de minimizar a possibilidade dos sinais clínicos sugestivos de hipersensibilidade serem provenientes de outras condições clínicas, que não o processo alérgico ao níquel, foram realizados exames clínico e periodontal criteriosos. Para tanto, foram excluídos da amostra todos os pacientes respiradores bucal (totalizando três pacientes), e usuários de medicamentos passíveis de causarem aumento gengival (totalizando dois pacientes). Logo, dos 27 pacientes selecionados inicialmente, após o histórico de alergia ao níquel, apenas 22 prosseguiram na pesquisa.

Em relação a descamação do lábio e/ ou queilite angular, dos nove pacientes positivos ao *Patch test*, apenas dois (22,22%) apresentaram este achado, o que está de acordo com Rycroft *et al.* (2001), que relatam a queilite angular e ou descamação dos lábios como sinais alérgicos, mas que raramente os lábios estão envolvidos neste processo.

Todos os pacientes selecionados apresentavam aumento gengival, uma vez que esta condição foi adotada como critério de inclusão da amostra. O índice de aumento gengival utilizado neste estudo foi uma modificação do índice de Pernu *et al.* (1992), onde as superfícies vestibulares das coroas dentárias (coroa clínica) foram classificadas de acordo com a quantidade de gengiva que as recobria. Os resultados obtidos em relação a quantidade de aumento gengival foram: Três pacientes com aumento de até 1/3 da coroa dentária (13,64%), doze pacientes com aumento até 2/3 coroa (54,55%) e sete (31,81%) com aumento de mais de 2/3 da coroa dentária (GRÁFICO 4). Logo, 19 pacientes (86,36%) apresentaram aumento gengival superior a 1/3.

GRÁFICO 4
CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA SEGUNDO AUMENTO GENGIVAL
NA 1ª ETAPA



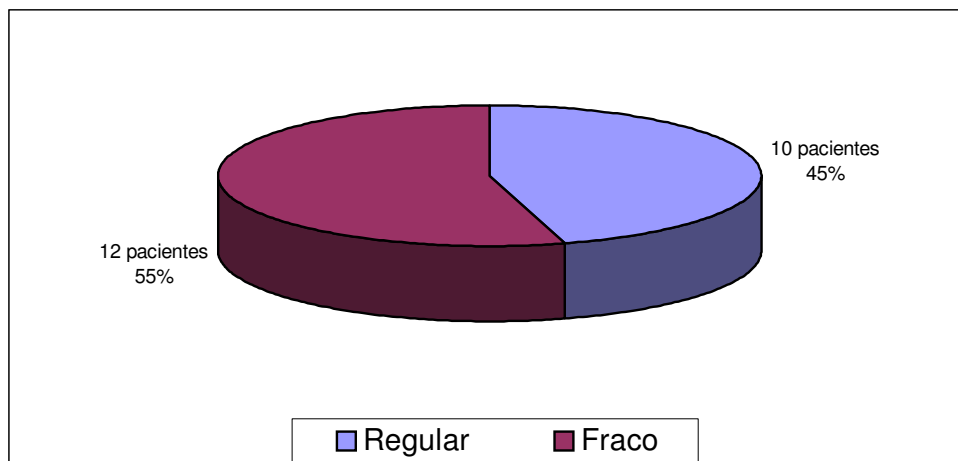
O aumento gengival não é um sinal específico da reação de hipersensibilidade, podendo ocorrer, também, em decorrência de alterações periodontais como, por exemplo, a gengivite causada por controle inadequado do biofilme dentário (VAN DER VELDEN *et al.*, 1991). Foi realizado o controle da placa bacteriana (mecânico e químico) por 30 dias, em todos os pacientes. Após este período, foram realizados, novamente, os exames periodontais de índice de placa, índice de sangramento gengival e profundidade de sondagem.

Um outro aspecto relevante e que deve ser levado em consideração é o fato dos pacientes desta pesquisa serem constituídos, em sua maior parte, de adolescentes; segundo Mariotti (1999), o aumento drástico dos níveis de hormônio esteróides durante a puberdade, tanto para o gênero feminino, quanto para o gênero masculino, provoca um efeito direto no grau de inflamação gengival; efeito este, que pode ser influenciado por uma variedade de fatores tais como: níveis de placa

bacteriana, respiração bucal e apinhamento dentário. Nesta condição, a gengiva se apresenta hiperêmica e edemaciada; justificando assim, mais uma vez, a necessidade do controle do biofilme bacteriano para a manutenção da saúde periodontal.

Em relação ao índice de placa, foi encontrado que nenhum paciente apresentou um bom índice; 10 (45,45%) pacientes apresentaram índice regular e 12 (54,54%) pacientes apresentaram índice fraco (GRÁFICO 5). Este achado nos mostra que nenhum paciente apresentou um índice de placa satisfatório, sugerindo que o aumento gengival pode ser proveniente da sobrecarga bacteriana causada pelo controle inadequado do biofilme dentário, seja de forma direta como irritante local ou de forma indireta aumentando a susceptibilidade do processo corrosivo do aparelho ortodôntico. Segundo Bergman (1986) e Platt *et al.* (1997), a maioria das ligas metálicas usadas na odontologia sofrem alterações em seu comportamento quando em contato com o meio bucal, devido a sua alta susceptibilidade ao processo corrosivo provocado em meio com baixo pH e com grande concentração de íons cloretos. A corrosão, e conseqüente liberação de íons níquel, ocorre porque os produtos metabólicos das colônias de bactérias presentes no biofilme dentário, quando acumulado sobre as superfícies de acessórios ortodônticos, favorecem a uma carência de oxigênio, induzindo a destruição da camada protetora de óxido de cromo (VON FRAUNHOFER, 1997; WICHELHAUS, CULUM e SANDE, 1997).

GRÁFICO 5
CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA SEGUNDO ÍNDICE DE PLACA



No que diz respeito à profundidade de sondagem, uma profundidade superior a 3mm constitui um aprofundamento patológico do sulco gengival, sendo denominado por inúmeros autores de bolsa periodontal (MANSON e ELEY, 1989; RAMFORD e ASH, 1991; CARRANZA e NEWMAN, 1996, LINDHE *et al.*, 1999). A bolsa periodontal pode ser aceita como um conceito quantitativo de doença e a sua avaliação através de medidas de sondagem é necessária para diagnóstico e pesquisa epidemiológica (CAMPOS JÚNIOR *et al.*, 1999). Sendo assim, os pacientes do presente estudo foram submetidos ao exame de profundidade de sondagem por meio de uma sonda milimetrada tipo UNC-15 Hu-Friedy® (sonda periodontal Hufriedy. Chicago Illinois) inserida paralela ao eixo vertical e deslizada em torno dos dentes. Os resultados obtidos foram: 14 pacientes (63,63%) apresentaram uma profundidade de sondagem igual ou superior a 4mm e os outros oito pacientes obtiveram valores inferiores a 4mm. Logo, mais da metade da amostra apresentou um aprofundamento patológico em pelo menos um dos sítios sondados. Porém, este achado deve ser analisado e interpretado com cautela, uma vez que o aumento gengival estava presente em todos os pacientes e pode ter sido uma das causas do aumento da profundidade de sondagem, caracterizando, assim, uma pseudobolsa

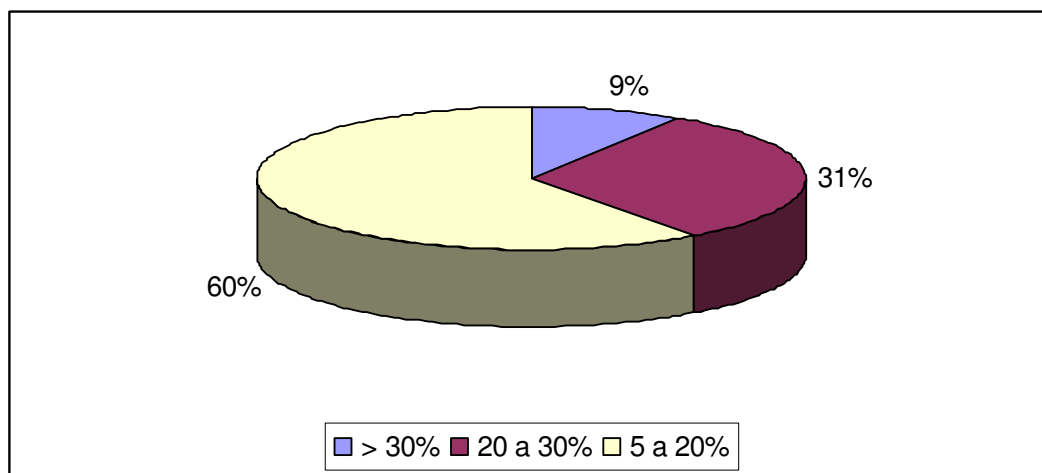
ou bolsa relativa. Esta ocorre quando as alterações patológicas se limitam somente à gengiva; entretanto, a ocorrência da perda de inserção é denominada bolsa periodontal verdadeira ou absoluta (SHAFFER, HINE e LEVY, 1987).

