

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
Programa de Pós-graduação em Odontologia

Marcilio Alves Ferraz

**ANÁLISE DOS PARÂMETROS CLÍNICOS E DA
EXPRESSÃO DA IL1- β EM SÍTIOS PERI-IMPLANTARES
E PERIODONTAIS HOMÓLOGOS**

Belo Horizonte

2014

Marcilio Alves Ferraz

**ANÁLISE DOS PARÂMETROS CLÍNICOS E DA
EXPRESSÃO DA IL1- β EM SÍTIOS PERI-IMPLANTARES
E PERIODONTAIS HOMÓLOGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração em Clínicas odontológicas – Ênfase: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Elton Gonçalves Zenóbio
Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Villamarim Soares

Belo Horizonte

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

F381a Ferraz, Marcilio Alves
Análise dos parâmetros clínicos e da expressão da IL1- β em sítios peri-implantares e periodontais homólogos / Marcilio Alves Ferraz. Belo Horizonte, 2014.
69f.: il.

Orientador: Elton Gonçalves Zenóbio
Coorientador: Rodrigo Villamarim Soares
Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.
Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

1. Interleucina-1. 2. Implantes dentários. 3. Periodontia. I. Zenóbio, Elton Gonçalves. II. Soares, Rodrigo Villamarim. III. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. IV. Título.

SIB PUC MINAS

CDU: 616.314-089.843

Marcílio Alves Ferraz

ANÁLISE DOS PARÂMETROS CLÍNICOS E DA EXPRESSÃO DA IL1- β EM SÍTIOS PERI-IMPLANTARES E PERIODONTAIS HOMÓLOGOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de Concentração: Clínicas Odontológicas – Ênfase: Periodontia.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA:

- 1- Profa. Dra. Gabriela Giro Araújo – UnG
- 2- Prof. Dr. Maurício Greco Cosso – PUC Minas
- 3- Prof. Dr. Elton Gonçalves Zenóbio – PUC Minas

DATA DA APRESENTAÇÃO E DEFESA: 31 de março de 2014

A dissertação, nesta identificada, foi aprovada pela Banca Examinadora

Belo Horizonte, 02 de abril de 2014

Prof. Dr. Elton Gonçalves Zenóbio
Orientador

Prof. Dr. Martinho Campolina Rebello Horta
**Coordenador do Programa de Pós-graduação
em Odontologia**

**Dedico este trabalho a meu pai, Ferrazinho,
que, infelizmente não está presente entre nós para ver mais esta vitória. Mas,
onde você estiver, eu sei que está dando aquele sorriso largo...
Te amo, pai!!!**

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, o Grande Arquiteto do Universo, pelas grandes oportunidades que tem me dado e a minha vida!

A meus pais, **Ferrazinho e Vitória**, exemplos de perseverança e dignidade. Sou o que sou, devido a vocês!

À **Lucília e Luísa**, minha família, que souberam compreender os períodos de ausência em prol do conhecimento e de nosso próprio desenvolvimento. Amo vocês!!!

A **CAPES** - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, que possibilitou-me cursar este mestrado.

Aos meus orientadores, **Elton e Rodrigo**, sempre solícitos nos momentos de dificuldades.

À Dra. **Gabriela Giro**, pelo apoio neste trabalho e a **Universidade de Guarulhos**, pela disponibilização de seus equipamentos.

À **Maria Helena Juntolli**, colega do mestrado pelo apoio nas inúmeras horas em que precisei!

Aos **professores** e **secretárias (Angélica e Sivanía)** do mestrado acadêmico da PUC Minas, pelos conhecimentos, apoio e compreensão nos diversos momentos deste curso.

Aos **colegas do mestrado**, pela companhia e bons momentos!

A todos os **amigos, colegas** e **pacientes** que torceram por esta vitória!

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo, correlacionar os parâmetros clínicos peri-implantares/periodontais e a expressão de IL-1 β em implantes com conexão externa (CE) e interna (CI) à dentes homólogos. Foram avaliados 53 pacientes, com 97 implantes e 97 dentes homólogos, em relação a parâmetros clínicos peri-implantares e periodontais: profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (SS), altura da mucosa ceratinizada (AMC), espessura da mucosa ceratinizada (EMC), volume do fluido crevicular (VFC), além da expressão de IL - 1 β nos fluidos crevicular peri-implantar (FCPI) e gengival (FCG) em implantes e dentes homólogos e entre implantes com CE e CI. Os resultados mostraram uma PS aumentada e uma menor AMC em implantes em relação aos dentes homólogos. Outros parâmetros e a IL-1 β não diferiram estatisticamente. Observou-se uma forte e negativa correlação entre o VFC e a IL-1 β . Quanto às conexões dos implantes avaliados não foi observado diferenças estatísticas nos parâmetros clínicos e IL-1 β , porém foi, também, registrada uma forte e negativa correlação entre o VFC e a IL-1 β . Estes achados mostram que não há diferenças importantes nos parâmetros clínicos e na expressão da IL-1 β avaliados entre implantes e dentes homólogos e entre implantes com conexão externa e interna em pacientes saudáveis, contribuindo para dirimir possíveis dúvidas acerca destas variáveis.

Palavras-chave: Interleucina-1 β . Parâmetros clínicos. Implantes dentais.

ABSTRACT

This study aimed to correlate the periimplant/periodontal clinical parameters and expression of IL-1 β in implants with external (EC) and internal connection (IC) and contralateral teeth. We evaluated 53 patients with 97 implants and 97 homologous teeth in relation to peri-implant and periodontal clinical parameters: probing depth (PD), bleeding on probing (BOP), height of keratinized mucosa (HKM), thickness of keratinized mucosa (TKM), crevicular fluid volume (CFV), and the expression of IL-1 β in peri-implant crevicular fluid (PICF) and gingival (GCF) on implants and teeth, and between homologous implants with EC and IC. The results showed PD increased and a lower HKM in implants in relation to the homologous teeth. Other parameters and IL-1 β did not differ statistically. There was a strong negative correlation between CFV and IL-1 β . As for connections of the evaluated implants no statistical differences were observed in clinical parameters and IL-1 β , but was also registered a strong negative correlation between CFV and IL-1 β . These findings show that there are not significant differences in clinical parameters and expression of IL-1 β evaluated between implants and contralateral teeth and implants with external and internal connection in healthy patients, helping to dispel possible doubts about these variables.

Keywords: Interleukin-1 β . Clinical parameters. Dental implants.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo Geral.....	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3 ARTIGOS	19
3.1 Artigo Científico 1	19
3.2 Artigo Científico 2	41
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

Os implantes dentários têm sido utilizados para reabilitar pacientes parcial ou totalmente desdentados, com alta taxa de sucesso. A previsibilidade dos implantes osseointegrados para a substituição de dentes ausentes resultou em seu uso difundido na atualidade. No entanto, tornam-se cada vez mais evidente que complicações envolvendo alterações patológicas relacionadas com acúmulo de placa no tecido peri-implantar, como a mucosite e peri-implantite, podem ocorrer após a osseointegração e após a instalação da prótese sobre o implante, em uma pequena porcentagem dos casos (ABOYOUSSEF et al., 1998; PIKNER et al., 2009; TATLI et al., 2013).

Após o acúmulo do biofilme bacteriano, neutrófilos são recrutados para o sulco peri-implantar ou gengival por causa dos peptídios quimiotáticos liberados pelas bactérias. Como estes danificam as células epiteliais, há a liberação de citocinas, que atraem mais leucócitos (predominantemente neutrófilos). Estas células podem fagocitar e digerir bactérias e, por conseguinte, eliminar estes micro-organismos do local. Se o neutrófilo torna-se sobrecarregado com as bactérias, eles degranulam, causando dano tecidual, devido à liberação de enzimas tóxicas. Havendo uma sobrecarga microbiana, os neutrófilos e a barreira de células epiteliais não serão suficientes para controlar a infecção. Em tais casos, os tecidos peri-implantares se tornarão inflamados e, então, diagnosticados clinicamente como mucosite ou peri-implantite (BERGLUNDH et al., 1998).

A mucosite peri-implantar é caracterizada como uma inflamação da mucosa ao redor do implante e está associada com o edema, rubor e sangramento marginal, sem que haja perda de tecido ósseo. Essas mudanças poder ser acompanhadas por uma infecção crônica progressiva, resultando em sangramento à sondagem e perda óssea peri-implantar, semelhante à periodontite. Processo, este, conhecido como peri-implantite (ACADEMY OF OSSEOINTEGRATION, 2010; CASADO et al., 2013).

A peri-implantite é, geralmente, diagnosticada durante consultas odontológicas de rotina, sendo, na maioria das vezes, assintomática. O aumento da profundidade de sondagem, sangramento gengival, alterações ósseas observadas através de radiografias periapicais e, ocasionalmente, supuração são indicativos desta patologia nos tecidos peri-implantares (JAVED et al., 2011).

Os parâmetros clínicos comumente utilizados podem, efetivamente, descrever a história periodontal, mas não podem indicar a futura destruição do tecido periodontal. Recentes pesquisas tem demonstrado que certos marcadores bioquímicos podem fornecer informações importantes sobre a destruição desse tecido. Uma detecção precoce e confiável de qualquer reação adversa do tecido peri-implantar é um requisito para o planejamento do tratamento em pacientes tratados com implantes dentários (PEROZINI et al., 2010).

As doenças periodontais e peri-implantares resultam de interações entre microbiota periodontal e a resposta do hospedeiro. Metabólitos bacterianos de patógenos periodontais estimulam a produção de mediadores inflamatórios secretados no fluido crevicular peri-implantar (FCPI), que provocam a destruição dos tecidos peri-implantares (MELO et al., 2012). O FCPI é um exsudado inflamatório osmoticamente mediado proveniente dos vasos do plexo gengival. Sua composição é semelhante à do fluido crevicular gengival (FCG), contendo enzimas, mediadores inflamatórios e modificadores da resposta do hospedeiro e produtos de degradação dos tecidos (JAVED et al, 2011).

Os neutrófilos desempenham um papel fundamental na resposta imune inata, ingerindo bactérias e secretando enzimas proteolíticas, bem como componentes mediadores pró-inflamatórios, dentre eles as citocinas inflamatórias (ABOYOUSSEF et al., 1998; PEROZINI et al., 2010; YAGHOBEE; KHORSAND; PAKNEJAD, 2013). Estas moléculas são importantes moduladoras dos processos fisiológicos e patológicos no periodonto: sendo que uma mesma citocina pode atuar tanto no *turnover* celular, quanto em eventos inflamatórios nos tecidos gengival e ósseo (CHAU; LEONG; LI, 2009).

As citocinas pró-inflamatórias têm demonstrado promover a atividade dos osteoclastos, que pode levar à perda óssea em dentes (pacientes com periodontite) e implantes dentários (pacientes com peri-implantite). Assim, a análise dos níveis de citocinas no FCPI pode ajudar na detecção de lesões inflamatórias na fase inicial que podem ser clinicamente latente (PETKOVIC et al., 2010; JAVED et al., 2011).

Citocinas, como Interleucina 1- β (IL-1 β), Interleucina 1- α (IL-1 α), Fator Transformador de Crescimento β (TGF- β) e Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α), têm importante papel no processo inflamatório. A IL-1 β é um das mais importantes citocinas que estimulam a reabsorção óssea e inibem a formação óssea. Este mediador multifuncional também estimula a síntese de prostaglandina, a produção

de protease, leucotrienos e fator de ativação plaquetária em vários tipos de células. A IL-1 β em cooperação com outros mediadores inflamatórios têm um papel importante na regulação e amplificação da resposta inflamatória nos tecidos periodontais e peri-implantares (SCHIERANO et al., 2008; MELO et al., 2012; CASADO et al., 2013; YAGHOBEE; KHORSAND; PAKNEJAD, 2013).

