

Flaviana Soares Rocha

**CITOCINAS DO FLUIDO SULCULAR COMO
POSSÍVEIS FERRAMENTAS NO DIAGNÓSTICO
PRECOCE DA DOENÇA PERI-IMPLANTAR.**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia da Universidade Federal de
Uberlândia, para obtenção do Título de
Mestre em Clínica Odontológica.

Uberlândia, 2010

Flaviana Soares Rocha

**CITOCINAS DO FLUIDO SULCULAR COMO
POSSÍVEIS FERRAMENTAS NO DIAGNÓSTICO
PRECOCE DA DOENÇA PERI-IMPLANTAR.**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção
do Título de Mestre em Clínica
Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Darceny Zanetta-Barbosa
Co-Orientadora: Profa. Dra. Camilla Christian Gomes Moura

Banca Examinadora:
Prof. Dr. Darceny Zanetta-Barbosa
Prof^ª. Dr^ª. Camilla Christian Gomes Moura
Prof^ª. Dr^ª. Maria Aparecida de Souza
Prof. Dr^ª. Virgínia Oliveira Crema

Uberlândia, 2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

- R672c Rocha, Flaviana Soares, 1986-
Citocinas do fluido sulcular como possíveis ferramentas no diagnóstico precoce da doença peri-implantar [manuscrito] / Flaviana Soares Rocha. 2010.
73 f. : il.
- Orientador:.Darceny Zanetta-Barbosa.
Co-orientadora: Camilla Christian Gomes Moura.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia.
Inclui bibliografia.
1. Implantes dentários- Teses. I. Zanetta-Barbosa, Darceny. II. Moura, Camilla Christian Gomes, 1979- . III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. IV. Título.

CDU: 616.314-089.843



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

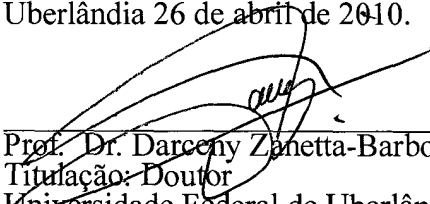
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

AV. Pará, 1720, bloco 2u – sala 2U09 – Campus Umuarama - UBERLÂNDIA –MG – 38400-902
(0XX) 034 –3218-2550

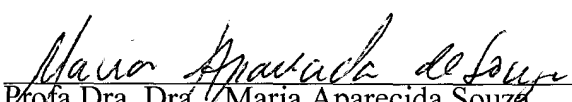
RELATÓRIO DA COMISSÃO JULGADORA DA DEFESA DE MESTRADO DO CD FLAVIANA SOARES ROCHA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA DESTA UNIVERSIDADE.

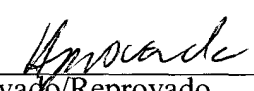
Às dez horas do dia vinte e seis de abril do ano de dois mil e dez, reuniu-se a Comissão Julgadora aprovada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, para o julgamento da Dissertação de Mestrado apresentada pelo candidato **FLAVIANA SOARES ROCHA** com o título: *Citocinas do fluido sulcular como possíveis ferramentas no diagnóstico precoce da doença peri-implantar*. O julgamento do trabalho foi realizado em sessão pública compreendendo a exposição, seguida de arguição pelos examinadores. Encerrada a arguição, cada examinador, em sessão secreta, exarou o seu parecer. A Comissão Julgadora, após análise do Trabalho, verificou que o mesmo encontra-se em condições de ser incorporado ao banco de Dissertações e Teses da Biblioteca desta Universidade. Acompanham este relatório os pareceres individuais dos membros da Comissão Julgadora.

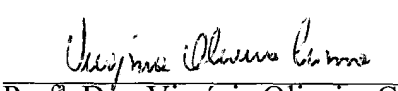
Uberlândia 26 de abril de 2010.

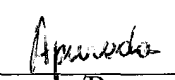

Prof. Dr. Darcey Zanetta-Barbosa
Titulação: Doutor
Universidade Federal de Uberlândia – UFU


Aprovado/Reprovado


Prof. Dra. Maria Aparecida Souza
Titulação: Doutora
Universidade Federal de Uberlândia


Aprovado/Reprovado


Prof. Dra. Virgínia Oliveira Crema
Titulação: Doutora
Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM


Aprovado/Reprovado

Dedico esta conquista à minha família
que tanto amo; meus pais, Gerson e Rita Nilza pelo
apoio incondicional e exemplo de coragem e determinação
que sempre busquei seguir; meus irmãos, Flávio e
Fabiana, que sempre estiveram comigo.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À **Deus**, que sempre iluminou e guiou os meus caminhos.

Aos meus queridos pais, **Gerson** e **Rita Nilza**, agradeço de coração pelo amor, carinho, dedicação e confiança incondicionais durante toda minha vida. Por sempre incentivarem meus estudos, e finalmente, por serem meu porto seguro em todos os momentos.

“Um pai vale mais do que uma centena de mestres escola.” (George Herbert)

Aos meus queridos irmãos, **Flávio** e **Fabiana** pelo apoio e torcida constante desde o início da minha vida. Sou muito feliz por tê-los como minha família.

“A verdadeira felicidade está na própria casa, entre as alegrias da família.” (Leon Tolstói)

Ao **Prof. Dr. Darceny Zanetta-Barbosa**, minha eterna gratidão pela orientação, amizade e confiança na minha capacidade de realização. Pelo profissionalismo, exemplo de cirurgião e docente. Espero um dia poder retribuir as oportunidades que me proporcionou.

À **Profª. Drª. Camilla Christian Gomes Moura**. Seu dinamismo e vontade de fazer com que os projetos se concretizem são contagiantes. Agradeço pela amizade e por não ter medido esforços em me ajudar sempre que possível.

À **Profª. Drª. Paula Dechichi**, pela dedicação, paciência, motivação constante e por ser meu refúgio em diversos momentos. À quem devo grande parte do que aprendi como profissional e como pessoa, minha eterna admiração e sincera gratidão por tudo.

À **Profª. Drª. Maria Aparecida de Souza**, pela sua disposição, pelos ensinamentos e orientações durante esse trabalho.

*“Uns são homens, alguns são professores, poucos são mestres...
Aos primeiros, respeita-se, aos segundos, escuta-se, aos últimos, segue-se...”
(Autor desconhecido)*

À **Carla**, pela dedicação à realização deste trabalho e ao carinho ao compartilhar expectativas e anseios profissionais. Obrigada pelo respeito e amizade mútuos que construímos.

Ao **Gustavo, Andréia, Lara e Jonas**, que foram ouvintes e confidentes, pela amizade sincera construída nestes anos juntos e pelas palavras de apoio sempre que precisei.

Aos que são mais do que amigos, **Moline, Janaína, Ana Carolina, Rafael, Elina, Andréa, Queuver e Maiza**, pela amizade e companheirismo.

Aos **amigos do Mestrado**, pela amizade e agradável convivência durante esse período.

*“A vida é em parte o que nós fazemos dela, e em parte o que é feito pelos amigos que nós escolhemos.”
(Tennessee Williams)*

Aos **amigos do Laboratório de Biologia Molecular (BIOMOL) e do Laboratório de Histologia**, pelo apoio durante a parte experimental deste trabalho.

À **Cidinha, Hellen, Flaviane, Irene, Abigail** e demais funcionários, pela grande colaboração, dedicação e disposição em atender, da melhor forma possível, às nossas necessidades.

Enfim, meu carinho e sinceros agradecimentos, a todos que de uma forma ou de outra, contribuíram na execução deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia**, pelo apoio constante à pesquisa, ensino e extensão.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico** (CNPq), pela concessão da bolsa de Mestrado.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais** (FAPEMIG), pelo auxílio financeiro e financiamento desta pesquisa.

Aos **professores** da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, por ampliarem meus conhecimentos.

Aos **pacientes**, que dispuseram de seu tempo para participarem desta pesquisa.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Símbolos	1
Resumo	2
Abstract	3
1. Introdução	4
2. Revisão da literatura	7
2.1. Implantodontia	8
2.2. Mucosa Peri-implantar	10
2.3. Doença Peri-implantar	11
2.4. Fluido sulcular peri-implantar	14
2.5. Interleucina 1 β	17
2.6. Fator de Crescimento Transformante β	18
2.7. Interleucina 10	19
2.8. Interleucina 17	21
3. Proposição	22
4. Material e métodos	24
4.1. População	25
4.1.1. Seleção dos indivíduos	25
4.2. Procedimentos clínicos	25
4.2.1 Índice de Placa	26
4.2.2 Coleta do fluido sulcular peri-implantar	26
4.2.3 Índice Gengival	27
4.2.4 Sondagem do sulco peri-implantar	27

4.2.5 Nível de inserção clínica	28
4.2.6 Supuração de Mobilidade	28
4.2.7 Exame radiográfico	28
4.2.8 Classificação dos sítios peri-implantares	29
4.3. Procedimentos laboratoriais	29
4.3.1 Dosagem das citocinas	29
4.4. Análise estatística	33
5. Resultados	32
5.1. Dados Clínicos	33
5.2. Níveis de citocinas nos sítios peri-implantares	39
5.3. Correlação entre os parâmetros clínicos e as citocinas	44
6. Discussão	48
7. Conclusão	56
Referências	58
Anexos	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

FS	Fluido Sulcular
FSPI	Fluido Sulcular Peri-implantar
IP	Índice de Placa
IG	Índice Gengival
PS	Profundidade de Sondagem
SS	Sangramento à Sondagem
NIC	Nível de Inserção Clínica
S	Supuração
M	Mobilidade
DV	Disto Vestibular
VC	Vestibular Central
MV	Mesio Vestibular
DL	Disto Lingual
LC	Lingual Central
ML	Mesio Lingual
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
PGE2	Prostaglandina E2
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TGF	Fator de Crescimento Transformante
MMP	Metaloproteinases
G	Aceleração da Gravidade
EP	Erro Padrão
r	Coeficiente de Correlação
°C	Graus Celsius
mm	Milímetro
µl	Microlitro
pg	Picograma
PBS	Phosphate Buffer Saline
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

RESUMO

O fluido sulcular peri-implantar possui moléculas que podem ser representar biomarcadores, permitindo avaliar a saúde peri-implantar. O objetivo deste estudo foi investigar, em pacientes parcialmente edêntulos, o uso da IL17 e os marcadores bioquímicos clássicos relacionados à inflamação IL1 β / TGF β 1 / IL10 como ferramentas no diagnóstico precoce da doença peri-implantar. Em 40 pacientes previamente selecionados, 6 sítios peri-implantares de 91 implantes foram avaliados e classificados como saudável, inflamação leve e inflamação moderada de acordo com a profundidade de sondagem peri-implantar e o índice gengival. Dados sobre o índice de placa, perda de inserção clínica, supuração e mobilidade também foram avaliados. O fluido sulcular peri-implantar foi coletado utilizando pontas endodônticas de papel absorvente padronizadas e os níveis de IL1 β , TGF β 1, IL10 e IL17 foram determinados utilizando ELISA. Os dados foram analisados pelos testes Kolmogorov-Smirnov, Mann-Whitney (pós-teste de Dunns) e correlação de Spearman. Os níveis médianos de TGF β 1 no grupo saudável foram superiores ao grupo inflamado, independentemente do grau de inflamação. Em todos os grupos, correlação positiva entre IL1 β e os parâmetros clínicos profundidade de sondagem e perda de inserção clínica, bem como correlação negativa entre TGF β 1 e o índice de placa foram observadas. No grupo saudável e inflamação leve, houve correlação negativa entre TGF β 1 e os parâmetros profundidade de sondagem e perda de inserção clínica, e correlação positiva entre IL1 β e o índice de placa. Apenas no grupo saudável, observou-se correlação negativa entre IL17 e perda de inserção clínica. Correlação entre as citocinas foi observada entre IL1 β e IL17, IL10 e IL1 β no grupo saudável, entre IL17 e IL10 no grupo inflamação leve, entre IL1 β e TGF β 1 no grupo inflamação moderada. As citocinas IL10 e IL17 parecem modular a resposta inflamatória peri-implantar. A redução significativa do nível de TGF β 1 nas fases iniciais da doença peri-implantar sugere seu uso como marcador imunológico da saúde peri-implantar.

ABSTRACT

Peri-implant sulcus fluid has molecules that may represent biomarkers, allowing peri-implant health evaluation. The aim of this study was to investigate, in partially edentulous patients, the use of IL17 and, classic inflammation related biochemical markers, IL1 β / TGF β 1 / IL10 in early-stage diagnostics of peri-implant diseases. In 40 previously selected patients, 6 peri-implant sites of 91 implants were evaluated and classified as healthy, slight inflammation and moderate inflammation in accordance with peri-implant probing depth and gingival index. Data regarding plaque index, clinical attachment loss, suppuration and mobility were also assessed. The peri-implant sulcus fluid was collected using standard paper strips and the levels of IL1 β , TGF β 1, IL10 and IL17 were determined by ELISA. The data were analyzed by Kolmogorov-Smirnov, Mann-Whitney test (Dunns post-test) and Spearman correlation. The median levels of TGF β 1 in healthy group were higher than inflamed group, irrespective of the inflammation degree. In all groups, positive correlation between IL1 β and the clinical parameters peri-implant probing depth and clinical attachment loss, and negative correlation between TGF β 1 and plaque index were observed. In healthy and slight inflammation groups, there was a negative correlation between TGF β 1 and the parameters probing depth and clinical attachment loss, and a positive correlation between IL1 β and plaque index. Only in healthy group, it was observed correlation between IL17 and clinical attachment loss. Correlation between the cytokines was observed with IL1 β and IL17, IL1 β and IL10 in healthy group; with IL17 and IL10 in slight inflammation group; with IL1 β and TGF β 1 in moderate inflammation group. The cytokines IL10 and IL17 appear to modulate peri-implant inflammation. The significant reduction in the level of TGF β 1 in the initials stages of peri-implant disease suggests its use as an immunological marker of peri-implant health.

Palavras-chave: fluido sulcular peri-implantar, citocinas, implante dental, inflamação.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Os implantes osseointegrados representam uma importante alternativa de tratamento para a reposição de elementos dentais perdidos, sendo utilizados com altos índices de sucesso. Entretanto, ainda ocorrem perdas de implantes, tanto nas fases iniciais, bem como nas fases tardias, após os implantes estarem em função mastigatória (Liskmann *et al.*, 2004).

Falhas precoces têm sido associadas a fatores inerentes ao indivíduo (tabagismo, condição sistêmica, disponibilidade óssea), ao procedimento cirúrgico (trauma e superaquecimento ósseo, contaminação) e ao tipo de implante (material, desenho, topografia de superfície) (Exposito *et al.*, 1998). As perdas tardias, por sua vez, estão relacionadas principalmente à falta de habilidade e motivação dos pacientes em controlar os fatores etiológicos responsáveis pela inflamação dos tecidos peri-implantares (Murata *et al.*, 2002; Leonhardt *et al.*, 2002; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003a; Liskmann *et al.*, 2004). Evidências sugerem um papel primário do biofilme bacteriano na etiologia destas inflamações, associado ou não à sobrecarga oclusal (Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b; Liskmann *et al.*, 2004; Degidi *et al.*, 2006).

Inflamações iniciais restritas aos tecidos moles que circundam os implantes são denominadas mucosites. Este processo pode evoluir rapidamente para uma inflamação severa, conhecida como peri-implantite, caracterizada pela destruição do osso de suporte e dos tecidos moles adjacentes, levando à perda de estabilidade do implante (Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003a; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b; Yalçin *et al.*, 2005). Os processos inflamatórios peri-implantares evoluem de forma mais rápida que os periodontais. Assim, o monitoramento dos implantes dentais torna-se essencial para a prevenção, detecção precoce da inflamação e, conseqüentemente manutenção dos mesmos (Paolantoio *et al.*, 2000; Yalçin *et al.*, 2005).

Os parâmetros comumente utilizados para avaliar a saúde peri-implantar são: avaliação da presença de placa, presença de sangramento à sondagem, determinação da profundidade de sondagem e grau de mobilidade, além do exame radiográfico, que permite avaliar relação osso/ implante ao

longo do tempo (Murata *et al.*, 2002; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003a; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b; Liskmann *et al.*, 2004; Tözüm *et al.*, 2008). O implante é considerado clinicamente saudável se não houver sangramento, mobilidade, dor ou desconforto, e os tecidos peri-implantares apresentarem aspecto de normalidade (Persson *et al.*, 2001; Watzek, 2004).

Entretanto, esses parâmetros clínicos são limitados (McClanahan *et al.*, 2001), pois revelam o grau de destruição promovido pela doença apenas após sua manifestação clínica (Paolantonio *et al.*, 2000; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b), não permitindo observar alterações iniciais no sítio peri-implantar (Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b; Yalçin *et al.*, 2005). Assim, pesquisas têm investigado métodos de diagnóstico complementares, que possibilitem avaliar alterações na condição de saúde peri-implantar, em estágios ainda não detectáveis em exames clínicos e radiográficos, ou seja, previamente à perda óssea irreversível (Liskmann *et al.*, 2004; Yalçin *et al.*, 2005).

