



CEPPE

Centro de Pós-Graduação,
Pesquisa e Extensão

**MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PERIODONTIA**

ADRIANA CUTRIM DE MENDONÇA

**PERFIL CLÍNICO E IMUNOLÓGICO DAS DOENÇAS
PERI-IMPLANTARES ANTES E APÓS TERAPIA
MECÂNICA ANTI-INFECCIOSA**

Guarulhos

2008

ADRIANA CUTRIM DE MENDONÇA

**PERFIL CLÍNICO E IMUNOLÓGICO DAS DOENÇAS
PERI-IMPLANTARES ANTES E APÓS TERAPIA
MECÂNICA ANTI-INFECCIOSA**

Dissertação apresentada à Universidade Guarulhos
para obtenção do título de Mestre em Odontologia
Área de Concentração: Periodontia
Orientadora: Prof^a. Dra. Poliana Mendes Duarte
Co-orientadora: Prof^a. Dra. Marta Ferreira Bastos

Ficha catalográfica elaborada pela Coordenação da Biblioteca Fernanda Gay da Fonseca

M539p Mendonça, Adriana Cutrim
Perfil clínico e imunológico das doenças peri-implantares antes e após terapia mecânica anti-infecciosas / Adriana Cutrim de Mendonça. Guarulhos, 2008.
50 f. ; 31 cm

Dissertação (Mestrado em Odontologia, área de concentração em Periodontia) - Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão, Universidade Guarulhos, 2008.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Poliana Mendes Duarte.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Marta Ferreira Bastos.

1. Peri-implante. 2. Terapias Mecânicas anti-infecciosa. 3. Interlucidas. 4. Periodontia. I. Título. II. Universidade Guarulhos.

CDD 21st 617.632



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, intitulada “PERFIL CLÍNICO E IMUNOLÓGICO DAS DOENÇAS PERI-IMPLANTARES ANTES E APÓS TERAPIAS MECÂNICAS ANTI-INFECCIOSAS”, em sessão pública realizada em 20 de Fevereiro de 2008, considerou a candidata Adriana Cutrim de Mendonça aprovada com louvor.

1. Profa. Dra. Poliana Mendes Duarte Poliana Mendes Duarte

2. Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Junior Francisco Humberto Nociti Junior

3. Profa. Dra. Luciene Cristina de Figueiredo Luciene Cristina de Figueiredo

Dedico este trabalho aos meus pais,
como forma de agradecimento
por toda a confiança e o apoio incondicional.
E como forma de homenagem,
pelo exemplo de coragem e determinação
que sempre busquei seguir.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força nos momentos de fraqueza e esperança nos momentos difíceis.

À Universidade Guarulhos, pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos e realizar um grande sonho.

Aos meus pais, Antonio Carlos Mendonça e Maria Fernanda, meus maiores exemplos de vida: pelo amor e confiança.

Aos meus sobrinhos, pelo simples fato de existirem e sorrirem para mim.

Aos meus irmãos, pelo carinho e compreensão da ausência provocada pela distância.

Agradecimentos imensuráveis à minha orientadora Poliana Mendes Duarte, que não só me orientou neste estudo, mas me ensinou valores de ética, disciplina, responsabilidade e profissionalismo.

À co-orientadora Marta Ferreira Bastos, pela colaboração importante e fundamental para a conclusão dos resultados deste estudo.

À amiga Maria Beatriz Máximo por ter tornado minha jornada mais leve nos dias de pesquisa e pela amizade.

Aos meus colegas e amigos de turma, Tatiane, Maike, Marcel, Daniel e Diego por terem tornado meus dias mais alegres.

Agradeço a todos os professores da UnG, do Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão do Curso de Odontologia, Professores Doutores Magda Feres, José Augusto Rodrigues, Luciene Figueiredo, Poliana Mendes Duarte, Jamil Awad Shibli, Cristiane Mariote Amaral, André Figueiredo Reis, Cláudia Ota e Marta Ferreira Bastos por ampliarem meus conhecimentos, com paciência e respeito.

A Cíntia Lobo, Adriana Rose dos Santos, Cristina Zoucas e Izilvânia pelo apoio e serviços prestados sempre com alegria, simpatia e amizade.

Ao Jadson e Vanessa, por toda a ajuda prestada e pela companhia nos dias de pesquisa clínica.

Aos pacientes que participaram desse estudo, por terem contribuído para mais uma pesquisa científica.

RESUMO

Existem poucas evidências sobre o perfil inflamatório ao redor de implantes saudáveis e doentes e sobre o efeito das terapias anti-infecciosas na resposta imune do hospedeiro. Sendo assim, os objetivos deste estudo foram: 1- comparar o perfil imunológico em implantes saudáveis, com mucosite e com peri-implantite. 2- avaliar, após 90 dias, o efeito da terapia mecânica anti-infecciosa para os implantes doentes nos parâmetros clínicos e imunológicos; 3- comparar o perfil clínico e imunológico dos implantes tratados em relação aos implantes saudáveis. Baseado nos aspectos clínicos e radiográficos, 40 implantes de titânio em 35 indivíduos foram divididos em um dos grupos experimentais: saúde (n=10): grupo controle; mucosite (n=10): debridamento com jato de bicarbonato e curetas de teflon; peri-implantite (n=20): acesso cirúrgico para debridamento com jato de bicarbonato e curetas de teflon. Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados no dia 0 (início do estudo) e 90 dias após a terapia: índice de placa visível (IP); sangramento marginal (IG), sangramento à sondagem (SS), supuração (SUP) e profundidade de sondagem (PS). Nesses mesmos tempos experimentais, o fluido crevicular peri-implantar (FCPI) foi coletado em um sítio por implante para avaliação da quantidade total de IL-12, TNF- α , IL-4 e IL-10 pelo ensaio imunoenzimático (ELISA). Os resultados demonstraram melhoras significativas em relação a todos os parâmetros clínicos para peri-implantite e mucosite em 3 meses pós-terapia ($p < 0,05$). No dia 0, os sítios doentes apresentaram níveis elevados de TNF- α quando comparado aos saudáveis ($p < 0,05$). Após os tratamentos, a quantidade total de TNF- α reduziu para um nível similar ao grupo controle ($p < 0,05$). Nenhuma diferença foi observada para IL-12, IL-4 e IL-10 entre os grupos antes e após as terapias ($p > 0,05$). Os resultados do presente estudo demonstraram que, o TNF- α parece estar envolvido na patogênese da doença peri-implantar e ambas as terapias anti-infecciosas resultaram em efeitos clínicos e imunológicos positivos em 3 meses.

Palavras-chave: peri-implantite, mucosite, implantes dentários, terapias mecânicas anti-infecciosas, fluido crevicular peri-implantar, perfil imunológico, interleucinas.

ABSTRACT

There are few evidences about the inflammatory profile around diseased and healthy implants and regarding the effects of the anti-infective therapies on host immune response. Therefore, the aims of this study were: 1- to investigate the immunological profile in healthy, mucositis and peri-implantitis; 2- to evaluate after 90 days, the clinical and immunological effects of mechanical anti-infective therapies for diseased implants; 3- to compare clinical and immunological profiles between treated implants and healthy implants. Based on clinical and radiographic diagnoses, 40 titanium dental implants from 35 subjects were assigned to one of the following groups: *healthy* (n=10): control group; *mucositis* (n=10): mechanical debridement using abrasive sodium carbonate air-powder and teflon curettes; *peri-implantitis* (n=20): open surgical debridement using abrasive sodium carbonate air-powder and teflon curettes. Visible plaque local score (PI), gingival marginal bleeding (GI), bleeding on probing (BoP), suppuration (SUP), probing depth (PD) were assessed at baseline and 3 months after therapies. At the same periods, peri-implant crevicular fluid (PICF) was collected from one site of each implant to analyze the total amounts of IL-12, TNF- α , IL-4 and IL-10 by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Clinical results demonstrated significant improvements for all clinical parameters around diseased implants at 3 months after therapies ($p < 0.05$). At baseline, diseased implants revealed higher levels of TNF- α when compared to healthy implants ($p < 0.05$). After therapies, the total amounts of TNF- α decreased to the same level to those from control group ($p < 0.05$). None differences were observed for IL-12, IL-4 and IL-10 among the groups before and after therapies ($p > 0.05$). In conclusion, TNF- α seems to be involved in the pathogenesis of the peri-implant diseases and both anti-infective mechanical therapies demonstrated positive effects on clinical and immunological profiles after 3 months.

Key Words: peri-implantitis, mucositis, dental implants, anti-infective mechanical therapy, peri-implant fluid, immunological profile, interleukin.

Lista de abreviações

| | |
|--------------------------------|---|
| IL | Interleucina |
| FCPI | Fluido crevicular peri-implantar |
| TNF-α | Fator de Necrose Tumoral alfa |
| IFN-γ | Interferon Gama |
| PCR | Reação da Polimerase em Cadeia |
| ELISA | <i>Enzyme Link-Immunorbent Assay</i> |
| NK | <i>Natural Killer</i> |
| MMP | Metaloproteinase |
| OPG | Osteoprotegerina |
| RANKL | <i>Receptor Activator of NF-KB Ligand</i> |
| PG | Prostaglandina |
| TGF-1β | Fator de Crescimento de Transformação |
| PDGF-A | Fator de Crescimento Derivado de Plaqueta |
| IP | Índice de Placa |
| IG | Índice Gengival |
| PS | Profundidade de sondagem |
| SS | Sangramento à sondagem |
| SUP | Supuração |
| NIC | Nível clínico de inserção |
| mm | Milímetro |
| pg | Picograma |
| μL | Microlitros |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 1.1 Doenças peri-implantares: mucosite e peri-implantite | 1 |
| 1.2 Etiologia das doenças peri-implantares | 2 |
| 1.3 Processo inflamatório frente à agressão bacteriana | 5 |
| 1.3.1 Atividades biológicas de algumas citocinas pró- e anti-inflamatórias | 6 |
| 1.3.2 Estudos imunológicos ao redor dos implantes osseointegrados | 8 |
| 1.4 Tratamentos para as doenças peri-implantares | 10 |
| 1.5 Justificativa | 12 |
| | |
| 2 PROPOSIÇÃO | 14 |
| | |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 15 |
| 3.1 Critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos | 15 |
| 3.2 Avaliações clínicas | 15 |
| 3.3 Calibração do examinador | 17 |
| 3.4 Diagnóstico e critério de inclusão dos implantes | 18 |
| 3.5 Preparo inicial | 18 |
| 3.6 Delineamento do estudo | 18 |
| 3.7 Terapias mecânicas anti-infecciosas | 19 |
| 3.8 Avaliação imunológica | 22 |
| 3.8.1 Seleção dos sítios de coleta (sítios-teste) | 22 |
| 3.8.2 Coletas das amostras de fluido | 22 |
| 3.8.3 Análise imunológica pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) | 23 |
| 3.9 Análises estatísticas | 24 |
| | |
| 4 RESULTADOS | 25 |
| 4.1 Resultados clínicos | 25 |
| 4.2 Resultados imunológicos | 30 |
| 4.3 Correlações entre os parâmetros clínicos e imunológicos | 33 |
| 5 DISCUSSÃO | 34 |

| | |
|-----------------------------------|----|
| 6 CONCLUSÃO | 39 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 40 |
| ANEXO | 50 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doenças peri-implantares: mucosite e peri-implantite

Embora muitos estudos longitudinais tenham demonstrado que os implantes dentais osseointegrados atingem níveis de sucesso acima de 90% (ESPOSITO et al., 1998; ROOS-JANSACKER et al., 2003), processos patológicos antes da obtenção da osseointegração ou após o estabelecimento da mesma podem resultar, respectivamente, na falha precoce ou tardia de uma pequena parcela dos implantes instalados (MOMBELLI, 1993; MEFFERT, 1996; TONETTI, 1998; ESPOSITO et al., 1998; BULLON et al., 2004).

A falha precoce tem sido associada a fatores inerentes ao hospedeiro (consumo de cigarros, doenças sistêmicas, qualidade e quantidade óssea do leito receptor), ao procedimento cirúrgico, (trauma e superaquecimento ósseo, contaminação bacteriana durante a cirurgia, estabilidade inicial do implante, habilidade técnica do operador) e ao tipo de implante (material, desenho, topografia, tipo de superfície) (ESPOSITO et al., 1998). Além disso, a sobrecarga oclusal antes da consolidação do processo de osseointegração também é um fator que pode levar a perda precoce de um implante osseointegrável (BAIN & MOY, 1993; TONETTI, 1998; ESPOSITO et al., 1998). A perda tardia, por sua vez, está associada à sobrecarga oclusal e/ou infecção bacteriana (ESPOSITO et al., 1998; TONETTI, 1998).

Doença peri-implantar é um termo genérico relacionado às reações infecciosas que ocorrem nos tecidos que circundam um implante em função, resultando em um processo inflamatório com destruição óssea ou não. Quando a inflamação está confinada apenas aos tecidos moles, a doença peri-implantar é denominada mucosite (JOVANOVIC, 1993; LISKMANN et al., 2006). O termo peri-implantite, por sua vez, se refere às reações inflamatórias em tecido mole acompanhadas da perda de suporte ósseo peri-implantar (ALBREKTSSON & ZARB, 1993; MOMBELLI, 1993; HAYEK et al., 2005). A peri-implantite é clinicamente caracterizada pela formação de uma bolsa peri-implantar, sangramento à sondagem e/ou supuração e radiograficamente manifestada por radiolusência peri-implantar devido à perda de suporte ósseo. Em casos mais avançados de peri-implantite, pode ocorrer ainda mobilidade do implante (ALBREKTSSON & ISIDOR, 1994).

Estudos epidemiológicos em diferentes tipos e superfícies de implantes têm demonstrado, por meio de diferentes metodologias, resultados controversos entre as taxas de prevalência e incidência para as

doenças peri-implantares. Esposito et al. (1998), em uma revisão de literatura, demonstraram que a média de prevalência de perdas de implantes devido à peri-implantite foi de 2,8% em relação ao número total de perdas de implantes. Berglundh et al. (2002), em uma revisão sistemática, relataram que a frequência de peri-implantite pode variar entre 0% e 14,4%. Em outra revisão sistemática, Pjetursson et al. (2004) verificaram que a incidência de peri-implantites foi de 8,6% ao longo de 5 anos. Ferreira et al. (2006) observaram uma prevalência de 8,9% para peri-implantite e 64,6% para mucosite em um grupo de 212 brasileiros parcialmente edêntulos.

Atualmente, os implantes dentais osseointegrados têm sido utilizados na prática odontológica com grande frequência para substituição de dentes perdidos em pacientes edêntulos totais ou parciais. O aumento da demanda para colocação de implantes dentários durante a reabilitação oral pode gerar uma alta incidência de doenças peri-implantares em um futuro próximo. Dessa forma, o conhecimento do perfil microbiológico e imunológico das possíveis patologias ao redor destes implantes será muito importante para o diagnóstico precoce e tratamento adequado destas doenças, garantindo o sucesso dos implantes ao longo dos anos.

