



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Odontologia

Guilherme Bianchine de Moura

**Efeito clínico, radiográfico e imunológico do tratamento cirúrgico
associado à terapia fotodinâmica com azul de toluidina 0,2% em
peri-implantite:
estudo clínico randomizado longitudinal de 1 ano**

Rio de Janeiro

2020

Guilherme Bianchine de Moura

**Efeito clínico, radiográfico e imunológico do tratamento cirúrgico associado à
terapia fotodinâmica com azul de toluidina 0,2% em peri-implantite:
estudo clínico randomizado longitudinal de 1 ano**

Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de
Pós-Graduação em Odontologia, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Área de Concentração: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer

Rio de Janeiro

2020

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB/B

B577 Bianchine de Moura, Guilherme.
Efeito clínico, radiográfico e imunológico do tratamento cirúrgico associado à terapia fotodinâmica com azul de toluidina 0,2% em peri-implantite : estudo clínico randomizado longitudinal de 1 ano / Guilherme Bianchine de Moura. – 2020.
94 f.

Orientador: Ricardo Guimarães Fischer

Tese (doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.

1. Peri-implantite - Cirurgia. 2. Fotoquimioterapia. 3 Cloreto de tolônio. 4. Biomarcadores. 5. Citocinas. 6. Reabsorção óssea. 7. Ensaio clínico controlado aleatório. I. Fischer, Ricardo Guimarães. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. III. Título.

CDU
616.314

Bibliotecária: Adriana Caamaño CRB7/5235

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Guilherme Bianchine de Moura

**Efeito clínico, radiográfico e imunológico do tratamento cirúrgico associado à
terapia fotodinâmica com azul de toluidina 0,2% em peri-implantite:
estudo clínico randomizado longitudinal de 1 ano**

Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de
Pós-Graduação em Odontologia, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
Área de Concentração: Periodontia.

Aprovada em 07 de fevereiro de 2020.

Orientador:

Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer
Faculdade de Odontologia - UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cesar dos Reis Perez
Faculdade de Odontologia - UERJ

Prof. Dr. Eduardo José Veras Lourenço
Faculdade de Odontologia - UERJ

Prof. Dr. Leandro Chambrone
Universidade Ibirapuera

Prof. Dr. Bernardo de Oliveira Campos
Associação Brasileira de Odontologia

Prof. Dr. Fábio Vidal Marques
Universidade Estácio de Sá

Rio de Janeiro

2020

DEDICATÓRIA

Para as pessoas mais importantes da minha vida: meus pais, Ana Maria e Marco Aurélio, minha esposa Lívia e ao meu padrinho Edgard (*in memoriam*). Dedico esta tese a vocês, por todo o amor, amizade e cumplicidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela saúde durante a minha vida. Em ti pude me apoiar, confiar e ter a cabeça para superar todas as dificuldades. Obrigado pela oportunidade de fazer Graduação, Especialização, Mestrado e Doutorado.

Aos meus pais, Ana Maria e Marco Aurélio, pelo amor incondicional em todos os momentos da minha vida. Pelo privilégio de tê-los comigo, me educando, me formando e me guiando nas escolhas certas da minha formação como ser humano e profissional. Eu nunca chegaria a esse momento sem vocês, o meu eterno amor e admiração por vocês.

À Livia que encontrei nessa caminhada da vida, minha melhor amiga, esposa e companheira por sempre estar ao meu lado.

Ao meu irmão Victor pelo amor, amizade e por muitas histórias que vivemos e ainda vamos viver juntos.

Ao meu primo Daniel, que considero como um irmão, crescemos juntos e hoje tenho o privilégio de ser Padrinho da sua filha mais velha, Maria Eduarda.

Ao meu Padrinho Edgard (*in memoriam*), meu grande amigo que sempre esteve ao meu lado. À minha Madrinha Dulce com quem tive o privilégio de morar na Graduação de Odontologia em Nova Friburgo, obrigado aos dois por tudo, meu eterno amor e agradecimento.

Às minhas tias Rita e Leila por todo o amor e amizade. E a toda minha família, pelo privilégio de tê-los ao meu lado.

Ao meu orientador Professor Ricardo Fischer, que engrandeceu a minha formação com sua excelência profissional e acadêmica, o meu eterno agradecimento por ser seu aluno no Doutorado.

Ao amigo Luciano Oliveira que me acolheu para fazer a pesquisa clínica no seu curso de Especialização em Implantodontia no Instituto de Odontologia de Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (IOPUC RIO).

Ao Professor Carlos Marcelo, por todo o conhecimento transmitido nas aulas do doutorado.

Aos professores Cesar dos Reis Perez, Eduardo Lourenço Veras, Leandro Chambrone, Fabio Vidal Marques e Bernardo de Oliveira Campos, pela excelência

acadêmica e disponibilidade de poder participar da minha banca e engrandecer o meu trabalho.

A Bárbara do Laboratório de Pesquisas em Imunologia Oral, na Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), pela ajuda na condução da pesquisa, estando sempre presente e disposta a ajudar.

Aos amigos da Fundação Oswaldo Cruz (FioCruz), Paulo Antas e Germano pela ajuda na condução e análise imunológica da minha pesquisa, o meu eterno agradecimento a vocês.

Aos meus colegas do curso de Doutorado e aos demais colegas da UERJ, pela amizade e convívio durante os quatro anos no programa de pós-graduação.

Aos professores da UERJ que tenho a honra de compartilhar os dias de trabalho no Núcleo de Procedimentos Clínicos Integrados 1 e 3.

Aos funcionários da UERJ, que simplificam para os alunos todo o processo burocrático da secretaria de pós-graduação de forma muito assertiva e competente.

Aos pacientes, que entenderam a importância da participação no projeto e confiaram em nosso trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para esse estudo.

Um dia é preciso parar de sonhar, tirar os planos das gavetas e de algum modo começar.

Amyr Klink

RESUMO

BIANCHINE DE MOURA, Guilherme. **Efeito clínico, radiográfico e imunológico do tratamento cirúrgico associado à terapia fotodinâmica com azul de toluidina 0,2% em peri-implantite**: estudo clínico randomizado longitudinal de 1 ano. 2020. 94f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

O objetivo do presente estudo foi comparar os efeitos clínicos, radiográficos e imunológicos do tratamento cirúrgico para peri-implantite com ou sem terapia fotodinâmica após 1 ano. Participaram deste estudo 21 pacientes com peri-implantite (idade média $56,0 \pm DP 9,6$ anos). Divididos os grupos em teste e controle de forma randomizada. Foram utilizados os seguintes parâmetros clínicos: profundidade de bolsa à sondagem (PBS); índice de placa visível (IPV) e índice de sangramento à sondagem (ISS). A radiografia periapical foi utilizada como parâmetro radiográfico em baseline e 1 ano. A coleta do fluido periimplantar foi realizada com periopaper e congelada à $-70^{\circ}C$ para posterior análise. Os biomarcadores do metabolismo ósseo utilizados no fluido periimplantar foram TNF- α , SOST, PTH, OPG, OPN, OC, Leptina, IL-6, IL-1 β FGF-23. Os pacientes de ambos os grupos receberam tratamento periimplantar cirúrgico de acesso para raspagem e no grupo teste foi utilizada a terapia fotodinâmica com azul de toluidina 0,2%, na qual emite uma radiação infravermelha pulsada no comprimento de onda de 2,94 mm. Os parâmetros do laser foram fixados em 100 mJ / pulso ($12,7 J/cm^2$) e 10 pps (energia de pulso na ponta: cerca de 85 mJ/pulso). Os dados clínicos foram coletados em quatro visitas em ambos os grupos (*baseline*, 03 meses, 6 meses e 1 ano). Os dados radiográficos e imunológicos foram coletados (*baseline* e 1 ano). Os biomarcadores foram mensurados por meio de um imunoensaio multiplex. Os resultados mostraram uma redução significativa dos parâmetros clínicos 3 meses após o tratamento, em ambos grupos. No *baseline*, os valores de PBS $8,5mm \pm 0,9$, ISS 100%, ISG 100% IPV 100% no grupo controle. Os valores correspondentes do grupo teste foram $8,6mm \pm 0,7$, 100%, 100% e 100%). Aos 3 meses as médias de PBS, ISS, ISG e IPV foram $5,7mm \pm 0,5$, 11%, 100% e 0% no grupo controle e $5,7mm$, 8%, 100% e 0% no grupo teste ($p < 0,05$). Esses valores mantiveram-se constantes até os 12 meses de acompanhamento. Aos 12 meses, foi observado uma melhora nos parâmetros ósseo estatisticamente significativa no grupo controle (*baseline* $6,2 \pm 1$ mm x 12 meses $5,7 \pm 0,6$ mm) ($p = 0,008$). No grupo teste houve um ganho ósseo (*baseline* $6 \pm 0,8$ mm x 12 meses $5,9 \pm 0,6$ mm) ($p > 0,5$). A análise imunológica mostrou uma redução significativa nos níveis de IL6 e OC em ambos os grupos, após 1 ano de tratamento. No entanto, no grupo teste houve uma redução significativa de Leptina ($p = 0,05$) e uma tendência a uma redução dos níveis de OPN ($p = 0,08$). Concluindo, a terapia peri-implantar cirúrgica levou a uma melhora significativa dos parâmetros clínicos periimplantares após 1 ano, um ganho ósseo no grupo controle e uma redução de biomarcadores em ambos grupos. O uso adicional da terapia fotodinâmica ao acesso cirúrgico não ofereceu resultados superiores aos observados no grupo somente com acesso cirúrgico.

Palavras-chave: Peri-implantite. Tratamento cirúrgico. Citocinas. Biomarcadores. Reabsorção óssea.

ABSTRACT

BIANCHINE DE MOURA, Guilherme. **Clinical, radiographic and immunological effects of surgical treatment associated with photodynamic therapy with 0.2% toluidine blue in peri-implantitis**: randomized 1-year longitudinal clinical study. 2020. 94f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

The aim of the present study was to evaluate the clinical, radiographic and immunological effects of surgical treatment for peri-implantitis after 1 year. Twenty-one patients with peri-implantitis participated in this study (mean age $56.0 \pm SD 9.6$ years). Patients were divided into a test and control group at random. The following clinical parameters were used: probing depth (PS); plaque index (PI) and probing bleeding index (BOP). Periapical radiography was used as a baseline and 1-year radiographic parameter. Peri-implant fluid samples were collected with periopaper and frozen at $-70^{\circ} C$ for further analysis. Bone metabolism biomarkers included TNF- α , SOST, PTH, OPG, OPN, OC, Leptin, IL-6, IL-1 β FGF-23. Patients in both groups received peri-implant surgical treatment for scaling. The test group underwent a photodynamic therapy with 0.2% toluidine blue, in which pulsed infrared radiation is emitted at a wave length of 2.94 μm . The laser parameters were set at 100 mJ/pulse (12.7 J/cm 2) and 10 pps (pulse energy at the tip: about 85 mJ/pulse). Clinical data were collected in four visits in both groups (baseline, 3 months, 6 months and 1 year). Radiographic and immunological data were collected (baseline and 1 year). Biomarkers were measured using a multiplex immunoassay. The results showed a significant reduction in clinical parameters 3 months after treatment, in both groups. In the baseline, the control group presented the values of PBS 8.5 mm \pm 0.9, ISS 100%, ISG 100% VPI 100%, while the test group presented PBS 8.6 mm \pm 0.700%, ISS 100% and ISG 100%. After 3 months, the average values of PBS, ISS, ISG and VPI were 5.7 mm \pm 0.5, 11%, 100% and 0% in the control group and 5.7 mm, 8%, 100% and 0% in the test group ($p < 0.05$). These values remained constant until the 12-month follow-up, at which point a statistically significant bone gain was observed in the control group (baseline 6.2 ± 1 mm x 12 months 5.7 ± 0.6 mm) ($p = 0.008$). In the test group there was a bone gain (baseline 6 ± 0.8 mm x 12 months 5.9 ± 0.6 mm) ($p > 0.5$). The immunological analysis showed a significant reduction in the levels of IL6 and OC in both groups, after 1 year of treatment. However, in the test group there was a significant reduction in Leptin ($p = 0.05$) and a tendency towards a reduction in OPN levels ($p = 0.08$). In conclusion, peri-implant surgical therapy led to a significant improvement in peri-implant clinical parameters after 1 year, a bone gain in the control group, and a reduction in biomarkers in both groups. The additional use of photodynamic therapy for surgical treatment in the test group did not present superior results to those observed in the control group.

Keywords: Peri-implantitis. Surgical treatment. Cytokines. Biomarkers. Bone resorption.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – <i>Box plot</i> dos biomarcadores IL-6 e Leptina comparando o estudo longitudinal (intragrupo – visitas <i>baseline</i> e 1 ano) e o estudo transversal (entre os grupos teste e controle).....	62
Gráfico 2 – <i>Box plot</i> dos biomarcadores OC e OPG comparando o estudo longitudinal (intragrupo – visitas <i>baseline</i> e 1 ano) e o estudo transversal (entre os grupos teste e controle)	62
Gráfico 3 – <i>Box plot</i> dos biomarcadores OPN e PTH comparando o estudo longitudinal (intragrupo – visitas <i>baseline</i> e 1 ano) e o estudo transversal (entre os grupos teste e controle).....	63
Gráfico 4 – <i>Box plot</i> dos biomarcadores SOST e TNF- α comparando o estudo longitudinal (intragrupo – visitas <i>baseline</i> e 1 ano) e o estudo transversal (entre os grupos teste e controle).....	63

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Bolsa Peri-implantar	29
Figura 2 –	Mecanismo da aPDT	32
Figura 3 -	Sistema RANK, RANKL, OPG	36
Figura 4 –	Regulação de interleucinas na degradação da matrix de colágeno e reabsorção óssea	43
Quadro-	Biomarcadores do metabolismo ósseo na DP	44
Figura 5 –	Sondagem Peri-implantar	49
Figura 6 –	Defeito Ósseo Peri-implantar	51
Figura 7 -	<i>Human Bone Magnetic Bead Panel (HBNMAG-51K) - Bone Metabolism Multiplex Assay</i>	53
Figura 8 -	Lavadora automática da microplaca	54
Figura 9 -	Agitador orbital digital para microplaca MTS 2/4	55
Figura 10 -	Analisador Multplex	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise descritiva das variáveis qualitativas demográficas e análise de associação das variáveis qualitativas demográficas dos grupos teste e controle	58
Tabela 2 – Análise descritiva das variáveis quantitativas de IPV, ISS, PBS e Nível Ósseo dos grupos teste e controle	60
Tabela 3 – Quantificação dos biomarcadores (picogramas/ml) nas visitas do grupo teste, expressos em mediana/intervalo interquartil ...	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aa	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
AAP	Academia Americana de Periodontia
aPDT	Terapia fotodinâmica antimicrobiana
BOP	Índice de Sangramento Gengival
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DMO	Densidade mineral óssea
DP	Doença periimplantar
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FGF-23	Fator de Crescimento Fibroblástico 23
FGC	Fluido Gengival Crevicular
GCs	Glicocorticoides Crônicos
ICT	Infiltrado inflamatório
IFN- γ	interferon-gamma
IFN- α	Interferon alfa
IFN- β	Interferon beta
IG	Índice Gengival
IL	Interleucina
IL-10	Interleucina 10
IL-17	Interleucina 17
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IPV	Índice de placa visível
ISS	Índice de sangramento à sondagem
Leptin	Leptina
LPS	Lipopolissacarídeo
MMPs	Metaloproteinases da matriz
OC	Osteocalcina
OPG	Osteoprotegerina
OPGL	Ligante da Osteoprotegerina

OPN	Osteopontina
PBS	Profundidade de Bolsa à Sondagem
PG	<i>Porphyromona gengivalis</i>
PGE2	Prostaglandina E2
PTH	Paratormônio
RANK	Receptor ativador do fator nuclear kappa B
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B
SNC	Sistema nervoso central
SOST	Esclerostina
Th1	Linfócito T1
Th2	Linfócito T2
Th17	Linfócito T17
TIMPs	Inibidor Tecidual da Metaloproteinase
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
Tregs	Linfócito T Regulatório
TRH	Terapia de reposição hormonal
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro

LISTA DE SÍMBOLOS

A	Alfa
H ₂ O	Molécula da água
%	Porcentagem
<	Menor
N	Número
Mm	Milímetro
>=	Maior ou igual
CO ₂	Gás Carbônico
OH	Hidroxila
nm	Nanômetro
β	Beta
>	Maior
kDa	g/mol
OH-D ₃	25 OH vitamina D ₃ sigma
+	Mais
<=	Menor ou igual
μL	Microlitro
mJ	Mega Joules
cm ²	Centímetros quadrados
μ	Micrômetro
×	Multiplicação
ml	Mililitro
pg/ml	Picogramas/mililitro
±	Mais ou menos
μm	Micrômetro
mg/mL	Miligramas por litro

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	17
1	REVISÃO DE LITERATURA	20
1.1	Epidemiologia	20
1.2	Mucosa Periimplantar	22
1.3	Classificação	24
1.4	Doença Periodontal e Doença Peri-implantar	27
1.5	Tratamento da Doença Peri-implantar	29
1.6	Terapia Fotodinâmica na Perii-implantite	30
1.7	Metabolismo Ósseo	32
1.8	Biomarcadores do Metabolismo Ósseo na Doença Peri-implantar	35
1.8.1	<u>Receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANK), Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANKL) e Osteoprotegerina (OPG)</u>	35
1.8.2	<u>Osteocalcina (OC)</u>	37
1.8.3	<u>Osteopontina (OPN)</u>	37
1.8.4	<u>Leptina(Leptin)</u>	38
1.8.5	<u>Fator de Crescimento Fibroblástico 23 (FGF-23)</u>	38
1.8.6	<u>Paratômonio (PTH)</u>	39
1.8.7	<u>Esclerotina (SOST)</u>	40
1.8.8	<u>Interleucina 6 (IL-6)</u>	41
1.8.9	<u>Interleucina 1 beta (IL-1β)</u>	41
1.8.10	<u>Fator de necrose tumoral alfa (TNF-α)</u>	42
2	PROPOSIÇÃO	45
3	MATERIAIS E MÉTODOS	46
3.1	Desenho do Estudo	46
3.2	Seleção dos Pacientes	46
3.3	Critérios de Inclusão	47
3.4	Critérios de Exclusão	47
3.5	Calibragem dos Examinadores	48
3.6	Medidas Clínicas	48
3.7	Medidas Radiográficas	49

3.8	Coleta do Flúido Gengival Crevicular.....	50
3.8.1	<u>Protocolo Pós-operatório</u>	52
3.9	Ensaio Multiplex	52
3.10	Análise Estatística.....	56
4	RESULTADOS	58
4.1	Dados Demográficos	58
4.2	Dados Clínicos e Radiográficos.....	58
4.3	Biomarcadores	61
4.4	Gráficos	62
5	DISCUSSÃO	64
	CONCLUSÃO.....	69
	REFERÊNCIAS	70
	APÊNDICE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	92
	ANEXO - Comitê de Ética em Pesquisa	93

INTRODUÇÃO

As doenças peri-implantares (DP) são classificadas em mucosite e periimplantite. A mucosite é semelhante à gengivite, e é definida como uma inflamação limitada aos tecidos moles ao redor do implante e clinicamente apresenta sangramento à sondagem sem perda óssea. A peri-implantite correspondente à periodontite. Os principais achados clínicos são perda óssea marginal ao exame radiográfico, sangramento à sondagem e/ou supuração^{1,2}.

O acúmulo de bactérias na superfície do implante desempenha um papel importante na etiologia da peri-implantite³. Os microrganismos essenciais para o desenvolvimento de infecções em torno de implantes dentários parecem semelhantes aos microrganismos causadores de doenças periodontais. O biofilme subgengival contém uma grande variedade de bastonetes anaeróbios gram-negativos, bactérias fusiformes, bastões móveis e curvos, assim como espiroquetas⁴ e grandes quantidades de células inflamatórias densamente compactadas que frequentemente são acompanhadas por um defeito ósseo em forma de cratera no implante^{5,6}. Assim como na periodontite, os patógenos e seus fatores de virulência estimulam a liberação de biomarcadores inflamatórios pelas células inflamatórias. Entre os biomarcadores, as citocinas pró-inflamatórias tais como fator de necrose tumoral α (TNF- α), interferon, interleucinas (IL) -1b, IL-6, IL-12, IL-17 e ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANKL), as interleucinas anti-inflamatórias, tais como IL-4, IL-10 e IL-1 antagonista do receptor, e outras interleucinas, tais como proteína quimioatraente de monócitos e a proteína inflamatória de macrófago têm sido sugeridas como importantes mediadores da inflamação e da imunidade na patogênese da peri-implantite⁷.

Os mecanismos moleculares por trás da interação célula-célula que regulam a reabsorção óssea foram elucidados no final da década de 1990. O RANKL, um membro da superfamília do ligante TNF- α , foi identificado como um fator ligado à membrana celular responsável pela estimulação da diferenciação de osteoclastos e da reabsorção óssea⁸. O RANKL é secretado por osteoblastos, fibroblastos ou células T e B ativadas. Ao ativar o seu receptor ativador do fator de nuclear kappa B (RANK) cognato na superfície dos pré-osteoclastos, desencadeia a sua fusão e diferenciação em osteoclastos maduros, ativando assim a reabsorção óssea⁹. A

produção de RANKL e Osteoprotegerina (OPG) por vários tipos de células é controlada por estímulos sistêmicos e locais, incluindo hormônios, mediadores inflamatórios e produtos bacterianos¹⁰⁻¹².

Portanto, a avaliação dessas interleucinas no fluido gengival crevicular (GCF) tem sido proposta como um meio não invasivo de monitorar o estado saudável ou doente dos tecidos peri-implantares, bem como a resposta local dos tratamentos¹³⁻¹⁵.

O objetivo da terapia da periimplantar é a descontaminação das superfícies dos implantes e diversos tratamentos já foram propostos na literatura^{16,17}. A limpeza dessas superfícies pode ser realizada através de procedimentos mecânicos, tais como o uso de curetas, ultrassom e jato de bicarbonato. Outra possibilidade é o uso de agentes químicos, como ácido cítrico, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), digluconato de clorexidina e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), em associação com antibióticos locais ou sistêmicos¹⁸⁻²⁰.

A terapia cirúrgica ressetiva tem sido descrita como uma opção no tratamento da peri-implantite com o propósito de reduzir a profundidade da bolsa à sondagem, diminuindo o defeito ósseo e reposicionando apicalmente a margem da gengiva²¹⁻²³.