O fluido sulcular tem sido utilizado na investigação de doenças que afetam a cavidade oral, embora ainda não seja utilizado como ferramenta de diagnóstico na prática clínica (Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b; Liskmann *et al.*, 2004). Marcadores biológicos presentes no fluido sulcular são extensivamente pesquisados nas doenças periodontais (Murata *et al.*, 2002; Ebersole, 2003; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003a; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b; Ozmeric 2004; Berglundh *et al.*, 2005; Loos & Tjoa 2005, Yalçin *et al.*, 2005). As semelhanças entre o microambiente periodontal e peri-implantar, levaram os pesquisadores a investigarem na mucosa peri-implantar os mesmos marcadores utilizados no diagnóstico das periodontites (Paolantonio *et al.*, 2000; Liskmann *et al.*, 2004; Yalçin *et al.*, 2005).

O estabelecimento de novos padrões de diagnóstico, baseados em biomoléculas presentes no fluido sulcular peri-implantar pode constituir um método complementar para avaliação e acompanhamento longitudinal de diferentes tipos de implantes (Yalçin *et al.*, 2005; Duarte *et al.*, 2009a-b).

REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Implantodontia

A utilização de implantes com a finalidade de reposição de dentes perdidos representa um grande avanço da Odontologia moderna, permitindo aos pacientes restaurar a função mastigatória, estética e fonética com maior conforto e segurança se comparado com as próteses tradicionais (Misch, 2009). A busca por um substituto aos dentes naturais levou ao desenvolvimento de diferentes sistemas de implantes, como os implantes agulhados, subperiostais e laminados, utilizando vários tipos de materiais (Albrektsson, 2005).

Os primeiros implantes odontológicos baseavam-se no empirismo e fracassaram devido à falta de estudos clínicos e científicos controlados. Entretanto, na década de 60, Bränemark e colaboradores, fundamentados em pesquisas básicas e clínicas, desenvolveram um novo sistema de implantes, fundamentado na ancoragem direta do implante no tecido ósseo, sem a interposição de tecido mole, fenômeno este, denominado osseointegração, (Amarante & Lima, 2001; Simon & Watson, 2002; Franchi *et al.*, 2005). Bränemark (1985) definiu a osseointegração como sendo “uma conexão estrutural e funcional direta entre o tecido ósseo vivo e ordenado e a superfície de um implante submetido à carga funcional”. Inicialmente não foi possível demonstrar tal fenômeno, devido à ausência de equipamentos que permitissem seccionar o tecido ósseo sem a remoção do implante metálico, o que foi demonstrado por Shroeder *et al.* em 1976 (Davies, 2003; Amarante & Lima, 2001; Albrektsson, 2005).

As altas taxas de sucesso dos implantes endósseos fabricados com ligas de titânio (Adell *et al.*, 1981; Davies, 2003; Lang *et al.*, 2004) provocaram profunda modificação no planejamento e seqüência de tratamento em diversas áreas da reabilitação oral. Novos sistemas de implantes, baseados no protocolo original de Bränemark e colaboradores, foram desenvolvidos com variações no desenho do parafuso, composição do titânio, topografia e

tratamento de superfície (Amarante & Lima, 2001; Davies, 2003; Li *et al.*, 2004; Xie *et al.*, 2005; Coelho *et al.*, 2009; Dohan Ehrenfest *et al.*, 2010). No entanto, perdas de implantes, tanto nas fases iniciais (período de cicatrização) como tardias (após o período de osseointegração e instalação da prótese), podem ocorrer (Liskmann *et al.*, 2004).

As perdas de implantes podem estar relacionadas a falhas durante o procedimento cirúrgico (trauma e superaquecimento ósseo, contaminação) e a confecção da prótese (ocasionando excesso de carga oclusal) ou fatores inerentes ao indivíduo como hábitos parafuncionais (bruxismo e apertamento dental), má higienização, além de problemas sistêmicos como diabetes (Exposito *et al.*, 1998; Murata *et al.*, 2002; Leonhardt *et al.*, 2002; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003a; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b; Watzek, 2004; Liskmann *et al.*, 2004). O tabagismo também tem sido apontado como um dos possíveis responsáveis pelo fracasso de implantes, embora muitos fatores relacionados ao comportamento da doença peri-implantar ainda não estejam esclarecidos (Watzek, 2004).

Atualmente, são utilizados critérios clínicos e radiográficos para avaliar os diferentes sistemas de implantes em função (Murata *et al.*, 2002; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003a; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b; Liskmann *et al.*, 2004; Tözüm *et al.*, 2008). Clinicamente, um implante é considerado com sucesso se não for observado sangramento, mobilidade, dor ou desconforto e os tecidos peri-implantares apresentarem aparência saudável (Persson *et al.*, 2001; Watzek, 2004). O exame radiográfico permite avaliar a relação osso/implante, possibilitando acompanhar a evolução da perda óssea marginal ao longo do tempo. Entretanto, esses critérios de avaliação não permitem acompanhar alterações iniciais no sítio peri-implantar (Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003a; Yalçin *et al.*, 2005). Uma vez que os processos inflamatórios peri-implantares evoluem de forma mais rápida que os periodontais (Jovanovic, 1997; Persson *et al.*, 2001; Martelli *et al.*, 2004), o diagnóstico precoce dessas alterações é essencial para o tratamento da doença e manutenção dos implantes (Paolantonio *et al.*, 2000; Yalçin *et al.*, 2005; Misch, 2009).

2.2. Mucosa Peri-implantar

A mucosa peri-implantar, análoga à gengiva marginal encontrada ao redor da dentição natural, é constituída por lâmina própria densa e colagenosa coberta por delgado epitélio oral estratificado e pavimentoso. Sendo assim, a mucosa peri-implantar possui importante função de proteção e atua como barreira biológica, promovendo vedamento entre meio externo e meio interno (Koka, 1998; Weber & Cochran 1998; Lindhe & Berglundh, 2010).

Semelhante ao periodonto de proteção, o epitélio da mucosa peri-implantar apresenta uma face voltada para a cavidade oral (externa) e outra que constitui a junção implante-epitélio (interno). A porção externa é revestida por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, que se continua com o epitélio não-queratinizado que reveste o sulco peri-implantar. Na face voltada para o implante, a mucosa está aderida à superfície do implante por uma porção de epitélio semelhante ao epitélio juncional, denominada junção implante/epitélio. Essa adesão das células epiteliais ao implante é feita por hemidesmossomos e lâmina basal (Bernard *et al.*, 1997; Koka, 1998; Weber & Cochran 1998; Lindhe & Berglundh, 2010).

As principais diferenças entre a mucosa peri-implantar e a gengiva marginal residem na composição do tecido conjuntivo, no alinhamento dos feixes de fibras colágenas e na vascularização (Weber & Cochran 1998; Lindhe & Berglundh, 2010). Quando comparada com a gengival marginal, a lâmina própria da mucosa peri-implantar apresenta algumas diferenças quanto à proporção de colágeno e fibroblastos. Na região peri-implantar o tecido conjuntivo apresenta característica de tecido cicatricial, sendo constituído por poucas células e muitas fibras colágenas (Bernard *et al.*, 1997; Jovanovic, 1997; Koka, 1998; Groisman & Vidigal Jr, 2004; Lindhe & Berglundh, 2010).

Devido à ausência do cimento e a influência das características da superfície dos implantes, os feixes de fibras colágenas da região supra-alveolar, organizam-se paralelamente ao longo eixo dos implantes ou se inserem no perióstio da crista óssea alveolar não ocorrendo feixes de fibras perpendiculares ao implante. Assim, a adesão entre mucosa peri-implantar e

superfície do implante é mais frágil que a adesão entre dente e gengiva (Buser *et al.*, 1992; Bernard *et al.*, 1997; Koka, 1998; Weber & Cochran 1998;; Machtei *et al.*, 2006; Lindhe & Berglundh, 2010).

Nos tecidos periodontais a vascularização provém de duas origens, uma a partir de vaso suprapariosteal, que forma os capilares das papilas do conjuntivo subjacente ao epitélio oral e ao plexo vascular lateral ao epitélio juncional. A outra origem é derivada do plexo vascular do ligamento periodontal, que emite ramificações em direção coronária, passando pela crista alveolar e terminando na porção supra-alveolar da gengiva livre (Jovanovic, 1997; Koka, 1998; Weber & Cochran 1998; Lindhe & Berglundh, 2010). Já na mucosa peri-implantar a vascularização é garantida apenas pelo vaso sangüíneo suprapariosteal localizado externamente ao processo alveolar, que origina o plexo de capilares e vênulas localizado subjacente ao epitélio juncional e ao epitélio oral. Devido à ausência do plexo proveniente do ligamento periodontal, na mucosa peri-implantar, o conjuntivo supra-alveolar apical ao epitélio juncional apresenta-se pouco vascularizado (Jovanovic, 1997; Koka, 1998; Weber & Cochran 1998; Lindhe & Berglundh, 2010).

2.3. Doença Peri-implantar

Doença peri-implantar é um termo genérico relacionado às reações infecciosas que ocorrem nos tecidos circundantes ao implante em função, resultando em processo inflamatório com perda óssea ou não. O quadro de mucosite peri-implantar caracteriza-se por um processo inflamatório inicial e reversível, restrito aos tecidos moles que circundam o implante. No entanto, persistindo o agente agressor, esse processo pode evoluir rapidamente para uma inflamação severa e irreversível, denominada peri-implantite. Este estágio avançado da doença é caracterizado pela destruição do osso de suporte e dos tecidos moles adjacentes, levando ao comprometimento do implante devido à perda de ancoragem (Weber & Cochran 1998; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003a; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b; Martelli *et al.*, 2004; Yalçin *et al.*, 2005; Liskmann *et al.*, 2006; Misch, 2009; Lindhe & Berglundh, 2010).

Estudos em animais e em humanos têm demonstrado semelhanças clínicas, radiográficas e histológicas entre a infecção periodontal e peri-implantar (Liskmann *et al.*, 2006). O mesmo mecanismo patogênico responsável pela instalação da doença periodontal parece existir nos tecidos peri-implantares, ainda com o agravante de evoluir de forma mais rápida e agressiva que no dente (Jovanovic, 1997; Persson *et al.*, 2001; Martelli *et al.*, 2004).

O sulco peri-implantar, que é semelhante ao sulco gengival, atua como nicho propício para a colonização e crescimento de microorganismos orais (Liskmann *et al.*, 2006). Assim, o acúmulo de placa na superfície dos implantes e no sulco peri-implantar, inicialmente leva ao comprometimento do epitélio e aumento no infiltrado inflamatório do tecido conjuntivo (Jovanovic, 1997), entretanto, com a progressão da doença, pode haver comprometimento total da osseointegração e perda do implante (Schou *et al.*, 1993; Misch, 2009; Lindhe & Berglundh, 2010).

Um dos critérios utilizados para avaliação clínica dos tecidos periodontais é a profundidade de sondagem (Ataoglu *et al.*, 2002; Murata *et al.*, 2002; Yalçin *et al.*, 2005; Liskmann *et al.*, 2006; Strbac *et al.*, 2006; Tözüm *et al.*, 2007; Renvert, *et al.*, 2007; Lachmann *et al.*, 2007; Tözüm *et al.*, 2008; Duarte *et al.*, 2009a; Duarte *et al.*, 2009b). No entanto, nos tecidos peri-implantares, este parâmetro torna-se menos confiável, devido à disposição das fibras colágenas paralela à superfície do implante (Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003; Misch, 2009; Lindhe & Berglundh, 2010). Além disso, apenas a medida quantitativa da profundidade de sondagem, não é capaz de fornecer informações conclusivas a respeito do estado de saúde/doença peri-implantares porque pode ser influenciada por mudanças na anatomia e posição da mucosa (Dinato & Polido, 2001; Misch, 2009; Lindhe & Berglundh, 2010).

Por ser o principal fator etiológico das doenças peri-implantares, a placa bacteriana é utilizada como critério de monitoramento da saúde dos implantes, bem como da capacidade de higienização dos pacientes (Ataoglu *et al.*, 2002; Murata *et al.*, 2002; Yalçin *et al.*, 2005; Liskmann *et al.*, 2006; Strbac *et al.*, 2006; Tözüm *et al.*, 2007; Renvert *et al.*, 2007; Lachmann *et al.*, 2007;

Duarte *et al.*, 2009a; Duarte *et al.*, 2009b). O índice de placa isoladamente, não permite identificar a presença de alterações ou mesmo o nível de risco apresentado pelo paciente, mas, estatisticamente, níveis mais baixos de placa, tendem a desenvolver menos doença (Dinato & Polido, 2001; Renvert *et al.*, 2007).

A presença de sangramento, por sua vez, demonstra as alterações inflamatórias dos tecidos moles circunjacentes aos implantes dentais (Misch, 2009), entretanto, sua relevância clínica é considerada quando correlacionado a outros parâmetros clínicos (Dinato & Polido, 2001). A presença de sangramento pode ser avaliada por meio do sangramento à sondagem (Renvert *et al.*, 2007; Lachmann *et al.*, 2007; Duarte *et al.*, 2009a; Duarte *et al.*, 2009b) e do índice gengival (Ataoglu *et al.*, 2002; Murata *et al.*, 2002; Yalçin *et al.*, 2005; Liskmann *et al.*, 2006; Strbac *et al.*, 2006; Tözüm *et al.*, 2007; Duarte *et al.*, 2009a; Duarte *et al.*, 2009b). De acordo com Ericsson & Lindhe (1993), freqüentemente ocorre sangramento à sondagem mesmo ao redor de implantes saudáveis. Dessa forma, as diferenças na inserção dos dentes e implantes contra-indicam este parâmetro nas comparações entre esses sítios. O índice gengival, por representar a tendência ao sangramento espontâneo da mucosa, poderia ser mais apropriado para avaliação da inflamação peri-implantar (Tözüm *et al.*, 2005).

A supuração (Duarte *et al.*, 2009a; Duarte *et al.*, 2009b) e a mobilidade (Tözüm *et al.*, 2008) peri-implantar são elementos indicativos do estágio avançado da doença, quando, na maioria das vezes já não é possível estabelecer formas de tratamento de modo a manter os implantes (Dinato & Polido, 2001; Misch, 2009). Da mesma forma, o exame radiográfico, que também é utilizado para determinar a condição de saúde dos implantes (Murata *et al.*, 2002; Renvert *et al.*, 2007; Tözüm *et al.*, 2007; Tözüm *et al.*, 2008; Duarte *et al.*, 2009a; Duarte *et al.*, 2009b), só permite avaliar a perda óssea quando está avançada, e praticamente irreversível (Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003a; Misch, 2009).

As limitações dos exames disponíveis dificultam o estabelecimento da condição clínica dos implantes e têm estimulado a busca por marcadores

biológicos que possam ser utilizados como métodos de diagnóstico precoce da saúde peri-implantar (Liskmann *et al.*, 2004). Métodos dessa natureza têm sido bastante estudados na doença periodontal com objetivo de identificar marcadores biológicos presentes no fluido sulcular (Ataoglu *et al.*, 2002; Murata *et al.*, 2002; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003b; Yalçin *et al.*, 2005; Gurkan *et al.*, 2006; Strbac *et al.*, 2006; Tözüm *et al.*, 2007; Renvert *et al.*, 2007; Lachmann *et al.*, 2007; Tözüm *et al.*, 2008; Duarte *et al.*, 2009a; Duarte *et al.*, 2009b).

A semelhança entre o microambiente periodontal e peri-implantar (Yalçin *et al.*, 2005) sugere que estes microambientes compartilhem os mesmos marcadores o que torna viável à implantodontia avaliar métodos de diagnóstico complementares estudados na periodontia. Alguns desses estudos verificaram modificações na composição do fluido sulcular (Ozmeric 2004, Griffiths, 2003; Loos & Tjoa, 2005; Tozum *et al.*, 2005) em indivíduos com periodontite e peri-implantite, incentivando sua utilização como ferramenta de diagnóstico.

2.4. Fluido Sulcular Peri-implantar (FSPI)

A cavidade oral possui uma complexa flora microbiana, composta por microorganismos permanentes e transitórios. Além disso, há uma variedade de nichos, tais como: a superfície dental, a língua e o sulco gengival, que favorecem o estabelecimento e o desenvolvimento da microbiota. Muitos desses microorganismos estabelecem uma relação de simbiose com o hospedeiro, entretanto, algumas espécies são patogênicas. Assim, o meio bucal representa uma porta para diversos patógenos envolvidos direta ou indiretamente em doenças infecciosas locais e/ou sistêmicas (Ebersole 2003; Lindhe & Berglundh, 2010).

Entre as diversas funções que a mucosa oral desempenha, a principal delas é a de proteção. Diante desse desafio antigênico, o próprio revestimento epitelial da mucosa, representa uma barreira natural, protegendo os tecidos mais profundos do ambiente contaminado que é a cavidade oral (Ten Cate; 2001; Ebersole 2003; Lindhe & Berglundh, 2010). Para manter a

homeostasia do meio, existem vários mecanismos do sistema imune que contribuem para controlar a colonização microbiana e dentre eles estão o fluido sulcular e a saliva, que servem como fatores mecânicos, minimizando a acumulação bacteriana, além de apresentarem biomoléculas que participam dos mecanismos de imunidade inata e adquirida (Lindhe & Berglundh, 2010).

O fluido sulcular gengival foi identificado no século XIX, mas somente a partir da década de 50, sua composição e possível papel nos mecanismos de defesa da cavidade oral começaram a ser elucidados (Carranza & Bulkacz, 1997; Lindhe & Berglundh, 2010). Os tecidos periodontais e peri-implantares apresentam semelhanças na constituição, na microbiota e também em relação à presença de um fluido protetor, o fluido sulcular (Paolantonio *et al.*, 2000; Lindhe & Berglundh, 2010), o qual é constantemente produzido (Ebersole, 2003; Lindhe & Berglundh, 2010).