1.2 Etiologia das doenças peri-implantares

A perda óssea ao redor dos implantes osseointegrados tem sido atribuída a fatores mecânicos incluindo distribuição incorreta dos implantes e da carga sobre os mesmos, comprimento do cantilever, tipo de próteses ou até mesmo fraturas dos componentes protéticos (ESPOSITO et al., 1998). Além disso, os implantes do tipo Branemark perdem osso ao redor das primeiras roscas durante o período de reparo e o primeiro ano após a instalação da prótese por meio de um processo não-infeccioso (ADELL et al., 1981; OH et al., 2002). Entretanto, a infecção bacteriana manifestada na peri-implantite é uma das principais causas da perda óssea peri-implantar, podendo levar ao comprometimento total da osseointegração ao redor do implante e conseqüente perda do mesmo (SCHOU et al., 1993).

Já está bem estabelecido na literatura o caráter infeccioso das doenças peri-implantares uma vez que muitos estudos objetivaram estabelecer o perfil microbiano que acomete essas infecções por meio de diferentes técnicas microbiológicas, como Reação da Polimerase em Cadeia (PCR- *Polymerase Chain-Reaction*), sondas de DNA (*Checkerboard DNA-DNA hybridization*), meio de cultura e outros (MOMBELLI et al., 1987; LEONHARDT et al., 2003; QUIRYNEN et al., 2006). De maneira geral estes estudos demonstraram que as doenças peri-implantares estão associadas à presença de bactérias gram-negativas como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* e *Porphyromonas*

gingivalis, *Tanerella forsythia*; bactérias que já foram estabelecidas como periodontopatógenos (MOMBELLI et al., 1987; LEONHARDT et al., 2003).

Um dos primeiros dados referente à microbiota associada ao insucesso dos implantes foi apresentado por Rams & Link, em 1983. Nesse estudo, os autores observaram por microscopia eletrônica de transmissão que as espécies do tipo espiroquetas eram raramente encontradas em sítios peri-implantares saudáveis, enquanto que, na doença, o número de bacilos móveis e bactérias fusiformes e a proporção de microrganismos anaeróbios estava significativamente elevada, compreendendo cerca de 40% do conteúdo bacteriano. A partir de então, outros estudos demonstraram que a microbiota que circunda os implantes portadores de peri-implantite, é composta principalmente de espécies bacterianas gram-negativas anaeróbias (MOMBELLI et al., 1987; HULTIN et al., 2002; LEONHARDT et al., 2003; BOTERO et al., 2005).

Mombelli et al., em 1987, observaram que espiroquetas, consideradas um dos tipos bacterianos mais patogênicos na periodontite, eram raramente freqüentes no biofilme subgingival de implantes saudáveis. Em 1993, Mombelli et al. sugeriram que a presença desta forma bacteriana poderia ser um importante indicador para a presença de uma microbiota com características anaeróbias e um bom preditor negativo para o sucesso dos implantes.

Becker et al., em 1990, verificaram por meio de sondas de DNA bacteriano que mais de um terço dos sítios peri-implantares com radioluscência, mobilidade e profundidade de sondagem superior à 6mm apresentava microbiota composta por periodontopatógenos como *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* e *P. gingivalis*.

Quirynen e Listgarten, em 1990, avaliaram a microbiota ao redor de quatro implantes perdidos. Três dos implantes com suspeita de perda por motivo de sobrecarga não apresentaram espiroquetas e possuíam poucos bacilos móveis. A amostra do quarto implante, que apresentava clinicamente sinais de inflamação tecidual, continha 11% de espiroquetas e 16% de bacilos móveis.

Rosenberg et al., em 1991, distribuíram pacientes com implantes comprometidos, utilizando critérios clínicos e radiográficos em: presença de trauma oclusal e presença de peri-implantite na ausência de trauma. Para avaliação microbiológica foram utilizados os métodos de cultura e a microscopia por contraste de fase. Os resultados demonstraram que, quando a etiologia tinha origem infecciosa, 42% da microbiota subgingival consistia em *Parvimonas* sp, *Fusobacterium* sp. e bacilos gram-negativos. Além disso, sangramento, supuração e acúmulo visível de biofilme estavam associados a essa infecção bacteriana. Quando a etiologia era puramente sobrecarga oclusal, a microbiota apresentava semelhança com a microbiota relacionada à saúde peri-implantar, composta predominantemente por estreptococos. Além disso, clinicamente, havia ausência de sintomatologia dolorosa e supuração.

Quirynen et al. (1996) observaram que a microbiota subgengival ao redor de implantes em pacientes parcialmente edêntulos, mesmo sendo portadores de periodontite crônica se mantinha com baixos níveis de periodontopatógenos enquanto as bolsas fossem inferiores a 4mm.

Leonhardt et al., em 1999, avaliaram as diferenças qualitativas na microbiota subgengival ao redor de implantes do sistema Brånemark com sinais clínicos e radiográficos de perda dos tecidos de suporte em relação aos implantes saudáveis. Utilizando o método de cultura, foi observado que o perfil microbiológico do implante doente é semelhante à doença periodontal, com presença de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Prevotella nigrescens* e *A. actinomycetemcomitans*, além da presença de *Staphylococcus spp.* e *Candida spp.*

Hultin et al., em 2002, realizaram um estudo no qual 36 indivíduos foram distribuídos em portadores de implantes saudáveis ou com peri-implantite. A presença de 12 espécies bacterianas (*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola*, *Parvimonas micra*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Selenomonas noxia* e *Streptococcus intermedia*) foi avaliada ao redor dos implantes por meio do método *Checkerboard DNA-DNA hybridization*. Os resultados microbiológicos demonstraram que as espécies *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola* e *A. actinomycetemcomitans* estavam presentes em todos os indivíduos, porém somente nos sítios com peri-implantite estavam em um número superior a 10^6 . Esse nível de *A. actinomycetemcomitans* foi detectado em 23% dos sítios com peri-implantite e não foi encontrado nos implantes saudáveis e nem nos dentes de pacientes portadores de peri-implantite.

Botero et al., em 2005, avaliaram a microbiota subgengival, pelo método de cultura, ao redor de implantes e dentes de indivíduos parcialmente edêntulos. Os autores observaram diferenças significativas entre implantes com doenças peri-implantares quando comparados aos saudáveis em relação às espécies gram-negativas. *P. gingivalis* foi observado nos implantes doentes, mas não nos saudáveis e a frequência de detecção de *P. intermedia* e *P. nigrescens* foi maior nos implantes doentes. Finalmente, houve uma correlação positiva entre implantes e dentes adjacentes para presença de espécies gram-negativas e para implantes e dentes não-adjacentes para presença de *P. gingivalis*.

Embora já existam muitas evidências sobre o perfil microbiológico das doenças peri-implantares, bem como sua semelhança com as doenças periodontais, existem poucas evidências científicas sobre a resposta do hospedeiro frente às bactérias e seus fatores de virulências ao redor dos implantes dentais (LEONHARDT et al., 1999; HULTIN et al., 2002; BOTERO et al., 2005).

1.3 Processo inflamatório frente à agressão bacteriana

Os mecanismos de resposta imunológica do hospedeiro frente à agressão bacteriana têm sido amplamente explorados em periodontia; entretanto, um número restrito de informações existem em relação à resposta imune das doenças peri-implantares. Nas doenças periodontais, tem sido demonstrado que, sub-populações de células T *helper* (Th), Th1 e Th2, determinam a resposta inflamatória frente ao desafio bacteriano por meio da liberação de diversos tipos de moléculas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. O predomínio de uma certa resposta imune local, mediada basicamente por Th1 ou Th2, determina a estabilidade ou a progressão da lesão (SEYMOUR & GEMMELL, 2001). A resposta imunológica pode apresentar um perfil predominantemente Th1, consistindo em uma resposta celular pró-inflamatória, ou um perfil Th2, com características anti-inflamatórias e proeminência da resposta imune humoral (JANKOVIC et al., 2001). Análises histopatológicas dos tecidos adjacentes a implantes com mucosite e/ou peri-implantite demonstraram presença de infiltrado inflamatório com características específicas para cada uma das doenças ao redor dos implantes (MURATA et al., 2002; GUALINI & BERGLUNDH, 2003). Gualini e Berglundh (2003) avaliaram, por meio de imunohistoquímica os níveis de células B (CD19⁺) e células elastase positivas (indicativas de células tipo polimorfonucleares), em biópsias de mucosite e peri-implantite. Os autores observaram que os níveis de células elastase positivas e de células B estavam em maior proporção nas lesões de peri-implantite quando comparado à mucosite. Bullon et al. (2004) por meio de análises imunohistoquímica e histológica demonstraram que os linfócitos T são o tipo celular mais frequentemente encontrado no grupo das peri-implantites em relação ao grupo saudável. Assim, a presença de células T nos tecidos peri-implantares sugere que, assim como na periodontite, em lesões peri-implantares, a resposta imune local também é controlada por essas células (SEYMOUR et al., 1989; TONETTI et al., 1995).

Estudos objetivando delinear o perfil Th1/Th2 na patogênese das doenças infecciosas detectaram níveis alterados de expressão de mediadores inflamatórios bem como na quantidade dos mesmos no fluido e/ou tecido gengival de pacientes com periodontites e gengivites (GEMMELL & SEYMOUR, 2004). Mediadores como interleucina (IL)-1 β , IL-12, IL-6, interferon- γ (IFN- γ), e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) estão envolvidos principalmente com a resposta Th1 e induzem a resposta imune mediada por células. Em contraste, IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 estão envolvidas na resposta Th2 e promovem imunidade humoral devido à produção de fatores de diferenciação para linfócitos B. Dentro deste contexto, já existem vários indícios de que cada mediador exerce um papel específico no processo inflamatório nas doenças periodontais (JANKOVIC et al., 2001). Entretanto, após revisão da

literatura, foram observadas poucas evidências sobre os mediadores Th1 e Th2 na patogênese das doenças peri-implantares.

1.3.1 Atividades biológicas de algumas citocinas pró- e anti-inflamatórias

Existem duas formas ativas da IL-1, a IL-1 α e IL-1 β . Ambas apresentam capacidade de ligação com os receptores tipo I e tipo II (IL-1R), por meio dos quais exercem suas atividades biológicas (DINARELLO, 1996). O terceiro membro da família da IL-1 é um antagonista do receptor da IL-1 (IL-1Ra), que se liga ao IL-1R sem atividade agonista impedindo as atividades biológicas da IL-1 (DOWER et al., 1992; DINARELLO, 1996). A IL-1 β é a forma mais estudada das IL-1 por apresentar múltiplas e importantes atividades biológicas. A mesma é produzida principalmente pelos leucócitos mononucleares e é conhecida como uma das citocinas mais potentes e participativas na indução de reabsorção óssea (DEWHIRST et al., 1985) e inibição da formação de tecido ósseo (STASHENKO et al., 1987). Suas atividades incluem ainda a estimulação e ativação de metaloproteinases (MMP) e prostaglandinas (PG), especialmente PGE₂ (WEST-MAYS et al., 1995). Além disso, a IL-1 β aumenta a expressão da molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), da molécula de adesão vascular (VCAM-1) e E-selectina, permitindo que os leucócitos se unam e penetrem através da parede vascular até a região infectada (SHOLZS et al., 1996). Alguns estudos têm demonstrado níveis elevados de IL-1 β no fluido gengival de sítios com periodontite (GAMONAL et al., 2000; SEYMOUR & GEMMELL, 2001; HOLMLUND et al., 2004) e fluido crevicular de sítios peri-implantares com sinais de inflamação quando comparado aos sítios periodontais ou peri-implantares com os saudáveis (ATAOGLU et al., 2002; MURATA et al., 2002).

A IL-12, por sua vez, é uma citocina pró-inflamatória, produzida por células como monócitos, macrófagos e neutrófilos, composta de duas subunidades protéicas denominadas p35 e p40. Ambas as subunidades devem ser produzidas dentro da mesma célula para obtenção da forma biologicamente ativa da IL-12 conhecida como p70 (TRINCHIERI, 1997). Contudo, a subunidade p40 pode antagonizar a ligação da forma biologicamente ativa (p70) ao receptor IL-12, assim como o equilíbrio entre a p70 e a subunidade p40 reflete a atividade total da IL-12 bioativa. A IL-12 é a principal mediadora da resposta imune inata aos microrganismos teciduais e indutor chave da imunidade mediada por células. Sua mais importante ação é estimular a produção de IFN- γ pelas células T e células *natural-killer* (NK), promovendo a resposta das células Th1 (GATELY et al., 1998). A importância da IL-12 não está limitada apenas a iniciação da resposta imune mediada por células, mas também para a sua

manutenção, uma vez que a ausência desta interleucina está associada a uma rápida eliminação da resposta Th1 (PARK & SCOTT, 2001).

O principal membro da superfamília do TNF, o TNF- α /TNFSF1A, é uma citocina pró-inflamatória que exerce um papel central no processo inflamatório e na apoptose celular (KWON, 1999). A interação do TNF- α com as células-alvo pode ser mediada por dois tipos de receptores de alta afinidade (TNF-R), com tamanhos moleculares de 55 kDa e 75 kDa (p55 TNF-R e p75 TNF-R, respectivamente) (VILCEK & LEE, 1991). As funções do TNF e seus receptores na defesa do hospedeiro e na resposta inflamatória têm sido bem documentados na literatura. Um dos papéis biológicos mais importantes do TNF- α inclui a regulação da diferenciação de células hematopoiéticas em células progenitoras (JACOBSEN et al., 1994). O TNF- α pode também estimular a produção de moléculas de adesão celular como ICAM-1 (GRAVES et al., 1998), de outras citocinas e quimiocinas, como IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e IL-8 (GRAVES & COCHRAN, 2003) e de MMPs (BIRKEDAL-HANSEN, 1993). Finalmente, o TNF- α é também um dos reguladores mais importantes do processo de destruição óssea local agindo diretamente na estimulação dos precursores osteoclásticos e indiretamente no controle do sistema osteoprotegerina (OPG) e RANKL (*receptor activator of NF-KB ligand*), moléculas-chave do metabolismo ósseo (BOYCE et al., 2005).

A IL-4 é uma citocina anti-inflamatória produzida primariamente por linfócitos T, mastócitos e basófilos. Essa citocina foi primeiramente descrita como fator de crescimento de células B por ser um importante modulador da diferenciação de células precursoras T *helper* em células Th2 intermediando a resposta humoral. IL-4 é um potente inibidor dos macrófagos pela inibição da secreção de IL-1 β , TNF- α , IL-6 e PGE₂ (TE VELDE et al., 1990). Sua ausência localizada nos tecidos periodontais está associada com a atividade e progressão de doença, caracterizada pela transformação de gengivite em periodontite (SHAPIRA et al., 1992).