Os níveis de inserção clínica foram também avaliados em todos os pacientes. Foi constatado que não houve aprofundamento a partir da junção cimento esmalte > 2mm em nenhum paciente da amostra; não havendo, assim, nenhum caso de perda de inserção clínica. Foram avaliadas radiografias (periapicais e/ ou interproximais) de todos os pacientes, como auxiliar do diagnóstico para perda óssea interproximal, não sendo constatada nenhuma perda proximal de tecido ósseo. Logo, pode-se afirmar que todos os pacientes da amostra apresentavam bolsa periodontal relativa ou pseudobolsa, caracterizando um processo de gengivite em todos os pacientes.

O sangramento gengival é um sinal precoce de inflamação, provavelmente mais consistente e representativo que alterações visuais isoladas (MEITNER, ZANDER e TILK, 1979). Segundo Toevs e Lukken (1990) o sangramento à sondagem é um indicador seguro da presença de gengivite. Baseado nestes conceitos, foi realizada a avaliação do sangramento gengival à sondagem, por meio do índice de sangramento gengival de Ainamo e Bay, modificado em 1975. Encontrou-se que apenas dois pacientes (9,09%) apresentaram índice de sangramento superior a 30%, a maior parte (60%) encontravam-se com índice de sangramento entre 5% e 20%, e o restante (31%) encontrava-se no intervalo de 20% a 30% (GRÁFICO 6). Este achado sugere que 60% dos pacientes dessa pesquisa não apresentam alto risco para a progressão da doença periodontal, uma vez que o índice de sangramento gengival encontra-se inferior a 20%. Fato que está de acordo com Claffey *et al.* (1990), que relatam que percentuais de sangramento acima de 20%, determinam alto risco para a progressão da doença periodontal. Segundo Shafer, Hine e Levy (1987) a hiperplasia inflamatória tem característica sangrante,

enquanto a hiperplasia fibrosa não mostra tendência ao sangramento. Aproximadamente 90% da amostra apresentou índice de sangramento à sondagem inferior a 30%, resultado este, que sugere que, possivelmente, o aumento gengival apresentado neste grupo de pacientes possui característica fibrosa.

GRÁFICO 6
CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA SEGUNDO SANGRAMENTO GENGIVAL



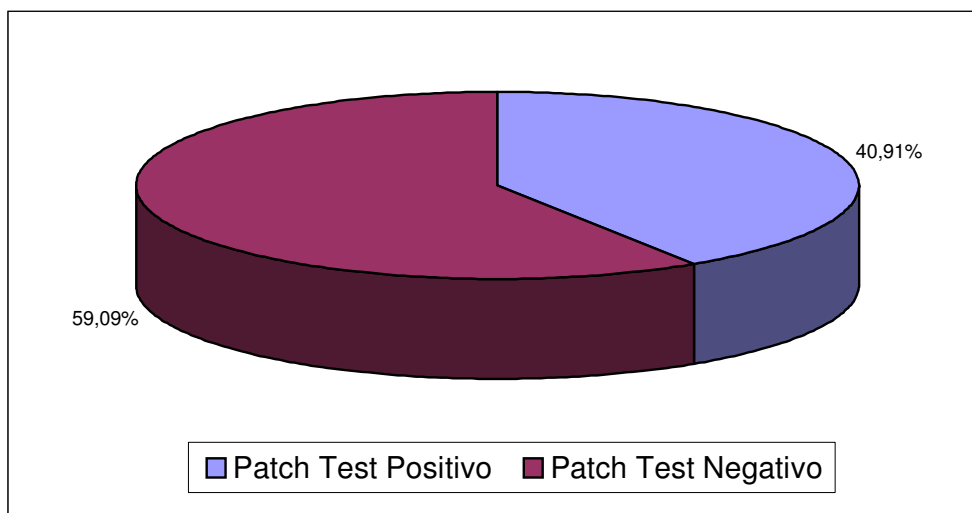
Os resultados clínicos e periodontais desta primeira etapa sugerem que nenhum paciente apresentava periodontite, mas, sim, gengivite, o que pode ser causado tanto por uma higiene bucal inadequada como por uma hipersensibilidade a metais. Para acrescentar mais dados ao possível diagnóstico de alergia, foram, então, realizados o teste de sensibilidade cutânea para o metal níquel, o controle de placa bacteriana pelo profissional, instrução de higiene terapia bucal e o controle químico do biofilme dentário, por meio do uso de clorexidina a 0,12% duas vezes ao dia.

6.3.1. Resultados do teste de sensibilidade cutânea (*Patch test*)

Todos os pacientes selecionados foram então submetidos ao *Patch test* com sulfato de níquel em vaselina a 5%. O resultado foi positivo em 9 (40,91%) pacientes e negativo em 13 (59,09%) pacientes (GRÁFICO 7). A prevalência da reação de hipersensibilidade ao níquel, segundo Blanco-Dalmau, Carrasquillo-Alberti e Silva-Parra (1984), Bass, Fine e Cisneros (1993), Dainesi (1995) e Menezes (1997), está estimada em torno de 15% a 30% da população em geral. No presente estudo foi encontrado uma prevalência de hipersensibilidade em 40,9% da amostra, o que foi superior ao encontrado por esses autores.

Este achado pode ser justificado pelo fato da amostra ter sido escolhida tendo como critério de inclusão o aumento gengival, podendo ser esta condição um dos sinais apresentado no processo alérgico. Além disto, este resultado pode ser também justificado pela maior quantidade de pacientes do gênero feminino, uma vez que as mulheres apresentam até dez vezes mais chances de desenvolver hipersensibilidade, quando comparada aos homens (PELTONEN, 1979; AL-TAWIL, MARCUSSON e MÖLLEK, 1981; JANSON *et al.*, 1994; KEROSUO *et al.*, 1996). Fato que pode estar relacionado também ao maior uso de objetos metálicos pela mulheres, como, por exemplo, brincos com hastes confeccionadas com ligas de níquel ou banhadas a ouro. Segundo Moffa (1982); Blanco-Dalmau, Carrasquillo-Alberti, Silva-Parra (1984); Kerosuo *et al.* (1996) e Rycroft *et al.* (2001), se a camada de ouro for removida, o níquel subjacente pode ser dissolvido pelo suor e causar, assim, uma reação de hipersensibilidade em pacientes sensíveis a esse íon.

GRÁFICO 7
CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA SEGUNDO *PATCH TEST*



No que diz respeito à prevalência de hipersensibilidade em relação ao gênero, foi encontrado que todos os pacientes *Patch test* positivos são do gênero feminino. Este resultado pode ter sido influenciado pela maior proporção de indivíduos do gênero feminino (72,7%) do que do gênero masculino (27,3%) e não de uma amostra pareada. Fato que também pode ser justificado pela maior prevalência de hipersensibilidade ao níquel nas mulheres do que nos homens, devido ao maior contato que possuem com esse metal por meio do uso de bijouterias (PELTONEN, 1979; AL-TAWIL, MARCUSSON e MÖLLEK, 1981; JANSON *et al.*, 1994; KEROSUO *et al.*, 1996; RYCROFT *et al.*, 2001).

6.4. Exame clínico e periodontal na 2ª etapa

Após 30 dias decorridos do controle mecânico e químico da placa bacteriana, todos os pacientes foram reavaliados, submetendo-se a novos exames clínico e periodontal.

De acordo com a tabela 2, pode-se observar que cinco pacientes, que ao 1º exame se encontravam com índice de placa regular ou fraco, considerados índices insatisfatórios, evoluíram para um índice de placa bom, ou seja, satisfatório. Este resultado mostra que dos 22 pacientes (100%) que apresentavam um índice de placa insatisfatório ao 1º exame; cinco (22,73%) evoluíram para um índice de placa satisfatório (TABELA 3).