Localizado banhando a região dos sulcos gengival e peri-implantar, o fluido sulcular é formado devido à permeabilidade do epitélio juncional, que permite a passagem de componentes macromoleculares provenientes do soro e do meio intersticial gengival. Assim, este fluido é constituído por ultra-filtrado do plasma sanguíneo e contém enzimas e proteínas individuais, tais como: proteases inibidoras, microglobulinas, fibrinogênio, albumina, lipoproteínas, bem como mediadores inflamatórios, fatores de crescimento, como fator de crescimento e transformação β (TGF- β) e imunoglobulinas (IgG e IgA). Além destes componentes, o fluido contém células descamadas dos epitélios juncional e sulcular, bem como células de defesa (neutrófilos, linfócitos e monócitos) que migram constantemente do tecido conjuntivo subjacente para o sulco. No fluido também podem ser encontradas bactérias e acúmulos de elementos do seu metabolismo (Carranza & Bulkacz, 1997; Ten Cate, 2001; Ebersole 2003; Goodson 2003, Ozmeric 2004; Lindhe & Berglundh, 2010).

Devido à sua consistência fluida e fluxo constante, o fluido sulcular age como fator de limpeza mecânica, minimizando o acúmulo de bactérias. As moléculas da imunidade inata e adquirida presentes no fluido também contribuem para a homeostasia do meio (Ten Cate; 2001; Ebersole 2003). Devido a essas características, o fluido gengival vem sendo estudado como

método de diagnóstico para determinar o estado de atividade da doença periodontal ou risco do indivíduo à doença (Carranza & Bulkacz, 1997; Goodson, 2003; Ozmeric, 2004; Lindhe & Berglundh, 2010).

No periodonto saudável, alguns constituintes do fluido, como IgG e IgA, e enzimas como a collagenase II, apresentam-se em níveis baixos, atuando de forma protetora (Ebersole, 2003). Já no periodonto inflamado, ocorre aumento do volume de fluido sulcular e mudanças na composição deste exsudato, que passa a apresentar mais componentes vasculares e celulares pró-inflamatórios (Ebersole, 2003; Loos e Tjoa, 2005).

Apesar da presença de microrganismos patogênicos ser necessária para o desenvolvimento inicial da doença, a amplificação e progressão deste processo parece ser altamente dependente da resposta imune e inflamatória gerada pelo hospedeiro em resposta às bactérias ou à seus produtos. Alguns estudos têm evidenciado a importância do fluido sulcular nos mecanismos de defesa do periodonto (Ebersole, 2003; Loos e Tjoa, 2005). Porém, somente na última década, pesquisadores propuseram métodos de análise que permitissem sua utilização no diagnóstico da doença periodontal (Goodson, 2003). Para análise do fluido foi desenvolvida metodologia para coleta com pontas de papel absorvente e mensuração do volume de fluido por meio do aparelho Periotron® (Goodson, 2003; Perinetti & Spoto, 2004). Além de medir variações no volume de fluido gengival em função do estado de saúde do periodonto, as pesquisas avaliaram o comportamento das macromoléculas presentes no fluido em função do estágio de evolução da periodontopatia (Griffiths, 2003).

Segundo Loos e Tjoa (2005) existem aproximadamente 100 componentes do fluido sulcular que podem ser utilizados como marcadores de saúde periodontal, e futuramente poderão ser utilizados rotineiramente no monitoramento de indivíduos com periodonto saudável. A dosagem de citocinas pró e anti-inflamatórias no fluido sulcular peri-implantar tem potencial para uso na clínica odontológica e também em pesquisas.

Citocinas são polipeptídeos envolvidos na mediação e regulação das respostas imune e inflamatória. Essas proteínas são produzidas por vários

tipos celulares distintos e atuam sobre diversas células. Comprovadamente, muitas funções originalmente atribuídas a uma citocina são propriedades compartilhadas por diversas citocinas diferentes, sendo que elas podem também, interagir modificando, ampliando ou reduzindo seus efeitos (Abbas *et al.*, 2008). A síntese de determinada citocina pode ser influenciada por outras, levando à formação de cascatas em que uma segunda ou terceira citocina regula as ações biológicas da primeira. Em geral, as citocinas participam da imunidade inata, apresentação de antígenos, diferenciação, ativação e recrutamento celulares, regulam a expressão de moléculas de adesão, assim como o crescimento e diferenciação celulares (Feldmann *et al.*, 1998; Abbas *et al.*, 2008).

2.5. Interleucina 1 β (IL1 β)

A IL1 foi uma das primeiras citocinas descritas e é amplamente estudada (Dinarello, 1994). A família da IL1 é composta por três polipeptídios, interleucina-1 α (IL1 α), interleucina-1 β (IL1 β) e antagonista do receptor da interleucina-1 (IL1Ra) (Dinarello, 1994). Essa citocina é um dos vários mediadores da inflamação que foram identificados no fluido sulcular (Nicolau *et al.*, 2003; Konradsson & Van Dijken, 2005).

Nos últimos anos, estudos procuram elucidar a correlação entre as condições clínicas dos implantes osseointegrados, com a concentração da IL1 β no fluido sulcular peri-implantar. A IL1 β é produzida principalmente pelos monócitos e macrófagos, mas também pode ser sintetizada por fibroblastos e células ósseas (Tatakis *et al.*, 1988; Gruica *et al.*, 2004), além de leucócitos e células do epitélio juncional (Gemmell *et al.*, 1998; Page, 1991). Entre os efeitos biológicos da IL1 β estão sua capacidade de estimular linfócitos T, proliferação de linfócitos B, estímulo da produção de PGE2 pelos monócitos e fibroblastos, e liberação de metaloproteinases que degradam as proteínas da matriz. Além disso, a IL1 β também promove o recrutamento de osteoclastos e a reabsorção óssea, afetando também a quimiotaxia para neutrófilos e a ativação dessas células (Tatakis *et al.*, 1988; Gruica *et al.*, 2004).

Kao *et al.* (1995), Panagakos *et al.* (1996) e Murata *et al.* (2002), demonstraram que a concentração de IL1 β no fluido sulcular peri-implantar, está aumentada na condição de doença, quando comparada à saúde peri-implantar. A observação de que a concentração da IL1 β no fluido sulcular aumenta de acordo com o grau de severidade da doença (saúde, mucosite e peri-implantite), sugere que esta citocina esteja relacionada à rápida e ampla destruição do tecido de suporte observado durante a progressão do processo inflamatório (Panagakos *et al.*, 1996). Assim, IL1 β poderia ser um indicador para o monitoramento da saúde/doença em implantes osseointegrados (Kao *et al.*, 1995).

Ataoglu *et al.* (2002), por sua vez, ao avaliarem pacientes fumantes e não fumantes que apresentavam implantes, demonstraram níveis elevados de IL1 β em sítios peri-implantares com sinais clínicos de inflamação quando comparado aos sítios saudáveis. Esses dados sugerem que o monitoramento da concentração de IL1 β pode auxiliar o diagnóstico de saúde peri-implantar em pacientes não fumantes.

Machtei *et al.* (2006), ao avaliarem a presença de IL1 β no fluido sulcular de dentes e de implantes com diferentes plataformas em pacientes edêntulos parciais, observaram uma correlação positiva entre os níveis de IL1 β e a perda óssea em dentes e implantes. Os autores sugerem seu possível uso como marcador da reabsorção óssea.

2.6. Fator de Crescimento e Transformação β (TGF β)

O TGF β é uma citocina multifuncional, com papel tanto pró como anti-inflamatório, o que a torna uma proteína interessante no monitoramento das patologias peri-implantares e periodontais (Cornelini *et al.*, 2003). Esta citocina é expressa em 5 isoformas, porém apenas TGF β 1, TGF β 2 e TGF β 3 são expressos em mamíferos, sendo o primeiro o mais comum. É considerada uma citocina anti-inflamatória devido à capacidade de supressão da imunidade celular e humoral, bem como da produção de citocinas inflamatórias e atividade das células apresentadoras de antígenos. Entretanto também é considerada

pró-inflamatória pela atividade quimiotática para neutrófilos e linfócitos (Steinsvoll *et al.*, 1999). Além disso, está envolvida na embriogênese (multiplicação e diferenciação celular), inflamação, regulação da resposta imune, adesão e migração celular, formação da matriz extracelular, angiogênese e reparo tecidual (Saito *et al.*, 1999).

Schultze-Mosgau *et al.* (2006), ao compararem a produção de TGF β 1 na mucosa em pacientes com implantes saudáveis, sem implantes e irradiados. Encontraram níveis mais elevados nos grupos com implantes saudáveis e os irradiados, e níveis baixos nos grupos sem implantes, sugerindo o efeito positivo desta citocina para o sucesso dos implantes, uma vez que há estímulo à proliferação dos fibroblastos, bem como síntese das proteínas da matriz extracelular e moléculas de adesão.

Gürkan *et al.* (2006), ao avaliarem indivíduos com diferentes formas de doença periodontal, observaram um aumento dos níveis de TGF β 1 no fluido sulcular de indivíduos com periodontite quando comparados aos indivíduos com gengivite, atribuindo a esta citocina um papel modulatório importante na doença periodontal, podendo regular quadros inflamatórios.

Cornelini *et al.* (2003), por sua vez, ao avaliarem a presença de TGF β 1 na mucosa ceratinizada ao redor de implantes saudáveis e com peri-implantite, encontraram níveis mais elevados desta citocina em implantes com inflamação, de forma semelhante aos resultados encontrados por Duarte *et al.* (2009a) com IL10, atribuindo ao TGF β 1 papel importante na homeostasia dos tecidos e controle da degradação tecidual (Steinsvoll *et al.*, 1999; Cornelini *et al.*, 2003), estimulando os fibroblastos e células endoteliais (Cornelini *et al.*, 2003).

2.7. Interleucina 10 (IL10)

A IL10 é uma das citocinas com características imuno-regulatórias mais destacadas do sistema imune humano (Conti *et al.*, 2003). É produzida por várias células do sistema de defesa, incluindo monócitos/macrófagos ativados, linfócitos T e linfócitos B, embora os macrófagos e monócitos

parecem a ser fonte predominante de síntese de IL10 endógena em humanos (Conti *et al.*, 2003). Essa citocina atua na inibição da síntese de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , IL6, IL8 e IL12, bem como na supressão de várias atividades das células apresentadoras de antígenos (Grimbaldeston *et al.*, 2007). Além disso, é capaz de ativar a produção de IL1Ra, um antagonista da IL1, bem como limitar a duração e extensão da resposta inflamatória (Konradsson & Van Dijken, 2005). Sua ausência está associada com a maior susceptibilidade a qualquer tipo de doença infecciosa (Helminem *et al.*, 1999), o que indica um papel protetor contra destruição tecidual (Duarte *et al.*, 2009a-b).

Goutoudi *et al.* (2004) avaliaram o efeito da terapia periodontal nos níveis de IL10 e IL1 β no fluido sulcular de pacientes com periodontite crônica e observaram relação inversa entre os níveis dessas citocinas e o estado de saúde periodontal do indivíduo, com níveis mais altos IL10 nos sítios saudáveis.

Duarte *et al.* (2009a), ao avaliarem biópsias da mucosa peri-implantar em indivíduos edêntulos parciais e totais, encontraram níveis baixos de IL10 em implantes saudáveis se comparado aos com inflamação, porém, não encontraram diferença significativa de acordo com a severidade do processo inflamatório.

Duarte *et al.*, (2009b) avaliaram a presença de IL10 no fluido sulcular peri-implantar de indivíduos saudáveis, com mucosite e com peri-implantite antes e após diferentes terapias mecânicas anti-infecciosas. Não encontraram diferenças significativas nos níveis de IL10 entre implantes saudáveis e com inflamação, embora aqueles com inflamação tenham apresentado valores mais elevados.

Liskmann *et al.* (2006), por sua vez, encontraram níveis mais elevados de IL10 na saliva de pacientes totalmente edêntulos cujos implantes apresentavam-se com doença peri-implantar e demonstraram correlação positiva entre os níveis desta citocina com os parâmetros clínicos profundidade de sondagem, índice gengival e sangramento à sondagem. Duarte *et al.*, (2009b) e Liskmann *et al.* (2006) sugerem que os níveis elevados de IL10 estão

relacionados à tentativa do organismo em manter o equilíbrio local, o que reforça sua importância na modulação da inflamação peri-implantar.

2.8. Interleucina 17 (IL17)

A IL17, recentemente descoberta, também é apontada como uma das citocinas chave na patologia do periodonto, embora seu papel ainda não esteja completamente esclarecido (Vernal *et al.*, 2005). A IL17 tem sido considerada fator chave no desenvolvimento da osteoartrite e no conseqüente desencadeamento da reabsorção da matriz óssea e cartilaginosa pelos clastos. No entanto, estudos recentes apontaram um papel regulador para esta citocina (Pinkerton *et al.*, 2008).

Alguns estudos demonstram a presença da IL17 nos tecidos periodontais doentes (Vernal *et al.*, 2005; Honda *et al.*, 2008). Sua presença estaria relacionada à expressão de metaloproteinases, interleucinas pró-inflamatórias como IL1 β e TNF- α (Beklen *et al.*, 2007), bem como indução da reabsorção óssea (Takayanagi, 2007; Inoue & Takayanagi, 2009), contribuindo para maior severidade da doença (Takahashi *et al.*, 2005; Colic *et al.*, 2007;). Dessa forma, variações nos níveis de IL17 podem ser determinantes na progressão da doença, sendo que fatores microbianos, imunológicos e genéticos podem estar envolvidos em tal regulação.

Outros autores, pelo contrário, sugerem que a IL17 estaria relacionada à integração entre a imunidade inata e adaptativa, atuando de modo distinto na presença ou ausência de inflamação (Harrington *et al.*, 2006, 2006; Yu *et al.*, 2007; Bi *et al.*, 2007). Kawaguchi *et al.* (2004) sugerem ainda que esta citocina tem participação nos mecanismos de defesa do organismo, com potencial atividade protetora contra invasão bacteriana. No entanto, o papel desta citocina na progressão da doença peri-implantar e seu potencial como marcador precoce da inflamação ainda não foram investigados.

PROPOSIÇÃO

3. PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivos:

- Determinar o nível das citocinas IL1 β , TGF β 1, IL10 e IL17 no fluido sulcular peri-implantar em indivíduos parcialmente edentados, reabilitados com implantes osseointegrados.
- Verificar a correlação entre os níveis dessas citocinas e os parâmetros clínicos de avaliação peri-implantar.
- Determinar um possível marcador biológico de saúde peri-implantar.

MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. População

4.1.1. Seleção dos indivíduos

Participaram deste estudo indivíduos parcialmente edêntulos, que receberam implantes dentais na clínica do curso de Especialização em Implantodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia.

Os critérios observados para inclusão dos indivíduos foram:

- indivíduos saudáveis, sem alteração sistêmica que pudesse interferir na condição peri-implantar.
- não-fumantes.
- não estivessem grávidas ou lactantes.
- não utilizassem medicamentos como antibióticos, antiinflamatórios, imunossupressores ou qualquer outra medicação que pudesse interferir na condição peri-implantar, nos últimos 3 meses.
- não apresentassem história de terapia periodontal ou peri-implantar durante os últimos 6 meses.
- possuísem implantes e as respectivas próteses, em função, há pelo menos 6 meses.

Todos os procedimentos foram previamente autorizados pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Federal de Uberlândia (parecer nº. 370/06 - Anexo 1). Os indivíduos foram orientados sobre os procedimentos e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido autorizando a realização dos mesmos.

4.2. Procedimentos clínicos

Inicialmente foram coletados dados referentes à identificação dos pacientes, tais como idade e gênero. Foi realizada anamnese sobre a condição

sistêmica atual dos indivíduos e sobre os motivos que levaram à perda do elemento dentário. Em seguida, nova ficha foi preenchida para avaliar o índice de placa (IP), além das condições de higiene oral do indivíduo. Após o preenchimento desses dados, em cada indivíduo, foi coletado o fluido sulcular peri-implantar (FSPI) em todos os implantes presentes. Após essas coletas, foram medidos o índice gengival (IG), a profundidade do sulco peri-implantar (PS), o nível de inserção clínica (NIC) e, em seguida, foram obtidas tomadas radiográficas. A presença de supuração (S) e mobilidade (M) também foram avaliadas. O exame clínico foi realizado em 6 sítios peri-implantares (disto-vestibular:DV, vestibular central:VC, mesial-vestibular:MV, disto-lingual:DL, lingual central :LC e mesio-lingual:ML) por um único examinador treinado e calibrado. Uma ficha clínica, especialmente confeccionada para a pesquisa (Anexo 2), permitiu o registro dos parâmetros clínicos avaliados, bem como dados biológicos de interesse.

4.2.1. Índice de Placa (IP)

A presença de placa foi avaliada através do índice de placa de Silness e Løe (1964) modificado por Mombelli *et al.* (1987), e foram atribuídos valores obedecendo ao seguinte critério:

- Escore 0: não foi detectada presença de placa bacteriana;
- Escore 1: placa reconhecida apenas através do uso de sonda;
- Escore 2: placa identificada a olho nu;
- Escore 3: quando houver placa em abundância.