O uso do laser surge como uma alternativa na descontaminação das superfícies dos implantes. Os mais utilizados são o laser diodo e o laser de érbio devido as suas propriedades hemostáticas, ablação por cálculo seletivo e efeitos bactericidas²⁴. Outra alternativa para a descontaminação da superfície do implante dentário em associação com o tratamento cirúrgico, é a terapia fotodinâmica (aTFD), que inclui o uso de um laser de diodo de baixa potência em combinação com compostos fotossensibilizantes. Esses componentes estão ligados à membrana bacteriana equando excitados, reagem com o substrato. Na presença de oxigênio, o fotossensibilizador liga-se às células alvo quando é irradiado através da luz com comprimento de onda específico, e sofre uma transição de um estado fundamental de baixa energia para um estado excitado singleto. Assim, o oxigênio singleto e outros agentes muito reativos são produzidos, que são tóxicos para essas células alvo²⁵.

Os estudos que avaliaram os efeitos da Terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) são de dois tipos cirúrgicos e não cirúrgicos. Quando associado ao tratamento não cirúrgico foi observada uma redução de profundidade de sondagem (PBS) de 2-3 mm, tanto no grupo controle quanto no grupo teste, após 6 meses de tratamento²⁶. No caso de associação com o tratamento cirúrgico de acesso para

raspagem, os autores relataram uma melhora significativa na PBS após seis meses de tratamento. Quando foi comparado com as radiografias iniciais com as finais o grupo teste teve uma perda de 1mm e o grupo controle de 0,3 mm²⁷. Mas, apesar da melhora clínica significativa promovida pela aPDT no tratamento da peri-implantite, os resultados até o momento não são superiores aos tratamentos convencionais.

O objetivo deste estudo clínico randomizado foi avaliar longitudinalmente (1 ano) a resposta clínica, radiográfica e imunológica do tratamento da periimplantite com acesso cirúrgico associado ao uso de terapia fotodinâmica com o reagente azul de toluidina 0,2%.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Epidemiologia

A periodontite afeta mais de 50% da população adulta e a sua forma mais severa afeta 11%, tornando a periodontite com perda de inserção severa a 6ª doença mais prevalente da humanidade²⁸.

Os sítios afetados pela peri-implantite exibem sinais clínicos de inflamação, tais como sangramento a sondagem e/ou supuração, aumento da profundidade de sondagem e/ou recessão da margem gengival e perda óssea na radiografia. Um indicador da gravidade da doença é o aumento da profundidade de sondagem relacionada com a perda óssea²⁹.

A prevalência de mucosite em torno de 50% dos pacientes com implantes, enquanto a prevalência de periimplantite é entre 28% e 56% dos pacientes³⁰. A variação encontrada entre diferentes estudos para prevalência de periimplantites pode ser explicada por exemplo por questões metodológicas, como o uso de diferentes definições para periimplantite³¹. As estimativas de prevalência da peri-implantite podem ser muito diferentes dependendo da unidade de análise. Alguns estudos usam o implante como unidade para relatar os resultados do tratamento, enquanto outros usam o paciente como unidade de análise³⁰. O uso de diferentes pontos de corte para os registros clínicos (perda óssea, índice de sangramento gengival, profundidade de sondagem) pode levar a valores diferentes em relação à prevalência de periimplantite na mesma coorte de pacientes³². Revisões sistemáticas e documentos consensuais relataram que a prevalência de peri-implantite gira em torno de 20% de todos os pacientes tratados com implantes e 10% de todos os implantes^{21,33-34}.

Alguns autores sugeriram definições para direcionar futuras pesquisas sobre a presença ou ausência de doença periodontal^{37,38}. Nos estudos sobre prevalência da doença com ausência de radiografias iniciais, a presença de inflamação clínica associado à perda óssea foi estabelecida como um limiar para definir se o paciente apresenta peri-implantite³⁵. Para os estudos com radiologias iniciais, na presença de inflamação, o limiar de perda óssea foi de 1 a 2 mm. Alguns estudos incluídos nesta

revisão aplicaram definições de casos que estavam de acordo com as novas recomendações do nível ósseo³⁶ e de perda óssea^{37,38}.

De acordo com a nova classificação das doenças e condições periodontais e peri-implantares³¹, o diagnóstico de peri-implantite é confirmado por: a) presença de sangramento e/ou supuração à sondagem; b) aumento da profundidade de sondagem comparado com os exames prévios; c) presença de perda da crista óssea no exame radiográfico. Na ausência de exames prévios, o diagnóstico pode ser baseado na combinação da presença de sangramento e/ou supuração à sondagem, profundidade de sondagem \geq 6mm e nível ósseo de 3mm apical à porção mais coronal da parte intraóssea do implante.

Os fatores de risco são fatores relacionados ao indivíduo e podem influenciar a susceptibilidade do paciente à doença, tais como história da doença periodontal^{38,39}, predisposição genética⁴⁰, tabagismo⁴¹, estado geral de saúde⁴², diabetes mellitus³⁶ e a motivação do indivíduo na terapia periodontal de suporte^{41,43}. Para evitar o desenvolvimento de peri-implantite, tem sido proposto que pacientes com implantes dentários devem ser incluídos em um programa de manutenção de maneira similar aos pacientes periodontais³⁸.

O tabagismo está associado a uma maior prevalência e gravidade da DP e é considerado um fator de risco para a perda óssea em torno dos implantes⁴⁴⁻⁴⁷. Nos fumantes, foi relatada maior perda óssea marginal com efeitos negativos no processo de cicatrização⁴⁸.

Com a percepção de que a resposta inflamatória do hospedeiro individual é o principal promotor de várias doenças e condições crônicas, incluindo diabetes⁴⁹ e periodontite crônica⁵⁰⁻⁵². A hiperglicemia pode ser potencialmente importante no desenvolvimento de complicações biológicas dos implantes dentários, principalmente com maior gravidade no diabetes mal controlado⁵³.

A peri-implantite se assemelha a periodontite através de um processo destrutivo iniciado pelo biofilme e mediado pelo hospedeiro. Os fatores locais, sistêmicos e ambientais modificáveis e não modificáveis são influenciadores⁵⁴⁻⁵⁷ apresentando degradação do tecido conjuntivo e perda óssea^{58,59}.

Quando o implante dentário é exposto na cavidade bucal ocorre a colonização microbiana da sua superfície⁶⁰. Em um estudo⁶¹, a falta de higiene bucal foi associada à inflamação e perda óssea periimplantar. Com uma amostra de 47 pacientes (23 indivíduos com boa higiene bucal e 24 indivíduos com má higiene

bucal) a perda óssea ao redor dos implantes progrediu ao longo de 10 anos. A perda óssea foi encontrada em média de 0,7 mm no grupo com boa higiene bucal e 1,7 mm no grupo com má higiene bucal.

1.2 Mucosa Perimplantar

A saúde peri-implantar compartilha muitas características clínicas comuns com a saúde periodontal. As grandes diferenças estruturais entre os dois cenários estão na sua relação com os tecidos circundantes e à inserção conjuntiva⁶². Os tecidos periimplantares são aqueles ao redor dos implantes dentários osseointegrados e são divididos em tecidos moles e duros. Os tecidos moles são definidos como “mucosa peri-implantar”. São formados durante o processo de cicatrização da ferida que ocorre após a colocação do implante e do pilar protético⁶³.

A maioria das informações sobre as características estruturais da mucosa periimplantar é originária dos estudos em animais⁶⁴⁻⁷⁵. Em pesquisas prévias foi demonstrado que a mucosa peri-implantar teve uma média de cerca de 3 a 4 mm de altura quando medida da margem da mucosa até a crista óssea peri-implantar. A mucosa contém um núcleo de tecido conjuntivo, composto principalmente de fibras colágenas e elementos da matriz (85%), poucos fibroblastos (3%) e unidades vasculares (5%). A superfície do tecido conjuntivo é coberta por um epitélio frequentemente ortoqueratinizado. O sulco periimplantar contém duas partes distintas, uma porção "coronal" revestida por um epitélio de barreira fina (semelhante ao epitélio juncional da gengiva), e um epitélio sulcular com um segmento mais “apical” no qual o tecido conjuntivo parece estar em contato direto com a superfície do implante^{76,77}. Esta porção apical da mucosa periimplantar é denominada zona de adesão do tecido conjuntivo. No tecido conjuntivo imediatamente lateral à barreira e ao epitélio sulcular está presente um delicado complexo de estruturas vasculares, semelhante ao plexo vascular dentogengival. A zona de adesão do tecido conjuntivo parece abrigar apenas quantidades limitadas de estruturas vasculares. Os principais feixes de fibras colágenas são ancorados no osso crestal e se estendem em uma direção marginal paralela à superfície do implante. As fibras circulares também podem estar presentes nesse tipo de mucosa peri-implantar^{76,77}.

A superfície externa da mucosa peri-implantar é revestida por um epitélio oral queratinizado estratificado que é contínuo com um epitélio juncional ligado à superfície do implante por uma lâmina basal e por hemidesmossomos. O epitélio juncional não queratinizado de 2mm de comprimento tem apenas algumas camadas celulares espessas na porção apical e são separadas do osso alveolar de tecido conjuntivo rico em colágeno. Essa barreira biológica é formada independentemente da espessura da mucosa protegendo a zona de osseointegração de subprodutos bacterianos⁶⁹.

Diferente da gengiva ao redor dos dentes, o compartimento do tecido conjuntivo entre o epitélio juncional e o osso alveolar consiste em um tecido conjuntivo semelhante a uma cicatriz, desprovido de estruturas vasculares, com maiores quantidades de colágeno e poucos fibroblastos⁷⁷.

A barreira rica em fibroblastos próxima à superfície do implante apresenta alta rotatividade de células e os fibroblastos podem desempenhar um papel importante no estabelecimento e na manutenção do selamento biológico. Por exemplo, na mucosite peri-implantar, um infiltrado inflamatório se forma no tecido conjuntivo em resposta à colonização microbiana ao redor do implante⁷⁸. O infiltrado representa a resposta do hospedeiro ao acúmulo bacteriano prolongado e a sua proliferação em direção apical. A mucosa periimplantar é semelhante à gengiva ao redor dos dentes em relação a sua função e resposta do hospedeiro à infecção⁷⁹.

Um infiltrado celular inflamatório foi encontrado em tecidos clinicamente saudáveis na gengiva e na mucosa periimplantar⁸⁰. Os resultados de análises imuno-histoquímicas e morfológicas mostraram que células inflamatórias (neutrófilos, linfócitos, macrófagos e células plasmáticas) estão presentes. E a adaptação funcional do epitélio juncional do implante ocorrediferente daquela ao redor dos dentes.

A gengiva queratinizada não está presente em todos os locais do implante. E se estende da margem gengival até a linha mucogengival. É composta por uma lâmina própria (tecido conjuntivo fibroso que contém fibroblastos e quantidades iguais de colágeno tipo I e III) e coberta por um epitélio escamoso queratinizado^{81,82}.

A necessidade de uma quantidade mínima de gengiva queratinizada para manter a saúde dos tecidos periimplantares é uma questão controversa^{83,84}. Alguns estudos falharam em associar a falta de uma quantidade mínima à inflamação⁸⁵⁻⁸⁷, enquanto outros estudos sugeriram que o acúmulo de biofilme e a inflamação

marginal são mais frequentes nos locais dos implantes com menos de 2 mm de gengiva queratinizada^{88,89}.

O compartimento do tecido duro forma uma relação de contato com a superfície do implante para garantir a sua estabilidade⁹⁰. A gengiva queratinizada protege o osso subjacente, enquanto o osso sustenta o implante.⁹¹

Em um estudo envolvendo indivíduos parcialmente desdentados, foram coletadas biópsias de tecidos duros da maxila e da mandíbula com o uso de brocas de trefina. O tecido ósseo inclui uma mistura de osso principalmente lamelar (46%) e medula óssea (23%) com menos quantidades de tecido fibroso (12%) e osteoide (4%). A medula óssea foi o elemento tecidual dominante na maxila anterior, enquanto o osso lamelar denso caracterizou a porção anterior da mandíbula. O osso cortical é composto por osso lamelar e é mais largo na mandíbula do que na maxila (1,8 mm x 0,8 mm, respectivamente). Sendo mais estreito na região anterior da maxila quando comparada com a região anterior da mandíbula⁹².

A ausência do ligamento periodontal ao redor dos implantes e o desenho da prótese dificulta a realização de avaliações das medidas de profundidade de sondagem em implantes dentários⁹³.

1.3 Classificação

O termo "peri-implantite" foi usado pela primeira vez em 1965 por Jacques Levignac⁹⁴ no seu artigo "osteólise peri-implantação-peri-implantose- peri-implantopatia". Nesse artigo, os implantes com rosca do tipo calcináveis ainda não estavam em uso. Em 1987, Mombelli et al.⁴ sugeriram que a "peri-implantite fosse considerada uma infecção específica do local".

Os critérios para o diagnóstico da DP foram descritos por Heitz-Mayfield^{95,96} e incluem parâmetros clínicos de sondagem (PBS e ISS) e parâmetros radiográficos. A Academia Americana de Periodontia (AAP) definiu a mucosite peri-implantar como uma inflamação nos tecidos moles ao redor do implante dentário, sem perda óssea adicional. Após a colocação da prótese sobre implante definitiva¹ o remodelamento ósseo inicial pode ocorrer durante a cicatrização²⁹.

O principal parâmetro para o diagnóstico da mucosite peri-implantar é o sangramento a sondagem ($<0,25\text{ N}$)³⁰. Na comparação entre as doenças, a mucosite peri-implantar é a precursora da peri-implantite e a gengivite da periodontite. A mucosite peri-implantar é caracterizada por sangramento à sondagem e sinais visuais de inflamação⁹⁷.

A peri-implantite pode ser definida como uma condição patológica que ocorre nos tecidos ao redor dos implantes dentários, sendo caracterizada pela inflamação na mucosa peri-implantar e perda de ósseo alveolar. Ela foi definida como uma condição patológica associada ao biofilme que ocorre no tecido ao redor dos implantes dentários. Caracterizada por inflamação na mucosa peri-implantar e subsequente perda progressiva do osso de suporte⁹⁸. Na progressão da doença temos a mucosa peri-implantar saudável até a mucosite peri-implantar e a peri-implantite²⁸.

A nova classificação das condições e doenças periodontais e peri-implantares define as características clínicas da mucosite peri-implantar com um sangramento à sondagem. O eritema, o edema e/ou supuração também podem estar presentes. Os sinais clínicos de inflamação são necessários para o diagnóstico de mucosite periimplantar. Um aumento na profundidade à sondagem é frequentemente observado na presença de mucosite peri-implantar devido ao inchaço ou diminuição da resistência à sondagem. Existem fortes evidências de estudos experimentais em animais e humanos de que a biofilme é o fator etiológico da mucosite peri-implantar²⁹.

A peri-implantite é uma condição patológica associada ao biofilme que ocorre nos tecidos ao redor dos implantes dentários, caracterizada por inflamação na mucosa peri-implantar e subsequente perda progressiva do osso de suporte²⁹. Estudos observacionais de que os pacientes que exibem um controle inadequado do biofilme e não fazem terapia de manutenção regular têm maior risco de desenvolver periimplantite. Os locais com periimplantite exibem sinais clínicos de inflamação, sangramento na sondagem e/ou supuração, profundidades de sondagem aumentadas e/ou recessão da margem mucosa, além de perda óssea radiográfica em comparação com exames anteriores. Nos locais com peri-implantite, a profundidade da sondagem está correlacionada com a perda óssea e, portanto, é um indicador da gravidade da doença⁹⁹.

A periimplantite, na ausência de tratamento, pode progredir em um padrão não linear e acelerador. Os estudos sugerem que a progressão da periimplantite parece ser mais rápida do que a observada na periodontite. O risco aumentado de desenvolver periimplantite em pacientes com histórico de periodontite grave, mau controle da placa e nenhum cuidado de manutenção regulares após a terapia com implantes⁹⁹.

A periimplantite está associada à presença de cimento submucoso nas restaurações e ao posicionamento de implantes que não facilitam a higiene e a manutenção bucal. Ainda precisa ser determinado o papel da mucosa queratinizada periimplantar sobre a sobrecarga oclusal, partículas de titânio liberadas, necrose de compressão óssea, superaquecimento, micromoção e biocorrosão como indicadores de risco para periimplantite.^{29,99}

A mucosite periimplantar precede a periimplantite. A periimplantite foi associada ao mau controle da placa e a pacientes com histórico de periodontite. O início da periimplantite pode ocorrer precocemente após a colocação do implante¹⁰⁰.

Um critério necessário para o diagnóstico de periimplantite na cicatrização inicial consistiu na perda óssea adicional que pode ocorrer só até 5 mm como avaliado em radiografias periapicais, sem contabilizar a perda óssea inicial (associada à remodelação), usando o nível da plataforma do implante como referência. O padrão de perda óssea variou entre 1,8 a 4,5 mm para diagnosticar o implante com periimplantite⁶².

Nos últimos 10 a 15 anos ocorreu um consenso de que após o primeiro ano de função da prótese a perda óssea ≥ 2 mm nos implantes dentários representa periimplantite.¹⁰¹⁻¹⁰³ A literatura relata que o padrão de perda óssea não é linear^{104,105} e o padrão de desenvolvimento da periimplantite surge nos primeiros anos após o implante ser posto em oclusão. É importante monitorar as mudanças em torno dos implantes dentários na fase inicial restauradora, avaliando clinicamente se existe presença de sangramento à sondagem/supuração e radiograficamente a evidência de perda óssea³⁷.

A experiências sobre a progressão da periodontite só podem ser extrapoladas para a periimplantite com extremo cuidado. A progressão da periodontite é imprevisível, pois as lesões alteram as fases de latência e picos de atividade da doença podendo ser lentas ou rápidas³⁷.

1.4 Doença Periodontal e Doença Peri-implantar

As complicações biológicas peri-implantares têm muitos aspectos em comum com as doenças periodontais. A aparência clínica e a patogênese têm uma etiologia comum, o biofilme bucal disbiótico. Grandes semelhanças e algumas discrepâncias foram identificadas nos sítios de peri-implantites e periodontite¹⁰⁶.

Em condições saudáveis, a microflora peri-implantar consiste principalmente de bacilos gram-positivos e bacilos sem mobilidade, com apenas um pequeno número de espécies anaeróbicas gram-negativas, que é semelhante à microflora encontrada em dentes saudáveis. Na mucosite peri-implantar, observa-se um aumento no número de cocos, bacilos móveis e espiroquetas, semelhante à gengivite. Na peri-implantite observam-se números aumentados de espécies gram-negativas, móveis e anaeróbicas (incluindo as três espécies do complexo vermelho *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*) que é semelhante à periodontite. Os microrganismos que não aparecem comumente em sítios de periodontite, como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* foram identificados em locais de peri-implantite¹⁰⁷.

Os estudos pré-clínicos *in vivo* e estudos clínicos demonstraram que o acúmulo e a maturação do biofilme nos implantes levam à inflamação do tecido mole peri-implantar. Inicialmente, surge a mucosite peri-implantar e depois a peri-implantite com características histopatológicas e imunológicas semelhantes às observadas durante o desenvolvimento de gengivite e periodontite em torno dos dentes¹⁰⁸⁻¹⁰⁹.

As lesões peri-implantares estabelecidas são caracterizadas por um infiltrado inflamatório contendo células T e B, neutrófilos e macrófagos, semelhante às lesões ao redor dos dentes. As diferenças distintas entre as lesões peri-implantares ocupam um volume maior e contêm um maior número de células inflamatórias em comparação com as lesões periodontais, e as lesões periimplantares são localizadas mais próximas ou diretamente no osso. A zona de tecidos mais saudáveis entre a lesão inflamatória e o osso em lesões de periodontite são mais distantes¹⁰⁹.

Os marcadores inflamatórios estão presentes em níveis mais altos em lesões peri-implantes do que em tecidos peri-implantares saudáveis, similarmente às observações quando comparadas as condições inflamatórias periodontais com

condições saudáveis foram observadas concentrações mais altas de marcadores inflamatórios em lesões peri-implantares em comparação com as lesões periodontais¹¹⁰⁻¹¹¹.

A infecção peri-implantar é um evento secundário após a falha na osseointegração. A possibilidade não deve ser excluída de que alguns implantes podem falhar por outras razões além da infecção¹¹². Outra hipótese relata uma condição livre de inflamação no implante em analogia com o que pode ser esperado em dentes naturais, uma condição que pode ser questionada em relação à inflamação crônica do corpo estranho que é inevitável em torno dos implantes orais. As teorias estão relacionadas à origem dos microrganismos envolvidos como uma infecção a partir do momento da colocação do implante ou uma infecção mediada por biofilme originária da margem do tecido mole. O biofilme entre a interface, o corpo do implante e o pilar protético tem sido outra fonte de desenvolvimento infeccioso¹¹³.

A infecção é mediada por um biofilme disbiótico e a causa da perda óssea marginal nos implantes prolonga essa inflamação nos tecidos. O biofilme nos componentes protéticos do implante e na margem do tecido mole induz à uma inflamação podendo ser reduzida com a remoção do biofilme^{78,114}.

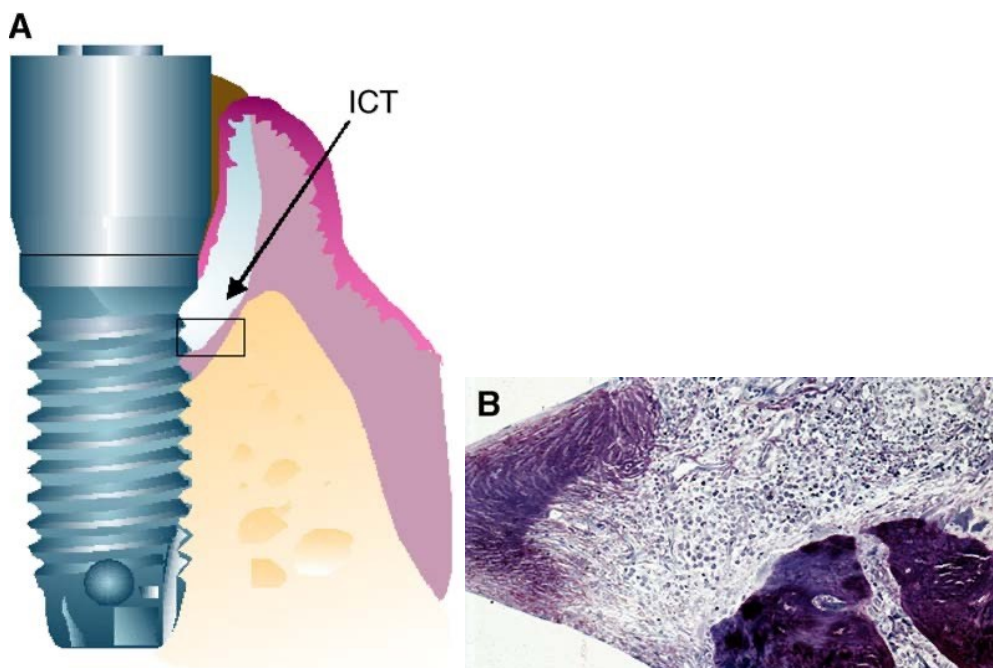
Estudos histológicos em cães demonstraram o tamanho e a composição semelhantes em um infiltrado inflamatório como resposta à formação de biofilme nos dentes e implantes após três semanas. O implante possui uma interface de tecido ósseo, com apenas uma pequena vascularização e total falta de inervação, em contraste com o dente onde tem abundante vascularização e inervação do ligamento periodontal⁷⁸.