TABELA 2
ASSOCIAÇÃO ENTRE O 1º E 2º ÍNDICE DE PLACA

Índice de Placa I	Índice de Placa II			Total
	Bom	Regular	Fraco	
Regular	3	6	1	10
	30%	60%	10%	100%
Fraco	2	8	2	10
	16,67%	66,67%	16,67%	100%
Total	5	14	3	22
	22,73%	63,64%	13,63%	100%

Fonte: elaborado pela autora (2005)

TABELA 3
EVOLUÇÃO DO ÍNDICE DE PLACA

Evolução índice de placa	Freq.	Porc.	Cum.
Satisfatório	5	22,73%	22,73
Insatisfatório	17	77,27%	100,00%
Total	22	100,00%	

Fonte: elaborado pela autora (2005)

No entanto, após o controle mecânico e químico da placa esperava-se que todos os pacientes evoluíssem para um bom índice de placa, tal fato não ocorreu.

Este achado pode ser justificado pela dificuldade do paciente de realizar um controle de placa eficiente devido, ainda, a presença de um aumento gengival associado aos acessórios ortodônticos.

Mediante a melhora do controle de placa, esperava-se uma melhora no contorno gengival, principalmente para aqueles pacientes com teste de sensibilidade cutânea negativo para o íon níquel.

Em relação ao aumento gengival pode-se observar que dos 19 pacientes (86,4% do total da amostra) que ao primeiro exame apresentavam aumento gengival superior a 1/3 da coroa clínica; trinta dias após o controle do biofilme dentário, três desses pacientes (15,8%) apresentaram redução do aumento gengival para 1/3 ou menos. No entanto, um paciente do total da amostra, com 1/3 de aumento gengival, passou a apresentar mais de 2/3 de aumento gengival (TABELA 4). Estes resultados nos mostram que, ao final do segundo exame, havia 17 (77,27%) pacientes com aumento gengival superior a 1/3 da coroa clínica, apresentando, assim, indicação cirúrgica (TABELA 5). Este achado pode ser justificado ou por um controle inadequado do biofilme dentário, uma vez que nem todos os pacientes conseguiram obter um índice de placa satisfatório, ou pela característica fibrosa da gengiva que, segundo Shafer, Hine e Levy (1987) se for extensa, não regride espontaneamente, necessitando, assim, de um procedimento cirúrgico para que o contorno gengival

normal seja restabelecido. No entanto, permanece, ainda, a hipótese da persistência do aumento gengival pela presença de hipersensibilidade ao metal níquel.

TABELA 4
ASSOCIAÇÃO ENTRE AUMENTO GENGIVAL 1º E 2º EXAMES

Aumento Gengival I	Aumento Gengival II		Total
	até 1/3	>1/3	
até 1/3	2 67%	1 33%	3 100%
>1/3	3 15,79%	16 84,21%	19 100%
Total	5 22,73%	17 77,27%	22 100%

Fonte: elaborado pela autora (2005)

TABELA 5
EVOLUÇÃO AUMENTO GENGIVAL ENTRE 1º E 2º EXAMES

Aumento gengival	Freq.	Porc.	Cum.
até 1/3	5	0,2273	22,73
> 1/3	17	0,7727	1
Total	22	1	

Fonte: elaborado pela autora (2005)

Com a intenção de investigar a causa do aumento gengival presente nos pacientes desta pesquisa, foi, então, proposto a realização de uma correlação entre o teste de sensibilidade cutânea e os parâmetros clínicos periodontais, com o objetivo de verificar a influência que uma resposta positiva ou negativa ao *Patch test* teria sobre estas variáveis. Além disso, foi, também, proposta as análises histopatológica com o intuito de verificar se o aumento gengival apresentava característica inflamatória granulomatosa ou fibrosa e a análise de imunoistoquímica, para quantificar as células CD8+ e CD4+ maximizando, desta forma, a confiabilidade do diagnóstico de hipersensibilidade ao níquel.

6.5. Associação entre *Patch test* e variáveis estudadas

6.5.1. Associação entre *Patch test* e índice de placa

Após a reavaliação do índice de placa, foi realizado uma associação entre os índices obtidos e a resposta do paciente ao teste de sensibilidade cutânea. O objetivo dessa avaliação foi de verificar se os pacientes positivos ao *Patch test* controlavam melhor o biofilme dentário do que os pacientes negativos ao *Patch test*. Foi encontrado que 84,62% dos pacientes com *Patch test* negativo se apresentavam com índice de placa regular ou fraco, enquanto que os pacientes *Patch test* positivo (66,67%) se apresentavam com o mesmo índice (TABELA 6). Pelo teste Qui-quadrado exato de Fisher, verificou-se contudo que essa diferença não foi significativa, uma vez que $p=0,32$ sendo maior do que 0,05.

Segundo Van Der Velden *et al.* (1991), as manifestações orais provocadas pelo níquel podem estar relacionadas a uma sobrecarga bacteriana proveniente de um controle inadequado do biofilme dentário. Neste estudo pode-se verificar que não houve diferenças estatísticas no controle de placa bacteriana entre os dois grupos (*Patch test* positivo e *Patch test* negativo) logo, esta associação não foi eficiente para auxiliar no diagnóstico de hipersensibilidade ao níquel, sendo necessários exames mais precisos.

TABELA 6
ASSOCIAÇÃO ENTRE *PATCH TEST* E ÍNDICE DE PLACA

Patch Test	Índice de Placa		
	Bom	Regular/Ruim	Total
Negativo	2 15,38%	11 84,62%	13 100%
Positivo	3 33,33%	6 66,67%	9 100%
Total	5 22,73%	17 77,27%	22 100%

Fonte: elaborado pela autora (2005)

6.5.2. Associação entre Patch test e Índice de sangramento gengival

Foi realizada, também, uma associação entre a resposta positiva ou negativa ao *Patch test* e o índice de sangramento gengival, para verificar se havia diferenças significativas entre os dois grupos. Encontrou-se que dois pacientes (15,4%), com resposta negativa ao *Patch test*, apresentaram índice de sangramento gengival superior a 30%, enquanto apenas um paciente (11,1%), com resposta positiva ao *Patch test*, apresentou índice de sangramento gengival superior a 30% (TABELA 7). Porém, esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=1,00$), ou seja, nesta amostra não foi detectada associação entre o resultado do *Patch test* e o índice de sangramento gengival. Com este resultado e baseado nos achados de Claffey *et al.* (1990), pode-se afirmar, mais uma vez, que estamos diante de uma amostra que não apresenta um alto risco para a progressão da doença periodontal, levando-se em consideração que 86,36% dos pacientes desta amostra apresentaram um índice

de sangramento gengival inferior a 30%. Fato que, também, sugere uma amostra com tecido gengival de característica fibrótica.

TABELA 7
ASSOCIAÇÃO ENTRE *PATCH TEST* E ÍNDICE DE
SANGRAMENTO GENGIVAL

Patch Test	Índice de Sangramento		
	<30%	>30%	Total
Negativo	11 84,62%	2 15,38%	13 100%
Positivo	8 88,89%	1 11,11%	9 100%
Total	19 86,36%	3 13,64%	22 100%

Fonte: elaborado pela autora (2005)

6.5.3. Associação entre *Patch test* e aumento gengival

A proporção de pacientes, com aumento gengival superior a 1/3 da coroa clínica do dente, foi maior entre os pacientes com resultado positivo ao *Patch test*, quando comparado aos pacientes com resultado negativo ao *Patch test*, na proporção de 88,9% versus 69,2% (TABELA 8). Porém, pelo teste do Qui-quadrado com correção de Fisher não foi detectada uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,36$); fato que pode ser justificado pelo tamanho da amostra; geralmente, em amostras de menor tamanho os testes estatísticos não conseguem detectar diferenças significantes, o que não invalida os achados clínicos.

TABELA 8

ASSOCIAÇÃO ENTRE *PATCH TEST* E AUMENTO GENGIVAL

Patch Test	Aumento Gengival		
	até 1/3	> 1/3	Total
Negativo	4 30,77%	9 69,23%	13 100%
Positivo	1 11,11%	8 88,89%	9 100%
Total	5 22,73%	17 77,27%	22 100%

Fonte: elaborado pela autora (2005)

No presente estudo, foi encontrado que os pacientes *Patch test* positivos apresentavam aumento gengival de 2/3 ou mais de 2/3, 19,66% a mais do que os pacientes *Patch test* negativos. O aumento gengival é um dos indicadores da reação de hipersensibilidade, porém, não é um sinal específico desta reação. Baseado nos achados de Mariott (1999) de que a inflamação gengival se reverte com a remoção da causa, esperávamos que os pacientes negativos ao *Patch test*, através do controle do biofilme dentário, reduzissem também o aumento gengival, não tendo, desta forma, indicação cirúrgica. Fato que não ocorreu e pode ser justificado por um controle inadequado do biofilme dentário pelos pacientes *Patch test* negativos, ou pela presença de um tecido gengival com característica fibrosa, achado que está de acordo com Shafer, Hine e Levy (1987), que relatam que se a hiperplasia gengival fibrosa for extensa, ela não regride espontaneamente, estando, assim, indicado um procedimento cirúrgico. Pode-se também levantar a hipótese de alergia a outros metais componentes do aparelho ortodôntico.