4.2.2. Coleta do fluido sulcular peri-implantar (FSPI)

Em cada indivíduo, previamente à coleta, foi realizada remoção de placa supragengival sem tocar a gengiva marginal. A saliva da superfície da coroa dos implantes a serem avaliados eram gentilmente secas com jato de ar e os mesmos eram isolados com roletes de algodão para evitar contaminação. Em seguida, pontas endodônticas de papel absorvente padronizadas número

30 - Maillefer, Dentsply, Suíça - (Perinetti & Spoto, 2004) foram introduzidas aproximadamente 1mm no interior do sulco peri-implantar, e deixadas por 30 segundos para absorção do fluido sulcular (Yalçin *et al.*, 2005). As amostras contaminadas com sangue foram descartadas e repetida a coleta.

Em cada implante foram utilizadas 6 pontas, uma para cada face: disto-vestibular (DV), vestibular central (VC), mesial-vestibular (MV), disto-lingual (DL), lingual central (LC) e mesio-lingual (ML). Imediatamente após a coleta, as pontas foram colocadas individualmente em tubos cônicos de 1.5mL (Eppendorf) estéreis contendo 400µl de solução tampão de armazenagem (50nM de tampão Tris-HCl, pH 7,5, contendo 0,15M de NaCl e 1mM de CaCl₂) e mantidas em banho de gelo até serem iniciados os procedimentos para extração do fluido absorvido.

Para a extração do fluido sulcular absorvido pelas pontas endodônticas, os tubos foram centrifugados a uma velocidade 10.000G por 300 segundos e o sobrenadante contendo os fluidos foi coletado, distribuído em alíquotas e congelado a -20 °C para posterior dosagens de citocinas.

4.2.3. Índice Gengival (IG)

O índice gengival (Mombelli et al. 1987) foi avaliado após percorrer levemente a margem da mucosa peri-implantar utilizando sonda clínica introduzida superficialmente no sulco peri-implantar sem encontrar resistência. Foram atribuídos valores a cada um dos sítios obedecendo ao seguinte critério:

Escore 0: ausência de sangramento

Escore 1: presença de pontos isolado de sangramento

Escore 2: presença de sangramento formando um colar

Escore 3: presença de sangramento abundante

4.2.4. Sondagem do sulco peri-implantar (PS)

Após a coleta das amostras de fluido, foram obtidas as profundidades de sondagem do sulco peri-implantar utilizando uma sonda

periodontal milimetrada estéril (Golgran/Brasil®, São Paulo, SP, Brazil). A sonda era introduzida paralelamente ao longo eixo do implante de forma suave, até encontrar ligeira resistência, tendo sempre o cuidado para não causar dano à região, obtendo-se 6 medidas em milímetros (mm): DV, VC, MV, DL, LC, ML (Yalçin *et al.*, 2005).

4.2.5. Nível de inserção clínica (NIC)

O nível de inserção clínica (NIC) foi avaliado a partir de um ponto de referência da prótese sobre implante (margem cervical da coroa sobre o implante) até o ponto mais apical do sulco peri-implantar utilizando uma sonda periodontal milimetrada estéril (Golgran/Brasil®, São Paulo, SP, Brazil). Nos casos em que a margem cervical da coroa sobre o implante estava subgingival, o NIC era o valor da própria profundidade de sondagem peri-implantar (PS). A avaliação do NIC foi realizada em 6 sítios peri-implantares (DV, VC, MV, DL, LC, ML), obtendo-se 6 medidas em milímetros (mm).

4.2.6. Supuração (S) e Mobilidade (M)

A presença de supuração nos implantes foi avaliada através de pressão digital na mucosa peri-implantar no sentido ápico-coronal, sendo utilizado um índice dicotômico: presente (1) e ausente (0). Através de índice semelhante, a mobilidade foi avaliada utilizando espelho clínico apoiado sobre a região vestibular da coroa dos implantes e levemente forçada contra esta superfície. Os implantes que apresentassem supuração ou mobilidade, não foram considerados no presente estudo, em que avaliamos os estágios iniciais da doença peri-implantar.

4.2.7. Exame radiográfico

Em todos os indivíduos foram obtidas radiografias periapicais de cada implante, padronizadas pela técnica do paralelismo ou cone longo com

uso de posicionadores de filme radiográfico. Esses exames radiográficos, de caráter complementar, tiveram o intuito de avaliar a presença de perda óssea ou lesões nos implantes, porém, não foram utilizados para classificação dos sítios peri-implantares.

4.2.8. Classificação dos sítios peri-implantares

Inicialmente os sítios peri-implantares dos pacientes foram alocados em 2 grupos: sem inflamação (saudável) e com inflamação (mucosite). Foram considerados sem inflamação os sítios que possuísem índice gengival igual a zero e com inflamação os com índice gengival maior ou igual a 1 (Tozum *et al.*, 2007). Imediatamente após, os sítios peri-implantares com inflamação (mucosite) foram subdivididos considerando a severidade da inflamação, sendo que o índice gengival igual a 1 representa a inflamação leve e o índice gengival maior que 1 representa a inflamação moderada (Tozum *et al.*, 2007). A peri-implantite foi considerada como profundidade de sondagem peri-implantar maior que 4mm, índice gengival maior que 1 e índice de placa maior que 1 (Strbac *et al.*, 2006 adaptado). Os sítios que se incluíam no grupo peri-implantite não foram considerados no presente estudo, em que avaliamos os estágios iniciais da doença peri-implantar.

4.3. Procedimentos laboratoriais

4.3.1. Dosagem das citocinas

A concentração das citocinas foi determinada utilizando kits comerciais de ELISA de captura (eBioscience, San Diego, CA, USA) para as citocinas IL1 β , TGF β 1, IL10 e IL17 de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante. Resumidamente placas de alta afinidade com 96 poços foram adsorvidas com 100 μ L/poço do anticorpo de captura, monoclonal, obtido de rato, anti-citocina de humano, na concentração adequada para cada citocina e incubadas overnight à temperatura de 4°C. As placas foram lavadas 5 vezes

com PBS-Tween e bloqueadas com 200µL/poço de solução bloqueadora por 1 hora à temperatura ambiente. Em seguida, as placas foram lavadas 5 vezes com PBS-Tween e incubadas overnight à 4°C com 100µL/poço das amostras ou do padrão correspondente à cada citocina. As placas foram novamente lavadas 5 vezes com PBS-Tween e incubadas por 1 hora à temperatura ambiente com 100µL/poço do anticorpo de detecção conjugado a Biotina, na concentração adequada para cada citocina (Biotin-conjugate anti-human antibody). Após 5 lavagens com PBS-Tween, foram adicionados 100µL/poço do conjugado peroxidase-estreptavidina (Avidin-HPR), com período de incubação de 30 minutos à temperatura ambiente. As placas foram novamente lavadas 5 vezes com PBS-Tween e receberam 100µL/poço do substrato enzimático (1X TBM solution), permanecendo protegidas da luz por 15 minutos à temperatura ambiente. Após este período, os níveis de absorbância foram obtidos a 450nm utilizando uma Leitora de ELISA (Titertek Multiskan Plus - Flow Laboratories, Mclean, VA, EUA). As concentrações de cada citocina foram obtidas e quantificadas por um programa de computador (Programa Microplate Manager® 4.0, BIO-RAD – Molecular Bioscience Group, Hercules, CA, USA) utilizando-se uma curva padrão previamente estabelecida com quantidades conhecidas dos padrões das citocinas (standard curve range IL1β: 4-500 pg/ml, TGFβ1: 60-8000 pg/ml, IL10: 2-300 pg/ml e IL17: 4-500 pg/ml). Os resultados obtidos foram expressos em pg/mL.

4.4. Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do programa GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Prism version 5.0 for Windows, San Diego, CA, USA). Primeiramente, foi verificada a normalidade dos utilizando o teste Kolmogorov-Smirnov. Uma vez detectada a ausência de normalidade, os dados clínicos e dosagem das citocinas foram avaliados utilizando testes não-paramétricos. O teste Kruskal-Wallis com correção Dunns foi utilizado para avaliar os parâmetros clínicos e os níveis das citocinas nos sítios saudáveis, com inflamação leve ou moderada. O teste de correlação de Spearman foi

utilizada para testar possíveis relações entre os níveis das citocinas entre si e com os parâmetros clínicos. O nível de significância para todas as análises foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Dados Clínicos

Foram avaliados 91 implantes dentais em 40 indivíduos parcialmente edêntulos, sendo 15 homens e 25 mulheres, entre 25 e 65 anos de idade (média de idade 50,5 anos). Os implantes estavam em função por um período médio de 35 meses, variavam em diâmetro de 3.3 a 5.0 mm e em comprimento de 8.5 a 15.0 mm.

Dentre os motivos que levaram à perda dental, 36,26% dos indivíduos relataram cáries dentais; 15,38% insucesso no tratamento endodôntico e/ou protético; 14,28% perda dental devido a traumas ou fratura; 13,19% perda devido à doença periodontal; 4,40% agenesia dental e 16,49% não souberam informar o motivo que levou à perda dental (Figura 1).

Dentre os 91 implantes dentais avaliados, 76,92% eram do tipo hexágono externo, 23,08% hexágono interno e nenhum cone Morse (Figura 2). Dentre os 546 sítios peri-implantares avaliados, 476 (87,18%) eram do grupo saudável, 32 (5,86%) eram do grupo inflamação leve e 38 (6,96%) eram do grupo inflamação moderada (Figura 3). Para as variáveis categóricas os resultados foram apresentados como número e porcentagem e para as variáveis contínuas os dados foram apresentados como média e erro padrão (dados clínicos) e mediana (dosagens das citocinas).

A profundidade de sondagem nos sítios peri-implantares saudáveis ($1,60\text{mm} \pm 0,02$) foi significativamente menor quando comparada à dos sítios com inflamação ($2,51\text{mm} \pm 0,14$; $p < 0,0001$; Figura 4). Os sítios peri-implantares do grupo saudável apresentaram profundidade de sondagem mais elevada quando comparados aos sítios com inflamação leve ($2,28\text{mm} \pm 0,21$; $p < 0,01$) e moderada ($2,71\text{mm} \pm 0,18$; $p < 0,001$). No entanto, não houve diferença significativa entre os sítios com inflamação leve e moderada quando comparados entre si ($p > 0,05$) (Figura 5).

O nível de inserção clínica nos sítios peri-implantares saudáveis ($1,82\text{mm} \pm 0,04$) foi significativamente menor quando comparada ao dos sítios

com inflamação ($2,51\text{mm} \pm 0,13$; $p<0,0001$; Figura 6). Os sítios peri-implantares do grupos saudável apresentaram nível de inserção clínica mais elevada quando comparados aos sítios com inflamação moderada ($2,72\text{mm} \pm 0,18$; $p<0,0001$). No entanto, não houve diferença significativa entre os sítios saudáveis quando comparados aos com inflamação leve ($2,29\text{mm} \pm 0,20$; $p>0,05$) e entre os com inflamação leve quando comparados aos com inflamação moderada ($p>0,05$) (Figura 7).

A porcentagem de sítios com índice de placa igual a zero é maior no grupo saudável (71,43%) se comparado aos grupos inflamação leve (43,75%) e moderada (26,32%). A porcentagem de sítios com índice de placa igual a 1 foi maior no grupo inflamação moderada (31,58%) em comparação com os grupos inflamação leve (31,25%) e saudável (19,95%). Do mesmo modo, porcentagem de sítios com índice de placa igual a 2 foi maior no grupo inflamação moderada (42,10%) em comparação com os grupos inflamação leve (25,00%) e saudável (8,62%). Houve diferença significativa entre a frequência de distribuição dos valores de índice de placa entre os grupos saudável e inflamação ($p<0,0001$), saudável e inflamação leve ($p<0,0001$), saudável e inflamação moderada ($p<0,0001$) e entre inflamação leve e moderada ($p=0,0008$) (Figuras 8 e 9).

Mobilidade e supuração não foram observadas em nenhum dos implantes incluídos no presente estudo.

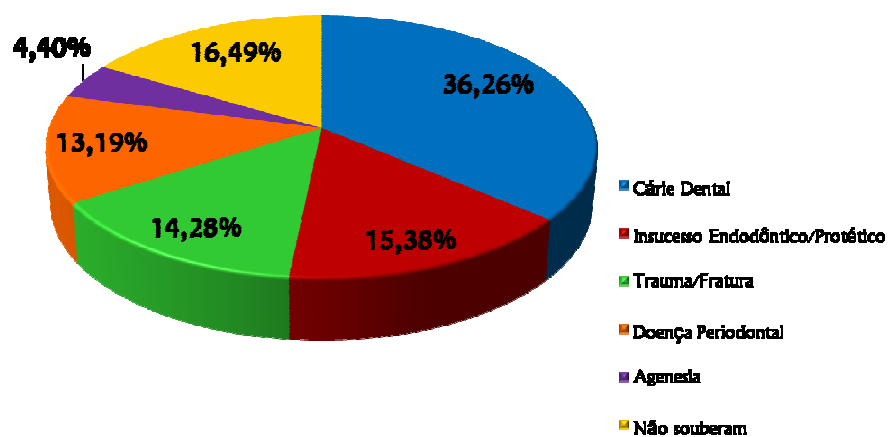


Figura 1: Causas da perda dental.

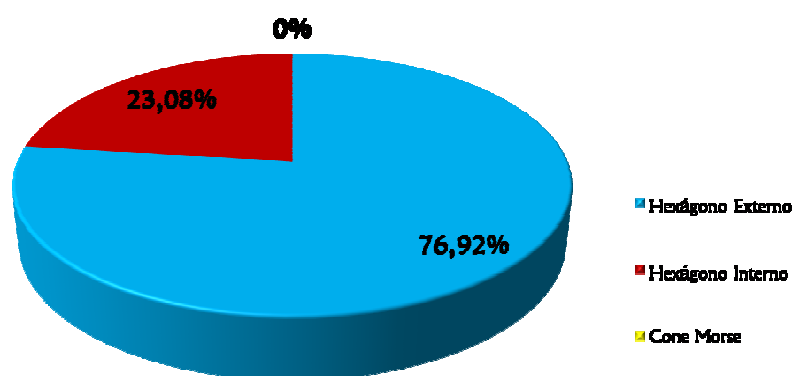


Figura 2: Tipos de implantes avaliados.

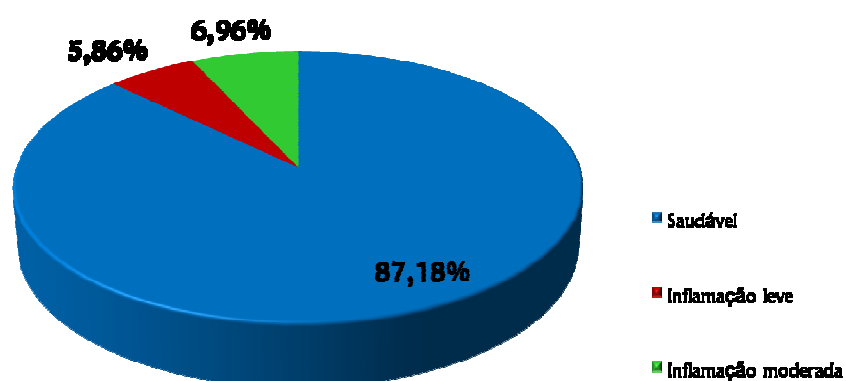


Figura 3: Distribuição dos sítios peri-implantares nos grupos avaliados.

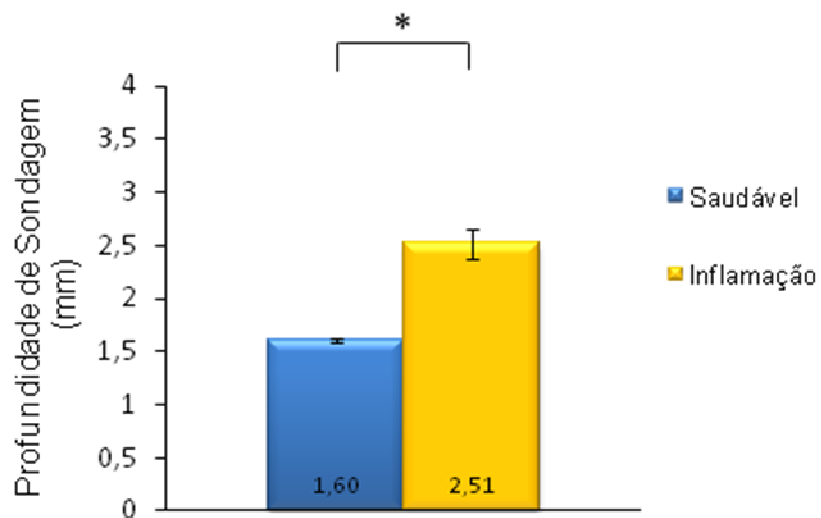


Figura 4: Profundidade de Sondagem nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável e Inflamação (* $p < 0,0001$).

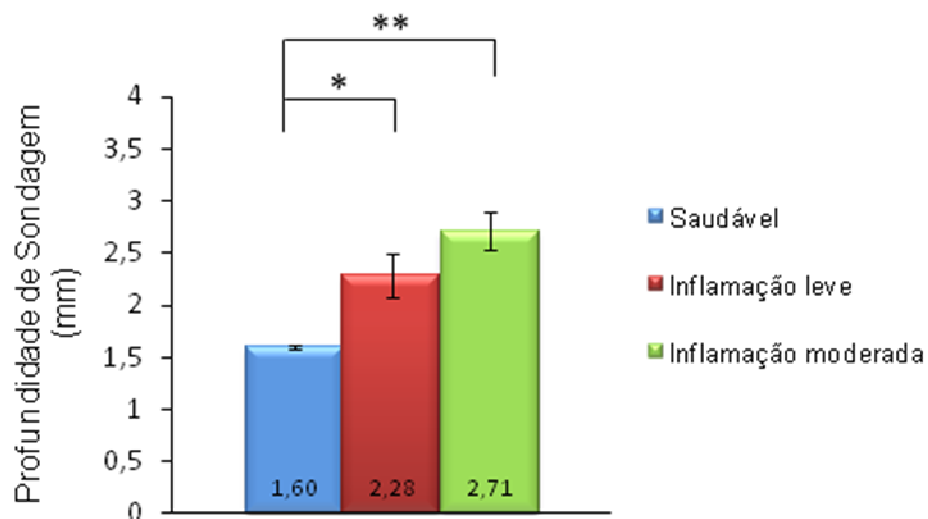


Figura 5: Profundidade de Sondagem nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável, Inflamação leve e Inflamação moderada (* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$).

