

ALEX MARTINS GOMES

**DOENÇA PERI-IMPLANTAR E NÍVEIS DOS MARCADORES
SALIVARES IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF- β e TNF- α :
*ESTUDO OBSERVACIONAL DE 5 ANOS E REVISÃO SISTEMÁTICA***

**Faculdade de Odontologia
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte**

2018

Alex Martins Gomes

**DOENÇA PERI-IMPLANTAR E NÍVEIS DOS MARCADORES
SALIVARES IL 1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF e TNF- α :
ESTUDO OBSERVACIONAL DE 5 ANOS E REVISÃO SISTEMÁTICA**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Odontologia – área de concentração em Periodontia

Orientador: Prof. Dr. Fernando de Oliveira Costa.

Belo Horizonte

2018

Ficha Catalográfica

G633d Gomes, Alex Martins.
2018 Doença peri-implantar e níveis dos marcadores salivares
T IL- β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF- β E TNF- α : estudo observacional de 5 anos e revisão sistemática / Alex Martins Gomes. -- 2018.

101 f. : il.

Orientador: Fernando de Oliveira Costa.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Odontologia.

1. Periodontite. 2. Peri-implantite. 3. Mucosite. 4. Saliva. 5. Biomarcadores. I. Costa, Fernando de Oliveira. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia. III. Título.

BLACK - D047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

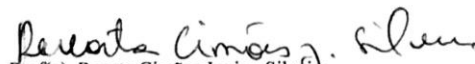
DOENÇA PERI-IMPLANTAR E NÍVEIS DOS MARCADORES SALIVARES IL 1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF e TNF- α : ESTUDO OBSERVACIONAL DE 5 ANOS E REVISÃO SISTEMÁTICA

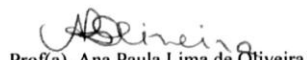
ALEX MARTINS GOMES

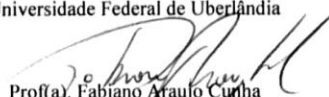
Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, como requisito para obtenção do grau de Doutor, área de concentração Periodontia.


Aprovada em 30 de julho de 2018, pela banca constituída pelos membros:


Prof(a). Fernando de Oliveira Costa - Orientador
FO-UFMG


Prof(a). Renata Cimões Jovino Silveira
Universidade Federal de Pernambuco


Prof(a). Ana Paula Lima de Oliveira
Universidade Federal de Uberlândia


Prof(a). Fabiano Araujo Cunha
FO-UFMG


Prof(a). Luís Otávio Miranda Cota
FO-UFMG

Belo Horizonte, 30 de julho de 2018.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



ATA DA DEFESA DE TESE DO ALUNO ALEX MARTINS GOMES

Aos 30 dias de julho de 2018, às 08:30 horas, na sala 3403 da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, reuniu-se a Comissão Examinadora composta pelos professores Fernando de Oliveira Costa (Orientador) – FO/UFMG, Renata Cimões Jovino Silveira – Universidade Federal de Pernambuco, Ana Paula Lima de Oliveira – UFU, Fabiano Araujo Cunha – FO/UFMG e Luis Otávio Miranda Cota – FO/UFMG, para julgamento da tese de Doutorado em Odontologia, área de concentração em Periodontia, intitulada: **Doença peri-implantar e níveis dos marcadores salivares IL 1B, IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF E TNF-A: estudo observacional de 5 anos e revisão sistemática.** O Presidente da Banca, abriu os trabalhos e apresentou a Comissão Examinadora. Após a exposição oral do trabalho pelo aluno e arguição pelos membros da banca, a Comissão Examinadora considerou:

Aprovado

Reprovado

Finalizados os trabalhos, lavrou-se a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão. Belo Horizonte, 30 de julho de 2018.



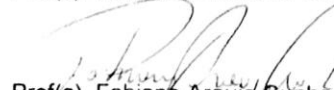
Prof(a). Fernando de Oliveira Costa



Prof(a). Renata Cimões Jovino Silveira



Prof(a). Ana Paula Lima de Oliveira



Prof(a). Fabiano Araujo Cunha



Prof(a). Luis Otávio Miranda Cota

Dedico esse trabalho a Deus, à minha família que sempre me apoiou nos momentos mais decisivos e especialmente ao amor incondicional da minha esposa Luana e minhas filhas Ana Beatriz e Isabela.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser meu caminho a todo momento e nunca me faltar.

A Luana, minha esposa que foi compreensível e amável ao compreender minha ausência e me fazer acreditar que chegaria ao final desta difícil, porém gratificante etapa.

A minhas filhas Ana Beatriz e Isabela, que foram minha fonte de amor e carinho.

A minha mãe pelo suporte e amor incondicional e durante toda minha vida.

A minhas irmãs por torcerem e partilharem comigo esta conquista.

Ao meu orientador Fernando Oliveira Costa. Obrigado mais uma vez pela paciência, ensinamentos e conselhos.

Ao amigo e colega de doutorado Dhelfeson, por ajudar no pensamento crítico e na capacitação profissional.

Ao professor Luís Otávio Cota pelos seus ensinamentos e disponibilidade em ajudar.

A professora Tarcília Silva por sua dedicação e esforço para tornar esse trabalho possível.

Aos colegas de doutorado Frederico Lages, Leonardo Lanza e Sergio Antonucci pela convivência e aprendizado juntos.

Aos amigos da FAB que sempre me incentivaram e apoiaram.

A Adriana Tenuta por incentivar meu desenvolvimento profissional.

Ao CNPq pelo fomento a esta pesquisa.

RESUMO

A literatura recente apresenta inúmeros estudos sobre associação entre as doenças peri-implantares (DPI) e níveis de marcadores inflamatórios no fluido do sulco peri-implantar, em biópsias de tecido gengival e sangue. Surpreendentemente, poucos são os estudos de marcadores salivares relacionados à presença e progressão das DPI, uma vez que a saliva representa um meio não invasivo, de fácil coleta e baixo custo. Neste contexto, esta tese apresenta dois estudos distintos: (1) Estudo observacional longitudinal sobre a condição clínica peri-implantar associada aos níveis dos marcadores salivares IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF e TNF- α em indivíduos com diagnóstico de mucosite peri-implantar (MP) na ausência e presença de terapia regular de manutenção periodontal e peri-implantar (TMPP); e (2) Revisão sistemática com a seguinte questão focal: “Os níveis de biomarcadores salivares podem ajudar a distinguir implantes saudáveis de implantes com doença peri-implantar ?” A metodologia do estudo longitudinal envolveu 80 indivíduos diagnosticados com MP, que foram divididos em dois grupos: um que realizou terapia de manutenção periodontal e peri-implantar, chamado de GTP (n=39), e um outro sem manutenção (GNTP, n=41). Cada participante submeteu-se a um exame clínico periodontal e peri-implantar completo [registro do nível clínico de inserção (NCI); profundidade de sondagem periodontal (PS) e peri-implantar (PSi); sangramento à sondagem periodontal (SS) e peri-implantar (SSi); supuração (Si); índice de placa periodontal (IP) e peri-implantar (IPi)], exame radiográfico, para avaliação dos níveis ósseos peri-implantares e coleta de amostras de saliva em dois tempos: exame inicial (T1) e decorridos 5 anos (T2). As amostras salivares foram congeladas e posteriormente avaliadas através do teste de ELISA. Observou-se uma maior incidência de peri-implantite (PI) no grupo GNTP (43,9%) do que no grupo GTP (18%) ($p = 0.000$). Todos os indivíduos (n = 12) que apresentaram resolução da MP em T2 estavam no GTP. Houve um aumento no número de indivíduos com periodontite no GNTP quando comparado T1 (22,0%) e T2 (41,5%) ($p = 0.001$). Os resultados imunológicos revelaram um aumento na concentração salivar do TNF- α no GNTP comparado ao GTP. Os demais marcadores salivares avaliados não mostraram alteração estatisticamente significativa entre os dois grupos. Concluiu-se que a ausência de consultas regulares para manutenção periodontal/peri-implantar foi associada com pior condição clínica periodontal e peri-implantar, maior incidência de PI e um aumento significativo nos níveis de TNF- α , sugerindo ser este um marcador salivar promissor para a progressão das DPI. Adicionalmente, a revisão sistemática demonstrou que não há evidências sólidas para concluir que os biomarcadores salivares poderiam ajudar a distinguir entre implantes saudáveis de implantes com PI. Além disso, sugere-se que os resultados devem ser interpretados com cautela devido a inclusão de muitos estudos na revisão sistemática com um alto risco de viés.