Com o intuito de verificar a característica histopatológica do aumento gengival presente, faz-se necessário realizar o exame histopatológico, onde se pode verificar mudanças no aumento ou redução da quantidade de colágeno e infiltração de

células inflamatórias.

Porém, o exame histopatológico não é um exame específico para determinar se o aumento gengival é proveniente de um processo alérgico ou de uma inflamação periodontal. Ficam ainda, dúvidas a respeito da ocorrência de resultados falso positivo ou falso negativo e, ainda, se a persistência do aumento gengival é uma consequência da hipersensibilidade ao níquel desprendido do aparelho ortodôntico e seus componentes metálicos ou é apenas devido a característica fibrosa do tecido. Para solucionar esta questão, faz-se necessário um exame mais preciso que possibilite resultados mais fidedignos. Foi proposto, então, o teste de imunoistoquímica.

Para facilitar a conclusão dos achados, foi realizada a divisão dos pacientes em grupos.

6.6. Divisão dos pacientes em grupos e avaliação histopatológica e de imunoistoquímica

Após a reavaliação dos parâmetros clínicos periodontais, os pacientes foram subdivididos em quatro grupos, sendo que o critério de inclusão dos pacientes em cada grupo foi a resposta positiva ou negativa ao *Patch test* e a presença ou ausência de aumento gengival. Esta subdivisão teve a finalidade de verificar uma possível correlação entre controle do biofilme dentário e melhora no contorno gengival, e a persistência do aumento gengival com hipersensibilidade ao níquel.

A) Grupo I, apresentou um paciente: positivos ao *Patch test*, que após o controle de placa, obteve melhora no contorno gengival.

B) Grupo II, constituído de oito pacientes: positivos ao *Patch test* que, após o

controle de placa, ainda persistiram com o tecido gengival aumentado.

C) Grupo III, constituído de seis pacientes: negativos ao *Patch test*, que após o controle de placa, obtiveram melhora no contorno gengival.

D) Grupo IV, constituído de sete pacientes: negativos ao *Patch test* que, após o controle de placa, ainda persistiram com o tecido gengival aumentado.

Dos nove pacientes que responderam positivamente ao *patch test*, apenas um obteve melhora no contorno gengival. Os outros oito pacientes *Patch test* positivos permaneceram com aumento gengival (2/3 ou + 2/3). Este achado está de acordo com Mariotti (1999), que relata que a hiperplasia gengival é uma das manifestações orais provocadas pelo níquel. Nos pacientes hipersensíveis ao níquel, não era esperado uma melhora no contorno gengival apenas se controlando o biofilme dentário. Para que houvesse melhora gengival, deveria ser removido o fator causal, ou seja, o aparelho fixo e componentes ortodônticos que apresentassem níquel em sua composição.

A melhora do contorno gengival da paciente *Patch test* positivo pode ser justificada pela possibilidade desta paciente ter apresentado um resultado falso positivo, devido a uma reação cruzada, ou seja, ter detectado alergia a outros metais que não o níquel. Este achado está de acordo com Van Loon *et al.* (1988) e Spiechowicz *et al.* (1984), que advertem a possibilidade do *Patch test* apresentar um risco de gerar resultados falso positivo ou falso negativo.

Naqueles pacientes negativos ao *Patch test*, foi esperado uma melhora do contorno gengival conseqüente ao controle adequado da placa bacteriana. No entanto, apenas seis dos 13 pacientes obtiveram essa melhora; sendo que, dos seis pacientes que melhoraram o contorno gengival, apenas dois atingiram o nível de até 1/3 da coroa clínica, os outros quatro pacientes permaneceram com aumento gengival de 2/3. Este achado pode ser justificado pela possibilidade destes pacientes apresentarem um aumento gengival devido à hiperplasia fibrosa.

6.6.1. Cirurgia de gengivectomia e exame histopatológico

Após o controle químico e mecânico do biofilme dentário, apenas cinco (22,72%) pacientes obtiveram um contorno gengival aceitável, ou seja, com recobrimento da coroa clínica do dente até 1/3. Os outros 17 (77,27%) pacientes permaneceram com aumento gengival de 2/3 ou mais, estando, assim, indicado o procedimento cirúrgico para restabelecer o contorno gengival normal, melhorar a estética e facilitar o controle de placa pelo próprio paciente.

Dos 17 pacientes com necessidade cirúrgica, apenas 12 consentiram a realização da gengivectomia, sendo sete pacientes positivos ao *Patch test* e cinco negativos ao *Patch test*.

O tecido gengival removido foi enviado para análise histopatológica, e o resultado obtido foi que 11 (91,66%) pacientes apresentaram um aumento gengival devido a hiperplasia fibrosa, apenas um (8,33%) paciente apresentou este aumento devido a um processo inflamatório inespecífico. Todos os cinco pacientes *Patch test* negativo apresentaram um tecido gengival de característica fibrosa, fato que justifica a não regressão espontânea do tecido gengival desses pacientes mesmo após o controle do biofilme dentário; achado que está de acordo com SHAFER, HINE E LEVY em 1987.

6.6.2. Exame de imunoistoquímica

Foi realizada reação de imunoistoquímica por meio da técnica da estreptavidina-biotina no tecido gengival aumentado dos 12 pacientes que consentiram o procedimento de gengivectomia; sendo sete pacientes com reação

positiva e cinco pacientes com reação negativa ao *Patch test*. O objetivo foi de verificar a resposta imune induzida pelo níquel através da quantificação dos linfócitos TCD8+ presentes no tecido conjuntivo de pacientes alérgicos e não alérgicos a este metal.

Como grupo controle foram utilizados tecidos gengivais de dois pacientes que não estavam em tratamento ortodôntico e não apresentavam sinais clínicos de inflamação gengival; sendo a gengivectomia realizada para fins estéticos.

Os resultados mostram que, para os pacientes *Patch test* positivos, a média aritmética do índice de imunomarcção para CD8 foi 4,5%, o desvio padrão foi 29,9% e o coeficiente de variação foi 66,37%. Para os pacientes *Patch test* negativos a média foi de 2,67%, o desvio padrão 1,5% e o coeficiente de variação 56,08%. Para os pacientes controles, a média aritmética foi 11,95%, o desvio padrão 7,87% e o coeficiente de variação 65,84 (TABELA 9). Pode-se observar que houve uma diminuição do índice de imunomarcção para CD8+ no tecido conjuntivo de pacientes *Patch test* positivos bem como *Patch test* negativos quando comparados ao grupo controle; resultado que está de acordo com Girolomon *et al.*, 2001, citado por Cavani *et al.*, 2003 que relatam que a resposta imune silenciosa ao níquel, ocorre tanto em pacientes alérgicos quanto em pacientes não alérgicos, sendo que a ocorrência dessa resposta imune patológica depende do equilíbrio entre o agressor e as células T envolvidas. Achado que também está de acordo com Sivennoinen-kassinen *et al.* (1992) que relatam que em indivíduos alérgicos ao níquel, as células CD8+ encontram-se pouco expressivas.