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias (REINHARDT et al., 1993). A mesma é capaz de atenuar a resposta inflamatória e exercer efeito imunossupressor e imunoestimulatório atuando em uma grande variedade de tipos celulares (STEIN et al., 1996). Como um regulador da resposta imune mediada por células, de maneira geral, a IL-10 pode suprimir a produção de PGE₂, citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1, IL-6, e IL-8 (FIORENTINO et al., 1991; NIIRO et al., 1994). A IL-10 é capaz de induzir a proliferação de linfócitos B e a proliferação e ativação de células NK (MOORE et al., 2001). Baseado em suas atividades biológicas, é evidente que a redução da produção de IL-10 está associada com a maior susceptibilidade a qualquer tipo de doença infecciosa (HELMINEM et al., 1999). Por esse motivo, alguns estudos já analisaram a participação dessa citocina em processos infecciosos, como as

doenças periodontais (YAMAZAKI et al., 1997; GAMONAL et al., 2000; SEYMOUR & GEMMELL, 2001; JOHNSON & SERIO, 2005;) e peri-implantares (LISKMANN et al., 2006).

1.3.2 Estudos imunológicos ao redor dos implantes osseointegrados

Embora descrito anteriormente, vale ressaltar mais uma vez que poucos estudos objetivaram, até o presente momento, observar o papel dos mediadores pró- e anti-inflamatórios nos tecidos e fluido crevicular ao redor de implantes saudáveis e doentes. A maioria deles investigou apenas o papel da IL-1 na peri-implantite.

Schierano et al. (2003) caracterizaram as expressões teciduais de RNAm de citocinas pró-inflamatórias (IL-2, IL-12 e IFN- γ) e anti-inflamatórias (IL-4, IL-10 e fator de crescimento de transformação TGF- β 1), por meio do PCR, antes e após a instalação dos implantes. Biópsias de tecido peri-implantar foram removidas no dia da inserção do implante, durante a colocação do cicatrizador e em 4, 8 e 12 meses após instalação da prótese. Antes da instalação do implante, foi observada a presença de TGF- β 1 na maioria dos espécimes, a IL-10 foi expressa em apenas 3 dos 11 sítios, enquanto IFN- γ , IL-2 e IL-12 não foram detectadas. A IL-2 e IL-4 não foram detectadas em nenhum momento; enquanto que os níveis de TGF- β 1 e da IL-10 estavam altos em 4 meses e diminuíram consideravelmente em 1 ano após a instalação da prótese. O objetivo desse estudo, entretanto, foi observar a expressão destas citocinas ao redor dos implantes sem correlacioná-las com a condição clínica peri-implantar.

Panagakos et al., em 1996, avaliaram, por meio de ELISA, os níveis de IL-1 β e TNF- α no fluido crevicular de implantes saudáveis ou com peri-implantite. Cinquenta implantes em 13 pacientes foram classificados clinicamente como: saudáveis, peri-implantite inicial e peri-implantite avançada. A IL-1 β foi detectada nos 3 grupos, porém com nível mais elevado na peri-implantite inicial, seguida da peri-implantite avançada e por último, na saúde. Entretanto, TNF- α não foi detectado em nenhuma das condições clínicas.

Curtis et al., em 1997, em um relato de caso, avaliaram a presença de IL-1 β no fluido crevicular peri-implantar, por meio de ELISA, em um paciente portador de dois implantes com peri-implantite antes e depois da descontaminação peri-implantar cirúrgica, associado ao antibiótico sistêmico e antimicrobiano local. Os autores, observaram que os níveis de IL-1 foram reduzidos em 2 meses pós-terapia concomitantemente à melhora clínica. Entretanto, em 5 meses, os resultados clínicos e microbiológicos voltaram aos valores iniciais.

Murata et al. (2002) analisaram os níveis de osteocalcina, deoxipiridinolina (proteínas do metabolismo ósseo) e IL-1 β no fluido crevicular peri-implantar de pacientes portadores de peri-implantite por meio de ensaio imunoenzimático (EIA). Foram selecionados 34 implantes, divididos em peri-implantite, mucosite e saúde. Os autores observaram níveis mais elevados de osteocalcina nos sítios doentes enquanto a deoxipiridinolina não foi detectada em nenhuma amostra. Os níveis de IL-1 β foram significativamente maiores na peri-implantite quando comparado à mucosite e à saúde.

Kivela et al., em 2003a, analisaram quantidades de laminina-5 e MMP-8 no fluido crevicular peri-implantar de sítios doentes e saudáveis por meio do teste *Western immunoblotting*. Essas moléculas foram observadas em maiores proporções nos sítios doentes quando comparados aos saudáveis.

Kivela et al., em 2003b, caracterizaram pelo método *Western immunoblotting*, a relação entre MMP-8 e MMP-7 no fluido crevicular peri-implantar de sítios doentes, em comparação aos sítios saudáveis. Os autores identificaram ambas metaloproteinases na doença peri-implantar; entretanto, a MMP-7 foi encontrada em menor proporção na doença.

Machtei et al. (2006) compararam, por meio de ELISA, as condições clínicas e imunológicas (IL-1 e TNF- α) periodontal e peri-implantar em dois tipos de plataformas de implantes: hexágono externo (28 implantes) e cone morse (45 implantes). Os autores observaram uma correlação positiva entre IL-1 e TNF- α e entre essas citocinas e a perda óssea ao redor de dentes e implantes. Ambas as plataformas obtiveram similaridades clínicas e radiográficas; entretanto, o TNF- α apresentou-se em maior nível ao redor dos implantes com hexágono externo. Os autores concluíram que a IL-1 e TNF- α são possíveis marcadores sensíveis para a perda óssea ao redor de dentes naturais e implantes.

Kontinen et al., em 2006, observaram, por meio de imunohistoquímica, os níveis teciduais de TNF- α , IL-1 β , IL-6, fator de crescimento derivado de plaqueta (PDGF-A) e fator de crescimento de transformação (TGF- α) ao redor de implantes perdidos, periodontite crônica e saúde. De maneira geral, os níveis de TNF- α , IL-1 β e IL-6 estavam aumentados nas amostras de peri-implantite e periodontite crônica, sugerindo, que citocinas com potencial de ativação osteoclástica estavam associadas a ambas as doenças. IL-1 β foi mais prevalente na peri-implantite e TNF- α foi mais prevalente na periodontite crônica.

Liskmann et al., em 2006, avaliaram por ELISA a relação entre os parâmetros clínicos peri-implantares e as concentrações de IL-6 e IL-10 na saliva de pacientes totalmente edêntulos com próteses implantossuportadas. Segundo os autores, a saliva é uma importante fonte de moléculas derivadas do fluido crevicular. Foram selecionados 12 pacientes com peri-implantite e 18 com implantes saudáveis. O grupo da peri-implantite apresentou maior nível de IL-6. A IL-10 foi detectada apenas no grupo da peri-implantite. Os níveis de IL-10 e IL-6 na peri-implantite foram positivamente correlacionados com os parâmetros clínicos (PS, IG e SS).

1.4 Tratamentos para doenças peri-implantares

Uma vez reconhecido o envolvimento de microrganismos específicos na etiologia da mucosite e peri-implantite, alguns pesquisadores sugeriram diferentes estratégias terapêuticas com o objetivo de remover a infecção bacteriana por meio do debridamento mecânico associado ou não aos antibióticos sistêmicos ou locais. Enxertos ósseos e membranas, por sua vez, foram sugeridos com objetivo de tratar os defeitos ósseos peri-implantares (MOMBELLI, 2002).

Após revisão bibliográfica, exemplificada abaixo, foi observado que os trabalhos até o presente momento focalizaram os efeitos clínicos, radiográficos e microbiológicos das terapias propostas. O efeito imunológico destes tratamentos, por sua vez, ainda necessita ser amplamente esclarecido.

A Terapia de Suporte Interceptiva Cumulativa (CIST), sugerida por Lang et al., em 1997, consiste em um protocolo de tratamento para infecções peri-implantares desenvolvida e implementada pela Universidade de Berne, Suíça. Esta inclui terapias que têm início com o debridamento mecânico em campo fechado, isolado ou associado aos antimicrobianos locais (clorexidina) e antibióticos sistêmicos até terapias cirúrgicas regenerativas para resolução de defeitos ósseos peri-implantares (RUTAR et al., 2001).

Em 1992, Mombelli & Lang avaliaram o efeito clínico e microbiológico (meio de cultura) do debridamento mecânico associado à clorexidina local (0,5%) e terapia antibiótica sistêmica (ornidazol 1000mg/10 dias) para tratamento da peri-implantite. Após um ano, observou-se uma redução significativa na profundidade de sondagem e índice de sangramento. Entretanto, os resultados microbiológicos demonstraram uma redução dos níveis de microrganismos apenas imediatamente após o tratamento.

Mombelli et al., em 2001, avaliaram clínica e microbiologicamente, por meio de cultura e microscopia de campo escuro, o efeito do debridamento mecânico sem acesso cirúrgico associado à fibra de tetraciclina (Actisite®) para tratamento de peri-implantite. Os implantes ainda demonstraram altos níveis de microrganismos em um mês após o tratamento. Porém, após seis meses, houve redução significativa do número de alguns periodontopatógenos, como *P. intermedia* e *P. nigrescens*, *Fusobacterium sp.*, *T. forsythia* e *C. rectus*.

Porras et al., em 2002, avaliaram o efeito de duas terapias para mucosite nos parâmetros clínicos (índice de placa e sangramento, nível clínico de inserção e profundidade de sondagem) e microbiológicos por meio de sondas de DNA bacteriano. Um grupo recebeu apenas tratamento mecânico (profilaxia profissional) enquanto o outro recebeu o mesmo tratamento mecânico associado à

clorexidina 0,12%. Após três meses, os resultados clínicos e microbiológicos foram semelhantes com redução significativa de patógenos e melhora nos parâmetros clínicos para ambas a terapias.

Leonhardt et al., em 2003, avaliaram clínica, microbiológica (por meio de cultura) e radiograficamente, o tratamento de 9 indivíduos com 26 peri-implantites. As avaliações foram realizadas em seis meses e em cinco anos. A terapia consistiu em acesso cirúrgico e desinfecção do implante com peróxido de hidrogênio a 10%. Os pacientes receberam ainda terapia antibiótica de acordo com o resultado do teste de susceptibilidade bacteriana. Apesar do tratamento, 7 dos 26 implantes tratados foram perdidos. Contudo, na maioria dos casos houve redução dos microrganismos patogênicos e melhora nos parâmetros clínicos com a terapia proposta.

Romeo et al., em 2005 e 2007, desenvolveram estudos clínico e radiográfico, respectivamente, com acompanhamento de 3 anos, para avaliar o efeito do tratamento de implantes de titânio (de superfície jateada com plasma titânio) portadores de peri-implantite por meio de acesso cirúrgico associado ou não à implantoplastia (alisamento da superfície do implante). Todos os pacientes receberam antibioticoterapia, e durante a cirurgia, aplicação de gel de metronidazol sobre a superfície dos implantes. Os implantes que receberam tratamento cirúrgico com implantoplastia obtiveram melhores resultados clínicos quando comparados aos implantes que receberam somente cirurgia ao longo de três anos (ROMEO et al., 2005). Adicionalmente, resultados radiográficos mais favoráveis também foram encontrados em 3 anos para o grupo da implantoplastia (ROMEO et al., 2007).

Karring et al. (2005) avaliaram, por meio de parâmetros clínicos e radiográficos, a efetividade do tratamento da peri-implantite com um dispositivo ultra-sônico (sistema Vector®) acoplado a pontas de teflon, quando comparado ao debridamento subgengival com curetas de fibras de carbono. Após seis meses, não houve redução significativa na profundidade de sondagem e ganho ósseo em nenhum dos métodos utilizados. O grupo do ultra-som reduziu o sangramento à sondagem em 4 dos 11 implantes avaliados, enquanto o grupo controle reduziu o sangramento em apenas 1 implante. Porém, não houve diferenças significativas entre os dois tratamentos.

Vitussi, em 2006, realizou avaliações clínicas e microbiológicas por meio de sondas de DNA bacteriano em lesões de peri-implantite tratadas com debridamento não-cirúrgico associado ao metronidazol (400mg 3x/dia por 14 dias) e amoxicilina (500mg 3x/dia por 14 dias) sistêmicos, comparado ao debridamento não-cirúrgico. Ambas as terapias reduziram significativamente os níveis dos microrganismos periodontopatogênicos, embora somente o grupo teste tenha conseguido manter esses níveis em 90 dias. Apesar da observação de uma melhora clínica que se manteve durante todo o período avaliado, na comparação entre os grupos, não houve diferenças relevantes entre ambos os tratamentos.

Renvert et al., em 2006, selecionaram 32 implantes com profundidade de sondagem ≥ 4 mm e presença de sangramento e/ou supuração à sondagem. Todos os pacientes receberam instruções de higiene bucal e raspagem dos implantes. Em seguida, um grupo recebeu tratamento local com microesferas de minociclina (1mg), enquanto o outro grupo recebeu clorexidina em gel 1% (1ml). A minociclina associada à raspagem resultou em reduções na profundidade de sondagem e no nível de sangramento. A clorexidina, por sua vez, reduziu apenas o sangramento. Esses resultados foram mantidos por um período de 12 meses para ambos os grupos.

Salvi et al., em 2007, trataram 31 peri-implantites com debridamento mecânico e clorexidina em gel 0,2%. Em seguida, microesferas de minociclina 1mg (Arestin®) foram introduzidos nas bolsas peri-implantares com perdas ósseas e profundidades de sondagem ≥ 5 mm. Essa aplicação foi repetida em 180 e 270 dias nos sítios que ainda apresentaram profundidade de sondagem ≥ 2 mm a partir da última sessão. Profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, sangramento à sondagem e índice de placa foram avaliados em quatro sítios por implante no dia 0, 10, 30, 60, 90, 180, 270 e 360. Os autores concluíram que esse protocolo de tratamento produziu efeitos positivos nos parâmetros clínicos após 12 meses.

1.5 Justificativa

Baseado nos princípios da osseointegração, a implantodontia ganhou progressivamente espaço na clínica odontológica nos últimos 20 anos. Grandes esforços comerciais e científicos estão atualmente voltados para o aprimoramento de instrumentos e materiais que forneçam reabilitações rápidas e eficazes do ponto de vista estético e funcional por meio de implantes osseointegráveis. Dessa maneira, é incontestável o fato de que a evolução dos sistemas protéticos e das superfícies dos implantes favoreça o aumento do sucesso dos mesmos. Entretanto, apesar de todo anseio para aprimorar a osseointegração, juntamente com o aumento do número de implantes colocados, ainda existe um risco de falhas dos implantes osseointegráveis. As falhas tardias, que ocorrem anos após a colocação das próteses, estão relacionadas principalmente aos agentes infecciosos e aos mecanismos biológicos do hospedeiro.