O tecido ósseo ao redor de um implante é desprovido de circulação sanguínea em comparação com a osso ao redor do dente que possui um plexo subepitelial e dentogengival e os vasos sanguíneos são formados na borda externa da cápsula óssea, e o implante é osseointegrado (anquilose funcional), enquanto o dente é móvel, possui ligamentos¹¹⁵.

1.5 Tratamento da Doença Periimplantar

A bolsa peri-implantar fica mais profunda à medida que a doença progride e o osso reabsorve, levando também ao edema e crescimento epitelial. Essa PBS aumentada é devido à estrutura da superfície do implante, ao design do implante e a supraestrutura protética podendo impedir o eficaz debridamento não cirúrgico do implante. A terapia não cirúrgica deve sempre ser realizada antes de qualquer intervenção cirúrgica dando tempo para avaliar a resposta de cicatrização dos tecidos e a capacidade do paciente de executar medidas eficazes de higiene bucal, com a possibilidade da terapia não cirúrgica ser eficaz sem a necessidade da terapia cirúrgica¹¹⁶(Figura 1).

Figura 1 - Bolsa Peri-implantar



Legenda: (A) Ilustração esquemática de uma lesão do tipo peri-implantite. Observe a extensão apical do infiltrado celular inflamatório (ICT); (B) Seção histológica de uma lesão do tipo peri-implantite experimental que ilustra a área delineada em A. Observe as células inflamatórias próximas ao osso e os osteoclastos na superfície óssea.

Fonte: Klinge et al.¹.

Quando a terapia não cirúrgica não é suficiente no tratamento das lesões peri-implantares será indicada a terapia cirúrgica. O principal objetivo será fornecer acesso para a remoção do biofilme e depósitos calcificados na superfície do implante, desencadeando a resolução da inflamação e reduzindo o risco de maior progressão da doença. Após o debridamento cirúrgico ao redor do implante será realizada a descontaminação mecânica para remover o biofilme e os depósitos mineralizados na superfície do implante¹¹⁷.

O uso de uma escova rotatória de titânio já foi proposta¹¹⁷⁻¹¹⁹. O jato de bicarbonato de sódio para a descontaminação das superfícies dos implantes durante a cirurgia pode ser utilizado, mas é recomendado cautela devido ao risco de desenvolver enfisema subcutâneo. Vários outros métodos de descontaminação foram utilizados como coadjuvantes na cirurgia cirúrgica ressetiva ou regenerativa tais como o uso de lasers e a implantoplastia da parte exposta do implante¹²⁰⁻¹²².

A decisão de usar uma técnica cirúrgica ressetiva ou regenerativa depende da condição clínica. Mesmo que a cirurgia seja a terapia de escolha, a terapia não cirúrgica deve sempre ser realizada previamente. Essa fase preparatória permite a avaliação da capacidade do paciente de realizar uma boa higiene bucal¹²³.

1.6 Terapia Fotodinâmica na Peri-implantite

O uso de laser foi testado na descontaminação da superfície de implantes. Os mais usados são os lasers de baixa potência como CO₂¹²⁴, laser de diodo e laser érbio devido à sua capacidade de obter hemostasia, ablação de cálculo e ação bactericida. Os lasers de maior potência são caros e podem incentivar um aumento indesejável da temperatura e das alterações na superfície do implante^{125,126}. Os lasers como cromo érbio: ítrio, escândio, gálio e granada são altamente absorvidos pelos íons OH em comparação com as moléculas de água e foram usados anteriormente para remover depósitos calcificados, como cálculo, sem alterar as superfícies dos dentes e implantes^{127-129,130}.

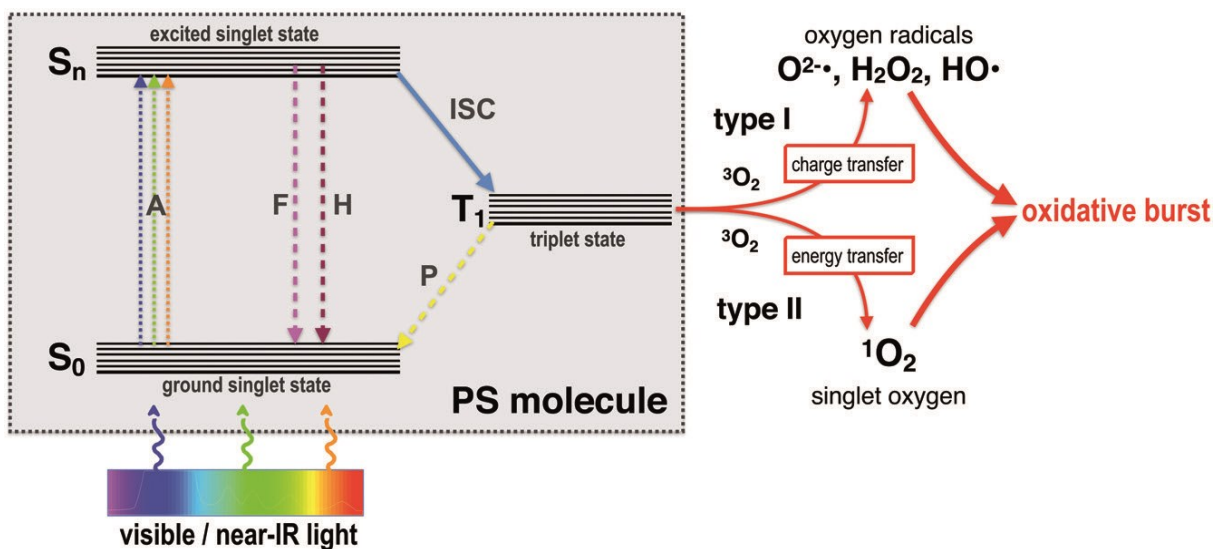
Os instrumentos mecânicos produzidos em material diferente do titânio usados para limpar depósitos bacterianos ou biofilmes podem danificar a superfície dos implantes¹³⁰. A aPDT, também chamada de terapia de fotorradiação, fototerapia

ou fotoquimioterapia, utiliza o laser de baixa potência em combinação com um agente fotossensibilizante. O uso da aPDT para tratar a peri-implantite é usado para reduzir a administração local de antibióticos^{131,132}.

Na aPDT é usado um laser de diodo para ativar um agente fotossensibilizador específico produzindo oxigênio singleto que é tóxico para o alvo. AaPDT é usada para descontaminação da superfície do implante, não danificando o mesmo. O efeito inibitório do laser de diodo (808 nm) nas bactérias e nos seus subprodutos tais como o Lipopolissacarídeo aderente ao óxido de titânio foi observado através de reduções na produção de óxido nitroso/nitrito, que é um indicador da ativação de macrófagos¹³³⁻¹³⁸.

Sendo assim, os componentes deste sistema incluem laser, oxigênio e um fotossensibilizador. Na exposição à luz, o fotossensibilizador pode reagir diretamente com o substrato, como a membrana celular ou uma molécula, transferindo um átomo de hidrogênio para formar radicais livres. Os radicais interagem com o oxigênio para produzir produtos oxigenados. Essa reação é denominada de terapia fotodinâmica do tipo I¹³⁹. Na reação do tipo II o sensibilizador ativado transfere sua energia diretamente para o oxigênio formando o oxigênio singleto, que é uma espécie de oxigênio altamente reativo. Oxidando vários substratos, causando a morte e a destruição de microrganismos¹⁴⁰. O efeito é mais pronunciado contra microrganismos gram-positivos devido à estrutura da parede celular¹³⁹. Os fotossensibilizadores, azul de metileno e o azul de toluidina têm sido os mais utilizados contra patógenos da peri-implantares¹⁴¹(Figura 2).

Figura 2 - Mecanismos da aPDT



Legenda: S0: estado singlete do solo da molécula PS; Sn: estado singlete excitado da molécula PS; T1: estado excitado trigêmeo da molécula PS; A: absorção de luz; F: emissão de fluorescência; H: geração de calor (conversão interna); ISC: cruzamento entre sistemas; P: emissão de fosforescência; $^3\text{O}_2$: oxigênio no estado fundamental; $^1\text{O}_2$: oxigênio singlete; $\text{O}_2^{\cdot-}$: ânion superóxido; $\text{HO}\cdot$: radical hidroxila; H_2O_2 : peróxido de hidrogênio.

Nota: Diagrama adaptado de Jablonski: os mecanismos fotoquímicos e fotofísicos da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT).

Fonte: Adaptado de Cieplik et al.¹⁴².

1.7 Metabolismo Ósseo

A reparação do osso ocorre devido ao seu potencial de renovação permanente. Em nível celular, a remodelação óssea segue uma sequência de ciclos repetitivos de reabsorção óssea por osteoclastos derivados da linhagem de monócitos e macrófagos seguida por formação óssea por osteoblastos derivados de uma célula-tronco mesenquimal pluripotente¹⁴³.

O implante dentário bem-sucedido está em um delicado equilíbrio baseado no sistema imunológico do hospedeiro. Pode ser alterado por fatores externos levando a alterações nos tecidos peri-implantares até a uma falha na osseointegração devido à forte reação imunológica e inflamatória¹⁴⁴⁻¹⁴⁶.

A comunicação intercelular e a coordenação entre essas células são cruciais para a diferenciação, ativação e função controladas de ambas as linhagens

celulares. Com o objetivo de produzir o crescimento longitudinal gerando o novo osso durante o reparo da fratura. A maioria das doenças ósseas metabólicas são causadas por uma perturbação do número ou atividade dos osteoclasto. O resultado é em reabsorção óssea excedendo a capacidade de renovação dos osteoblastos^{147,148}.

A reabsorção óssea é um processo de várias etapas iniciado pela proliferação de precursores imaturos do osteoclasto, pelo comprometimento dessas células com o fenótipo do osteoclasto e pela degradação das fases orgânica e inorgânica do osso pelas células reabsorvidas maduras. O osteoclasto é complexo e possui vários recursos exclusivos que permitem reconhecer e degradar o osso¹⁴⁹.

Durante a reação inflamatória ocorrerá a perda óssea e ela será dependente da concentração de mediadores inflamatórios presentes no tecido gengival, sendo suficiente para ativar as vias que levam à reabsorção óssea e os mediadores inflamatórios penetram no tecido gengival chegando a uma distância crítica do osso alveolar. A obtenção de concentrações críticas de mediadores inflamatórios que levam à reabsorção óssea dependerá da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina (IL) -1, -6, -11 e -17, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Outros mediadores, tais como bradicinina, calidina e trombina têm efeito estimulador na reabsorção óssea¹⁵⁰. Assim como, citocinas anti-inflamatórias e outros mediadores, tais como IL-4, -10, -12, -13 e -18, bem como interferon-beta (IFN- β), interferon-gamma (IFN- γ), que inibem a reabsorção óssea¹⁵⁰⁻¹⁵¹.

As quatro reações aos materiais aloplásticos do tipo implante dentário são rejeição, dissolução, reabsorção ou desmarcação^{116,152}. As células diferenciadas do tecido conjuntivo, como a célula adiposa, o condrócito, o fibroblasto e o osteoblasto, todas são de origem de uma célula precursora comum; a célula-tronco mesenquimal. Os implantes, em um ambiente de tecidos moles, tornam-se demarcados por uma cápsula fibrosa e no ambiente de tecidos duros são incorporados ao osso¹⁵³.

Nas observações de Donath^{115,152}, o tecido conjuntivo propriamente dito não é muito diferente do tecido ósseo de uma perspectiva de desenvolvimento. Segundo o autor, a incorporação óssea de um corpo estranho resultou na osseointegração podendo ser uma reação de corpo estranho em que o osso será formado como uma reação de defesa para proteger os tecidos do implante.

O titânio apresenta uma resposta imune clara mas não muito forte, por outro ladoo cobre mostrou uma reação imune bastante forte¹⁵³. A resposta imune pode estar no fato do cobre não estar diretamente ancorado no osso, mas apresenta uma osteogênese a distância¹⁵⁴.

Os implantes dentários, embora colocados em ambientes não estéreis, exibem uma taxa de infecção de apenas 1%, devido à adaptação e ao desequilíbrio do sistema imunológico inato. Com isso a formação do biofilme disbiótico pode abalar o implante frente a respostas imunológicas do hospedeiro e agentes antimicrobianos¹⁵⁵⁻¹⁵⁷. A descrição do equilíbrio imunoinflamatório é modulada por fatores como tipo do implante, química do material, estresse mecânico, localização do implante e tipo de cirurgia¹⁵⁷.

Na fase inflamatória e de cicatrização precoce, tanto a cascata de coagulação quanto o sistema complemento interagem com a superfície do biomaterial e modulam ambas as atividade^{158,159}. Os macrófagos na inflamação crônica desempenham papéis duplos como mediadores inflamatórios e reguladores da cicatrização de feridas e de reação de corpo estranho¹⁶⁰⁻¹⁶². Os miofibroblastos de tecidos moles secretam quantidades aumentadas de colágeno. A cápsula fibrosa madura exhibe baixa vascularização, baixa inervação e baixo número de células próximas ao corpo estranho¹⁶³.

O sistema imunológico inato/adaptativo está intimamente ligado à regulação da osteoclastogênese por secreção de células T do ativador de osteoclastos RANKL e contrabalançando a secreção de células T. OIFN- γ e a IL-1 estão ligados à imunidade inata/adaptativa¹⁶⁴.Essas informações direcionam as suposições de que a osseointegração nada mais é do que um resultado imunológico e equilibrado a uma reação de corpo estranho amadurecida¹⁶⁵.

O reconhecimento da resposta imune e de corpo estranho persiste também após um longo período. O sistema imunológico próximo ao implante dentário é “silenciado” também após um longo período. A reação do corpo estranho é possivelmente uma tentativa dos tecidos periimplantares de isolar o corpo estranho,mas sem sobrecarregar a reação imune local na qual pode perpetuar o processo inflamatório¹⁶⁶.

A hipótese atual relata que todos os implantes sejam isolados primeiro através de uma inflamação crônica imune e eventualmente encontra um estado estacionário relativamente silencioso. O equilíbrio pode ser interrompido por novas

micropartículas geradas por tensão mecânica, pelas propriedades do material e dissolução. O equilíbrio é restabelecimento podendo durar toda a vida do implante independente do sítio¹⁶⁷.

1.8 Biomarcadores do Metabolismo Ósseo na Doença Periimplantar

1.8.1 Receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANK), Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANKL) e Osteoprotegerina (OPG)

Na resposta inflamatória, as citocinas estimulam os osteoblastos alterando os níveis de expressão RANKL na superfície dos osteoblastos¹⁶⁸. O RANKL é expresso por osteoblastos em uma proteína ligada à membrana ou clivada em uma forma solúvel. A expressão de RANKL ocorre por vários outros tipos celulares (fibroblastos e linfócitos T e B)^{169,170}.

O RANKL é expresso em níveis baixos nos fibroblastos, mas a sua expressão é induzida em resposta à toxina do *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa). Os linfócitos T e B ativados parecem ser uma fonte particularmente abundante de RANKL¹⁷¹. As células T e B foram os tipos de células mononucleares predominantes nos tecidos gengivais da periodontite (células mononucleares totais foram compostas por 45% de células T, 50% de células B e 5% de monócitos) e RANKL altamente expresso (> 50% das células T e 90% das células B expressam RANKL em comparação com <20% das células T e B combinadas em gengiva saudável)¹⁷².

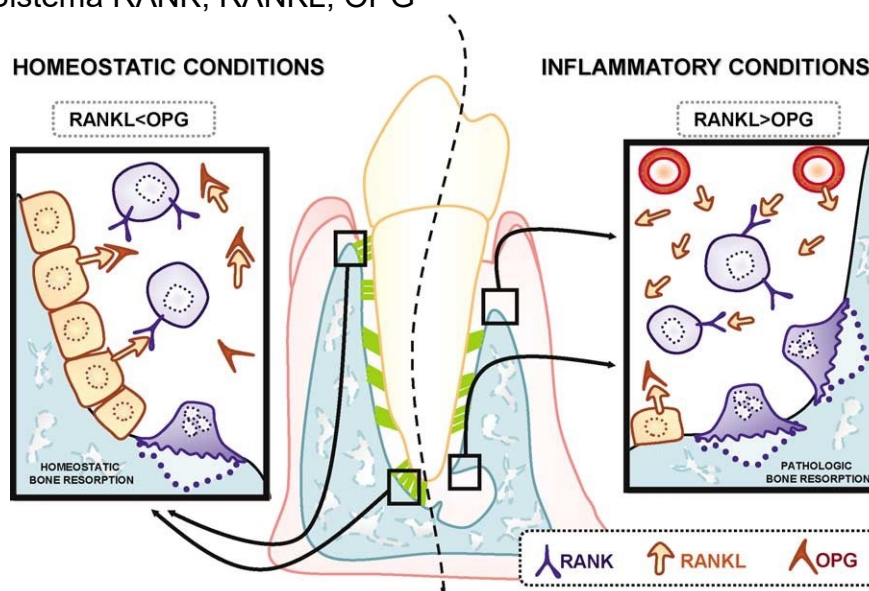
A reabsorção e a formação óssea são reguladas pelas concentrações de RANKL expressas por várias células. No receptor RANKL-RANK nas células precursoras de osteoclastos e pelo receptor chamarriz, a osteoprotegerina (OPG)¹⁷³.

Quando a expressão de RANKL é aprimorada pela OPG, o RANKL está disponível para ligar RANK em osteoclastos precursores, e está direcionada a favorecer a ativação da formação de osteoclastos e a reabsorção óssea¹⁷³. A ligação do RANKL aos precursores de osteoclastos ocorre em um estágio em que as células-tronco hematopoiéticas se diferenciam da unidade formadora de colônias para granulócitos e macrófagos à unidade formadora de colônias para macrófagos.

A ligação de RANKL a RANK na presença de fator estimulador de colágeno de macrófagos induz a diferenciação do pré-osteoclasto em uma célula multinucleada que se torna um osteoclasto maduro¹⁷⁴.

O osteoclasto maduro é uma célula polarizada que sofre alterações estruturais para permitir formar uma junção estreita entre a superfície óssea e a membrana basal. Quando as concentrações de OPG são altas em relação à expressão de RANKL, o OPG se liga ao RANKL impedindo-o de se ligar ao RANK com isso, impedindo a ligação de RANKL para RANK consequentemente levando à redução da formação de osteoclastos e a apoptose dos osteoclastos preexistentes¹⁷³(Figura 3, a seguir).

Figura 3 - Sistema RANK, RANKL, OPG



Legenda: Receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANK); Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANKL); Osteoprotegerina (OPG).

Nota: O equilíbrio RANKL/OPG é um fator importante na regulação da reabsorção óssea em ambientes periodontais e periapicais. A diferenciação e ativação dos osteoclastos são impulsionadas pela interação do RANK com seu ligante, RANKL. A OPG é um receptor de chamariz de RANKL que inibe o envolvimento de RANK-RANKL. Em condições homeostáticas (lado esquerdo), acredita-se que os níveis de RANKL e OPG estejam em equilíbrio, de modo que haja osteoclastogênese e reabsorção óssea limitadas. Com um estímulo inflamatório, a relação RANKL/OPG aumenta nos tecidos periodontais e periapicais levando à estimulação da atividade dos osteoclastos e à reabsorção óssea patológica.

Fonte: Adaptado de Graves et al.¹⁷⁵.

1.8.2 Osteocalcina(OC)

A OC é considerada um parâmetro da atividade osteoblástica, da formação óssea e da reabsorção óssea. Os níveis elevados de osteocalcina no GCF, a partir de sítios com periodontite, podem estar relacionados à sensibilidade da reabsorção e/ou reparo ósseo alveolar. A OC foi detectada no GCF em estudos em humanos¹⁷⁶, e animais¹⁷⁷ com doença periodontal. A osteocalcina é uma proteína óssea de ligação de cálcio de 5,4 kDa, e é a proteína não colágena mais abundante de tecido ósseo mineralizado¹⁷⁸. A relação da OC com a reabsorção óssea alveolar ainda não está clara. Os níveis de osteocalcina do GCF mostraram uma diferença significativa entre mucosite peri-implantar e implantes saudáveis, embora não houvesse diferenças significativas entre a periimplantite e outros locais¹⁷⁹.

O nível sérico dessa proteína é considerado um marcador da formação óssea^{180,181}. Embora várias investigações sobre os níveis de osteocalcina no GCF de pacientes com periodontite tenham sido relatadas, o papel da osteocalcina na progressão da doença periodontal ainda não está claro¹⁸²⁻¹⁸⁴.

1.8.3 Osteopontina(OPN)

A OPN é um marcador osteoimunoinflamatório e está envolvido na patogênese da peri-implantite. A forma processada de OPN foi observada no (GCF) de pacientes com reabsorção radicular em comparação com os pacientes do grupo controle¹⁸⁵. OPN apresentou um pico de liberação mais precoce no grupo de carga imediata do que no grupo de implantes dentários submersos¹⁸⁶. A OPN aumentou no GCF de pacientes com periimplantite e o *Porphyromona gingivalis* (PG) induziu a produção de OPN no GCF possivelmente correlacionado com os diferentes fatores microbianos ou estágios da peri-implantite. A OPN em resposta à inflamação da peri-implantite é um novo gatilho da via de inflamação, regulando a produção e a apoptose de IL-1b, abrindo caminho para a investigação clínica e a possibilidade de usar o OPN como marcador diagnóstico de periimplantite¹⁸⁷.