Por meio do teste não paramétrico de Mann-Whitney, observou-se que esses resultados não foram estatisticamente significativos quando houve comparação dos

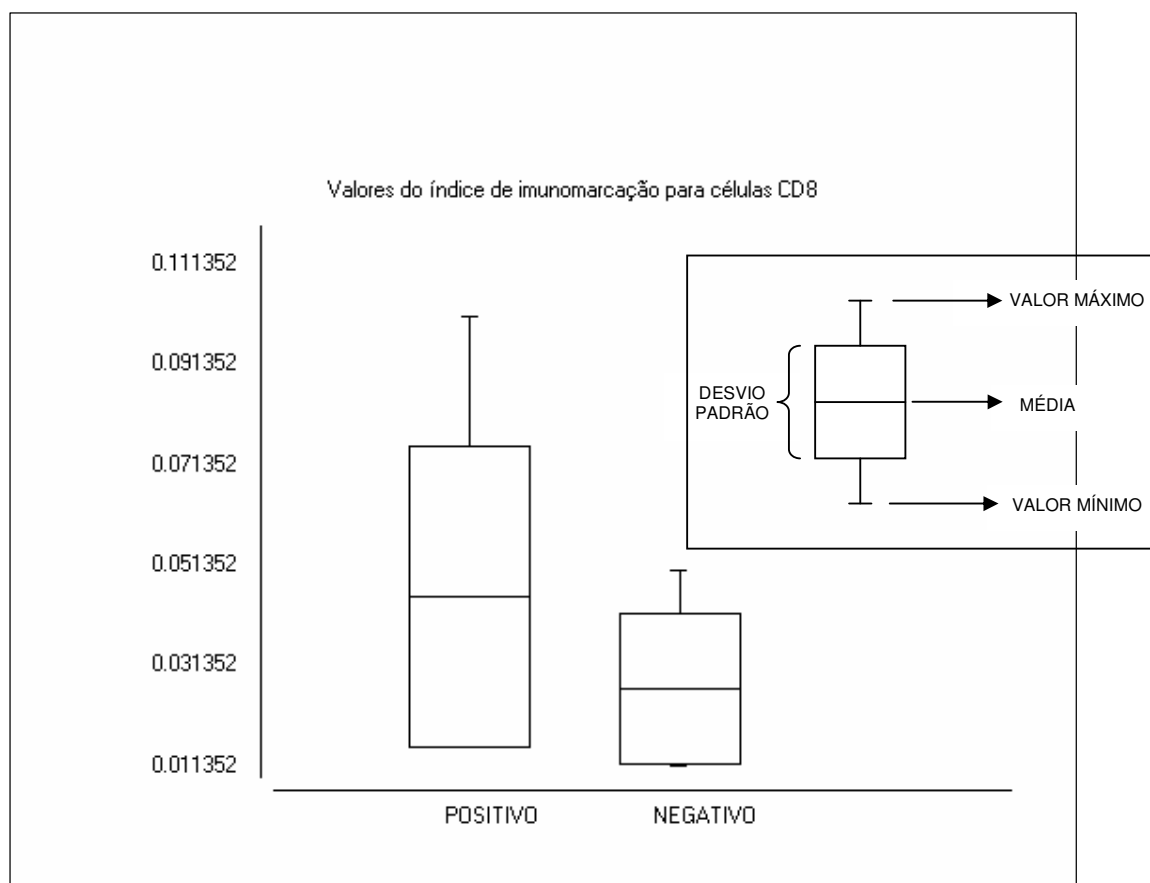
resultados do índice de imunomarcção para CD8 entre os pacientes positivos e negativos (GRÁFICO 8).

TABELA 9
ESTATÍSTICA DESCRITIVA PARA IMUNOISTOQUÍMICA

Amostra	Patch test positivo	Patch test negativo	controle
Média aritmética	4,51%	2,67%	11,95%
Desvio padrão	29,9%	1,5%	7,87%
Coeficiente Variação	66,37%	56,08%	65,84%
Valor máximo	10,09%	5,03%	17,51%
Valor mínimo	1,51%	1,14%	6,38%

Fonte: elaborado pela autora (2005)

GRÁFICO 8



Fonte: elaborado pela autora (2005)

O fato do teste de imunoistoquímica não ter sido estatisticamente significativo pode ser explicado pela padronização amostra, que teve um rigor muito grande nos critérios de inclusão e exclusão dos pacientes na pesquisa, limitando dessa forma o número de pacientes. Outro fato a ser considerado foi a impossibilidade neste estudo da separação dos pacientes *Patch test* positivos em grupos distintos de acordo com a intensidade da reação alérgica apresentada por eles (fraca, moderada ou forte), o que interferiu na análise dos resultados.

Percebeu-se uma redução no índice de imunomarcagem para CD8+ entre o grupo controle e o avaliado; sugerindo-se que possa haver diferença significativa em uma amostragem maior. Sugere-se, também a realização da quantificação das células CD4+ para posterior correlação entre estas e os pacientes *Patch test* positivo e negativo em suas distintas graduações; o que também foi sugerido por SIVENNOINEN-KASSINEN *et al.*,1992.

7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no modelo de estudo proposto pode-se concluir que:

- 1- No presente estudo, a incidência de pacientes sensíveis ao *Patch test* foi de 40,9%, sendo todos os pacientes do gênero feminino.
- 2- Os parâmetros clínicos e periodontais de índice de placa, profundidade de sondagem, índice de sangramento gengival e aumento gengival não foram conclusivos para diagnóstico de alergia.
- 3- Foi observado em 90% dos pacientes, um tecido gengival de característica fibrótica, ao exame histológico.
- 4- Houve uma tendência à diminuição do índice de imunomarcção no tecido conjuntivo de pacientes *Patch test* positivo e *Patch test* negativo quando comparados ao grupo controle, sugerindo processo inflamatório.
- 5- O teste de sensibilidade cutânea apresentou-se como um importante auxiliar no diagnóstico de alergia ao níquel.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AĞAOĞLU, G. *et al.* Nickel levels in the saliva and serum of orthodontic patients. **Angle Orthod.** Appleton, v.71, n.5, p.375-379, Oct. 2001.

AGRUP, G. Sensitization induced by Patch testing. **Br. J. Dermatology.** Lund, v.80, p.631-634, july 1968.

AINAMO, J.; BAY I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. **Int Dent J.** London, v.25, n.4, p.229-235, Dec. 1975.

AL-TAWIL, N. B.; MARCUSSEON, J.; MÖLLEK, E. Lymphocyte transformation test in patients with nickel sensitivity: An aid to diagnosis. **Acta Dermatovener**, Stockholm, v.61, p. 511-515, 1981

ARMITAGE, G. C. Clinical evaluation of periodontal diseases. **Periodontology 2000.** Copenhagen, v.07, p.39-53, 1995.

BARRETT, R. D.; BISHARA, S. E.; QUINN, J. K. Biodegradation of orthodontic appliances. Part I. Biodegradation of nickel and chromium in vitro. **Am J Orthod Dentofacial Orthop.** Saint Louis, v.103, n.1, p.8-14, Jan. 1993.

BASS, J.K.; FINE, H.; CISNEROS, G. J. Nickel hypersensitivity the orthodontic patient. **Am J Orthod. Dentofac. Orthop.** Saint Louis, v.103, n.3, p.208-285 Mar.1993.

BENNETT, B. G. Exposure of man to environmental nickel – An exposure commitment assessment. **The Science of the total enviroment.** Amsterdam, v.22, n.3, p.203-212, 1982.

BERGMAN, M. Corrosion in the oral cavity. Potencial local and systemic effects. **Int Dent J.** London, v.36, n.1, p.41-44, Mar. 1986.

BISHARA, S. E. Oral lesions caused by an orthodontic retainer: A case report. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, Saint Louis, v. 108, n.2, p.115-117, Aug. 1995.

BLANCO-DALMAU, L.; CARRASQUILLO-ALBERTI, H.; SILVA-PARRA, J. A study of nickel allergy. **J Prosthet Dent**. Saint. Louis, v.52, n.1, p.116-119, July 1984.

CAMPOS, J. A.; LORENÇO, E. J. V.; TABA J., M.; ARAGONIS, L. C. A. **Diagnóstico clínico das doenças periodontais**. In: TUNES, U. R. E; RAPP, G. E. (Coord) Atualização em periodontia e implantodontia. São Paulo: Artes Médicas, 1999. p. 84-117.

CARRANZA, F. A. **Periodontia clínica**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992, 754p.

CARVALHO, L. P. Eczemas por contato. In: NEGREIROS, B; UNGIER, C. **Alergologia clínica**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1995. Cap. 7, p.350-361.

CAVANI, A.; OTTAVIANI, C; NASSORI, F; SEBASTIANI, S.; GIANPIERO G. Immunoregulation of haptens and drug induced immune reactions. **Curr Opin Allergy Clin Immunol**. Roma, v.3, n.4, p. 243-247, June 2003.

CARRANZA, J. F. A.; NEWMAN, M. G. **Clinical Periodontology**. 8.ed. Pennsylvania: W. B. Saunders Company, 1996, 782 p.

CLAFFEY, N.; NYLUND, K.; KIGER, R.; GARRETT, S.; EGELBERG, J. Diagnostic predictability of scores of plaque, bleeding, suppuration, and pocket depths for probing attachment loss. 3 ½ years of observation following initial therapy. **Journal Clinical. Periodontology**, Copenhagen, v.17, n.2, p.108-114, Feb. 1990.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins: Patologia Estrutural e Funcional**, 6.ed., Guanabara Koogan, 2000, 1251p.