As infecções bacterianas peri-implantares têm merecido destaque no mundo científico. Em um primeiro momento, as atenções dos pesquisadores estiveram voltadas para a caracterização da microbiota ao redor dos implantes saudáveis e doentes. Uma vez estabelecido que a microbiota ao redor de implantes doentes assemelha-se àquela ao redor das infecções periodontais, terapias para as

doenças peri-implantares foram propostas baseadas nos princípios da periodontia. Assim, alguns estudos procuraram testar a eficiência destas terapias observando mudanças nas condições clínica, radiográfica e microbiológica dos implantes tratados.

O papel do hospedeiro frente às agressões bacterianas no corpo humano tem recebido destaque nos últimos anos. Curiosamente, a literatura da implantodontia é desprovida de informações sobre o papel do hospedeiro nas doenças peri-implantares. Existem poucas evidências sobre o perfil inflamatório ao redor de implantes saudáveis e doentes. As evidências tornam-se ainda mais raras em relação ao impacto das terapias anti-infecciosas na resposta do hospedeiro. Por esse motivo, é evidente a necessidade de estudos sobre os mecanismos inflamatórios ao redor de implantes dentários. Um melhor entendimento do papel de cada agente imunológico nas doenças peri-implantares tornará possível a sugestão de abordagens terapêuticas mais eficazes, associando a eliminação dos agentes etiológicos e a modulação da resposta do hospedeiro.

2 PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste estudo foram:

- 1- comparar o perfil imunológico (quantidade total de IL-4, IL-10, IL-12 e TNF- α no fluido crevicular peri-implantar) em implantes saudáveis, com mucosite e com peri-implantite;
- 2- avaliar o efeito da terapia mecânica anti-infecciosa para os implantes doentes nos parâmetros clínicos e imunológicos após 90 dias;
- 3- comparar, em 90 dias, o perfil clínico e imunológico dos implantes tratados em relação aos implantes saudáveis.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos

Foram selecionados 35 indivíduos, do gênero masculino ou feminino, total ou parcialmente edêntulos, portadores de pelo menos um implante osseointegrado do sistema Brånemark de superfície usinada e sextavado externo com prótese em função há pelo menos doze meses. Os mesmos foram selecionados após avaliação de 224 indivíduos num total de 538 implantes nas clínicas de odontologia da Universidade Guarulhos (UnG), Associação Brasileira de Ensino Odontológico – São Paulo (ABENO) e Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP-UNICAMP), no período de março de 2006 a maio de 2007. Foram excluídos os indivíduos fumantes, grávidas e lactantes, bem como os que apresentassem doenças sistêmicas (diabetes, osteoporose, desordens imunes, hepatite, etc.). Foram excluídos também os sujeitos que tivessem recebido qualquer tratamento periodontal ou para peri-implantite ou que tivessem feito uso de medicamentos (antibióticos, anti-inflamatórios ou hormônios) que pudessem interferir no curso da peri-implantite durante os seis meses anteriores ao estudo e que fizessem uso freqüente de antimicrobianos locais nos últimos 4 meses. Condições sistêmicas que contra-indicassem os procedimentos cirúrgicos odontológicos também foram consideradas situações de exclusão. Foram incluídos apenas indivíduos periodontalmente saudáveis ou que estivessem em terapia periodontal de manutenção.

Este estudo foi executado de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Guarulhos (ANEXO A). Todos os indivíduos foram informados quanto aos objetivos e as características do trabalho. Após o esclarecimento verbal e por escrito, aqueles que estiveram de acordo, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes do início das coletas e tratamentos.

3.2 Avaliações clínicas

Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados em seis sítios ao redor de todo o implante e dentes (mesiovestibular, médio-vestibular, distovestibular, mesiolingual, médio-lingual, distolingual),

utilizando uma sonda milimetrada (Carolina do Norte, Hu-Friedy Co, Chicago, IL), por um mesmo examinador treinado e calibrado (*Calibração do examinador*).

Índice de Placa Visível (IP):

Com os implantes e dentes previamente secos, os valores foram atribuídos de forma dicotômica, sendo (0) ausência e (1) presença de depósitos de biofilme na região adjacente ao tecido gengival ou mucosal (AINAMO & BAY, 1975).

Índice de Sangramento Gengival (IG):

Presença ou ausência de sangramento da mucosa ou gengiva marginal após percorrer levemente o sulco/bolsa peri-implantar ou periodontal com a sonda, ausência de sangramento recebeu o escore 0 e a presença de sangramento recebeu o escore 1 (AINAMO & BAY, 1975).

Índice de Sangramento à Sondagem (SS):

O sangramento após a sondagem até a base do sulco/bolsa peri-implantar ou periodontal foi verificado com a utilização da sonda milimetrada. O mesmo foi um registro dicotômico onde (1) representou presença de sangramento visível em 15 segundos após sondagem e (0) ausência de sangramento neste mesmo período.

Profundidade de sondagem (PS):

Essa medida foi obtida pela distância da margem da gengiva/mucosa ao fundo da bolsa ou sulco peri-implantar ou periodontal, em milímetros (mm).

Nível de inserção clínico relativo (NICr):

Uma vez que o implante não apresenta junção cimento-esmalte como o dente, foi obtido um nível de inserção clínico de inserção relativo (NICr). O NICr foi obtido a partir de um guia de sondagem (*stent*) ou um ponto de referência na prótese sobre implante (barra, pilar) até o ponto mais apical da bolsa/sulco peri-implantar (mm) por meio de uma sonda periodontal. Em caso da utilização do *stent* o mesmo foi confeccionado em resina acrílica auto-polimerizável a partir de modelos em gesso obtidos previamente por meio de moldagem com alginato.

Nível de inserção clínico (NIC)

Essa medida foi obtida pela distancia da junção cimento-esmalte ao fundo da bolsa ou sulco periodontal, em mm.

Supuração (SUP):

Presença ou ausência de supuração espontânea ou após sondagem do sulco/bolsa peri-implantar ou periodontal, onde a ausência recebeu o escore 0 e a presença recebeu escore 1.

3.3 Calibração do examinador

Apenas um examinador executou todos os exames clínicos, sendo assim, apenas uma calibração intra-examinador foi executada no começo do estudo para as medidas ao redor dos implantes e dentes. Dez indivíduos com peri-implantite e dez indivíduos com periodontite foram recrutados para o exercício de calibração. O examinador executou todas as mensurações clínicas nos implantes e dentes e as mesmas avaliações foram repetidas 60 minutos depois. Em seguida, as variações intra-examinador para as medidas de profundidade de sondagem e nível de inserção clínica foram determinadas baseadas no erro padrão da medida, conforme descrito por Araújo et al., 2003. A variação intra-examinador foi de 0,14mm para profundidade de sondagem (PS) dental e 0,16mm para o nível de inserção clínica dental (NIC). Para o NIC e PS ao redor dos implantes a variação intra-examinador foi de 0,08mm. Os parâmetros clínicos medidos de forma dicotômica (sangramento gengival, sangramento à sondagem e supuração) foram calculados pelo teste Kappa-Light. A concordância intra-examinador foi >0,85.

3.4 Diagnóstico e critério de inclusão dos implantes

Foram incluídos implantes do tipo Brånemark de superfícies usinadas em função há mais de doze meses. Após exames clínicos e radiográficos (radiografias periapicais pela técnica do paralelismo e posicionador), os implantes foram divididos em um dos 3 grupos experimentais:

Saúde: ausência de sangramento à sondagem, sangramento marginal e supuração; ausência de perda óssea radiográfica;

Mucosite: sangramento à sondagem e/ou marginal, ausência de perda óssea radiográfica/supuração.

Peri-implantite: sangramento à sondagem e/ou supuração, bolsa peri-implantar \geq 5mm, perda óssea radiográfica envolvendo no mínimo 3 roscas e até 50% do comprimento do implante (MOMBELLI & LANG, 1998; LEONHARDT et al., 2003).

Foram excluídos os implantes cuja informação sobre o sistema e tempo de carga não estivessem claras nas fichas dos pacientes, bem como aqueles que o formato da prótese impedisse o exame clínico. Implantes com próteses desadaptadas foram excluídos desde que o ajuste da mesma estivesse impossibilitado. Em caso de pacientes com mais de um implante com diagnósticos diferentes foram incluídos apenas um dos tipos de diagnóstico obedecendo à seguinte ordem: peri-implantite, mucosite

e saúde. Em caso de pacientes que apresentavam mais de um implante com peri-implantite, foram incluídos todos os implantes com esse diagnóstico.

3.5 Preparo inicial

Foram submetidos a um preparo inicial no qual receberam instruções de higiene bucal e raspagens dentais supragengivais e subgengivais, quando necessárias. Para os indivíduos que necessitaram de raspagem subgengival (3 indivíduos), a terapia peri-implantar foi realizada em 3 meses após a raspagem. Para os demais, a adequação foi feita entre 1 e 2 semanas antes do tratamento peri-implantar. Além disso, as próteses sobre implantes com parafusos soltos foram ajustadas no início do estudo. Os indivíduos foram instruídos a utilizarem escova convencional macia ou extra-macia de cabeça pequena pela técnica de Bass e, de acordo com o tipo de prótese sobre os implantes (barra, prótese fixa, prótese unitária, etc.), escovas bitufo, interdental e/ou fita dental.

3.6 Delineamento do estudo

Foi realizado um estudo clínico prospectivo no qual implantes dentais osseointegrados doentes (mucosite ou peri-implantite) receberam uma terapia mecânica anti-infecciosa. Todos os sujeitos foram examinados clínica e radiograficamente, por um único examinador treinado e calibrado no início do estudo (dia 0) e 90 dias após os tratamentos. Nesses mesmos períodos experimentais, foi realizada coleta de fluido crevicular peri-implantar (FCPI) para avaliação imunológica por meio do ensaio imunoenzimático (ELISA).

3.7 Terapias mecânicas anti-infecciosas

Conforme descrito acima, todos os indivíduos da pesquisa receberam orientação de higiene bucal e remoção de cálculo dental supra e subgingival antes de serem submetidos aos tratamentos (preparo inicial). Em seguida, de acordo com o diagnóstico inicial, as seguintes terapias foram propostas para os implantes doentes:

Mucosite:

Os sujeitos portadores de mucosite receberam debridamento do sulco peri-implantar com curetas de teflon (Hu-friedy Mfg Co Inc. Chicago IL e Straumann, Villeret, Switzerland) sem ou com uso de anestésico (lidocaína a 2% e 1:100000 de adrenalina), profilaxia do implante com jato de bicarbonato (Jet Sonic, Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brasil), instrução de higiene ao redor do implante e remoção de excessos de próteses quando necessárias.

Peri-implantite:

Os portadores de peri-implantite receberam acesso cirúrgico para a descontaminação da superfície do implante com jato de bicarbonato e curetas de teflon (Hu-friedy Mfg Co Inc. Chicago IL e Straumann, Villeret, Switzerland). Os procedimentos cirúrgicos foram realizados pelo mesmo operador. Todos os indivíduos deste grupo receberam dose única de dexametasona (4mg) e dose única 1g de amoxicilina uma hora antes do procedimento cirúrgico, conforme preconizado por Andrade (1998). A dose única de antibiótico consistia em um regime profilático, uma vez que a região incisada apresentava infecção e o jato de bicarbonato seria aplicado no implante com acesso cirúrgico. Os indivíduos foram submetidos a uma anti-sepsia extra-oral com solução de clorexidina a 2% e intra-oral com bochecho de solução de clorexidina a 0,12%. A região operada foi anestesiada com uma solução de lidocaína a 2% e 1:100000 de adrenalina.

Uma incisão intra-sulcular foi realizada com uma lâmina de bisturi nº 15C ao redor do implante doente, conservando as papilas adjacentes. Incisões relaxantes horizontais estendendo-se pelos dentes ou implantes adjacentes foram realizadas nas terminações mesial e distal. Um retalho total foi realizado para acesso ao tecido ósseo peri-implantar. Após a remoção do tecido de granulação e exposição total das roscas, as mesmas foram descontaminadas com curetas de teflon (Hu-friedy Mfg Co Inc. Chicago IL e Straumann, Villeret, Switzerland) e jato de bicarbonato (Jet Sonic, Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brasil). Todos esses procedimentos foram realizados sob irrigação local com solução de soro fisiológico estéril a 9%. O retalho foi colocado em sua posição original e estabilizado com suturas simples por meio de fio de nylon 5-0 (Nylon 5-0, Ethicon Inc. Johnson & Johnson Company, Somerville, NJ, EUA). Com o objetivo de minimizar a sintomatologia dolorosa, os indivíduos

receberam analgésicos (Paracetamol 750mg, um comprimido a cada 6 horas, por 48 horas). Os mesmos foram instruídos a suspender a escovação e bochecharem 15ml de uma solução de clorexidina a 0,12%, de 12 em 12 horas, por um minuto durante sete dias para evitar infecção da área operada. Suturas foram removidas em no máximo 15 dias (Figuras 1A – 1D).

Os indivíduos com saúde (grupo controle) não receberam intervenção subgengival ao redor do implante. Os pacientes deste grupo foram submetidos apenas ao preparo inicial. Esse grupo foi incluído apenas para uma comparação com os demais grupos em relação aos aspectos clínicos e imunológicos.