Palavras-chave: Periodontite. peri-implantite. Mucosite. Saliva. Biomarcadores. Citocinas.

ABSTRACT

Could the biomarker levels in saliva help distinguish between healthy implants and implants with peri-implant disease? A systematic review.

Peri-implant disease and levels of salivary biomarkers IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF and TNF- α : a 5 years follow-up and systematic review

Recent literature presents numerous studies on the association between peri-implant diseases (DPi) and levels of inflammatory biomarkers in peri-implant sulcus fluid, in gingival tissue and blood biopsies. Surprisingly, rare are studies on salivary markers related to the presence and progression of DPi, since saliva is abundant, its collection is an easy, low cost and, non-invasive method. In this sense, this thesis presents two distinct studies. The first (longitudinal) study that aimed to evaluate the peri-implant clinical condition and levels of the salivary markers IL 1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF, and TNF- α in individuals in the presence and absence of periodontal/ peri-implant maintenance (TMPP). The second study, a systematic review, focused in answer the following question: Could biomarker levels in the saliva help to distinguish between healthy implants and implants with peri-implant disease? The longitudinal study methodology involved 80 individuals diagnosed with mucositis (MP), who were divided into two groups: a group that underwent periodontal and peri-implant maintenance therapy, called GTP (n = 39), and a second group without regular maintenance, called GNTP (n = 41). Each participant underwent a complete periodontal and peri-implant clinical examination [recording of the clinical level of insertion (NCI), periodontal probing depth (PS) and peri-implant probing depth (PSI), periodontal bleeding (SS) and peri-implant bleeding (SSi), suppuration (SU); periodontal plaque (IP) and peri-implant plaque (IPi) indexes], radiographic examination for evaluation of peri-implant bone levels and collection of saliva samples at two times: initial examination (T1) and after 5 years (T2). The salivary samples were frozen and then evaluated by ELISA's method for the following markers: IL 1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP- 2, TGF and TNF- α . Results: A higher incidence of peri-implantitis (PI) was noted in the GNTP group (43.9%) than in the GTP group (18%) (p = 0.000). All the individuals (n = 12) who presented resolution of MP in T2 were from the GTP group. There was an increase in the number of individuals with periodontitis in GNTP when comparing T1 (22.0%) to T2 (41.5%) (p = 0.001). The result of the study revealed an increase in the salivary concentration of TNF- α in GNTP compared to GTP. The other salivary markers evaluated did not show statistically significant alteration between the two groups. Conclusion: The absence of regular consultations for periodontal / peri-implant maintenance was associated with worse periodontal and peri-implant clinical condition, higher incidence of PI, and a significant increase in TNF- α levels: suggesting this promising salivary marker for the prognosis and diagnosis of DPi. Additionally, the systematic

review has shown that there is no solid evidence to conclude that salivary biomarkers could help distinguish between healthy implant implants with PI. Besides that, it is suggested that the results should be interpreted with caution due to the inclusion of many studies, in the systematic review, with a high risk of bias.

Keywords: Periodontitis. Peri-implantitis. Peri-implant mucositis. Saliva. Biomarkers. Cytokines

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo 2

Figura 1 Flowchart of the selection of the papers83

LISTAS DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 Sample characteristics.....59

Tabela 2 Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) in GNTP and GTP groups related to clinical diagnosis at T2.....60

Tabela 3 Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) based on clinical evolution from T1 to T2.....61

Tabela 4 Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) based on clinical evolution from T1 to T2 in the GNTP group.....62

Tabela 5	Comparison of biomarker concentration (pg/ml) based on clinical evolution from T1 to T2 in the GTP group.....	63
Tabela 6	Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) in the individuals in the GTP group with healthy implants diagnosed at T2.....	64

Artigo 2

Tabela 1	Brief overview of the excluded studies.....	83
Tabela 2	Primary characteristics and principal findings of the selected studies. Healthy, MP and PI implants.....	84
Tabela 3	Primary characteristics and principal findings of the selected studies. Healthy and inflamed implants.....	85

LISTA DE ABREVIACOES

DP	Doença periodontal
DPI	Doença peri-implantar
GNTF	Grupo sem terapia de manuteno periodontal/peri-implantar
GTP	Grupo com terapia de manuteno periodontal/peri-implantar

FSPI	Fluido do sulco peri-implantar
FSG	Fluido do sulco gengival
IFN	Interferon
IL	Interleucina
IP	Índice de placa
IPi	Índice de placa em implantes
MCP1/ CCL2	Proteína quimioatrativa de monócitos
MP	Mucosite peri-implantar
MMP	Metaloproteinase
NCI	Nível clínico de inserção
OPG	Osteoprotegerina
PE	Periodontite
PI	Peri-implantite
PS	Profundidade de sondagem periodontal
PSi	Profundidade de sondagem peri-implantar

RANK	Fator de ativação do receptor de ativação nuclear kappa B
RANKL	Ligante do receptor do fator nuclear kappa B
SS	Sangramento à sondagem periodontal
SSi	Sangramento à sondagem peri-implantar
Si	Supuração
TNF- α	Fator de necrose tumoral
TMPP	Terapia de manutenção periodontal/peri-implantar
TGF- β	Fator de transformação do crescimento

SUMÁRIO

1.	Considerações iniciais	15
2.	Referencial teórico	17
3.	Objetivos	35
4.	Hipóteses do estudo longitudinal.....	36
5.	Metodologia expandida.....	37
5.1	Artigo 1 – Doença peri-implantar e níveis dos marcadores salivares IL-1β, IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF-β e TNF-α: follow-up de 5 anos.....	38
5.2	Artigo 2 - Systematic review: Could biomarker levels in the saliva help to distinguish between healthy implants and implants with peri-implantar disease?.....	64
6.	Considerações finais	85
7.	Referências bibliográficas	86
8.	Anexos	101
9.	Atividades desenvolvidas durante o doutorado	104

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Com altas taxas de sucesso, a terapia com implantes tem se mostrado um modo eficaz de substituição de dentes perdidos (Albrektsson et al., 1986; Froum e Khouly, 2017). Entretanto, os implantes dentários também são passíveis de desenvolver processos inflamatórios infecciosos denominados doenças peri-implantares. A literatura indica que a doença peri-implantar (DPi) tem como fator etiológico o biofilme que coloniza a superfícies dos implantes. Esse biofilme induz uma resposta imuno inflamatória que é a principal causa de perda de implantes em função (Mombelli et al., 1987) levando à mucosite peri-implantar (MP) e posteriormente à peri-implantite (PI). Estas duas condições são respectivamente definidas como: inflamação da mucosa peri-implantar sem sinais de perda óssea patológica e inflamação da mucosa peri-implantar com presença de perda óssea patológica (Zitzman et al., 2008).

Assim, as DPi são doenças infecciosas imuno-mediadas, onde a reação do sistema imune do indivíduo frente a uma agressão bacteriana pode ser regulada positivamente ou negativamente por meio de fatores locais e sistêmicos, medicações, hormônios, polimorfismos genéticos e da ação de citocinas pró inflamatórias e anti-inflamatórias que incluem as interleucinas (IL) 1, 10, 6, fatores de crescimento, fator de ativação do receptor de ativação nuclear kappa B (RANK) (Lang e Berglund, 2011). De particular interesse para esse estudo é o papel das citocinas na etiologia das DPi. As citocinas são proteínas solúveis e agem como mensageiras para transmitir sinais de uma célula para outra, e em homeostase são benéficas para o hospedeiro. Entretanto, as citocinas inflamatórias apresentam um papel fundamental na inflamação e são mediadores fundamentais no desenvolvimento e progressão da DPi e doença periodontal (DP) (Kinane et al., 2011).

Embora alguns patógenos sejam conhecidos agentes etiológicos da DP e da DPi, a subsequente progressão e destruição tecidual pela ação de mediadores inflamatórios pode ser atribuída a diferenças na resposta do hospedeiro frente a

estes microrganismos patogênicos como é observado de uma forma geral em outras doenças infecciosas (Medzhitov et al., 2007).

A evidência científica a respeito do prognóstico da DPi é limitada, pois indivíduos não apresentam o mesmo risco de desenvolvimento da doença (Grbic et al., 1991). As razões para essa variação de risco podem ser atribuídas a causas multifatoriais e ainda não completamente entendidas na patogênese da DP e da DPi. A maioria das evidências indicam que a periodontite (PE) e a PI são típicas doenças inflamatórias iniciadas por uma resposta do sistema imune à colonização por patógenos organizados em um biofilme (Berglundh et al., 2005; Burt, 2005).