DAINESI, E. A. **Estudo da reação de hipersensibilidade ao níquel, antes, durante e após a terapia ortodôntica corretiva fixa**. 1995. 135f. Dissertação (Mestrado em odontologia-Ortodontia) - Faculdade de odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru.

DEGUCHI, T. *et al.* Trial production of Titanium Orthodontics Brackets Fabricated by Metal Injection Molding (MIM) with Sintering. **J Dent Res**. Washington, v.75, n.7, p.1491-1496, July 1996.

DUNLAP, C. L.; VINCENT, S. K.; BARKER, B. F. Allergic reaction to orthodontics wire: report case. **J Am Dental Assoc.** Chicago, v.118, n.4, p.449-450, Apr. 1989.

ELIADES, T.; ELIADES, G.; BRANTLEY, W.A. Orthodontic Brackets. In: BRANTLEY, W.A.; ELIADES, T. **Orthodontic materials: scientific and clinical aspects.** New York: T.Thieme, 2001, cap.7, p. 143-171.

ELIADES, T.; ATHANASIOU, E. Vivo aging of orthodontic alloys: Implications for corrosion potential, nickel release, and biocompatibility. **Angle Orthod.** Appleton, v.72, n.3, p.222-237, 2002.

ELIADES, T. *et al.* Nickel Content of As-Received and Retrieved NiTi and Stainless Steel Archwires: Assessing the Nickel Release Hypothesis. **Angle Orthod.** Appleton, v.74, n.2, p. 151-154, 2004.

EVERNESS, K. M. *et al.* The discrimination between nickel-sensitive and non-nickel-sensitive subjects by an in vitro lymphocyte transformation test. **British. Journal Dermatology.** v. 122, n. 3, p. 293-298, Mar. 1990.

FERNANDEZ-BOTRAN, R. *et al.* Lymphokine-mediated regulation of the proliferative response of clones of T helper 1 and T helper 2 cells. **Journal Exp Med.** v.168, p.543-558, 1988.

FISHER, A.; SHAPIRO, A. Allergic Eczematous Contact Dermatitis due to metallic nickel. **J.A.M.A.** v.161, n.8, p.717-721, June 1956.

GONTIJO, Luciana de Paula. **Variação angular da curvatura, composição química e resistência da base de bráquetes *straight-wire*:** um estudo comparativo, entre marcas comerciais. 2001. 83f. Dissertação (Mestrado em odontologia- Ortodontia)- Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GREPPI, A. L.; SMITH, D. C.; WOODSIDE, D. G. Nickel hypersensitivity reactions in orthodontic patients: A literature review. **Univ. Tor. Dent. J.** Toronto, v.3, n.1, p.11-14, 1981.

GRIMSDOTTIR, M. R.; GJERDENT, N. R.; HENSTEN-PETTERSEN, A. Composition and in vitro corrosion of the orthodontic appliances. **Amercian Journal Orthodontics Dentofacial orthopedics.** Saint Louis, v.101, p.526-532, June 1992.

GWINNETT, A. J. Corrosion of resin-bonded orthodontic brackets. **Am J Orthod.** Saint Louis, v.82, n.6, p.441-446, june 1982.

HAMULA, D. W.; MAULA W.; SERNETZ F. Pure Titanium Orthodontics Brackets. **J. Clin Orthod.** Boulder, n.3, Mar. 1996.

HUANG, T.; YEN, C; KAO, C. Comparison of ion release from new and recycled orthodontic brackets. **Am J Orthod Dentofacial Orthop.** Saint Louis, v.120, n.1, p. 68-75, July 2001.

JANSON, G.R.P *et al.* Avaliação clínica da reação de hipersensibilidade ao níquel nos pacientes em tratamento ortodôntico. **Ortodontia.** São Paulo, v.27, n.2, p.31-37, maio/jun/jul./ago,1994.

JANSON, G.R.P. *et al.* Nickel hypersensitivity reaction , during, and after orthodontic therapy. **Am J Orthod Dentofacial Orthop.** Saint Louis, v.113, n.6, p.655-660, june 1998.

JOSS, A; ADLER, R.; LANG.N.P. Bleeding on probing: a parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. **Journal Clinical. Periodontology,** Copenhagen, v.21, p.402-408, 1994.

KALKWARF, K. I. Allergic gingival reaction to esthetic crowns. **Quintessence Int.** Berlin, v.15, n.7, p.741-745, July 1984.

KEROSUO, H. *et al.* Nickel allergy in adolescents in relation to orthodontic treatment and piercing of ears. **Am J Orthod Dentofacial Orthop,** Saint Louis, v. 109, n.2, p.148-154, Feb.1996

KEROSUO, H. ; MOE, G.; HENSTEN-PETTERSEN, A. Salivary nickel and chromium in subjects with different types of fixed orthodontic appliances. **Am J Orthod Dentofacial Orthop,** Saint Louis, v. 111, n.6, p.595-598, June 1997.

LENZA, M. A. *et al.* Prevalência de hipersensibilidade ao níquel em pacientes sob tratamento ortodôntico. **Revista da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás.** Goiânia, v.1, n. 1, p.13-17, Jul-Dez 1997.

LIDÉN, C.; MENNÉ, T.; BURROWS, D. Nickel-containing alloys and platings and their ability to cause dermatitis. **British Journal Dermatology**. v.134, p.193-198, 1996.

LINDHE, J. Epidemiologia da doença periodontal. In: LINDHE, J. (Org.). **Tratado de Periodontologia Clínica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p. 42-57.

LINDHE, J. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 720 p.

LINDHE,S.; RYLANDER,H. Experimental gingivitis in young dogs. **Scandinavian Journal of Dental Research**, Copenhagen, v.83, p.314-326, 1975.

LÖE, H.; SCHIOTT, C. R. The effect of mouth rinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. **Journal of Periodontal Research**. n.5, p. 79-83, 1970.

MAGNUSSON, B. *et al.* Niquel allergy and niquel-containing dental alloys. **Scand. J. Dent. Res.** Copenhagen, v.90, p.163-167, apr. 1982.

MANSON, J. D.; ELEY, B.M. **Manual de Periodontia**. 2.ed. São Paulo: Santos, 1989. 278p.

MARIOTTI, A. Dental Plaque Induced Gengival Diseases. **Am Periodontology**. Ohio, v.4, p.7-17,dez. 1999.

MARIGO, M. **Avaliação do perfil imunológico de pacientes sensíveis ao níquel provenientes de aparelhos ortodônticos fixos**. 1999. 117f. Tese (Doutorado em Ciências – Ortodônticas) Faculdade de odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba.

MARIGO, M. et al. Evaluation of immunologic profile in patients with níquel sensitivity due to use of fixed orthodontic appliances. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**. Saint Louis, v.124, p.46-52, 2003.

MARCUSSEN, V. P. Specificity of Patch test with 5% nickel sulphate. **Acta Dermato-Veneriologica**. Copenhagen, v.39, p.187-195, 1959.

MARIOTTI, A. Dental Plaque-Induced Gingival Diseases. **Ann Periodontol**. Ohio, v.4, n.1, Dec. 1999.

MARKS, J. G.; DELEO, JR. V. A. **Contact and occupational dermatology**. Saint Louis: Copyright, 1992. 346p.

MATASA, C. G. Attachment corrosion and its testing. **J Clin Orthod**, Boulder, v. XXIX, n.1, p.16-23, Jan. 1995

MEITNER, S. W.; ZANDER, H. A.;TILK, M. A. Identification of inflamed gingival surfaces. **J. Clin. Periodont**. Copenhagen,v.6, n.2, p.93-97, Apr. 1979.

MENEZES, L. M. et al. Reação alérgica em pacientes ortodônticos: Um caso clínico. **Ortodontia Gaúcha**. Porto Alegre, v.1, p.51-56, Abr. 1997.

MOFFA, J.P. Biological effects of nickel-containing dental alloys-Council On Dental Materials, Instruments And Equipment. **JADA**. Birmingham, v.104, n.4, p.501-505, Apr.1982.

MOFFA, J. P. Biocompatibility of nickel based dental alloys. **CDA Journal**, v.12, n.10, p.45-51, Oct. 1984.

PARK, H. Y.;SHEARER, T. R, In vitro release of nickel and chromium from simulated orthodontic appliances. **Am J Orthod**. Saint Louis, v.84, n.2, p.156-159, Aug.1983.

PELTONEN, L. Nickel sensitivity in the general population. **Contact Dermatitis**, v.5, n.1, p.27-32, Jan. 1979.

PERNU, H, E. et al. Gingival overgrowth among renal transplant recipients related to immunosuppressive medication and possible. **J Periodontol**. Chicago, v.63, n.6, p.548-553, june 1992.