Pesquisas recentes tem demonstrado uma correlação entre marcadores bioquímicos e parâmetros clínicos ao redor de implantes saudáveis e doentes, entretanto, com um aumento dos níveis de IL-1 β em sítios com doença peri-implantar (HEITZ-MAYFIELD, 2008; CANDEL-MARTI et al., 2011). Teles et al. (2010) afirmaram em seus estudos que, em sítios clinicamente saudáveis de indivíduos com periodontite, havia um aumento significativamente maior dos níveis de IL-1 β e um aumento do volume de FCG.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar e correlacionar parâmetros clínicos de diagnóstico e a expressão da IL-1 β em implantes e dentes homólogos e entre implantes com diferentes tipos de conexão protética.

2.2 Objetivos Específicos

- a) investigar a correlação entre os parâmetros clínicos de diagnóstico em implantes e dentes homólogos;
- b) correlacionar os níveis da citocina pró-inflamatória IL1- β em sítios peri-implantes e periodontais;
- c) correlacionar os níveis da IL1- β com os parâmetros clínicos periodontais e peri-implantares;
- d) investigar a correlação entre os parâmetros clínicos de diagnóstico em implantes com sistema de conexão externa - hexágono externo e conexão interna – hexágono interno e cone morse;
- e) correlacionar os níveis de IL1- β em implantes com conexão externa e conexão interna;
- f) correlacionar os níveis da IL1- β com os parâmetros clínicos de diagnóstico em implantes com conexão externa e conexão interna.

3 ARTIGOS

3.1 Artigo Científico 1

Parâmetros clínicos e moleculares em sítios peri-implantares e periodontais

Artigo formatado de acordo com as normas de publicação da Revista Periodontia
(Sociedade Brasileira de Periodontologia)

Estrato Qualis: B4

Endereço eletrônico: <http://www.revistasobrape.com.br/normas.asp>

PARÂMETROS CLÍNICOS E MOLECULARES EM SÍTIOS PERI-IMPLANTARES E PERIODONTAIS

Clinical and molecular parameters in peri-implant and periodontal sites

Marcilio Alves Ferraz¹, Elton Gonçalves Zenóbio², Rodrigo Villamarim Soares²

¹ Mestrando em Odontologia, PUC Minas, Belo Horizonte, Brasil.

² Professor Adjunto IV Departamento de Odontologia. PUC Minas, Belo Horizonte, Brasil.

Endereço para correspondência:

Elton Gonçalves Zenóbio

Av. Dom José Gaspar, 500 / Pr. 46. Sala 101 • Coração Eucarístico.

CEP 30535-901 • Belo Horizonte • MG - Brasil

Telefone: (31) 3319-4414

E-mail: zenobio@pucminas.br

RESUMO

A implantodontia, como especialidade odontológica, tem se desenvolvido ao longo dos anos com previsibilidade e altas taxas de sucesso. Apesar do desenvolvimento técnico-científico e devido ao grande número de reabilitações implantossuportadas realizadas, é crescente o número de casos de doenças peri-implantares causadas pelo acúmulo de placa bacteriana, como a mucosite e a peri-implantite. Os parâmetros de diagnósticos atualmente disponíveis detectam a doença em sua fase clínica. Marcadores moleculares, como as citocinas pró-inflamatórias Interleucina 1- β , Interleucina 1- α , Fator Transformador de Crescimento- β e Fator de Necrose Tumoral- α , dentre outras, tem-se mostrado promissor para detecção precoce das doenças peri-implantares/periodontais. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre os parâmetros clínicos e moleculares como marcadores de doenças peri-implantares/periodontais. Observou-se um consenso entre os autores sobre a validade da utilização de parâmetros clínicos como meio de diagnóstico, porém estes achados clínicos mostram a doença peri-implantar em seu estágio atual. As citocinas pró-inflamatórias também estão sendo utilizadas, na atualidade, como marcadores de doença peri-implantar/periodontal. Devido à grande diversidade de resultados, nas mais variadas situações clínicas, novas avaliações deverão ser feitas com o intuito de reforçar estas informações e torná-las úteis à prática clínica diária.

UNITERMOS: Interleucina-1 β , Citocinas pró-inflamatórias, Mucosite, Peri-implantite.

ABSTRACT

The implant dentistry, as dental specialty, has developed over the years with predictability and high success rates. Despite the technical and scientific development over the years and due the large number of implants rehabilitations carried out an increasing number of cases of periimplant diseases caused by bacterial plaque, such as mucositis and periimplantitis. The parameters of periimplant diagnosis available to detect disease in its clinical stage, but don't predict future bone loss. Molecular diagnostic methods, such as detection of proinflammatory cytokines through the periimplant crevicular fluid, such as interleukin-1 β , Interleukin-1 α , Transforming Growth Factor- β and tumor necrosis factor- α , and others, have shown promise for early detection of periimplant/periodontal diseases. The objective of this study was to review the literature on the clinical and molecular parameters as periimplants/periodontals diseases. There was a consensus among authors about the validity of using clinical parameters as a means of diagnosis, but these clinical findings show the peri-implant disease in its current stage. Pro-inflammatory cytokines are also being used nowadays, as markers of periimplant/periodontal disease. Due to the large variation in varied clinical situations, new assessments should be made in order to strengthen the information and make it useful for clinical practice.

UNITERMS: Interleukin-1 β , Proinflammatory cytokines, Mucositis, Peri-implantitis.

INTRODUÇÃO

Os implantes dentários têm sido utilizados para reabilitar pacientes parcial ou totalmente desdentados, com previsibilidade e altas taxas de sucesso. Entretanto, complicações envolvendo alterações patológicas do tecido peri-implantar após a osseointegração ou instalação da prótese sobre o implante podem ocorrer: as mucosites e as peri-implantites (Aboyoussef *et al.*, 1998; Berglundh *et al.*, 1998; Pikner *et al.*, 2009; Tatli *et al.*, 2013).

A mucosite peri-implantar é caracterizada como uma inflamação da mucosa ao redor do implante e está associada com a presença de edema, rubor e sangramento marginal. Essas mudanças poder ser acompanhadas por uma infecção crônica progressiva resultando em sangramento à sondagem (SS) e uma perda óssea peri-implantar: a peri-implantite (Academy of Osseointegration, 2010; Casado *et al.*, 2013).

A peri-implantite é, geralmente, diagnosticada durante consultas odontológicas de rotina, através de parâmetros clínicos: profundidade de sondagem (PS), SS, exames radiográficos e, ocasionalmente, supuração (Javed *et al.*, 2011).

Recentes pesquisas tem demonstrado que marcadores bioquímicos podem fornecer informações importantes sobre a destruição desse tecido. Uma detecção precoce e confiável de qualquer reação adversa do tecido peri-implantar é um requisito para o planejamento do tratamento em pacientes reabilitados com implantes dentários (Perozini *et al.*, 2010).

As doenças periodontais e peri-implantares resultam de interações entre microbiota periodontal e a resposta do hospedeiro. Metabólitos bacterianos de patógenos periodontais estimulam a produção de mediadores inflamatórios

secretados no fluido crevicular peri-implantar (FCPI), que provocam a destruição dos tecidos peri-implantares (Javed *et al.*, 2011; Melo *et al.*, 2012).

Os neutrófilos, presentes no FCPI, desempenham um papel fundamental na resposta imune inata, ingerindo bactérias e secretando enzimas proteolíticas, bem como componentes mediadores inflamatórios, dentre eles as citocinas pró-inflamatórias (Aboyoussef *et al.*, 1998; Perozini *et al.*, 2010; Yaghobee *et al.*, 2013). Estas têm demonstrado promover a atividade dos osteoclastos, que pode levar à perda óssea em dentes e implantes dentários. Assim, a análise dos níveis de citocinas no FCPI pode ajudar na detecção de lesões inflamatórias na fase inicial, que podem ser clinicamente latente (Petkovic *et al.*, 2010; Javed *et al.*, 2011).

Diversas citocinas, como Interleucina1 β (IL-1 β), Interleucina1 α (IL-1 α), Fator Transformador de Crescimento β (TGF- β) e Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α), têm um importante papel no processo inflamatório. A IL-1 β é um das mais importantes citocinas que estimulam a reabsorção óssea e inibem a formação óssea (Schierano *et al.*, 2008; Melo *et al.*, 2012; Casado *et al.*, 2013; Yaghobee *et al.*, 2013). Heitz-Mayfield (2008) observaram um aumento dos níveis de IL-1 β em sítios com doença peri-implantar.

Neste contexto, este trabalho tem como objetivo a realização de uma revisão de literatura sobre os parâmetros clínicos e a expressão de citocinas pró-inflamatórias em sítios saudáveis, e em sítios com mucosite e peri-implantite.

REVISÃO DE LITERATURA

Esta revisão foi realizada pesquisando-se entre os anos 2000 a 2014, com ênfase em periódicos em língua inglesa e utilizando-se as combinações de palavras-chave: implants and interleukin-1, periimplantitis and interleukin-1, implants and

interleukin-1 and peri-implantitis no Medline/Pubmed. Um total de 325 artigos foram encontrados e, após seleção por título e resumos, 45 artigos, selecionados. Os trabalhos completos foram obtidos e avaliados, segundo critérios que atende-se a avaliação de parâmetros clínicos e moleculares nos estudos, sendo 20 constantes desta revisão.

As infecções e injúria tecidual induzem uma resposta inflamatória, que promove proteção aos tecidos, restringindo os danos ao local da infecção ou injúria, mas podendo ter efeitos deletérios quando de forma exacerbada. A resposta inflamatória aguda é de curta duração e, além de uma reação local, ocorre também uma reação sistêmica. A resposta local inicia-se quando o dano tecidual desencadeia vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, ocorrendo extravasamento de leucócitos para os sítios inflamados. No início, o tipo celular predominante é o neutrófilo e, em fases mais tardias, monócitos e linfócitos também migram para o local, amplificando o processo inflamatório. Vários mediadores participam ativamente da resposta inflamatória, como as quimiocinas, enzimas plasmáticas, mediadores lipídicos como tromboxanos, prostaglandinas, leucotrienos e as citocinas. Em alguns casos o processo inflamatório agudo não é completamente resolvido, levando a inflamação crônica, como é o caso de doenças autoimunes ou infecções causadas por microrganismos que conseguem evadir a resposta imune. Esse tipo de inflamação acontece quando macrófagos e células T são constantemente ativados, levando ao seu acúmulo nos sítios de lesão, causando significativo dano tecidual (Bilate, 2007).

Citocina é um termo genérico empregado para designar um grupo extenso de moléculas (mais de 200 já foram descritas) envolvidas na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento das respostas imunes. As citocinas são

proteínas de baixo peso molecular, produzidas por diversas células do sistema imunológico. Tem atividades diversificadas: mediam respostas imunes e inflamatórias, atuam sobre vários tipos de células e atuam sobre processos de síntese de RNAm (Naoum, 2001; Bilate, 2007).

As diferentes citocinas podem ser agrupadas em diversas categorias: Interférons, Interleucinas, Fator Estimulador de Colônias, Fator de Necrose Tumoral e Fator de Transformação de Crescimento. Embora diversas células possam secretar estas moléculas, as células T, macrófagos e células dendríticas são as principais fontes (Naoum, 2001; Bilate, 2007).

Conhecidas, também por linfocinas, as Interleucinas compõem um grande grupo de citocinas (IL 1 a IL15), produzidas, principalmente, pelas células T e estão envolvidas na comunicação entre linfócitos. As atividades das Interleucinas podem ser resumidas em: reconhecimento de antígenos estranhos por células T, amplificação da proliferação de células T ativadas, atração de macrófagos e identificação de mecanismos efetivos para fagocitose de microrganismos, na promoção da hematopoiese (Naoum, 2001).