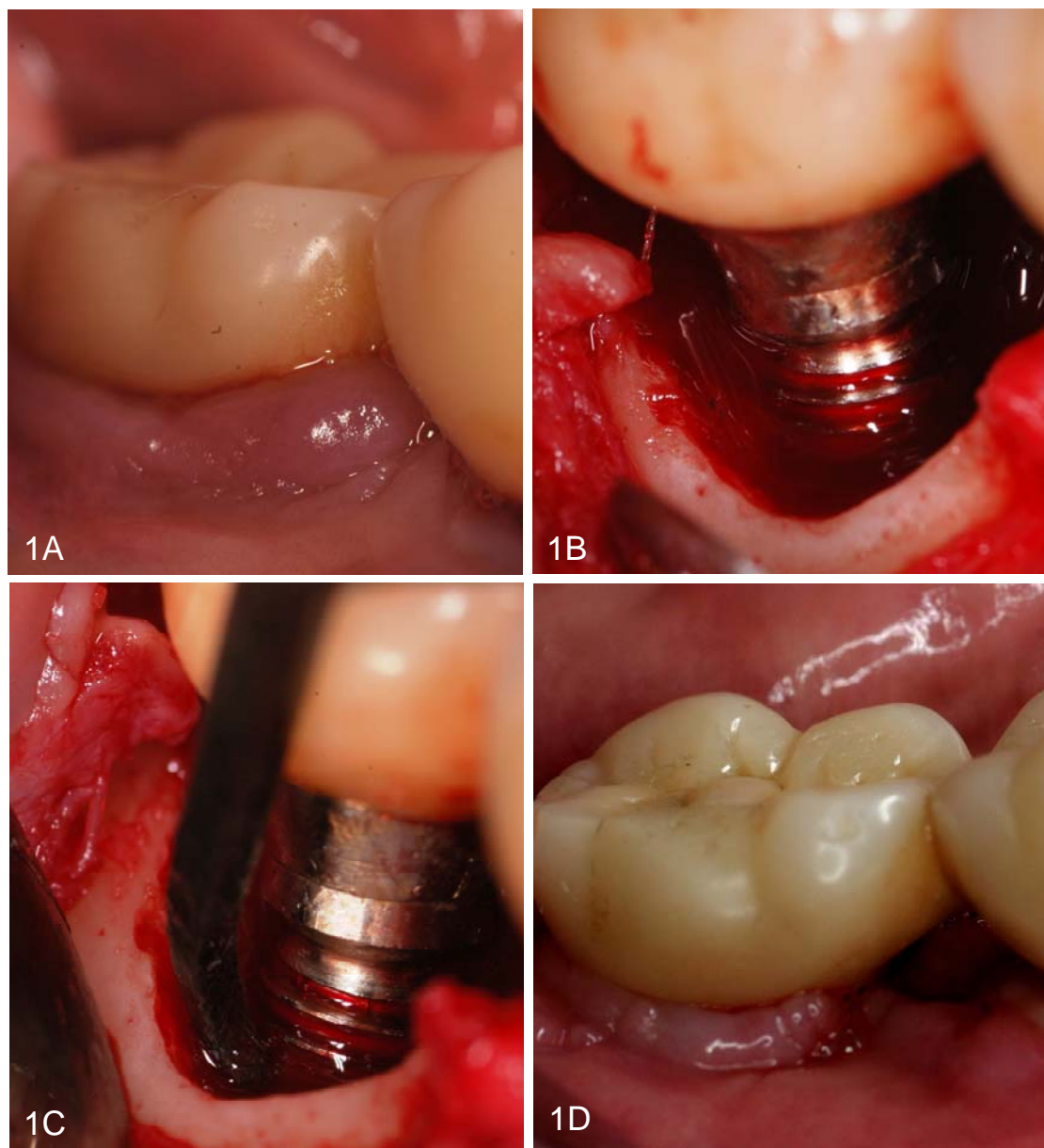


Figura 1: A- Aspecto clínico inicial de um implante com peri-implantite; B - Retalho de espessura total para acesso à superfície dos implantes; C- Descontaminação do implante com cureta de teflon para posterior descontaminação com jato de bicarbonato; D- Aspecto dos implantes após remoção das suturas simples.

3.8 Avaliação imunológica

3.8.1 Seleção dos sítios de coleta (sítios-teste)

A coleta do fluido crevicular peri-implantar (FCPI) foi realizada uma semana após o exame clínico para evitar interferências das sondagens nos componentes do fluido bem como evitar sangramento. O sítio mais profundo ao redor do implante foi selecionado para coleta de fluido e análise imunológica. Nos casos em que dois ou mais sítios apresentaram a mesma profundidade de sondagem, o sítio-teste foi escolhido pela seguinte ordem: médio, mesial, distal/ vestibular e médio, mesial, distal/ lingual ou palatino.

3.8.2 Coletas das amostras de fluido

Após remover o biofilme supragengival, os sítios foram isolados com roletes de algodão estéreis e gentilmente secos com jato de ar para eliminar qualquer possibilidade de contaminação por saliva. Após 2 minutos para afluxo do FCPI, um cone de papel estéril (# 30, Tanariman Indústria Ltda, Manacaru, AM, Brasil) foi inserido 3 mm no sulco/bolsa peri-implantar por 10 segundos (Figura 2). Este procedimento foi repetido quatro vezes consecutivas no mesmo sítio, totalizando 40 segundos de coleta. Os cones foram colocados imediatamente em microtubos plásticos contendo 200 µl de solução tampão fosfato e um coquetel inibidor de protease (Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, USA). As amostras foram rapidamente congeladas a -20° C até serem processadas. As amostras de FCPI foram coletadas dos mesmos sítios no dia 0 e 90 dias após as terapias.



FIGURA 2 - Inserção do cone de papel 3 mm no sulco peri-implantar para coleta de FCPI.

3.8.3 Análise imunológica pelo ensaio imunoenzimático (ELISA)

As quantidades totais de IL-4, IL-10, IL-12 e TNF- α foram determinadas utilizando o ELISA por meio de kits comerciais de alta sensibilidade (Quantikine HS, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), de acordo com as recomendações do fabricante. As amostras foram inicialmente agitadas por 1 minuto e centrifugadas durante 10 minutos (12.000x) para eluição dos componentes do FCPI. Em seguida, alíquotas da amostra foram diluídas na solução diluente do kit comercial. As microplacas de fundo chato foram previamente sensibilizadas pelo fabricante com anticorpo específico para cada interleucina. Cem microlitros da amostra padrão fornecida pelo fabricante ou das amostras de FCPI a serem testadas foram adicionadas em cada poço e incubadas durante 2-3h em temperatura ambiente. Em seguida foram realizadas 6 lavagens para remoção dos componentes não-ligados. Cem microlitros de um anticorpo específico conjugado à fosfatase alcalina foi então adicionado a cada poço. Após um período de incubação de 2h em temperatura ambiente, novas lavagens foram realizadas para eliminação dos componentes não-ligados desta etapa. Um substrato composto de NADPH foi

adicionado e incubado durante 1 hora em temperatura ambiente. Em seguida, uma solução amplificadora composta por um sistema secundário de enzimas (álcool desidrogenase e diaforase) e corante (violeta iodonitrotetrazólio) foi adicionada aos poços para desenvolvimento de uma coloração. Finalmente, após um período de 30 minutos, 50 µl de ácido sulfúrico foi adicionado aos poços para paralisar a reação. Os valores de absorbância de cada amostra foram obtidos por espectrofotômetro a 490nm. Uma curva foi elaborada por um programa de computador com os padrões fornecidos pelo fabricante para obtenção de uma equação da reta, que permitiu o cálculo das quantidades de cada citocina nas amostras estudadas. Para obtenção das quantidades totais finais, os valores fornecidos pela equação da reta foram multiplicados pela diluição inicial de cada amostra e os resultados foram expressos em quantidade total de citocina (pg/sítio/40segundos). Sítios com níveis de citocinas abaixo do limite de detecção do *kit* receberam valor 0pg.

3.9 Análises estatísticas

A análise estatística foi realizada por meio de um programa de computador estatístico (BioEstat 3.0, Sociedade Civil Mamirauá, CNPq, BR). Primeiramente, os dados foram examinados pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e, como foi detectada ausência de normalidade dos valores, as análises clínicas e imunológicas foram realizadas usando métodos não-paramétricos. As análises estatísticas dos dados clínicos foram realizadas em nível do implante ou dente como um todo (média dos seis sítios) para todos os parâmetros e em nível do sítio-teste para a profundidade de sondagem. O teste de Wilcoxon foi utilizado para avaliação intra-grupo com objetivo de avaliar as mudanças nos parâmetros clínicos e nos níveis das interleucinas após as terapias para os implantes doentes. O teste de Kruskal Wallis foi utilizado para avaliação inter-grupo com objetivo de comparar os parâmetros clínicos e os níveis das interleucinas entre os implantes doentes e saudáveis. Quando detectadas diferenças significativas pelo teste Kruskal Wallis, as comparações foram feitas pelo Método de Dunn. A idade dos pacientes e o tempo de carga dos implantes foram submetidos à ANOVA. A correlação de Spearman foi utilizada para testar possíveis relações entre as quantidades totais das interleucinas entre si e com os parâmetros clínicos (IP, SS, SUP e PS). O nível de significância para todas as análises foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 Resultados clínicos

A população estudada foi composta de 35 indivíduos, dentre eles 15 homens e 20 mulheres (idade $53,4 \pm 16,2$ anos). Um total de 40 implantes dentais (tempo de carga $4,9 \pm 1,8$ anos) foram avaliados no dia 0 e 90 dias após os tratamentos. As características clínicas e demográficas da população estudada estão descritas na tabela 1.

TABELA 1 – Descrição demográfica da população estudada e condição periodontal (boca-toda).

| Características | Total | Saúde | Mucosite | Peri-implantite |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------|
| Número de indivíduos | 35 | 10 | 10 | 15 |
| Idade (anos; média \pm DP) | $53,4 \pm 16,2$ | $49,1 \pm 11,6$ | $55,8 \pm 17$ | $55,8 \pm 14,4$ |
| Gênero | M 20, H 15 | M 6, H 4 | M 6, H 4 | M 8, H 7 |
| Número de implantes | 40 | 10 | 10 | 20 |
| Número de edêntulos totais | 11 | 2 | 2 | 7 |
| Número de edêntulos parciais | 24 | 8 | 8 | 8 |
| <i>Índice de placa dental</i> (% média \pm DP) | $14,9 \pm 13,4$ | $11,8 \pm 10,3$ | $15,4 \pm 15,9$ | $24,8 \pm 4,9$ |
| <i>Índice de sangramento marginal dental</i> (% média \pm DP) | $9,5 \pm 10,2$ | $1,5 \pm 0,3$ | $6,1 \pm 12,9$ | $16,6 \pm 10,3$ |
| <i>Índice de sangramento à sondagem dental</i> (% média \pm DP) | $10,2 \pm 11,0$ | $4,4 \pm 8,7$ | $6,0 \pm 13,0$ | $18,5 \pm 7,0$ |
| <i>Profundidade de sondagem dental</i> (mm; média \pm DP) | $1,99 \pm 0,36$ | $2,0 \pm 0,4$ | $2,1 \pm 0,3$ | $2,0 \pm 0,5$ |
| <i>Nível clínico de inserção dental</i> (mm; média \pm DP) | $2,62 \pm 0,81$ | $2,5 \pm 0,7$ | $2,3 \pm 0,3$ | $3,1 \pm 1,1$ |
| Tempo de carga (anos média \pm DP) | $4,9 \pm 1,8$ | $3,8 \pm 1,5$ | $5,0 \pm 2,2$ | $4,8 \pm 2,0$ |

Não houve diferenças significativas entre os grupos no dia 0 pelo teste de Kruskal-Wallis e ANOVA.

A tabela 2 descreve os dados clínicos em relação ao implante (média dos seis sítios dos implantes) antes e após as terapias. De acordo com o próprio critério de inclusão, no dia 0 as médias da porcentagem de IP, IG e SS foram estatisticamente mais elevadas ao redor dos implantes doentes, quando comparados aos implantes saudáveis ($p < 0,05$). Nos implantes doentes, as médias das profundidades de sondagem foram também estatisticamente mais elevadas em relação à saúde ($p < 0,05$). Em três meses após as terapias, as médias da porcentagem de IP, IG, SS e as médias das PS reduziram para mucosite e peri-implantite ($p < 0,05$). A média de porcentagem de SUP reduziu para a peri-implantite após o tratamento ($p < 0,05$). Todos os parâmetros clínicos dos implantes do grupo da mucosite foram similares aos implantes saudáveis em 3 meses ($p < 0,05$); entretanto, somente os níveis de PS e SUP na peri-implantite apresentaram-se similares aos níveis saudáveis ($p < 0,05$). A tabela 3 descreve a frequência de acúmulo de placa, supuração, sangramento marginal e à sondagem, bem como as profundidades de sondagens, nos sítios-teste antes e após as terapias. Antes do tratamento, o número de sítios-teste com placa, sangramento marginal e à sondagem eram mais elevados nos grupos doentes em relação ao grupo saudável. Esta frequência reduziu após o tratamento para ambas as doenças. Assim como em nível do implante, a média de PS nos sítios-teste com peri-implantite foi maior em relação aos demais grupos ($8,0 \text{ mm} \pm 2,2 \text{ mm}$), seguida pela mucosite ($6,4 \text{ mm} \pm 2,2 \text{ mm}$). O gráfico 1 apresenta as alterações da PS e NICr do dia 0 até 90 dias observados nos dois grupos tratados. O grupo que recebeu cirurgia (peri-implantite) demonstrou uma redução maior na média de PS ($3,1 \text{ mm} \pm 1,7 \text{ mm}$) em relação ao NICr ($2,3 \text{ mm} \pm 1,6 \text{ mm}$). O grupo da mucosite apresentou redução na média de PS de $1,3 \text{ mm} \pm 1,2 \text{ mm}$ e no nível clínico de inserção relativo de $1,4 \text{ mm} \pm 1,2 \text{ mm}$.

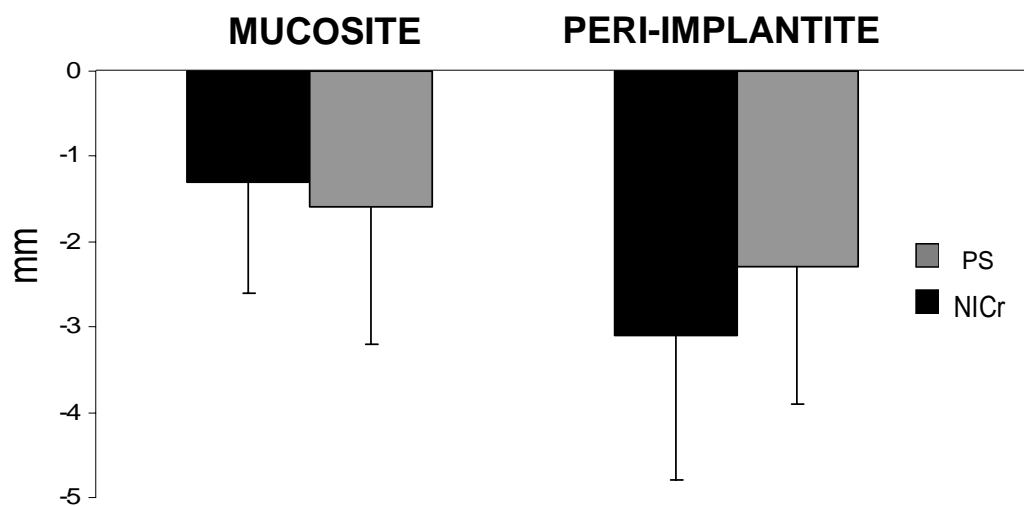


GRÁFICO 1 – Médias e desvios padrão (mm) das alterações, em 90 dias após a terapia, da profundidade de sondagem e do nível clínico de inserção relativo para a mucosite e peri-implantite, considerando o implante como um todo.