PLATT, J. A. et al. Corrosion behavior of 2205 duplex stainless steel. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**. Saint Louis, v.112, n.1 p. 69-79, july 1997.

PRYSTOWSKY, S. D.; et al. Allergic contact Hypersensititivity to nickel neomycin, ethyldiamine, and benzocaine. **Acta Dermatolol**. v.115, n.8, p.959-962, Aug. 1979.

RAHILLY, G.; PRICE, N. Nickel allergy and orthodontics. **Journ of orthod.** Londres, v.30, n. 2, p.171-174, June 2003.

RAMFJORD, S. P.; ASH, A. **Periodontologia e Periodontia**: teoria e prática moderna. São Paulo: Santos, 1991. 364p.

RANNEY, R. R. Differential diagnosis in clinical trial of therapy for periodontitis. **J. Periodontol.** Chicago, v.63, n.12, p.1052-1057, Dec. 1992 (supplement).

RYCROFT, R. J. G. *et al.* **Textbook of contact dermatitis**. 3.ed. Berlim: Springer, 2001. 1114p.

SHAFFER, W.G.; HINE, M. K; LEVY, B.M. **Tratado de patologia bucal**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. 837p.

SHELLEY, B.W. Gengival Hyperplasia from Dental Braces. **Cútis**. Peoria, v.28, p. 149-150, Aug. 1981.

SEYMOUR, G.J.; GREENSPAN J. S. The phenotypic characterization of lymphocyte subpopulation in established human periodontal disease. **Journal Periodont Rest.** v.14, p.39, 1979.

SCHULTZ, J.C. *et al.* Cutaneous and Oral Eruption from Oral Exposure to Nickel in Dental Braces. **American Contact Dermatitis Society**. Minneapolis, v.15, n.3, p.154-157, Jan. 2005.

SILVENNOINEN-KASSINEN, S. *et al.* Mononuclear cell subsets in the nickel-allergic reaction in vitro and in vivo. **Journal Allergy Clin. Immunol.** Illinois, v.89, n.4, p. 794-800, Apr. 1992.

SPIECHOWICZ, E. *et al.* Oral exposure to a nickel-containing dental alloy of persons with hypersensitive skin reactions to nickel. **Contact dermatitis**. Compenhagen, v.10, n.4, p.206-211, Apr. 1984.

TOEVS, S.E., LUKKEN, K.M. Bleeding as an indicator of health or disease; clinical application of this parameter. **J. Dent. Hyg.** Chicago, v.64, n.6, p.256-259, July-Aug, 1990.

TOLEDO, B. E. C.; ROSSA JÚNIOR, C. Influência das condições sistêmicas sobre as condições periodontais e das doenças periodontais sobre as condições sistêmicas. In: TUNES, U. R.; RAPP, G. E. **Atualização em Periodontia e Implantodontia**. São Paulo: Artes Médicas, 1999. Cap. 3, p.31-60.

VAN LOON, L.; et al. T-Lymphocyte and Langerhans cell distribution in normal and allergically induced oral mucosa in contact with nickel-containing dental alloys. **J Oral Pathol**. Amsterdam, v.17, n.3, p. 129-137, Fev. 1988.

VAN DER VELDEN, U. *et al.* The onset of periodontal destruction. **J. Clin. Periodontol.**, Chicago, v.18, n.6, p.380-383, July 1991.

VINCENT, G. K. Esthetics: The Orthodontic-Periodontic Restorative Connection. **Semin Orthod**. Seattle, v.2, n.1, p. 21-30, Mar. 1996.

VILANI, G.N.L. **A utilização do seio frontal como indicador da maturidade esquelética**. 2003. 156f. Dissertação (Mestrado em Ortodontia - Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais). Belo Horizonte.

VON FRAUNHOFER, J. A. Corrosion of orthodontic devices. **Semin Orthod**, Birmingham, v.3, n.3, p.198-205, Sep. 1997

VREEBURG, K.J.J., et al. Induction of immunological tolerance by oral administration of nickel and chromium. **J Dent Res**. Washington, v.62, n.2, p.124-128, Feb. 1984.

WICHELHAUS, A.; CULUM, T.; SANDER, F. G. Investigaciones relacionadas com la composición de la superficie de las aleaciones que se utilizan en ortodoncia, con una consideración especial para el porcentaje que contienen de níquel. **Rev Esp Ortod**, v.27, p.45-60, 1997

ANEXO A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: Reação alérgica ao aparelho ortodôntico fixo: Avaliação clínica, periodontal, histopatológica e imunoistoquímica.

Este termo de consentimento pode conter palavras que você não entenda. Peça ao pesquisador que explique as palavras ou informações que você não entenda completamente.

1. Introdução

Você está sendo convidado (a) a participar de um projeto de pesquisa. Se você decidir participar dele, é importante que você leia estas informações sobre o estudo e seu papel nesta pesquisa.

Você também precisa entender a natureza e os riscos da sua participação e dar o seu consentimento livre e esclarecido por escrito. Sua decisão em participar é totalmente voluntária, ou seja, só depende de você.

2. Objetivo

O presente estudo objetiva verificar a relação da hipersensibilidade ao níquel, a condição periodontal por meio de exame periodontal, controle de placa, teste de sensibilidade cutânea, exame da saliva e exame de imuno-histoquímica do tecido gengival aumentado .

3. Procedimentos do Estudo

Se concordar em participar deste estudo você será solicitado a:

- Ser examinado pelo dentista pesquisador, para verificar a condição de saúde bucal, presença de sinais de sensibilidade cutânea e acompanhamento do caso. A pesquisa será realizada em 5 etapas:

1ª etapa: Anamnese, Exame Clínico , Exame Periodontal e controle de placa pelo profissional – Avaliação das condições sistêmicas e da condição de saúde bucal que será realizada em uma consulta especial marcada entre você e o profissional. Todos os pacientes examinados nesta fase estão usando aparelho fixo com bráquetes da marca comercial Morelli, por ser das marcas utilizadas na clínica de Ortodontia desta Instituição e são portadores de aumento gengival. Após este exame, somente os pacientes com boas condições sistêmicas, que não fazem uso de medicação específica, que pode interferir nos resultados, seguirão para as próximas fases.

2ª etapa: Teste Cutâneo – Diagnóstico da presença de hipersensibilidade ao níquel, que será realizada durante uma das suas consultas mensais na clínica de Ortodontia da instituição, por meio do *Patch test* (teste usado em dermatologia para verificar reação alérgica).

3ª etapa: Avaliação salivar –Análise qualitativa do fluido salivar.

4ª etapa: Exame Periodontal – Re-avaliação da condição de saúde bucal, que será realizada em uma consulta especial marcada entre você e o profissional.

5ª etapa: Exame imunoistoquímico do tecido gengival aumentado, que não regrediu após o controle de placa realizado pelo profissional. O tecido será removido por meio cirúrgico.

4. Riscos e desconfortos

Os riscos e desconfortos aos quais você irá se submeter são:

- Exame Periodontal: Durante a sondagem, raramente há a possibilidade de um pequeno sangramento e ligeira sensibilidade
- Testes Cutâneos: Durante a aplicação dos testes, raramente há a possibilidade de

um ligeiro prurido no local da aplicação.

- Cirurgia gengival: Após a cirurgia, há a possibilidade de um ligeiro desconforto no local operado, contornado por administração de analgésicos específicos.

5. Benefícios

- A participação nesta pesquisa não acarretará nenhuma espécie de gasto para você, sendo totalmente gratuita. O conhecimento que você adquirir, a partir da sua participação na pesquisa, poderá beneficia-lo com informações e orientações futuras em relação ao seu problema/ tratamento/situação de vida, especialmente em relação à modificação de hábitos de vida, trabalho e um melhor conhecimento dos fatores que podem acarretar uma hipersensibilidade cutânea ao níquel, beneficiando-o de forma direta ou indireta.
- As informações obtidas por meio do estudo poderão ser importantes para a descoberta de novos tratamentos/técnicas, capazes de diminuir os problemas existentes em relação ao objeto pesquisado.
- As consultas, os procedimentos relacionados ao estudo e a terapêutica utilizada serão inteiramente gratuitos e, se algum problema for diagnosticado, este será tratado e/ou encaminhado para tratamento apropriado(será realizado recontorno e adequação da forma do tecido). Se for diagnosticada alguma doença periodontal, você será encaminhado(a) para tratamento na Clínica de Periodontia desta Instituição.
- Se for comprovada hipersensibilidade aos bráquetes convencionais, os mesmos serão substituídos gratuitamente por outro bráquete níquel free.