Assim, são necessários esforços para compreender os componentes celulares e biomoleculares do infiltrado inflamatório para planejar terapias periodontais e peri-implantares e ferramentas para um diagnóstico precoce adequado para cada doença. Neste sentido, uma ferramenta que auxilie o entendimento da progressão das doenças citadas poderá auxiliar o tratamento e o desenvolvimento de novas tecnologias na avaliação de risco individual para a prevenção de eventos inflamatórios locais nos implantes e dentes (Herr et al., 2007).

Adicionalmente, um sistema de detecção mais preciso em determinar o prognóstico (periodontal/peri-implantar) poderia incrementar a manutenção para os indivíduos reduzindo os gastos com terapias inapropriadas e minimizando os custos de um tratamento odontológico (Giannobile et al., 2009).

A literatura recente apresenta associação entre a DPi e níveis de marcadores inflamatórios no fluido do sulco peri-implantar (Ramseier et al., 2016), em biópsias de tecido gengival (Manrique et al., 2015) e sangue (Harder et al., 2012). Raros são os estudos de marcadores salivares relacionados a presença e progressão das DPi (Rathnayake et al., 2017).

A saliva é composta de secreções das glândulas salivares incluindo fluido do sulco gengival (FSG), componentes microbianos e remanescentes alimentares (Baum et al., 2011; Goodson, 2003). Assim, a análise da saliva apresenta similaridades com o FSG e dá uma melhor representação das alterações patológicas na cavidade oral que a análise sanguínea (Rakic et al., 2013). Como relatado, além de ser de baixo custo a saliva tem várias vantagens sobre o FSG: coleta é fácil, pode ser de um

volume maior para facilitar análises laboratoriais e não é necessário um treinamento para colher amostras. Outra vantagem apresentada pela análise da saliva é a capacidade de representar o processo inflamatório que ocorre em toda boca que é mais relevante clinicamente que analisar apenas uma alteração local, como no caso de análise do fluido do sulco gengival (FSG) (Jaedick et al., 2016).

Baseado nas considerações apontadas e da necessidade de esclarecimentos adicionais sobre os tópicos relatados, esta tese apresenta dois estudos distintos: (1) Estudo observacional longitudinal sobre a condição clínica periodontal e peri-implantar associada aos níveis dos marcadores salivares IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF- β e TNF- α em indivíduos com diagnóstico de MP na ausência e presença de terapia regular de manutenção periodontal e peri-implantar (TMPP); e (2) Revisão sistemática com a seguinte questão focal: “Os níveis de biomarcadores salivares podem ajudar a distinguir implantes saudáveis de implantes com doença peri-implantar ?”

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Atualmente os dados clínicos supuração peri-implantar (Si), profundidade de sondagem peri-implantar (PSi), sangramento a sondagem peri-implantar (SSi), perda óssea e as avaliações radiográficas são o padrão ouro no diagnóstico de PI. Entretanto em relação as citocinas inflamatórias peri-implantares não existe um marcador padrão para diagnóstico de PI (Javed et al., 2011). Buduneli e colaboradores (2011) realizaram uma revisão de literatura para verificar se os marcadores avaliados em coletas sanguíneas, do fluido gengival e da saliva total podem ser utilizados para análise bioquímica diagnóstica da PE. Os autores concluíram que as medidas clínicas ainda são os dados mais confiáveis para diagnóstico de PE, já que não há um biomarcador com sensibilidade e especificidade suficiente para prognóstico e diagnóstico periodontal.

Paralelamente, os imunomarcadores da DPI são estudados na tentativa de indicar o risco de progressão e auxiliar um diagnóstico mais robusto da DPI (Duarte et al.,

2016). A saúde dos tecidos periodontais depende do equilíbrio entre a ativação/supressão do sistema imune, concentração de citocinas e mediadores da inflamação (Liskmann et al., 2006). Após a cirurgia de implante dental ocorre um aumento na concentração local de citocinas como resposta à agressão dos tecidos manipulados. Essa concentração é alta nos primeiros meses e tem a tendência de diminuir gradualmente com o tempo. No desenvolvimento da DPi, um fator importante é a ocorrência e manutenção de uma alta concentração de citocinas locais mesmo após o período de cicatrização dos implantes dentais (Schierano et al., 2000; Schierano et al., 2003).

Neste sentido, apesar de inúmeros estudos reportados na literatura com diferentes imunomarcadores relacionados a doenças peri-implantares e periodontais, a literatura consultada nesta tese foi focada nos principais estudos da concentração das seguintes citocinas investigadas em nosso estudo longitudinal: IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF- β e TNF- α .

2.1 Interleucina 1 β

A IL-1 β apresenta um papel chave na resposta inflamatória. É produzida pelos monócitos e macrófagos e estimula o catabolismo celular, produção de colagenase e proteinase e degranulação dos neutrófilos (Dinarello et al., 1989). Panagakos et al., (1996) demonstraram um aumento no nível de IL-1 β quando ocorre perda de inserção na PI. Honig et al., (1989) observaram que os tecidos moles circundantes se encontravam alterados pelo processo inflamatório relacionado à alta concentração da IL-1 β comparado a mucosa saudável circundante. A alta associação com a resposta celular inflamatória sugere que a IL-1 β pode ser usada como marcador da resposta pró-inflamatória dos tecidos moles peri-implantares (Black et al., 1988).

Schultze-Mosgau et al., (2006) associaram o aumento da concentração da IL-1 β e do fator de transformação do crescimento beta (TGF- β) a má cicatrização do implante dental após inserção e insucesso da osseointegração. Implantes foram instalados em 29 indivíduos e após 4 meses, os implantes tiveram o capuz gengival removido na reabertura dos implantes. Biópsias gengivais do capuz removido foram analisadas para checar a concentração das citocinas mencionadas. Os autores observaram que os implantes dentais aumentam a concentração da IL-1 β e TGF- β

nos tecidos peri-implantares e elas permanecem aumentadas por um longo período após a inserção do implante e podem estar relacionadas a remodelação tecidual e resposta fibrosa reparatória da osseointegração.

Em um recente estudo Acharya et al., (2016) avaliaram a saliva e fluido do sulco peri-implantar (FSPI) para investigar a influência de patógenos periodontais na concentração da IL-1 β em dois grupos de indivíduos com MP: com ou sem histórico de PE. Os participantes incluídos no estudo eram parcialmente edêntulos com um implante em função a mais de um ano, sem perda óssea peri-implantar e diagnóstico clínico de MP. Os autores observaram no grupo sem histórico de PE uma associação do aumento das bactérias do complexo vermelho com o aumento na concentração da IL-1 β , tanto na saliva quanto no FSPI. Já no grupo com histórico de PE, não foi encontrada relação do aumento das bactérias com o aumento da concentração da IL-1 β . A concentração da citocina não apresentou diferenças entre os grupos e os autores justificaram que no grupo com histórico de PE a resposta imunológica não é diretamente relacionada a quantidade de patógenos periodontais. Sendo assim os autores concluíram que os biomarcadores salivares podem identificar os indivíduos sem susceptibilidade à DP que apresentam uma alta resposta inflamatória peri-implantar.

Christodoulides et al. (2007) relatam que indivíduos com diagnóstico de PE apresentam na saliva total não estimulada, uma maior concentração da IL-1 β que indivíduos periodontalmente saudáveis. Adicionalmente, quanto piores foram os dados clínicos e radiográficos da PE uma maior concentração da IL-1 β foi associada à gravidade e extensão da doença. Rathnayake et al., (2013) compararam dados clínicos e imunológicos de três grupos de indivíduos que apresentavam: saúde periodontal, PE moderada ou PE avançada. Foi verificado que ocorreu um aumento da concentração de IL-1 β e da TNF- α na saliva total estimulada quando a PE estava presente. Uma associação moderada das citocinas à quantidade de destruição óssea foi encontrada e uma associação forte das citocinas à inflamação dos tecidos moles periodontais. Os autores também consideraram as citocinas analisadas como potenciais marcadores da PE. Esses achados foram confirmados por outros pesquisadores que associaram a IL-1 β à PE (Gursoy et al. 2010; Yoon et al. 2012; Ebersole et al., 2013, Salminen et al., 2014).