Estes marcadores podem ser coletados de uma forma rápida e segura e não invasiva, através do FCPI. Este tem sua origem na base do sulco gengival. Foi, portanto, demonstrado como um promissor meio para a detecção da atividade peri-implantar. Anteriormente, o fluido crevicular gengival (FCG) foi utilizado com sucesso como marcador diagnóstico para monitorar a doença periodontal. Os níveis dos mediadores bioquímicos secretados no FCPI foram considerados marcadores diagnósticos para monitorar a saúde peri-implantar. De fato, o FCPI parece refletir o grau de reação inflamatória afetando os tecidos circundantes, osso e mucosas e a presença do estresse biomecânico (Perozini *et al.*, 2010; Casado *et al.*, 2013).

A IL 1- β é uma das citocinas mais importantes que estimulam a reabsorção óssea e inibem a formação do osso. Um alto nível desta interleucina no FCG e no tecido gengival tem sido associado com a periodontite crônica (Yaghobee *et al.*, 2013). A redução da destruição dos tecidos por inibição da IL-1 β também tem sido demonstrada em periodontite experimental (Delima *et al.*, 2001). Na peri-implantite, um alto nível de IL-1 β também tem sido encontrada no FCPI (Ataoglu *et al.*, 2002).

Ataoglu *et al.* (2002) realizaram um estudo com 14 pacientes com 42 implantes ósseo-integrados, média de idade de 49,7 anos, fumantes e não fumantes. Foram excluídos pacientes com comprometimento sistêmico e/ou que usaram medicamentos que poderiam influenciar o estado periodontal, bem como aqueles que realizaram terapia periodontal nos últimos seis meses. PS, Índice Gengival (IG), Índice de Placa (IP) foram analisados, bem como o nível ósseo, com o auxílio de radiografias periapicais. Em seguida, foi coletado o FCPI com o auxílio de uma tira de papel absorvente, o Periopaper[®] e para a determinação do volume foi utilizado um equipamento denominado Periotron[®]. Utilizou-se o teste ELISA para detecção das citocinas pró-inflamatórias em estudo: IL-1 β , TNF- α e Elastase Neutrófila (EN). Foram criados dois grupos: INSM – não fumantes e ISM – fumantes. Nenhum implante apresentou perda óssea excessiva. Todos os parâmetros clínicos encontrados foram menores no grupo INSM, que no grupo ISM, sendo esta diferença estatisticamente significativa. A IL-1 β e EN foram encontradas em todos os sítios estudados, ao passo que o TNF- α , foi encontrado em 37 das 42 amostras. Houve uma importante relação positiva entre os parâmetros clínicos (PS e IG) e os níveis de EN no FCPI e entre IL-1 β e o volume do FCPI. No grupo de não fumantes, cujo IG foi maior, o volume do FCPI e de IL-1 β estavam aumentados em relação aos pacientes cujo IG foi menor que um. Estes resultados mostraram que

implantes com inflamação gengival têm maiores níveis de IL-1 β quando comparados a implantes com gengivas ligeiramente inflamadas ou sem inflamação. Foi demonstrado, também, um aumento da concentração do TNF- α no grupo INSM, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa.

Schierano *et al.* (2008) avaliaram os níveis de TNF- α , TGF- β e IL-1 β em 25 pacientes com implantes ósseo-integrados e dentes homólogos, antes e depois de acúmulo de biofilme. Foram excluídos pacientes fumantes, com doenças sistêmicas, e que fizeram uso de drogas que pudessem afetar o estado periodontal. Os parâmetros foram mensurados no dia 0; em três semanas, após suspensão da higiene oral e após 90 dias, com retorno a higiene regular. A coleta do FCPI e FCG foi realizada com as tiras Periopaper[®]. O volume do fluido crevicular (VFC) foi mensurado através do Periotron[®] e os níveis de citocinas foram quantificados com o teste ELISA. Foi observado um aumento significativo dos fluidos creviculares após 3 semanas, em relação ao dia 0 e sua diminuição na medição de 90 dias. A IL-1 β , TNF- α e TGF- β foram detectadas em todos os pacientes. No FCG foi observado um aumento significativo desta citocina no dia 21 em relação ao dia 0 e sua diminuição no dia 90, ao passo que no FCPI, houve um aumento não significativo no dia 21 e uma redução significativa aos 90 dias. A quantidade de IL-1 β foi maior no FCG em comparação ao FCPI aos 21 dias, mas esta diferença não foi significativa. Os autores concluíram que o volume de FCG e FCPI estão correlacionados com inflamação gengival e da mucosa peri-implantar, assim, o VFC ao redor de dentes e implantes pode ser um indicativo para a avaliação da presença de inflamação no tecido mole. Observaram que a quantidade de IL-1 β no FCG e FCPI pode ser um parâmetro a ser considerado para avaliar o processo inflamatório e que na presença de placa bacteriana, implantes mostraram níveis de IL-1 β baixos e quase

significativos, comparado aos dentes. A comparação do TNF- α nos FCG e FCPI não mostrou diferenças significativas nos três pontos de corte do estudo, o mesmo acontecendo com os níveis de TGF- β .

Petkovic *et al.* (2010) pesquisaram os níveis de IL-1 β e TNF- α em pacientes saudáveis e com mucosite leve e avançada. Noventa pacientes, com média de idade de 55 anos, foram avaliados. Todos eram sistemicamente saudáveis e nenhum utilizou antibióticos nos últimos seis meses. Foram avaliados os parâmetros clínicos: IG, IP, Índice de Sangramento e análise radiográfica. Nenhum paciente apresentou perda óssea ao redor dos implantes e foram divididos em três grupos: G I (controle) – pacientes saudáveis, G II – mucosite em estado precoce e G III – mucosite em um estado avançado. As amostras do FCPI foram colhidas com tiras de papel absorvente Periopaper e em seguida, medidas pelo Periotron®, para avaliar o VFC. Após, as citocinas foram quantificadas utilizando-se o teste ELISA e um aparelho espectrofotômetro. Os resultados desta pesquisa mostraram que, em pacientes saudáveis, o volume do FCPI foi menor que em pacientes que apresentaram mucosite. Os pacientes do G I tiveram as concentrações de IL-1 β e TNF- α mais baixas, comparada aos pacientes dos G II e G III. Os pacientes do G III tiveram uma concentração significativamente mais elevada que no G II. Os autores concluíram que a IL-1 β e TNF- α poderiam ser utilizadas como marcadores de falha dos implantes. Os níveis de IL-1 β e TNF- α no FCPI podem fornecer um meio de monitoramento do estado de saúde do implante dentário, podendo ser um importante complemento aos achados clínicos no estabelecimento do diagnóstico de peri-implantite.

Güncü *et al.* (2012) realizaram um estudo com oito pacientes, com 47 implantes. Os pacientes foram avaliados quanto aos parâmetros clínicos IG, IP, PS e

VFC e divididos em dois grupos: G I – tecido peri-implantar clinicamente saudáveis e G II – tecido peri-implantar clinicamente inflamados. As amostras do FCPI foram obtidas e transportadas ao Periotron para determinação do volume. Em laboratório foram determinados os níveis de diversas citocinas, dentre elas a IL-1 β e a IL-10, dentre outras. Os resultados demonstraram que todos os parâmetros clínicos estudados foram maiores no G II e que estas diferenças foram estatisticamente significativas, com exceção do volume do FCG. Em relação aos níveis de citocina IL-1 β e IL-10 no FCPI, os resultados mostraram uma expressão maior destas moléculas no G II, comparado ao G I, sendo esta diferença estatisticamente significativa.

Melo *et al.* (2012) estudaram, em uma amostra de 47 pacientes, a concentração da IL-1 β e IL-6 no FCPI em implantes saudáveis e com peri-implantite. Foram excluídos os pacientes com histórico de periodontite crônica ou agressiva e aqueles que apresentavam doenças crônicas ou que fizeram uso de antibióticos ou anti-inflamatórios nos últimos seis meses, além de pacientes fumantes. Utilizando-se uma sonda periodontal milimetrada, os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados: PS, Nível de Inserção Clínica (NIC), nível gengival, SS e supuração. Os implantes e dentes foram distribuídos em seguintes grupos: a) G I - implantes saudáveis, b) G II - implantes com peri-implantite, c) G III - dentes saudáveis de pacientes com implantes saudáveis, e d) G IV - dentes saudáveis de pacientes com peri-implantite. Para a coleta das citocinas, foram utilizadas tiras de Periopaper que, depois de inseridos no sulco peri-implantar e gengival, o volume foi medido imediatamente no Periotron. Após, as citocinas foram quantificadas utilizando-se os testes ELISA. Todos os parâmetros clínicos foram maiores no G II, em relação ao G I, resultados, estes, estatisticamente significativos. Apenas a PS mostrou diferenças

estatisticamente significativas entre os outros grupos. A média de IL-1 β e IL-6 no FCPI não apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

Nowzari *et al.* (2012) avaliaram 24 pacientes, com 28 implantes e 26 dentes homólogos. Foram excluídos do estudo aqueles implantes ou dentes com sinal de doença, gestantes ou lactantes, que fizeram uso de antibiótico em três meses ou menos e que fizeram uso de anti-inflamatórios em duas semanas. Os FCG e FCPI foram colhidos e armazenados para detecção da IL-8, IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α e, então, processados em laboratório. Foram encontradas uma maior concentração destas citocinas no FCPI, porém esta diferença foi estatisticamente significativa apenas para IL-8 e TNF- α .

Ata-Ali *et al.* (2013) trataram 34 pacientes com implantes dentários. Foram excluídos do estudo, aqueles que foram tratados periodontalmente nos últimos seis meses, aqueles com doença periodontal não controlados, além de pacientes com implantes com roscas expostas, com doenças sistêmicas, que receberam medicação capazes de alterar a saúde gengival e gestantes. Os pacientes foram divididos em dois grupos: saudáveis e com mucosite. Os pacientes foram avaliados clinicamente através dos parâmetros: Índice Gengival Modificado (IGM), Índice de Placa Modificado (IPM) e PS em quatro faces e a média calculada para cada implante. Amostras do FCPI foram colhidas e analisadas com o auxílio do Periotron 8000, para avaliação da IL-1 β e IL-6. O percentual de sítios com aumento de IGM e IPM e PS maior foi estatisticamente significativa em pacientes com mucosite que em saudáveis. Em relação à expressão da IL-1 β , apesar do grupo com mucosite apresentar um aumento desta citocina comparando com o grupo saudável, esta diferença não foi estatisticamente significante. Ao contrário, o grupo com mucosite

mostrou um significativo aumento da expressão da IL-6, comparando ao grupo saudável.

Casado *et al.* (2013) realizaram um estudo onde avaliaram a expressão da IL-1 β e da IL-10 em sítios saudáveis e com doença peri-implantar e correlacionou estes níveis com parâmetros clínicos e radiográficos. Trinta pacientes com média de idade de $53 \pm 11,8$ anos, tratados com implantes ósseo-integrados com hexágono externo (30 implantes), não fumantes, sem problemas sistêmicos e sem uso de medicamentos que poderiam alterar o status periodontal foram selecionados. Foram, ainda, excluídos, os que tenham sofrido qualquer terapia periodontal ou peri-implantar nos últimos seis meses. Os pacientes foram, então, submetidos ao exame periodontal e peri-implantar, consistindo em análise visual e tátil da mucosa, PS e SS e separados, posteriormente, em três grupos: pacientes saudáveis (grupo controle), com mucosite e com peri-implantite. Após coleta do FCPI com micropipetas, foram obtidas as amostras das citocinas e analisadas através do método ELISA. Em todas as amostras foram detectadas IL-1 β e IL-10. A média de IL-1 β foi significativamente menor nos pacientes saudáveis comparados com pacientes com mucosite e peri-implantite, sendo que nenhuma diferença significativa foi encontrada nos grupos com doença. Já a expressão da IL-10 foi significativamente maior em pacientes saudáveis, sendo esta diferença significativa, estatisticamente.