6. Tratamento alternativo

A participação neste estudo é voluntária e você tem o direito de não participar ou desistir do mesmo a qualquer momento, sem penalidades ou perda dos benefícios a que tenha direito. Se você decidir não participar deste estudo, outros tratamentos

disponíveis para o seu caso podem ser indicados. Você também poderá ser desligado do estudo a qualquer momento, sem o seu consentimento nas seguintes situações:

- Caso você não use ou siga adequadamente as orientações/tratamento em estudo.
- Caso você sofra efeitos indesejáveis sérios não esperados.
- Caso o estudo termine.

Se você decidir não participar deste estudo, você receberá o tratamento para o seu problema/doença, de acordo com as normas da instituição.

7. Custos/ Reembolso

Você não terá nenhum gasto com a sua participação no estudo. As consultas, os exames e todo o tratamento serão gratuitos. Você não receberá nenhum pagamento pela sua participação. Você não receberá cobrança por nenhum tratamento e exame adicional ou qualquer outro procedimento feito relativo ao estudo.

8. Responsabilidade

Efeitos indesejáveis são possíveis em qualquer estudo de pesquisa, apesar de todos os cuidados possíveis, e podem acontecer sem que a culpa seja sua ou dos profissionais. Mas, outros efeitos indesejáveis também podem ocorrer. Se você adoecer ou sofrer efeitos indesejáveis, como resultado direto da sua participação neste estudo, a necessária assistência profissional (médica e odontológica) será dada a você.

9. Caráter confidencial dos registros

Algumas informações obtidas, a partir de sua participação neste estudo, não

poderão ser mantidas estritamente confidenciais. Além dos profissionais de saúde que estarão cuidando de você, agências governamentais locais e o Comitê de Ética em Pesquisa da instituição onde o estudo está sendo realizado podem precisar consultar seus registros; você não será identificado quando o material de seu registro for utilizado, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este consentimento informado, você autoriza as inspeções de seus registros.

10. Participação

É importante que você esteja consciente de que a participação neste estudo de pesquisa é completamente voluntária e de que você pode recusar-se a participar ou sair do estudo a qualquer momento, sem penalidades ou perda de benefícios aos quais você tenha direito de outra forma. Em caso de você decidir retirar-se do estudo, você deverá notificar ao profissional e/ou pesquisador que o esteja atendendo. A recusa em participar ou a saída do estudo não influenciarão seus cuidados na instituição.

11. Para obter informações adicionais

Nós o estimulamos a fazer perguntas a qualquer momento do estudo. Caso você venha a sofrer alguma reação adversa ou danos relacionados ao estudo, ou tenha mais perguntas sobre o estudo, por favor, ligue para Dra. Valéria Cristina Xavier de Paiva, no telefone (031) 91139844, ou pelo telefone da secretaria do mestrado em odontologia da PUC/Minas (031) 33194414.

Se você tiver perguntas com relação aos seus direitos como participante do estudo clínico, você poderá contatar uma terceira parte/pessoa, que não participa desta pesquisa, Heloísio Resende Leite, Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da PUC/MG, no telefone (31) 3319-4229.

12. Declaração de consentimento

Li ou alguém leu para mim as informações contidas neste documento antes de assinar este termo de consentimento. Declaro que fui informado sobre os métodos e meios dos testes de sensibilidade cutânea a serem utilizados, as inconveniências, riscos, benefícios e eventos adversos que podem vir a ocorrer em consequência dos procedimentos.

Declaro que tive tempo suficiente para ler e entender as informações acima. Declaro, também, que toda a linguagem técnica utilizada na descrição deste estudo de pesquisa foi satisfatoriamente explicada e que recebi respostas para todas as minhas dúvidas. Confirmando, também, que recebi uma cópia deste formulário de consentimento. Compreendo que sou livre para me retirar do estudo em qualquer momento, sem perda de benefícios ou qualquer outra penalidade.

Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade e sem reservas para participar como paciente deste estudo.

OBS: Sendo o paciente menor de 18 anos de idade, a autorização será dada e assinada por seu representante legal.

Nome do participante (letra de forma)

Assinatura do participante ou representante legal

Data

Atesto que expliquei cuidadosamente a natureza e o objetivo deste estudo, os possíveis riscos e benefícios da participação no mesmo, junto ao participante e/ou seu representante legal autorizado. Acredito que o participante e/ou seu representante recebeu todas as informações necessárias, que foram fornecidas em uma linguagem adequada e compreensível e que ele/ela compreendeu esta explicação.

Assinatura do pesquisador

Data

ANEXO B

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



PUC Minas

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais
Pró-Reitoria de Pesquisa e de Pós-Graduação

Belo Horizonte, 1 de novembro de 2005.

De: Prof. Heloísio de Rezende Leite
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Para: Valéria Cristina Xavier de Paiva
Faculdade de Odontologia

Prezada pesquisadora,

Informamos que o projeto de pesquisa CEP 2004/119 - "*Reação alérgica ao aparelho ortodôntico fixo: avaliação clínica, periodontal, histopatológica e imunoistoquímica*" - foi **aprovado** no Comitê de Ética em Pesquisa da PUC Minas.

Atenciosamente,

Heloísio de Rezende Leite
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa – PUC Minas

ANEXO C**FICHA CLÍNICA**

FICHA DE ANAMNESE - PACIENTE Nº____ DATA:____/____/20____

Nome:_____

_____End:_____

_____Tel:_____

Data nasc:_____Idade:_____Sexo:_____Raça:_____

1) Você apresenta reação alérgica na pele a algum material ou objeto?

☐ sim ☐ não

Especifique:_____

2) Alguém na família apresenta algum alergia semelhante?

☐ sim☐ não

Especifique o grau de parentesco: _____

3) Está tomando ou tomou algum medicamento para curar esta alergia?

☐ sim ☐ não

Especifique:_____

4) Já submeteu à algum tratamento de desensibilização (já tomou vacina) ? ☐ sim☐ não Para quê?☐ alergia de pele ☐ outros.

Especifique:_____

5) Você apresenta algum problema de saúde? ☐ sim ☐ não

Qual? _____

6) Faz uso de algum medicamento ? ☐ sim ☐ não

Qual? _____

7) Usa rotineiramente: ☐ bijuterias ☐ óculos

Especifique: ☐ brinco ☐ anel ☐ pulseira ☐ colar ☐ piercing

8) Quando iniciou o tratamento ortodôntico?

9) Quando colocou o aparelho, você já usava brincos ou piercing de bijuteria? ☐ sim

☐ não

9) Marca comercial do bráquete utilizado:

INFORMAÇÕES SOBRE A FASE PRÉ-TRATAMENTO ORTODÔNTICO

10) Overbite: ☐ normal ☐ reduzido ☐ aumentado ☐ topo-topo

11) Dimensão vertical esquelética: ☐ normal ☐ aberta ☐ fechada

EXAME CLÍNICO

12) Tipo de respiração: ☐ nasal ☐ bucal ☐ naso-bucal

13) Selamento labial passivo: ☐ presente ☐ ausente

14) Posição do lábio superior: ☐ normal ☐ protruído ☐ retruído

15) Posição do lábio inferior: ☐ normal ☐ protruído ☐ retruído

16) Tipos de aparelhos utilizados:

17) Quantidade de dentes com restaurações metálicas:

☐ nenhum ☐ 1 - 5 ☐ 6 – 10 ☐ 11 ou +

Tipos de

restaurações? _____

18) Presença de queilite angular? ☐ sim ☐ não

19) Presença de aumento gengival (1/3, 2/3, + de 2/3 da coroa) ? ☐ sim ☐ não

1/3: _____

2/3: _____

+2/3: _____

20) Presença de descamação dos lábios? ☐ superior ☐ inferior ☐ nenhum

21) Resposta ao *patch test*: com

48h _____

72h _____

EXAME PERIODONTAL

[illegible]

ANEXO D**FICHA CLÍNICA PARA 2º EXAME**

FICHA CLÍNICA DATA: ____/____/20____ Nome: _____	PACIENTE Nº _____
Alterações sistêmicas: _____ _____ <u>EXAME CLÍNICO</u> 01) Presença de queilite angular? ☐ sim ☐ não 02) Presença de aumento gengival (1/3, 2/3, + de 2/3 da coroa)? ☐ sim ☐ não 1/3: _____ 2/3: _____ +2/3: _____ 03) Presença de descamação dos lábios? ☐ superior ☐ inferior ☐ nenhum _____	

EXAME PERIODONTAL

[illegible]