Alguns autores investigaram a associação da concentração IL-1 β após tratamento da PE e observaram que até instruções de higiene bucal reduziram a concentração salivar da IL-1 β (Sexton et al., 2011). Kaushik et al., (2011) compararam os níveis salivares da IL-1 β em indivíduos com PE e em indivíduos saudáveis. O resultado do estudo mostrou que na PE a concentração da IL-1 β encontra-se aumentada inicialmente, e após tratamento periodontal, os níveis salivares diminuem. Além disso, uma correlação positiva entre a PS e SS foi encontrada. Já outros autores não encontraram variações no aumento da concentração salivar da IL-1 β após o tratamento periodontal (Scannapieco et al., 2007; Teles et al., 2009).

A relação da IL-1 β com saúde periodontal e peri-implantar foi analisada em um estudo de Rocha et al., (2014). Os indivíduos foram divididos em 3 grupos: (1) aqueles que possuíam próteses totais sobre implante; (2) parcialmente edêntulos com implantes em função e dentes com DP; e (3) um grupo saudável com todos dentes presentes. Os autores registraram os dados clínicos e radiográficos tanto periodontais quanto peri-implantares e ainda analisaram amostras de saliva total não estimulada. Foi encontrada uma relação positiva entre o aumento da concentração da IL-1 β salivar e aumento da PS quando existe algum implante na cavidade oral com PI.

Uma associação entre a progressão da DP e o aumento da concentração das citocinas salivares IL-1 β , osteopogerina (OPG), metaloproteinase (MMP) 8, MMP-9 foi relatado por Kinney et al., (2011), anterior e 12 meses após o tratamento periodontal. A cada dois meses após tratamento periodontal, os 100 participantes do estudo foram reavaliados clinicamente e amostras de saliva foram colhidas. Durante o período de acompanhamento, os resultados mostraram uma alta correlação entre a IL-1 β e MMP- 8 que aumentaram significativamente em indivíduos com progressão da DP. Esse achado também foi relatado por Fine et al., (2009), que verificaram que a progressão em indivíduos com PE agressiva mostrou uma alta especificidade e sensibilidade dos níveis de IL-1 β em relação a gravidade da perda óssea alveolar.

A relação da reabsorção do osso alveolar na PE com a concentração salivar de fatores da reabsorção óssea (IL-1 β , IL-6, TNF- α e prostaglandina E2) e fatores do metabolismo ósseo (osteocalcina e osteonectina) foi investigada em um estudo clínico. Os autores avaliaram dados clínicos e radiográficos e os correlacionaram à

concentração dos biomarcadores estudados. O resultado apontou que a alta concentração salivar da IL-1 β e da IL-6 foi associada à perda óssea, enquanto o de osteonectina à preservação do osso alveolar (NG PY et al., 2007).

A associação dos níveis dos biomarcadores: IL-1 β , IL-6, TNF- α , Proteína quimioatrativa de monócitos [(MCP)1/ CCL2], interferon γ (IFN γ), IL-17, IL-12, IL-10, IL-4 e IL-8 foi investigado em uma revisão sistemática e meta-análise de estudos incluindo indivíduos com PE e saudáveis. Os objetivos do estudo eram: verificar se as concentrações da citocinas/quimiocinas podem distinguir saúde periodontal de PE crônica, comparar a concentração no FSG de citocinas e quimiocinas antes e após tratamento periodontal não cirúrgico e prever a progressão da PE crônica. De 57 estudos incluídos na meta-análise foi observado que IL-1 β , IL-6, MCP1/ CCL2, IFN γ estavam aumentados em indivíduos com PE crônica comparados aos indivíduos com saúde periodontal. A concentração de IL-8 e IL-4 foi maior em indivíduos saudáveis. Em relação ao tratamento periodontal foi verificado que a variação do nível das citocinas/quimiocinas no FSG após o tratamento periodontal não cirúrgico não apresentou significado clínico e estatístico significativo. Apesar de ter sido demonstrado um potencial valor preditivo para progressão da PE para IL-1 β , IFN γ e MCP)1/ CCL2 (Stadler et al.,2016).

2.2 Interleucina-10

Na última década, diversos estudos foram publicados na tentativa de investigar a relação da DP com a IL-10. Preshaw et al., (2011) investigaram em uma revisão sistemática a influência das citocinas na resposta inata e adaptativa na DP, mas uma alta heterogeneidade dos estudos não permitiu aos autores uma conclusão sobre a influência desta citocina na patogênese da DP.

Albuquerque et al., (2012c) em uma revisão sistemática com meta-análise observaram que certos polimorfismos da IL-10 estão relacionados ao maior risco de desenvolvimento da PE, entretanto em relação à DPi existem pouquíssimos artigos correlacionados à citocina.

Severino et al., (2016) analisaram a concentração na saliva e FSPI de marcadores de 40 indivíduos que possuíam implantes em função para análise da IL-6, IL-10, IL-17, IL-33 em 3 grupos saúde peri-implantar (n=10), na MP (n=10) e na PI (n=20). Os

autores observaram que as citocinas IL-6, IL-10, IL-17 e IL-33 não apresentaram diferenças de concentração salivar para saúde, MP e PI. Embora a literatura já tenha mostrado que a concentração de IL-10 se apresenta em menores concentrações em MP e PI que na saúde (Casado et al., 2013a) nesse estudo a IL-10 não apresentou variação significativa nos diferentes grupos. Contudo a IL-6, IL-17 e IL-33 apresentaram maior concentração na PI e na MP em relação a saúde peri-implantar. Entretanto, não se observou uma distinção de concentrações ao comparar PI e MP.

Em um estudo que indivíduos receberam prótese removível sobre implantes, a saliva foi colhida para medir a concentração de IL-6 e IL-10 em relação a condição peri-implantar. Foi observado que a IL-10 estava em altas concentrações na PI em relação à saúde (Liskmann et al., 2006). Um outro estudo observou uma alta concentração da IL-10 no FSPI em indivíduos que receberam prótese tipo protocolo e possuíam implantes com PI comparados a indivíduos com saúde peri-implantar (Ata- ali et al., 2015). Casado et al., (2013b) colheram dados clínicos e radiográficos em implantes em função (n=60). Os marcadores IL-10, IL-1 β foram colhidos no FSPI em um momento inicial e após 1 ano. Três grupos foram avaliados: MP, PI e saúde peri-implantar. Os resultados mostraram uma menor concentração da IL-10 na DPI e alta concentração quando houve saúde peri-implantar.

Severino et al., (2011) em um estudo transversal colheu FSPI de indivíduos com implantes instalados que apresentavam saúde e outros que apresentavam implantes com PI, observou-se que ausência de diferenças nos níveis de IL-10 na saúde e na PI. Na pesquisa de Teles et al. (2009) 74 indivíduos com PE crônica e 44 indivíduos saudáveis periodontalmente foram examinados para verificar a associação dos níveis salivares de 10 citocinas (fator estimulante de colônias de granulócito e macrófago, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN C e TNF- α) com parâmetros clínicos periodontais. A saliva total não estimulada foi coletada. O grupo de indivíduos saudáveis foi definido com PS e/ou nível clínico de inserção (NCI) \leq 3mm e possuíam um mínimo de 20 dentes presentes e o grupo doente os indivíduos com PS \geq 4mm e NIC \geq 3mm com também um mínimo 20 dentes presentes. Foi encontrada maior concentração de IL-5 e IL-10 na saúde periodontal. Entretanto, quando ajustado para tabagismo nenhuma citocina se mostrou com maior concentração seja no grupo dos saudáveis ou com PE. Em adição, observou-se uma fraca correlação de níveis salivares de IL-10 com NIC \geq 3 mm e com o SS. Os

autores questionaram se as citocinas investigadas possam ser usadas como marcadores da DP, incluindo também a IL-10 devido a sua fraca associação com parâmetros clínicos periodontais.

O estudo de Prakasam et al., (2014) também analisou a concentração da IL-4, IL-6, IL-10, IL-17 e receptores tipo Toll na saliva de indivíduos com PE crônica ou saudáveis periodontalmente. O objetivo do estudo foi identificar possíveis diferenças entre as citocinas e avaliar se alguma molécula tinha potencial para ser biomarcador da PE crônica. A população do estudo consistia em 20 indivíduos não fumantes com PE crônica ($\geq 30\%$ dos sítios com NCI $\geq 4\text{mm}$) e 20 indivíduos não fumantes saudáveis periodontalmente. Todos participantes receberam orientações de higiene oral e aqueles com PE receberam tratamento periodontal não cirúrgico. A saliva foi colhida e dados clínicos medidos (PS, SS e NCI) inicialmente e após 6 semanas do tratamento periodontal. Os autores observaram que a IL-4 e IL-6 tiveram concentrações mais altas na primeira avaliação e após as 6 semanas, somente a IL-4 diminuiu a concentração para valores semelhantes ao grupo saudável. Já a IL-10 e o receptor tipo toll aumentaram a concentração após tratamento periodontal. Os níveis de IL-6 e IL-17 não apresentaram alteração nas concentrações. Os autores concluíram que as IL-4, -6, -17 e -10 podem ser úteis como potenciais marcadores da PE crônica.