TABELA 2 - Médias e desvios-padrão (média \pm DP) da porcentagem de placa (IP), sangramento marginal (IG), sangramento à sondagem (SS), supuração (SUP) e profundidade de sondagem (PS/mm) em nível do implante no dia 0 e 90 dias para os implantes doentes e para o grupo controle saúde.

| | IP % | | IG % | | SS % | | SUP % | | PS mm | |
|-----------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|------------------|-----------------|-----------------|
| | DIA 0 | Dia 90 | DIA 0 | Dia 90 | DIA 0 | Dia 90 | DIA 0 | Dia 90 | DIA 0 | Dia 90 |
| Saúde (10) | 21,7 \pm 23,6A | | 0A | | 0A | | 0A | | 3,7 \pm 0,8A | |
| Mucosite (10) | 85,0 \pm 24,1Ba | 28,3 \pm 41,6 Ab | 96,7 \pm 10,5 Ba | 20,0 \pm 32,2ABb | 93,3 \pm 14,1Ba | 25,0 \pm 41,0ABb | 0Aa | 0Aa | 5,4 \pm 1,4Ba | 3,9 \pm 0,8Ab |
| Peri-implantite (20) | 90 \pm 30,8Ba | 50 \pm 39,4Bb | 93,9 \pm 20,9 Ba | 48,3 \pm 41,5Bb | 100Ba | 52,5 \pm 41,3Bb | 39,2 \pm 39,1Ba | 2,5 \pm 11,2Ab | 7,5 \pm 2,2Ca | 4,4 \pm 1,1Ab |

Letras maiúsculas diferentes, entre linhas, indicam diferenças estatísticas significantes entre os grupos pelos testes de Kruskal Wallis e de Dunn ($p < 0,05$).

Letras minúsculas diferentes, entre colunas, indicam diferenças estatísticas significantes antes e após os tratamentos para os grupos mucosite e peri-implantite pelo teste de Wilcoxon ($p < 0,05$).

TABELA 3 - Número de sítios teste com presença de placa, sangramento marginal, sangramento à sondagem, supuração e média (\pm DP) da profundidade de sondagem (PS/mm) nos sítios-teste no dia 0 e 90 dias para os implantes doentes e para o grupo controle saúde.

| | Acúmulo de Placa | | Sangramento marginal | | Sangramento à sondagem | | Supuração | | PS mm | |
|-----------------------------|------------------|--------|----------------------|--------|------------------------|--------|-----------|--------|-----------------|-----------------|
| | DIA 0 | Dia 90 | DIA 0 | Dia 90 | DIA 0 | Dia 90 | DIA 0 | Dia 90 | DIA 0 | Dia 90 |
| Saúde (10) | 1 | | 0 | | 0 | | 0 | | 3,7 \pm 1,1A | |
| Mucosite (10) | 8 | 3 | 10 | 4 | 10 | 4 | 0 | 0 | 6,4 \pm 2,2Ba | 4,5 \pm 1,2Ab |
| Peri-implantite (20) | 19 | 9 | 20 | 11 | 20 | 11 | 6 | 1 | 8,0 \pm 2,2Ba | 4,9 \pm 1,6Ab |

Letras maiúsculas diferentes, entre linhas, indicam diferenças estatísticas significantes entre os grupos pelo teste de Kruskal Wallis e de Dunn ($p < 0,05$).

Letras minúsculas diferentes, entre colunas, indicam diferenças estatísticas significantes antes e após os tratamentos para os grupos mucosite e peri-implantite pelo teste de Wilcoxon ($p < 0,05$).

4.2 Resultados imunológicos

As quantidades totais (pg/sítio/40s) de IL-4 e IL-10 no FCPI estão representadas no gráfico 2. Não houve diferenças entre os grupos antes e após as terapias para essas interleucinas. Entretanto, os níveis de IL-4 demonstraram uma tendência para serem menores no grupo da mucosite, tanto antes como após o tratamento. As quantidades totais (pg/sítio) das interleucinas IL-12 e TNF- α estão representadas no gráfico 3. A mediana da quantidade total de IL-12 foi maior na peri-implantite em relação aos demais grupos no dia 0, entretanto não foram encontradas diferenças estatísticas. A quantidade total de TNF- α foi significativamente maior nos sítios peri-implantares doentes quando comparados aos sítios saudáveis ($p < 0,05$). Os níveis de TNF- α diminuíram após a terapia nos implantes doentes atingindo os valores dos implantes saudáveis em 3 meses ($p < 0,05$).

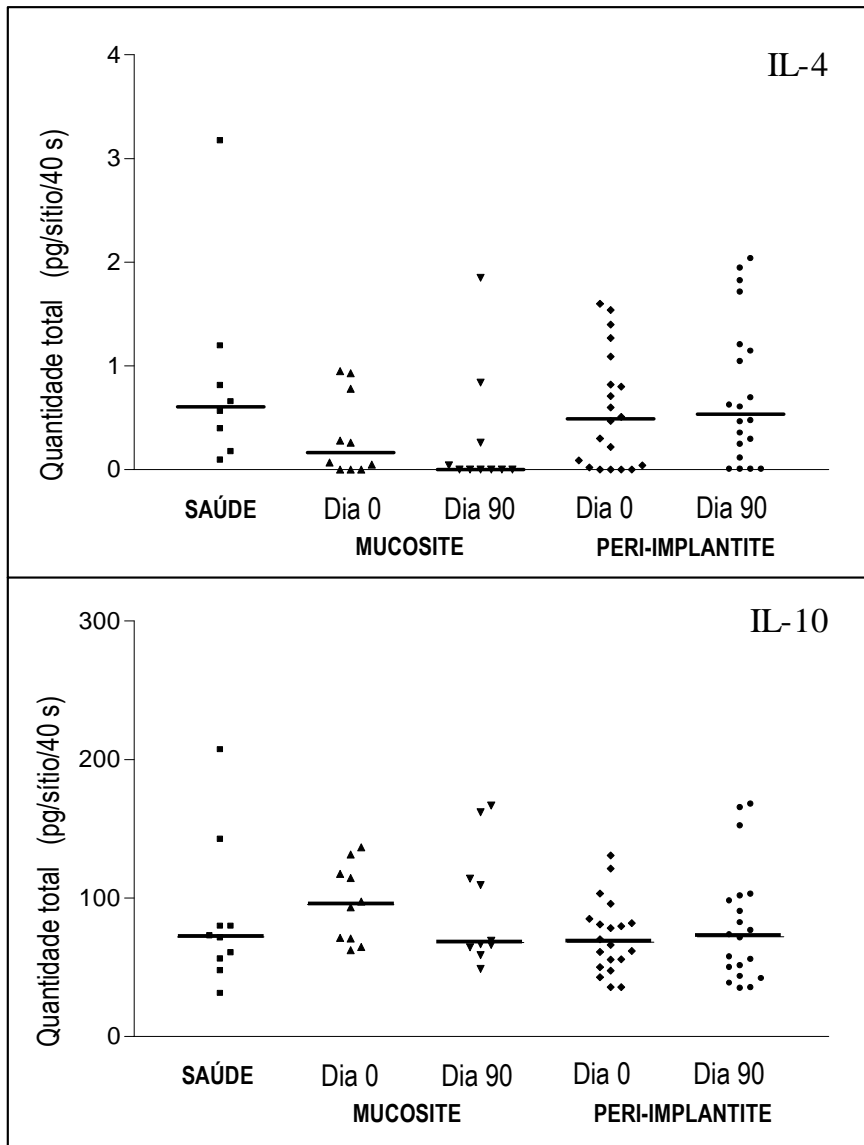


GRÁFICO 2 - Distribuição da quantidade total de citocinas anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10) no FCPI de saúde (n=10) e, mucosite (n=10) e peri-implantite (n=20) no dia 0 e em 3 meses após as terapias. As barras horizontais consistem na mediana em pg/sítio. Cada ponto representa a quantidade de IL-4 ou IL-10 em um determinado sítio para um dado implante. Análises inter e intra-grupo (Kruskal Wallis e Wilcoxon, respectivamente), não indicaram diferenças entre os grupos ($p > 0,05$).

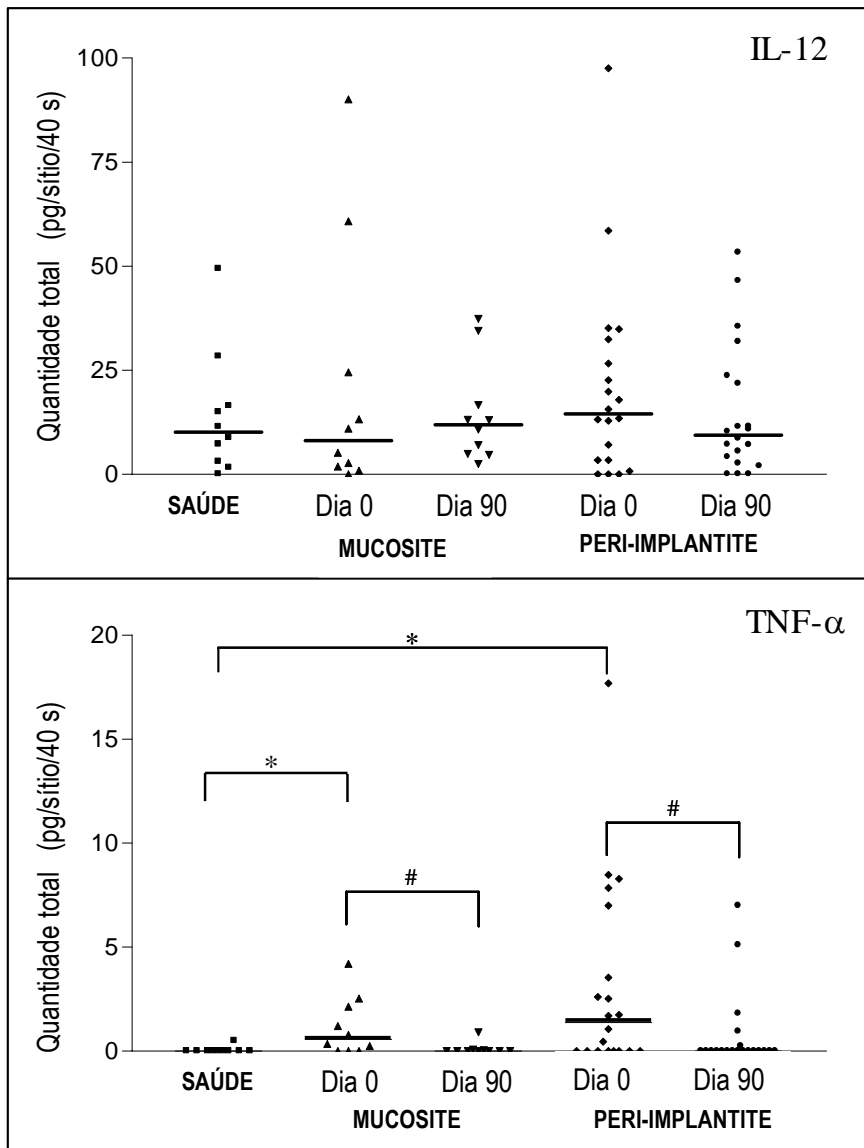


GRÁFICO 3 - Distribuição da quantidade total de citocinas pró-inflamatórias (IL-12 e TNF- α) no FCPI na saúde (n=10) e, mucosite (n=10) e peri-implantite (n=20) no dia 0 e em 3 meses após as terapias. As barras horizontais representam o valor mediano em pg/sítio. Cada ponto representa o total de IL-12 e TNF- α em cada sítio. (*) representa diferenças estatisticamente significantes entre os grupos no dia 0 pelos testes de Kruskal Wallis e Dunn ($p < 0,05$), enquanto (#) indica diferenças estatísticas entre os tempos experimentais para os implantes doentes pelo teste de Wilcoxon.

4.3 Correlações entre os parâmetros clínicos e imunológicos

A tabela 4 representa os coeficientes de correlação entre os parâmetros clínicos e imunológicos. Quando as citocinas foram correlacionadas entre si, foram encontradas correlações positivas estatisticamente significantes entre a IL-12 e TNF- α bem como IL-12 e IL-4. As correlações foram evidentes também quando os parâmetros clínicos foram levados em consideração, uma vez que a PS e SS foram positivamente correlacionados com a quantidade total de TNF- α .

TABELA 4 - Coeficientes de correlação para as citocinas estudadas e parâmetros clínicos.

| | IL-12 | TNF- α | IL-4 | IL-10 |
|---------------|----------------|-----------------|--------|---------|
| TNF- α | 0,2702* | – | | |
| IL-4 | 0,2499* | 0,1347 | – | |
| IL-10 | 0,0844 | -0,0169 | 0,0420 | – |
| IP | -0,1424 | 0,2277 | 0,0999 | -0,0733 |
| SS | 0,0834 | 0,4680** | 0,1222 | -0,0900 |
| SUP | -0,1439 | 0,0303 | 0,1381 | -0,2062 |
| PS | -0,1021 | 0,3038* | 0,0927 | 0,0179 |

* Indica correlação significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Spearman.

** Indica correlação significativa ($p < 0,01$) pelo teste de Spearman.

5 DISCUSSÃO

Muitos estudos já avaliaram o perfil microbiológico ao redor de diferentes condições clínicas peri-implantares assim como as mudanças clínicas, radiográficas e microbiológicas ao redor de implantes doentes após vários tipos de terapias (ver revisões, KLINGE et al., 2002; ROOS-JANSKER et al., 2003). Embora algumas investigações imunológicas tenham sido desenvolvidas no âmbito periodontal (SEYMOUR & GEMMEL, 2001; BOSTANCI et al., 2007), até o presente momento, um número restrito de estudos objetivaram esclarecer o papel da resposta imune do hospedeiro nas doenças peri-implantares. Os dados são ainda mais escassos quando são considerados os efeitos das terapias para as doenças peri-implantares nos níveis dos mediadores inflamatórios presentes no tecido ou no FCPI (CURTIS et al., 1997; MURATA et al., 2002; ATAUGLU et al., 2002). Assim, considerando que as moléculas inflamatórias agem mais frequentemente de forma conjunta que individualmente, este estudo objetivou comparar os níveis de IL-12, TNF- α , IL-4 e IL-10 no FCPI em diferentes condições clínicas peri-implantares. Além disso, as mudanças na quantidade total desses mediadores inflamatórios e nos parâmetros clínicos foram avaliadas nos implantes doentes em 90 dias após terapia mecânica anti-infecciosa como monoterapia. Finalmente, os dados clínicos e imunológicos pós-terapia foram comparados aos implantes saudáveis. É importante enfatizar que o nível de cada molécula inflamatória foi expresso como quantidade total por sítio em 40 segundos de coleta como uma alternativa à concentração de citocinas por volume de fluido crevicular. Esse protocolo de coleta foi baseado em estudos prévios demonstrado que a expressão dos componentes moleculares do fluido crevicular na forma de quantidade total era mais sensível que a concentração para estimar atividade de doença periodontal e peri-implantar (LAMSTER et al., 1986; NAKASHIMA et al., 1994; ATAUGLU et al., 2002).