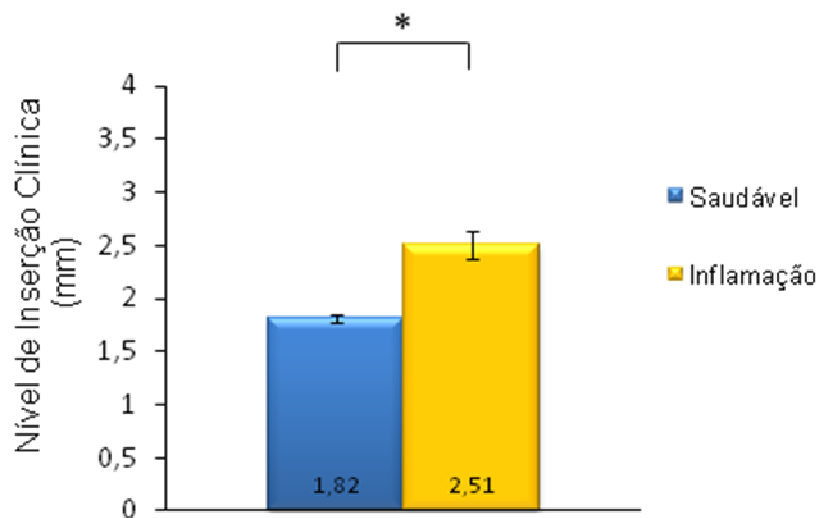


Figura 6: Nível de Inserção Clínica nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável e Inflamação (* $p < 0,0001$).

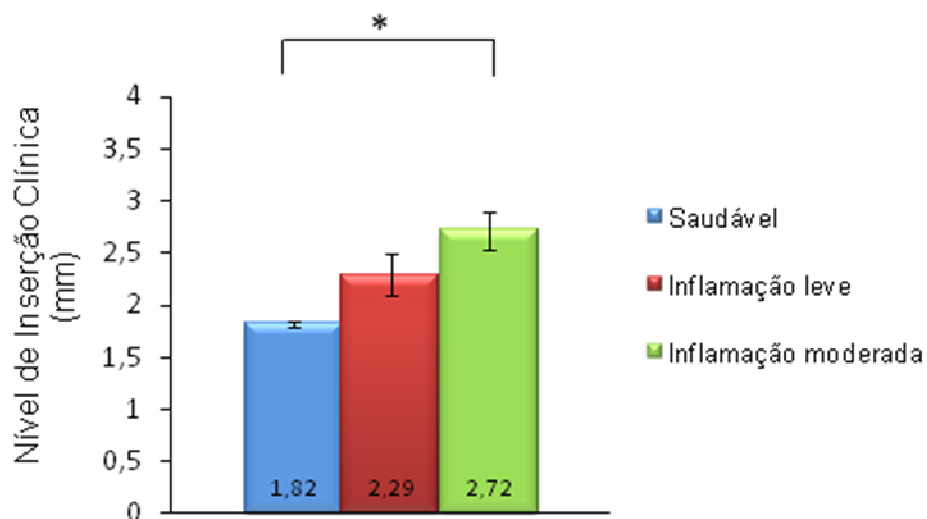


Figura 7: Nível de Inserção Clínica nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável, Inflamação leve e Inflamação moderada (* $p < 0,0001$).

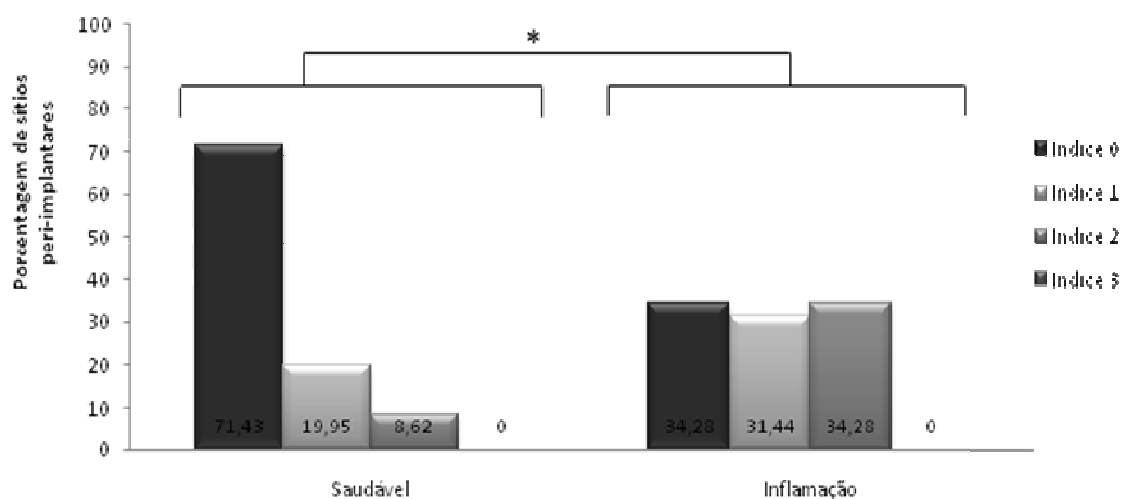


Figura 8: Frequência de distribuição do Índice de placa nos sítios peri-implantares dos grupos Saúdevel e Inflamação (* $p < 0,0001$).

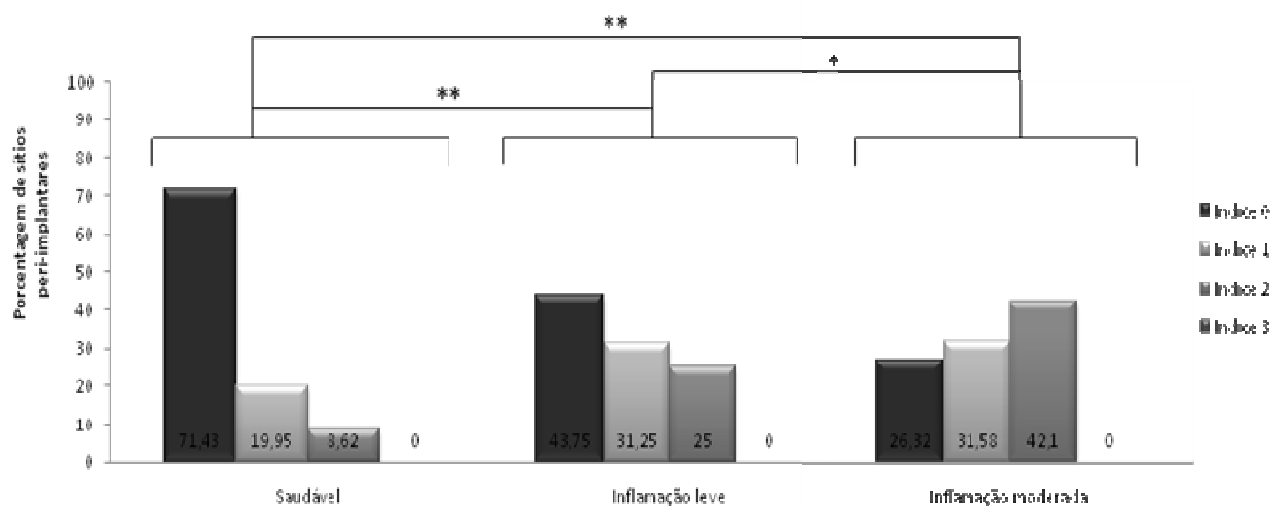


Figura 9: Frequência de distribuição do Índice de placa nos sítios peri-implantares dos grupos Saúdevel, Inflamação leve e Inflamação moderada (* $p < 0,001$; ** $p < 0,0001$).

5.2. Níveis de citocinas nos sítios peri-implantares

Em todos os sítios experimentais foi detectada a presença das citocinas. Os níveis médios de IL1 β foram maiores no grupo saudável (23,64pg/ml $\pm$ 1,50) quando comparados ao grupo com inflamação (22,33pg/ml $\pm$ 2,69), no entanto, a diferença não foi significativa ($p=0,65$) (Figura 10). O grupo inflamação moderada (25,32pg/ml $\pm$ 3,92) apresentou maiores níveis médios de IL1 β quando comparado aos grupos saudável e inflamação leve (18,78pg/ml $\pm$ 3,59), porém, não houve diferença significativa ($p=0,51$) (Figura 11).

Houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis médios de TGF β 1 no grupo saudável (1646,00pg/ml $\pm$ 109,90) quando comparado ao grupo com inflamação (509,30pg/ml $\pm$ 98,24; $p<0,0001$) (Figura 12). Também foi encontrada diferença significativa entre os níveis médios de TGF β 1 entre o grupo saudável quando comparado aos grupos inflamação leve (546,10pg/ml $\pm$ 113,10; $p<0,01$) e inflamação moderada (471,60pg/ml $\pm$ 155,50; $p<0,001$). No entanto, não houve diferença significativa entre os níveis de TGF β 1 nos grupos inflamação leve e inflamação moderada quando comparados entre si ($p>0,05$) (Figura 13).

Os níveis médios de IL10 foram maiores no grupo com inflamação (10,76pg/ml $\pm$ 1,81) quando comparado ao grupo saudável (8,97pg/ml $\pm$ 0,67), porém não foram significantes ($p=0,39$) (Figura 14). Os níveis médios de IL10 foram maiores no grupo inflamação moderada (13,52pg/ml $\pm$ 3,01) quando comparado aos grupos saudável e inflamação leve (7,47pg/ml $\pm$ 1,57), porém, não foram significantes ($p=0,52$) (Figura 15).

Os níveis médios de IL17 foram maiores no grupo saudável (35,89 pg/ml $\pm$ 3,43) quando comparado ao grupo com inflamação (31,31pg/ml $\pm$ 4,59), porém, não houve significância nos resultados ($p=0,19$) (Figura 16). Não houve diferença significativa entre os níveis de IL17 nos grupos saudável, inflamação leve (24,72 pg/ml $\pm$ 5,78) e inflamação moderada (36,86 pg/ml $\pm$ 6,86) quando comparados entre si ($p=0,25$) (Figura 17).

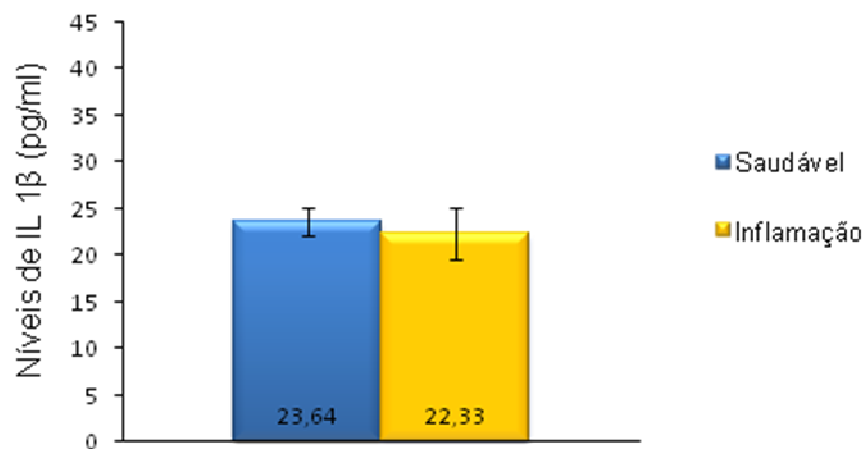


Figura 10: Níveis de IL1 β nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável e Inflamação ($p>0,05$).

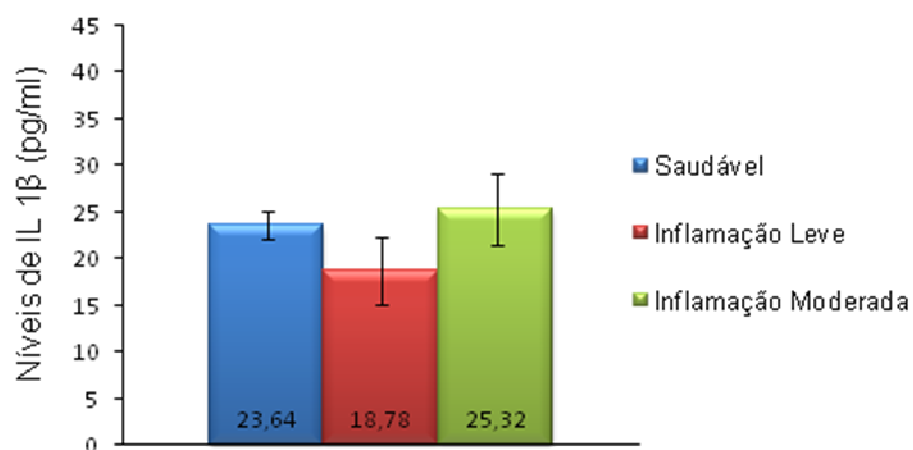


Figura 11: Níveis de IL1 β nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável, Inflamação leve e Inflamação moderada ($p>0,05$).

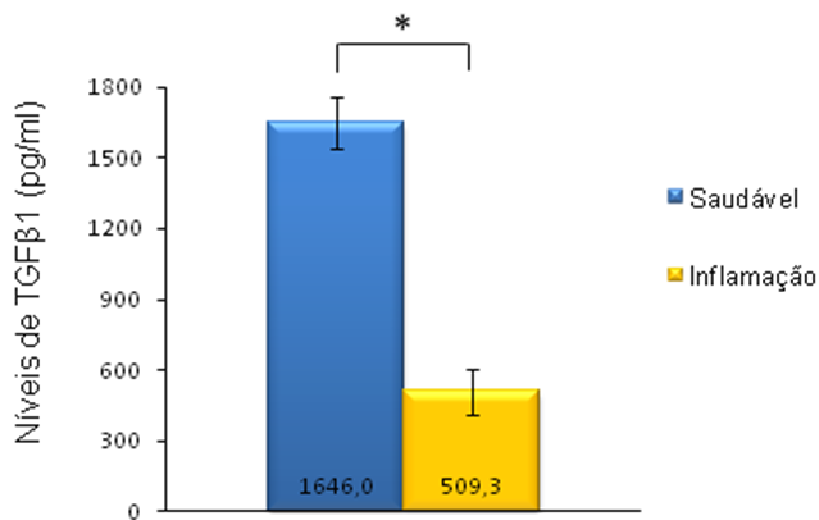


Figura 12: Níveis de TGFβ1 nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável e Inflamação (* $p < 0,0001$).

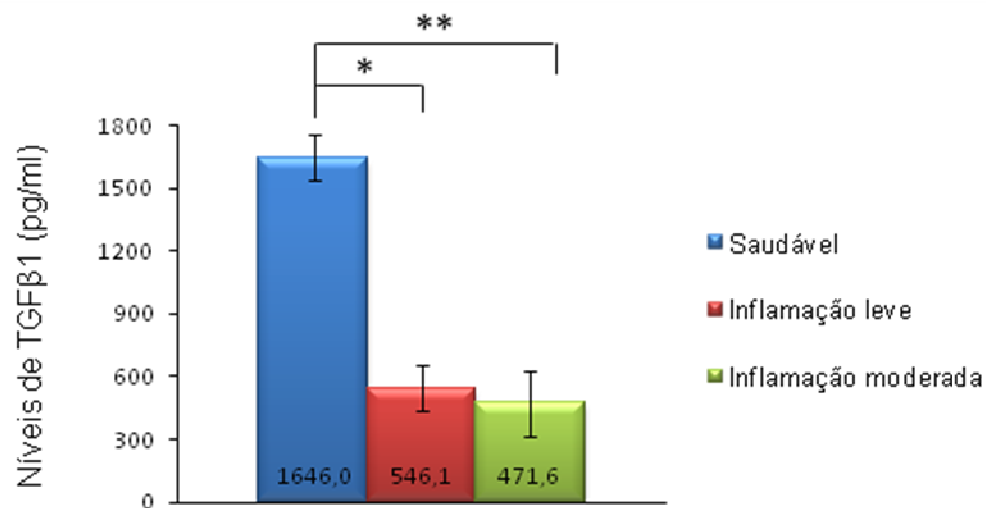


Figura 13: Níveis de TGFβ1 nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável, Inflamação leve e Inflamação moderada (* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$).