Vastardis et al., (2003) pesquisaram indivíduos com PE portadores do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), no intuito de relacionar a PE aos níveis salivares das citocinas IL-2, IL-4, IL-10 IL-12 e IFN γ . Os participantes do estudo foram classificados quanto à imunossupressão em leve ou moderada, de acordo com a dosagem sérica dos anticorpos CD4. A PE foi estratificada em PE moderada ou avançada. Os resultados não mostraram diferenças de concentrações salivares dos marcadores quando comparado PE moderada versus avançada ou quando comparado indivíduos com diferentes níveis de imunossupressão. Os autores relataram que em pacientes HIV positivos a concentração das citocinas IL-2, IL-4, IL-10 IL-12 e IFN γ não foram capazes de prever a condição periodontal.

Duarte et al., (2009) compararam dados clínicos e imunológicos de biópsia de tecido mole peri-implantar em três condições distintas: saudável, MP e PI. Os dados

clínicos avaliados foram: placa marginal, SS, Si, PS, NCI e nível ósseo avaliado através de radiografia periapical. O RNA de IL-10, TNF- α , IL-4, RANK, RANKL/OPG e OPG foi extraído das biópsias e feito reação em cadeia polimerase (PCR) em tempo real. Os resultados mostraram que a IL-10 apresentou baixa concentração na saúde peri-implantar, enquanto a IL-4 uma alta concentração na saúde. A concentração de OPG foi alta na saúde e a concentração de RANKL foi alta na PI. A concentração de RANKL/OPG encontrada foi alta na saúde e baixa na PI. Os autores concluíram que as citocinas são importantes no início das DPi e estão relacionadas a gravidade da PI.

O estudo de Liskmann et al., (2006) realizou a coleta da saliva de indivíduos com sistemas overdentures sobre os implantes dentais para análise de IL-6 (pró inflamatória) e IL-10(anti-inflamatória) na saúde e doença peri-implantar. Os resultados mostraram níveis indetectáveis na saliva quando havia saúde peri-implantar, mas esses níveis se mostravam aumentados quando a DPi estava presente. Os autores concluíram que essas citocinas poderiam ser utilizadas como marcadores da DPi e ainda podem dar informações extras sobre a resposta imune na manutenção da homeostase tecidual.

2.3 RANK, RANKL e OPG

No metabolismo ósseo, os osteoblastos modulam a formação dos osteoclastos que modulam a reabsorção óssea produzindo OPG e RANKL (Manrique et al., 2015). A ativação do fator RANKL é responsável pelo processo de início da atividade osteoclástica no processo de reabsorção óssea. A OPG atua como um inibidor da maturação dos osteoclastos impedindo a ligação da proteína RANK em RANKL e assim impede também a atividade osteolítica. Na DPi a presença dessas proteínas no FSPI é utilizada para estimar a perda óssea em tecidos peri-implantares (Rakic et al., 2014). Segundo alguns autores RANKL e OPG podem ser detectados no FSPI e o nível de RANKL é aumentado enquanto o nível de OPG é diminuído na PE e no tratamento ortodôntico. Caso a razão entre os dois RANKL/OPG seja alta pode-se indicar uma destruição óssea (Crotti et al., 2003; Bostanci et al., 2007).

Os marcadores do metabolismo ósseo se apresentam no FSPI e em amostras de sangue em concentrações tão baixas que se torna difícil a padronização de valores aceitáveis para sua interpretação. A dificuldade em definir a concentração padrão é relatada na literatura como uma grande complicação na utilização desses marcadores como instrumentos diagnósticos (Rakic et al., 2013). Enquanto RANK e OPG são encontrados no FSG, OPG é apenas detectável na saliva. Segundo Frodge et al., (2008), RANKL normalmente se encontra em baixas concentrações na saliva por estar degradado no meio salivar ou ligado ao OPG ou ao RANK.

Em um estudo de Buduneli et al., (2008) a concentração de RANKL/OPG foi avaliada na saliva de indivíduos com PE crônica fumantes e não fumantes. Os fumantes apresentaram piores condições periodontais que os não fumantes e maior razão RANKL/OPG. Entretanto, quando os indivíduos com DP estavam em manutenção periódica a concentração de RANKL/OPG apesar de maior em fumantes que em não fumantes ocorreram em condições periodontais semelhantes, revelando um efeito do tabagismo sobre estes marcadores.

Um estudo de revisão (Belibasakis et al., 2012) encontrou uma maior concentração de RANKL/OPG em FSG de indivíduos com PE comparado aos indivíduos saudáveis. Essa concentração de RANKL/OPG segundo os autores é crítica no metabolismo ósseo da PE pois o RANKL é fundamental para a osteoclastogênese.

Em relação aos parâmetros clínicos periodontais e níveis de RANKL/OPG, Tabari et al., (2013) correlacionaram os parâmetros clínicos NCI e índice de placa (IP) às concentrações salivares de RANKL/OPG e RANKL. Cinquenta indivíduos participaram do estudo sendo 25 saudáveis e 25 com PE, idade variando de 25 a 60 anos. Os autores encontraram uma relação positiva entre NCI e aumento da relação RANKL/OPG nos indivíduos com PE. Já o estudo de Bostanci et al., (2007) relacionou positivamente a concentração aumentada de RANKL/OPG no FSG ao aumento da PS e NIC. Os autores encontraram que na PE a relação de RANKL/OPG é maior que na saúde ou na gengivite.

Em 2012, Tobón-Arroyave e colaboradores realizaram um estudo para detectar as concentrações salivares de RANKL/OPG na saliva total não estimulada de indivíduos com PE crônica versus indivíduos saudáveis. Através da análise ELISA verificou-se que os indivíduos com PE apresentaram maior taxa de RANKL/OPG e

menor taxa de OPG que os indivíduos saudáveis. Os autores concluíram que essas moléculas podem indicar a quantidade de dano tecidual na PE. Contudo foi reforçado pelos autores que uma interação de outros efeitos como idade e tabagismo pode ter influenciado os achados. Indivíduos que tinham mais que 35 anos e indivíduos fumantes apresentaram menores valores de OPG, o que indicaria uma maior susceptibilidade ao colapso periodontal em indivíduos com essas características.

Sexton et al., (2011) verificaram os níveis salivares de MMP-8, OPG, fator inibidor da migração de macrófagos, IL-1 β , TNF- α relacionados a PE. A amostra consistia em adultos com PE crônica analisados em três momentos: inicial, após 16 semanas e 28 semanas após tratamento periodontal, constituído por orientações de higiene oral e raspagem subgengival. A análise resultou em melhoras clínicas nos parâmetros periodontais e significativas variações dos níveis salivares da OPG e MMP-8. A OPG foi relacionada ao ganho clínico de inserção e a MMP-8 a diminuição do SS e da PS. Os autores concluíram que essas proteínas podem refletir o resultado do tratamento periodontal e são úteis monitorar a resposta ao tratamento e monitorar a saúde periodontal.

A relação da PE com os tecidos duros adjacentes à lesão periodontal também foi investigada em outro estudo para observar o processo reabsortivo ósseo. Ao comparar indivíduos com e sem PE os autores observaram que as células epiteliais inflamatórias de indivíduos com PE expressaram altas concentrações de RANKL/OPG, conhecidos marcadores da reabsorção óssea. Adicionalmente, a alta concentração de RANKL/OPG foi associada ao osso com alta atividade osteoclástica em indivíduos com PE o que demonstrou que não somente o sítio periodontal circundante aos dentes apresentam reabsorção óssea, mas também os tecidos adjacentes aos dentes com PE (Liu et al., 2003).

2.4 Metaloproteinase 2

As metaloproteinases (MMPs) são proteínas que participam do processo de degradação do colágeno (Curran e Muray 1999). As MMPs são expressadas por células inflamatórias (monócitos, macrófagos, linfócitos), fibroblastos, células epiteliais, endoteliais, osteoblastos e osteócitos (Birkedal-Hansen, 1993). Na DP e

DPI a MMP-2 tem sua participação em destaque por participar da degradação do colágeno Tipos 1 e 4 (Sternlicht & Werb 2009).

Na DPI, a remodelação óssea e angiogênese é fortemente associada a atividade das MMPS. A atividade catalítica das MMPs é bloqueada por inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs). Um distúrbio entre as MMPs e TIMPs pode resultar em um processo patológico que altera a remodelação extracelular tecidual, conforme o estudo de Dew et al. (2000) em calota craniana de ratos. Através da análise da enzima fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP) os autores verificaram um aumento de osteoclastos no tecido ósseo que recebeu um agente que reabsorve a matriz óssea. Além disso, os resultados mostraram um aumento na expressão de MMPs e uma diminuição da TIMPs. Segundo Rice et al. (1997) a MMP indica a presença de osteoclastos e é secretada durante o processo de reabsorção óssea.

Recentes pesquisas mostraram que a MMP-2 está associada à maior susceptibilidade à PE (Xiang et al., 2009; Weng et al., 2016). Em PE crônica e agressiva a expressão da MMP-2 e MMP-8 é aumentada, mas o mecanismo da regulação e destruição dessas enzimas não estão ainda completamente elucidados (Sorsa et al., 2004).

Um estudo verificou que tecido extraído de gengiva com PE agressiva possuía maior concentração de MMP-2 que gengiva saudável (Séguier et al., 2001). Outros estudos colheram MMPs de FSG e encontraram uma correlação positiva da destruição tecidual na PE e alta concentração da enzima MMP-2 (Ding et al., 1995; McCulloch et al., 1994). A presença de MMPs no FGC não necessariamente indica que elas estão presentes no tecido na mesma concentração. De fato, a quantidade de enzima no FGC pode simplesmente refletir a liberação de enzimas na lâmina própria da gengiva ou, alternativamente, a liberação da enzima pelas células presentes no FGC (Uitto et al, 2003).

A busca de um biomarcador para reabsorção óssea alveolar foi investigada em um estudo de da Costa et al., (2015). Foi hipotetizado se tecido ósseo periféricos a uma lesão periodontal também apresentavam altas concentrações de marcadores da PE como observado em tecidos moles. Dois grupos experimentais foram criados: saudáveis e com PE e biópsias ósseas foram removidas durante a cirurgia periodontal. Foram realizadas análise de PCR em tempo real para TNF- α , IFN γ , IL-

4, IL-10, MMP-1, 2, 3 e 9. No grupo de indivíduos com PE o osso circundante aos dentes apresentou maior expressão de MMP-2 e TNF- α enquanto os demais marcadores apresentaram níveis semelhantes ao grupo de indivíduos saudáveis. Adicionalmente, reportou-se também um aumento da expressão da MMP-2 e do TNF- α . Os autores concluíram que o osso alveolar, circunvizinho a uma área com PE apresenta maior concentração de TNF- α o que pode acarretar extensão da reabsorção óssea alveolar.

A relação da concentração das MMPs no plasma e na saliva foi avaliada por Meschiari et al., (2013). Em um momento inicial, foram colhidas amostras sanguíneas e salivares para mensurar a concentração de MMP-8, MMP-9, TIMP1 e TIMP2. Os participantes do estudo deveriam apresentar no mínimo 2 dentes com perda óssea \geq 5mm e perda de inserção \geq 6mm além de evidência radiográfica de perda óssea. Exame periodontal completo foi realizado, excluindo os terceiros molares e anotado a PS, SS e NCI. Trinta indivíduos permaneceram os 3 meses de acompanhamento do estudo e foram divididos em um grupo que recebiam tratamento periodontal não cirúrgico e um segundo grupo (controle) que recebia apenas profilaxia. Todos participantes foram chamados a cada 15 dias e coletados os dados clínicos periodontais. O resultado mostrou uma diminuição na concentração da MMP-8 após o tratamento periodontal não cirúrgico e uma correlação positiva entre os níveis salivares e sanguíneos desse biomarcador. Apesar da pequena amostra os autores consideraram que esse estudo pode ajudar a identificar a concentração de promissores marcadores salivares em pesquisas futuras.

Entretanto, pode ser postulado que vários estudos reportaram correlações entre MMPs e PE, entretanto observa-se que a literatura ainda apresenta poucos estudos que esclarecem o papel da MMP-2 na DPi, ressalta-se que essa enzima apresenta um papel vital no processo de remodelação de tecidos duros e moles. Assim, é necessário estudos adicionais deste marcador na sua relação com as DPi.

2.5 TGF- β

Segundo Zhu et al., (2010), a resposta imuno inflamatória dos tecidos peri-implantares frente ao acúmulo bacteriano pode ser mediada pelas células CD4+,

essas contribuem para a progressão da destruição tecidual local. As células CD4+ T podem ser divididas em dois grupos de células responsáveis pela resposta imune: TH17 e células T regulatórias (TREG). As células TREG são componentes importantes da tolerância imunológica e tem a habilidade de produzir TGF- β , IL-10 e IL-35. As células TH17 são caracterizadas pela produção de IL-17 e participa de diversas funções pró-inflamatórias incluindo o recrutamento de neutrófilos e macrófagos (Vignali et al., 2008). Ressaltando que a tolerância imunológica é definida como a não resposta a um determinado antígeno (Lichtman e Abbas, 1997). As TREGs são geradas na periferia de uma lesão antigênica e exercem sua função liberando IL-10 e TGF- β (Sergejeva et al., 2009; Dong, 2009;), o que pode contribuir de forma importante na progressão de lesões peri-implantares. Neste sentido, os autores recomendam que estes biomarcadores devem ser mais claramente estudados na DPI.

Embora alguns estudos tenham associado a resposta imune na PE crônica à IL-17 (Takahashi et al., 2005; Vernal et al., 2005; Ohyama et al., 2009; Garlet, 2003) poucos estudos avaliaram o envolvimento da TREGs na patologia da PI (Luo et al., 2013). Severino et al., (2011) observaram em um estudo comparativo entre implantes saudáveis versus implantes com peri-implantite que a IL-17 esteve aumentada no FSPI na PI. Os autores concluíram que a IL-17 pode contribuir com aumento de outras citocinas inflamatórias como a IL-6 e aumentar a perda óssea na peri-implantite. Esses achados foram corroborados e descritos no estudo de Darabi et al., (2013) onde os autores observaram aumento de IL-17 e TNF- α no FSPI de implantes com PI quando comparados a implantes saudáveis.

Mardegan et al., (2017) apresentaram um estudo com indivíduos que possuíam um ou mais implantes em função, com saúde peri-implantar comparado a indivíduos com no mínimo um implante com PI. Biópsias foram obtidas durante a terapia cirúrgica da PI e durante cirurgia estética gengival em implantes saudáveis. Os tecidos foram avaliados para mensurar a expressão do TREG (TGF- β) e TH17 (IL-17 e IL23). Observou-se que ocorreu um aumento da resposta de IL-17 e IL-23 e diminuição da concentração da TGF- β em tecidos com PI, comparado a tecidos saudáveis.

Cornelini et al., (2003) compararam tecido gengival de implantes saudáveis versus tecido gengival de implantes com PI e verificaram alta concentração do TGF- β nos tecidos com PI e baixa concentração na saúde. De acordo com o estudo, o fato de ter sido encontrado concentrações aumentadas do TGF- β pode ser devido as propriedades do biomarcador na homeostase dos tecidos circundantes. Os autores concluíram que as seguintes ações: diminuição da degeneração do tecido conjuntivo, menor resposta imune, a produção de mediadores pró-inflamatórios e inibição do crescimento epitelial, fazem com que o biomarcador TGF- β regule o infiltrado inflamatório e produza tecido de reparação estimulando fibroblastos e células endoteliais.

O TGF- β já foi considerado essencial na homeostase e reparo dos tecidos moles. Bordin et al., (2009) coletaram biópsias de tecido gengival em cirurgias para tratamento de implantes com PI e observaram que há uma maior concentração de TGF- β na saúde que na PI. Schierano et al., (2000) observaram em biópsias de tecido gengival, colhidas após a instalação do implante, que a concentração aumentada de TGF- β contribui para o reparo e osseointegração. Schierano et al., (2001) observaram um estudo *in vitro* que o aumento da concentração de TGF- β aumenta a expressão de moléculas de adesão e matrix extracelular (laminina, lactina e colágeno tipo 4). Schierano et al., (2003) observou que TGF- β e IL-10 estão com maior concentração nos tecidos gengivais no início da osseointegração e diminuem essa concentração após 4 meses. Os autores atribuíram essa mudança de concentração à ação dessas proteínas no equilíbrio imuno-inflamatório da mucosa peri-implantar.

Quanto à forma de coleta para mensuração de TGF- β , a literatura atual apresenta pesquisas com amostras no fluido gengival e no FSPI (Eren et al., 2015; Agrali et al., 2016; Negri et al., 2016). Mas uma análise salivar de toda boca, segundo alguns estudos, seria mais fiel que a avaliação de um sítio, pois além de não invasiva, a coleta salivar permitiria monitorar a condição periodontal e peri-implantar a nível do indivíduo (Sexton et al., 2011; Giannobile et al., 2009).

2.6 TNF- α

Fator de necrose tumoral α (TNF- α) é um dos mediadores chave da resposta imuno inflamatória e é encontrado em altas quantidades nos tecidos periodontais e peri-implantares inflamados (McCulloch et al., 1994; Uitto et al., 2003; Negri et al., 2016). Assim sendo, inúmeros estudos sobre seu possível potencial como marcador para o diagnóstico e progressão das DP e DPi são reportados (McCulloch et al., 1994; Uitto et al., 2003; Konttinen, 2006; Gumus et al., 2014; Negri et al., 2016)

Konttinen (2006) e colaboradores demonstraram um aumento de TNF- α em tecidos afetados por PI e PE. Amostras de tecido gengival foram removidas de implantes que seriam extraídos e ao redor de dentes com PE que seriam submetidos a cirurgia periodontal. Essas amostras foram comparadas às removidas de áreas de terceiros molares previamente a uma exodontia. Foram analisadas as concentrações de IL-1, IL-6, TNF- α e fator de crescimento derivado de plaquetas. Os resultados demonstraram que o TNF- α foi a molécula que apresentou maior quantidade nos tecidos com PE, seguidos dos tecidos com PI. O autor considerou que o TNF- α aumentado pode contribuir com a perda óssea estimulando a formação e atividade de osteoclastos. Em adição, recomendam que o TNF- α deve um alvo de terapias futuras para modulação de citocinas com o objetivo de evitar a perda óssea peri-implantar.

Machtei et al., (2006) encontraram uma correlação positiva entre o aumento da resposta do hospedeiro e a concentração do TNF- α no FSPI. Essa citocina é ativadora de osteoclastos e está diretamente relacionada ao aumento dos precursores dos osteoclastos, além de ter ação sobre o aumento do RANKL e inibição do OPG, o que como consequência gera um aumento da reabsorção óssea.

A relação da TNF- α com PI tem sido estudada devido ao potente poder de estimulação da reabsorção óssea e estimulação da produção das MMPs (Vassalli et al., 1992). Darabi et al., (2011) estudaram a relação da TNF- α e IL-17 em indivíduos com implantes com PI e indivíduos com implantes saudáveis. Foi encontrada relação positiva entre o aumento do SSi com PI para ambos os marcadores. Em adição, foi encontrado uma relação positiva entre aumento da PS com a IL-17, sendo que o TNF- α não foi estatisticamente associado ao aumento da PSi.

A análise dos marcadores na saliva, no entendimento da patogênese DP, foi considerada por Gumus et al., (2014) uma melhor alternativa quando comparada à

análise do soro ou fluido gengival. Segundo os autores a amostra de saliva total representa melhor as alterações patológicas em boca toda e são mais relevantes clinicamente que a análise do fluido gengival pois esta última avalia apenas uma condição local específica (sítio ou implante).

Em recente revisão sistemática, Jaedicke et al., (2016) revisaram a literatura na busca pelo biomarcador TNF- α na saliva total de indivíduos com PE comparados a indivíduos periodontalmente saudáveis. A busca resultou em nove artigos que somados incluíam uma amostra de 425 indivíduos. Observou-se que embora o biomarcador fosse encontrado em menor concentração na saúde periodontal que na PE, essa concentração foi muito pequena ou até mesmo indetectável. Os autores consideraram que em baixas concentrações não é possível associar o biomarcador a progressão da PE ou associa-lo a mudanças clínicas após tratamento periodontal. Em virtude destes achados, os autores concluíram que o TNF- α não pode ser considerado um bom biomarcador para a PE.

Na tentativa de se estabelecer se a concentração de TNF- α salivar é constante na saúde ou DP, Ebersole et al. (2013) investigaram a concentração de TNF- α na saliva de 30 indivíduos periodontalmente saudáveis e em 50 indivíduos com PE. Após exame periodontal completo, todos foram chamados três vezes na semana para coleta de saliva total não estimulada. Apesar do pequeno prazo de acompanhamento do estudo (duas semanas) e um pequeno grupo de indivíduos (n=80), os autores não encontraram diferenças significativas na concentração do TNF- α entre os grupos. Também verificaram que não ocorreu variações na concentração do biomarcador em nível individual. Na conclusão do estudo foi destacada que esse biomarcador apresenta concentração constante, baixa sensibilidade e moderada especificidade para distinção de PE crônica e saúde periodontal.

A diferença entre o nível do TNF- α na saúde e na PE foi também investigado em um estudo de Mirrielees et al., (2010) ao analisar a saliva total de 35 indivíduos com artrite reumatóide, 35 indivíduos com PE e 35 indivíduos saudáveis periodontalmente. A saliva total não estimulada foi colhida para análise de IL-1 β , MMP-8 e TNF- α . Os parâmetros clínicos periodontais foram avaliados e os autores observaram que de forma geral os indivíduos com artrite reumatóide possuíam

níveis mais elevados da TNF- α que os demais. A MMP-8 esteve mais elevada no grupo com PE e a IL-1 β esteve mais elevada no grupo da artrite reumatóide e da PE que no grupo saudáveis. Na conclusão os autores reforçaram que os marcadores analisados se mostram elevados na PE comparado a saudáveis e, que o tratamento de condições sistêmicas tem influência na concentração dos mesmos.

O tratamento da DP e a influência nos níveis salivares da TNF- α foi destacado em uma pesquisa sobre resposta à terapia periodontal. Trinta e três adultos com PE receberam instruções de higiene oral e 35 as mesmas instruções de higiene somadas a raspagem e alisamento radicular. Os participantes do estudo possuíam de 25 a 69 anos de idade e PE crônica generalizada. Os grupos eram semelhantes em relação as medidas clínicas de perda de inserção ≥ 2 mm, PS ≥ 5 mm e SS. Todos participantes foram avaliados clinicamente e amostras salivares coletadas em um momento inicial, após 16 e 28 semanas. Nas amostras analisadas foram medidas as concentrações de TNF- α , OPG, IL-8, proteína inflamatória de macrófago, IL-1 β e MMP-8. Todos participantes obtiveram melhora nos parâmetros clínicos na 16^a e 28^a semana, mas o grupo que recebeu raspagem e alisamento radicular apresentou melhora mais significativa. Os marcadores TNF- α e OPG mostraram diminuição drástica na concentração no grupo que recebeu somente orientações de higiene. MMP-8 e IL-1 β reduziram as concentrações apenas no grupo que recebeu raspagem e alisamento radicular. Os autores consideraram que os marcadores analisados podem refletir o aspecto clínico inflamatório da PE e pode também mostrar a resposta à terapia periodontal. Em especial, a OPG e MMP-8 mostraram a maior variação durante o experimento (Sexton et al.,2011).

No estudo de Mendonça et al., (2009) foi descrito que o tratamento mecânico da DPI gera uma redução da concentração da TNF- α no FSPI e melhora o aspecto clínico dos implantes dentais. Foram avaliados indivíduos não fumantes, totalmente edêntulos que apresentam PI definida por: perda óssea verificada por radiografia periapical com pelo menos três roscas do implante expostas, PSi ≥ 5 mm e SSi. Após o tratamento cirurgico os indivíduos foram chamados 3 e 12 meses após terapia. O TNF- α foi colhido no FSPI no momento inicial, aos 3 meses e aos 12 meses do estudo. O tratamento reduziu os parâmetros clínicos como a PSi, SSi e a quantidade de TNF- α aos 3 e 12 meses comparados ao momento inicial. Os autores concluíram

que o tratamento mecânico é capaz de reduzir os níveis de TNF- α no FSPI e melhorar os parâmetros clínicos dos implantes.