1.8.4 Leptina (Leptin)

Embora não haja adipócitos na gengiva, em um estudo de Johnson e Serio¹⁸⁸, foi demonstrado que a concentração de leptina é mais alta na gengiva saudável em comparação com a gengiva doente podendo ser causado pelo aprisionamento da leptina no interior da gengiva, por difusão a partir da microcirculação. Como a leptina tem papel na resposta inflamatória, um nível aumentado de leptina na gengiva saudável pode ser um mecanismo de defesa do hospedeiro semelhante ao que ocorre durante a sepse¹⁸⁹. Durante a inflamação gengival, a concentração de leptina diminui como resultado da expansão da rede vascular causada pelo fator de crescimento endotelial vascular¹⁸⁸.

A leptina também está envolvida nos efeitos anti-osteogênicos, agindo centralmente no hipotálamo^{190,191}. Desempenha um papel na formação óssea em virtude de seu efeito direto na proliferação, diferenciação e prolongamento da vida útil dos osteoblastos primários humanos, inibindo a apoptose¹⁹². A leptina em alta concentração nos locais protege o hospedeiro da inflamação e infecção mantendo os níveis ósseos¹⁹³.

Foram encontradas concentrações maiores de leptina e IL-6 à medida que a doença periodontal progride. A leptina está presente na gengiva saudável e sua concentração declinante coincide com a gravidade da inflamação gengival e a formação da bolsa periodontal^{187,194}.

1.8.5 Fator de Crescimento Fibroblástico 23 (FGF-23)

Uma função importante do osso é a produção do fator de crescimento de fibroblastos (FGF-23) que está envolvido na função endócrina direcionada ao rim para regular o metabolismo do fosfato e da vitamina D¹⁹⁵. O FGF-23 desempenha um papel importante no metabolismo mineral (homeostase do fosfato de cálcio). Está relacionado à homeostase do fósforo, metabolismo da vitamina D e mineralização óssea. Desempenhando um papel central em redes endócrinas complexas

envolvendo hormônios afetados no metabolismo mineral e fatores locais derivados de ossos que regulam a mineralização da matriz extracelular¹⁹⁶.

O principal papel do FGF-23 é manter o equilíbrio do fosfato e aumentar a degradação e/ou diminuir a ativação da 25-hidroxi-vitamina D3 (25OH-D3), reduzindo assim a concentração de 1,25-di-hidroxivitamina D na circulação¹⁹⁷. O aumento no soro pode diminuir o risco de inflamação gengival, periodontite, e perda dentária¹⁹⁸⁻²⁰⁰. A ingestão de vitamina D tem sido indicada para proteger contra a progressão da doença periodontal²⁰¹.

Estudos sugeriram a relação entre vitamina D e periodontite, perda dentária ou perda precoce de implantes. Não há estudo investigando os níveis de vitamina D e FGF-23 no GCF em doenças periimplantares. Nos pacientes com doenças renais crônicas, os níveis de FGF-23 aumentam devido à diminuição da função renal, fornecendo uma resposta compensatória para manter os níveis séricos de fosfato. Os valores elevados de FGF-23 podem representar o início do hiperparatireoidismo secundário e pode estar associado a alterações de mineralização esquelética²⁰².

Os efeitos do FGF-23 em doenças periodontais ou peri-implantares são limitados. Alguns estudos mostraram que a neutralização do FGF-23 em modelo animal com doença renal crônica desenvolveu uma qualidade óssea e uma melhor osseointegração nos implantes. O aumento do FGF-23 inibe a proliferação de osteoblastos, a maturação e a mineralização da matriz óssea, podendo levar a uma diminuição nos seus níveis. A interação entre FGF-23 e doenças peri-implantares ainda precisa de mais esclarecimentos para explicar os resultados atuais na literatura²⁰³.

1.8.6 Paratormônio (PTH)

O PTH é um hormônio secretado pelas glândulas paratireoides como um peptídeo de 84 aminoácidos e subsequentemente clivado em vários fragmentos ativos biológicos. O PTH (1 a 31), (1 a 34), (1 a 38) e (1 a 84) parece ter o mesmo efeito anabólico no osso, devido aos aminoácidos compartilhados (1 a 31). A sua porção terminal é primária em seu efeito osteogênico como medicamento anabólico.

O PTH aumenta a renovação óssea geral e promove uma remodelação óssea positiva^{204,205}.

Estudos demonstraram, que em mulheres pós-menopausa com osteoporose o PTH (1–34) reduziram significativamente o risco de fraturas e aumentou a densidade mineral óssea vertebral (DMO) em comparação com placebo²⁰⁶. Outros ensaios clínicos também mostraram que o PTH humano (1–34) aumentou a DMO na coluna lombar e no colo femoral em homens com osteoporose idiopática e em mulheres na pós-menopausa com uso de glicocorticóides crônicos (GCs) e terapia de reposição hormonal^{207,208}.

Em um ensaio clínico de pacientes com periodontite, a administração de PTH (1–34) em combinação com cirurgia periodontal foi associada a uma maior resolução do defeito ósseo alveolar do que apenas a cirurgia periodontal. O tratamento sem enxertos ósseos ou membranas sugere o efeito anabólico significativo do PTH no osso alveolar²⁰⁹.

Fragmentos não unidos em fraturas imobilizadas são conectados por tecido cicatricial que não se diferencia no osso. Foi demonstrado que o uso de PTH sem outra intervenção para o tratamento de não união alcançou uma cicatrização. Uma mudança patológica semelhante entre as duas condições pode implicar que a terapia também tenha efeito na perda óssea induzida pela sobrecarga, não apenas no estágio caracterizado pela perda óssea inicial, mas também no estágio irreversível pela substituição fibrosa^{210,211}.

1.8.7 Esclerostina (SOST)

A esclerostina é uma glicoproteína secretada e é produto do gene SOST. A esclerostina é secretada principalmente pelos osteócitos, e demonstrou ser um regulador negativo da diferenciação/função dos osteoblastos e um inibidor da formação óssea. Embora o mecanismo exato pelo qual a esclerostina iniba a formação óssea ainda não tenha sido completamente identificado, estudos demonstraram que a esclerostina pode atuar através do LRP5/6 para inibir a sinalização de Wnt/beta-catenina, prejudicando a diferenciação e a função dos osteoblastos^{212,213}.

A inibição da esclerostina poderia levar a um aumento na sinalização de Wnt/beta-catenina, aumentando a formação óssea. A genética humana mostra que pacientes com mutações na perda de função no gene SOST têm alta massa e densidade óssea, inclusive nos ossos da mandíbula²¹⁴.

A deficiência de esclerostina na esclerose óssea humana, juntamente com o alto fenótipo de massa óssea em animais, sugere que a inibição da esclerostina pode ser uma abordagem viável para o desenvolvimento de novos agentes anabólicos ósseos para o tratamento de distúrbios ósseos, incluindo perda óssea alveolar. Um anticorpo monoclonal de anti-esclerostina que neutralizou a esclerostina foi desenvolvido e demonstrou restaurar a formação óssea, a massa óssea e a resistência óssea em um modelo de rato de osteoporose pós-menopausa²¹⁵. Estudos clínicos indicam que a administração de SOST em homens saudáveis e mulheres na pós-menopausa aumentou os marcadores de formação óssea DMO, sugerindo potencial terapêutico para SOST na osteoporose e outros distúrbios ósseos que podem se beneficiar do aumento da formação óssea²¹⁶.

1.8.8 Interleucina 6 (IL-6)

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória que desempenha um papel importante na diferenciação de células T CD4⁺²¹⁷. Os níveis de IL-6 são significativamente maiores no GCF de pacientes com periimplantite quando comparados aos pacientes saudáveis²¹⁸. A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória sintetizada por monócitos, células endoteliais e fibroblastos, que mostra ação tanto na resposta imune inata quanto na adaptativa. Juntamente com TNF- α e IL-1 β , a IL-6 tem potencial para ativação de osteoclastos, é aumentada em macrófagos, fibroblastos e células epiteliais de pacientes com periimplante. Os níveis mais baixos de IL-6 na mucosite peri-implantar podem ser devidos à menor gravidade da doença em comparação à peri-implantite²¹⁹.

1.8.9 Interleucina 1beta (L-1 β)

IL-1 β é uma citocina pró-inflamatória e é um produto de monócitos, macrófagos e células dendríticas, assim como linfócitos B e células Natural Killer. A caspase-1, uma protease intracelular de cisteína, é responsável pela conversão do precursor inativo da IL-1 β na citocina ativa, da mesma forma, o Caspase-1 precisa ser processado para se tornar ativo²²⁰⁻²²¹.

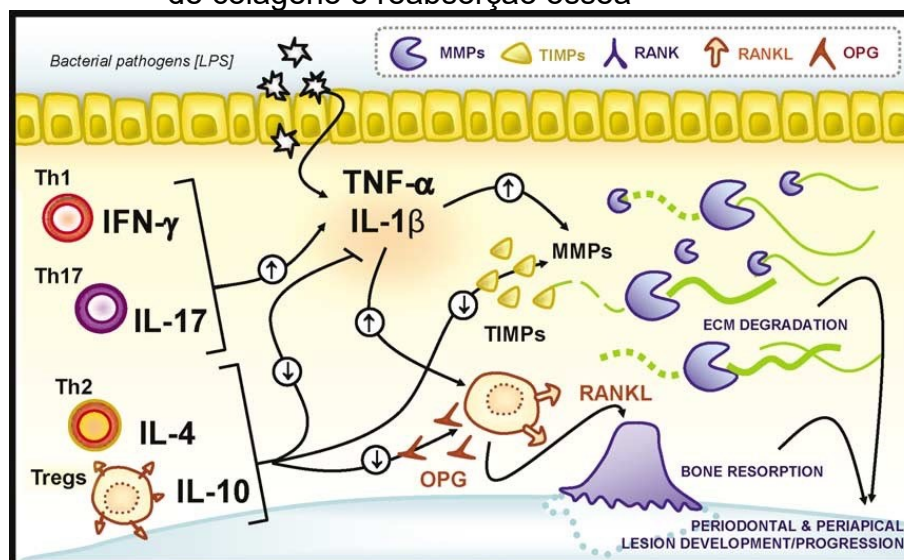
Em resposta a uma infecção periodontal ou periimplantar, a IL-1 é secretada no local para regular positivamente as reações inflamatórias incompatíveis com outros fatores da resposta imune local. A IL-1 β controla a atividade de degradação da matriz extracelular do sistema ativador do plasminogênio durante a inflamação e a cicatrização de feridas^{222,223}, e a produção de prostaglandinaE₂²²⁴⁻²²⁸.

A IL-1 é considerada um dos principais mediadores do processo de osseointegração e desempenha um papel importante no processo de destruição e reabsorção óssea regulando a produção de metaloproteinase da matriz (MMP)^{229,230}.

1.8.10 Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)

As citocinas TNF- α desempenham um papel fundamental no desenvolvimento do sistema imunológico, regulação imune, inflamação e autoimunidade. A manipulação dessas citocinas em seus receptores revelou numerosos aspectos de sua função na saúde e na doença, particularmente em doenças autoimunes²³¹. As variações do gene TNF- α são relacionadas com a perda de implantes dentários, periimplantite e perda óssea marginal. A TNF- α é uma citocina pró-inflamatória que desempenha uma função significativa nos processos inflamatórios. A expressão de TNF- α é principalmente produzida por macrófagos e tem sido associada à periodontite, aumentando a secreção local e a atividade da MMPs. Resultando em destruição tecidual peri-implantar e reabsorção óssea ativando maturação osteoclástica²³²⁻²³⁴(Figura 4, a seguir).

Figura 4 - Regulação de interleucinas na degradação da matrix de colágeno e reabsorção óssea



Legenda: Metaloproteinases da matrix (MMPs); Inibidor Tecidual da Metaloproteinase (TIMPs); Interleucina (IL); Receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANK); Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANKL); Osteoprotegerina (OPG); Interleucina 1 beta (IL-1 β); Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).

Nota: Regulação de citocinas na degradação da matrix e reabsorção óssea em ambientes periodontais e periapicais. A presença de patógenos microbianos em ambientes periodontais e periapicais desencadeia uma produção inicial de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL1 β , que estimulam a expressão e a ativação de MMPs que degradam a matrix extracelular do tecido conjuntivo. Citocinas como TNF- α podem estimular a osteoclastogênese de forma independente, enquanto outras citocinas estimulam a expressão de RANKL que leva à formação de osteoclastos e a atividade de osteoclastos. As respostas imunológicas combinadas inatas e adaptativas provavelmente levarão a altos níveis de inflamação e reabsorção óssea. Pensa-se que essas citocinas pró-inflamatórias geram um loop de amplificação que contribui para a progressão da lesão periodontal e periapical. Por outro lado, citocinas produzidas por células Th2 e Tregs, como IL-4 e IL-10, têm o efeito oposto, em parte, estimulando a produção de inibidores teciduais de MMPs da matrix (TIMPs) e OPG, além de restringir a produção de citocinas inflamatórias.

Fonte: Adaptado de Graves et al.¹⁷⁵

No Quadro a seguir podem ser observados os biomarcadores usados no estudo e as suas respectivas concentrações no GCF no metabolismo ósseo da periimplantite.

Quadro -Biomarcadores do metabolismo ósseo na DP

Citocinas	Papel no Metabolismo Ósseo	Reabsorção Óssea	Formação Óssea
IL-6	Potente indutor na ativação de osteoclastos	Aumento no fluido	Redução no fluido
Leptina	Desempenha um papel na formação óssea em virtude de seu efeito direto na proliferação, diferenciação e prolongamento da vida útil dos osteoblastos primários humanos, inibindo a apoptose. 2 vias de atuação: via central (via SNC, inibe a formação óssea e promove a reabsorção óssea) e via periférica (via circulação periférica agindo diretamente no tecido ósseo, inibindo a reabsorção óssea e estimulando a formação óssea)	Aumento e redução no fluido	Aumento e redução no fluido
OC	Formação óssea. O aparecimento e aumento da produção da OC são coincidentes com o início do processo de mineralização	Redução no fluido	Aumento no fluido
OPG	Inibe a osteoclastogênese ao se ligar ao RANKL, impedindo a reabsorção óssea	Redução no fluido	-
OPN	Envolvida no regulamento de mineralização fisiológica e patológica. Atua unindo as células ósseas à matriz e gerando sinais intracelulares para a motilidade normal dos osteoclastos	Aumento no fluido	Aumento no fluido
PTH	Pode gerar aumento da atividade osteoclástica e diferenciação de osteoblastos	Aumento no fluido	Aumento no fluido
SOST	Regulador negativo da diferenciação/função dos osteoblastos e um inibidor da formação óssea e a via de sinalização Wnt.	Aumento no fluido	Redução no fluido
TNF- α	Interleucina Pró-inflamatória. Ativador de osteoclastos	Aumento no fluido	Redução no fluido
IL-1 β	Recrutamento de Neutrófilos e ativação dos osteoclastos destruição e reabsorção óssea, regulando a produção de metaloproteinase da matriz (MMP)	Aumento no fluido	Redução no fluido
FGF - 23	Inibição e Diferenciação dos osteoclastos e mineralização da matriz óssea	Aumento no fluido	Redução no fluido

Legenda: Doença periimplantar (DP); Interleucina 6 (IL-6); Osteocalcina (OC); Osteoprotegerina (OPG); Osteopontina (OPN); Paratormônio (PTH); Esclerostina (SOST); Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α); Interferon beta (IL-1 β); Fator de Crescimento Fibroblástico 23 (FGF- 23); Sistema Nervoso Central (SNC); Receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANKL).

Fonte: O autor, 2020.

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo clínico randomizado foi comparar longitudinalmente(1 ano) a resposta clínica, radiográfica e imunológica do tratamento da peri-implantite com acesso cirúrgico associado ou não a uso de terapia fotodinâmica antimicrobiana com o reagente azul de toluidina 0,2%.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Desenho do Estudo

Ensaio clínico randomizado longitudinal com um ano de acompanhamento.

3.2 Seleção dos Pacientes

Os pacientes foram selecionados e atendidos na clínica de pós-graduação da Pontifícia Universidade Católica (PUC) do Rio de Janeiro, no período de abril de 2016 a maio de 2019. Um total de 130 pacientes foram examinados e 21 pacientes apresentavam os critérios de inclusão e exclusão da pesquisa. Os indivíduos selecionados foram divididos por atribuição aleatória em dois grupos, teste e controle. Todos pacientes foram diagnosticados com peri-implantite, de acordo com a nova classificação da Academia Americana de Periodontia/Federação Européia de Periodontia³⁰. No grupo teste, a amostra foi composta de 11 indivíduos (5 homens e 6 mulheres com idade média: $52 \pm 8,8$ anos). No grupo controle, a amostra foi composta por 10 pacientes (4 homens e 6 mulheres; idade média: $51 \pm 8,5$ anos). Os pacientes de ambos os grupos apresentavam profundidade de bolsa à sondagem (PBS) ≥ 6 com presença de sangramento à sondagem e/ou supuração. Radiografias periapicais completas e panorâmicas foram usadas para auxílio no diagnóstico da doença peri-implantar. Nos dois grupos foram incluídos pacientes de ambos os gêneros, com o mínimo de um implante dentário com diagnóstico de peri-implantite assim como pelo menos 12 meses da colocação da prótese sobre implante definitiva.

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Pedro Ernesto (UERJ, Rio de Janeiro, Brasil) sob o parecer número 1.157.984 (ANEXO), em 08/07/2015. Todos os pacientes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE) antes da inclusão no estudo, onde foram informados da natureza, riscos potenciais e benefícios da participação.

3.3 Critérios de Inclusão

Para serem considerados passíveis e inclusão no estudo os pacientes deveriam apresentar sinais clínicos de periimplantite em um ou mais implantes, incluindo: a) Profundidade de sondagem (PBS) ≥ 6 mm; b) Sangramento à sondagem e/ou supuração; c) Perda óssea no exame radiográfico ≥ 2 mm na mesial ou distal no sítio do implante (ou 2 roscas expostas) em comparação com a crista óssea após seis meses de colocação da prótese definitiva; d) o implante deveria estar em função por pelo menos um ano.

3.4 Critérios de Exclusão

Foram excluídos do estudo: pacientes diabéticos controlados ou descompensados, grávidas e lactantes, pacientes em uso de medicação sistêmica que dificultasse a cicatrização normal do tecido ósseo e gengival, pacientes que usaram antibiótico sistêmico até seis meses previamente à primeira coleta do fluido peri-implantar, fumantes e ex-fumantes, alcoólatras, pacientes submetidos à quimiorradioterapia de cabeça e pescoço, doenças ósseas degenerativas, doenças orais inflamatórias crônicas e casos onde foi realizada a colocação imediata do implante pós-extração, usando medicamentos que possam ter efeitos adversos diretos sobre o periodonto como anti-histamínicos, corticosteroides, bloqueadores do canal de cálcio (nifedipina), ciclosporina A e drogas anti-reabsortivas (bisfosfonatos).

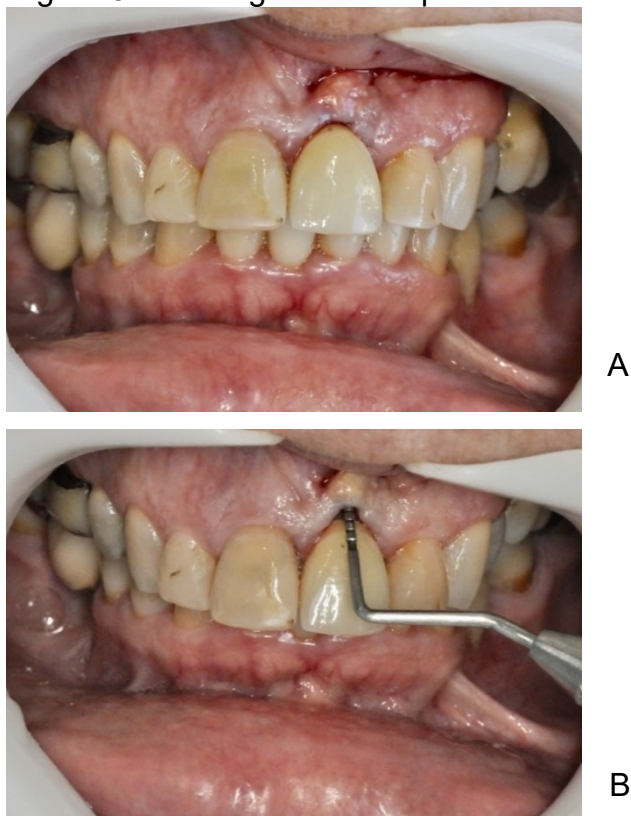
3.5 Calibragem dos Examinadores

Os exames foram realizados por dois examinadores. Para a calibragem intraexaminador e interexaminador foram avaliados 10 sítios em três pacientes diferentes com peri-implantite. Os examinadores avaliaram os pacientes com intervalos de uma hora entre uma medição e outra. O valor de concordância intraexaminador foi de 90% e interexaminador também foi de 90% para as variáveis PBS, aceitando-se 1mm para mais ou para menos.

3.6 Medidas Clínicas

O exame clínico incluiu anamnese com história médica e odontológica e exame clínico periodontal, que foi realizado utilizando sonda periodontal milimetrada manual (Carolina do Norte 15mm – *Hu-Friedy*[®], Chicago, IL, Estados Unidos). A sonda periodontal foi posicionada paralela ao longo do eixo do dente em cada sítio (Figura 5, a seguir) e as medidas foram arredondadas para o milímetro inteiro mais baixo. Os seguintes parâmetros foram examinados: a) Índice de placa visível (IPV); b) índice de sangramento à sondagem (ISS), avaliados dicotomicamente (sim ou não) em quatro sítios por dente/implante (superfícies vestibular, mesial, distal e lingual); c) profundidade de bolsa à sondagem (PBS), considerada como a distância entre a margem gengival e o fundo do sulco ou bolsa peri-implantar e medida em milímetros, em seis sítios por dente/implante (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, lingual e disto-lingual).

Figura 5 - Sondagem Peri-implantar



Legenda: (A) Seleção de paciente de acordo com os critérios de inclusão e exclusão; (B) Sondagem Periimplantar para os parâmetros clínicos.

Fonte: O autor, 2020.

3.7 Medidas Radiográficas

Assim como no exame clínico, os parâmetros radiográficos foram avaliados no exame inicial e comparados em 12 meses após o tratamento periimplantar em todos os pacientes. A radiografia Periapical foi realizada através da técnica de paralelismo de cone longo usando marcas reproduzíveis como um ponto do defeito ósseo e o seu ganho 12 meses comparado ao exame inicial. A avaliação da perda óssea foi realizada a partir do ponto de referência, considerado como o ponto de junção do *abutment* ou do ombro do implante para o nível do osso peri-implantar.