As bactérias patogênicas e seus fatores de virulência são capazes de afetar a resposta imune do hospedeiro, estimulando vários tipos de células secretoras de citocinas pró e anti-inflamatórias (SEYMOUR & GEMMEL, 2001). Sendo assim, o objetivo das terapias mecânicas descritas nesse estudo foi desordenar a integridade do biofilme subgengival e reduzir o número de patógenos. Uma vez que a aderência bacteriana está aumentada pelas micro-irregularidades da superfície dos implantes e pela presença das roscas, foi utilizado primeiramente as curetas de teflon para remoção dos grandes depósitos de cálculo e biofilme, seguido pelo jato de bicarbonato para a obtenção de uma descontaminação mais precisa. É importante destacar que o debridamento mecânico por meio de ambos, jato de bicarbonato e cureta de teflon, foi utilizado

em estudos prévios, demonstrando adequada descontaminação do implante (ROOS JANSKER et al., 2003) sem alterações extensas na sua topografia de superfície e sem prejuízos para adesão celular durante o reparo pós-terapia (PARHAM et al., 1989; JOVANOVIC, 1999).

Como descrito em estudos anteriores (LAVIGNE et al., 1994; PORRAS et al., 2002), os resultados clínicos deste estudo indicaram que o debridamento mecânico não-cirúrgico foi efetivo para reduzir a inflamação da mucosa e a PS em implantes com mucosite. Para implantes com peri-implantite, o debridamento por meio de acesso cirúrgico também resultou em efeitos positivos nos parâmetros clínicos. No que diz respeito às técnicas cirúrgicas com objetivo exclusivo de desinfecção, o reposicionamento apical do retalho associado à osteotomia e polimento da superfície exposta do implante (implantoplastia) foi sugerido previamente para tratamento da peri-implantite, demonstrando efeitos positivos na sobrevida do implante em longo prazo (JOVANOVIC, 1993; ROMEO et al., 2005). No presente estudo, o debridamento com acesso cirúrgico também foi considerado a terapia de escolha para a peri-implantite, com objetivo de facilitar a remoção mecânica do biofilme patogênico. Porém, o procedimento cirúrgico não foi combinado à osteotomia e polimento da superfície peri-implantar e, o retalho foi colocado em sua posição original. A escolha deste procedimento cirúrgico mais conservador foi baseada na tendência atual das técnicas cirúrgicas anti-infecciosas periodontais em preservar os tecidos ao redor do dente periodontalmente envolvido.

As vantagens desses procedimentos conservadores são: (1) alguns defeitos morfológicos ósseos (três e quatro paredes) podem favorecer o potencial regenerativo do tecido ósseo após a desinfecção; (2) os tecidos moles ao redor de defeitos horizontais e de uma parede apresentam uma tendência natural à recessão, mesmo sem reposicionamento apical do retalho. É importante destacar que, após terapia cirúrgica, a média do ganho de inserção clínica foi inferior à redução da profundidade de sondagem, sugerindo que parte da redução da profundidade de bolsa pode ser atribuída à recessão do tecido marginal. A recessão do tecido marginal, por sua vez, pode expor as roscas, comprometendo a estética e exigindo maior habilidade do paciente para higienizar o implante. Talvez essa seja uma possível explicação para o fato da média de IP, IG e SS do grupo da peri-implantite após o tratamento não terem alcançado o nível dos implantes saudáveis. Para esses pacientes, talvez, a implantoplastia sugerida por Romeo et al. (2005/2007) possa ser um procedimento adicional a ser realizado para obtenção de melhores índices de placa e sangramento. Apesar disso, é importante destacar que os resultados clínicos do presente trabalho, tanto em relação ao implante como um todo (tabela 2) como ao sítio-teste (tabela 3), são comparáveis a estudos que utilizaram outras terapias e também observaram uma

certa porcentagem de casos que não responderam bem ao tratamento (LEONHARDT et al., 2003; ROMEO et al., 2005; PERSSON et al., 2006).

Embora estudos prévios tenham demonstrado infiltrados inflamatórios distintos entre peri-implantite, mucosite e saúde (SEYMOUR et al., 1989; GUALINI & BERGLUNDH, 2003; BULLON et al., 2004), no presente estudo, as diferenças entre os níveis de mediadores anti e pró-inflamatórios entre esses grupos foram sutis, exceto para o TNF- α . Isso pode ser explicado pela grande variabilidade intra-sítios e intra-indivíduos das citocinas pró- e anti-inflamatórias e pela dificuldade de determinar o momento de atividade de doença por meio dos parâmetros clínicos atualmente disponíveis.

Neste estudo, os implantes doentes demonstraram maiores níveis de TNF- α no FCPI em relação aos implantes saudáveis e, a quantidade total de TNF- α esteve positivamente correlacionada com o sangramento à sondagem e profundidade de sondagem peri-implantar. Além disso, a melhora nos parâmetros clínicos após as terapias foi diretamente relacionada com a redução dos níveis de TNF- α peri-implantar. Juntos, esses dados confirmam uma resposta inflamatória local alterada nos implantes doentes e indicam que o TNF- α está envolvido na patogênese das doenças peri-implantares. Esses resultados estão de acordo com Konttinen et al. (2006) que demonstram um aumento no nível de TNF- α nos tecidos adjacentes à peri-implantite e com Machtei et al. (2006) que encontraram uma correlação positiva entre a perda óssea peri-implantar e a concentração de TNF- α no FCPI. Por outro lado, os resultados do presente estudo diferem de outros estudos onde o TNF- α não foi detectado no FCPI (PANAGAKOS et al., 1996) ou o nível de TNF- α no FCPI não foi correlacionado com nenhum parâmetro clínico peri-implantar (ATAOGLU et al., 2002). Além da estimulação das colagenases e de outras citocinas pró-inflamatórias, o TNF- α exerce um papel muito importante no metabolismo ósseo. O mesmo pode induzir diretamente a reabsorção óssea pelo estímulo ao aumento do número das células precursoras osteoclásticas e, indiretamente pela modulação do sistema OPG/RANKL/RANK (BOYCE et al., 2005). O papel dos macrófagos no metabolismo dos tecidos peri-implantares também tem sido destacado por algumas investigações (HERNANDEZ-PANDO et al., 2000; KONTTINEN et al., 2006). Macrófagos ao redor de implantes reconhecem o mesmo como uma partícula muito grande para ser fagocitada e assim, originam as chamadas células gigantes multinucleadas de corpo estranho. Essas células gigantes, encontradas em lesões peri-implantares, mas não nas lesões periodontais, podem ser uma das mais ativas fontes das citocinas estimuladoras de osteoclastos em doenças peri-implantares, dentre elas o TNF- α (HERNANDEZ-PANDO et al., 2000; KONTTINEN et al., 2006). Entretanto, o

envolvimento preciso dessas células na perda óssea peri-implantar e na liberação de TNF- α é um interessante assunto a ser elucidado em futuras investigações.

Dentre suas diversas atividades biológicas, a IL-12 induz a produção de IFN- γ , estimula a ativação de macrófagos e promove a resposta imune mediada por células (GATELY et al., 1998). Por esse motivo foi sugerido neste estudo que a IL-12 pudesse exercer um papel na iniciação e desenvolvimento da inflamação da mucosa peri-implantar, promovendo a resposta Th1 (resposta mediada por células) e suprimindo a resposta Th2. Foi observada apenas uma tendência para o aumento de IL-12 nos sítios com peri-implantite e uma leve correlação positiva com os níveis de TNF- α e IL-4. Ainda não existem evidências científicas na literatura sobre o papel da IL-12 em tecidos peri-implantares. Nos sítios periodontais, a função da mesma ainda é contraditória. Alguns estudos têm relatado altos níveis de IL-12 no fluido crevicular na doença periodontal (TSAI et al., 2005), enquanto outros demonstraram uma tendência para uma diminuição da mesma em sítios com periodontite (OROZCO et al., 2006). Outros trabalhos são necessários para verificar o verdadeiro papel desta citocina nas doenças peri-implantares, bem como se o mesmo se assemelha às doenças periodontais.

Os efeitos da IL-10 e IL-4 em diferentes tipos de células sugerem atividades anti-inflamatórias para ambas citocinas (TE VELDE et al., 1990; FIORENTINO et al., 1991). Sendo assim, neste estudo, foi hipotizado que a IL-10 e IL-4 pudessem exercer um papel regulatório na resposta imune das doenças peri-implantares. Até o presente momento, não existem dados na literatura que compararam os níveis dessas citocinas no FCPI de implantes saudáveis e doentes. Baseado nos presentes resultados, a IL-4 e IL-10 parecem estar envolvidas no processo de mucosite, em um estágio da doença peri-implantar onde a perda óssea ainda não é observada radiograficamente. Foi observada uma tendência para uma quantidade total de IL-4 reduzida nos sítios com mucosite no dia 0 que, curiosamente, se manteve em 90 dias pós-terapia. Houve também uma tendência para o nível de IL-10 ser maior na mucosite antes do tratamento. De fato, os mecanismos de supressão da resposta imunológica pelas IL-4 e IL-10 são diferentes e, a IL-10 tem sido considerada uma citocina mais potente para inibição das citocinas pró-inflamatórias quando comparada à IL-4 *in vitro* (SAGAWA et al., 1996). A ausência localizada de IL-4 nos tecidos periodontais está relacionada à atividade de doença, levando à progressão da gengivite para periodontite (SHAPIRA et al., 1992; TSAI et al., 2007); enquanto a presença de IL-10 na periodontite tem como função reduzir o processo inflamatório estimulado pelo TNF- α e IFN- γ (LAPPIN et al., 2001). Apenas um estudo recente demonstrou que os níveis de IL-10 na saliva de pacientes com doenças peri-implantares apresentaram correlação positiva com a profundidade de sondagem e sangramento (LISKMANN et al., 2006). Porém, os papéis

de IL-4 e IL-10 no processo imunológico peri-implantar ainda necessitam ser elucidados.

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 por meio da regulação da expressão dos mediadores inflamatórios ou por tratamentos com moléculas biológicas antagonistas. Certamente, este estudo que avaliou quatro citocinas importantes no processo inflamatório antes e depois das terapias mecânicas anti-infecciosas forneceu informações consistentes no processo patológico das doenças peri-implantares, principalmente no que diz respeito ao TNF- α .

6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que: 1- A quantidade total de TNF- α no FCPI foi mais elevada para os implantes com mucosite e peri-implantite em relação aos implantes saudáveis antes do tratamento; 2- A terapia anti-infecciosa promoveu efeitos clínicos positivos e redução nos níveis de TNF- α no FCPI; 3- Após os tratamentos, os implantes com mucosite demonstraram um perfil clínico e imunológico semelhante aos implantes saudáveis, enquanto que os implantes com peri-implantite foram similares à saúde em relação à SUP e PS e ao perfil imunológico. Juntos, os dados do presente estudo sugerem que as terapias propostas foram eficientes para o tratamento das peri-implantites em 3 meses.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

Roos-Jansaker AM, Renvert S, Egelberg J. Treatment of peri-implant infections: a literature review. *J Clin Periodontol.* 2003; 30:467-85.

Mombelli A. Microbiology of the Dental Implant. *Adv Dent Res.* 1993; 7: 202-206.

Meffert RM. Periodontitis vs. Peri-implantitis: The same disease? The same treatment? *Crit Rev Oral Biol Med.* 1996; 7:278-291.

Tonetti MS. Risk factors for osseodisintegration. *Periodontology 2000.* 1998; 17; 55-62.

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 Impl. Res.* 2004; 553-559.

Bain CA, Moy PK. The association between the failure of dental implants and cigarette smoking. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1993; 8:609-15.

Jovanovic SA. The management of peri-implantitis breakdown around functioning osseointegrated dental implants. *J Periodontol.* 1993; 64:1176-83.

Liskmann S, Vihalemm T, Salum O, Zilmer K, Fisher 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 Impl.* 2006; 4: 543-549.

Albrektsson T, Zarb GA. Current interpretations of the osseointegrated response: clinical significance. *Int J Prosthodont.* 1993; 6:95-105.

Hayek R, Araujo N, Gioso MA, Ferreira J, Baptista-Sobrinho C, Yamada Jr. A, Ribeiro M. Comparative study between the effects of photodynamic therapy and conventional therapy on microbial reduction in ligature-induced peri-implantitis in dogs. *J Periodontol.* 2005; 1275-1281.

Albrektsson T & Isidor F. Consensus report of session IV. In Proceedings of the first European Workshop on Periodontology, eds. Lang, NP & Karring, T, 1994, pp. 365-369. London: Quintessence.

Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *J Clin Periodontol.* 2002; 29(Suppl. 3):197-212.

Pjetursson B, Tan K, Lang N, Bragger U, Egger M, Zwahlen M. A systematic review of the survival and complications rates of fixed partial dentures (FPDs) after an observation period of at least 5 years. *Clin Oral Implant Res.* 2004; 15:625-42.

Ferreira SD, Silva GLM, Cortelli JR, Costa JE, Costa FO. Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *J Clinical Periodontol.* 2006; 33:929-35.

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

Oh TJ, Yoon J, Misch CE, Wang HL. The causes of early implant bone loss: myth or science?. *J Periodontol.* 2002; 73:322-333.

Schou S, Holmstrup P, Reibel J, Juhl M, Hjorting-Hansen E, Kornman K. Ligature –induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teeth: stereologic and histologic observations in cynomolgus monkeys (*Macaca Fascicularis*). *J Periodontol.* 1993; 64:529-37.

Mombelli A, Van Oosten MA, Schurch E Jr, Lang NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol and Immunol.* 1987; 2:145-51.

Leonhardt A, Dahlen G, Renvert S. Five-year clinical, microbiological and radiological outcome following treatment of peri-implantitis in man. *J Periodontol.* 2003; 74:1415-22.

Quirynen M, Vogels R, Peeters W, van Steenberghe D, Naert I, Haffajee A. Dynamics of initial subgingival colonization of “pristine” peri-implant pockets. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17:25-37.

Rams TE, Link CC. Microbiology and failing dental implants in humans: electron microscopy observations. *J Oral Implantol.* 1983; 11:93-100.

Hultin M, Gustafsson A, Hallstrom H, Johansson L-A, Ekfeldt A, Klinge B. Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2002; 13: 349-358.