Tatli *et al.* (2013) estudaram a expressão da IL-1 β no FCPI e sua relação com parâmetros clínicos periodontais e peri-implantares em pacientes fumantes e não fumantes. 60 pacientes – 27 fumantes e 33 não fumantes foram avaliados. Foram excluídos indivíduos que estavam fazendo uso de antibióticos ou anti-inflamatórios até seis meses do exame clínico, bem como aqueles que sofreram terapia peri-

implantar neste período. Os parâmetros clínicos IP, IG e PS foram avaliados. Amostras do FCPI foram coletadas para avaliação da IL-1 β , PGE₂ e TNF- α . Neste estudo, todos os parâmetros clínicos avaliados foram significativamente mais altos no grupo fumantes que no grupo não fumantes, com exceção do IP, embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa. A PS foi maior no grupo fumantes, que no grupo não fumantes, e esta diferença foi estatisticamente significativa. Os níveis das citocinas foram avaliados quanto a sua quantidade total e sua concentração. Quando a quantidade total foi comparada, observou-se um aumento significativo dos níveis de IL-1 β , PGE₂ e TNF- α no grupo fumantes. Em relação à concentração, os níveis de IL-1 β e PGE₂ foram, também, significativamente maiores no grupo fumantes. O mesmo foi observado com a TNF- α , porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. Houve, também, correlações positivas significantes entre todos os parâmetros clínicos e as citocinas estudadas.

Yaghobee *et al.* (2013) avaliaram a correlação entre parâmetros clínicos periodontais e radiográficos e a concentração da IL-1 β no tecido gengival ao redor de dentes e no tecido peri-implantar, além de comparar níveis desta citocina nos FCG e FCPI. Pacientes com comprometimentos sistêmicos e que estivessem utilizando medicamentos que poderiam interferir no status periodontal foram excluídos. Um total de 41 implantes em 32 pacientes foram selecionados, com uma média de idade de 53,3 anos. De acordo com o protocolo boca dividida, o dente contralateral ao implante foi selecionado. Após coleta do biofilme para mensurar o IP, a inflamação gengival foi avaliada de acordo com o IGM. A avaliação do nível ósseo foi feita com radiografias periapicais. As amostras do FCG e FCPI foram colhidas com um filtro de papel e armazenadas a -70°C. Após o preparo do material,

os níveis de IL-1 β foram avaliados através do método ELISA. Houve uma diferença estatisticamente significativa nos níveis de IL-1 β no FCPI. Em relação aos dados clínicos, PS, IP, IG e nível ósseo foram significativamente mais altos no grupo teste (implante) que no grupo controle (dentes). A correlação entre a concentração de IL-1 β e os parâmetros, PS, IP, IG e nível ósseo foram estatisticamente significantes na comparação de ambos os grupos do estudo.

DISCUSSÃO

Os resultados dos estudos aqui apresentados tem demonstrado a presença da IL-1 β , TNF- α , IL-6 e outras citocinas nos FCG e FCPI e reforçado o estudo dos parâmetros clínicos periodontais/peri-implantares como fundamentais para o diagnóstico das doenças periodontais/peri-implantares. Estes trabalhos demonstraram, também, a facilidade de coleta destes fluidos sulculares, para obtenção desta e outros marcadores biológicos de inflamação peri-implantar, informando, porém, o grande número de equipamentos e materiais necessários à obtenção dos resultados e a complexa metodologia utilizada para quantificar as citocinas, além do elevado custo (Ataoglu *et al.*, 2002; Schierano *et al.*, 2008; Petkovic *et al.*, 2010; Güncü *et al.*, 2012; Melo *et al.*, 2012; Nowzari *et al.*, 2012; Ata-Ali *et al.*, 2013; Casado *et al.*, 2013; Tatli *et al.*, 2013; Yaghobee *et al.*, 2013).

Nesta revisão de literatura, os diversos autores utilizaram metodologias semelhantes, não iguais, para verificação do estado periodontal. Os parâmetros clínicos avaliados foram os mais diversos: nível de inserção clínica, supuração, recessão, VFC gengival ou peri-implantar, altura do nível ósseo, através de radiografias periapicais, IG, IP, PS, sendo estes últimos mais frequentemente citados. Estas diferenças metodológicas impedem que sejam feitas comparações

mais precisas entre os estudos, mas de forma geral, verificou-se uma concordância entre os autores que os parâmetros clínicos estão, geralmente, alterados, em pacientes com peri-implantite ou mesmo mucosite (Ataoglu *et al.*, 2002; Petkovic *et al.*, 2010; Güncü *et al.*, 2012; Melo *et al.*, 2012; Ata-Ali *et al.*, 2013; Tatli *et al.*, 2013; Yaghobee *et al.*, 2013).

Diversas citocinas participam do processo inflamatório, como a IL-1 β , TNF- α , IL-6, entre outras (Schierano *et al.*, 2008; Melo *et al.*, 2012; Casado *et al.*, 2013; Yaghobee *et al.*, 2013). Já é um consenso que a IL-1 β é uma das citocinas mais importantes no estímulo à reabsorção óssea, além de inibir a formação do osso alveolar (Ataoglu *et al.*, 2002; Yaghobee *et al.*, 2013). Esta observação foi corroborada com trabalhos de Delima *et al.* (2001), que demonstraram que a inibição deste marcador possibilitou a redução da destruição dos tecidos periodontais.

Ataoglu *et al.* (2002) observaram a presença da IL-1 β , no FCPI em todos os sítios estudados, achado corroborado por outros autores, ao passo que o TNF- α foi encontrado em 88% dos sítios estudados. Eles observaram que sítios inflamados possuem níveis maiores de IL-1 β quando comparados a sítios sem inflamação. Este achado foi também observado por Petkovic *et al.* (2010), que concluíram que esta citocina podem ser utilizados como marcadores de prognóstico de falha dos implantes. Estudos recentes (Güncü *et al.*, 2012; Yaghobee *et al.*, 2013) confirmaram os achados de Ataoglu *et al.* Schierano *et al.* (2008) observaram que esta citocina também pode ser considerada para avaliar o processo inflamatório, porém, encontraram níveis baixos da IL-1 β em implantes. Outros autores, como Melo *et al.* (2012), Nowzari *et al.* (2012) e Ata-Ali *et al.* (2013) encontraram valores deste marcador aumentado em implantes com mucosite ou peri-implantite, porém não foram estatisticamente significantes.

Diversos estudos trabalharam com uma população de fumantes e não fumantes indistintamente. O trabalho de Tatli *et al.* (2013) mostrou um significativo aumento dos níveis de IL-1 β , PGE₂ e TNF- α no grupo de fumantes comparado ao grupo não fumante, indicando um possível fator de risco ao desenvolvimento de doenças peri-implantares. Este resultado está de acordo com o trabalho de Ataoglu *et al.* (2002).

O TNF- α é outro marcador com função similar a IL-1 β , porém encontrados em níveis mais baixos em pacientes com periodontite. Esta citocina estimula a reabsorção óssea, a síntese de prostaglandinas, além da produção de proteases. Ataoglu *et al.* (2002) observaram um aumento da concentração do TNF- α em pacientes fumantes, mas foi um resultado não estatisticamente significativo. Estes resultados também foram encontrados por Schierano *et al.* (2008). Petkovic *et al.* (2010), observaram uma concentração mais baixa deste marcador em pacientes saudáveis e mais elevada em pacientes com mucosite em estado avançado. Estes autores concluíram que o TNF- α poderia ser usado como marcadores de prognóstico de falhas de implantes, assim como a IL-1 β . Nowzari *et al.* (2012) observaram uma concentração maior desta citocina no FCPI, comparando com o FCG, um resultado estatisticamente significativo. Já Tatli *et al.* (2013) observaram um aumento desta citocina em pacientes fumantes, porém os resultados não foram estatisticamente significativos.

Nos artigos estudados nesta revisão, uma quantidade enorme de citocinas foram avaliadas em diversas metodologias. Schierano *et al.* (2008) avaliaram a expressão do TGF- β no estudo onde foram avaliados a expressão deste marcador após acúmulo de placa. Houve um aumento da expressão deste marcador, porém estas diferenças não foram estatisticamente significativas. Güncü *et al.* (2012)

avaliaram a expressão da IL-10, encontrando uma maior quantidade deste marcador no grupo com tecido implantar clinicamente inflamados em comparação com o grupo com tecido implantar clinicamente saudáveis, com uma diferença estatisticamente significativa. O mesmo resultado não foi encontrado por Casado *et al.* (2013).

Melo *et al.* (2012) estudaram a expressão da IL-6 em implantes saudáveis e com peri-implantite em comparação com dentes saudáveis, mas eles não encontraram diferenças significativas entre os grupos, o mesmo acontecendo com os resultados dos estudos de Nowzari *et al.* (2012), onde observaram um aumento da citocina, mas também não encontraram diferenças significativas entre os grupos. Já Ata-Ali *et al.* (2013) avaliando a expressão desta citocina apresentou resultados divergentes. Houve um considerável aumento da expressão da IL-6 no grupo com sinais de doença peri-implantar comparando ao grupo saudável.

CONCLUSÃO

Em face dos resultados dos estudos avaliados nesta revisão de literatura, observou-se um consenso entre os autores sobre a validade da utilização de parâmetros clínicos como meio de diagnóstico da doença peri-implantar, como a profundidade de sondagem, índice gengival, índice de sangramento e outros como nível de inserção clínica, supuração, recessão e nível ósseo. Porém estes achados clínicos mostram a doença peri-implantar em seu estágio atual.

As citocinas pró-inflamatórias também são utilizadas, na atualidade, como marcador da doença peri-implantar, auxiliando no processo preventivo destas patologias.

A IL-1 β , o TNF- α , IL-6, IL-10 dentre outras mostraram um aumento de suas expressões no FCPI, em diversas situações, notadamente em sítios peri-implantares clinicamente inflamados (mucosite) ou mesmo em presença de peri-implantite.

Porém, devido à grande diversidade de resultados, nas mais variadas situações clínicas, novas avaliações deverão ser feitas com o intuito de reforçar estas informações e torná-las úteis à prática clínica diária.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES, o apoio recebido para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aboyoussef H, Carter C, Jandinski JJ, Panagakos FS. Detection of Prostaglandin E₂ and Matrix Metallo proteinases in Implant Crevicular Fluid. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998;13:689-96.
2. Berglundh T, Lindhe J, Lang NP, Mayfield L. Mucositis and Peri-implantitis. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 3rd ed. Copenhagen, Denmark: Munksgaard; 1998.
3. Pikner SS, Gröndahl K, Jemt T, Friberg B. Marginal bone loss at implants: a retrospective, long-term follow-up of turned Brånemark System implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 2009;1:11-23.
4. Tatli U, Damlar I, Erdogan Ö, Esen E. Effects of Smoking on Periimplant Health Status and IL-1 β , TNF- α , and PGE₂ Levels in Periimplant Crevicular Fluid: A cross-Sectional Study on Well-Maintained Implant Recall Patients. *Implant Dent* 2013;22:519-24.

5. Academy of Osseointegration. Guideline of the Academy of Osseointegration for the provision of dental implants and associated patient care. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25:620-27.
6. Casado PL, Canullo L, Filardy AA, Granjeiro JM, Barboza EP, Duarte MEL. Interleukins 1b and 10 Expressions in the Periimplant Crevicular Fluid From Patients With Untreated Periimplant Disease. *Implant Dent* 2013;22:143-50.
7. Javed F, Al-Hezaimi K, Salameh Z, Almas K, Romanos GE. Pro inflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Cytokine* 2011;53:8-12.
8. Perozini C, Chibebe PCA, Leão MVP, Queiroz CS, Pallos D. Gingival crevicular fluid biochemical markers in periodontal disease: a cross-sectional study. *Quintessence Int* 2010;41:877-93.
9. Melo RF, Lopes BMV, Shibli JA, Marcantonio Jr E, Marcantonio RAC, Galli GMT. Interleukin-1b and Interleukin-6 Expression and Gene Polymorphisms in Subjects with Peri-Implant Disease. *Clin Implant Dent R* 2012;14:905-14.
10. Yaghobee S, Khorsand A, Paknejad M. Comparison of Interleukin-1 β Levels in Gingival Crevicular Fluid and Peri-Implant Crevicular Fluid and Its Relationship with Clinical Indexes. *J Dent* 2013;10:1-9.
11. Petkovic AB, Matic SM, Stamatovic NV, Vojvodic DV, Todorovic TM, Lazic ZR *et al.* Proinflammatory cytokines (IL-1 β and TNF- α) and chemokines (IL-8 and MIP-1 α) as markers of peri-implant tissue condition. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010;39:478-85.
12. Schierano G, Pejrone G, Brusco P, Trombetta A, Martinasso G, Preti G *et al.* TNF-a TGF-b2 and IL-1b levels in gingival and peri-implant crevicular fluid before and after de novo plaque accumulation. *J Clin Periodontol* 2008;35:532-8.

13. Heitz-Mayfield LJA. Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *J Clin Periodontol* 2008;35:292-304.
14. Bilate AMB. Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações terapêuticas. *Temas Reumatol Clín* 2007;8:4751.
15. Naoum PC. Avanços tecnológicos em Hematologia laboratorial. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2001;23:15-23.
16. Delima AJ, Oates T, Assuma R, Schwartz Z, Cochran D, Amar S *et al.* Soluble antagonists to Interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001;28:233-40.
17. Ataoglu H, Alptekin NO, Haliloglu S, Gursel M, Ataoglu T, Serpek B *et al.* Interleukin-1b, tumor necrosis factor – a levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid. Correlation with clinical parameters an defect of Smoking. *Clin Oral Impl Res* 2002;13:470-6.
18. Güncü GN, Akman AC, Günday S, Yamahk N, Berker E. Effect of inflammation on cytokine levels and bone remodeling markers in peri-implant sulcus fluid: a preliminary report. *Cytokine* 2012;59:313-16.
19. Nowzari H, Phanduong S, Botero JE, Villacres MA, Rich SK. The Profile of Inflammatory Cytokines in Gingival Crevicular Fluid around Healthy Osseointegrated Implants. *Clin Implant Dent R* 2012;14:546-52.
20. Ata-Ali J, Flichy-Fernández AJ, Ata-Ali F, Peñarrocha-Diago MA, Peñarrocha-Diago M. Clinical, Microbiologic, and Host Response Characteristics in Patients with Peri-implant Mucositis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013;28:883-91.

3.2 Artigo Científico 2

Análise dos parâmetros clínicos e da expressão da IL1- β em sítios peri-implantares e periodontais homólogos

Artigo foi formatado de acordo com as normas de publicação do periódico: Clinical
Implant Dentistry and Related Research.

Estrato Qualis: Qualis: A2

Endereço eletrônico: [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1708-8208/homepage/ForAuthors.html](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1708-8208/homepage/ForAuthors.html)

**ANALYSIS OF THE CLINICAL PARAMETERS AND THE EXPRESSION OF IL1- β
IN HOMOLOGOUS PERI-IMPLANT AND PERIODONTAL SITES**

Marcilio Alves Ferraz¹, Rodrigo Villamarim Soares², Carla Dias Matos¹, Maria Cândia Dourado Pacheco¹, Elton Gonçalves Zenóbio².

¹ Master's Student in Dentistry, PUC Minas, Belo Horizonte, Brazil.

² Adjunct Professor IV Department of Dentistry, PUC Minas, Belo Horizonte, Brazil.

Corresponding Author:

Elton Gonçalves Zenóbio

Dom José Gaspar Ave., 500 / Bldg. 46. Room 101 • Coração Eucarístico.

ZIP CODE 30535-901 • Belo Horizonte • MG - Brazil

Phone: + 55 31 3319-4414

Email: zenobio@pucminas.br

ABSTRACT

Objective: The present study aims to correlate the clinical parameters and the expression of IL-1 β in implants, having internal and external connection, with homologous teeth.

Materials and Methods: 53 patients, with 97 implants and 97 homologous teeth, were evaluated with respect to the peri-implant and periodontal clinical parameters: depth of probing (DP), bleeding on probing (BP), height of keratinized mucosa (HKM), thickness of keratinized mucosa (TKM), crevicular fluid volume (CFV). In addition, the expression of IL-1 β in the peri-implant (PICF) and gingival (GCF) crevicular fluids was compared in homologous implants and teeth and between implants with external connection (EC) and internal connection (IC).

Results: The results showed an increased DP in relation to the homologous teeth, and a lesser HKM. Other parameters and the IL-1 β did not differ statistically. A strong, negative correlation was seen between the CFV and the IL-1 β . No statistical differences were observed in the clinical parameters and the IL-1 β , regarding the connections of the evaluated implants. A strong, negative correlation was noted between the CFV and the IL-1 β .

Conclusions: These findings showed that there are no significant differences in the clinical parameters and the expression of IL-1 β between homologous implants and teeth, and between implants with EC and IC unhealthy patients, except for a larger DP in implants and a larger HKM in teeth. Also, a negative correlation was found between the CFV and the IL-1 β , indicating a high concentration of this cytokine in small amounts of the crevicular fluid. This indicates that it is present, even in healthy periodontal/peri-implant conditions.

KEY WORDS: interleukin-1 β , dental implant, cytokines.

INTRODUCTION

The predictability of osseointegrated implants for the substitution of missing teeth in patients who are partially or totally toothless resulted in their currently widespread use. However, complications involving pathological alterations caused by the presence of bacterial plaque in the peri-implant tissue may occur after osseointegration or the installation of the prosthesis over the implant: mucositis and peri-implants.¹⁻³

The peri-implant mucositis is characterized as an inflammation of the mucosa around the implant and is associated with edema, redness and marginal bleeding. These changes may be accompanied by bleeding on probing and by a chronic, progressive infection resulting in peri-implant bone loss, similar to periodontitis, a process known as peri-implantitis.⁴⁻⁶

The commonly used periodontal clinical parameters may effectively describe the periodontal history, but they cannot indicate the future destruction of periodontal tissue. Recent studies have demonstrated that certain biochemical markers may provide important information about the destruction of periodontal tissue. Therefore, early and reliable detection of any adverse reaction of the peri-implant tissue is necessary for planning the treatment in patients treated with dental implants.⁷

Periodontal and peri-implant diseases result from the interactions between periodontal microbiota and the host response. The bacterial metabolites of periodontal pathogens stimulate the production of pro-inflammatory mediators, secreted in the peri-implant crevicular fluid (PICF), that cause the destruction of peri-implant tissues.^{5,8}

The neutrophils perform a fundamental role in the innate immune response, phagocytosing bacteria and secreting proteolytic enzymes as well as

mediating inflammatory components including pro-inflammatory cytokines.^{1,7,9} These molecules are important modulators of the periodontal physiological and pathological processes. A single cytokine can act on the cellular turnover, in inflammatory events of both the gingival and the bony tissues.¹⁰

Pro-inflammatory cytokines have been shown to promote osteoclast activity, which can lead to bone loss in teeth and implants. Thus, the analysis of cytokine levels in the PICF may help to detect inflammatory lesions in the initial phase, which may be clinically latent.^{5,11}

IL-1 β is one of the most important cytokines that stimulate bone resorption and inhibit bone formation. In cooperation with other inflammatory mediators, it plays an important role in the regulation and increase of the inflammatory response of periodontal and peri-implant tissues.^{6,8,9,12} The reduction of tissue destruction by inhibiting IL-1 β has also been demonstrated in experimental periodontitis.¹³ In perimplantitis, a high level of IL-1 β has also been found in PICF.¹⁴

Recent studies have shown a correlation between biochemical markers and clinical parameters around healthy and diseased implants. However, they have shown an increase in the IL-1 β levels in sites with peri-implant disease.¹⁵ Teles and colleagues¹⁶, in a study of clinically healthy sites of individuals with periodontitis, claim that there is a significantly greater increase of the volume of GCF and the IL-1 β levels.

Therefore, the present study aims to correlate the clinical diagnostic parameters and the expression of IL-1 β in peri-implant and periodontal crevicular fluid, in homologous implants and teeth, and between implants with internal and external connections.

MATERIAL AND METHOD

Selection of the patients

The present study included patients treated with osseointegrated implants at the Pontifical Catholic University of Minas Gerais. All patients signed the Statement of Free and Clear Informed Consent. This study was submitted to the Committee for Ethics and Research of the Pontifical Catholic University of Minas Gerais, registration: CAAE 03313512.0.0000.5137.

Fifty-three patients were evaluated, having a total of 97 implants and 97 homologous teeth. According to the divided mouth protocol, one natural tooth in the same position as the installed implant, but in the opposite arch of the same maxilla, was considered as the positive control.

Criteria for Inclusion and Exclusion

To be included in this study, the patients needed to present one or more installed dental implant units and have the permanent prosthesis in function. They could not present any systemic alteration and not have used antibiotics and anti-inflammatories in the last three months.

Pregnant and lactating women were excluded from this study. Peri-implant or periodontal sites that presented bleeding during the collection of crevicular fluid and prostheses with excessive contours or sites that prevented the proper collection of the clinical parameters were also excluded.

Clinical evaluation

A detailed periodontal examination was performed on all patients, intended to diagnose the patient as clinically healthy or as having peri-implant/periodontal disease. Then, the homologous implants and teeth were evaluated individually with the following clinical parameters: depth of probing (DP), bleeding on probing (BP), height of keratinized mucosa (HKM), thickness of keratinized mucosa (TKM) and crevicular fluid volume (CFV).

DP measurements were obtained using a UNC-15 periodontal probe (Hu-Friedy®, Chicago, IL, USA). The measurement was noted and the mean of these measurements was used.

The presence or absence of bleeding was evaluated by UNC-15 periodontal probe (Hu-Friedy®, Chicago, IL, USA) at the site in question.

HKM was measured from the gingival margin to the muco-gingival junction in the tooth or implant central-vestibular area, using a UNC-15 periodontal probe (Hu-Friedy®, Chicago, IL, USA).

TKM was measured in the central-vestibular portion using a Periodontal Caliper® (Digimess, São Paulo, SP, Brasil). Considering the sensitivity of this instrument, this measurement was taken in triplicate and the mean was used. The use of the caliper to measure the thickness of the keratinized mucosa of the teeth, relating this parameter to gingival recession, is already described in the literature.¹⁷

PICF and GCF samples collection

All clinically detectable biofilm was removed without touching the gingiva in order to minimize the contamination of the absorbent paper filters. After isolating with cotton rolls, the gingiva was delicately dried with a syringe of air and the peri-implant

and periodontal crevicular fluids were collected using an absorbent paper strip (Periopaper®, Oralflo, New York, NY, USA). This was placed into the mesial or distal groove/pocket until resistance was met, and then held in place for 30 seconds. Samples visibly contaminated with blood were discarded. Peri-implant crevicular fluid (PICF) and gingival crevicular fluid (GCF) were quantified immediately using the Periotron® 8000 (Oralflo, Plainview, New York, NY, USA) and, as described previously, in order to gain greater precision, a 4th order polynomial regression was used to calculate the volumes obtained.¹⁸ Next, these tapes were stored in appropriate plastic tubes and stored at -80°C until they were analyzed. To determine the PICF and GCF volumes, the Periotron was calibrated using Fetal Bovine Fluid¹⁸.

Laboratory processing of the samples to analyze the IL-1 β concentration

To evaluate the IL-1 β concentration, 300 μ l of PBS solution (phosphate buffer solution) with 0.05% BSA (bovine serum albumin) was added to the tubes containing the strips with the gingival or peri-implant fluid. The tubes were then agitated in vortex and left to rest for 40 minutes at ambient temperature. After 40 minutes, the tubes were centrifuged at 6000 RPM for 5 minutes and the strips were removed.

The samples of gingival and peri-implant fluid were processed using commercially available enzyme immunoassay (ELISA) kits (Human IL-1 β /IL-1F2 DuoSet, R&D systems, Minneapolis, MN, EUA), and tested for the presence of IL-1 β according to manufacturer's instructions.

Briefly, the highly sensitive 96-well microplates (Corning, Inc.) were inoculated with a capture antibody for IL-1 β for 18 hours at ambient temperature. Following this process, the wells were cleaned with a solution of PBS plus a detergent. The

cleaning process was repeated three times. The wells were then incubated with a blocking solution for non-specific sites for at least one hour. After this period, the cleaning process was repeated three times and, after cleaning, 100µl of the diluted sample and the reaction standards were added to the wells and incubated at ambient temperature for two hours. Following incubation, the samples were discarded and the cleaning process was repeated three more times. After cleaning, 100µl of the detection antibody were added to the wells and they were incubated for two hours at ambient temperature. After this incubation time, the cleaning process was repeated three times. The wells were then given 100µl of a streptavidin solution and the plates were incubated for 20 minutes away from the light. After incubation, the cleaning process was repeated three times and 100µl of the solution containing the revealing substrate was added to the wells and incubated away from the light for 20 minutes at ambient temperature. After incubation, 50µl of the reaction blocking solution was added to each well and the color absorbancy revealed by the experiment was read. The absorbency was measure using a spectrophotometer at 450nm wavelength and corrected to 540nm.

Statistical analysis

Measures of central tendency (mean or median) and dispersion [interquartile interval (IQI) or standard deviation (SD)], as well as absolute and relative frequencies, were used for the descriptive analysis of the data. The data were initially tested for normality for the comparative analyses between two independent or paired samples using the Kolmogorov-Smirnov (when the number of observations was ≥ 50) or the Shapiro-Wilk (when the number of observations was < 50) tests, to choose the

type of inferential analysis (parametric or non-parametric) for the quantitative variables.

Comparisons between two independent samples were done using the Mann-Whitney U test; and, between two paired samples using the Wilcoxon or Student t-test for paired samples. The correlations between the IL-1 β levels and the clinical parameters evaluated were tested using the Spearman or Pearson linear correlations. The frequencies were compared using the chi-squared (independent comparisons) or McNemar (paired comparisons: implant vs. tooth) tests. The level of significance adopted for all analyses was 5% ($\alpha = 0.05$). The data were tabulated and analyzed using the IBM SPSS Statistics for Windows (IBM SPSS, 21.0, 2012, Armonk, NY: IBM Corp.).

RESULTS

Fifty-three patients with 97 implants and 97 homologous teeth were evaluated in this study. The mean age was 50.4 ± 13.6 years. The population was predominantly female (73.6%). 92.5% of the implants had the permanent prostheses installed for more than one year and, in this sample, 60.8% of the implants had external connection and 39.2% had internal connection (Table 1).

Table 1. Clinical data of the sample.

Parameter	Sample
Number of participants	53
Age, mean \pm SD	50.4 ± 13.6
Sex	Male 14 (26.4%) / Female 39 (73.6%)
Number of homologous implants/teeth	97/97
Time of installation of prosthesis	92.5% (> 1 year)
Type of implant	EC 59 (60.8%) / IC 38 (39.2%)

SD: standard deviation

The clinical parameters measured in this study showed a healthy clinical standard in most of the patients evaluated.

Table 2 provides information about the clinical parameters of the implants and the teeth. The DP was significantly greater with the implants, while the HKM was statistically greater with the teeth. No significant difference was observed between implants and teeth for the TKM and CFV.

Table 2. Peri-implant and periodontal clinical parameters.

Parameter	Implants	Teeth	p-value
DP (mm) [*]	2.50 ± 1.00	2.00 ± 1.00	< 0.001 [†]
HKM (mm) ^{**}	2.06 ± 1.83	2.51 ± 2.09	< 0.001 [‡]
TKM (mm) ^{**}	0.90 ± 0.26	0.85 ± 0.26	0.959 [‡]
CFV (µL) [*]	0.30 ± 0.18	0.25 ± 0.00	0.179 [†]

IQI: interquartile interval

Values expressed as median ± IQI; ** values expressed in mean ± SD; [†] Wilcoxon Test; [‡] t-Teste for paired samples.

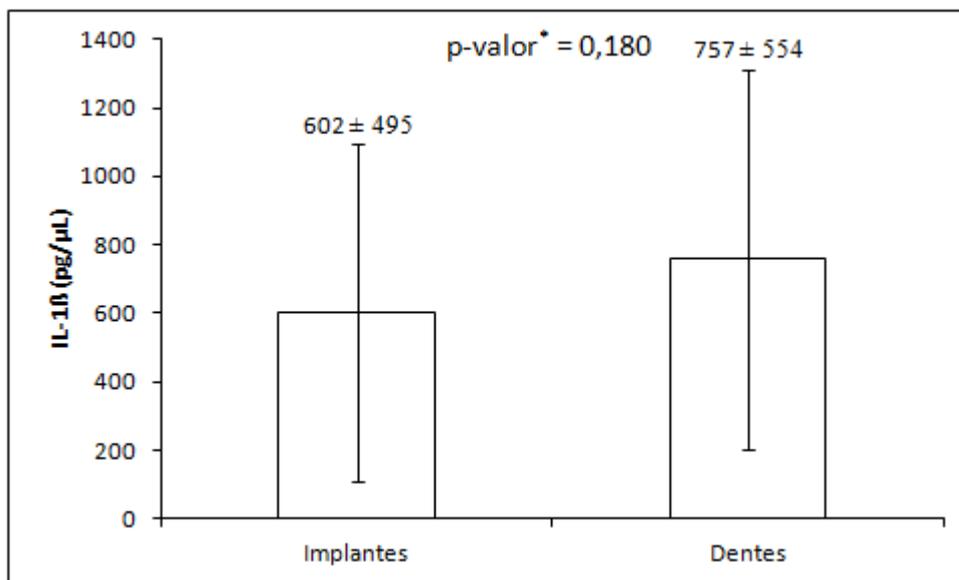
The presence of BP and HKM values < 2mm were statistically more frequent in the implants than in the teeth. However, no significant difference was observed between implants and teeth regarding the frequencies of TKM (Table 3).

Table 3. Distribution of peri-implant and periodontal clinical parameters (BP, HKM and TKM).

Parameter	Implants	Teeth	p-value [*]
BP			
Absence	80 (82.5%)	91 (93.8%)	0.003
Presence	17 (17.5%)	6 (6.2%)	
HKM			
< 2 mm	44 (45.4%)	30 (30.9%)	< 0.016
≥ 2 mm	53 (54.6%)	67 (69.1%)	
TKM			
< 1 mm	66 (68.0%)	68 (70.1%)	0.871
≥ 1 mm	31 (32.0%)	29 (29.9%)	

^{*}McNemar Test.

The concentrations of IL-1 β in the PICF and GCF are described in Figure 1. There was no statistical difference between implants and teeth in relation to IL-1 β levels.



*Wilcoxon Test.

Figure 1. Quantification (median \pm IQI) of the concentration of IL-1 β in the PICF and GCF.

The correlation coefficients between IL-1 β and the clinical parameters evaluated in the implants and the teeth are shown in Table 4. A strong, negative correlation was observed between the IL-1 β concentration and CFV, for both implants and teeth. A significant, but weak negative correlation was observed between the IL-1 β concentration and TKM, but only for the teeth. There was no correlation between the IL-1 β concentration with the DP and the HKM.

Table 4. Correlation between IL-1 β and the clinical parameters evaluation in the implants and the teeth.

Parameter	IL-1 β (implants)	IL-1 β (teeth)
DP*	0.06 (p-value = 0.610)	- 0.17 (p-value = 0.157)
HKM*	0.01 (p-value = 0.967)	0.15 (p-value = 0.203)
TKM [†]	- 0.20 (p-value = 0.104)	- 0.27 (p-value = 0.024)
CFV*	- 0.74 (p-value < 0.001)	- 0.94 (p-value < 0.001)

*Spearman Correlation Coefficient; [†]Pearson Correlation Coefficient.

IL-1 β concentration in the PICF and GCF did not differ significantly, according to the BP, HKM and TKM parameters (Table 5).

Table 5. IL-1 β concentration in the PICF and GCF, according to the BP, HKM and TKM clinical parameters.

Parameter	PICF Median \pm IQI	p- value*	GCF Median \pm IQI	p- value*
BP				
Absence	634.4 \pm 473.0	0.071	777.2 \pm 776.6	0.980
Presence	753.7 \pm 705.7		767.7 \pm 1304.1	
HKM				
< 2 mm	592.3 \pm 565.2	0.598	633.8 \pm 705.5	0.512
\geq 2 mm	647.1 \pm 403.6		814.8 \pm 784.6	
TKM				
< 1 mm	659.2 \pm 678.5	0.152	795.4 \pm 832.9	0.481
\geq 1 mm	536.5 \pm 313.5		745.8 \pm 513.2	

*Mann-Whitney U Test.

Table 6 provides information about the clinical parameters in the groups with the EC and IC implants. No statistical difference was observed between the two types of implant and any of the clinical parameters evaluated. Similarly, no significant differences were observed between the two groups in the frequencies of BP, HKM and TKM (Table 7).

Table 6. Clinical parameters, according to type of implant.

Parameter	Type of implant (median \pm IIQ)		p- value*
	EC	IC	
DP (mm)	2.00 \pm 1.00	2.00 \pm 2.00	0.793
HKM (mm)	2.00 \pm 3.00	1.50 \pm 3.00	0.488
TKM (mm)	0.90 \pm 0.32	0.83 \pm 0.58	0.628
CFV (μ L)	0.26 \pm 0.17	0.25 \pm 0.18	0.733

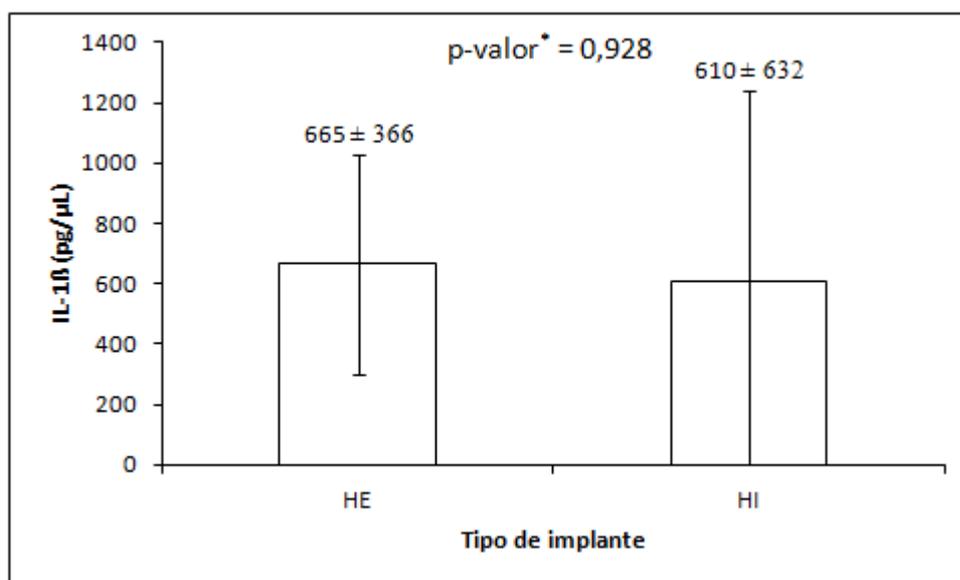
*Mann-Whitney U Test.

Table 7. Distribution of clinical parameters (BP, HKM and TKM) according to type of implant.

Parameter	Type of implant		p-value*
	EC	IC	
BP			
Absence	49 (83.1%)	31 (81.6%)	1.000
Presence	10 (16.9%)	7 (18.4%)	
HKM			
< 2 mm	25 (42.4%)	19 (50.0%)	0.598
≥ 2 mm	34 (57.6%)	19 (50.0%)	
TKM			
< 1 mm	42 (71.2%)	24 (63.2%)	0.545
≥ 1 mm	17 (28.8%)	14 (36.8%)	

*Chi-squared test.

The IL-1 β concentrations in the PICF in the groups with EC and IC implants are described in Figure 2. There was no statistical difference between the groups regarding the IL-1 β levels, suggesting that the expression of this cytokine is independent of the type of implant.



*Mann-Whitney U test.

Figure 2. Quantification (median \pm IQI) of the IL-1 β concentration in the peri-implant crevicular fluid, according to type of implant.

The Spearman Correlation Coefficient between IL-1 β and the clinical parameters evaluated in the groups with EC and IC implants are shown in Table 8. A strong, negative correlation was observed between the CFV and the IL-1 β concentration, for both the EC and the IC implant groups. A moderate, negative correlation was also observed between the TKM and the IL-1 β concentration, but only in the IC implant group. There was no correlation of the DP and HKM with the IL-1 β concentration.

Table 8. Correlation (Spearman correlation coefficient) between IL-1 β and the clinical parameters, according to type of implant.

Parameter	IL-1 β (EC)	IL-1 β (IC)
DP	0.15 (p-value = 0.362)	- 0.06 (p-value = 0.765)
HKM	- 0.01 (p-value = 0.965)	0.04 (p-value = 0.849)
TKM	0.12 (p-value = 0.461)	- 0.51 (p-value = 0.008)
CFV	- 0.72 (p-value < 0.001)	- 0.72 (p-value < 0.001)

The concentration of IL-1 β in the peri-implant crevicular fluid did not differ significantly, according to the BP, HKM and TKM parameters in the group with the EC implant. In the group with the IC implant there was also no statistical difference in the IL-1 β concentration, according to the BP and HKM parameters. However, higher levels of IL-1 β in the crevicular fluid were associated with TKM < 1mm (Table 9).

Table 9. Quantification of the IL-1 β concentration in the peri-implant crevicular fluid, according to the clinical parameters (BP, HKM and TKM) and the type of implant.

Parameter	EC Median \pm IQI	p-value*	IC Median \pm IQI	p-value*
BP				
Absence	659.2 \pm 419.3		567.3 \pm 601.8	
Presence	690.9 \pm 705.7	0.359	1016.3 \pm 7023.6	0.136
HKM				
< 2 mm	680.8 \pm 526.8		503.9 \pm 626.8	
\geq 2 mm	659.2 \pm 249.1	0.607	622.3 \pm 713.0	0.775
TKM				
< 1 mm	649.9 \pm 602.7		846.9 \pm 649.7	
\geq 1 mm	724.8 \pm 286.1	0.834	467.8 \pm 255.4	0.027

*Mann-Whitney U Test.

DISCUSSION

This study evaluated the peri-implant and periodontal clinical parameters and the expression of IL-1 β in patients whose periodontal diagnosis was done using the periodontal record and periapical radiographs. No patient presented symptoms of peri-implant or periodontal disease. It is emphasized that there was an increase in the DP or BP only in some sites, but no severe change in periodontal status. Therefore, our discussion is based on evaluating these patients in healthy sites, as in the study by Nowzari and colleagues¹⁹, who evaluated the expression of pro-inflammatory cytokines in clinically healthy sites. Their intention was to determine the concentration, as there were already several studies evaluating the expression of this cytokine in diseased sites.

Another focus of this study was the evaluation of the peri-implant and periodontal clinical parameters and the expression of IL-1 β in implants with EC and IC. Recent studies have demonstrated a preference of implant specialists for internal connections (Internal Hexagonal and Cone Morse types of connections), claiming

less bacterial contamination around the implants due to the distance from the bone tissue and the protective gap, maintaining the bacterial contamination of this distant location from the healthy bone, thereby avoiding or minimizing bone loss around the implants.^{20,21}

Yaghobee, Khorsand and Parknejad⁹ evaluated DP, PB and bone level between implants and teeth, and found higher clinical mean values in the group of implants than in the group of teeth. This difference is statistically significant. A greater DP was observed with implants in the present study, corroborating the work of these researchers. A greater DP was also found with implants in other studies²²⁻²⁴, and these differences were also statistically significant.

In the present study, the presence of BP was evaluated dichotomously. The BP index refers to the presence or absence of bleeding on probing. Our results showed that the presence of BP was statistically more frequent in implants than in teeth, which is the same result obtained by Chang and Wennström²³. The published articles are not standardized, for this indicator. Some authors also evaluate the Gingival Index or Bleeding on Probing Index, which makes a direct comparison inappropriate. The increase of BP is well established for inflamed sites^{7,9,16}.

HKM and TKM are two important clinical parameters, used to determine periodontal or peri-implant normality, but are still controversial in relation to the need for their presence, or even absence, in implants.^{25,26} Lang and Loe²⁷ claimed that, in order to have soft tissues and teeth, an “appropriate” dimension of keratinized tissue height was defined as ≥ 2 mm. The present study shows that the HKM was statistically greater in the teeth, the same result as confirmed in other studies^{23,24}.

Our results showed that the values of $\text{HKM} \geq 2\text{mm}$ were statistically more frequent in the teeth than in the implants. This cutoff point ($\text{HKM} < 2\text{mm}$ and $\geq 2\text{mm}$)

is already well defined in the literature²⁷ and has been replicated by other researchers^{25,30}. Chung and colleagues²⁵ evaluated the HKM around the implants and observed that the absence of an appropriate amount of keratinized mucosa was not associated with a greater amount of bone loss.

TKM was evaluated in this study using a digital caliper. This device was thus used, in this way, to avoid perforating the gingiva while measuring gingival thickness. No significant difference was observed between the implants and teeth in the TKM. These results differ from the study by Chang and Wennström²³, whose results showed greater, statistically significant difference in gingival thickness of the implants.

No statistical difference was observed in the frequencies of TKM between implants and teeth in the frequencies of TKM. This cut was performed with the aim of evaluating the differences between the thicknesses of keratinized mucosa: < 1mm – fine phenotype and \geq 1mm – thicker phenotype. Yared, Zenóbio e Pacheco¹⁷ evaluated the TKM, defining two cuts: < 0.5mm and \geq 0.5mm. These were adjusted in the present study due to the measurements found previously.

Another parameter that was evaluated was the peri-implant and gingival CFV. Schierano and colleagues¹² concluded that the GCF and PICF volumes are correlated with gingival inflammation and peri-implant mucosa. Therefore, the CFV around the teeth and implants may be an indicator for the evaluation of the presence of soft tissue inflammation. In other studies^{28,29}, an increase in the PICF was observed in patients with mucositis. However, in both cases the difference was not significant. In the present study, no significant difference was observed between implants and teeth in the CFV. This emphasizes that, in this case, the sites studied

were considered healthy. These results confirm the conclusion of Schierano and colleagues¹², whose CFV between implants and teeth did not differ statistically.

Based on the data from the present study, there was no statistical difference between the implants and the teeth, in the IL-1 β levels. This suggests that the expression of this cytokine did not increase with the installation of implants. These results differ from those found by Yaghobee, Khorsand and Parknejad⁹ and Schierano and colleagues¹² found significant differences with they evaluated the expression of IL-1 β in patients induced to accumulate plaque. However, they found no statistically significant differences when they compared teeth and implants. Casado and colleagues⁶ found a significant increase in the expression of this cytokine in sites with mucositis and peri-implantitis in relation to the healthy sites. Nowzari and colleagues¹⁹ evaluated the pro-inflammatory cytokine profile of peri-implant and periodontal sites and observed that there is a general trend toward greater concentration of these molecules around the implants. However, in relation to IL-1 β , this difference was not significant.

We evaluated the correlation coefficients between IL-1 β and the clinical parameters for implants and teeth. A strong, negative correlation was found between the concentration of IL-1 β and CFV, both for the implants and the teeth. This indicates that, with little CFV, there was a greater amount of IL-1 β . The same thing was observed between the concentration of IL-1 β and the frequency of TKM, but only for the teeth which, while weak, was significant. There were no differences for DP; however, Yaghobee, Khorsand e Parknejad⁹ found a positive correlation between the increase of DP and the IL-1 β levels. This correlation was statistically significant, and is the same as observed by Teles and colleagues¹⁶. These same researchers also found a positive correlation between the IL-1 β and the CFV, and these results are

closest to the literature. It has been observed that the increase of CFV is normally connected to a local inflammatory process, with consequent increase in the expression of this cytokine. However, it is worth remembering that these same concluded that, in clinically healthy sites of individuals with periodontitis, this was a significantly greater increase of the IL-1 β levels and an increase in the volume of GCF. The present study shows no correlation between the IL-1 β concentration with the HKM.

Another focus of this study was to correlate the clinical parameters (DP, BP, HKM, TKM and VCF) and the expression of IL-1 β with implants having internal and external connections. This is a well-studied topic in the literature, since the appearance of internal connections. With the advent of the cone morse type of connections, many studies have shown the advantage of working with this type of connection, reporting, among other aspects, smaller peri-implant bone loss in relation to the external connections (external hexagon)^{20,21}.

No studies were found evaluating the correlation between the clinical parameters and the expression of IL-1 β in implants having EC and IC, specifically: only studies evaluating isolated parameters were found. When comparing the clinical parameters in the EC and IC implant groups, no statistical difference was observed between the two types of implant in any of the clinical parameters evaluated. Nor were any significant differences observed between the two groups in the frequencies of BP, HKM and TKM, indicating that despite the difference of the connection to reflect, both mechanically and biologically, a better evaluation of the internal connections, the parameters evaluated did not differ. This emphasizes the healthy condition of these patients. This fact does not indicate that in the presence of peri-implant disease, these parameters do not change, even by the action of its own peri-

implant microbiota. Camacho and colleagues³¹ found similar absolute values in cone morse and internal hexagon implants. This emphasizes that, between the two types of implants with internal connection, the differences were not significant. Dierens and colleagues³² retrospectively evaluated implants with external hexagon, in relation to the clinical parameters, and they observed that DP was moderately correlated to gingival inflammation but not to bone loss. This indicates that a greater DP is increased around the implants.

The IL-1 β concentration in the PICF in those groups with EC and IC implants also did not differ statistically. This suggests that the expression of this cytokine is independent of the type of implant and the clinical conditions of peri-implant health.

Evaluating the correlation of the IL-1 β concentration between the EC and IC, no correlation of the DP and the HKM was observed. We also did not observe frequencies according to the BP and HKM parameters, in addition to the TKM in the group with the EC implant. However, a strong, negative correlation was detected between CFV and IL-1 β concentration both for the EC and the IC implant groups. This indicates that there was a greater concentration of IL-1 β in small volumes of crevicular fluid. A moderate, negative correlation between TKM and IL-1 β concentration was also detected, but only in the IC implant group. Greater levels of IL-1 β in the crevicular fluid were also associated with TKM < 1mm.

CONCLUSION

The results of this study demonstrated that there are no statistical differences in the clinical parameters and the expression of IL-1 β evaluated between homologous implants and teeth, and between implants internal and external connections in clinically healthy patients. This is with the exception of a strong,

negative correlation between the volume of crevicular fluid and IL-1 β expression, indicating that in healthy gingival there may be a greater concentration of this cytokine that is known to be pro-inflammatory.

A small number of studies were also found in the literature that evaluated homologous implants and teeth in clinical conditions of health, or disease.

New studies will be necessary to define the peri-implant clinical parameters, in relation to periodontics, in conditions of health, mucositis and peri-implants

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thanks CAPES for the support received for the development of this study.

REFERENCES

1. Aboyoussef H, Carter C, Jandinski JJ, Panagakos FS. Detection of prostaglandin E₂ and matrix metallo proteinases in implant crevicular fluid. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998;13:689-96.
2. Pikner SS, Gröndahl K, Jemt T, Friberg B. Marginal bone loss at implants: a retrospective, long-term follow-up of turned Brånemark System implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 2009;1:11-23.
3. Tatli U, Damlar I, Erdogan Ö, Esen E. Effects of smoking on periimplant health status and IL-1 β , TNF- α , and PGE₂ levels in Periimplant Crevicular Fluid: A cross-sectional study on well-maintained implant recall patients. *Implant Dent* 2013;22:519-24.

4. Academy of Osseointegration. Guideline of the Academy of Osseointegration for the provision of dental implants and associated patient care. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25:620-7.
5. Javed F, Al-Hezaimi K, Salameh Z, Almas K, Romanos GE. Pro inflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Cytokine* 2011;53:8-12.
6. Casado PL, Canullo L, Filardy AA, Granjeiro JM, Barboza EP, Duarte MEL. Interleukins 1 β and 10 Expressions in the Periimplant Crevicular Fluid from patients with untreated periimplant disease. *Implant Dent* 2013;22:143-50.
7. Perozini C, Chibebe PCA, Leão MVP, Queiroz CS, Pallos D. Gingival crevicular fluid biochemical markers in periodontal disease: a cross-sectional study. *Quintessence Int* 2010;41:877-93.
8. Melo RF, Lopes BMV, Shibli JA, Marcantonio Jr E, Marcantonio RAC, Galli GMT. Interleukin-1b and Interleukin-6 expression and gene polymorphisms in subjects with peri-implant disease. *Clin Implant Dent R* 2012;14:905-14.
9. Yaghobee S, Khorsand A, Paknejad M. Comparison of Interleukin-1 β levels in gingival crevicular fluid and Peri-Implant Crevicular Fluid and Its relationship with clinical indexes. *J Dent* 2013;10:1-9.
10. Chau JF, Leong WF, Li B. Signaling pathways governing osteoblast proliferation, differentiation and function. *Histol Histopathol* 2009;24:1593-606.
11. Petkovic AB, Matic SM, Stamatovic NV, Vojvodic DV, Todorovic TM, Lazic ZR *et al*. Proinflammatory cytokines (IL-1 β and TNF- α) and chemokines (IL-8 and MIP-1 α) as markers of peri-implant tissue condition. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010;39:478-85.

12. Schierano G, Pejrone G, Brusco P, Trombetta A, Martinasso G, Preti G *et al.* TNF- α TGF- β 2 and IL-1 β levels in gingival and peri-implant crevicular fluid before and after de novo plaque accumulation. *J Clin Periodontol* 2008;35:532-8.
13. Delima AJ, Oates T, Assuma R, Schwartz Z, Cochran D, Amar S *et al.* Soluble antagonists to Interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001;28:233-40.
14. Ataoglu H, Alptekin NO, Haliloglu S, Gursel M, Ataoglu T, Serpek B *et al.* Interleukin-1 β , tumor necrosis factor – α levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid. Correlation with clinical parameters and effect of Smoking. *Clin Oral Impl Res* 2002;13:470-6.
15. Heitz-Mayfield LJA. Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *J Clin Periodontol* 2008;35:292-304.
16. Teles R, Sakellari D, Teles F, Konstantinidis A, Kent R, Socransky S *et al.* Relationships among gingival crevicular fluid biomarkers, clinical parameters of periodontal disease, and the subgingival microbiota. *J Periodontol* 2010;81:89-98.
17. Yared KF, Zenobio EG, Pacheco W. Periodontal status of mandibular central incisors after orthodontic proclination in adults. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;130:1-8.
18. Chapple IL, Landini G, Griffiths GS, Patel NC, Ward RS. Calibration of the Periotron 8000 and 6000 by polynomial regression. *J Periodontol Res* 1999;34:79-86.

19. Nowzari H, Phanduong S, Botero JE, Villacres MA, Rich SK. The profile of inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid around healthy osseointegrated implants. *Clin Implant Dent R* 2012;14:546-52.
20. Weng D, Nagata MJH, Bosco AF, Melo LGM. Influence of microgap location and configuration on radiographic bone loss around submerged implants: an experimental study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26:941-6.
21. De la Rosa M, Rodríguez A, Sierra K, Mendoza G, Chambrone L. Predictors of peri-implant bone loss during long-term maintenance of patients treated with 10-mm implants and single crown restorations. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013;28:798-802.
22. Machtei EE, Oved-Peleg E, Peled M. Comparison of clinical, radiographic and immunological parameters of teeth and different dental implant platforms. *Clin Oral Impl Res* 2006;17:658-65.
23. Chang M, Wennström JL. Soft tissue topography and dimensions lateral to single implant-supported restorations: a cross-sectional study. *Clin Oral Impl Res* 2013;24:556-62.
24. Parpaiola A, Cecchinato D, Toia M, Bressan E, Speroni S, Lindhe J. Dimensions of the healthy gingiva and peri-implant mucosa. *Clin Oral Impl Res* 2014 (online):1-6.
25. Chung DM, Oh TJ, Shotwell JL, Misch CE, Wang HL. Significance of keratinized mucosa in maintenance of dental implants with different surfaces. *J Periodontol* 2006;77:1410-20.
26. Wennström JL, Derks J. Is there a need for keratinized mucosa around implants to maintain health and tissue stability? *Clin Oral Implants Res* 2012; 23:136-46.

27. Lang NP, L oe H. The relationship between the width of keratinized gingiva and gingival health. *J Periodontol* 1972;43:623-7.
28. Yamalik N, G unday S, Kilinc K, Karabulut E, Berker E, T oz um TF. Analysis of Cathepsin-K Levels in Biologic Fluids from Healthy or Diseased Natural Teeth and Dental Implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26:991-7.
29. Ata-Ali J, Flichy-Fern andez AJ, Ata-Ali F, Pe narrocha-Diago MA, Pe narrocha-Diago M. Clinical, microbiologic, and host response characteristics in patients with peri-implant mucositis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013;3:883-91.
30. Askin SB, Berker E, Akincibay H, Uysal S, Erman B, Tezcan I *et al.* Necessity of keratinized tissues for dental implants: a clinical, immunological, and radiographic study. *Clin Implant Dent R* 2013 (online).
31. Camacho FMT, Sakamura CE, Mera MFM, Esteves JC, Ribeiro FS, Pontes AEF. Avalia o cl nica em curto prazo do sistema de Cone Morse e plataforma reduzida em pr tese sobre implantes do tipo protocolo: estudo piloto randomizado controlado. *Rev Odontol UNESP* 2012;41:247-53.
32. Dierens M, Vandeweghe S, Kisch J, Nilner K, De Bruyn H. Long-term follow-up of turned single implants placed in periodontally healthy patients after 16-22 years: radiographic and peri-implant outcome. *Clin Oral Implant Res* 2012;23:197-204.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo, na comparação entre implantes e dentes homólogos, mostraram uma maior profundidade de sondagem em implantes e uma maior altura de mucosa ceratinizada em dentes e que não há diferenças na espessura de mucosa ceratinizada e entre os volumes de fluido crevicular. Foi também observado, um maior número de sítios com sangramento a sondagem e que os implantes estão relacionados com uma menor altura de mucosa ceratinizada. Não houve diferenças na expressão da IL-1 β .

Na comparação entre implantes com conexão externa e conexão interna, não encontramos diferenças entre os parâmetros clínicos avaliados, tampouco na expressão da IL-1 β .

Observamos um pequeno número de trabalhos, na literatura, avaliando implantes e dentes homólogos em condições clínicas de saúde, assim como em condições de doença peri-implantar.

Novos estudos serão necessários para dimensionar os parâmetros clínicos peri-implantares em condições de saúde, mucosite e peri-implantite em relação aos periodontais.

REFERÊNCIAS

- ABOYOUSSEF, H. et al. Detection of prostaglandin E2 and matrix metallo proteinases in implant crevicular fluid. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v.13, n. 5, p. 689-696, 1998.
- ACADEMY OF OSSEOINTEGRATION. Guideline of the Academy of Osseointegration for the provision of dental implants and associated patient care. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 25, p. 620-627, 2010.
- BERGLUNDH, T. et al. **Mucositis and Peri-implantitis. Clinical Periodontology and Implant Dentistry**. 3rd ed. Copenhagen, Denmark: Munksgaard; 1998.
- CANDEL-MARTI, M.E. et al. Interleukins IL-6, IL-8, IL 10, IL 12 and periimplant disease. An update. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v.16, n.4, p. 518-521, July 2011.
- CASADO, P.L. et al. Interleukins 1b and 10 expressions in the periimplant crevicular fluid from patients with untreated periimplant disease. **Implant Dentistry**, v.22, n.2, p. 143-150, 2013.
- CHAU, J.F.; LEONG, W.F.; LI, B. Signaling pathways governing osteoblast proliferation, differentiation and function. **Histology and Histopathology**, v.24. p. 1593-1606, 2009.
- HEITZ-MAYFIELD, L.J.A. Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. **Journal of Clinical Periodontology**, v.35, n.8, p. 292-304, 2008.
- JAVED, F. et al. Pro inflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. **Cytokine**, v.53, p. 8-12, 2011.
- MELO, R.F. et al. Interleukin-1b and Interleukin-6 Expression and Gene Polymorphisms in Subjects with Peri-Implant Disease. **Clinical Implant Dentistry and Related Research**, v.14, n.6, p. 905-914, 2012.
- PEROZINI, C. et al. Gingival crevicular fluid biochemical markers in periodontal disease: A cross-sectional study. **Quintessence International**, v.41, n.10, p. 877-893, 2010.
- PETKOVIC, A.B. et al. Proinflammatory cytokines (IL-1 β and TNF- α) and chemokines (IL-8 and MIP-1 α) as markers of peri-implant tissue condition. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v.39. p. 478-485, 2010.
- PIKNER, S.S. et al. Marginal bone loss at implants: a retrospective, long-term follow-up of turned Brånemark System implants. **Clinical Implant Dentistry and Related Research**, v.1, p. 11-23, 2009.

SCHIERANO, G. et al. TNF- α TGF- β 2 and IL-1 β levels in gingival and peri-implant crevicular fluid before and after de novo plaque accumulation. **Journal of Clinical Periodontology**, v.35, p. 532-538, 2008.

TATLI, U. et al. Effects of smoking on periimplant health status and IL-1 β , TNF- α , and PGE₂ levels in periimplant crevicular fluid: a cross-sectional study on well-maintained implant recall patients. **Implant Dentistry**, v.22, n.5, p. 519-524, 2013.

TELES, R. et al. Relationships among gingival crevicular fluid biomarkers, clinical parameters of periodontal disease, and the subgingival microbiota. **Journal of Periodontology**, v.81, p. 89-98, 2010.

YAGHOBEI, S.; KHORSAND, A.; PAKNEJAD, M. Comparison of interleukin-1 β levels in gingival crevicular fluid and peri-implant crevicular fluid and its relationship with clinical indexes. **Journal of Dentistry**, v.10, n.1, p. 1-9, 2013.