3.8 Coleta do Flúido Gengival Crevicular

A placa supragengival foi cuidadosamente removida e os dentes foram secos com jato de ar e isolados com rolos de algodão para não ocorrer contaminação. O fluido foi coletado usando tiras de papel absorvente (Perio Paper, Oraflow, NY, EUA) que foi introduzida no sulco peri-implantar na bolsa mais profunda sem traumatizar os tecidos, permanecendo por 30 segundos. As amostras contaminadas com sangue foram descartadas. Nos pacientes de ambos os grupos foram coletados fluidos dos sítios com periimplantite e as amostras armazenados em tubos contendo 30 µL de solução salina tamponada com fosfato, gerando um tubo por paciente e totalizando 104 amostras. Todos os sítios coletados apresentavam índice gengival entre 1 e 2. Em cada paciente foram analisados os sítios inflamados de implantes. Após a coleta, o volume de GCF absorvido por cada tira foi determinado usando o Periotron 8000® (ProFlow Inc., North Haven, CT, EUA). Após eluição por 30 min à temperatura ambiente, as amostras foram centrifugadas a 1000x g por 5 min para remover as células e o sobrenadante foi coletado e imediatamente congelado a -70° C até a análise. O valor observado no Periotron 8000® foi convertido em microlitros usando uma curva padrão, obtida após a calibração do instrumento e apresentado como o volume de GCF por categoria de local no Laboratório Multiusuário de Pesquisas em Imunologia Oral, na Faculdade de Odontologia da UERJ.

Na fase cirúrgica, os pacientes receberam anestesia local, com lidocaína 2% com epinefrina 1:100.000 (Alphacaine – Nova DFL – Rio de Janeiro – RJ – Brasil). A seguir, uma incisão intrasulcular foi realizada usando uma lamina 15C Swann Morton (Sheffield – England) e a sua profundidade variou de acordo com o fundo da bolsa periimplantar. O retalho vertical foi realizado também com uma lamina 15C Swann Morton (Sheffield – England) e foi estendido para a mucosa alveolar podendo ser colocado na mesial e distal dependendo da configuração do defeito periimplantar. Para otimizar a remoção do tecido de granulação e do epitélio da bolsa, os descoladores de Freer 15 e 16 (Hu-Fried, Chicago, IL, USA) foram utilizados para elevar o retalho mucoperiosteal da face lingual e vestibular. A remoção do tecido de granulação foi realizada usando curetas gracey manuais HuFried (Hu-Fried, Chicago, IL, USA) (Figura 6, a seguir).

Figura 6 - Defeito Ósseo Peri-implantar



Fonte: O autor, 2020.

A partir dessa etapa foram realizados diferentes procedimentos para o grupo controle e grupo teste. No grupo controle, o retalho foi suturado com fio de sutura de nylon 5.0 (Aesculp – Bbraun - Alemanha) para reduzir o acúmulo de biofilme. No grupo teste foi aplicada a (aPDT) para descontaminação das bolsas peri-implantares e superfície do implante através de uma radiação infravermelha pulsada no comprimento de onda de 2,94 mm, 100 mJ/pulso (12,7 J/cm²) e 10 pps (energia de pulso na ponta: cerca de 85 mJ/pulso)(Laser Duo, MMOBrasil). O reagente utilizado foi o azul de toluidina a 0,2%. O feixe de laser foi guiado ao longo das superfícies de implantes com uma ponta de fibra de vidro em forma de cone que emite um feixe de laser radial e axial. A ponta da fibra foi guiada em um movimento circular de coronal para apical paralela à superfície do implante durante 6 minutos por implante. O retalho foi reposicionado coronalmente com fio de sutura de nylon 5.0 para (Aesculp – Bbraun - Alemanha) reduzir o acúmulo de biofilme.

O tratamento proposto foi iniciado após as coletas do fluido como descrito a seguir e esses mesmos dados foram coletados após 12 meses. A terapia periodontal de suporte foi realizada a cada três meses através da raspagem supra gengival e instrução de higiene oral

3.8.1 Protocolo Pós-operatório

O analgésico Paracetamol (750 mg, 4x/d, durante 3 dias) e o anti-inflamatório Nimesulida (200mg, 2x/d, durante 3 dias) foram utilizados após a cirurgia. A solução bucal de clorexidine 0,12% (Colgate Palmolive, São Paulo, Brasil) foi usada para bochechar (2x/d, por 1 min, durante duas semanas) e as suturas foram removidas de 10 a 14 dias após a cirurgia.

A terapia periodontal de suporte foi realizada a cada três meses e consistiu de raspagem supragengival, motivação e a instrução de higiene oral através da técnica do Rolo. A duração de cada sessão do tratamento aproximadamente de 60 minutos. As raspagens foram realizadas com instrumentos manuais (curetas Gracey e McCall, *Hu-Friedy*[®]) e com aparelho de ultrassom portátil (*Cavitron*[®] *Select SPS*, *Dentsply Sirona*, França). Os instrumentos manuais eram afiados antes de cada sessão e sempre que fosse necessário durante a raspagem.

3.9 **Ensaio Multiplex**

Os níveis de citocinas TNF- α , SOST, PTH, OPG, OPN, OC, Leptina, IL-6, IL-1 β FGF-23 foram determinados utilizando um imunoensaio com microesferas magnéticas do tipo multiplex. Cem microlitros das amostras de fluido foram analisadas usando um kit disponível comercialmente – (*MILLIPLEX MAP Human Bone Magnetic Bead Panel* (HBNMAG-51K)/*Bone Metabolism Multiplex Assay* (EMD Millipore, Burlington, [®] [®] *TM* MA, Estados Unidos) – (Figura 7, a seguir). Em um analisador multiplex (*Bio-plex 200*, *Luminex xMAP technology*, MiraiBio, Alameda, CA, Estados Unidos), com o software *Bio-Plex Manager 6.0* (*Bio-Rad Laboratories*, Hercules, CA, Estados Unidos) de acordo com as instruções do fabricante.

Figura 7 - *Human Bone Magnetic Bead Panel (HBNMAG-51K) - Bone Metabolism Multiplex Assay*



Nota: EMD Millipore, Burlington, MA, Estados Unidos.
Kit de análise imunológica usado na pesquisa
Fonte: Adaptado de Merck²³⁵.

Primeiramente, foi realizado o planejamento do desenho esquemático da microplaca em uma folha de papel auxiliar, indicando qual amostra seria analisada em qual poço. Em seguida, os 96 poços foram pré-umedecidos individualmente com 200 μ l de tampão de ensaio (*assay buffer*). Após 10 minutos, esse tampão foi removido cuidadosamente para não deixar nenhum resíduo (invertendo a placa e a secando com toalhas absorventes). O passo a passo do protocolo criado pelo fabricante do kit foi seguido (EMD Millipore, Burlington, MA, Estados Unidos). Seguindo o desenho da placa pré-definido anteriormente, foram adicionados aos poços correspondentes: 25 μ l/poços de tampão de ensaio, controles 1 e 2, padrões pré-diluídos do S0- S7 (*standard diluent*), amostras do fluido e microesferas (*beads*). A placa foi incubada *overnight* (16-18 horas) a 4°C, protegida da luz e sofrendo agitação em um agitador orbital digital para microplaca MTS 2/4 (IKA, Wilmington, NC, Estados Unidos). Os poços foram lavados três vezes com 100 μ l/poço de tampão de lavagem (*wash buffer*), usando uma lavadora automática de microplaca (*Bio-Plex Pro™ II, Wash Station, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, Estados Unidos*) (Figura 8). As microesferas foram ressuspensas por 5 minutos, em um agitador para microplacas (Figura 8, a seguir).

Figura 8 - Lavadora automática da microplaca



Nota: Bio-Plex Pro II Wash Station, *Bio-Rad Laboratories*, Hercules, CA, Estados Unidos.

Fonte: O autor, 2020.

Posteriormente, 50 μ l/poço de anticorpos de detecção foram adicionados em todos os poços e incubados protegidos da luz, com agitação por 30 minutos. Após esse tempo, 50 μ l/poço de estreptavidina conjugada com a proteína fluorescente ficoeritrina, foram adicionadas em todos os poços e incubadas protegidas da luz, com agitação por 30 minutos. Em seguida, três lavagens foram realizadas com 100 μ l/poço tampão de lavagem para remoção dos reagentes não aderidos. Após as lavagens, 100 μ l/poço de solução *Sheath Fluid* foram adicionados em todos os poços (*Bio-Rad Laboratories*, Hercules, CA, Estados Unidos) (Figura 9, a seguir).

Figura 9 – Agitador orbital digital para microplaca MTS 2/4



Nota: IKA, Wilmington, NC, Estados Unidos.
Fonte: O autor 2020.

Por fim, a placa foi lida em um analisador multiplex (*Bio-plex 200*, Luminex *xMAP™ technology*, MiraiBio, Alameda, CA, Estados Unidos) (Figura 10, a seguir). As concentrações das amostras desconhecidas foram estimadas a partir da curva padrão, utilizando o *Bio-Plex Manager Software 6.0* (*Bio-Rad Laboratories*, Hercules, CA). Os níveis dos biomarcadores foram apresentados em quantidade total picograma por ml (pg/ml).

Figura 10 – Analisador Multiplex



Nota: *Bio-plex 200*®, Luminex® *xMAP™ technology*,
MiraiBio, Alameda, CA, Estados Unidos.
Fonte: O autor, 2020.

3.10 Análise Estatística

Os dados foram inseridos, sob a forma de planilha, no programa *SPSS 23.0* (SPSS, Inc. Chicago, USA). O teste Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para confirmar a normalidade dos dados avaliados. Os dados de distribuição não normal estão apresentados em medianas (intervalo interquartil), enquanto os dados de distribuição normal estão apresentados em médias (\pm desvio padrão). A análise descritiva das variáveis qualitativas demográficas e análise de associação das variáveis qualitativas demográficas foi feita com o Teste t de *student*, com avariável contínua (idade), e o Teste *Fisher's Exact Test* para as variáveis categóricas (sexo, raça e escolaridade). O teste do qui-quadrado foi utilizado para verificar diferenças nos dados categóricos. O teste de ANOVA com análise com teste de Tukey foi utilizado para verificar diferenças nos parâmetros clínicos nos períodos baseline, 3 meses, 6 meses e 12 meses. O teste t para amostras pareadas foi utilizado para avaliar diferenças nos níveis ósseos entre baseline e 12 meses. As comparações dos resultados imunológicos intra-grupo foram feitas através do teste não-paramétrico de Wilcoxon, enquanto o teste de Mann Whitney verificou diferenças

entre os grupos teste e controle no baseline e aos 12 meses. Foi considerada a significância estatística quando $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Dados Demográficos

Vinte e um pacientes (14 mulheres e 7 homens, idade média $57,9 \pm 7,5$ anos) incluídos no estudo foram avaliados. A maioria dos pacientes tinha ensino superior (52%). Não houve diferença significativa entre os grupos teste e controle em relação à idade, sexo, raça e escolaridade (Tabela 1). No grupo teste, 56% dos implantes apresentaram biótipo fino e 70% tinham prótese aparafusada, sendo os correspondentes no grupo controle eram de 40% e 72%.

Tabela 1 - Análise descritiva das variáveis qualitativas demográficas e análise de associação das variáveis qualitativas demográficas dos grupos teste e controle

Variável	N=21	Teste	Controle	<i>p</i> *
Sexo				0,562
Masculino n (%)	7 (33,3)	4 (36,4)	3(30)	
Feminino n (%)	14 (66,7)	7 (63,6)	7(70)	
Raça				0,462
Branco n (%)	18 (85,7)	10 (90,9)	8(80)	
Negro n (%)	03 (14,3)	1 (9,1)	2(20)	
Escolaridade				0,575
Ensino Médio Completo n(%)	9 (42,9%)	4 (40%)	5(45,5%)	
Ensino Superior Completo n(%)	12 (57,1%)	6 (60%)	6 (54,5%)	

Nota: n=21; *Teste t de *student*. -Variável contínua (idade), *Teste *Fisher's Exat Test* - Variáveis categóricas (sexo, raça e escolaridade).

Fonte: O autor, 2020.

4.2 Dados Clínicos e Radiográficos

Nos dados clínicos, foi usada a quantidade de implantes com periimplantite do grupo teste e controle (n = 52). Na *baseline*, todas as variáveis não apresentaram diferenças estatisticamente significantes comparando os grupos teste e controle (Tabela 2). No grupo teste, 56% dos implantes apresentaram biótipo fino e 70%

tinham prótese aparafusada. Os correspondentes no grupo controle eram 40% e 72% respectivamente. O valor de IPV reduziu significativamente aos 6 meses e manteve-se baixo aos 12 meses nos grupos teste e controle. O ISS e PBS reduziram significativamente em ambos os grupos, aos 3 meses e mantiveram-se reduzidos aos 6 meses e 1 ano após o tratamento. Houve um ganho ósseo nos grupos teste e controle aos 12 meses variando entre 0,1 e 0,5 mm. No grupo controle, houve um ganho nos níveis ósseos, mas clinicamente irrelevante.

Tabela 2 - Análise descritiva das variáveis quantitativas de IPV, ISS, PBS e Nível Ósseo dos grupos teste e controle

Variável	<i>Baseline</i>		3 meses		6 meses		12 meses	
	Controle (n=27)	Teste (n=25)	Controle (n=27)	Teste (n=25)	Controle (n=27)	Teste (n=25)	Controle (n=27)	Teste (n=25)
IPV (%)	100	100	100	100	0*	0*	0*	0*
ISS (%)	100	100	100	100	7*	4*	11*	12*
PBS (mm)	8,5±0,9	8,6±0,7	5,7±0,5*	5,7±0,7*	5,7±0,5*	5,7±0,6*	5,7±0,4	5,8±0,7
Nível ósseo (mm)	6,2±1	6±0,8					5,7±0,6*	5,9±0,6

Legenda: Índice de placa visível (IPV); Índice de sangramento à sondagem (ISS); Profundidade de Bolsa à Sondagem (PBS).

Nota: *Teste de Anova com análise com teste de Tukey; *P<0,05, quando comparado com o baseline.

Fonte: O autor, 2020.

4.3 Biomarcadores

Nos dados imunológicos foram usados a quantidade de implantes com peri-implantite do grupo teste e controle (n = 52). Os níveis de IL-6 e OC apresentaram uma redução estatisticamente significativa após 360 dias de tratamento nos grupos teste e controle. Sendo que o OC deveria estar aumentado. No entanto, no grupoteste houve uma redução significativa de Leptina e uma redução dos níveis de OPN (Tabela 3).

Tabela 3 - Quantificação dos biomarcadores (picogramas/ml) nas visitas do grupo teste, expressos em mediana/intervalo interquartil

Variável	<i>Baseline</i>		12 meses	
	Controle (n=27)	Teste (n=25)	Controle (n=27)	Teste (n=25)
IL6	1,7±1,9	1,8±2,3	0,7±0,9*	0,6±1,1*
Leptina	1,3±4,5	0,3±0,6	0,1±0,4	0,05±0,1*
OC	0,4±0,7	0,3±0,5	0,01±0,03*	0,05±0,1*
OPG	6,7±13,8	6,6±5,9	8,8±16,7	9,2±11
OPN	11,3±20	16,6±19,2	7,8±14,7	9,3±18,5
PTH	1,9±2,4	0,8±1	1,4±4,3	1,3±3
SOST	97,8±111,3	80,4±122	45,6±176	64,3±150
TNF-α	0,5±0,7	0,3±0,5	0,2±0,4	0,2±0,2

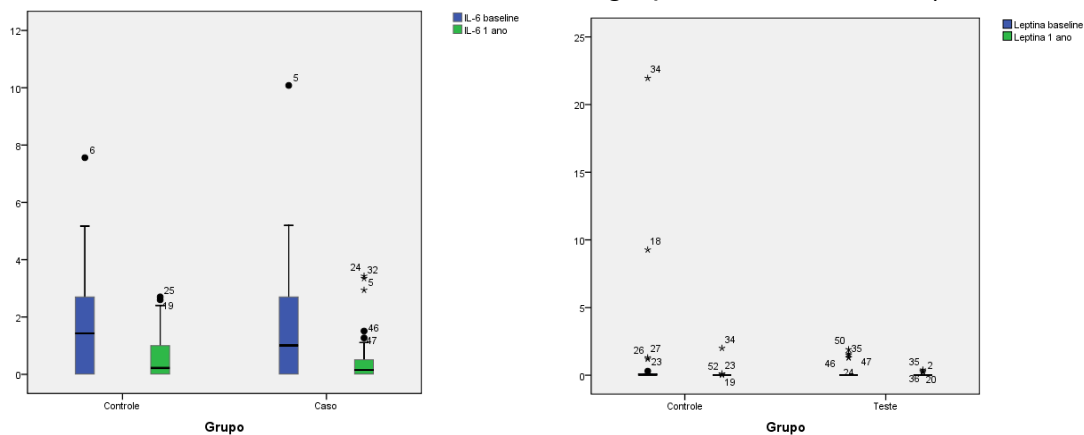
Legenda: Interleucina 6 (IL-6); Osteocalcina (OC); Osteoprotegerina (OPG); Osteopontina (OPN); Paratormônio (PTH); Esclerostina. (SOST); Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-α).

Nota: *Teste Wilkson /Teste teste de Mann Whitney; *P<0,05, quando comparado com o baseline.

Fonte: O autor, 2020.

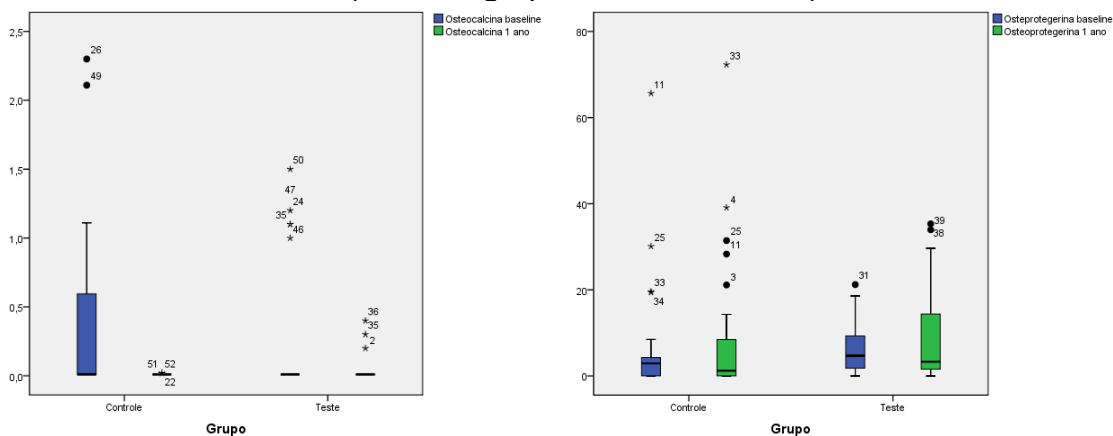
4.4 Gráficos

Gráfico 1 - *Box plot* dos biomarcadores IL-6 e Leptina comparando o estudo longitudinal (intragrupo – visitas *baseline* e 1 ano) e o estudo transversal (entre os grupos teste e controle)



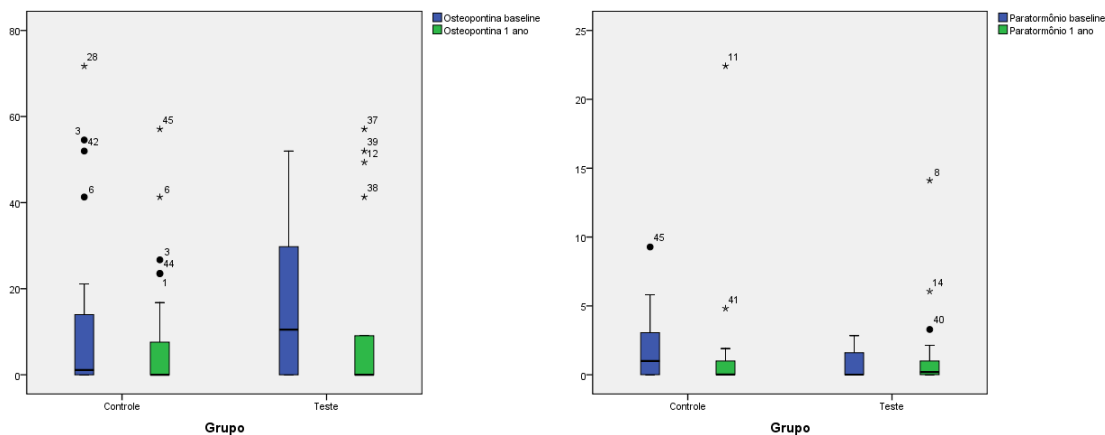
Legenda: Interleucina 6 (IL-6).
Fonte: O autor, 2020.

Gráfico 2 - *Box plot* dos biomarcadores OC e OPG comparando o estudo longitudinal (intragrupo – visitas *baseline* e 1 ano) e o estudo transversal (entre os grupos teste e controle)



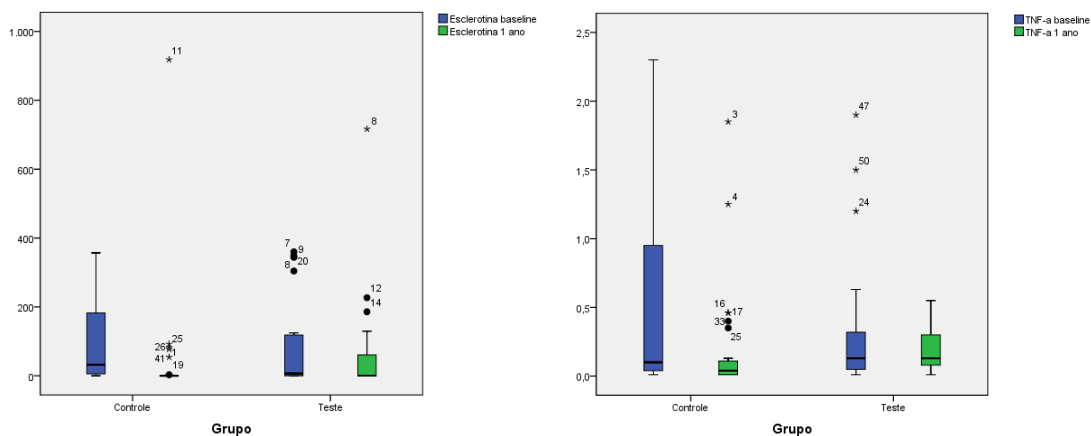
Legenda: Osteocalcina (OC); Osteoprotegerina (OPG).
Fonte: O autor, 2020.