Botero J, González A, Mercado R, Olave G, Contreras A. Subgingival microbiota in peri-implant mucosa lesions and adjacent teeth in partially edentulous patients. *J Periodontol.* 2005; 76:1490-5.

Becker W, Becker B, Newman M, Nyman S. Clinical and microbiological findings that may contribute to dental implant failure. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1990; 5:31-38.

Quirynen M, Listgarten MA. The distribution of bacterial morphotypes around teeth and titanium implants ad mudoum Branemark. *Clin Oral Implants Res.* 1990; 1:8-12.

Rosenberg ES, Torosian JP, Slots J. Microbial differences in two clinically distinct types of failures of osseointegrated implants. *Clin Oral Implants Res.* 1991; 2:135-44.

Quirynen M, Papaioannou W, van Steenberghe D. Intraoral transmission and the colonization of oral hard surfaces. *J Periodontol.* 1996; 67:986-93.

Leonhardt A, Renvert S, Dahlen G. Microbial findings at failing implants. *Clin Oral Impl Res.* 1999; 10:339-45.

Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here. *Acta Odontol Scand.* 2001; 59: 167-173.

Jankovic D, Sher A, Yap G. Th1/Th2 effector choice in parasitic infection: decision making by committee. *Curr Opin Immunol.* 2001; 13:403-9.

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

Gualini F, Berglundh T. Immunohistochemical characteristics of inflammatory lesions at implants. *J Clin Periodontol.* 2003; 30:14-8.

Seymour GJ, Gemmel E, Lenz LJ, Henry P, Bower R, Yamazaki K. Immunohistological analysis of inflammatory infiltrates associated with osseointegrated implants. *Int Oral Maxillofac Implants.* 1989; 4:191-197.

Tonetti MS, Imboden M, Gerber L, Lang NP. Compartmentalization of inflammatory cell phenotypes in normal gingiva and peri-implant keratinized mucosa. *J Clin Periodontol*. 1995; 22: 735-742.

Gemmel E, Seymour GJ. Immunoregulatory control of Th1-Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2004; 35:21-41.

Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996; 15:2095-147.

Dower SK, Sims JE, Cerretti DP, Bird TA. The interleukin-1 system: receptors, ligands and signals. *Chem Immunol*. 1992; 51:33-64.

Dewhirst FE, Stashenko PP, Mole JE, Tsurumachi T. Purification and partial sequence of human osteoclast-activating factor: identity with interleukin 1 beta. *J Immunol*. 1985; 135:2562-8.

Stashenko P, Dewhirst FE, Rooney ML, Desjardins LA, Heeley JD. Interleukin-1 beta is a potent inhibitor of bone formation in vitro. *J Bone Miner Res*. 1987; 2:559-65.

West-Mays JA, Strissel KJ, Sadow PM & Fini ME. Competence for collagenase gene expression by tissue fibroblasts requires activation of an interleukin 1 α autocrine loop. *Proceeding of the National Academy of Sciences of USA*. 1995;6768-6772.

Scholz D, Devaux B, Hirche A, Potzsch B Kropp B, Schaper W & Schaper J. Expression of adhesion molecules is specific and time-dependent in cytokine-stimulated endothelial cells in culture. *Cell Tissue Res*. 1996; 415-423.

Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Levels of Interleukin- 1 β , -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; 10:1536-1546.

Holmlund A, Hanstrom L, Lerner UH. Bones resorting activity and cytokine levels in gingival crevicular fluid before and after treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2004; 31:475-482.

Ataoglu H, Alptekin NO, Haliloglu S, Gursel M, Ataoglu T, Serpek B, Durmus E. Interleukin-1 β , tumor necrosis factor- α levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid. *Clin Oral Implants Res*. 2002; 470-476.

Trinchieri G. Biological properties and therapeutic applications of interleukin-12. *Eur Cytokine Netw.* 1997; 8:305-7.

Gately MK, Renzetti LM, Magram J, Stern AS, Adorini L, Gubler U, Presky DH. The interleukin-12/interleukin-12-receptor system: role in normal and pathologic immune responses. *Annu Rev Immunol.* 1998; 16:495-521.

Park AY, Scott P. IL-12: keeping cell-mediated immunity alive. *Scand J Immunol.* 2001; 53:529-32.

Kwon B, Youn BS, Kwon BS. Functions of newly identified members of the tumor necrosis factor receptor/ligand super families in lymphocytes. *Curr Opin Immunol.* 1999; 11:340-5.

Vilcek J, Lee TH. Tumor necrosis factor. New insights into the molecular mechanisms of its multiple actions. *J Biol Chem.* 1991; 266:7313-6.

Jacobsen FW, Rothe M, Rusten L, Goeddel DV, Smeland EB, Veiby OP, Slordal L, Jacobsen SE. Role of the 75-kDa tumor necrosis factor receptor: inhibition of early hematopoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91:10695-9.

Graves DT, Delima AJ, Assuma R, Amar S, Oates T, Cochran D. Interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonists inhibit the progression of inflammatory cell infiltration toward alveolar bone in experimental periodontitis. *J Periodontol.* 1998; 69:1419-1425.

Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003; 74:391-401.

Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinase in human periodontal diseases. *J Periodontol.* 1993; 64:474-484.

Boyce BF, Li P, Yao Z, Zhang Q, Badell IR, Schwarz EM, O'Keefe RJ, Xing L. TNF-alpha and pathologic bone desorption. *Keio J Med.* 2005; 54:127-31.

Te Velde AA, Huijbens RJ, Heije K, de Vries JE, Figdor CG. Interleukin-4 (IL-4) inhibits secretion of IL-1 beta, tumor necrosis factor alpha, and IL-6 by human monocytes. *Blood.* 1990; 76:1392-7.

Shapira L, Van Dyke TE, Hart TC. A localized absence of interleukin-4 triggers periodontal disease activity: a novel hypothesis. *Med Hypothesis.* 1992; 39:319-322.

Reinhardt RA, Masada MP, Johnson GK, DuBois LM, Seymour GJ, Allison AC. IL-1 in gingival crevicular fluid following closed root planning and papillary flap debridement. *J Clin Periodontol.* 1993; 20:514-9.

Stein GM, Meink H, Durst J, Berg PA. Release of cytokines by a fermented lectin-1 (ML-1) free mistletoe extract reflects differences in the reactivity of PBMC in healthy and allergic individuals and tumor patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 1996; 51:247-52.

Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P, Mosmann TR, Howard M, Moore KW, O'Garra A. IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J Immunol.* 1991; 146:3444-51.

Niuro H, Otsuka T, Kuga S, Nemoto Y, Abe M, Hara N, Nakano T, Ogo T, Niho Y. IL-10 inhibits prostaglandin E2 production by lipopolysaccharide-stimulated monocytes. *Int Immunol.* 1994; 6:661-4

Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol.* 2001; 19:683-765.

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; 180:496-9.

Yamazaki K, Nakajima T, Kubota Y, Gemmell E, Seymour GJ, Hara K. Cytokine messenger RNA expression in chronic inflammatory periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol.* 1997; 12:281-287.

Johnson RB, Serio F.G. Interleukin 18 concentrations and the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol.* 2005; 5:785-790.

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; 82:428-32.

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; 6:794-801.

Curtis DA, Kao R, Plesh O, Finzen F, Franz L. Crevicular fluid analysis around two failing dental implants: a clinical report. *J Prosth.* 1997;6:210-4.

Kivelä-Rajamäki MJ, Teronen OP, Maisi P, Husa V, Tervahartiala TI, Pirilä 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(a);14:158-65.

Kivelä-Rajamäki 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(b); 38:583-90.

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; 17:658-65.

Kontinen YT, Lappalainen R, Laine P, Kitti U, Santavirta S, Teronen O. Immunohistochemical evaluation of inflammatory mediators in failing implants. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006; 26:135-41.

Mombelli A. Microbiology and antimicrobial therapy of peri-implantitis. *Periodontol 2000.* 2002; 28:177-189.

Lang NP, Mombelli A, Tonetti MS, Bragger U & Hammerle CH. Clinical trials on therapies for peri-implant infections. *Annals of Periodontology.* 1997; 2:343:356

Rutar A, Lang NP, Buser D, Burgin W & Mombelli A. Retrospective assessment of clinical and microbiological factors affecting peri-implant tissue conditions. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12:189-195.

Mombelli A, Lang NP. Antimicrobial treatment of peri-implant infections. *Clin Oral Implants Res.* 1992; 3:162-8.

Mombelli A, Feloutzis A, Bragger U, Lang NP. Treatment of peri-implantitis by local delivery of tetracycline. Clinical, microbiological and radiological results. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12:287-94.

Porras R, Anderson GB, Caffesse R, Narendran S, Trejo PM. Clinical response to two different therapeutic regimens to treat peri-implant mucositis. *J Periodontol.* 2002; 37:1118-25.

Romeo E, Ghisolfi M, Murgolo N, Chiapasco M, Lops D, Vogel G. Therapy of peri-implantitis with resective surgery. A 3-year clinical trial on rough screw-shaped oral implants. Part I: clinical outcome. *Clin Oral Implants Res.* 2005; 16:9-18

Romeo E, Lops D, Chiapasco M, Ghisolfi M, Vogel G. Therapy of peri-implantitis with resective surgery. A 3-year clinical trial on rough screw-shaped oral implants. Part II: radiographic outcome. *Clin Oral Implants Res.* 2007; 18:179-87.

Karring ES, Stavropoulos A, Ellegaard B, Karring T. Treatment of peri-implantitis by the Vector® system. *Clin Oral Implants Res.* 2005; 16:288-93.

Vitussi T. Utilização do metronidazol associado à amoxicilina no tratamento das peri-implantites. Guarulhos, SP: Universidade Guarulhos; 2006.

Renvert S, Lessem J, Dahlén G, Lindahl C, Svensson M. Topical minocycline microspheres versus topical chlorhexidine gel as an adjunct to mechanical debridement of incipient peri-implant infections: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2006; 33:362-9.

Salvi GE, Persson GR, Heitz-Mayfield LJA, Frei M, Lang NP. Adjunctive local antibiotic therapy in the treatment of peri-implantitis II: clinical and radiographic outcomes. *Clin Oral Implants Res.* 2007; 18:281-5.

Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975; 25:229-35.

Araujo MW, Hovey KM, Benedek JR, Grossi SG, Dorn J, Wactawski-Wende J, Genco RJ, Trevisan M. Reproducibility of probing depth measurement using a constant-force electronic probe: analysis of inter- and intraexaminer variability. *J Periodontol.* 2003;74:1736-40.

Mombelli A, Lang NP. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontol 2000.* 1998; 17:63-76.

Andrade ED. Indicação do uso de antibióticos. In: Andrade ED. *Terapêutica medicamentosa em Odontologia: Procedimentos clínicos e uso de medicamentos nas principais situações da prática odontológica.* 1ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 1998. p. 162.

Klinge B, Gustafsson A, Berglundh T. A systematic review of the effect of anti-infective therapy in the treatment of peri-implantitis. *J Clin Periodontol.* 2002; 3(Suppl):213-25.

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;34:370-6.

Lamster IB, Oshrain RL, Gordon JM. Enzyme activity in human gingival crevicular fluid: considerations in data reporting based on analysis of individual crevicular sites. *J Clin Periodontol.* 1986;13:799-804.

Nakashima K, Demeurisse C, Cimasoni G. The recovery efficiency of various materials for sampling enzymes and polymorphonuclear leukocytes from gingival crevices. *J Clin Periodontol.* 1994; 21:479-83.

Parham PL Jr, Cobb CM, French AA, Love JW, Drisko CL, Killoy WJ. Effects of an air-powder abrasive system on plasma-sprayed titanium implant surfaces: an in vitro evaluation. *J Oral Implantol.* 1989; 15:78-86.

Jovanovic SA. Peri-implant tissue response to pathological insults. *Adv Dent Res.* 1999; 13:82-6.

Lavigne SE, Krust-Bray KS, Williams KB, Killoy WJ, Theisen F. Effects of subgingival irrigation with chlorhexidine on the periodontal status of patients with HA-coated integral dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1994; 9:156-62.

Jovanovic SA. The management of peri-implantitis breakdown around functioning osseointegrated dental implants. *J Periodontol.* 1993; 64:1176-83.

Persson GR, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJA, Lang NP. Antimicrobial therapy using a local drug delivery system (Arestin) in the treatment of peri-implantitis. I: microbiological outcomes. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17:386-93.

Hernandez-Pando R, Bornstein QL, Aguilar Leon D, Orozco EH, Madrigal VK, Martinez Cordero E. Inflammatory cytokine production by immunological and foreign body multinucleated giant cells. *Immunology.* 2000;100:352-8.

Tsai IS, Tsai CC, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Interleukin-12 and interleukin-16 in periodontal Cytokine. 2005; 31:34-40.

Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2006; 21:256-60.

Sagawa K, Mochizuki M, Sugita S, Nagai K, Sudo T, Itoh K. Suppression by IL-10 and IL-4 of cytokine production induced by two-way autologous mixed lymphocyte reaction. *Cytokine.* 1996; 8:501-6.

Tsai CC, Ku CH, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Changes in gingival crevicular fluid interleukin-4 and interferon-gamma in patients with chronic periodontitis before and after periodontal initial therapy. *Kaohsiung J Med Sci.* 2007; 23:1-7.

Lappin DF, MacLeod CP, Kerr A, Mitchell T, Kinane DF. Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue. *Clin Exp Immunol.* 2001;123:294-300.

ANEXO A



Guarulhos, 07 de novembro de 2005.

Exma. Sra.
Profª. Poliana Mendes Duarte

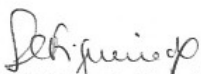
PARECER Nº 09/2005

Referência: **Aprovação de Projeto**
SISNEP/98 - "Perfis microbiológico e de expressão de citocinas pró- e anti-inflamatórias associadas as diferentes severidades da perimplantite. Estudo em humanos"

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Guarulhos analisou o Projeto de Pesquisa de sua autoria "Perfis microbiológico e de expressão de citocinas pró- e anti-inflamatórias associadas as diferentes severidades da perimplantite. Estudo em humanos" - SISNEP/98, na reunião de 07.11.2005, e no uso das competências definidas na Res. CNS 196/96, considerou o Projeto acima **aprovado**.

As orientações abaixo devem ser consideradas pelo Pesquisador Responsável durante a realização da pesquisa, visando que a mesma se desenvolva respeitando os padrões éticos:

- 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 e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado.
- 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, 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 que requeiram ação imediata.
- Eventuais modificações ou emendas e eventos adversos ao protocolo, devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.
- Esclarecemos a necessidade da apresentação de relatório de andamento até **31.10.2006** e relatório final até **31.10.2007**.


Luciene Cristina de Figueiredo
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa