UnG
CEPPE
Centro de Pós-Graduação e Pesquisa

MESTRADO EM ODONTOLOGIA

LUCIANA APARECIDA DE GOUVEIA CARDOSO

REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA ASSOCIADA AO USO DE ER,CR: YSGG E ANTIBIOTICOTERAPIA NO TRATAMENTO DA PERI-IMPLANTITE: AVALIAÇÃO CLÍNICA, RADIOGRÁFICA E IMUNOLÓGICA

Guarulhos
2011

LUCIANA APARECIDA DE GOUVEIA CARDOSO

REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA ASSOCIADA AO USO DE ER,CR: YSGG E ANTIBIOTICOTERAPIA NO TRATAMENTO DA PERI-IMPLANTITE: AVALIAÇÃO CLÍNICA, RADIOGRÁFICA E IMUNOLÓGICA

Dissertação apresentada à Universidade Guarulhos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia

Área de concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Dr. Jamil Awad Shibli

Co-orientadora: Profa. Dra. Marta Ferreira Bastos

Guarulhos

2011

C268r CARDOSO, Luciana Aparecida de Gouveia
Regeneração óssea guiada associada ao uso de er,cr: ysgg e antibioticoterapia no tratamento da peri-implantite: avaliação clínica, radiográfica e imunológica / Luciana Aparecida de Gouveia Cardoso. Guarulhos, 2012.
f. : il. ; 31 cm

Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Centro de pós-graduação, Pesquisa e Extensão, Universidade Guarulhos, 2012.
Orientador: Prof. Dr: Jamil Awad Shibli
Bibliografia: f.

1. Implantes osseointegrados/peri-implantite; 2. matriz metaloproteinase 8/colagenase 2; 3. interleucina-1 beta; 4. RANKL-OPG; 5. índices clínicos; 6. amoxicilina/metronidazol; 7. laser Er,Cr:YSGG. I. Título. II. Universidade Guarulhos.

CDD 22st 617.69

UnG
CEPPE
Centro de Pós-Graduação e Pesquisa

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, intitulada "REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA ASSOCIADA AO USO DE ER,CR: YSGG E ANTIBIOTICOTERAPIA NO TRATAMENTO DA PERI-IMPLANTITE: AVALIAÇÃO CLÍNICA, RADIOGRÁFICA E IMUNOLÓGICA" em sessão pública realizada em 30 de Junho de 2011, considerou a candidata LUCIANA APARECIDA DE GOUVEIA CARDOSO aprovada.

COMISSÃO EXAMINADORA:

1. Prof. Dr. Jamil Awad Shibli (UnG)_____

2. Prof. Dr. Elton Gonçalves Zenóbio (PUC/MINAS)_____

3. Profa. Dra. Poliana Mendes Duarte (UnG) Poliana Mendes Duarte

Guarulhos, 30 de Junho de 2011.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Wagner Nicolau Cardoso e Fátima Aparecida Freitas de Gouveia Cardoso que souberam entender meus objetivos pessoais e profissionais, dando total apoio, e ao meu irmão Eduardo de Gouveia Cardoso, que mesmo sem entender a importância de meus objetivos, sempre me recebe com um grande carinho após um dia exaustivo!

Aos meus avós Rosa Maria Freitas de Gouveia e José Rodrigues Gouveia meus exemplos de valores, vida e família, não há palavras que expressem a importância de suas presenças!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Jamil Awad Shibli por todo conhecimento transmitido, por sua dedicação, pelo exemplo profissional, e por todas as oportunidades.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Marta Ferreira Bastos por todos os dias dedicados ao Elisa comigo no laboratório, pela enorme paciência em ensinar, e pela torcida pelos bons resultados.

Aos Professores Rosemary Adriana C. Marcantonio, Alberto Blay, Elcio Marcantonio Junior e Samy Tunchel pelo empréstimo do laser e todo suporte prestado.

Aos Professores Fábio Borges (APCD- Guarulhos), José Flávio Torezan e Luciano Vallim (ACDC- Campinas) e Roberto B. Ferrari (ADOCI), e suas instituições por nos receberem para o tratamento de seus pacientes.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação da Universidade Guarulhos: André F. Reis, Alessandra C. Ferreira, Cesar Arrais, Cláudia Ota-Tzuki, Jamil Awad Shibli, José A. Rodrigues, Luciene C. Figueiredo, Magda Feres, Marcelo de Faveri, Marta F. Bastos, Poliana Mendes Duarte, Sérgio Sato por toda dedicação durante o curso e por todo conhecimento que nos transmitiram.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Processo 2008/07154-5, pelo auxílio financeiro através da bolsa de mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processos 504392/2010-7 (Bolsa de Iniciação Científica) e 473282/2007-0 (Edital universal).

Aos meus colegas de turma de Mestrado Camila Madruga, Carolina Tedesco, Juliana Ferla, Michele Oliveira e Veronica Santana, em especial ao Antônio

Carlos Garcia Oliveira, Isaac Vasconcelos de Araújo, Lucas Furtado Hypólito Gonçalves e Tatiana Onuma por todos os momentos inesquecíveis que pudemos compartilhar nesses anos.

Às minhas amigas Renata Oliveira Mairink e Tatiana Onuma pela enorme ajuda durante a realização deste projeto, e também pela amizade, paciência, conhecimento transmitido e as (MUITAS) risadas compartilhadas.

Ao meu amigo Daniel Sanchez Ferrari não apenas pela enorme ajuda na realização deste projeto, mas por fazer com que esses momentos fossem repletos de descontração.

À minha grande amiga Camila Amaral Borghi pela amizade sincera de muitos anos e por sempre estar torcendo e compartilhando todos os meus momentos.

À minha amiga Veronica Batista Santana por todo incentivo e amizade.

Às minhas amigas Roberta Leal Guadagnucci, Aline Moraes, Natalie Caversan, Priscila Mira Luciano, Flavia e Natalia Vinci Muniz de Lima pelos momentos de descontração e por serem tão presentes.

As meninas da iniciação científica CNPq-UnG e PIBIC-UnG, Adriana Hirata, Daiana Souza e Fernanda Comaru por toda ajuda prestada.

À Universidade Guarulhos por me acolher todos esses anos e aos seus funcionários, especialmente a Cinthia Lobo por toda colaboração na clínica, Cristina Zoucas por estar sempre disposta a ajudar e a Izilvânia pela ajuda no laboratório.

Aos pacientes da tese, que colaboraram para que este estudo fosse possível.

À todos aqueles que direta ou indiretamente fizeram parte deste estudo.

RESUMO

O objetivo deste estudo cego, randomizado-placebo foi avaliar o tratamento cirúrgico da peri-implantite utilizando terapia regenerativa após detoxificação com laser Er,Cr:YSGG associado ou não a antibióticos sistêmicos (metronidazol associado à amoxicilina). Quarenta e quatro pacientes portadores de peri-implantites (presença de sangramento a sondagem e/ou supuração, profundidade de sondagem $\geq$ 4mm, perda óssea radiográfica $\geq$ 3mm) foram aleatoriamente divididos em 4 grupos (*n*=11 indivíduos por grupo): ***Grupo* Controle-** Raspagem e debridamento peri-implantar (RDP), placebo e Regeneração Óssea Guiada (ROG); ***Grupo Teste 1-*** RDP associado à administração sistêmica de metronidazol (400mg, 3xdia) e amoxicilina (500mg, 3xdia) durante 14 dias, e ROG; ***Grupo Teste 2-*** RDP, aplicação de laser Er,Cr:YSGG, placebo e ROG e ***Grupo Teste 3-*** RDP, aplicação de laser Er,Cr:YSGG associados à administração sistêmica de metronidazol (400mg, 3xdia) e amoxicilina (500mg, 3xdia) durante 14 dias, e ROG. Parâmetros clínicos, radiográficos e imunológicos (concentração de MMP-8, IL-1 beta, RANKL e OPG) foram obtidos nos tempos 0 e 180 dias após o tratamento. O preenchimento ósseo dos defeitos peri-implantares foi avaliado transcirurgicamente antes e 120 dias após terapia. Todos os parâmetros clínicos foram reduzidos após terapia, sem no entanto, haver diferença entre os grupos ($p>0,05$). As médias das reduções da profundidade de sondagem, nível clínico de inserção e ganho ósseo foram significativamente maiores para o grupo teste 3 ($p<0,05$). O preenchimento ósseo foi maior ($p<0,05$) para os grupos que utilizaram antibióticos (teste 1 e teste 3). Conclui-se que todas as terapias reduziram os parâmetros clínicos após 180 dias da terapia, embora as médias de redução de alguns parâmetros clínicos fossem maiores para o grupo Teste 3 e que as terapias empregadas não afetaram as concentrações das citocinas e moléculas avaliadas pelo menos aos 180 dias pós-terapia

Palavras-Chaves: Implantes osseointegrados/peri-implantite; matriz metaloproteinase 8/colagenase 2; interleucina-1 beta; RANKL-OPG; índices clínicos; amoxicilina/metronidazol; laser Er,Cr:YSGG.

ABSTRACT

The aim of this blind randomized placebo study was evaluated the surgical treatment of peri-implantitis (presence of bleeding on probing and/or suppuration, probing depth ≥ 4mm, radiographic bone loss ≥ 3mm) using regenerative therapy after detoxification laser Er, Cr: YSGG associated or not with systemic antibiotics (metronidazole associated with amoxicillin). Forty four patients with peri-implantitis were randomly divided into 4 groups (n = 11 subjects per group): **Group Control-** Scaling and peri-implant debridement (SPD) associated with placebo and Guided Bone Regeneration (GBR); **Test Group 1 -** SPD associated with systemic administration of metronidazole (400mg, 3xday) and amoxicillin (500 mg, 3xday) for 14 days, and GBR; **Test Group 2-** SPD, application of laser Er, Cr: YSGG, placebo and GBR and **Test Group 3 -** SPD, laser application Er, Cr: YSGG associated with systemic administration of metronidazole (400mg, 3xday) and amoxicillin (500 mg, 3xday) for 14 days, and GBR. Clinical, radiographic and immunological parameters (concentration of MMP-8, IL-1 beta, RANKL and OPG) were taken at 0 and 180 days after treatment. The bone-filling defect was measured trans-surgically before and 120 days after therapy. All clinical parameters were reduced after therapy, without difference among the groups ($p>0.05$). The reduction means of probing depth, clinical attachment level, and radiographic gain were significantly higher to the group 3 ($p<0.05$). The bone-filling was higher ($p<0.05$) to the groups that used antibiotics (test 1 and test). It be concluded that all the therapies reduced the clinical parameters after 180 days of therapy, although the reduction means of some clinical parameters were higher to group test 3 and that the therapies did not affect the concentrations of cytokines and molecules evaluated at least at 180 days post-therapy.

Key-Words: Osseointegrated implants / peri-implantitis; / matrix metalloproteinase 8/colagenase 2, interleukin-1 beta; RANKL-OPG, clinical indices, amoxicillin / metronidazole; laser Er, Cr: YSGG.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA..... 9
2. PROPOSIÇÃO..... 16
3. MATERIAIS E MÉTODOS..... 17
3.1. Seleção dos indivíduos..... 17
3.2. Critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos envolvidos no estudo..... 18
3.2.1 Critérios de inclusão..... **18**
3.2.2 Critérios de exclusão..... **18**
3.3. Delineamento experimental..... 19
3.3.1. Seleção do sítio peri-implantar..... **21**
3.3.2. Sequências das consultas de avaliação clínica, radiográfica e imunológica..... **21**
3.3.3. Parâmetros clínicos e radiográficos..... **21**
3.4. Procedimentos terapêuticos e mensurações trans-operatórias..... 23
3.4.1. Detoxificação peri-implantar..... **23**
3.4.2. Mensuração trans-cirúrgica do defeito peri-implantar..... **23**
3.4.3. Parâmetros do laser de Er,Cr: YSGG..... **24**
3.4.4. Terapia regenerativa..... **26**
3.4.5. Antibioticoterapia..... **26**
3.5. Reabertura dos implantes e instalação das provisórias sobre implantes..... 28
3.6. Análise da presença de MMP-8, IL-1 beta, RANKL e OPG..... 28
3.6.1. Coleta das amostras imunológicas..... **28**
3.6.2. Processamento das amostras imunológicas..... **29**
3.7. Análise estatística..... 29
3.7.1. Avaliação clínica..... **29**
3.7.2. Avaliação Imunológica..... **30**
4.RESULTADOS..... 31
4.1.Efeitos das terapias sobre os parâmetros clínicos e radiográficos..... **31**
4.2.Efeitos das terapias sobre o preenchimento ósseo..... **33**
4.3.Efeitos das terapias sobre os marcadores imunológicos..... **33**
5. DISCUSSÃO..... 40
6. CONCLUSÃO..... 47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 48

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A implantodontia tem sido muito empregada para os casos de reabilitação oral, sendo um tratamento de grande procura por pacientes parcialmente ou totalmente edêntulos apresentando grandes índices de sucesso ao longo dos anos (Roos-Jänsaker et al., 2007a; Astrand et al., 2008; Chiapasco et al., 2011).

A implantodontia visa a osseointegração, a qual foi definida por Branemark et al. em 1969 como sendo a aposição de tecido ósseo ao implante sem haver intervenção de tecido fibroso.

A osseointegração tem apresentado altos índices de sucesso (Roos-Jänsaker et al., 2006, Norowski & Bumgarder, 2008), porém alguns problemas podem ocorrer nas restaurações implanto-suportadas. Esses comprometimentos, perdas ou falências são classificados em: precoces, ou seja causadas por fatores locais e sistêmicos do indivíduo (Alsaadi et al., 2008; Esposito et al., 1998; Quirynen et al., 2002; Shibli et al., 2005); perdas tardias relacionadas à infecção bacteriana (Sakka & Coulthard, 2011; Shibli et al., 2008) ou sobrecargas oclusais (Esposito et al., 1998; Sakka & Coulthard, 2011).

Um dos fatores relacionados com o sucesso a longo prazo dos implantes é a manutenção de tecidos saudáveis ao redor das restaurações implanto-suportadas. O acúmulo do biofilme bacteriana pode induzir mudanças inflamatórias nos tecidos moles que envolvem os implantes orais, podendo conduzir a sua destruição progressiva, desenvolvendo assim uma peri-implantite ou até mesmo ao insucesso, ou seja a perda do implante (Esposito et al.,2007).

A doença peri-implantar pode afetar apenas a mucosa peri-implantar sendo então denominada de mucosite peri-implantar, sendo um processo inflamatório reversível ou também envolver o suporte ósseo, sendo então denominada de peri-implantite, sendo um processo inflamatório irreversível (Klinge et al., 2005). O 7th *European Workshop on Periodontology* em 2011, ratificou as definições feitas no 6th *European Workshop on Periodontology* em 2008 sobre as doenças peri-implantares: mucosite peri-implantar, presença de inflamação na mucosa implantar sem sinais de perda de suporte ósseo; e peri-implantite propriamente dita, no qual junto a inflamação ocorre perda de suporte ósseo.

Embora a prevalência da doença peri-implantar seja relativamente baixa, variando entre 16-25% (Koldsland et al., 2010, Roos-Jänsaker et al., 2006), o grande número de pacientes que vem recebendo restaurações implanto-surpotadas tem aumentado, sendo assim as infecções relacionadas aos implantes podem aumentar (Renvert et al., 2011) tornando-se um grande desafio clínico.

O diagnóstico da doença peri-implantar é dado através das mesmas técnicas utilizadas para o diagnóstico da doença periodontal (Lang & Tonetti, 2003; Shibli et al. 2003b), sendo dado através dos parâmetros clínicos periodontais tais como profundidade de sondagem, nível clínico de inserção associado a inflamação dos tecidos ao redor, sangramento à sondagem e supuração, além de exames radiográficos que detectam a perda óssea peri-implantar (Lang et. al., 2000; Heitz-Mayfield & Lang, 2010).

A peri-implantite, assim como a doença periodontal é uma infecção bacteriana, e portanto, deve ser tratada como tal. A peri-implantite assim como a periodontite é caracterizada como sendo uma doença complexa, causada por patógenos que produzem endotoxinas as quais induzem a produção de

citocinas, como interleucina-1 beta (IL-1β), prostaglandinas (PG), principalmente as prostaglandinas E2 (PGE2), matriz metaloproteinases (MMPs), aumentando o infiltrado inflamatório e a liberação de enzimas proteolíticas responsáveis pela destruição dos tecidos peri-implantares (Mombelli & Lang, 1998; Mombelli, 1999; Klinge et al., 2002; Kivela-Rajamaki et al., 2003).

Esta destruição tecidual é decorrente da resposta inflamatória frente a liberação e produção de enzimas proteolíticas, toxinas, lipopolisacarídeos (LPS) e pela estimulação da resposta imune que libera citocinas dos linfócitos e macrófagos que ativam uma ou mais vias de degradação. Durante a iniciação da resposta inflamatória no tecido conjuntivo peri-implantar, citocinas como a PGE2, IL-1β, interleucina-6 (IL-6) ou fator de necrose tumoral-α (TNF-α) são liberados juntamente com várias enzimas como a matriz metaloproteinase-8 (MMP-8), matriz metaloproteinase-9 (MMP-9) e matriz metaloproteinase-13 (MMP-13) (Sorsa et al., 1999). Estas MMPs são produzidas por PMNs e osteoclastos, resultando na degradação do tecido conjuntivo e tecido ósseo peri-implantar. O fator de necrose tumoral, principalmente o TNF-α é também um dos reguladores do processo de reabsorção óssea agindo diretamente na estimulação dos precursores osteoclásticos e indiretamente no controle do sistema osteoprotegerina (OPG) e ligante receptor ativador do fator nuclear kappa-β (RANKL), moléculas fundamentais no metabolismo ósseo. A OPG é produzida pelos osteoblastos e juntamente com a RANKL regula a diferenciação e ativação deste processo. A interação OPG/RANKL inibe a proliferação e diferenciação de osteoclastos, prevenindo a reabsorção óssea (Tanaka et al., 2005; Özmen et al. 2007).

A prevalência da peri-implantite apresenta-se relativamente baixa (Roos-Jänsaker et al., 2006; Esposito et al. 1998), porém o tratamento desta patologia desperta muito interesse na classe odontológica.

Os tratamentos utilizados para o re-estabelecimento da saúde e da arquitetura dos tecidos peri-implantares podem ser químicos (Hämmerle et al., 1995; Mombelli et al., 2001), físicos (Hass et al., 2000; Shibli et al., 2003a; Shibli et al., 2003c; Shibli, 2003; Shibli et al., 2004; Schwarz et al., 2006a; Shibli et al., 2006), não-cirúrgicos (Mombelli et al., 2001; Salvi et al. 2007, Ferrari 2008), cirúrgicos associados à regeneração óssea guiada e/ou biomateriais (Khoury & Buchmann, 2001; Hammerle et al. 1995) ou uma combinação destas terapias (Behneke et al., 2000; Hass et al., 2000; Khoury & Buchmann, 2001; Shibli et al., 2003a; Shibli, 2003d; Romeo et al., 2004; Shibli et al., 2006; Roos-jänsaker et al. 2007 a,b). Estas estratégias terapêuticas tem em comum duas finalidades distintas: a descontaminação da superfície do implante e da região peri-implantar, e a restauração da arquitetura peri-implantar (Klinge et al., 2002; Roos-Jänsaker et al., 2003; Shibli et al., 2004; Shibli et al., 2005; Shibli et al., 2006).

Os estudos realizados em modelos animais (Ericsson et al., 1996; Persson et al., 1996; Hurzeler et al., 1997; Persson et al., 1999; Persson et al., 2001a; Persson et al.,2001b; Schou et al., 2003a; Schou et al., 2003b; Schou et al., 2003c; Schou et al., 2003d; Shibli et al., 2003a; Shibli et al., 2006; Takasaki et al., 2007) e alguns ensaios clínicos em seres humanos (Hämmerle et al., 1995; Behneke et al., 2000; Hass et al., 2000; Khoury & Buchmann, 2001; Mombelli et al., 2001; Romeo et al., 2004; Schwarz et al., 2006 a,b,c,d,e; Schwartz et al. 2008; Duarte et al., 2009; de Mendonça et al., 2009; Roos-Jänsaker et al. 2011; Renvert et al. 2011) sugerem que o principal fator para o aumento do percentual de preenchimento ósseo é a descontaminação

de toda a área peri-implantar associada à supressão de patógenos (Hämmerle et al., 1995; Behneke et al., 2000; Hass et al., 2000; Klinge et al., 2002; Shibli et al. 2003 b; Roos-Jänsaker et al., 2003; Schwartz et al. 2008).

A associação do metronidazol e amoxicilina sistêmicos tem-se mostrado efetiva no tratamento das doenças periodontais diminuindo a contagem de patógenos periodontais como *Porphyromonas gingivalis, Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Tanerella forsythia* (Pavicic *et al.*, 1992; Pavicic *et al.*, 1994; Berglundh *et al.*, 1998; Feres *et al.*, 2001; Serino *et al.*, 2001; Winkel *et al.*, 2001; Rooney *et al.*, 2002; Mestnik et al. 2010). Pela sua difusão no sistema circulatório, os antibióticos atingem os periodontopatógenos residentes em bolsas periodontais profundas, células epiteliais do sulco, além da mucosa jugal, dorso e assoalho de língua. Esta diminuição na contagem microbiana reduz a liberação de mediadores do hospedeiro que iniciam e estimulam a atividade osteoclástica resultando em perda óssea (Nguyen *et al.*, 1991; Plagnat *et al.*, 2002; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003).

Com o advento dos lasers surgiu uma nova modalidade terapêutica, utilizada não só na medicina como também na odontologia, sendo utilizado na implantodontia. Vários tratamentos utilizando lasers de baixa e de alta intensidades tem mostrado resultados promissores no tratamento das peri-implantites (Haas et al. 2000, Shibli et al. 2003a, b, Shibli et al. 2004, Shibli et al. 2006, Schwarz et al. 2006a, b, c; Deppe et al. 2007, Takasaki et al. 2007; Miller 2004; Azzeh 2008). Os lasers de alta intensidade como o CO_2, Er:YAG, Nd:YAG e Er,Cr:YSGG, também chamados de cirúrgicos, têm se mostrado muito úteis na remoção do tecido de granulação presentes a redor de todo o defeito peri-implantar. A grande absorção pela água e hidroxiapatita faz com que os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG atuem superficialmente nos tecidos

biológicos, promovendo uma ablação explosiva mais precisa nos tecidos duros (esmalte, dentina e osso), gerando menos calor. Em tecidos mole promove a vaporização com reduzida hemostasia, devido ao menor efeito térmico residual. Estes lasers ainda são capazes de remover o biofilme bacteriano e cálculos ao redor de conectores protéticos e implantes, facilitando os procedimentos de regeneração tecidual guiada (Parker, 2007; Takasaki et al., 2007; Deppe & Horch, 2007). Uma vez que estudos utilizando terapia não cirúrgica associada ao uso de laser de Er:YAG apesar de terem apresentado melhoras nos parâmetros clínicos, não apresentaram em nenhum dos grupos uma regeneração óssea (Schwarz et al., 2006c, e).

Renvert et al., 2011 avaliaram 42 pacientes portadores de peri-implantite, dividos em 2 grupos, sendo tratados com terapia não cirúrgica utilizado laser de Er:YAG ou jato de ar abrasivo (Perioflow®) e concluíram que ambas as terapias após 6 meses reduziram os parâmetros clínicos de profundidade de sondagem, supuração e sangramento.

Em uma revisão sistemática sobre a terapia peri-implantar, Kotsovilis et al., 2008 concluíram que a o uso do laser de Er: YAG resultou em melhora dos parâmetros clínicos, pelo menos dentro de 6 meses, e que o uso de uma terapia regenerativa utilizando um substituto ósseo pode ser eficaz para o tratamento das lesões peri-implantares.

Azzeh, em 2008 em um relato de caso clínico, avaliou um paciente do gênero masculino, 28 anos, não fumante, portador de peri-implantite, no qual foi realizado terapia regenerativa cirúrgica utilizando enxerto ósseo e membrana reabsorvível associados a laser de Er,Cr:YSGG. O paciente apresentava antes do tratamento uma recessão gengival ao redor do implante em região de inciso central esquerdo, após os exames clínicos e radiográficos foi observado que havia uma recessão de 2mm e uma profundidade de

sondagem de 7 mm, sangramento a sondagem e supuração, alem de mobilidade grau I. O tratamento foi realizado utilizando o laser de Er;Cr:YSGG em vários parâmetros para abrir o retalho, remover os tecidos de granulação, perfurar o osso e limpar a superfície do implante. O paciente foi avaliado aos 3,6,12 e 18 meses pós tratamento, e após 18 meses observou uma profundidade de sondagem de 2mm, redução de 1mm de recessão, ausência de sangramento, supuração e mobilidade e boa formação óssea.

Entretanto, devido a ausência de estudos prospectivos, randomizados e controlados, ainda não está claro qual a melhor terapia para o tratamento das lesões peri-implantares.

2. PROPOSIÇÃO

Este estudo longitudinal, cego, randomizado e controlado teve como objetivo avaliar os efeitos sobre os parâmetros clínicos, radiográficos e imunológicos do laser de Er,Cr:YSGG associado ou não a administração sistêmica do metronidazol e amoxicilina no tratamento cirúrgico através de regeneração óssea guiada da peri-implantite.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Seleção dos indivíduos

Para a avaliação do estado geral de suas respectivas restaurações protéticas, 1234 indivíduos portadores de algum tipo de prótese implanto-suportada foram examinados clínica e radiograficamente. Após a exclusão daqueles que não utilizavam as próteses implanto-suportadas regularmente (ex. overdentures), possuíam implantes sem restaurações ou que apresentavam restaurações inadequadas, 1011 indivíduos foram incluídos, sendo que 44 sujeitos preenchiam os quesitos de inclusão deste estudo. A população incluída neste estudo foi composta por 44 indivíduos adultos (>35 anos), de ambos os gêneros, portadores de peri-implantite. Esta amostra foi proveniente de um levantamento clínico que examinou indivíduos que apresentavam restaurações implanto-suportadas há no mínimo 1 ano provenientes da Clínica de Especialização em Implantodontia da Universidade Guarulhos (UnG), Curso de Especialização da ADOCI – Desenvolvimento da Odontologia Clínica em Guarulhos, Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas (APCD) - Regional Guarulhos e da Associação dos Cirurgiões Dentistas de Campinas (ACDC), Campinas, SP.

Os indivíduos incluídos na amostra populacional foram informados dos procedimentos clínicos e cirúrgicos além das coletas das amostras imunológica aos quais foram submetidos, e assinaram o termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Guarulhos (nº 113/2008)

3.2. Critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos envolvidos no estudo

3.2.1. Critérios de Inclusão

Os critérios de inclusão deste estudo foram (Shibli et al., 2008): apresentar os seguintes sinais clínicos de doença peri-implantar sangramento à sondagem e/ou supuração, perda óssea radiográfica $\geq$ 3mm e profundidade de sondagem $\geq$4mm, apresentar pelo menos uma prótese implanto-suportada sob função há no mínimo 1 ano, acometida pela peri-implantite (caso o paciente apresentasse mais que um implante acometido pela peri-implantite, todos os implantes foram tratados com o mesmo protocolo, ou seja a unidade de avaliação foi o paciente); apresentar boas condições de saúde geral; não ter utilizado antibióticos e/ou anti-inflamatórios nos 4 meses que antecederam o estudo; não estar utilizando contraceptivos hormonais; ausência de histórico de doenças crônicas como doenças cardiovasculares, hepatite B e C, febre reumática, asma, diabetes, desordens imunes ou sanguíneas; não estar grávida ou amamentando, e não apresentar histórico de alergias ou hipersensibilidade à amoxicilina ou ao metronidazol. Os implantes acometidos pela peri-implantite apresentavam no mínimo 50% de remanescente ósseo peri-implantar, caso contrário, este implante foi considerado perdido e não foi incluído no estudo.

3.2.2. Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram (Shibli et al., 2008): pacientes com periodontite crônica ou agressiva, defeitos peri-implantares horizontais ou que acometam mais que 50% do comprimento do implante e implantes revestidos com hidroxiapatita (HA). A exclusão de implantes revestidos de HA se deve a

dissolução desta camada reduzindo o prognóstico do tratamento (Shibli et al. 2003a, Shibli et al.2003b). Pacientes com próteses implanto-suportadas apresentando trincas e/ou fraturas foram substituídas após terapia regenerativa para impedir ou minimizar os efeitos do trauma de oclusão.

3.3. Delineamento experimental

No tempo inicial (-30 dias) todos os indivíduos (*n*=44) foram submetidos à anamnese, exame clínico de diagnóstico, e exame radiográfico, além da escolha do sítio peri-implantar. Foram obtidos os dados de todos os dentes presentes (periograma completo) assim como radiografias periapicais. Logo após, receberam profilaxia profissional para remoção do biofilme supragengival e adequação do meio assim como instrução de higiene oral nos dentes e implantes.

Os indivíduos foram aleatoriamente distribuídos (segundo tabela de distribuição), em 4 grupos terapêuticos (*n*= 11 pacientes por grupo), de maneira randomizada (incluindo edentulismo total, hábito de fumar e implantes de superfície tratada), e submetidos a uma das seguintes formas de tratamento anti-infeccioso:

Grupo Controle **-** Raspagem e debridamento peri-implantar (RDP) associado à administração sistêmica de placebo durante 14 dias, e Regeneração Óssea Guiada (ROG);

Grupo Teste 1 **–** RPD associado à administração sistêmica de metronidazol (400mg, 3xdia) e amoxicilina (500mg, 3xdia) durante 14 dias, e ROG;

Grupo Teste 2 **–** RPD, aplicação de laser Er,Cr:YSGG associados à administração sistêmica de placebo durante 14 dias, e ROG;

Grupo Teste 3 - RPD, aplicação de laser Er,Cr:YSGG associados à administração sistêmica de metronidazol (400mg, 3xdia) e amoxicilina (500mg, 3xdia) durante 14 dias, e ROG.

Para o cálculo dessa amostragem foi realizado cálculo da potência para os parâmetros clínicos de profundidade de sondagem (mm) e ganho ósseo vertical (mm), baseado nos resultados de estudo prévio (projeto piloto) realizado no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de Periodontia da UnG. Doze pacientes (29 implantes) receberam tratamento cirúrgico da peri-implantite. Em suma, os implantes foram detoxificados com ácido cítrico pH=1, solução salina e posterior regeneração com osso anorgânico bovino e membrana de colágeno associados a metronidazol (1200mg/dia x 14 dias) e amoxicilina (1500mg/dia x 14 dias). Os implantes foram avaliados no tempo 0, na reabertura (6 meses) e 1 ano após terapia. Os resultados preliminares (8 pacientes/17 implantes) mostraram, em média, uma redução da profundidade de sondagem de 2,54mm e um ganho ósseo radiográfico de 0,8mm. Neste ínterim, utilizando o software (*Power/Sample size Calculator*– http://stat.ubc.ca/~rollin/starts/ssize/n2.html) encontramos uma potência superior a 80% para uma amostragem de 10 pacientes. Cumpre salientar que o tamanho das amostras citadas na literatura varia de 7 (Khoury & Buchmann, 2001) a 19 pacientes (Roos-Jänsaker et al., 2008) por grupo terapêutico. Embora o estudo tenha utilizado uma metodologia para limpeza e detoxificação peri-implantar diferente da proposta utilizando laser de alta intensidade, os resultados obtidos foram suficientes para traçar um plano de desenvolvimento para o presente estudo.

Os indivíduos foram avaliados para os parâmetros clínicos e radiográficos no início do estudo (dias -30 e 0) e 180 dias após o tratamento.

O parâmetro de preenchimento clínico do defeito foi realizado no transcirúrgico imeditato (tempo 0) e 120 dias apos terapia, durante a rebertura e instalação dos cicatrizadores.

Os indivíduos foram tratados por dois operadores (pesquisador 1- JAS e pesquisador 2- DSF) e examinados por único examinador (pesquisador 3- LAGC). O examinador e os sujeitos da pesquisa não foram informados sobre a terapia empregada (medicamento ou placebo), ministrada por outro pesquisador (pesquisador 4- TO).

3.3.1 - *Seleção do sítio peri-implantar*

Os indivíduos compareceram à primeira consulta de avaliação (dia -30) quando foram realizados os exames clínico e radiográfico e logo após foram selecionados os sítios peri-implantares de maior profundidade de onde foram coletadas as amostras para as análises imunológicas. Quando dois ou mais sítios apresentarem a mesma profundidade de sondagem, foi escolhido o sítio mais anterior.

3.3.2 – *Sequências das consultas de avaliação clínica, radiográfica e imunológica*

Após a seleção do sítio peri-implantar (dia -30) os indivíduos foram avaliados em mais 2 consultas (dias 0 e 180 pós-terapia). Os procedimentos ocorreram para cada consulta de avaliação, sempre na seguinte ordem: 1- Exame radiográfico; 2-Coleta de fluido crevicular peri-implantar (previamente selecionado na consulta -30 dias; ver item ***3.3.1 – Seleção do sitio peri-implantar***); 3- exame clínico peri-implantar.

3.3.3 - Parâmetros Clínicos e Radiográficos

Os parâmetros clínicos avaliados foram: presença (1) ou ausência (0) de placa bacteriana visível, sangramento à sondagem e supuração; profundidade de sondagem (mm) - caracterizada pela distância da margem peri-implantar até o fundo da bolsa, nível clínico de inserção (mm) - caracterizada pela distância de ponto fixo previamente determinado (junção conector/implante) até o fundo da bolsa. O exame peri-implantar foi realizado por um único examinador (pesquisador 3- LAGC) previamente calibrado (Araujo et al., 2003) que não foi informado do tipo de tratamento a que o paciente foi submetido. As medidas de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção foram determinadas utilizando uma sonda periodontal manual do tipo Carolina do Norte (PCPUNC 15 Hu-friedy Mfg Co Inc. Chigago IL). As mensurações foram realizadas em 6 faces do implante: mésio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, médio-lingual e disto-lingual nas seguintes consultas: -30, 0 e 180 dias.

A metodologia empregada para a calibração foi preconizada por Araújo et al. (2003) no qual se avaliou o erro padrão da medida (e.p.m) e o erro médio percentual (e.m.p) para os parâmetros clínicos contínuos (profundidade de sondagem, nível clínico de inserção e perda óssea vertical). O e.p.m e e.m.p intra-examinador foram respectivamente de 0,20mm e 5,6% para a profundidade de sondagem; 0,33mm e 8,55% para nível clínico de inserção, e 0,18mm e 2,89% para perda óssea vertical. As variáveis categóricas (índice de placa, sangramento à sondagem e supuração) considerando somente a presença ou ausência do parâmetro clínico foram obtidas a média do nível de concordância utilizando o teste Kappa no valor de 93%.

Os exames radiográficos foram realizados por meio de filmes do tipo Ektaspeed (Kodak, Eastman Co,USA) utilizando-se a técnica do paralelismo

nas seguintes consultas: 0 e 180 dias. As radiografias obtidas foram processadas pelo método tempo-temperatura e logo após digitalizadas por meio de câmera digital (Canon EOS 300D, Tokyo, Japan). Em seguida, foram realizadas as mensurações da distância entre a plataforma do implante e a crista óssea alveolar peri-implantar, utilizando-se o software *ImageJ 1.44o* (National Institutes of Heath, Bethesda, MA, USA). Estas mensurações foram realizadas por um único examinador (pesquisador 3 - LAGC) previamente treinado.

3.4 - Procedimentos Terapêuticos e Mensurações Transoperatórias

3.4.1. Detoxificação peri-implantar

Realizado o preparo básico e a alocação do indivíduo em um dos grupos terapêuticos (*controle, teste 1, teste 2* e *teste 3*), os implantes foram tratados por meio de técnica regenerativa cirúrgica. Após remoção da prótese implanto-suportada e dos conectores, o orifício do implante foi irrigado com clorexidina 0,2% e lavado abundantemente com solução salina estéril. Vedantes estéreis foram inseridos sobre o implante para permitir que fossem submersos após terapia regenerativa. A região peri-implantar foi anestesiada e incisões sulculares e verticais foram realizadas para expor o defeito peri-implantar**.** O procedimento de raspagem e debridamento peri-implantar foi realizado utilizando curetas de metal (Hu-Friedy Mfg, Co Inc. Chigago IL) para remoção de todo o tecido de granulação (Roos-Jänsaker et al., 2008).

3*.4.2. Mensuração transcirúrgica do defeito peri-implantar*

Após debridamento e detoxificação peri-implantar (transcirúrgico – tempo 0) e após reabertura (pós-cirúrgico – tempo 120 dias) um examinador

previamente calibrado e treinado, realizou a mensuração da profunidade do defeitos peri-implantares (mensurada do topo do implante ao fundo do defeito) por meio de sonda periodontal do tipo Carolina do Norte (PCPUNC 15 Hu-friedy Mfg Co Inc. Chigago IL) em quatro pontos (mediomesial, mediovestibular, mediodistal e mediolingual) (Shibli et al., 2006).

3.4.3. Parâmetros do laser de Er,Cr:YSGG

O laser Er,Cr:YSGG (WATERLASE, Biolase Technology Inc. San Clemente, CA, EUA) utiliza sistema hidrocinético com capacidade de promover cirurgia em tanto tecido mole como em tecido ósseo e dental. Especificações técnicas:

Emissor: Er,Cr:YSGG (Erbium, Chromium: Yttrium Scandium, Gallium, Garnet)	***Duração do pulso:*** 140 – 150µs
Classificação: Laser Classe IV	***Frequência****:* 20 Hz
Comprimento de onda: 2,78 µm (2780 nm)	***Sistema de entrega****:* fibra ótica (Safira)
Modo de emissão*:* multimodo	***Diâmetro da fibra:*** 200 µm a 750 µm
Potência de saída: ajustável de 0 a 6.0 W	***Sistema integrado:*** ajustável de água (0 a 100%) e ar (0 a 100%)
Energia por pulso: ajustável de 0 a 300 mJ	***Luz Guia:*** Laser baixa intensidade 655 nm (Classe I)

O laser foi aplicado nos pacientes dos Grupos Teste 2 e 3 seguindo o seguinte protocolo (Azzeh 2008):

Potência: 4.5 W	**Frequência:** 20 Hz
Fluência: 50.9 J/cm^2	**Sistema de entrega:** fibra ótica G
Modo de emissão: pulsado	**Diâmetro da fibra:** 600 µm
Energia por pulso: 300 mJ	**Sistema integrado:** água (80%) e ar (60%)
Duração do pulso: 140 µs	

O laser foi aplicado durante 60 s, com a fibra ótica distando aproximadamente 1mm da superfície do implante e posicionada perpendicularmente à superfície. Através de movimentos curtos no sentido mésio-distal possibilitou que toda a superfície recebesse o tratamento de forma uniforme.

Complementarmente, além da segurança inerente ao aparelho (botão de acionamento primário, chave de interrupção da emissão ao alcance do cirurgião e do auxiliar, botões de *reset* no painel e avisos sonoros de advertência durante a utilização do laser), outros itens foram empregados para limitar os riscos de acidentes com laser: **a)** Área física de uso do aparelho foi isolada dos demais ambientes e devidamente sinalizada; **b)** A porta de entrada do ambiente no qual foi desenvolvido o projeto apresentava sinalização externa de advertência, informando que o laser estava em uso. Apenas as pessoas autorizadas (operador, auxiliar e paciente) permaneceram no ambiente; **c)** O circuito de alimentação de energia do laser possuía uma chave de interrupção na porta de entrada do ambiente, permitindo que o aparelho fosse automaticamente desligado caso houvesse a abertura da porta

sem autorização; **d)** Foi obrigatório o uso de óculos de proteção para todas as pessoas presentes ao ambiente de operação do laser; **e)** O aparelho apresentava um dispositivo de interrupção automática caso houvesse alguma falha no sistema operacional; **f)** O aparelho foi calibrado de maneira que seu feixe coincidisse com a área alvo da aplicação; **g)** Luz guia para identificação da área alvo em aparelhos que possuam emissão fora da faixa do visível; **h)** Evitou-se o uso de materiais inflamáveis durante a desinfecção da área alvo, assim como, anestésicos voláteis, evitando-se assim os riscos de explosão ou danos; **i)** Utilização de bomba a vácuo para aspirar fumaça proveniente da área alvo.

3.4.4. Terapia Regenerativa

Após alocação em uma das terapias para detoxificação das superfícies de implantes e utilização ou não de antibióticos (terapia antimicrobiana), os defeitos peri-implantares de todos os grupos (*controle, teste 1, teste 2* e *teste 3*) foram tratados pela mesma técnica de regeneração óssea guiada – ROG (terapia regenerativa). Os defeitos ósseos peri-implantares, após detoxificação (curetas metálicas associadas ou não ao laser), foram perfurados para permitir melhor vascularização do material de enxerto. Os defeitos foram preenchidos com hidroxiapatita (*OsteoGen, Intra-Lock System, São Paulo, Brazil*) embebidos em sangue oriundo das perfurações do leito receptor. Membranas reabsorvíveis (*ColaCote, Zimmer Industries Ltda, Calbasrat, CA, USA*) foram posicionadas sobre os defeitos peri-implantares preenchidos com a hidroxiapatita, estendo-se 3 a 4mm circunferencialmente as margens do defeito para prevenir o crescimento de tecido mole peri-implantar para dentro do defeito. O periósteo foi incisado para permitir a coaptação do retalho sem

tensão, cobrir os implantes que receberam vedantes estéreis e foram submersos e para prevenir futuras deiscências de sutura e conseqüentemente, exposição da membrana e material de enxerto.

3.4.5. Antibioticoterapia

Todos os indivíduos receberam anti-inflamatórios esteroidais (Dexametasona 4mg, 1hora antes do procedimento regenerativo) e anti-infamatório não esteroidal (Nimesulida 100mg, 2x dia durante 5 dias) para diminuir o edema e dor pós-operatório.

Os indivíduos dos grupos teste 1 e 3 receberam a administração sistêmica de 1,2g/dia de metronidazol (400mg de 8/8horas) combinado a 1,5g de amoxicilina (500mg de 8/8horas) via oral por 14 dias, iniciada em conjunto com a terapia peri-implantar cirúrgica. Os pacientes do grupo controle e teste 2 receberam comprimidos de placebo (talco farmacêutico na mesma posologia) e foram orientados a seguirem o mesmo regime dos pacientes que receberam as substâncias ativas. Os antibióticos foram manipulados especialmente para este estudo em Farmácia de Manipulação. Todas as cápsulas (medicação e placebo) apresentavam a mesma coloração e tamanho, e foram acondicionados em frascos plásticos leitosos com 21 unidades, devidamente codificados. Quanto ao controle de ingestão da droga nos intervalos pré-determinados, os indivíduos foram orientados a retornar sete dias após a cirurgia à Clinica da Pós-Graduação da UnG, trazendo os frascos vazios para receber outro frasco contento a mesma medicação ou placebo. Além disso, os indivíduos foram monitorados de 4 em 4 dias, pessoalmente ou via telefone, por um aluno de iniciação científica (pesquisador 5- AXH) e também questionados sobre possíveis efeitos

adversos da medicação. Todos os dados referentes aos efeitos da medicação (caso ocorram) foram devidamente anotados em fichas clínicas para posterior avaliação.

Complementarmente, todos os indivíduos participantes deste estudo utilizaram uma solução para bochecho (digluconato de clorexidina 0,12%, 2 x ao dia) durante 14 dias. Durante o transcorrer do estudo, os pacientes foram questionados sobre possíveis efeitos colaterais quanto ao uso dos medicamentos e caso apresentem qualquer sinal adverso (náuseas, distúrbios gástrico-intestinais, alergias, dores de cabeça) ou persistência de supuração, os mesmos foram excluídos do estudo e o tratamento suspenso. O paciente seria então, tratado por meio de outra modalidade antibiótica como a clindamicina ou receberia novo tratamento cirúrgico para detoxificação da superfície do implante.

3.5. Reabertura dos implantes e instalação das provisórias sobre implantes

Decorridos 120 dias da terapia antimicrobiana e regenerativa, os implantes foram reabertos por meio de incisão crestal ou paracrestal para permitir melhor posicionamento do retalho. Cicatrizadores estéreis foram selecionados segundo a espessura do retalho e altura oclusal. Decorridos 30 dias após cirurgia, os implantes foram moldados e receberam próteses provisórias, utilizando sempre que possível intermediários ou *abutments* protéticos novos, ou seja, os implantes receberiam novos pilares protéticos, exceto nos casos de próteses protocolos. Os implantes somente foram sondados (avaliação clínica) após 60 dias da cirurgia de reabertura, ou seja, 180 dias após cirurgia.

3.6 - Análise da presença de MMP-8, IL-1 beta, RANKL e OPG

3.6.1- *Coleta das amostras imunológicas*

Os sítios peri-implantares selecionados foram isolados com roletes de algodão e secos com jato de ar para que houvesse afluxo de fluído peri-implantar. As amostras foram coletadas por meio de tiras de papel padronizadas estéreis (PerioPaper, Oraflow, Smithtown, NY), gentilmente introduzidas na bolsa peri-implantar. Foram inseridos até encontrarem certa resistência, e mantidos em posição por 30 segundos, sendo logo após transferidos para um tubo plástico seco de 1,5mL. As coletas foram realizadas nas consultas dos dias 0 e 180 dias pós-terapia. As amostras foram imediatamente congeladas a -80°C até serem processadas.

3.6.2 - *Processamento das amostras imunológicas*

As amostras após serem descongeladas, foram eluidas em 400µL de solução tampão fosfato-salino (PBS) agitando-se os tubos no vortex por 20 segundos e centrifugando por 3 minutos, para facilitar a extração do fluído crevicular do cone de papel para posterior processamento. Alíquotas de 100µL da amostra foram utilizadas para avaliar as quantidades totais de cada citocina IL- 1β, MMP-8 e RANKL, exceto para OPG que utilizou 50µL da amostra. As quantidades totais de MMP-8 e IL- 1β foram determinadas utilizando kits comerciais (R&D Systems, Inc, Minneapolis, MN, USA), enquanto RANKL e OPG utilizou kits diferentes (Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, Wilen, Austria), sendo que todos os kits são do tipo ELISA (*enzime-linked immunosorbent assay*). Os kits selecionado não geram reações cruzadas com outras citocinas (informação dos fabricantes). Os

resultados foram obtidos por meio de leitora de placas ELISA a 450nm para IL- 1β, MMP-8 e OPG e a 490 nm para RANKL e expressos em quantidade total por pg/mL em 30 segundos.

3.7 - Análise estatística

3.7.1. Avaliação clínica

Os parâmetros clínicos foram analisados em 4 (mensurações transcirúrgicas dos defeitos) e 6 (parâmetros clínicos peri-implantares) sítios por implante, em cada indivíduo. A média das medidas clínicas de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção, assim como a média da porcentagem de sítios apresentando placa visível, sangramento à sondagem e supuração foram computados para cada indivíduo e, posteriormente, dentro de cada grupo. Os testes Kruskall Wallis e Wilcoxon foram utilizados para examinar diferenças inter- e intra-grupos respectivamente durante os períodos. O teste de Dunn, foi utilizado como pos-hoc teste caso o teste de Kruskall-Wallis apresentasse significância. Significância estatística foi estabelecida ao nível de 5% ($p<0.05$).

3.7.2. Avaliação imunológica

A quantidade total de MMP-8, IL- 1β,, RANKL e OPG, por sítio, foram utilizadas para o cálculo estatístico. Os testes Kruskall Wallis e Wilcoxon foram utilizados para examinar diferenças inter- e intra-grupos respectivamente durante os períodos ($p<0,05$). O teste de Dunn, foi utilizado como pos-hoc teste caso o teste de Kruskall-Wallis apresentasse significância.

4. RESULTADOS

Todos os 44 indivíduos inicialmente selecionados e aleatoriamente distribuídos entre os quatro grupos terapêuticos (n=11) foram avaliados imunologicamente, clinicamente e radiograficamente aos 0 e 180 dias. Nenhum paciente desistiu ou foi excluído da avaliação. Efeitos colaterais da medicação não foram relatados pelos pacientes.

Após debridamento peri-implantar com curetas metálicas, ranhuras clinicamente evidentes foram observadas sobre a superfície dos implantes, independentemente do tipo de superfície dos implantes. Nenhum dos implantes apresentou deiscência de sutura ou exposição do enxerto e/ou membrana.

4.1 – Efeitos das terapias sobre os parâmetros clínicos e radiográficos

As médias dos parâmetros clínicos para os dentes remanescentes observadas no exame inicial, assim como os dados relativos às características clínicas dos implantes (restauração protética e tempo em função) avaliados neste estudo estão apresentadas nas Tabela 1. Os resultados demonstraram que os grupos eram homogêneos em relação aos parâmetros clínicos, uma vez que não foi observada diferença significativa entre os grupos, no início do estudo.

As tabelas 2 a 4 comparam o efeito clínico das terapias entre o período incial e 180 dias pós-terapia. Os parâmetros de PV, PS, NCI, SS e SUP foram reduzidos significativamente tanto para o grupo controle quanto para os grupos teste ao final de 180 dias pós-tratamento ($p<0,05$). Embora a terapia

que empregou o laser de Er, Cr:YSGG associada à antibioticoterapia apresentasse maiores reduções de PS e NCI estes valores não diferiram significativamente entre os grupos (p>0,05). A PS e NCI do grupo controle no ínicio do estudo eram de 4,78±0,46mm e 5,11±0,70mm e passaram a ser 3,16±0,46mm e 3,11±0,36mm respectivamente aos 180 dias (p<0,05). Já para o grupo teste 3, as médias de PS e NCI no período inicial eram de 5,26±1,04mm e 5,36±0,95mm e foram reduzidas a 2,90±0,55mm e 2,90±0,55mm respectivamente aos 180 dias. A porcentagem de SUP foi reduzido para todos os grupos aos 180 dias, entretanto apenas o grupo Teste 2 que recebeu placebo e laserterapia manteve 1,66% dos sítios (~ 1 sítio peri-implantar) com supuração persistente ao final do período experimental (p>0,05).

A Tabela 3 apresenta as médias de perda óssea vertical no início e 180 dias após terapia. Todos os grupos apresentaram diminuição radiográfica semelhantes dos defeitos 180 dias após terapia (p>0,05), embora os grupos que utilizaram antibióticos (teste 2 e teste 4) apresentaram maiores ganhos ósseos em mm (p>0,05).

Quando os parâmetros clínicos e radiográficos foram analisados para as reduções das médias, interessantes resultados foram obtidos (Tabela 4). Os parâmetros de PV, SS e SUP apresentaram reduções semelhantes entre os grupos (p>0,05). Entretanto, os parâmetros clínicos de PS e NCI apresentaram maiores reduções para o grupo que associou os antibióticos e o laser (grupo teste 3) (p<0.05). As reduções de PS e NCI para este grupo foram de 2,36±0.89mm e 2,46±0,77mm respectivamente. Já os grupos controle, teste 1 e teste 2, apresentaram reduções nas PS e NCI que variaram entre 1,67 a 1,72mm e 1,32 a 2mm respectivamente.

A redução média da perda óssea radiográfica, ou melhor, o ganho radiográfico, foi maior para o grupo teste 3 ($p<0,05$). O ganho ósseo vertical avaliado radiograficamente foi de 1,72mm para o grupo que associou o laser e antibióticos enquanto os demais grupos obtiveram ganhos de 0,81 a 1,18mm.

4.2 – Efeitos da terapia sobre o preenchimento ósseo

A Tabela 4 apresenta as médias e o desvio padrão dos valores dos defeitos ósseos mensurados no transcirúrgico inicial e 120 dias apos terapia. Os valores dos defeitos ósseos foram similares nos tempos 0 e 120 dias entre todos os grupos ($p>0.05$). Entretanto, quando as reduções das médias foram calculadas entre os tempos experimentais (0 e 120 dias), diferenças foram observadas. Os grupos que fizeram uso de antibióticos (teste 1 e teste 3) apresentaram significativas reduções quando comparadas com os grupos controle e teste 2 ($p<0.05$). Os grupos teste 1 e 3 apresentaram preenchimento ósseos que variaram entre 2,25mm e 2,40mm enquanto os grupos que não fizeram uso de antibióticos (grupos controle e teste 2) apresentaram menores médias de preenchimento ósseo, no qual as médias variaram entre 1,27mm e 1,89mm.

4.3- Efeitos da terapia sobre os marcadores imunológicos

As quantidades totais, expressas em pg/mL/30 segundos, de todas as citocinas avaliadas nos períodos experimentais estão apresentadas na Tabela 5. No início do estudo, as médias de todas as citocinas foram semelhantes para todos os grupos, mostrando homogeneidade entre eles ($p>0.05$). Após 180 dias do início da terapia, os níveis da citocinas aumentaram para os todos

grupos, embora não houvesse diferença entre os tempos experimentais ou grupos avaliados para qualquer das citocinas avaliadas.

As quantidades totais de IL- 1β e MMP-8 aumentaram para todos os grupos após terapia (p>0,05). As médias das quantidades totais de IL- 1β variaram entre os grupos de 23,07±27,80 pg/mL/30s a 72,79±66,25 pg/mL/30s no tempo 0, enquanto estas médias aumentaram para valores entre 53,85±58,68 pg/mL/30s a 93,15±129,10 pg/mL/30s aos 180 dias após terapia. Já as médias das quantidades de MMP-8 detectadas no início do estudo foram de 3633 pg/mL/30s para o grupo controle enquanto a media aos 180 dias para o grupo teste 1 foi de 5761 pg/mL/30s.

Os valores obtidos para as quantidades totais de RANKL, OPG e RANKL:OPG também foram semelhantes para todos os grupos tanto no início do estudo quanto aos 180 dias após cirurgia (p>0,05). Estes valores também não diferiram entre os grupos em ambos os períodos (p>0,05). Embora os valores médios das concentrações de OPG e RANKL para o grupo teste 2 (grupo que utilizou placebo e laser) aumentaram após 180 dias, estes valores não foram significativos quando comparados entre os grupos (p>0,05). Já a proporção RANKL:OPG reduziu apenas para o grupo teste1 (antibióticos sem laser), entretanto esta redução foi semelhante quando comparada aos outros grupos (p>0,05).

Tabela 1. Dados demográficos e clínicos periodontais dos dentes remanescentes. Teste de Kruskall-Wallis e Teste Exato de Fischer, ns=Não significativo (p>0,05); m: masculino; f: feminino; PS: profundidade de sondagem; NCI: nível clínico de inserção; PV: placa visível; SS: sangramento à sondagem; SUP: supuração.

	Grupos Terapêuticos				
	Controle (n= 11)	**Teste 1 (n= 11)**	**Teste 2 (n= 11)**	**Teste 3 (n= 11)**	***p***
Gênero (m:f)	3:8	3:8	2:9	3:8	ns
Idade (anos)	56,28±10,06	58,28±5,05	49,00±8,81	47,20±6,90	ns
Parâmetros Clínicos					
PS (mm)	2,28±0,76	2,37±0,35	3,01±1,24	2,45±0,78	ns
NCI (mm)	3,25±1,01	2,98±1,34	3,15±1,23	3,00±0,91	ns
% sitios					
PV	42,45±18,33	39,45±29,45	40,04±28,78	41,11±20,23	ns
SS	15,89±4,76	15,66±9,12	15,78±7,02	16,45±8,45	ns
SUP	0	0	0	0	ns
Tipo de Restauração					
Prótese Fixa	10	10	11	10	ns
Overdentures	1	1	0	1	ns
Tempo em Função (meses)	72,01±9,01	69,65±12,45	70,12±10,64	70,00±11,55	ns
Desdentados totais	2	3	3	2	ns

Tabela 2: Media(±dp) dos parâmetros clínicos antes e 180 dias após as terapias. Kruskall-Wallis (p>0.05) e Wilcoxon

Parâmetros Clínicos	Grupo Controle 0	Grupo Controle 180	Grupo Teste1 0	Grupo Teste1 180	Grupo Teste 2 0	Grupo Teste 2 180	Grupo Teste 3 0	Grupo Teste 3 180	*p*
PV %	47,61±50,39	7,14±18,89*	88,09±31,49	4,76±12,59*	21,66±41,61	0,0±0,0*	36,66±39,12	0,0±0,0*	ns
PS mm	4,78±0,46	3,16±0,46*	4,90±1,29	3,28±0,31*	4,75±1,06	3,58±0,74*	5,26±1,04	2,90±0,55*	ns
NCI mm	5,11±0,70	3,11±0,36*	5,5±1,58	3,28±0,31*	4,90±0,87	3,58±0,74*	5,36±0,95	2,90±0,55*	ns
SS %	47,61±22,41	0,0±0,0*	71,42±36,91	7,14±18,89*	58,33±29,65	4,99±11,24*	56,66±31,62	0,0±0,0*	ns
S %	16,66±0,0	0,0±0,0*	28,57±15,85	0,0±0,0*	24,99±16,19	1,66±5,27*	33,33±0,0	0,0±0,0*	ns

(p<0.05*).**PV**= Placa visível; **PS**= profundidade de sondagem; **NCI**=nível clínico de inserção; **SS**= sangramento à sondagem; **S**= supuração.

Controle: debridamento cirúrgico, Regeneração e placebo

Teste 1: debridamento cirúrgico, Regeneração e antibióticos

Teste 2: debridamento cirúrgico, laser, Regeneração e placebo

Teste 3: debridamento cirúrgico, laser, Regeneração e antibióticos

Tabela 3: Média (±dp) das mensurações trans-operatórias dos defeitos peri-implantares obtidos nos tempos 0 e 120 dias e perda óssea radiográfica mensurada nos tempos inicial e 180 dias após terapia. Teste de Wilcoxon, *p<0,05 e Teste de Kruskall-Wallis, p>0,05.

Parâmetros Avaliados (mm)		Grupo Controle	Grupo Teste 1	Grupo Teste 2	Grupo Teste 3	p
Defeito Peri-implantar	0	4,60 ± 1,24	5,50 ± 1,12	3,92 ± 0,63	3,40 ± 0,47	ns
	120 dias	2,71 ± 1,26*	3,10 ± 1,42*	2,65 ± 1,08*	1,15 ± 1,24*	ns
Perda Radiográfica	0	4,03 ± 0,93	3,88 ± 0,65	3,06 ± 0,42	3,22 ± 0,66	ns
	180 dias	3,22 ± 1,43*	2,70 ± 1,20*	2,31 ± 0,84*	1,50 ± 0,50*	ns

Tabela 4: Media(±dp) das reduções ocorridas após 180 dias da terapia. Kruskall-Wallis (*p<0.05)

	Controle Controle	Grupo Teste 1	Grupo Teste 2	Grupo Teste 3	p
% sitios					
PV	-40,47±13,34	-83,33±22,12	-21,66±22,33	-36,66±11,06	ns
SS	-47,61±12,56	-64,28±15,55	-53,34±16,76	-56,66±13,89	ns
PS (mm)	-1,62±0,51	-1,62±0,23	-1,17±0,67	-2,36±0,46*	0,03
NCI (mm)	-2,0±0,45	-2,22±1,01	-1,32±0,98	-2,46±0,78*	0,02
Preenchimento ósseo (mm)	-1,89±0,88	-2,4±0,56*	-1,27±0,54	-2,25±0,38*	0,04
Ganho Ósseo Vertical (mm)	0,81±0,11	1,18±0,19	0,75±0,55	1,72±0,29*	0,01

PV= Placa visível; **PS**= profundidade de sondagem; **NCI**=nível clínico de inserção; **SS**= sangramento à sondagem.

Controle: debridamento cirúrgico, Regeneração e placebo

Teste 1: debridamento cirúrgico, Regeneração e antibióticos

Teste 2: debridamento cirúrgico, laser, Regeneração e placebo

Teste 3: debridamento cirúrgico, laser, Regeneração e antibióticos

Tabela 5: Médias±dp (mínimo – máximo) das quantidades totais de IL-1ß, MMP-8, RANKL, OPG e proporção RANKL/OPG antes e após 180 dias após as terapias. Kruskall-Wallis (*p*>0.05) e Wilcoxon (*p*>0.05).

IL-1β = Interleucina-1 beta; **MMP-8 =** matriz metaloproteinase-8; **OPG =** osteoprotegerina; **RANKL =** ligante receptor ativador do fator nuclear kappa-β.

Citocinas	Grupo Controle		Grupo Teste1		Grupo Teste 2		Grupo Teste 3		
(pg/mL/30s)	0	180	0	180	0	180	0	180	*p*
IL-1ß	72,79±103,80 (0 – 272,6)	93,15±129,17 (0 – 286,2)	72,58±66,25 (0 -183,9)	77,24±96,60 (0 – 277,4)	23,67±51,06 (0 – 152,6)	53,85±58,68 (0 – 121,7)	23,07±27,80 (0 – 75,80)	61,76±86,46 (0 – 282,80)	ns
MMP-8	4449±1967 (2195 – 7945)	4421±3603 (334,5 – 8265)	4860±3339 (154,5–8530)	5761±1913 (3475–8320)	3911±2562 (0 – 7965)	3911±2562 (0 – 7965)	3633±1975 (0 – 5610)	5453±3122 (974,5-8355)	ns
RANKL	0,03±0,09 (0 – 0,26)	0,03±0,50 (0 – 0,12)	0,20±0,37 (0 – 1,04)	0,03±0,08 (0 – 0,21)	0,04±0,15 (0 – 0,48)	0,13±0,27 (0 – 0,88)	0,01±0,03 (0 – 0,09)	0,06±0,11 (0 – 0,34)	ns
OPG	0,50±0,34 (0,04 – 1,14)	0,31±0,32 (0 – 0,96)	0,36±0,18 (0,07 – 0,58)	0,33±0,17 (0,12 – 0,58)	0,34±0,25 (0 – 0,77)	0,45±0,42 (0 – 1,46)	0,57±0,49 (0,05 – 1,64)	0,45±0,33 (0 – 1,20)	ns
RANKL/OPG	0,06±0,17 (0 – 0,46)	0,23±0,56 (0 -1,38)	0,48±0,69 (0 – 1,96)	0,08±0,20 (0 – 0,58)	0,07±0,21 (0 – 0,63)	0,29±0,52 (0 – 1,59)	0,03±0,09 (0 – 0,30)	0,24±0,31 (0 – 0,91)	ns

Controle: debridamento cirúrgico, Regeneração e placebo

Teste 1: debridamento cirúrgico, Regeneração e antibióticos

Teste 2: debridamento cirúrgico, laser, Regeneração e placebo

Teste 3: debridamento cirúrgico, laser, Regeneração e antibióticos

5. DISCUSSÃO

A utilização da terapia antibiótica associada ao debridamento mecânico realizado por curetas metálicas e detoxificação por meio de laser de alta potência resultou na redução dos parâmetros clínicos periodontais presença de supuração, profundidade de sondagem e nível clínico de inserção, ratificando estudos prévios que trataram a doença peri-implantar (Persson et al. 2011; Renvert et al. 2011; Schwartz et al. 2005) e periodontal (Zegaib et al. 2011; Lopes et al. 2010; Qadri et al. 2010; Cobb et al. 2010). Complementarmente nosso estudo observou que a diminuição da profundidade de sondagem foi acompanhada de ganho de inserção clínica provavelmente pela redução da inflamação tecidual e consequente aumento do tônus tecidual nos primeiros 60 dias após reabertura e exposição dos implantes na cavidade bucal (Mombelli et al., 2001; Ferrari, 2008). As médias de frequência de sítios com sangramento à sondagem foram reduzidas aos 180 dias, sem, no entanto, diferir significativamente entre os grupos. Embora o sangramento à sondagem, na doença periodontal, possa não significar a presença de doença (Baderstein et al., 1985; Lang et al., 1986), a ausência deste sinal clínico é considerado estado de saúde (Lang et al., 1990; Shibli et al. 2008).

Nos grupos teste 1 e 3, a utilização do metronidazol associado à amoxicilina reduziu os parâmetros de inflamação quando comparados ao período inicial de avaliação de maneira similar aos grupos que não fizeram uso dos antibióticos. Neste estudo a terapia cirúrgica, em analogia ao tratamento da doença periodontal, foi empregada com a finalidade de regenerar o tecido peri-implantar. No debridamento peri-implantar, a utilização de curetas de metálicas resultaram em ranhuras clinicamente evidentes,

entretanto, tais danos à estrutura da superfície do implante (Matarasso et al., 1996, Shibli et al., 2004; Shibli et al., 2005; Shibli et al., 2006), pouco influenciaram o processo regenerativo (Roos-jänsaker et al. 2011). Estudos anteriores que utilizaram curetas de teflon ou plástico, sugeriram que o debridamento com estes instrumentos foi, algumas vezes ineficiente, questionando a utiização das curetaas de plástico para este fim (Shibli et al 2006; Roos-Jänsaker et al. 2007).

Quando os parâmetros clínicos de profundidade de sondagem (PS) e nível clínico de inserção (NCI) foram avaliados segundo sua redução, interessantes dados foram observados. As médias de redução da PS e NCI foram significativamente maiores para o grupo teste 3, ou seja, o grupo que associou todas as terapias (antibióticos e laser de Er, Cr:YSGG). As reduções de PS e NCI foram de 2,36mm e 2,46mm respectivamente, ratificando estudos anteriores (Roos-Jänsaker et al. 2007b; Roos-Jänsaker et al. 2011; Duarte et al. 2009). Cumpre salientar entretanto, que tal comparação se faz difícil em muitas vezes, uma vez que vários estudos (Rocuzzo et al. 2011; Serino & Tursi, 2011) utilizam diferentes metodologias e principalmente, diferentes respostas ao tratamento. Por exemplo, Serino & Tursi, 2011 expressaram seus resultados como preenchimento completo dos defeitos como sucesso da terapia. Esta questão se faz importante, uma vez que ao término do tratamento das peri-implantites, a resposta que permance pode ser: o tratamento da peri-implantite objetiva reduzir o grau de inflamação dos tecidos peri-implantares ou reestabelecer o nível ósseo alveolar até o topo do implante? Este preenchimento ósseo deverá resultar em re-osseointegração? Estudos em modelos animais (Shibli et al., 2003; Shibli et al., 2006; Schou et al., 2003 a,b,c; Schwartz et al., 2006; Takasaki et al., 2007) apresentaram várias porcentagens de re-osseointegração, variando entre 25 a 70% de

contato de osso neoformado com a superfície do implante previamente contaminada. Estes modelos utilizaram ainda vários métodos de detoxificação e materiais de enxerto, sem no entanto serem conclusivos quanto a manutenção desta taxa de re-osseointegração após carga funcional dos implantes. Estes modelos animais não receberam carga funcional após obtenção da re-osseointegração, limitando os achados.

Estudos utilizando as mais variadas metodologias para o tratamento cirúrgico da peri-implantite, apresentam resultados inconclusivos sobre qual o melhor tratamento ou ainda qual seria o tratamento padrão, como ocorre na periodontia, no qual a raspagem e alisamento radicular apresentam bons resultados para a maioria dos pacientes com doença periodontal crônica localizada ou generalizada, leve a moderada (Apatzidou & Kinane, 2010).

Ainda sobre o tratamento da peri-implantite, outro importante fator ainda não foi avaliado como variável: a remoção ou não da restauração implantossuportada. Em nosso estudo, após terapia regenerativa submergindo os implantes, o ganho ósseo e o preenchimento ósseo diferiram entre os grupos. O grupo teste 3 (laser associado a antibióticos) apresentou um ganho radiográfico de 1,72mm, sendo esta média próxima aos 1,4mm e 1,5mm obtidos por Roos-Jänsaker et al. 2007 e Roos-Jänsaker et al. 2011; 1,6mm obtidos por Wiltfang et al. 2010 e maiores que 0,8mm obtidos por Schwartz et al. 2006 e 0,9mm por Serino & Tursi, 2011.

Já o preenchimento ósseo mensurado no trans-operatório apresentou ganhos superiores aos grupos (teste 1 e teste 3) que fizeram uso de antibióticos em sua estratégia terapêutica. O preenchimento do defeito assim como ganho ósseo vertical foram observados para todos os grupos, em vários níveis. O ganho ósseo vertical variou entre 0,71mm para grupo controle a 1,72mm para o grupo que associou o laser de Er, Cr:YSGG aos antibióticos.

Esta variação pode estar associada a alteração originada pela detoxificação peri-implantar imposta pelo laser de alta potência e medicação sistêmica, permitindo a formação de maior quantidade de tecido ósseo peri-implantar resultado da ablação da superfície peri-implantar e remoção dos depósitos bacterianos presentes sobre a superfície dos implantes.

Complementarmente, a associação dos antibióticos administrados sistemicamente apresentam difusão pelos tecidos moles e duros além de manter os níveis séricos e plasmáticos por 14 dias. Em estudo placebo-controlado, Ferrari 2008, utilizando terapia não-cirúrgica para o tratamento das peri-implantites, utilizando o mesmo protocolo antibiótico, observou que embora ambos os grupos (placebo e antibióticos) apresentassem reduções dos complexos bacterianos, principalmente dos complexos laranja e vermelho (Socransky et al. 1998; Socransky & Haffajee, 2005), apenaso grupo de pacientes que recebeu a associação antibiótica (metronidazol e amoxicilina) manteve estes níveis reduzidos por 120 dias. Neste contexto, partindo do princípio que a regeneração óssea guiada utilizada no presente estudo apresentou a duração de 120 dias e que a presença de patógenos periodontais em lesões peri-implantares (Shibli et al. 2008) pode reduzir ou até mesmo inviabilizar a terapia regenerativa (Slots et al. 1999; Wakabayashi et al. 1996; Shibli et al 2006), a utilização de antibióticos apresentou maiores ganhos ósseos verticais quando comparados aos grupos que utilizaram o placebo. Estudos anteriores obtiveram dados interessantes com a terapia regenerativa no tratamento de lesões peri-implantares sem no entanto fazer uso de antibóticos (Deppe et al. 2007), embora seus resultados fossem modestos quando comparados aos nossos, principalmente no ganho ósseo vertical.Estes dados ratificam estudos prévios (Roos-Jänsaker et al. 2007b; Roos-Jänsaker et al. 2011) que mostraram resultados semelhantes no

preenchimento ósseo utilizando apenas amoxicilina, sem no entanto utilizar outra técnica de detoxificação, além da raspagem com curetas de titânio.

A resposta do hospedeiro à presença de microrganismos patogênicos, inclui a produção de mediadores químicos inflamatórios, sendo a IL-1ß e PGE_2 os mais importantes no processo da periodontite (Page,1991). IL-1ß induz a degranulação de neutrófilos, síntese, liberação e ativação de MMP-8 derivada de células mesenquimais (Sorsa *et al.*, 1999). Os lipopolisacarídeos (LPS) da parede celular e produtos derivados de patógenos periodontais potencializam a estimulação de IL-1ß e IL-1α nos tecidos peri-implantares. Associados ao LPS da *P. gingivalis* essas interleucinas podem ativar osteoblastos diretamente e causar a liberação de PGE_2 e IL-1ß dos macrófagos, monócitos e fibroblastos (Lamont & Jenkison, 1998; Sorsa *et al.,*1999; Shibli, 2003).

Embora as quantidades totais de IL-1ß e MMP-8 apresentassem aumentos após as terapias maiores, tais aumentos poderiam estar associados aos eventos celulares de diferenciação celular e reparo oriundos da terapia regenerativa. Estes eventos poderiam aumentar a resposta do hospedeiro para aumento das colagenases 2, relacionadas ao colágeno tipo IV (maior quantidade nos tecidos peri-implantares) assim como a liberação de PGE2 devido a resposta inflamatório da COX-2, aumentando os níveis de IL-1ß encontrados em nosso estudo. Este aumento certamente não está associado ao aumento bacteriano e/ou uma falha na redução/supressão destes patógenos nos sítios peri-implantares uma vez que todos os parâmetros clínicos foram reduzidos por alguma das terapias. Esses resultados diferem dos achados anteriores que sugeriram que o aumento desta colagenase poderia ser utilizado como um marcador bioquímico de destruição tecidual durante o curso da deonça peri-implantar (Teronen et al., 1997; Sorsa et al.

1999; Kivela-Rajamaki et al., 2003). Outros estudos (Teronen et al., 1997; Kiili et al., 2002) sugerem ainda que existe uma provável ligação entre a presença de MMPs, principalmente a MMP-8, durante a fase ativa das doenças periodontal e Peri-implantar. Entretanto, a detecção de MMP-8 no fluido crevicular peri-implantar não significa necessariamente, a presença de atividade de doença naquele momento, uma vez que o teste imunológico utilizado neste estudo detecta tanto colagenases ativas como inativas (Engebreston *et al.*, 2002).

Durante a fase de reparo/regeneração peri-implantar, a atividade dos osteoclastos é regulada por várias citocinas como as interleucinas-1, -6 e -11 (IL-1, IL-6, IL-11), alguns hormônios como o paratormônio (PTH), o 1,25-dihidroxi vitamina D3 e calcitonina. O fator de necrose tumoral (*tumor necrosis factor – TNF*), principalmente o TNF-α é também um dos reguladores do processo de reabsorção óssea agindo diretamente na estimulação dos precursores osteoclásticos e indiretamente no controle do sistema osteoprotegerina (OPG), ligante do receptor ativador do fator nuclear κß (RANKL), e receptor ativador do fator nuclear κß (RANK), sendo estas, consideradas moléculas fundamentais no metabolismo ósseo. Resumidamente, a formação (osteoclastogênese) e atividade dos osteoclastos e, consequentemente, a reabsorção do tecido ósseo inicia-se a partir da ligação RANK/RANKL, enquanto que a OPG que é produzida pelos osteoblastos, é capaz de regular este processo de reabsorção devido a sua capacidade de união ao RANKL, evitando assim a interação RANK/RANKL (Tanaka et al., 2005), portanto a OPG agem como engodo que compete com a RANKL (Özmen et al. 2007). Esta interação inibe a proliferação e diferenciação de osteoclastos, prevenindo a reabsorção óssea. No presente

estudo, todas as terapias, de alguma forma, atuaram nas concentrações totais destas moléculas, embora as concentrações finais não diferiram entre os grupos. Aumentos nas médias das concentrações totais destas moléculas assim como da proporção RANKL:OPG aumentaram após terapia, sugerindo o mesmo mecanismo para a MMP-8 e a IL-1ß, sugerindo que estas citocinas podem não ser marcadores interessantes para a terapia peri-implantar, pelo menos não após 60 dias de uma intervenção cirúrgica para exposição dos implantes.

Finalmente, o tamanho da amostra pode ter influenciado nossos dados. O tamanho da amostra foi obtido após o cálculo da potencia, utilizando dados de estudo piloto que utilizou diferente estratégia terapêutica (enxerto associado a detoxificação com ácidos). Isso de seu devido ao ineditismo do presente delineamento experimental (laser de Er, Cr:YSGG associado ou não a antibioticoterapia sistêmica). Ao obtermos os resultados e um novo cálculo da potencia foi realizado, utilizando o desvio padrão dos grupos para a redução de PS e ganho ósseo vertical. Segundo estes novos cálculos, a amostra necessária seria de 25 pacientes por grupo, ou seja, mais que o dobro da amostra utilizada no presente estudo. Entretanto, cumpre salientar que os dados desta investigação são preliminares e que futuros estudos com maiores períodos de acompanhamento com os implantes em função devem ser realizados.

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados, pode concluir que:

a) Todas as terapias reduziram os parâmetros clínicos após 180 dias da terapia;

b) Apenas a terapia associada a antibióticos e ao laser de Er,Cr:YSGG resultou em maior ganho de tecido ósseo peri-implantar radiograficamente no período avaliado.

c) As terapia empregadas não afetaram as quantidades totais das citocinas e moléculas avaliadas, pelo menos no período de 180 dias pós-terapia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alsaadi G, Quirynen M, Komárek A, van Steenberghe D. Impact of local and systemic factors on the incidence of late oral implant loss. Clin Oral Implants Res. 2008; 19:670-6.

Araujo MWB, Hovey KM, Benedek JR, Grossi SG, Dorn J, Wactawski-Wende J, Genco RJ, Trevisan M. Reproducibility of probing depth measurements using a constant-force electronic probe: analysis of inter- and intraexaminer variability. J Periodontol 2003;74:1736-1740.

Apatzidou DA, Kinane DF. Nonsurgical mechanical treatment strategies for periodontal disease. Dent Clin North Am. 2010 Jan;54(1):1-12.

Astrand P, Ahlqvist J, Gunne J, Nilson H. Implant treatment of patients with edentulous jaws: a 20-year follow-up. Clin Implant Dent Relat Res. 2008; 10(4):207-17.

Azzeh MM. Er, Cr: YSGG Laser-assisted surgical treatment of peri-implantitis with 1-year reentry and 18-month follow-up. J Periodontol, 2008; 79:2000-2005.

Baderstein, A, Nilveus, R, Egelberg, J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. VII. Bleeding, suppuration and probing depth in sites with probing attachment loss. J Clin Periodontol. 1985;12(6):432-40.

Branemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindstrom J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. Scand J Plast Reconstr Surg. 1969; 3:81-100.

Behneke A, Behneke N, d'Hoedt B. Treatment of peri-implantitis defects with autogenous bone grafts:six-month to 3-year results of a prospective study in 17 patients. Int J Oral Maxillofac Implants 2000; 15:125-138.

Berglundh T, Krok L, Liljenberg B, Westfelt E, Serino G, Lindhe J. The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of advanced periodontal disease. A prospective, controlled clinical trial. J Clin Periodontol. 1998 May;25(5):354-62.

Berglundh T, Claffey N, De Bruyn H, Heitz-Mayfield L, Karoussis I, Könönen E, Lindhe J, Meyle J, Mombelli A, Renvert S, van Winkelhoff A, Winkel E, Zitzmann N. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. J Clin Periodontol, 2008; 35: 282-285.

Chiapasco M, Romeo E, Coggiola A, Brusati R. Long-term outcome of dental implants placed in revascularized fibula free flaps used for the reconstruction of maxillo-mandibular defects due to extreme atrophy. Clin Oral Implants Res. 2011; 22(1):83-91.

Cobb CM, Low SB, Coluzzi DJ. Lasers and the treatment of chronic periodontitis. Dent Clin North Am. 2010 Jan;54(1):35-53.

de Mendonça AC, Santos VR, César-Neto JB, Duarte PM. Tumor necrosis factor-alpha levels after surgical anti-infective mechanical therapy for peri-implantitis: a 12-month follow-up. J Periodontol. 2009;80:693-699.

Deppe H, Horch HH, Neff A. Conventional versus CO_2 laser-assisted treatment of peri-implant defects with the concomitant use of pure-phase β-tricalcium phosphate: a 5-year clinical report. Int J Oral Maxillofac Implants 2007;22:79-86.

Deppe H, Horch HH. Laser applications in oral surgery and implant dentistry. Laser Med Sci 2007;22:217-221.

Duarte PM, de Mendonça AC, Máximo MB, Santos VR, Bastos MF, Nociti Júnior FH. Differential cytokine expressions affect the severity of peri-implant disease. Clin Oral Implants Res. 2009;20:514-520.

Engebretson SPhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Engebretson SP%22%5BAuthor%5D, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. J Clin Periodontol. 2002;1:48-53.

Ericsson I, Persson LG, Berglundh T, Edlund T, Lindhe J. The effect of antimicrobial therapy on peri-implantitis lesion. An experimental study in dog. Clin Oral Implants Res 1996; 7:320-328.

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.

Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington . Interventions for replacing missing teeth: treatment of perimplantitis. Aust Dent J 2007;49:58-59

Feres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Socransky SS. Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically-administered amoxicillin or metronidazole. J Clin Periodontol. 2001 Jul;28(7):597-609.

Ferrari DS. Avaliação longitudinal do metronidazol associado a amoxicilina no tratamento das periimplantites. 2008. Dissertação de Mestrado, Universidade Guarulhos, Guarulhos, SP.

Hämmerle CHF, Fourmousis I, Winkler JR, Weigel C, Bragger U, Lang N.P. Successful bone fill in late peri-implant defects using guided tissue regeneration. A short communication. J Periodontol 1995; 66:303-308.

Hass R, Baron M, Dortbudak O, Watzek G. Lethal photosensitization, autogenous bone, and e-PTFE membrane for the treatment of peri-implantitis: preliminary results. Int J Oral Maxillof Implants 2000;15:374-382.

Heitz-Mayfield LJA, Lang N. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. Periodontol 2000 2010; 53: 167-181.

Hurzeler MB, Quinones CR, Schupbach P, Morison EC, Caffesse RG. Treatment of peri-implantitis using guided bone regeneration and bone grafts, alone or in combination, in beagle dogs. Part 2: Histologic findings. Int J Oral Maxillofac Implants 1997;12:168-175.

Khoury F, Buchmann R. Surgical therapy of peri-implant disease: a 3-year follow-up study of cases treated with 3 different techniques of bone regeneration. J Periodontol 2001;72:1498-1508.

Kiili M, Cox SW, Chen HY, Walgren J, Maisi P, Eley BM, Salo T, Sorsa T. Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. J Clin Periodontol. 2002 Mar; 29(3): 224-32.

Kivela-Rajamaki MJ, Teronen OP, Maisi P, Husa V, Tervahartiala TI, Pirila EM, Salo TA, Mellanen L, Sorsa TA. Laminin-5 gamma2-chain and collagenase-2(MMP-8) in human peri-implant sulcular fluid. Clin Oral Implants Res 2003; 14:158-165.

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;29(suppl.3):213-225.

Klinge B, Hultin M, Berglundh T. Peri-implantitis. Dent Clin North Am 2005; 49: 661-676.

Koldsland OC, Scheie AA, Aass AM. Prevalence of peri-implantitis related to

severity of the disease with different degrees of bone loss. J Periodontol 2010; 8: 231–238.

Kotsovilis S, Karoussis IK, Trianti M, Fourmousis I. Therapy of peri-implantitis: a systematic review. J Clin Periodontol 2008;35:621-9.

Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gum line: pathogenic mechanisms of Porphyromonas gingivalis. Microbiol Mol Biol Rev. 1998; 62(4): 1244-63.

Lang NP, Joss A, Orsanic T, Gusberti FA, Siegrist BE. Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease? J Clin Periodontol. 1986; 13 (6):590-6.

Lang NP, Adler R, Joss A, Nyman S. Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. J Clin Periodontol. 1990;17(10):714-21.

Lang NP, Wilson TG, Corbet EF. Biological complications with dental implants: their prevetion, diagnosis and treatment. Clin Oral Implants Res. 2000; 11 Suppl 1: 146-55.

Lang NP, Tonetti MS. Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). Oral Health Prev Dent 2003: 1: 7–16.

Lang NP, Berglundh T on Behalf of Working Group 4 of the Seventh European Workshop on Periodontology: Periimplant diseases: where are we now? – Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. J Clin

Periodontol 2011; 38 (Suppl. 11): 178–181.

Lopes BM, Theodoro LH, Melo RF, Thompson GM, Marcantonio RA. Clinical and microbiologic follow-up evaluations after non-surgical periodontal treatment with erbium:YAG laser and scaling and root planing. J Periodontol. 2010;81:682-91.

Miller RJ, Treatment of the contaminated implant surface using the Er,Cr:YSGG laser. Implant Dent 2004; 13:165-170.

Matarasso S, Quaremba G, Coraggio F, Vaia E, Cafiero C, Lang NP. Maintenance of implants: an in vitro study of titanium implant surface modifications subsequent to the application of different prophylaxis procedures. Clin Oral Implants Res. 1996 Mar;7(1):64-72.

Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC, Duarte PM, Lira EA, Faveri M. Short-term benefits of the adjunctive use of metronidazole plus amoxicillin in the microbial profile and in the clinical parameters of subjects with generalized aggressive periodontitis. J Clin Periodontol. 2010;37:353-365.

Mombelli A, Lang NP. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. Periodontol 2000 1998; 17:63-67.

Mombelli A. Prevention and therapy of peri-implant infections. In: Lang NP, Karring T, Lindhe J, ed. Proceedings of the 3rd European Worshop on Periodontology. Berlin: Quintessenz Verlag, 1999:281-303.

Mombelli A, Feloutzis A, Brägger U, Lang NP. Treatment of peri-implantitis by local delivery of tretracycline: clinical, microbiological and radiological results. Clin Oral Implants Res 2001; 12: 287-294.

Nguyen L, Dewhirst FE, Hauschka PV, Stashenko P. Interleukin-1 beta stimulates bone resorption and inhibits bone formation in vivo. Lymphokine Cytokine Res. 1991 Apr;10(1-2):15-21.

Norowski P, Bumgardner. Review Biomaterial and antibiotic strategies for peri-implantitis. J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater. 2009; 88B: 530-543.

Özmen B, Kirmaz C, Aydin K, Kafesciler SO, Guclu F, Hekimsoy Z. Influence of the selective oestrogen receptor modulator (raloxifene hydrochloride) on IL-6, TNF- α, TGF- β1 and bone turnover markers in the treatment of postmenopausal osteoporosis. Eur Cytokine Netw. 2007; 18:148-53

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

Parker S. Surgical laser use in implantology and endodontics. British Dent J 2007;202:377-386.

Pavicic MJ, van Winkelhoff AJ, de Graaff J. In vitro susceptibilities of Actinobacillus actinomycetemcomitans to a number of antimicrobial combinations. Antimicrob Agents Chemother. 1992 Dec;36(12):2634-8.

Pavicic MJ, van Winkelhoff AJ, Douque NH, Steures RW, de Graaff J. Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in Actinobacillus actinomycetemcomitans-associated periodontitis. A 2-year evaluation. J Clin Periodontol. 1994 Feb;21(2):107-12.

Persson LG, Ericsson I, Berglundh T, Lindhe J. Guided bone regeneration in the treatment of periimplantitis. Clin Oral Implants Res 1996; 7:366-372.

Persson LG, Araujo MG, Berglundh T, Grondahl K, Lindhe J. Resolution of periimplantitis following treatment. An experimental study in the dog. Clin Oral Implants Res 1999;10:195-203.

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

Persson RG, Ericsson I, Berglundh T, Lindhe J. Osseointegration following treatment of peri-implantitis and replacement of implant components. An experimental study in the dog. J Clin Periodontol 2001;28:258-263.

Persson RG, Roos-Jänsaker AM, Lindahl C, Renvert S. Microbiological results following non-surgical ER:YAG laser or air-abrasive treatment of peri-implantitis. A randomized clinical trial. J Periodontol 2011.

Plagnat D, Giannopoulou C, Carrel A, Bernard JP, Mombelli A, Belser UC. Elastase, alpha2-macroglobulin and alkaline phosphatase in crevicular fluid

from implants with and without periimplantitis. Clin Oral Implants Res. 2002 Jun;13(3):227-33.

Qadri T, Poddani P, Javed F, Tunér J, Gustafsson A. A short-term evaluation of Nd:YAG laser as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of periodontal inflammation. J Periodontol. 2010 Aug;81(8):1161-6.

Quirynen M, De Soete M, van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: a review of the literature. Clin Oral Implants Res. 2002; 13:1-19.

Renvert S, Lindahl C, Roos-Jänsaker A-M, Persson GR. Treatment of peri-implantitis using Er:YAG laser or an air-abrasive device: a randomized clinical trial. J Clin Periodontol 2011;38: 65–73.

Roccuzzo M, Bonino F, Bonino L, Dalmasso P. Surgical therapy of peri-implantitis lesions by means of a bovine-derived xenograft: comparative results of a prospective study on two different implant surfaces. J Clin Periodontol. 2011 Jun 2.

Romeo E, Ghisolfi M, Murgolo N, Chiapasco M, Lops D, vogel. 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 2004;16:9-18.

Rooney J, Wade WG, Sprague SV, Newcombe RG, Addy M. Adjunctive effects to non-surgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxycillin alone and combined. A placebo controlled study. J Clin Periodontol. 2002 Apr;29(4):342-50.

Roos-Jänsaker AM, Renvert S, Egelberg J. Treatment of peri-implant infections: a literature review. J Clin Periodontol 2003; 30:467-485.

Roos-Jänsaker AM, Lindahl C, Renvert H, Renvert S. Nine- to fourteen- year follow-up of implant treatment. Part I: implant loss and associations o various factors. Clin Oral Implant Res 2006; 33: 283-289.

Roos-Jänsaker AM, Renvert H, Lindahl C, Renvert S. Submerged healing following surgical treatment of peri-implantitis: a case series. J Clin Periodontol 2007;34:723-727.

Roos-Jänsaker AM, Renvert H, Lindahl C, Rebvert S. Surgical treatment of peri-implantitis using a bone substitute with or without a resorbable membrane: a prospective cohort study. J Clin Periodontol 2007; 34:625-632.

Roos-Jänsaker AM, Lindahl C, Persson GR, Renvert S. Long-term stability of surgical bone regenerative procedures of peri-implantitis lesions in a prospective case-control study over 3 years. J Clin Periodontol 2011; 38:590-597.

Sakka S, Coulthard P. Implant failure: etiology and complications. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2011; 16(1):e42-44.

Salvi GE, Persson GR, Heitz-Mayfield LJ, Frei M, Lang NP.Adjunctive local antibiotic therapy in the treatment of peri-implantitis II: clinical and radiographic outcomes. Clin Oral Implants Res. 2007 Jun; 18 (3): 281-5.

Schou S, Holmstrup P, Jørgensen T, Skovgaard LT, Stolze K, Hjørting-Hansen E, Wenzel A. Anorganic porous bovine-derived bone mineral (Bio-Oss®) and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis in cynomolgus monkeys. Clin Oral Implants Res 2003; 14: 535-547.

Schou S, Holmstrup P, Jørgensen T, Skovgaard LT, Stolze K, Hjørting-Hansen E, Wenzel A. Implant surface preparation in the surgical treatment of experimental peri-implantitis with autogenous bone graft and ePTFE membrane in cynomolgus monkeys. Clin Oral Implants Res 2003; 14:412-422.

Schou S, Holmstrup P, Jørgensen T, Stolze K, Hjørting-Hansen E, Wenzel A. Autogenous bone graft and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis. I. Clinical and radiographic observations in cynomolgus monkeys. Clin Oral Implants Res2003; 14:391-403.

Schou S, Holmstrup P, Skovgaard LT, Stolze K, Hjørting-Hansen E, Gundersen, HJG. Autogenous bone graft and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis. II. Stereologic and histologic observations in cynomolgus monkeys. Clin Oral Implants Res 2003; 14:404-411.

Schwarz F, Sculean A, Rothamel D, Schwenzer K, Georg T, Becker J.Clinical evaluation of an Er:YAG laser for nonsurgical treatment of peri-implantitis: a pilot study. Clin Oral Implants Res 2005; 16:44-52.

Schwarz F, Bieling K, Bonsmann M, Latz T, Becker J. Nonsurgical treatment of moderate and advanced periimplantitis lesions: a controled clinical study. Clin Oral Invest 2006;10: 279-288.

Schwarz F, Bieling K, Latz T, Nuesry E, Becker B. Healing of intrabony peri-implantitis defects following aplication of a nanocrystalline hydroxyapatite (Ostim) or a bovine-derived xenograft (Bio-Oss) in combination with a collage membrane (Bio-Guide). A case of series. J Clin Periodontol 2006; 33:491-499.

Schwarz F, Bieling K, Nuesry E, Sculean A, Becker J. Clinical and histological healing pattern of peri-implantitis lesions following non-surgical treatment with an Er:YAG laser. Lasers Surg Med 2006; 38:663-671.

Schwarz F, Jepsen S, Herten M, Sager M, Rothamel D, Becker J. Influence of different treatment apporaches on non-submerged and submerged healing of ligature-induced peri-implantitis lesions: an experimental study in dogs. J Clin Periodontol 2006; 33:584-595.

Schwarz F, Sculean A, Romanos G, Herten M, Horn N, Scherbaum W, Becker J. Influence of different treatment approaches on the removal of early plaque biofilms and the viability of SAOS2 osteoblasts grown on titanium implants. Clin Oral Invest 2006; 9:111-117.

Schwarz F, Sculean A, Bieling K, Ferrari D, Rothamel D, Becker J.Two-year clinical results following treatment of peri-implantitis lesions using a nanocrystalline hydroxyapatite or a natural bone mineral in combination with a collagen membrane. J Clin Periodontol 2008; 35:80-87.

Serino G, Rosling B, Ramberg P, Hellstrom MK, Socransky SS, Lindhe J. The effect of systemic antibiotics in the treatment of patients with recurrent periodontitis. J Clin Periodontol. 2001 May;28(5):411-8.

Serino G, Turri A.Outcome of surgical treatment of peri-implantitis: results from a 2 year prospective clinical study in humans. Clin Oral Implants Res. 2011 Feb 11.

Shibli JA. Etiologia, tratamento e progressão das peri-implantites. Tese Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP. 2003.

Shibli JA, Martins MC, Lotufo RFM, Marcantonio Jr. E. Microbiologic and radiographic analysis of ligature-induced peri-implantitis in different dental implant surfaces. Int J Oral Maxillofac Implants 2003; 18:383-390.

Shibli JA, Martins MC, Marcantonio E Jr. Periimplantitis: como diagnosticar?Tratar ou substituir o implante? In: Lotufo RFM, Lascala Jr NT. Periodontia e Implantodontia – Desmistificando a ciência. São Paulo, Artes Medicas, 2003. p.423-438.

Shibli JA, Martins MC, Nociti Jr. FH, Garcia VG, Marcantonio Jr. E. Treatment of ligature-induced peri-implantitis by lethal photosensitization and guided bone regeneration: a preliminary histologic study in dogs. J Periodontol 2003; 74:338-345.

Shibli JA, Martins MC, Theodoro LH, Lotufo RFM, Garcia VG, Marcantonio Jr. E. Lethal photosensitization in microbiological treatment of peri-implantitis: a preliminary study in dogs. J Oral Science 2003,45:17-23.

Shibli JA, Theodoro LH, Haypek P, Garcia VG, Marcantonio Jr. E. The effect of CO_2 laser irradiation on failed implant surface. Implant Dent 2004; 13: 342-351.

Shibli JA, Marcantonio E, d'Avila S, Guastaldi AC, Marcantonio E Jr. Analysis of failed commercially pure titanium dental implants: a scanning electron microscopy and energy-dispersive spectrometer x-ray study. J Periodontol. 2005; 76:1092-9.

Shibli JA, Martins MC, Ribeiro FS, Nociti Jr. FH, Garcia VG, Marcantonio Jr. E. Lethal photosensitization and guided bone regeneration in treatment of peri-implantitis. An experimental study in dogs. Clin Oral Implants Res 2006;17:273-281

Shibli JA, Melo L, Ferrari DS, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. Clin Oral Implants Res. 2008 Oct;19(10):975-82.

Slots J, Ting M. Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in human periodontal disease: occurrence and treatment. Periodontol 2000. 1999 Jun;20:82-121.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in
subgingival plaque. J Clin Periodontol. 1998 Feb;25(2):134-44.

Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. Periodontol 2000. 2005;38:135-87.

Sorsa T, Mantyla P, Ronka H, et al. Scientific basis of a matrix metalloproteinase-8 specific chair-side test for monitoring periodontal and peri-implant health and disease. Ann N Y Acad Sci 1999; 878:139-140.

Takasaki AA, Aoki A, Mizutani K, Kikuchi S, Oda S, Ishikawa I. Er:YAG laser therapy for peri-implant infection: a histological study. Laser Med Sci 2007; 22:143-157.

Tanaka S, Nakamura K, Takahashi N, Suda T. Role of RANKL in physiological and pathological bone resorption and therapeutics targeting the RANKL/RANK signaling system. Immunol Rev. 2005; 208:30-49.

Teronen O, Konttinen YT, Lindqvist C, Salo T, Ingman T, Lauhio A, Ding Y, Santavirta S, Sorsa T. Human neutrophil collagenase MMP-8 in peri-implant sulcus fluid and inhibition by clodronate. J Dent Res. 1997 Sep; 76(9):1529-37.

Wiltfang J, Zernial O, Behrens E, Schlegel A, Warnke PH, Becker ST. Regenerative Treatment of Peri-Implantitis Bone Defects with a Combination of Autologous Bone and a Demineralized Xenogenic Bone Graft: A Series of 36 Defects. Clin Implant Dent Relat Res. 2010 Feb 3.

Wakabayashi RC, Wong F, Richards DW, Johnson PW. Protease repertoires of cells adherent to membranes recovered after guided tissue regeneration. J Periodontal Res. 1996 Apr;31(3):171-80.

Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der Weijden GA. Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study. J Clin Periodontol. 2001 Apr;28(4):296-305.

Zegaib S, Lage-Marques JL, Vieira MM, Junior AR, Feres M, Shibli JA, Figueiredo LC. Phenomenon of Laser Power Loss During Curettage of Infected Periodontal Pockets. Photomed Laser Surg. 2011 Apr 1.