Gráfico 3 - *Box plot* dos biomarcadores OPN e PTH comparando o estudo longitudinal (intragrupo – visitas *baseline* e 1 ano) e o estudo transversal (entre os grupos teste e controle)



Legenda: Osteopontina (OPN); Paratormônio (PTH).
Fonte: O autor, 2020.

Gráfico 4 - *Box plot* dos biomarcadores SOST e TNF- α comparando o estudo longitudinal (intragrupo – visitas *baseline* e 1 ano) e o estudo transversal (entre os grupos teste e controle)



Legenda: Esclerotina (SOST); Fator de Necrose Tumoral (TNF- α).
Fonte: O autor, 2020.

5 DISCUSSÃO

No presente trabalho foram avaliados os resultados clínicos, radiográficos e imunológicos da terapia cirúrgica para o tratamento da periimplantite com ou sem uso da aPDT com acompanhamento de 1 ano. Os resultados clínicos indicaram resultados similares em ambos grupos teste e controle. Após um ano de tratamento houve uma redução significativa dos níveis de PBS, ISS e IPV, em ambos os grupos. O nível ósseo indicou um ganho ósseo em ambos os grupos, com diferença não sigficativa no grupo controle.

Nossos resultados estão de acordo com a meta-análise de Shiau²³⁶, na qual não foi encontrado uma vantagem clínica para o uso da aPDT como coadjuvante sobre abordagens convencionais. No estudo de Rocuzzo et al.²³⁷, a terapia cirúrgica da peri-implantite seguida de cuidados regulares de suporte resultou em uma sobrevida maior do implante a médio e longo prazos. Resultados favoráveis foram relatados, com melhorias clínicas e níveis ósseos peri-implantares estáveis na maioria dos pacientes. Berglundh et al.²³⁸ realizaram avaliações clínicas e radiograficas de 50 pacientes que receberam tratamento cirúrgico para peri-implantite em um período de 2 a 11 anos. Os resultados revelaram que o tratamento cirúrgico da peri-implantite foi eficaz a longo prazo ocorrendo a preservação da crista óssea. Nosso estudo indicou que houve ganho nos níveis ósseos em ambos os grupos, mas significativamente maior no grupo controle. A comparação em outros estudos é mais difícil uma vez que a quantidade e qualidade dos ensaios clínicos randomizados é limitada. Na maior parte dos estudos, o tempo de avaliação é inferior a um ano e são caracterizados por amostras pequenas e com falta de controle nos grupos²³⁹⁻²⁴⁴.

Em uma metanálise de Chambrone et al.²⁴⁵ foram incluídos apenas dois estudos por que a profundidade de sondagem dos dois eram de > 5 mm para o tratamento da peri-implantite associado ao uso da aPDT. Os ensaios clínicos não eram bem desenhados e o tempo de acompanhamento era curto, a maioria não ultrapassa seis meses. No estudo de Romeo et al.²⁶ a terapia não cirúrgica da aPDT foi associada ao debridamento mecânico com uso do Laser Diodo (fibra ótica através de uma ponta e com comprimento de onda 2,94 μm diameter, durante 10 segundos/bolsa) + aPDT (azul de metileno, 10 mg/mL, aplicado por 1 minuto). Os

autores encontraram uma redução de PBS de 2 a 3 mm nos grupos controle e teste após seis meses de tratamento, com PBS média basal de 5 mm. Nesse estudo, os autores não realizaram análises estatísticas comparando os resultados entre ISS e aPDT versus ISS isoladamente. No estudo de Bombeccari et al.²⁷ foi realizado o tratamento cirúrgico com acesso para raspagem com curetas de plástico e irrigação 0.2% de solução de digluconato de cloreridina e Laser Diodo (fibra ótica aplicada com fibra 300- μ m diâmetro, 20 segundos por aplicação e cinco aplicações consecutivas de com intervalo de 30 segundos) + aPDT (corante de azul de toluidina, 0,1 mg/mL, aplicado 1 minuto antes da aPDT). Os autores relataram uma melhora significativa na PBS 6 meses após a cirurgia de acesso para raspagem + aPDT em comparação com acesso para raspagem (1,0 versus 0,3 mm), mas estatisticamente insignificante. Portanto, o desfecho clínico alcançado no presente estudo, encontra-se de acordo com a literatura na qual a terapia aPDT falhou em melhorar satisfatoriamente os resultados clínicos. No nosso estudo, foi aplicada a Terapia Fotodinâmica (aPDT) para descontaminação das bolsas peri-implantares e superfície do implante através de uma radiação infravermelha pulsada no comprimento de onda de 680 nm, a laser parâmetros foram fixados em 100 mJ/pulso (12,7 J/cm²) e 10 pps (energia de pulso na ponta: cerca de 85 mJ/pulso) (LaserDuo, MMO, Brasil). O reagente utilizado foi o azul de toluidina a 0,2%. Não há consenso em relação aos protocolos para aPDT no tratamento cirúrgico da periimplantite. Alguns pontos importantes devem ser levados em consideração tais como: a fonte de luz a ser utilizada, o comprimento de onda, o tempo em que a terapia é utilizada, o tipo de reagente. Isso traz a necessidade de um protocolo para aplicação da terapia fotodinâmica através de pesquisas futuras em ensaios clínicos bem desenhados e com um tempo de acompanhamento elevado.

Sanz e Chapple²⁴⁶ relataram que um “método comprovado de descontaminação da superfície do implante” seria um componente crítico na terapia cirúrgica. Quanto melhor for o desenho do estudo e maior o tempo de acompanhamento dos pacientes, melhor será a conclusão sobre o comportamento do tratamento cirúrgico relacionado à patogênese da peri-implantite.

Dessa forma, a análise da expressão dos biomarcadores relacionados ao metabolismo ósseo poderia ajudar a descobrir quais deles sofrem alterações ou não após a terapia cirúrgica, contribuindo para um maior entendimento sobre a

reabsorção óssea alveolar e gerando um impacto clínico muito favorável no resultado do tratamento.

Os resultados do presente estudo indicaram uma redução significativa de IL6 e OC em ambos os grupos. No grupo teste, houve uma redução significativa nos níveis de leptina. Um pequeno número de estudos se concentrou no perfil imunológico das doenças periimplantares²⁴⁷⁻²⁴⁹. Um número ainda menor de estudos avalia a resposta imune local das terapias periimplantares²⁴⁹. Uma metanálise de Faot et al.²⁵⁰ indicou que o conhecimento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias no GCF melhora o diagnóstico da peri-implantite.

A IL-6 pode ser secretada por macrófagos e também iniciar a síntese da prostaglandina E2 que ativa as atividades dos osteoclastos. Assim, a IL-6 foi identificada em níveis elevados e aproximadamente duas vezes mais alta no GCF de implantes com evidência de perda óssea e sangramento à sondagem²⁵¹. A produção excessiva de alguns fatores relacionados à inflamação, como IL-6, pode ser considerada um potencial marcador de destruição tecidual após infecção bacteriana²⁵².

Existe uma relação significativa entre a concentração de interleucinas IL-1b, IL-6, IL-10 e fator de necrose tumoral (TNF)- α , e a resposta inflamatória clínica nos tecidos periimplantes²⁵³. Parece lógico exigir níveis mais baixos de citocinas e bactérias pró-inflamatórias essenciais em implantes que tiveram um resultado de tratamento clinicamente estável. Renvert et al.¹¹⁶ identificaram que o sangramento e/ou supuração na periimplantite não tratada pode estar associado a maiores concentrações de IL-1b, IL-8, TNF- α e GCF.

A ligação do RANKL ao seu ativador de receptor de NF- κ B (RANK), expresso nas células precursoras dos osteoclastos, estimula a diferenciação e a ativação dos osteoclastos, induzindo a reabsorção óssea^{173,254}. O OPG inibe a osteoclastogênese em competição com o RANK^{173,255}. Portanto, é provável que a atividade osteoclástica dependa do equilíbrio relativo entre RANKL e OPG, e um desequilíbrio nos sistemas OPG/ RANKL tem sido relacionado a várias doenças que envolvem destruição óssea, como a periodontite^{256,257}. O estudo de Rakic et al.²⁵⁸ mostrou aumento os níveis de OPG nos pacientes com periimplantite estando de acordo com o nosso estudo. Por outro lado, a redução dos níveis de OPG após o tratamento foi validado por outros estudos, porém com um tempo de acompanhamento menor^{259,260}.

O TNF- α também pode melhorar a formação de osteoclastos indiretamente, regulando a produção de células estromais de RANKL aumentando a capacidade de resposta dos precursores de osteoclastos a RANKL^{170,261-263}. A ligação do RANKL ao seu ativador de receptor de NF- κ B (RANK), expresso nas células precursoras dos osteoclastos, estimula a diferenciação e a ativação dos osteoclastos, induzindo a reabsorção óssea fisiopatológica^{254,264}. A OPG compete com o RANKL inibindo a osteoclastogênese em competição com o RANK^{255,264}. Portanto, é provável que a atividade osteoclástica dependa do equilíbrio relativo entre RANKL e OPG, e um desequilíbrio nos sistemas OPG/RANKL tem sido relacionado a várias doenças que envolvem destruição óssea, como osteoporose, artrite reumatoide e periodontite²⁵⁹. Entrando em um estudo piloto, a OPG não foi detectada em análise do GCF²⁶⁵.

Atualmente existem poucos estudos avaliando os níveis de OC e OPN no GCF em pacientes com peri-implantite. O papel da OC no GCF das doenças peri-implantares não é bem conhecido. Cakal et al.²⁶⁶ demonstraram que a OC e OPN não foram diferentes entre os grupos, saudáveis, mucosite ou peri-implantite. Moheng e Feryn²⁶⁷ não observaram diferença significativa de OC entre os grupos. No estudo de Wohlfahrt et al.²⁶⁸, após tratamento cirúrgico para peri-implantite, os autores mostraram redução dos níveis de OC e OPN. Porém não foram encontradas evidências conclusivas para correlação entre alteração nas concentrações desses marcadores ósseos e a resolução da doença. Tümer et al.²⁶⁹ mostraram níveis de OC mais altos nos locais com peri-implantite do que nos locais saudáveis. Che et al.²⁷⁰ demonstraram que a OPN em resposta à inflamação da peri-implantite era um gatilho da via de inflamação e essencial para a produção de IL 1 β e apoptose celular. Em acordo com o nosso estudo na qual a OC reduziu de maneira significativa nos grupos e sugerindo que poderia usar a OPN como marcador diagnóstico da peri-implantite.

Poucos estudos relatam a análise da Leptina em pacientes com peri-implantite. No entanto Wohlfahrt et al.²⁶⁸ mostraram uma redução significativa de leptina após o tratamento cirúrgico, estando de acordo com presente estudo na qual houve uma redução significativa no grupo teste. Em estudos de tratamento da periodontite a leptina exerce um efeito no metabolismo ósseo e pode contribuir para a destruição óssea alveolar causada pela periodontite²⁷¹.

Através do sistema nervoso central, a leptina induz a perda óssea via hipotamalo²⁷², mas também inibe osteogênese através do sistema nervoso

simpático²⁷³. Zhu et al.²⁷⁴ em uma meta-análise concluíram que os níveis séricos de leptina não mostraram mudanças no tratamento periodontal. A leptina foi considerada um potencial biomarcador da periodontite.

As limitações do estudo foram a dificuldade de selecionar pacientes que se enquadravam nos critérios de inclusão e exclusão, os tipos de sistema de implante e suas conexões protéticas. Assim como uma padronização do nível da plataforma do implante estas a nível ósseo ou infra ósseo.

CONCLUSÃO

A terapia peri-implantar com acesso cirúrgico para raspagem com ou sem o uso de aPDT e reagente azul de toluidina 0,2% resultou numa melhora dos parâmetros clínicos de forma similar em ambos os grupos. Os níveis ósseos ficaram estáveis após um ano de tratamento em ambos os grupos. Os níveis de IL6 e OC foram reduzidos significativamente nos grupos teste e controle após 1 ano do tratamento. No grupo teste houve uma redução significativa de Leptina.

REFERÊNCIAS

1. Klinge B, Hultin M, Berglundh T. Peri implantitis. *Dent Clin North Am*. 2005 Jul;49(3):661-76.
2. Klinge B, Klinge A, Bertl K, Stavropoulos A. Peri-implant diseases. *Eur J Oral Sci*. 2018 Oct;126(Suppl 1):88-94.
3. Lang NP, Berglundh T. Periimplant diseases: where are we now? Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. Working Group 4 of Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2011 Mar;38(Suppl 11):178-81.
4. Mombelli A, van Oosten MA, Schurch E Jr, Land NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol*. 1987 Dec;2(4):145-51.
5. Leonhardt A, Renvert S, Dahlén G. Microbial findings at failing implants. *Clin Oral Implants Res*. 1999 Oct;10(5):339-45.
6. Lindhe J, Berglundh T. The interface between the mucosa and the implant. *Periodontol 2000*. 1998 Jun;17:47-54.
7. Duarte PM, Serrão CR, Miranda TS, Zanatta LC, Bastos MF, Favari M, et al. Could cytokine levels in the peri-implant crevicular fluid be used to distinguish between healthy implants and implants with peri-implantitis? A systematic review. *J Periodontal Res*. 2016 Dec;51(6):689-98.
8. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*. 1998 Apr;93(2):165-76.
9. Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet*. 2003 Aug;4(8):638-49.
10. Lerner UH. Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res*. 2006 Jul;85(7):596-607.
11. Lerner UH. New molecules in the tumor necrosis factor ligand and receptor superfamilies with importance for physiological and pathological bone resorption. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004 Jan;15(2):64-81.
12. Liu D, Xu JK, Figliomeni L, Huang L, Pavlos NJ, Rogers M, et al. Expression of RANKL and OPG mRNA in periodontal disease: possible involvement in bone destruction. *Int J Mol Med*. 2003;11(1):17-21.

13. Candel-Mart ME, Flichy-Fernandez AJ, Alegre-Domingo T, Ata-Ali J, Peñarrocha-Diago MA. Interleukins IL-6, IL- 8, IL-10, IL-12 and periimplant disease. An update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16(4):e518–21.
14. Javed F, Al-Hezaimi K, Salameh Z, Almas K, Romanos GE. Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Cytokine*. 2011;53(1):8–12.
15. Li JY, Wang HL. Biomarkers associated with peri-implant diseases. *Implant Dent*. 2014;23(5):607–11.
16. Lozada JL, James RA, Boskovic M, Cordova C, Emanuelli S. Surgical repair of peri- implant defects. *J Oral Implantol*.1990;16(1):42–6.
17. Lang NP, Wilson TG, Corbet EF. Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment. *Clin Oral Implants Res*. 2000; 11(Suppl 1):146–55.
18. Norowski PA Jr, Bumgardner JD. Biomaterial and antibiotic strategies for peri-implantitis: a review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009 Feb;88(2): 530–43.
19. Marotti J, Tortamano P, Campos TT, Aranha ACC. Recent patents of lasers in implant dentistry. *Recent Patents Biomed Engineer*. 2011;4(2):103-9.
20. Heitz-Mayfield LJ, Mombelli A. The therapy of peri-implantitis: a systematic review. *Int. J Oral Maxillofac Implants*. 2014;29(Suppl):325-45.
21. 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 Feb;16(1):9-18.
22. 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(2): 179–87.
23. 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; 22(11):1214–20.
24. Sarkar S, Wilson M. Lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 1993;28(3):204–10.
25. Wilson M, Dobson J, Sarkar S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser. *Oral Microbiol Immunol*. 1993;8(3): 182–7.

26. Romeo U, Nardi GM, Libotte F, Sabatini S, Palaia G, Grassi FR. The antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of peri-implantitis. *Int J Dent*. 2016;2016:7692387.
27. Bombeccari GP, Guzzi G, Gualini F, Gualini S, Santoro F, Spadari F. Photodynamic therapy to treat periimplantitis. *Implant Dent*. 2013;22(6):631–8.
28. Tonetti MS, Chapple IL, Jepsen S, Sanz M. Primary and secondary prevention of periodontal and peri-implant diseases: Introduction to, and objectives of the 11th European Workshop on Periodontology consensus conference. *J Clin Periodontol*. 2015 Apr;42(Suppl 16):S1-4.
29. G Caton J, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, S Kornman K, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018 Jun;45(Suppl 20):S1-8.
30. Lindhe J, Meyle J, Group D of European Workshop on Periodontology. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2008 Sep;35(8 Suppl):282-5.
31. Caton J, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, S Kornman K, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018 Jun;45 Suppl 20:S1-8.
32. Tomasi C, Derks J. Clinical research of peri-implant diseases-quality of reporting, case definitions and methods to study incidence, prevalence and risk factors of peri-implant diseases. *J Clin Periodontol*. 2012 Feb;39(Suppl 12):207-23.
33. Papantonopoulos G, Gogos C, Housos E, Bountis T, Loos BG. Peri- implantitis: a complex condition with non-linear characteristics. *J Clin Periodontol*. 2015;42(8):789–98.
34. Salvi GE, Aglietta M, Eick S, Sculean A, Lang NP, Ramseier CA. Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clin Oral Implants Res*. 2012;23(2):182–90.
35. Sanz M, Chapple IL, Group W. Clinical research on peri-implant diseases: Consensus report of Working Group 4. *J Clin Periodontol*. 2012;39(Suppl): 202–6.
36. Marrone A, Lasserre J, Bercy P, Brex MC. Prevalence and risk factors for peri-implant disease in Belgian adults. *Clin Oral Implants Res*. 2013 Aug; 24(8):934-40.
37. Cecchinato D, Parpaiola A, Lindhe J. Mucosal inflammation and incidence of crestal bone loss among implant patients: a 10-year study. *Clin Oral Implants Res*. 2014 Jul;25(7):791-6.

38. Daubert DM, Weinstein BF, Bordin S, Leroux BG, Flemming TF. Prevalence and predictive factors for peri-implant disease and implant failure: a cross-sectional analysis. *J Periodontol.* 2015 Mar;86(3):337-47.
39. Renvert S, Aghazadeh A, Hallström H, Persson GR. Factors related to peri-implantitis - a retrospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2014 Apr;25(4): 522-9.
40. Laine ML, Leonhardt A, Roos-Jansåker AM, Peña AS, van Winkelhoff AJ, Winkel EG, et al. IL-1RN gene polymorphism is associated with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2006 Aug;17(4):380-5.
41. Rinke S, Ohl S, Ziebolz D, Lange K, Eickholz P. Prevalence of periimplant disease in partially edentulous patients: a practice-based cross-sectional study. *Clin Oral Implants Res.* 2011 Aug;22(8):826-33.
42. Renvert S, Quirynen M. Risk indicators for peri-implantitis. A narrative review. *Clin Oral Implants Res.* 2015 Sep;26(Suppl 11):15-44.
43. Rocuzzo M, Bonino F, Gaudio L, Zwahlen M, Meijer HJ. What is the optimal number of implants for removable reconstructions? A systematic review on implant-supported overdentures. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Oct; 23(Suppl 6):229-37.
44. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (I). Success criteria and epidemiology. *Eur J Oral Sci.* 1998 Feb;106(1):527-51.
45. Roos-Jansåker AM, Lindahl C, Renvert H, Renvert S. Nine-to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part I: implant loss and associations to various factors. *J Clin Periodontol.* 2006 Apr;33(4):283-9.
46. Roos-Jansåker AM, Lindahl C, Renvert H, Renvert S. Nine-to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part II: presence of peri-implant lesions. *J Clin Periodontol.* 2006 Apr;33(4):290-5.
47. Roos-Jansåker AM, Renvert H, Lindahl C, Renvert S. Nine-to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part III: factors associated with peri-implant lesions. *J Clin Periodontol.* 2006 Apr;33(4):296-301.
48. Chrcanovic BR, Kisch J, Albrektsson T, Wennerberg A. Factors Influencing Early Dental Implant Failures. *J Dent Res.* 2016 Aug;95(9):995-1002.
49. Shi Y, Hu FB. The global implications of diabetes and cancer. *Lancet.* 2014; 383:1947–8.
50. Bartold PM, Van Dyke TE. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontology 2000.* 2013;62:203–17.

51. Borgnakke WS. Modifiable risk factors for periodontitis and diabetes. *Curr Oral Health Reports*. 2016;3:254–69.
52. Borgnakke WS, Ylöstalo PV, Taylor GW, Genco RJ. Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. *J Clin Periodontol*. 2013;40(Suppl. 14):S135–52.
53. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40(Suppl. 1):S11–24.
54. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2013;62(1):59–94.
55. Berglundh T, Gotfredsen K, Zitzmann NU, Lang NP, Lindhe J. Spontaneous progression of ligature induced peri-implantitis at implants with different surface roughness: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2007 Oct;18(5):655-61.
56. Sanz M, Lang NP, Kinane DF, Berglundh T, Chapple I, Tonetti MS. Seventh European Workshop on Periodontology of the European Academy of Periodontology at the Parador at la Granja, Segovia, Spain. *J Clin Periodontol*. 2011 Mar;38(Suppl 11):1-2.
57. Sanz M, Chapple IL First European Consensus Workshop in Periodontal Education-objectives and overall recommendation. *Eur J Dent Educ*. 2010 May;14(Suppl 1):1.
58. Carcuac O, Berglundh T. Composition of human peri-implantitis and periodontitis lesions. *J Dent Res*. 2014 Nov;93(11):1083-8.
59. Wang HL, Garaicoa-Pazmino C, Collins A, Ong HS, Chudri R, Giannobile W. V. Protein biomarkers and microbial profiles in peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*. 2016;27:1129–36.
60. Quirynen M, Vogels R, Peeters W, van Steenberghe D, Naert I, Haffajee. Dynamics of initial subgingival colonization of 'pristine' peri-implant pockets. *Clin Oral Implants Res*. 2006 Feb;17(1):25-37.
61. Lindquist LW, Carlsson GE, Jemt T. A prospective 15-year follow-up study of mandibular fixed prostheses supported by osseointegrated implants. Clinical results and marginal bone loss. *Clin Oral Implants Res*. 1996 Dec;7(4):329-36.
62. Renvert S, Persson GR, Pirih FQ, Camargo PM. Peri-implant health, peri-implant mucositis, and peri-implantitis: case definitions and diagnostic considerations. *J Clin Periodontol*. 2018;45(Suppl 20):S278–85.
63. Berglundh T, Abrahamsson I, Welander M, Lang NP, Lindhe J. Morphogenesis of the peri-implant mucosa: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2007 Feb;18(1):1-8.

64. Abrahamsson I, Berglundh T, Wennström J, Lindhe J. The peri-implant hard and soft tissues at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1996;7(3):212–9.
65. Abrahamsson I, Berglundh T, Glantz PO, Lindhe J. The mucosal attachment at different abutments. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 1998; 25(9):721–7.
66. Abrahamsson I, Berglundh T, Glantz PO, Lindhe J. The mucosal attachment at different abutments. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 1998; 25(9):721–7.
67. Abrahamsson I, Berglundh T, Moonl S, Lindhe J. Peri-implant tissues at submerged and non-submerged titanium implants. *J Clin Periodontol.* 1999; 26(9):600–7.
68. Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Liljenberg B, Thomsen P. The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clin Oral Implants Res.* 1991;2(2):81–90.
69. Berglundh T, Lindhe J. Dimension of the peri-implant mucosa. Biological width revisited. *J Clin Periodontol.* 1996;23(10):971–3.
70. Buser D, Weber HP, Donath K, Fiorellini JP, Paquette DW, Williams RC. Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs. *J Periodontol.* 1992;63(3):225–35.
71. Ericsson I, Persson LG, Berglundh T, Marinello CP, Lindhe J, Klinge B. Different types of inflammatory reactions in peri-implant soft tissues. *J Clin Periodontol.* 1995 Mar;2(3)2:255–61.
72. Ericsson I, Nilner K, Klinge B, Glantz PO. Radiographical and histological characteristics of submerged and nonsubmerged titanium implants. An experimental study in the Labrador dog. *Clin Oral Implants Res.* 1996;7(1):20–6.
73. Hermann JS, Buser D, Schenk RK, Schoolfield JD, Cochran DL. Biologic width around one- and two-piece titanium implants. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12(6):559–71.
74. Scipioni A, Bruschi GB, Giargia M, Berglundh T, Lindhe J. Healing at implants with and without primary bone contact. An experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(1): 39–47.
75. Vignoletti F, de Sanctis M, Berglundh T, Abrahamsson I, Sanz M. Early healing of implants placed into fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. III: soft tissue findings. *J Clin Periodontol.* 2009;36(12):1059–66.
76. Egelberg J. The blood vessels of the dento-gingival junction. *J Periodontol Res.* 1966;1(3):163–79.

77. Berglundh T, Lindhe J, Jonsson K, Ericsson I. The topography of the vascular systems in the periodontal and peri-implant tissues in the dog. *J Clin Periodontol.* 1994;21(3):189–93.
78. Berglundh T, Lindhe J, Marinello C, Ericsson I, Liljenberg B. Soft tissue reaction to de novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1992 Mar;3(1):1–8.
79. Zitzmann NU, Berglundh T, Marinello CP, Lindhe J. Experimental peri-implant mucositis in man. *J Clin Periodontol.* 2001 Jun;28(6):517–23.
80. Liljenberg B, Gualini F, Berglundh T, Tonetti M, Lindhe J. Composition of plaque-associated lesions in the gingiva and the peri-implant mucosa in partially edentulous subjects. *Clin Periodontol.* 1997 Feb;24(2):119–23.
81. Chang M, Wennström JL. Soft tissue topography and dimensions lateral to single implant-supported restorations. A cross-sectional study. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(5):556–62.
82. Parpaiola A, Cecchinato D, Toia M, Bressan E, Speroni S, Lindhe J. Dimensions of the healthy gingiva and peri-implant mucosa. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(6):657–62.
83. Gobbato L, Avila-Ortiz G, Sohrabi K, Wang CW, Karimbux N. The effect of keratinized mucosa width on peri-implant health: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2013;28(6):1536–45.
84. Lin GH, Chan HL, Wang HL. The significance of keratinized mucosa on implant health: a systematic review. *J Periodontol.* 2013;84(12):1755–67.
85. Kim BS, Kim YK, Yun PY, Yi YJ, Lee HJ, Kim SG, et al. Evaluation of peri-implant tissue response according to the presence of keratinized mucosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009 Mar;107(3):e24-8.
86. Zigdon H, Machtei EE. The dimensions of keratinized mucosa around implants affect clinical and immunological parameters. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19(4):387–92.
87. Schrott AR, Jimenez M, Hwang JW, Fiorellini J, Weber HP. Five-year evaluation of the influence of keratinized mucosa on peri-implant soft-tissue health and stability around implants supporting fullarch mandibular fixed prostheses. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(10):1170–7.
88. Adibrad M, Shahabuei M, Sahabi M. Significance of the width of keratinized mucosa on the health status of the supporting tissue around implants supporting overdentures. *J Oral Implantol.* 2009;35(5):232–7.
89. Roccuzzo M, Grasso G, Dalmaso P. Keratinized mucosa around implants in partially edentulous posterior mandible: 10-year results of a prospective comparative study. *Clin Oral Implants Res.* 2016 Apr;27(4):491-6.

90. Albrektsson T, Sennerby L. State of the art in oral implants. *J Clin Periodontol*. 1991 Jul;18(6):474–81.
91. Donati M, La Scala V, Di Raimondo R, Speroni S, Testi M, Berglundh T. Marginal bone preservation in single-tooth replacement: a 5-year prospective clinical multicenter study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2015 Jun;17(3):425-34.
92. Araujo MG, Lindhe J. Peri-implant health. *J Clin Periodontol*. 2018 Jun;45 (Suppl 20):S230–6.
93. Serino G, Turri A, Lang NP. Probing at implants with peri-implantitis and its relation to clinical peri-implant bone loss. *Clin Oral Implants Res*. 2013; 24(1):91–5.
94. Levignac J. Periimplantation osteolysis-periimplantosis–periimplantitis. *Rev Fr Odontostomatol*. 1965 Oct;12(8):1251–60.
95. Heitz-Mayfield LJ Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *J Clin Periodontol*. 2008 Sep;35(8 Suppl):292-304.
96. Heitz-Mayfield LJ. Diagnosis and management of peri-implant diseases. *Aust Dent J*. 2008 Jun;53(Suppl 1):S43-8.
97. Heitz-Mayfield LJA, Salvi GE. Peri-implant mucositis. *J Periodontol*. 2018; 89(Suppl 1):S257–66.
98. Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang HL. Peri-implantitis. *J Periodontol*. 2018; 89(Suppl 1):S267–90.
99. Berglundh T, Armitage G, Araujo MG, Avila-Ortiz G, Blanco J, Camargo PM, et al. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018;89(Suppl 1):S313–8.
100. Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang HL. Peri-implantitis. *J Periodontol*. 2018;89(Suppl 1):S267–90.
101. Gholami H, Mericske-Stern R, Kessler-Liechti G, Katsoulis J. Radiographic bone level changes of implant-supported restorations in edentulous and partially dentate patients: 5-year results. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2014;29(4):898–904.
102. Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Branemark PI, Jemt T. Long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1990;5(4):347–59.
103. Fransson C, Lekholm U, Jemt T, Berglundh T. Prevalence of subjects with progressive bone loss at implants. *Clin Oral Implants Res*. 2005 Aug;16(4):440–6.

104. Derks J, Schaller D, Hakansson J, Wennstrom JL, Tomasi C, Berglundh T. Effectiveness of implant therapy analyzed in a Swedish population: prevalence of peri-implantitis. *J Dent Res*. 2016;95(1):43–9.
105. Claffey N, Kelly A, Bergquist J, Egelberg J. Patterns of attachment loss in advanced periodontitis patients monitored following initial periodontal treatment. *J Clin Periodontol*. 1996;23(6):523–31.
106. Belibasakis GN. Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. *Arch Oral Biol*. 2014;59(1):66–72.
107. Mombelli A, DeCaillet F. The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *J Clin Periodontol*. 2011;38(Suppl 11):203–3.
108. Ericsson I, Berglundh T, Marinello C, Liljenberg B, Lindhe J. Long-standing plaque and gingivitis at implants and teeth in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 1992;3(3):99–103.
109. Salvi GE, Aglietta M, Eick S, Sculean A, Lang NP, Ramseier CA. Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clin Oral Implants Res*. 2012;23(2):182–90.
110. Venza I, Visalli M, Cucinotta M, De Grazia G, Teti D, Venza M. Proinflammatory gene expression at chronic periodontitis and peri-implantitis sites in patients with or without type 2 diabetes. *J Periodontol*. 2010 Jan;81(1): 99–108.
111. Rakic M, Lekovic V, Nikolic-Jakoba N, Vojvodic D, Petkovic-Curcin A, Sanz M. Bone loss biomarkers associated with peri-implantitis. A cross-sectional study. *Clin Oral Implants Res*. 2013 Oct; 24(10):1110–6.
112. Albrektsson T, Dahlin C, Jemt T, Sennerby L, Turri A, Wennerberg A. Is marginal bone loss around oral implants the result of a provoked foreign body reaction? *Clin Implant Dent Relat Res*. 2014;16(2):155–65.
113. Qian J, Wennerberg A, Albrektsson T. Reasons for marginal bone loss around oral implants. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2012;14(6):792–807.
114. Heitz-Mayfield LJA, Salvi GE, Botticello D, Mombelli A, Faddy M, Lang NP. Anti-infective treatment of peri-implant mucositis: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res*. 2011 Mar;22(3):237–41.
115. Donath K. Pathogenesis of bony pocket formation around dental implants. *J Dent Assoc S Afr*. 1992 May;47(5):204–8.
116. Renvert S, Lindahl C, Roos Jansaker AM, Persson GR. Treatment of peri-implantitis using an Er:YAG laser or an air-abrasive device: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2011 Jan;38(1):65–73.

117. Tastepe CS, van Waas R, Liu Y, Wismeijer D. Air powder abrasive treatment as an implant surface cleaning method: a literature review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012;27(6):1461–7.
118. Tawse-Smith A, Duncan WJ, Payne AG, Thomson WM, Wennstroëm JL. Relative effectiveness of powered and manual toothbrushes in elderly patients with implant-supported mandibular overdentures. *J Clin Periodontol*. 2002 Apr;29(4):275–80.
119. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(Suppl. 2):68–81.
120. Deppe H, Horch HH, Neff A. Conventional CO2 laser assisted treatment of peri-implant defects with the concomitant use of pure-phase beta-tricalcium phosphate: a 5 year clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007; 22(1): 79–96.
121. Donos N, Laurell L, Mardas N. Hierarchical decisions on teeth vs implants in the periodontitis-susceptible patient: the modern dilemma. *Periodontol 2000*. 2012 Jun; 59(1):89–110.
122. 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 Aug;12(4):287–94.
123. Stübinger S, Henke J, Donath K, Deppe H. Bone regeneration after peri-implant care with the COlaser: a fluorescence microscopy study. *Int J Oral Maxillofac Implant*. 2005;20(2):203–10.
124. Marotti J, Geraldo-Martins VR, Bello-Silva MS, de Paula Eduardo C, Apel C, Gutknecht N. Influence of etching with erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser on microleakage of class V restoration. *Lasers Med Sci*. 2010 May;25(3):325–9.
125. Kreisler M, Al Haj H, D’Hoedt B. Temperature changes induced by 809-nm GaAlAs laser at the implant-bone interface during simulated surface decontamination. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(1):91–6.
126. Ting CC, Fukuda M, Watanabe T, Aoki T, Sanaoka A, Noguchi T. Effects of Er, Cr: YSGG laser irradiation on the root surface: morphologic analysis and efficiency of calculus removal. *J. Periodontol*. 2007 Nov;78(11):2156–64.
127. Schwarz F, Nuesry E, Bieling K, Herten M, Becker J. Influence of an Erbium, Chromium-Doped Yttrium, Scandium, Gallium, and Garnet (Er, Cr: YSGG) Laser on the Reestablishment of the Biocompatibility of Contaminated Titanium Implant Surfaces. *J Periodontol*. 2006 Nov;77(11):1820–7.

128. Strever JM, Lee J, Ealick W, Peacock M, Shelby D, Susin C, et al. Erbium, Chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser effectively ablates single-species biofilms on titanium disks without detectable surface damage. *J Periodontol.* 2017 May;88(5):484–92.
129. Romanos G, Crespi R, Barone A, Covani U. Osteoblast attachment on titanium disks after laser irradiation. *Int J Oral Maxillofac Implant.* 2006;21(2):232–6.
130. Valderrama P, Blansett JA, Gonzalez MG, Cantu MG, Wilson TG. Detoxification of implant surfaces affected by peri-implant disease: an overview of non-surgical methods. *Open Dent J.* 2014 May;8:77–84.
131. Karimi MR, Hasani A, Khosroshahian S. Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy as an adjunctive to mechanical debridement in the treatment of peri-implant diseases: a randomized controlled clinical trial. *J Lasers Med Sci.* 2016; 7(3):139–45.
132. Bassetti M, Schär D, Wicki B, Eick S, Ramseier CA, Arweiler NB, et al. Anti-infective therapy of peri-implantitis with adjunctive local drug delivery or photodynamic therapy: 12-month outcomes of a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* 2014;25(3):279–87.
133. Takasaki AA, Aoki A, Mizutani K, Schwarz F, Sculean A, Wang CY, et al. Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. *Periodontology 2000.* 2009;51:109–40.
134. Htet M, Madi M, Zakaria O, Miyahara T, Xin W, Lin Z, et al. Decontamination of Anodized Implant Surface with Different Modalities for Peri-Implantitis Treatment: lasers and mechanical debridement with citric acid. *J. Periodontol.* 2016;87(8):953–61.
135. Romanos GE, Gutknecht N, Dieter S, Schwarz F, Crespi R, Sculean A. Laser wavelengths and oral implantology. *Lasers Med Sci.* 2009 Nov;24(6):961–70.
136. Tacconelli E, Cataldo M, Dancer S, De Angelis G, Falcone M, Frank U, et al. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(Suppl 1):1–55.
137. Marotti J, Tortamano P, Cai S, Ribeiro MS, Franco JE, de Campos TT. Decontamination of dental implant surfaces by means of photodynamic therapy. *Lasers Med Sci.* 2013;28(1):303–9.
138. Giannelli M, Landini G, Materassi F, Chellini F, Antonelli A, Tani A, et al. The effects of diode laser on *Staphylococcus aureus* biofilm and *Escherichia coli* lipopolysaccharide adherent to titanium oxide surface of dental implants. An *in vitro* study. *Lasers Med Sci.* 2016;31(8):1613–9.

139. Horne TK, Cronje MJ. Cancer tissue classification associated therapeutic implications and PDT as an alternative. *Anticancer Res.* 2017 Jun;37(6):2785–807.
140. Garcia-Diaz M, Huang YY, Hamblin MR. Use of fluorescent probes for ROS to tease apart Type I and Type II photochemical pathways in photodynamic therapy. *Methods.* 2016; 109:158–66.
141. Kataoka H, Nishie H, Hayashi N, Tanaka M, Nomoto A, Yano S, et al. New photodynamic therapy with next-generation photosensitizers. *Ann Transl Med.* 2017 Apr;5(8):183.
142. Cieplik F, Deng D, Crielaard W, Buchalla W, Hellwig E, Al-Ahmad A, et al. Antimicrobial photodynamic therapy - what we know and what we don't. *Crit Rev Microbiol.* 2018;44(5):571–89.
143. Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling: emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med.* 1995;332(5):305–11.
144. Osborn JF, Newesly H. Dynamic aspects of the implant-bone-inter-face. In: Heimke G, editor. *Dental Implants, Materials and Systems.* München Wien: Hanser Verlag; 1980. p. 111-23.
145. Franz S, Rammelt S, Scharnweber D, Simon JC. Immune responses to implants - a review of the implications for the design of immunomodulatory biomaterials. *Biomaterials.* 2011;32(28):6692-709.
146. Albrektsson T, Canullo L, Cochran D, de Bruyn H. “Peri-implantitis”: a complication of a foreign body or a man made “disease”. *Clin implant Dent Relat Res.* 2016;18(4):840-9.
147. Roodman GD. Advances in bone biology: the osteoclast. *Endocr Rev.* 1996; 17(4):308–32.
148. Suda T, Nakamura I, Jimi E, Takahashi N. Regulation of osteoclast function. *J Bone Miner Res.* 1997;12(6):869–79.
149. Blair HC, Teitelbaum SL, Ghiselli R, Gluck S. Osteoclastic bone resorption by a polarized vacuolar proton pump. *Science.* 1989 Aug;245(4920):855-7.
150. Wara-aswapati N, Surarit R, Chayasadam A, Boch JA, Pitiphat W. RANKL upregulation associated with periodontitis and *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol.* 2007;78(6):1062-9.
151. Lerner UH. Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res.* 2006;85(7):596-607.

152. Donath K, Laass M, Günzl HJ. The histopathology of different foreign-body reactions in oral soft tissue and bone tissue. *Virchows Archiv A Pathol Anat Histopatol.* 1992;420(2):131-7.
153. Albrektsson T, Chrcanovic B, Jacobsson M, Wennerberg A. Osseointegration of implants - a biological and clinical overview. *JSM Dent Surg.* 2017;2(3):1022-7.
154. Trindade R, Albrektsson T, Galli S, Prgomet Z, Tengvall P, Wennerberg A. Osseointegration and foreign body reaction: titanium implants activate the immune system and suppress bone resorption during the first 4 weeks after implantation. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2018;20(1):82-91.
155. Trindade R, Albrektsson T, Galli S, Prgomet Z, Tengvall P, Wennerberg A. Bone immune response to different materials: bone immune response to different materials in comparison to sham: titanium, PEEK and copper at 10 days in rabbit tibia. *J Clin Med.* 2018 Dec;7(12). pii: E526.
156. Yue C, Zhao B, Kuijter R, van der Mei HC, Busscher HJ, Rochford ET. The implant infection paradox: why do some succeed when others fail? Opinion and discussion paper. *Eur Cells Mater.* 2015;29:303-13.
157. Yue G, Yang B. Bioactive titanium surfaces with the effect of inhibiting biofilm formation. *J Bionic Eng.* 2014;11(4):589-99.
158. Fischer M, Sperling C, Tengvall P, Werner C. The ability of surface characteristics of materials to trigger leukocyte tissue factor expression. *Biomaterials.* 2010;31(9):2498-507.
159. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol.* 2008;20(2):86-100.
160. Qian J, Wennerberg A, Albrektsson T. Reasons for marginal bone loss around oral implants. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2012;14(6):792-807.
161. Veisoh O, Doloff JC, Ma M, Vegas AJ, Tam HH, Bader AR, et al. Size- and shape-dependent foreign body immune response to materials implanted in rodents and non-human primates. *Nat Mater.* 2015;14:643-51.
162. Suska F, Emanuelsson L, Johansson A, Tengvall P, Thomsen P. Fibrous capsule formation around titanium and copper. *J Biomed Mater Res.* 2008; 85(4):888-96.
163. Trindade R, Tengvall P, Albrektsson T, Wennerberg A. Foreign body reaction to biomaterials: on mechanisms for buildup and breakdown of osseointegration. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2016;18(1):192-203.
164. Takayanagi H, Ogasawara K, Hida S, Chiba T, Murata S, Sato K, et al. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN- γ . *Nature.* 2000;408(6812):600-5.

165. Trindade R, Tengvall P, Albrektsson T, Wennerberg A. Foreign body reaction to biomaterials: on mechanisms for buildup and breakdown of osseointegration. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2016;18(1):192-203.
166. Yue C, Zhao B, Kuijjer R, van der Mei HC, Busscher HJ, Rochford ET. The implant infection paradox: why do some succeed when others fail? Opinion and discussion paper. *Eur Cells Mater*. 2015;29:303-13.
167. Albrektsson T, Jemt T, Mölne J, Tengvall P, Wennerberg A. On inflammation-immunological balance theory - a critical apprehension of disease concepts around implants: Mucositis and marginal bone loss may represent normal conditions and not necessarily a state of disease. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019 Feb;21(1):183-9.
168. Lerner UH. Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res*. 2006;85:596-607.
169. Mizuno A, Kanno T, Hoshi M, Shibata O, Yano K, Fujise N, et al. Transgenic mice overexpressing soluble osteoclast differentiation factor (sODF) exhibit severe osteoporosis. *J Bone Miner Metab*. 2002;20(6):337-44.
170. Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, Kawakami A, Eguchi K, Sasaki H, et al. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;275(3):768-75.
171. Han X, Kawai T, Eastcott JW, Taubman MA. Bacterial-responsive B lymphocytes induce periodontal bone resorption. *J Immunol*. 2006;176(1):625-31.
172. Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y, Makihira S, Seki M, Karimbux NY, et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol*. 2006;169(3):987-98.
173. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003 May;423(6937):337-42.
174. Bar-Shavit Z. The osteoclast: A multinucleated, hematopoietic-origin, bone-resorbing osteoimmune cell. *J Cell Biochem*. 2007;102(5):1130-9.
175. Graves DT, Oates T, Garlet GP. Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *J Oral Microbiol*. 2011;3:1-15.
176. Kunimatsu K, Mine N, Kato I, Hase T, Aoki Y, Yamamoto K. Possible Functions of Human Neutrophil Serine Proteinases, Medullasin and Cathepsin G, in Periodontal Tissue Breakdown. *J Periodontal Res*. 1993 Nov;28(6 Pt 2):547-9.

177. Giannobile WV, Lynch SE, Denmark RG, Paquette DW, Fiorellini JP, Williams RC. Crevicular fluid osteocalcin and pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) as markers of rapid bone turnover in periodontitis. A pilot study in beagle dogs. *J Clin Periodontol*. 1995;22(12):903–10.
178. Lian JB, Gundberg CM. Osteocalcin: biochemical considerations and clinical applications. *Clin Orthop Relat Res*. 1988 Jan;226:267–91.
179. Murata M, Tatsumi J, Kato Y, Suda S, Nunokawa Y, Kobayashi Y, et al. Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1beta in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*. 2002;13(6):637–43.
180. Christenson RH. Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin Biochem*. 1997;30(8):573–93.
181. Giannobil WV. Crevicular fluid biomarkers of oral bone loss: a review. *Curr Opin Periodontol*. 1997;4:11–20.
182. Kunimatsu K, Mataka S, Tanaka H, Mine N, Kiyoki M, Hosoda K, et al. A cross-sectional study on osteocalcin levels in gingival crevicular fluid from periodontal patients. *J Periodontol*. 1993;64(9):865–9.
183. Lee AJ, Walsh TF, Hodges SJ, Rawlinson A. Gingival crevicular fluid osteocalcin in adult periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1999 Apr;26(4): 252–6.
184. Nakashima K, Roehrich N, Cimasoni G. Osteocalcin, prostaglandin E2 and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid: their relations to periodontal status. *J Clin Periodontol*. 1994;21(5):327–33.
185. George A, Evans CA. Detection of root resorption using dentin and bone markers. *Orthod Craniofac Res*. 2009;12(3):229–35.
186. Prati AJ, Casati MZ, Ribeiro FV, Cirano FR, Pastore GP, Pimentel SP, et al. Release of bone markers in immediately loaded and nonloaded dental implants: a randomized clinical trial. *J Dent Res*. 2013;92(12 suppl):161S–7S.
187. Che C, Liu J, Yang J, Ma L, Bai N, Zhang Q. Osteopontin is essential for IL-1b production and apoptosis in peri-implantitis. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2018; 20(3):384–92.
188. Johnson RB, Serio FG. Leptin within healthy and diseased human gingiva. *J Periodontol*. 2001;72:1254–7.
189. Arnalich F, Lopez J, Codoceo R et al. Relationship of plasma leptin to plasma cytokines and human survival in sepsis. *J Infect Dis* 1999;180:908–11.
190. Gabay C, Dreyer MG, Pellegrinelli N, Chicheportiche R, Meier CA. Leptin directly induces the secretion of interleukin-1 receptor antagonist in human monocytes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(2):783–91.

191. Zhao Y, Sun R, You L, Gao C, Tian Z. Expression of leptin receptors and response to leptin stimulation of human natural killer cell lines. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;300(2):247–52.
192. Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell.* 2000;100(2):197–207.
193. Thomas T, Gor, F, Khosla S, Jensen MD, Burguera B, Riggs BL. Leptin acts on human marrow stromal cells to enhance differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Endocrinology.* 1999;140(4):1630–8.
194. Gordeladze JO, Drevon CA, Syversen U. Leptin stimulates human osteoblastic cell proliferation, de novo collagen synthesis and mineralization: impact on differentiation markers, apoptosis and osteoclastic signaling. *J Cell Biochem.* 2002;85:825–36.
195. Quarles LD. Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. *J Clin Invest.* 2008;118(12):3820-8.
196. Quarles LD. Skeletal secretion of FGF-23 regulates phosphate and vitamin D metabolism. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8(5):276-86.
197. Llauradó G, Megia A, Cano A, Giménez-Palop O, Simón I, González-Sastre M, et al. FGF-23/vitamin D Axis in type 1 diabetes: the potential role of mineral metabolism in arterial stiffness. *PLoS One.* 2015;10(10):e0140222.
198. Dietrich T, Nunn M, Dawson-Hughes B, Bischoff-Ferrari HA. Association between serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D and gingival inflammation. *Am J Clin Nutr.* 2005;82(3):575-80.
199. Millen AE, Hovey KM, Lamonte MJ, Swanson M, Andrews CA, Kluczynski MA, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations and periodontal disease in postmenopausal women. *J Periodontol.* 2013;84(9):1243-56. pe
200. Jimenez M, Giovannucci E, Krall Kaye E, Joshipura KJ, Dietrich T. Predicted vitamin D status and incidence of tooth loss and periodontitis. *Public Health Nutr.* 2014;17(4):844-52.
201. Alshouibi EN, Kaye EK, Cabral HJ, Leone CW, Garcia RI. Vitamin D and periodontal health in older men. *J Dent Res.* 2013;92(8):689-93.
202. Gutierrez O, Isakova T, Rhee E, Shah A, Holmes J, Colterone G, et al. Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16(7):2205-15.
203. Sun N, Guo Y, Liu W, Densmore M, Shalhoub V, Erben RG, et al. FGF23 neutralization improves bone quality and osseointegration of titanium implants in chronic kidney disease mice. *Sci Rep.* 2015;5:8304.

204. Riggs BL, Parfitt AM. Drugs used to treat osteoporosis: the critical need for a uniform nomenclature based on their action on bone remodeling. *J Bone Miner Res.* 2005 Feb;20(2):177–84.
205. Morley P, Whitfield JF, Willick GE. Design and applications of parathyroid hormone analogues. *Curr Med Chem.* 1999 Nov;6(11):1095–106.
206. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, et al. Effect of parathyroid hormone (1–34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med.* 2001 May; 344(19):1434–41.
207. Orwoll ES, Scheele WH, Paul S, Adami S, Syversen U, Diez-Perez A, et al. The effect of teriparatide [human parathyroid hormone (1–34)] therapy on bone density in men with osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2003;18(1):9–17.
208. Kurland ES, Cosman F, McMahon DJ, Rosen CJ, Lindsay R, Bilezikian JP. Parathyroid Hormone as a therapy for idiopathic osteoporosis in men: Effects on bone mineral density and bone markers. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85(9):3069–76.
209. Bashutski JD, Eber RM, Kinney JS, Benavides E, Maitra S, Braun TM, et al. Teriparatide and osseous regeneration in the oral cavity. *N Engl J Med.* 2010;363:2396–405.
210. Chintamaneni S, Finzel K, Gruber BL. Successful treatment of sternal fracture nonunion with teriparatide. *Osteoporos Int.* 2010;21:1059–63.
211. Rubery PT, Bukata SV. Teriparatide may accelerate healing in delayed unions of type III odontoid fractures: a report of 3 cases. *J Spinal Disord Tech.* 2010; 23:151–5.
212. Semenov M, Tamai K, He X. SOST is a ligand for LRP5/LRP6 and a Wnt signaling inhibitor. *J Biol Chem.* 2005;280(29):26770–5.
213. Li X, Zhang Y, Kang H, Liu W, Liu P, Zhang J, Harris SE, Wu D. Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J Biol Chem.* 2005;280(20):19883–7.
214. Balemans W, Cleiren E, Siebers U, Horst J, Van Hul W. A generalized skeletal hyperostosis in two siblings caused by a novel mutation in the SOST gene. *Bone.* 2005;36(6):943–7.
215. Opar A. Late-stage osteoporosis drugs illustrate challenges in the field. *Nat Rev Drug Discov.* 2009;8(10):757–8.
216. Padhi D, Jang G, Stouch B, Fang L, Posvar E. Single-dose, placebo- controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J Bone Miner Res.* 2011;26(1):19–26.

217. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996;87(6):2095–147.
218. Souza JR, Oliveira RT, Blotta MH, Coelho OR. Serum levels of interleukin-6 (IL-6), interleukin-18 (IL-18) and C-reactive protein (CRP) in patients with type-2 diabetes and acute coronary syndrome without ST-segment elevation. *Arq Bras Cardiol*. 2008;90(2):86–90.
219. Konttinen 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(2):135–41.
220. Dinarello CA. A clinical perspective of IL-1beta as the gatekeeper of inflammation. *Eur J Immunol*. 2011;41(5):1203–17.
221. Wilton J, Bampton J, Griffith G. Interleukin-1 beta levels in gingival crevicular fluid from adults with previous evidence of destructive periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1992;19(1):53–7.
222. Yin X, Bunn C, Bartold P. Detection of tissue plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor 2 (PAI-2) in gingival crevicular fluid from healthy, gingivitis and periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 2000;27(3):149–56.
223. Yin X, Bunn C, Bartold P. The expression of plasminogen activator system in a rat model of periodontal wound healing. *J Periodontol*. 2001;72(7):849–57.
224. Kornman K. Host modulation as a therapeutic strategy in the treatment of periodontal disease. *Clin Infect Dis*. 1999;28(3):520–6.
225. Kornman K, Crane A, Wang H, di Giovine F, Newman M, Pirk F, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1997;24(1):72–7.
226. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996 Nov;1(1):821–78.
227. Offenbacher S, Goodson J. Measurement of prostaglandin E in crevicular fluid. *J Clin Periodontol*. 1981;8(4):359–67.
228. Offenbacher S, Odle P, van Dyke T. The use of crevicular fluid prostaglandin E2 levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J Periodontal Res*. 1986;21(2):101–12.
229. 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;11(6):794–9.
230. Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res*. 1993;28(6 Pt 2):500–10.

231. McDevitt H, Munson S, Ettinger R, Wu A. Multiple roles for tumor necrosis factor-alpha and lymphotoxin alpha/beta in immunity and autoimmunity. *Arthritis Res.* 2002;4(Suppl 3):S141-52.
232. Song GG, Choi SJ, Ji JD, Lee YH. Association between tumor necrosis factor- α promoter -308 A/G, -238 A/G, interleukin-6 -174 G/C and -572 G/C polymorphisms and periodontal disease: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2013; 40(8):5191–203.
233. Boyce BF, Li P, Yao Z, Zhang Q, Badell IR, Schwarz EM, et al. TNF-alpha and pathologic bone resorption. *Keio J Med.* 2005;54(3):127–31.
234. Mombelli A, Décaillot F. The characteristics of biofilms in periimplant disease. *J Clin Periodontol.* 2011;38(Suppl. 11): 203-13.
235. Merck. Milliplex Map2-Plex Phospho/Total JNK Magnetic Bead Kit - Cell Signaling Multiplex Assay [acesso em 2019 Jan 23]. Disponível em: http://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/MILLIPLEX-MAP-2-Plex-Phospho-Total-JNK-Magnetic-Bead-Kit-Cell-Signaling-Multiplex-Assay,MM_NF-48-622MAG?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F.
236. Shiau HJ. Limited evidence suggests that adjunctive antimicrobial photodynamic therapy may not provide additional clinical benefit to conventional instrumentation strategy alone in periodontitis and peri-implantitis patients. *J Evid Based Dent Pract.* 2019;19(4):101346.
237. Rocuzzo M, Layton DM, Rocuzzo A, Heitz-Mayfield LJ. Clinical outcomes of peri-implantitis treatment and supportive care: a systematic review. *Clin Oral Impl Res.* 2018;29(Suppl. 16):331–50.
238. Berglundh T, Wennström JL, Lindhe J. Long-term outcome of surgical treatment of peri-implantitis. A 2-11-year retrospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2018;29(4):404–10.
239. Froum SJ, Froum SH, Rosen PS. Successful management of peri-implantitis with a regenerative approach: a consecutive series of 51 treated implants with 3- to 7.5-year follow-up. *Int J Periodont Rest Dent.* 2012;32(1):11–20.
240. Heitz-Mayfield LJ, Salvi GE, Mombelli A, Loup PJ, Heitz F, Kruger E, et al. Supportive peri-implant therapy following anti-infective surgical peri-implantitis treatment: 5-year survival and success. *Clin Oral Implants Res.* 2016;29(1):1–6.
241. Rocuzzo M, Pittoni D, Rocuzzo A, Charrier L, Dalmaso P. Surgical treatment of peri-implantitis intrabony lesions by means of deproteinized bovine bone mineral with 10% collagen: 7-year-results. *Clin Oral Implants Res.* 2017; 28(12):1577–83.
242. Roos-Jansåker AM, Persson GR, Lindahl C, Renvert S. Surgical treatment of peri-implantitis using a bone substitute with or without a resorbable membrane: a 5-year follow-up. *J Clin Periodontol.* 2014;41(11):1108–14.

243. Schwarz F, John G, Schmucker A, Sahm N, Becker J. Combined surgical therapy of advanced peri-implantitis evaluating two methods of surface decontamination: a 7-year follow-up observation. *J Clin Periodontol*. 2017;44(3):337–42.
244. Serino G, Turri A, Lang NP. Maintenance therapy in patients following the surgical treatment of peri-implantitis: a 5-year follow-up study. *Clin Oral Implants Res*. 2015;26(8):950–6.
245. Chambrone L, Wang HL, Romanos GE. Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of periodontitis and peri-implantitis: an American Academy of Periodontology best evidence review. *J Periodontol*. 2018;89(7):783–803.
246. Sanz M, Chapple IL. Working Group 4 of the VIII European Workshop on Periodontology. Clinical research on peri-implant diseases: consensus report of Working Group 4. *J Clin Periodontol*. 2012;39(Suppl 12):202–6.
247. Murata M, Tatsumi J, Kato Y, Suda S, Nunokawa Y, Kobayashi Y, et al. Osteocalcin, deoxypyridinoline and interleukin-1beta in peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*. 2002 Dec;13(6): 637-43.
248. Ataoglu H, Alptekin NO, Haliloglu S, Gursel M, Ataoglu T, Serpek B, et al. Interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid. *Clin Oral Implants Res*. 2002;13(5):470-6.
249. Curtis DA, Kao R, Plesh O, Finzen F, Franz L. Crevicular fluid analysis around two failing dental implants: a clinical report. *J Prosthodont*. 1997;6(3):210-4.
250. Faot F, Nascimento GG, Bielemann AM, Campão TD, Leite FR, Quiryren M. Can peri-implant crevicular fluid assist in the diagnosis of peri-implantitis? A systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. 2015;86(5): 631–45.
251. Renvert S, Widén C, Persson RG. Cytokine and microbial profiles in relation to the clinical outcome following treatment of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*. 2017;28(9):1127–32.
252. Bottner F, Wegner A, Winkelmann W, Becker K, Erren M, Götze C. Interleukin-6, procalcitonin and TNF-alpha: markers of peri-prosthetic infection following total joint replacement. *J Bone Joint Surg Br*. 2007Jan; 89(1):94-9.
253. Ata-Ali J, Flichy-Fernandez AJ, Alegre-Domingo T, Ata-Ali F, Palacio J, Penarrocha-Diago M. Clinical, microbiological, and immunological aspects of healthy versus peri-implantitis tissue in full arch reconstruction patients: a prospective cross-sectional study. *BMC Oral Health*. 2015;15:43.
254. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Mar;95(7):3597–602.

255. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997 Apr;89(2):309–19.
256. Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, et al. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol*. 2007 May;34(5):370–6.
257. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev*. 2008;29(2):155–92.
258. Rakic M, Monje A, Radovanovic S, Petkovic-Curcin A, Vojvodic D, Tatic Z. Is the personalized approach the key to improve clinical diagnosis of peri-implant conditions? the role of bone markers. *J Periodontol*. 2019. [Epub ahead of print]
259. Duarte PM, de Mendonca AC, Maximo MB, Santos VR, Bastos MF, Nociti Junior FH. Differential cytokine expressions affect the severity of peri-implant disease. *Clin Oral Implants Res*. 2009; 20(5):514–20.
260. Ribeiro FV, Casati MZ, Casarin RC, Corrêa MG, Cirano FR, Negri BM, et al. Impact of a triclosan-containing toothpaste during the progression of experimental peri-implant mucositis: Clinical parameters and local pattern of osteo-immunoinflammatory mediators in peri-implant fluid. *J Periodontol*. 2018 Feb;89(2):203–12.
261. Boyce BF, Li P, Yao Z, Zhang Q, Badell IR, Schwarz EM, et al. TNF-alpha and pathologic bone resorption. *Keio J Med*. 2005;54(3):127–31.
262. Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone*. 1999;25(3):255–9.
263. Zou W, Hakim I, Tschoep K, Endres S, Bar-Shavit Z. Tumor necrosis factor-alpha mediates RANK ligand stimulation of osteoclast differentiation by an autocrine mechanism. *J Cell Biochem*. 2001 Jun;83(1):70–83.
264. Theill LE, Boyle WJ, Penninger JM. RANK-L and RANK: T cells, bone loss, and mammalian evolution. *Annu Rev Immunol*. 2002;20:795–823.
265. Monov G, Strbac GD, Baron M, Kandler B, Watzek G, Gruber R. Soluble RANKL in crevicular fluid of dental implants: a pilot study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2006;8(3):135–41.
266. Cakal OT, Efeoglu C, Bozkurt E. The evaluation of peri-implant sulcus fluid osteocalcin, osteopontin, and osteonectin levels in peri-implant diseases. *J Periodontol*. 2018;89(4):418–23.

267. Moheng P, Feryn JM. Clinical and biologic factors related to oral implant failure: a 2-year follow-up study. *Implant Dent.* 2005;14(3):281–8.
268. Wohlfahrt JC, Aass AM, Granfeldt F, Lyngstadaas SP, Reseland JE. Sulcus fluid bone marker levels and the outcome of surgical treatment of peri-implantitis. *J Clin Periodontol.* 2014;41(4):424–31.
269. Tümer C, Aksoy Y, Güncü GN, Nohutcu RM, Kilinc K, Tözüm TF. Possible impact of inflammatory status on C-telopeptide pyridinoline cross-links of type I collagen and osteocalcin levels around oral implants with peri-implantitis: a controlled clinical trial. *J Oral Rehabil.* 2008;35(12):934–9.
270. Che C, Liu J, Yang J, Ma L, Bai N, Zhang Q. Osteopontin is essential for IL-1b production and apoptosis in peri-implantitis. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2018;20:384-92.
271. Upadhyay J, Farr OM, Mantzoros CS. The role of leptin in regulating bone metabolism. *Metabolism Clin Exp.* 2015;64(1):105–13.
272. Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, Shen J, Vinson C, Rueger JM, Karsenty G. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell.* 2000;100(2):197–207.
273. Takeda S, Elefteriou F, Levasseur R, Liu X, Zhao L, Parker KL, Armstrong D, Ducy P, Karsenty G. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell.* 2002;111(3):305–17.
274. Zhu J, Guo B, Gan X, Zhang L, He Y, Liu B, et al. Association of circulating leptin and adiponectin with periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health.* 2017 Jun;17(1):104.

APÊNDICE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você esta sendo convidado(a) a participar, como voluntario(a), da pesquisa intitulado: **Efeito clínico, radiográfico e imunológico do tratamento cirúrgico associado à terapia fotodinâmica com azul de toluidina 0,2% em periimplantite: estudo clínico randomizado longitudinal de 1 ano**, conduzida pelo Dr. Guilherme Bianchine de Moura.

Você foi selecionado(a) por apresentar doença no seu implante dentário na qual apresenta uma infecção local podendo levar a sua perda precoce e disseminação para outras partes do corpo. Sua participação não é obrigatória. A qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar o seu consentimento. Sua recusa, desistência ou retirada de consentimento não acarretará prejuízo.

Sua participação nesta pesquisa consistirá em controle da infecção através de cirurgia para curetagem da infecção no implante e uma coleta de um material desse implante de forma simples através de tiras de papel absorvente para análise em laboratório conseguindo assim uma redução da infecção. Será realizado um questionário de saúde detalhado e entrevista pelo Dr. Guilherme Bianchine de Moura e também fotografado a evolução do controle da infecção.

Os dados obtidos por meio desta pesquisa serão confidenciais e não serão divulgados em nível individual, visando assegurar o sigilo de sua participação.

O pesquisador responsável se comprometeu a tornar públicos nos meios acadêmicos e científicos os resultados obtidos de forma consolidada sem qualquer identificação de indivíduos ou instituições participantes.

Caso você concorde em participar desta pesquisa, assine ao final deste documento, que possui duas vias, sendo uma delas sua, e a outra, do pesquisador responsável / coordenador da pesquisa. Seguem os telefones e o endereço institucional do pesquisador responsável e do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, onde você poderá tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação nele, agora ou a qualquer momento.

Contatos do pesquisador responsável: Guilherme Bianchine de Moura, Doutorando em Periodontia – UERJ, Rua Souza Dias, nº 55/601, Icaraí, Niterói, RJ, CEP 24230-400, qbmodonto@gmail.com. tel.: consult. 2622-1478// cel.: 98621-6115// casa: 3603-4977

Caso você tenha dificuldade em entrar em contato com o pesquisador responsável, comunique o fato à Comissão de Ética em Pesquisa com seres Humanos do Hospital Universitário Pedro Ernesto - UERJ: Av. 28 de setembro, 77 térreo, Vila Isabel, Rio de Janeiro, RJ – CEP 20551-030, Tel.: (21) 28688253, e-mail: cep-hupe@uerj.br

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa, e que concordo em participar.

Rio de Janeiro, ____ de _____ de ____.

Nome do participante _____

Assinatura do(a) participante: _____

CPF do participante _____

Telefones _____

Endereço _____

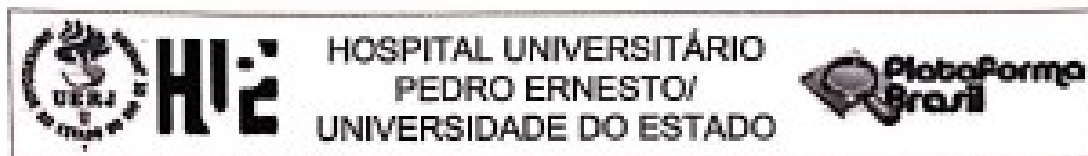
Nome do pesquisador _____

Assinatura do pesquisador: _____

Rubrica do participante

Rubrica do pesquisador

ANEXO - Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO COMPARATIVO DAS DIFERENTES TÉCNICAS DE TRATAMENTO PARA DOENÇA PERIIMPLANTAR.

Pesquisador: Guilherme Bianchini de Moura

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 45763716.9.0000.6259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.157.984

Data da Relatoria: 08/07/2015

Apresentação do Projeto:

Continuação do Parecer: 1.111.090

Objetivo da Pesquisa:

Continuação do Parecer: 1.111.090

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Continuação do Parecer: 1.111.090

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Termos de apresentação obrigatória estão de acordo com a legislação pertinente e devidamente assinados pelos responsáveis.

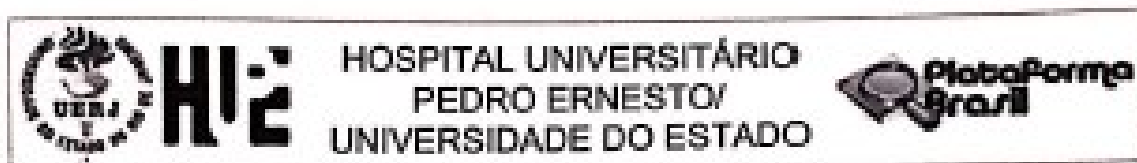
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram atendidas as considerações do Parecer anterior.

Recomendações:**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O trabalho pode ser realizado da forma como está apresentado. Diante do exposto e à luz da

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Tamará
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.641-000
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2666-6253 Fax: (21)2264-0853 E-mail: cep-fupe@ueirj.br



Continuação do Parecer: 1.157.984

Resolução CNS nº466/2012, o projeto pode ser enquadrado na categoria – APROVADO.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: 1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nessas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. Sª, que encaminhe relatórios parciais e anuais referentes ao andamento da pesquisa ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

RIO DE JANEIRO, 23 de Julho de 2015

Assinado por:
WILLE GIGMAN
 (Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Tênia
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.251-030
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2068-8253 Fax: (21)2264-0053 E-mail: cep-hupe@uerj.br