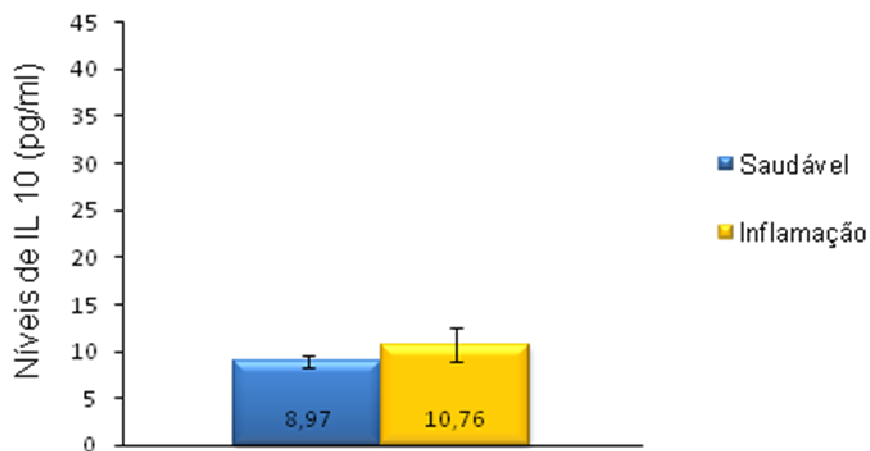


Figura 14: Níveis de IL10 nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável e Inflamação ($p>0,05$).

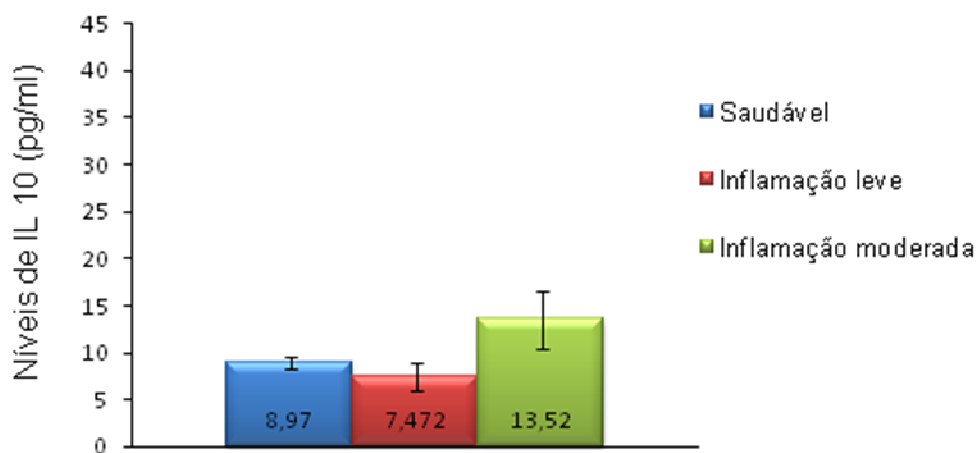


Figura 15: Níveis de IL10 nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável, Inflamação leve e Inflamação moderada ($p>0,05$).

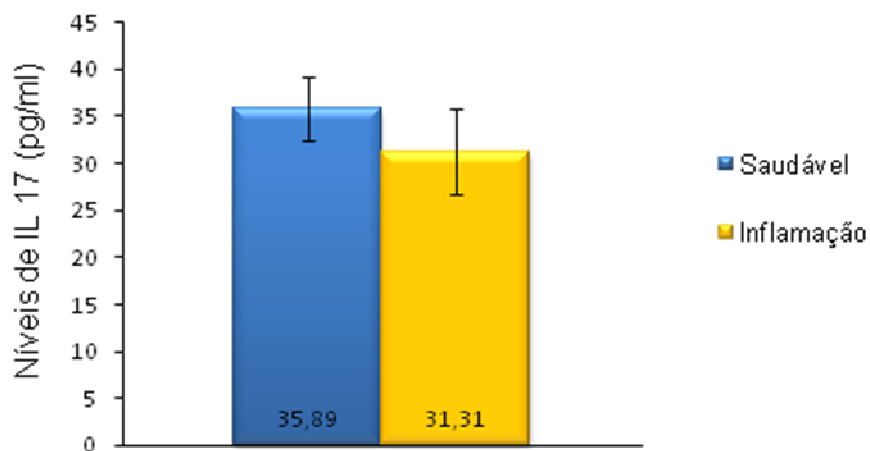


Figura 16: Níveis de IL17 nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável e Inflamação ($p>0,05$).

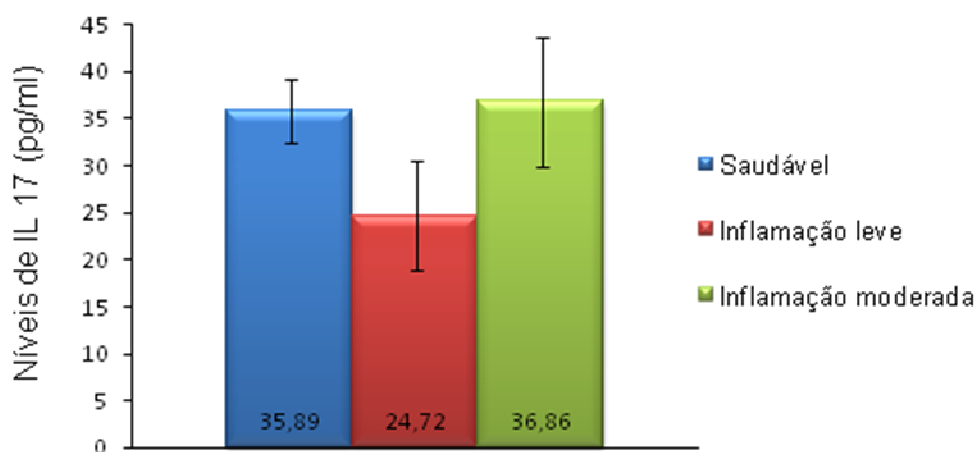


Figura 17: Níveis de IL17 nos sítios peri-implantares dos grupos Saudável, Inflamação leve e Inflamação moderada ($p>0,05$).

5.3. Correlação entre os parâmetros clínicos e as citocinas

No grupo saudável, foi observada correlação estatisticamente significativa quando PS foi comparado às citocinas TGF β 1 ($r=-0,1048$; $p=0,02$) e IL1 β ($r=0,1264$; $p=0,006$), quando NIC foi comparado com as citocinas TGF β 1 ($r=-0,0916$; $p=0,04$), IL1 β ($r=0,1357$; $p=0,003$) e IL17 ($r=-0,0950$; $p=0,03$) e quando IP foi comparado com as citocinas TGF β 1 ($r=-0,2764$; $p<0,0001$) e IL1 β ($r=0,1003$; $p=0,02$). Quando as citocinas foram correlacionadas entre si, foram encontradas correlações positivas estatisticamente significantes entre IL1 β e IL17 ($r=0,1275$; $p=0,005$) e entre IL1 β e IL10 ($r=0,0933$; $p=0,04$) (Tabela 1).

No grupo com inflamação, foi observada correlação estatisticamente significativa quando PS e NIC foram comparados à citocina IL1 β ($r=0,4652$; $p<0,0001$ e $r=0,4582$; $p<0,0001$ respectivamente) e quando o parâmetro IP foi comparado à citocina TGF β 1 ($r=-0,3758$; $p=0,001$). Quando as citocinas foram correlacionadas entre si, foram encontradas correlações positivas estatisticamente significantes apenas entre IL17 e IL10 ($r=0,3381$; $p=0,004$) (Tabela 2).

No grupo com inflamação leve, foi observada correlação estatisticamente significativa quando PS foi comparado às citocinas TGF β 1 ($r=-0,3859$; $p=0,02$) e IL1 β ($r=0,5354$; $p=0,001$), quando NIC foi comparado com as citocinas TGF β 1 ($r=-0,3860$; $p=0,02$) e IL1 β ($r=0,5355$; $p=0,001$), e quando IP foi comparado às citocinas TGF β 1 ($r=-0,4621$; $p=0,007$) e IL1 β ($r=0,3653$; $p=0,03$). Quando as citocinas foram correlacionadas entre si, foram encontradas correlações positivas estatisticamente significantes apenas entre IL17 e IL10 ($r=0,4281$; $p=0,01$) (Tabela 3).

No grupo com inflamação moderada, foi observada correlação estatisticamente significativa quando PS foi comparado à citocina IL1 β ($r=0,3693$; $p=0,02$), quando NIC foi comparado com a citocina IL1 β ($r=0,3562$; $p=0,02$) e quando IP foi comparado à citocina TGF β 1 ($r=-0,3329$; $p=0,04$). Quando as citocinas foram correlacionadas entre si, foram encontradas

correlações positivas estatisticamente significantes apenas entre TGF1 β e IL1 β (r=0,4791; p=0,002) (Tabela 4).

Tabela 1: Coeficientes de correlação para as citocinas estudadas e os parâmetros clínicos no grupo Saudável.

	TGF β	IL1 β	IL17	IL10
IL1 β	0,0221	-	-	-
IL 17	-0,0530	0,1275**	-	-
IL 10	0,0627	0,0933*	0,0694	-
PS	-0,1048*	0,1264**	-0,0308	-0,0394
NIC	-0,0916*	0,1357**	-0,0950*	-0,0099
IP	-0,2764***	0,1003*	0,0099	-0,0339

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

Tabela 2: Coeficientes de correlação para as citocinas estudadas e os parâmetros clínicos no grupo Inflamação.

	TGF β	IL1 β	IL17	IL10
IL1 β	0,1950	-	-	-
IL 17	0,2338	0,0700	-	-
IL 10	0,2063	0,0953	0,3381**	-
PS	-0,1238	0,4652***	-0,1565	-0,1001
NIC	-0,1440	0,4582***	-0,1312	-0,1277
IP	-0,3758***	-0,2866	-0,1086	-0,0852

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

Tabela 3: Coeficientes de correlação para as citocinas estudadas e os parâmetros clínicos no grupo Inflamação leve.

	TGF β	IL1 β	IL17	IL10
IL1 β	-0,0940	-	-	-
IL 17	-0,0881	0,2290	-	-
IL 10	0,3329	0,0350	0,4281*	-
PS	-0,3859*	0,5354**	-0,2619	-0,1871
NIC	-0,3860*	0,5355**	-0,2620	-0,1872
IP	-0,4621**	0,3653*	-0,2418	0,2442

*p<0,05; **p<0,01

Tabela 4: Coeficientes de correlação para as citocinas estudadas e os parâmetros clínicos no grupo Inflamação moderada.

	TGF β	IL1 β	IL17	IL10
IL1 β	0,4791**	-	-	-
IL 17	0,2601	0,1854	-	-
IL 10	0,2271	0,1005	0,0913	-
PS	0,1323	0,3693*	-0,1476	-0,0561
NIC	0,0781	0,3562*	-0,0839	-0,1082
IP	-0,3329*	-0,3803	-0,0065	0,0001

*p<0,05; **p<0,01

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Investigações imunológicas têm sido extensivamente desenvolvidas no âmbito periodontal (Seymour & Gemmel, 2001; Bostanci *et al.*, 2007), no entanto, até o presente momento, número limitado de estudos objetivaram esclarecer o papel da resposta imune nas doenças peri-implantares.

O presente estudo utilizou parâmetros clínicos tradicionais para determinar as condições de saúde peri-implantar em um grupo de indivíduos com diferentes sistemas de implantes dentais. Os parâmetros clínicos escolhidos para análise consideram a realidade de clínicas dentais privadas, onde métodos simples e rápidos são utilizados para acompanhamento clínico. Estudos anteriores utilizaram esses parâmetros para determinar a condição de saúde peri-implantar (Leonhardt *et al.*, 2002; Paolantonio *et al.*, 2000; Liskmann *et al.*, 2006). Os mesmos foram associados à quantificação de marcadores da inflamação – IL1 β , TGF β 1, IL10 e IL17 no fluido sulcular peri-implantar.

A utilização da profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínica (NIC) para acompanhamento dos implantes dentais é controversa (Ataoglu *et al.*, 2002), uma vez que ambos são vulneráveis a erros de interpretação e execução (Hill *et al.*, 2006), pois os tecidos peri-implantares são estruturalmente diferentes da dentição natural (Machtei *et al.*, 2006).

A adesão entre a mucosa peri-implantar e a superfície do implante é mais frágil que a adesão entre dente e gengiva. Isso ocorre porque os implantes não apresentam cimento e fibras colágenas perpendiculares (Weber & Cochran 1998; Lindhe & Berglundh, 2010). Dessa forma, durante a sondagem, a mucosa peri-implantar é deslocada principalmente na direção lateral, o que faz com que a sonda penetre mais profundamente ao redor dos implantes (Machtei *et al.*, 2006; Lindhe & Berglundh, 2010). No entanto, mesmo diante desses fatores, ambos ainda são considerados critérios confiáveis para avaliar a saúde peri-implantar (Lang & Brägger, 1991).

Nos sítios avaliados, os valores de PS foram mais elevados de acordo com a progressão da inflamação, no entanto, não excederam 4mm. A

ausência de valores elevados pode ter influenciado nossos resultados, quando comparados a outros estudos que encontraram valores acima de 5mm (Ataoglu *et al.*, 2002; Murata *et al.*, 2002). Entretanto, considerando que este trabalho avaliou apenas os estágios iniciais da doença peri-implantar, não seria esperado que valores elevados de PS fossem encontrados.

Alguns estudos utilizam sondas pré-calibradas na tentativa de minimizar a possibilidade de erros relacionados à força durante a sondagem e sugerem que o uso desses equipamentos poderia garantir valores mais confiáveis (Liskmann *et al.*, 2004; Tözum *et al.*, 2005). O presente estudo, embora tenha utilizado a sondagem convencional, encontrou valores semelhantes aos trabalhos de Tözum e cols. (2005), que, avaliaram pacientes edêntulos totais portadores de overdenture com sondas pré-calibradas. De modo semelhante ao presente trabalho, Duarte e cols. (2009b) utilizaram sondagem convencional para avaliação peri-implantar e também não encontraram valores elevados nos grupos que se enquadravam nos estágios iniciais da doença. Dessa forma, podemos sugerir que a sondagem peri-implantar convencional, desde que adequadamente realizada, pode ser utilizada para avaliação da saúde peri-implantar associada à outras formas de diagnóstico.

O índice gengival de sangramento (IG), utilizado para classificar os sítios peri-implantares, parece ser um parâmetro mais confiável que o sangramento à sondagem. O sangramento marginal representa a tendência ao sangramento espontâneo da mucosa, o que ocorre prontamente em tecidos inflamados (Dinato & Polido, 2001). Além disso, é de fácil execução, mesmo em casos em que há sobrecontorno das próteses. Já o sangramento à sondagem, embora ainda utilizado, pode sofrer influência da força e posição do instrumento durante a sondagem, bem como da anatomia e posição da mucosa (Mombelli *et al.*, 1987; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003a; Matchei *et al.*, 2006; Hill *et al.*, 2006), oferecendo valores menos confiáveis.

Outro parâmetro bastante utilizado é a presença de placa. Os índices de placa (IP) encontrados foram maiores no grupo com inflamação moderada, o que condiz com a realidade clínica, visto que a mucosa se torna

inflamada devido ao maior acúmulo de biofilme dental (Dinato & Polido, 2001). As bactérias presentes no biofilme, através da liberação de toxinas, provocam um processo inflamatório, que leva à destruição tecidual e, conseqüentemente, elevação dos valores de PS se comparado à pacientes saudáveis, que apresentam índices de placa menores. Embora o IP não seja considerado um bom parâmetro a ser avaliado devido à possibilidade do paciente melhorar a higienização apenas no dia do exame (Lachmann *et al.*, 2007) e também à natureza subjetiva deste parâmetro (McClanahan *et al.*, 2001), no presente trabalho, foi demonstrado coerência nos resultados.

O controle do biofilme dental deve começar imediatamente após a exposição do implante na cavidade oral, sendo constantemente monitorado, uma vez que as coroas protéticas instaladas sobre os implantes são freqüentemente volumosas e sobrecontornadas, o que dificulta uma adequada higienização. Especialmente nos casos de perda dental causadas por doenças periodontais ou cáries, deve-se buscar maior conscientização devido ao histórico de higienização inadequada ou insuficiente (Jovanovic, 1997). Justamente por esses motivos, a presença de placa deve ser cuidadosamente avaliada nos implantes.

Um grande número de estudos sobre o sucesso da terapia com implantes foram derivados de populações sob rigoroso controle periodontal e peri-implantar (Kassouris *et al.*, 2003; Kassouris *et al.*, 2004; Wennström *et al.*, 2004; Lachmann *et al.*, 2007). Grupos de pacientes com essas características não representam a maioria da população com implantes dentais (Renvert *et al.*, 2007), o que pode ter influenciado a ausência de associação positiva entre a presença de placa e a inflamação encontrada por alguns autores. O presente trabalho, entretanto, reflete a realidade clínica do monitoramento dos implantes dentais. Embora apenas estágios iniciais da doença peri-implantar tenham sido avaliados, a higiene bucal deficiente continua a ser um fator importante para o desenvolvimento e progressão da inflamação (Renvert *et al.*, 2007).

A correlação positiva observada entre a presença de placa com os parâmetros clínicos que caracterizam a perda de inserção (PS e NIC), bem

como com a citocina IL1 β , mais uma vez indicam que o biofilme dental tem importante papel no desenvolvimento de inflamações peri-implantares.

Nos últimos anos, o fluido sulcular peri-implantar (FSPI) tem sido proposto como potencial instrumento para diagnosticar e determinar a atividade da doença peri-implantar (Ataoglu *et al.*, 2002; Murata *et al.*, 2002; Liskmann *et al.*, 2004; Yalçin *et al.*, 2005; Strabc *et al.*, 2006; Tözüm *et al.*, 2008; Duarte *et al.*, 2009b). No sentido de contribuir com o entendimento e diagnóstico precoce, o presente estudo analisou fluido sulcular, envolvido na defesa imune da cavidade oral (Paolantonio *et al.*, 2000; Kaufman & Lamster 2000; Loos & Tjoa 2005; Liskmann *et al.*, 2006).

Os níveis IL1 β no FSPI do grupo com inflamação moderada foram superiores, e os menores valores foram encontrados no grupo saudável. Embora os resultados não tenham sido significativos, estão de acordo com estudos anteriores que encontraram níveis mais elevados de IL1 β em sítios com inflamação severa quando comparados aos saudáveis (Panagakos *et al.*, 1996; Murata *et al.*, 2002). É possível sugerir que, em locais com inflamação avançada, também poderíamos encontrar resultados semelhantes.

Em todos os grupos avaliados, a correlação positiva dos níveis médios de IL1 β com PS e NIC podem indicar perda de inserção durante a progressão da doença. Já se sabe que a IL1 β tem forte associação com a susceptibilidade à doença periodontal (Gamonal *et al.*, 2000), provavelmente devido à sua capacidade de indução da osteoclastogênese através da regulação da expressão de RANKL (Wei *et al.*, 2005). Sendo assim, a IL1 β atuaria como um estimulador primário da perda óssea e poderia ser útil como marcador de estágios avançados da inflamação (Massada *et al.*, 1990) ou da doença peri-implantar.

A presença de citocinas modulatórias nos locais com inflamação sugere um mecanismo no qual a própria resposta inflamatória do hospedeiro poderia atuar, tanto no reparo quanto na remodelação dos tecidos (Tyler *et al.*, 1999). Os níveis de IL10 foram maiores no grupo inflamação moderada quando comparados com os demais grupos, no entanto, a diferença não foi significativa. A IL10 é um potente inibidor das citocinas Th1 (IL2 e IFN- γ), bem

como da atividade dos monócitos e macrófagos (Page, 1991),desempenhando funções protetoras nos locais inflamados. Berg e cols. (1995) já demonstraram que camundongos knockout para IL10 não só desenvolvem a inflamação, mas também apresentam hipersensibilidade prolongada. Aparentemente, a IL10 parece desempenhar papel importante na regulação negativa da produção de citocinas pró-inflamatórias e pelo estímulo à produção de anticorpos (Rousset *et al.*, 1992).

Evidências indicam que a IL17 participa da regulação do processo inflamatório e da autoimunidade (Mangan *et al.*, 2006). Já se sabe que a IL17 assume caráter destrutivo no contexto da artrite, no entanto, seus efeitos sobre neutrófilos e expressão de quimiocinas sugerem que ela poderia ter funções protetoras na doença periodontal (Yu *et al.*, 2007) . No presente estudo, embora não significativamente, os níveis mais elevados de IL17 foram encontrados na inflamação moderada e saudável, indicando que, assim como outras citocinas, a IL17 teria diversas funções *in vivo* (Harrington *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 2007). Considerando a correlação positiva entre IL17 e IL10 no grupo inflamação moderada, é possível especular que a IL17 também está envolvida no desenvolvimento da inflamação, mediando ativação da resposta imunológica frente ao agressor (Vernal *et al.*, 2005).

Em sítios saudáveis, a correlação positiva entre IL10 e IL1 β , assim como entre IL17 e IL1 β sugere a participação de ambas como moduladoras do processo inflamatório peri-implantar e que o equilíbrio da saúde peri-implantar poderia ser mantido pela regulação das citocinas pró-inflamatórias como a IL1 β por outros mediadores como a IL17 e a IL10. A expressão aumentada de IL10 induzida por níveis elevados de IL1 β (Gretzer *et al.*, 2003) poderia ajudar a manter a homeostasia, reduzir a degradação do tecido conjuntivo bem como a resposta imunológica e a produção de mediadores pró-inflamatórios (Rousset *et al.*, 1992). Por sua vez, embora o papel da IL17 durante a inflamação periodontal e peri-implantar não seja completamente conhecido, esta citocina tem funções pleiotrópicas (Harrington *et al.*, 2006; Takayanagi, 2007; Yu *et al.*, 2007; 19. Inoue & Takayanagi, 2009), podendo agir na regulação das

reações imunoinflamatórias. Os resultados indicam que, tanto a IL10 como a IL17 parecem ser úteis em algumas condições inflamatórias.

A expressão elevada de TGF β está ligada ao sucesso dos implantes dentais (Schierano *et al.*, 2003). Em indivíduos saudáveis, foram encontrados níveis significativamente mais altos de TGF β 1 quando comparado aos demais grupos. Níveis elevados de TGF β 1 parecem ter um efeito positivo sobre a integração do implante uma vez que ele estimula a síntese dos componentes da matriz extracelular bem como a proliferação de fibroblastos (Schierano *et al.*, 2001). Dessa forma, esta citocina poderia ser indicativa de saúde peri-implantar.

A reação inflamatória descontrolada observada em camundongos knockout para TGF β 1, sugere que esta citocina possua importantes funções anti-inflamatórias (Shull *et al.*, 1992) como sugerido pelo presente estudo. Assim, a queda expressiva dos níveis de TGF β 1, como observado, poderia ser indicativa à maior susceptibilidade ao desenvolvimento da doença peri-implantar. Sendo assim, na ausência desta citocina, terapias clínicas de controle da inflamação peri-implantar bem como terapias utilizando o TGF β 1 poderiam ser implementadas como forma de auxílio à manutenção da saúde peri-implantar.

No presente estudo, considerando a presença de TGF β 1 em todos os grupos avaliados, é possível sugerir um papel regulatório à citocina, semelhante às funções desenvolvidas pela IL10 e IL17. Entretanto, apesar do envolvimento desta citocina no reparo dos tecidos periodontais (Goutoudi *et al.*, 2004) e peri-implantares inflamados (Schierano *et al.*, 2001; Schierano *et al.*, 2003) ser conhecido, houve uma brusca diminuição dos níveis de TGF β 1 apenas quando a inflamação leve se instala, no entanto, não houve diferença significativa entre os diferentes estágios da inflamação. Estes resultados podem sugerir que a inflamação moderada ao redor dos implantes ainda não foi suficientemente agressiva para estimular mudanças no nível da citocina conforme a progressão da inflamação. No entanto, a correlação positiva entre TGF β 1 e IL1 β no grupo inflamação moderada sugere que a progressão da doença pode levar à maior liberação de TGF β 1 na tentativa de proteger o

organismo frete à IL1 β . O provável aumento dos níveis de TGF β 1 com a evolução da inflamação já foi reportado na literatura (Gürkan *et al.*, 2006) como forma de conter a inflamação, o que sugere seu efeito benéfico nos tecidos.

Já se sabe que o TGF β 1 age durante o início e progressão da doença periodontal (Steinsvoll *et al.*, 1999; Gürkan *et al.*, 2006). Assim, o TGF β 1 poderia modificar suas funções, assumindo tanto caráter pró como anti-inflamatório, para regular as respostas imunoinflamatórias, bem como para limitar a degradação tecidual (Steinsvoll *et al.*, 1999; Gürkan *et al.*, 2006). Contudo, ainda não sabemos se o avanço da doença ocorre devido à quantidade insuficiente de citocinas anti-inflamatórias ou níveis mais elevados de citocinas pró-inflamatórias (Gürkan *et al.*, 2006).

Embora estudos prévios tenham demonstrado infiltrados inflamatórios distintos entre peri-implantite, inflamação moderada, leve e saudável (Seymour *et al.*, 1989; Bullon *et al.*, 2004), no presente estudo, as diferenças entre os níveis dos mediadores inflamatórios entre os grupos estudados foram sutis, exceto para TGF β 1. Isso pode ser explicado pela grande variabilidade intra-sítio observada e pela dificuldade de determinar o momento de atividade da doença por meio dos parâmetros clínicos atualmente existentes.

Análises moleculares não têm como objetivo substituir os exames clínicos utilizados rotineiramente, mas o intuito de complementar a avaliação clínica, auxiliando o diagnóstico. Dessa forma, dados clínicos relacionados aos níveis de citocinas do fluido podem elucidar o padrão de resposta, indicando como alterações em marcadores biológicos poderiam auxiliar o diagnóstico clínico. Um melhor entendimento da patogênese das doenças peri-implantares pode gerar um benefício terapêutico importante no que diz respeito à modulação da resposta imune do hospedeiro pela regulação da expressão dos mediadores inflamatórios, bem como por tratamentos com moléculas biológicas específicas.

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada, os resultados do presente estudo demonstraram que:

- A presença de placa dental é um fator importante para o desenvolvimento e progressão da inflamação, apresentando correlação positiva com a perda de inserção nos implantes.
- As citocinas IL10 e IL17 parecem modular a resposta inflamatória peri-implantar.
- Houve queda expressiva nos níveis de TGF β 1 nos grupos com inflamação quando comparados ao grupo saudável. Dessa forma, níveis elevados desta citocina poderiam ser marcadores indicativos da saúde peri-implantar.

REFERÊNCIAS

* De acordo com a Norma da FOUFU, baseado nas Normas de Vancouver.
Abreviaturas dos periódicos com conformidade com Medline (Pubmed).

REFERÊNCIAS

Abbas AK. **Imunologia celular e molecular**. São Paulo: Elsevier, 6 ed. 2008, 576p.

Adell R, Lekholm U, Rockler B , Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. **Int J Oral Surg** 1981; 10 (6): 387-416.

Albrektsson T, Wennerberg A. The impact of oral implants - past and future, 1966-2042. **J Can Dent Assoc**. 2005 May;71(5):327.

Amarante ES, de Lima LA. Optimization of implant surfaces: titanium plasma spray and acid-etched sandblasting -- current status. **Pesqui Odontol Bras** 2001; 15 (2): 166-173.

Ataoglu H, Alptekin NO, Haliloglu S, Gursel M, Ataoglu T, Serpek B, Durmus E. Interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid. **Clin Oral Implants Res**. 2002 Oct;13(5):470-6.

Berg DJ, Leach MW, Kühn R, Rajewsky K, Müller W, Davidson NJ, Rennick D. Interleukin 10 but not interleukin 4 is a natural suppressant of cutaneous inflammatory responses. **J Exp Med**. 1995 Jul 1;182(1):99-108.

Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. **J Clin Periodontol** 2005; 32 Suppl 6: 87-107.

Bernard GW, Carranza FAJr, Jovanovic SA. Aspectos biológicos dos implantes dentários. In: Carranza FAJr, Newman MG. **Periodontia Clínica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p.732-737.

Brånemark, PI, Zarb GA, Albrektsson T. **Tissue-Integrated Prostheses. Osseointegration in Clinical Dentistry**. Chicago: Quintessence Publishing Co, 1985, 350p.

Beklen A, Ainola M, Hukkanen M, Gürgan C, Sorsa T, Konttinen YT. MMPs, IL-1, and TNF are regulated by IL-17 in periodontitis. **J Dent Res**. 2007 Apr;86(4):347-51.

Bi Y, Liu G, Yang R. Th17 cell induction and immune regulatory effects. **J Cell Physiol**. 2007 May;211(2):273-8.

Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, Atilla G, Hughes FJ, Belibasakis GN. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. **J Clin Periodontol.** 2007 May;34(5):370-6. Epub 2007 Mar 13.

Bullon P, Fioroni M, Goteri G, Rubini C, Battino M. Immunohistochemical analysis of soft tissues in implants with healthy and peri-implantitis condition, and aggressive periodontitis. **Clin Oral Implants Res.** 2004 Oct;15(5):553-9.

Buser D, Weber HP, Donath K, Fiorellini JP, Paquette DW, Williams RC. Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs. **J Periodontol.** 1992 Mar;63(3):225-35.

Carranza FAJr, Bulkacz J. Mecanismo s de defesa da gengiva. In: Carranza FAJr, Newman MG. **Periodontia Clínica.** 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p.108-115.

Coelho PG, Suzuki M, Guimaraes MV, Marin C, Granato R, Gil JN, Miller RJ. Early Bone Healing around Different Implant Bulk Designs and Surgical Techniques: A Study in Dogs. **Clin Implant Dent Relat Res.** 2009 May 7.

Colić M, Vasilijić S, Gazivoda D, Vucević D, Marjanović M, Lukić A. Interleukin-17 plays a role in exacerbation of inflammation within chronic periapical lesions. **Eur J Oral Sci.** 2007 Aug;115(4):315-20.

Conti P, Kempuraj D, Kandere K, Di Gioacchino M, Barbacane RC, Castellani ML, Felaco M, Boucher W, Letourneau R, Theoharides TC. IL-10, an inflammatory/inhibitory cytokine, but not always. **Immunol Lett.** 2003 Apr 3;86(2):123-9.

Cornelini R, Rubini C, Fioroni M, Favero GA, Strocchi R, Piattelli A. Transforming growth factor-beta 1 expression in the peri-implant soft tissues of healthy and failing dental implants. **J Periodontol.** 2003 Apr;74(4):446-50.

Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. **J Dent Educ** 2003; 67 (8): 932-949.

Degidi M, Artese L, Scarano A, Perrotti V, Gehrke P, Piattelli A. Inflammatory infiltrate, microvessel density, nitric oxide synthase expression,

vascular endothelial growth factor expression, and proliferative activity in peri-implant soft tissues around titanium and zirconium oxide healing caps. **J Periodontol.** 2006 Jan;77(1):73-80.

Dinarello CA. The interleukin-1 family: 10 years of discovery. **FASEB J.** 1994 Dec;8(15):1314-25.

Dinato, CJ, Polido, DW. **Implantes osseointegrados: cirurgia e prótese.** São Paulo: Artes Médicas, 2001.

Dohan Ehrenfest DM, Coelho PG, Kang BS, Sul YT, Albrektsson T. Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography. **Trends Biotechnol.** 2010 Apr;28(4):198-206. Epub 2010 Jan 29.

Duarte PM, de Mendonça AC, Máximo MB, Santos VR, Bastos MF, Nociti Júnior FH. Differential cytokine expressions affect the severity of peri-implant disease. **Clin Oral Implants Res.** 2009 Mar 9. [Epub ahead of print]. A

Duarte PM, de Mendonça AC, Máximo MB, Santos VR, Bastos MF, Nociti FH. Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases. **J Periodontol.** 2009 Feb;80(2):234-43. B

Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. **Periodontol 2000** 2003; 31: 135-166.

Ericsson I, Lindhe J. Probing depth at implants and teeth. An experimental study in the dog. **J Clin Periodontol** 1993; 20 (9): 623-627.

Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (II). Etiopathogenesis. **Eur J Oral Sci.** 1998 Jun;106(3):721-64.

Feldmann M, Brennan FM, Maini R. Cytokines in autoimmune disorders. **Int Rev Immunol.** 1998;17(1-4):217-28. Review.

Franchi M, Fini M, Martini D, Orsini E, Leonardi L, Ruggeri A, Giavaresi G, Ottani V. Biological fixation of endosseous implants. **Micron** 2005; 36 (7-8): 665-671.

Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Levels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell

populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. **J Periodontol**. 2000 Oct;71(10):1535-45.

Gemmell E, Carter CL, Seymour GJ. Chemokines in human periodontal disease tissues. **Clin Exp Immunol**. 2001 Jul;125(1):134-41.

Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. **Periodontol 2000** 2003; 31: 43-54.

Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1beta and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. **J Dent**. 2004 Sep;32(7):511-20.

Gretzer C, Gisselält K, Liljensten E, Rydén L, Thomsen P. Adhesion, apoptosis and cytokine release of human mononuclear cells cultured on degradable poly(urethane urea), polystyrene and titanium in vitro. **Biomaterials**. 2003 Aug;24(17):2843-52.

Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. **Periodontol 2000**. 2003;31:32-42. Review. No abstract available.

Grimbaldeston MA, Nakae S, Kalesnikoff J, Tsai M, Galli SJ. Mast cell-derived interleukin 10 limits skin pathology in contact dermatitis and chronic irradiation with ultraviolet B. **Nat Immunol**. 2007 Oct;8(10):1095-104. Epub 2007 Sep 2

Groisman M, Vidigal Jr GM. Estética periimplantar. In: Querido MRM, Fan, YL (coord) **Implantes osseointegrados – Inovando soluções**. São Paulo: Artes Médicas; 2004. p.37-56.

Gruica B, Wang HY, Lang NP, Buser D. Impact of IL-1 genotype and smoking status on the prognosis of osseointegrated implants. **Clin Oral Implants Res** 2004; 15 (4): 393-400.

Gürkan A, Emingil G, Çınarcık S, Berdeli A. Gingival crevicular fluid transforming growth factor- β 1 in several forms of periodontal disease. **Arch Oral Biol** 51 (10): 906-912, 2006.

Harrington LE, Mangan PR, Weaver CT. 2006. Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: The Th 17 lineage. **Curr Opin Immunol** 18:349-356.

Helminen M, Lahdenpohja N, Hurme M. Polymorphism of the interleukin-10 gene is associated with susceptibility to Epstein-Barr virus infection. **J Infect Dis.** 1999 Aug;180(2):496-9.

Hill EG, Slate EH, Wiegand RE, Grossi SG, Salinas CF. Study design for calibration of clinical examiners measuring periodontal parameters. **J Periodontol.** 2006 Jul;77(7):1129-41.

Honda T, Aoki Y, Takahashi N, Maekawa T, Nakajima T, Ito H, Tabeta K, Okui T, Kajita K, Domon H, Yamazaki K. Elevated expression of IL-17 and IL-12 genes in chronic inflammatory periodontal disease. **Clin Chim Acta.** 2008 Sep;395(1-2):137-41. Epub 2008 Jun 8.

Inoue H, Takayanagi H. Molecular mechanism of bone destruction. **Clin Calcium.** 2009 Mar;19(3):339-46.

Kao RT, Curtis DA, Richards DW, Preble J. Increased interleukin-1 beta in the crevicular fluid of diseased implants. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1995 Nov-Dec;10(6):696-701.

Karoussis IK, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJ, Brägger U, Hämmerle CH, Lang NP. Long-term implant prognosis in patients with and without a history of chronic periodontitis: a 10-year prospective cohort study of the ITI Dental Implant System. **Clin Oral Implants Res.** 2003 Jun;14(3):329-39.

Karoussis IK, Muller S, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJ, Braggar U, Lang NP. Association between periodontal and peri-implant conditions: a 10-year prospective study. **Clin Oral Implants Res** 2004; 15 (1): 1-7.

Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis--a review. **J Clin Periodontol** 2000; 27 (7): 453-465.

Kawaguchi M, Adachi M, Oda N, Kokubu F, Huang SK. IL-17 cytokine family. **J Allergy Clin Immunol.** 2004 Dec;114(6):1265-73.

Kivela-Rajamaki M, Maisi P, Srinivas R, Tervahartiala T, Teronen O, Husa V, Salo T, Sorsa T. Levels and molecular forms of MMP-7 (matrilysin-1) and MMP-8 (collagenase-2) in diseased human peri-implant sulcular fluid. **J Periodontal Res** 2003; 38 (6): 583-590. A

Kivela-Rajamaki MJ, Teronen OP, Maisi P, Husa V, Tervahartiala TI, Pirila EM, Salo TA, Mellanen L, Sorsa TA. Laminin-5 gamma2-chain and

collagenase-2 (MMP-8) in human peri-implant sulcular fluid. **Clin Oral Implants Res** 2003; 14 (2): 158-165. B

Koka S. The implant-mucosal interface and its role in the long-term success of endosseous oral implants: a review of the literature. **Int J Prosthodont** 1998; 11 (5): 421-432.

Konradsson K , van Dijken JW. Interleukin-1 levels in gingival crevicular fluid adjacent to restorations of calcium aluminate cement and resin composite. **J Clin Periodontol** 2005; 32 (5): 462-466.

Lachmann S, Kimmerle-Müller E, Axmann D, Gomez-Roman G, Weber H, Haas R. Reliability of findings around healthy implants in association with oral hygiene measures: a clinical, microbiological, and immunological follow-up in edentulous patients. **Clin Oral Implants Res**. 2007 Dec;18(6):686-98.

Lang NP, Berglundh T, Heitz-Mayfield LJ, Pjetursson BE, Salvi GE, Sanz M. Consensus statements and recommended clinical procedures regarding implant survival and complications. **Int J Oral Maxillofac Implants**. 2004;19 Suppl:150-4.

Lang NP, Brägger U. Periodontal diagnosis in the 1990s. *J Clin Periodontol*. 1991 Jul;18(6):370-9. Review.

Leonhardt A, Grondahl K, Bergstrom C, Lekholm U. Long-term follow-up of osseointegrated titanium implants using clinical, radiographic and microbiological parameters. **Clin Oral Implants Res** 2002; 13 (2): 127-132.

Li LH, Kong YM, Kim HW, Kim YW, Kim HE, Heo SJ, Koak JY. Improved biological performance of Ti implants due to surface modification by micro-arc oxidation. **Biomaterials** 2004; 25 (14): 2867-75.

Lindhe J, Lang N, Karring T. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010, 1326p.

Liskmann S, Zilmer M, Vihalemm T, Salum O, Fischer K. Correlation of peri-implant health and myeloperoxidase levels: a cross-sectional clinical study. **Clin Oral Implants Res** 2004; 15 (5): 546-552.

Liskmann S, Vihalemm T, Salum O, Zilmer K, Fischer K , Zilmer M. Correlations between clinical parameters and interleukin-6 and interleukin-10

levels in saliva from totally edentulous patients with peri-implant disease. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2006; 21 (4): 543-550.

Loos BG, Tjoa S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? **Periodontol 2000** 2005; 39: 53-72.

Machtei EE, Oved-Peleg E, Peled M. Comparison of clinical, radiographic and immunological parameters of teeth and different dental implant platforms. **Clin Oral Implants Res** 2006; 17 (6): 658-665.

Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. **Nature**. 2006 May 11;441(7090):231-4. Epub 2006 Apr 30.

Martelli FS, Gonçalves F, Zanetti RV, Zanetti AL. Novas perspectivas para o tratamento das doenças periimplantares. In: Querido MRM, Fan, YL (coord) **Implantes osseointegrados – Inovando soluções**. São Paulo: Artes Médicas; 2004. p.57-77.

Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. **J Periodontol Res**. 1990 May;25(3):156-63.

McClanahan SF, Bartizek RD, Biesbrock AR. Identification and consequences of distinct Löe-Silness gingival index examiner styles for the clinical assessment of gingivitis. **J Periodontol**. 2001 Mar;72(3):383-92.

Misch C. **Implantes dentais contemporâneos**. 3 ed. São Paulo: Elsevier, 2009, 1120p.

Mombelli A, van Oosten MA, Schurch E Jr, Land NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. **Oral Microbiol Immunol**. 1987 Dec;2(4):145-51.

Murata M, Tatsumi J, Kato Y, Suda S, Nunokawa Y, Kobayashi Y, Takeda H, Araki H, Shin K, Okuda K, Miyata T, Yoshie H. Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1beta in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. **Clin Oral Implants Res** 2002; 13 (6): 637-643.

Nicolau GV, Rapoport A, Selski MAS. Dosagem de interleucina 1 β na doença periodontal. **Rev Bras Otorrinolaringol.** 69 (2): 186-191, 2003.

Nowzari H, Botero JE, DeGiacomo M, Villacres MC, Rich SK. Microbiology and cytokine levels around healthy dental implants and teeth. **Clin Implant Dent Relat Res.** 2008 Sep;10(3):166-73. Epub 2008 Jan 24.

Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. **Clin Chim Acta** 2004; 343 (1-2): 1-16.

Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. **J Periodontal Res.** 1991 May;26(3 Pt 2):230-42.

Panagakos FS, Aboyoussef H, Dondero R, Jandinski JJ. Detection and measurement of inflammatory cytokines in implant crevicular fluid: a pilot study. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1996 Nov-Dec;11(6):794-9.

Paolantonio M, Di Placido G, Tumini V, Di Stilio M, Contento A , Spoto G. Aspartate aminotransferase activity in crevicular fluid from dental implants. **J Periodontol** 2000; 71 (7): 1151-1157.

Perinetti G, Spoto G. The use of ISO endodontic paper points in determining small fluid volumes. **J Appl Res Clin Dent** 2004; 1(1): 7-11.

Persson LG, Berglundh T, Lindhe J, Sennerby L. Re-osseointegration after treatment of peri-implantitis at different implant surfaces. An experimental study in the dog. **Clin Oral Implants Res.** 2001; 12 (6): 595-603.

Pinkerton MN, Wescott DC, Gaffey BJ, Beggs KT, Milne TJ, Meikle MC. Cultured human periodontal ligament cells constitutively express multiple osteotropic cytokines and growth factors, several of which are responsive to mechanical deformation. **J Periodontal Res.** 2008 Jun;43(3):343-51. Epub 2007 Dec 17.

Renvert S, Roos-Jansåker AM, Lindahl C, Renvert H, Rutger Persson G. Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation. **Clin Oral Implants Res.** 2007 Aug;18(4):509-16. Epub 2007 May 21.

Rousset F, Garcia E, Defrance T, Péronne C, Vezzio N, Hsu DH, Kastelein R, Moore KW, Banchereau J. Interleukin 10 is a potent growth

and differentiation factor for activated human B lymphocytes. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 1992 Mar 1;89(5):1890-3.

Saito H, Tsujitani S, Oka S, Kondo A, Ikeguchi M, Maeta M, Kaibara N. The expression of transforming growth factor-beta1 is significantly correlated with the expression of vascular endothelial growth factor and poor prognosis of patients with advanced gastric carcinoma. **Cancer.** 1999 Oct 15;86(8):1455-62.

Schierano G, Bellone G, Cassarino E, Pagano M, Manzella C, Preti G, Emanuelli G. In vitro effect of transforming growth factor-beta on adhesion molecule expression by human gingival fibroblasts cultured in the presence of a titanium abutment. **J Periodontol.** 2001 Dec;72(12):1658-65.

Schierano G, Bellone G, Cassarino E, Pagano M, Preti G, Emanuelli G. Transforming growth factor-beta and interleukin 10 in oral implant sites in humans. **J Dent Res** 2003 Jun; 82(6):428-32.

Schierano G, Pejrone G, Brusco P, Trombetta A, Martinasso G, Preti G, Canuto RA. TNF-alpha TGF-beta2 and IL-1beta levels in gingival and peri-implant crevicular fluid before and after de novo plaque accumulation. **J Clin Periodontol.** 2008 Jun;35(6):532-8. Epub 2008 Apr 1.

Schroöder A, Pohler O, Sutter F. Gewebsreaktion auf ein Titan-Hohlzylinderimplantat mit Titan-Spritzschichtoberfläche. **Schweiz Mschr Zahnheilk,** 1976;86:713.

Schultze-Mosgau S, Wehrhan F, Wichmann M, Schlegel KA, Holst S, Thorwarth M. Expression of interleukin 1-beta, transforming growth factor beta-1, and vascular endothelial growth factor in soft tissue over the implant before uncovering. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2006 May;101(5):565-71. Epub 2006 Feb 21.

Seymour GJ, Gemmell E, Lenz LJ, Henry P, Bower R, Yamazaki K. Immunohistologic analysis of the inflammatory infiltrates associated with osseointegrated implants. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1989 Fall;4(3):191-8.

Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? **Acta Odontol Scand.** 2001 Jun;59(3):167-73.

Simon Z, Watson PA. Biomimetic dental implants--new ways to enhance osseointegration. **J Can Dent Assoc** 2002; 68(5): 286-288.

Shull MM, Ormsby I, Kier AB, Pawlowski S, Diebold RJ, Yin M, Allen R, Sidman C, Proetzel G, Calvin D, et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. **Nature**. 1992 Oct 22;359(6397):693-9.

Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. **Acta Odontol Scand**. 1964 Feb;22:121-35.

Steinsvoll S, Halstensen TS, Schenck K. Extensive expression of TGF-beta1 in chronically-inflamed periodontal tissue. **J Clin Periodontol**. 1999 Jun;26(6):366-73.

Strbac GD, Monov G, Cei S, Kandler B, Watzek G, Gruber R. Cathepsin K levels in the crevicular fluid of dental implants: a pilot study. **J Clin Periodontol** 2006; 33 (4): 302-308.

Takahashi K, Azuma T, Motohira H, Kinane DF, Kitetsu S. The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of periodontal disease. **J Clin Periodontol**. 2005 Apr;32(4):369-74.

Takayanagi H: Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. **Nat Rev** 2007, 7:292-304.

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

Ten Cate AR. **Histologia bucal - Desenvolvimento, estrutura e função**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

Tozum TF, Turkyilmaz I, Yamalik N, Tumer C, Kilinc A, Kilinc K, Karabulut E, Eratalay K. Analysis of the possible impact of inflammation severity and early and delayed loading on nitric oxide metabolism around dental implants. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2005; 20 (4): 547-556.

Tozum TF, Turkyilmaz I, Yamalik N, Tumer C, Kilinc A, Kilinc K, Karabulut E, Eratalay K. The effect of delayed versus early loading on nitric oxide metabolism around dental implants: an 18-month comparative follow-up study. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2007; 22 (1): 53-62.

Tozum TF, Guncu GN, Yamalik N, Turkeyilmaz I, Guncu MB. The impact of prosthetic design on the stability, marginal bone loss, peri-implant sulcus fluid volume, and nitric oxide metabolism of conventionally loaded endosseous dental implants: a 12-month clinical study. **J Periodontol** 2008; 79 (1): 55-63.

Tyler LW, Matossian K, Todd R, Gallagher GT, White RR, Wong DT. Eosinophil-derived transforming growth factors (TGF-alpha and TGF-beta 1) in human periradicular lesions. **J Endod.** 1999 Sep; 25(9):619-24.

Vernal R, Dutzan N, Chaparro A, Puente J, Antonieta Valenzuela M, Gamonal J. Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. **J Clin Periodontol** 2005; 32 (4): 383-389.

Watzek G. **Implants in qualitatively compromised bone.** São Paulo: Quintessence Publishing Co, 2004, 181p.

Weber HP, Cochran DL. The soft tissue response to osseointegrated dental implants. **J Prosthet Dent** 1998; 79 (1): 79-89.

Wei S, Kitaura H, Zhou P, Ross FP, Teitelbaum SL. IL-1 mediates TNF-induced osteoclastogenesis. **J Clin Invest.** 2005 Feb;115(2):282-90.

Wennström J, Zurdo J, Karlsson S, Ekestubbe A, Gröndahl K, Lindhe J. Bone level change at implant-supported fixed partial dentures with and without cantilever extension after 5 years in function. **J Clin Periodontol.** 2004 Dec;31(12):1077-83.

Xie Y, Liu X, Huang A, Ding C, Chu PK. Improvement of surface bioactivity on titanium by water and hydrogen plasma immersion ion implantation. **Biomaterials** 2005; 26(31): 6129-6135.

Yalçın S, Basegmez C, Mijiritsky E, Yalçın F, Isik G, Onan U. Detection of implant crevicular fluid prostaglandin E2 levels for the assessment of peri-implant health: a pilot study. **Implant Dent** 2005; 14 (2): 194-200.

Yu JJ, Ruddy MJ, Wong GC, Sfintescu C, Baker PJ, Smith JB, Evans RT, Gaffen SL. An essential role for IL-17 in preventing pathogen-initiated bone destruction: recruitment of neutrophils to inflamed bone requires IL-17 receptor-dependent signals. **Blood.** 2007 May 1;109(9):3794-802. Epub 2007 Jan 3.

ANEXOS

ANEXO 1



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP
Av. João Naves de Ávila, nº 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG –
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA Nº 370/06

Registro CEP: 181/06

Projeto Pesquisa: “Saliva e fluido crevicular no diagnóstico de doenças perimplantares.”

Pesquisador Responsável: Paula Dechichi

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, o CEP manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Projeto aprovado.

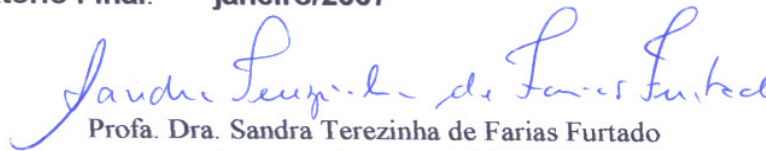
O CEP/UFU lembra que:

a- segundo a Resolução 196/96, o pesquisador deverá arquivar por 5 anos o relatório da pesquisa e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo sujeito de pesquisa.

b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.

Data para entrega do **Relatório Final:** **janeiro/2007**

05 de dezembro de 2006.


Profa. Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado
Coordenadora do CEP/UFU

Orientações ao pesquisador:

(Para parecer Aprovado ou Aprovado com Recomendações)

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e). O prazo para entrega de relatório é de 120 dias após o término da execução prevista no cronograma do projeto, conforme norma da Res. 196/96 CNS

ANEXO 2

FICHA DE AVALIAÇÃO

Prontuário: _____ F M
 Nome: _____
 Endereço: _____
 Telefone: _____ Data nascimento: _____

Saúde geral: Tem ou teve alguma das alterações abaixo citadas?

- ☐ Diabetes Faz uso de insulina? _____
- ☐ Febre reumática
- ☐ Doença auto imune
- ☐ Hepatite
- ☐ Tuberculose
- ☐ Câncer Região: _____ Quanto tempo? _____
- Qual tratamento? _____
- ☐ AIDS
- ☐ Disfunção tireóide ou paratireóide
- ☐ Disfunção supra-renal
- ☐ Osteoporose
- ☐ Gravidez
- ☐ Alergia
- ☐ Esteve internado recentemente? Razão: _____
- ☐ Faz reposição hormonal?
- ☐ Fuma ou é ex-fumante?
- ☐ Faz uso de algum medicamento? Qual? _____
- ☐ Faz ou fez uso de antibióticos ou anti-inflamatórios nos últimos 3 meses?
- ☐ Esteve ou está em tratamento dentário?
- ☐ Possui algum problema de saúde não citado na lista?
- Qual? _____

Declaro que as informações acima prestadas são totalmente verdadeiras.

Local, Data	Assinatura do Paciente ou seu Responsável Legal
I: Implante D: Dente X: Ausente	

FICHA CLÍNICA

Motivo da perda dentária:

☐ doença periodontal ☐ trauma ☐ Outros: _____
☐ cárie ☐ insucesso endodôntico

Grau de higiene do paciente: ☐ bom ☐ regular ☐ ruim

Índice Placa (Mombelli):

MV _____ ML _____
V _____ L _____
DV _____ DL _____

Sangramento durante coleta de fluido:

MV _____ ML _____
V _____ L _____
DV _____ DL _____

Índice Sangramento gengival (Mombelli):

MV _____ ML _____
V _____ L _____
DV _____ DL _____

Profundidade de sondagem:

MV _____ ML _____
V _____ L _____
DV _____ DL _____

Nível de inserção clínica (profundidade de sondagem + nível de recessão):

MV _____ ML _____
V _____ L _____
DV _____ DL _____

Supuração: ☐ presente ☐ ausente

Mobilidade: ☐ presente ☐ ausente