Em um estudo clínico Frodge et al., (2008) observaram que os níveis salivares do TNF- α estavam aumentados em indivíduos com PE crônica comparado a indivíduos saudáveis periodontalmente. Níveis salivares do biomarcador acima da concentração de 5,75 pg/ml foram associados ao maior número de sítios com SS, com PS \geq 4mm e com NIC de aproximadamente 2 mm. Segundo os autores esse biomarcador tem um potencial de ser utilizado para facilitar o acompanhamento diagnóstico e controle da PE.

Fonseca et al., (2014) realizaram uma pesquisa em indivíduos que foram submetidos a terapia com implantes em protocolos mandibulares. Foi realizada coleta de saliva total não estimulada colhida do ducto parotídeo para medir a concentração dos marcadores IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IFN- γ , e TNF- α . Os parâmetros clínicos avaliados foram PSi e SSi e a perda óssea peri-implantar através de radiografia panorâmica digital. Os resultados mostraram níveis aumentados de IL-6 na PI em comparação a implantes saudáveis, assim como a IL8 aumentada na PI quando comparada a MP. Esses níveis aumentados podem significar uma resposta do sistema imune dos indivíduos, mas os autores recomendaram cautela ao interpretar esses resultados devido a análise conjunta de muitas citocinas interferindo na significância estatística do achado das mesmas.

Gomes et al., (2016) por meio de revisão sistemática investigaram a TNF- α e a IL-1 β como marcadores salivares da progressão e patogênese da PE. A análise revelou que a concentração do TNF- α se apresenta aumentada na PE comparada a saúde periodontal. Mas como os estudos incluídos na revisão sistemáticas eram muito heterogêneos não foi possível fazer uma meta-análise. Os autores concluíram que o TNF- α pode ser uma ferramenta promissora no diagnóstico precoce das doenças periodontais, pois o biomarcador esteve presente nos estágios iniciais da PE e as concentrações aumentaram com a progressão da mesma.

3 OBJETIVOS

1. Avaliar longitudinalmente, após 5 anos, a condição clínica periodontal, peri-implantar e os níveis dos marcadores salivares IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF- β e TNF- α em indivíduos com diagnóstico de MP na ausência e presença de terapia de manutenção periodontal e peri-implantar (TMPP).
2. Desenvolver uma revisão sistemática tendo como questão focal: “Os níveis de biomarcadores salivares podem ajudar a distinguir indivíduos com implantes saudáveis de indivíduos com implantes com doença peri-implantar ?”

4 HIPÓTESES PARA O ESTUDO LONGITUDINAL

Indivíduos com diagnóstico de MP que desenvolveram PI apresentam aumento da concentração salivar dos marcadores IL-1 β , IL-10, RANK, MMP-2, TGF e TNF- α quando comparados a indivíduos que não desenvolveram PI.

Indivíduos com diagnóstico de MP que desenvolveram PI apresentam diminuição da concentração salivar dos marcadores OPG quando comparados a indivíduos que não desenvolveram PI.

Indivíduos com diagnóstico de MP que realizaram TMPP, decorridos 5 anos, apresentam menores concentrações salivares dos marcadores IL-1 β , IL-10, RANK, MMP-2, TGF e TNF- α comparados a indivíduos sem TMPP.

Indivíduos com diagnóstico de MP que realizaram TMPP, decorridos 5 anos, apresentam maior concentração salivar de OPG comparados a indivíduos sem TMPP.

A TMPP tem influência positiva nos parâmetros clínicos periodontais e peri-implantares.

5 METODOLOGIA EXPANDIDA

A metodologia, resultados e discussão desta pesquisa serão apresentados por meio de dois artigos científicos intitulados:

ARTIGO 1. ESTUDO LONGITUDINAL

Peri-implant disease and levels of salivary biomarkers IL-1B, IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF and TNF-A: a 5 years follow-up.

ARTIGO 2. REVISÃO SISTEMÁTICA

Could cytokine levels in the saliva help to distinguish between healthy implants and implants with peri-implantar disease? a systematic review.

5.1 ARTIGO 1

DOENÇA PERI-IMPLANTAR E NÍVEIS DOS MARCADORES SALIVARES IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF- β e TNF- α : *FOLLOW-UP* DE 5 ANOS.

RESUMO

Objetivo: Avaliar longitudinalmente após 5 anos a condição clínica periodontal e peri-implantar e os níveis dos marcadores salivares IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF e TNF- α em indivíduos com diagnóstico de mucosite peri-implantar (MP) na ausência e presença de terapia de manutenção periodontal e peri-implantar (TMPP).

Métodos: 80 indivíduos diagnosticados com MP, foram divididos em dois grupos: um grupo que realizou terapia de manutenção periodontal e peri-implantar, chamado de GTP (n=39), e um segundo grupo sem manutenção, denominado GNTP (n=41). Cada participante submeteu-se a um exame clínico periodontal e peri-implantar completo [registro do nível clínico de inserção (NCI); profundidade de sondagem periodontal (PS) e peri-implantar (PSi); sangramento à sondagem periodontal (SS) e peri-implantar (SSi); supuração (Si); índice de placa periodontal (IP) e peri-implantar (IPi)], exame radiográfico, para avaliação dos níveis ósseos peri-implantares e coleta de amostras de saliva em dois tempos: exame inicial (T1) e decorridos 5 anos (T2). As amostras salivares foram congeladas e posteriormente avaliadas através do teste de ELISA para os seguintes marcadores: IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF e TNF- α .

Resultados: Observou-se uma maior incidência de peri-implantite (PI) no grupo GNTP (43,9%) do que no grupo GTP (18%) ($p = 0.000$). Todos os indivíduos (n = 12) que apresentaram resolução da MP em T2 estavam no GTP. Decorrido 5 anos houve um aumento na incidência de periodontite no GNTP comparado ao grupo GTP ($p = 0,001$). O resultado do estudo revelou um aumento na concentração salivar do TNF- α no GNTP comparado ao GTP. Os demais marcadores salivares avaliados não mostraram alteração estatisticamente significativa entre os dois grupos.

Conclusão: A concentração salivar do TNF- α se mostrou aumentada em indivíduos com pior condição clínica periodontal e peri-implantar e naqueles com maior incidência de PI especialmente no grupo GNTP. Estudos longitudinais em

populações maiores são necessários para confirmar esses achados e elucidar o papel do biomarcador nas DPI.

Palavras chave: Periodontite, Peri-implantite, Mucosite, Saliva, Biomarcadores, Citocinas.

PERI-IMPLANT DISEASE AND LEVELS OF SALIVARY BIOMARKERS IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF- β and TNF- α : A 5 YEARS FOLLOW-UP.

ABSTRACT

Objective: The aim of the present study was to evaluate the periodontal and peri-implant clinical condition and the levels of salivary markers IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF and TNF- α in individuals with a diagnosis of peri-implant mucositis in the absence or presence of periodontal and peri-implant maintenance therapy (TMPP) longitudinally over 5 years.

Methods: Eighty individuals diagnosed with peri-implant mucositis were divided into two groups: one group that underwent periodontal and peri-implant maintenance therapy, called GTP (n = 39), and a second group that received maintenance-free GNTP (n = 41). Each participant underwent a complete periodontal and peri-implant clinical examination [periodontal clinical attachment level (CAL), periodontal probing depth (PD) and peri-implant probing depth (PD_i), bleeding on periodontal probing (BOP) and bleeding on peri-implant probing (BOP_i), peri-implant suppuration (Si), periodontal plaque index (PLI) and modified peri-implant plaque index (mPLI)]. Collection of saliva samples and radiographic examination to evaluate peri-implant bone levels were conducted at two times: initial examination (T1) and after 5 years (T2). The salivary samples were frozen and later evaluated through ELISA for the following markers: IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF and TNF- α .

Results: A higher incidence of peri-implantitis was observed in the GNTP group (43.9%) than in the GTP group (18%) (p = 0.000). All individuals (n = 12) who presented with mucositis and had resolution at T2 were in the GTP group. After 5 years, there was an increase in the incidence of periodontitis in the GNTP group compared to the GTP group (p = 0.001). The results of the study revealed an increase in the salivary concentration of TNF- α in the GNTP group compared to the GTP group. The other salivary markers that were evaluated did not show statistically significant differences between the two groups.

Conclusions: The salivary concentration of TNF- α was increased in individuals with worse periodontal and peri-implant clinical condition and in those with a higher incidence of peri-implantitis, especially in the GNTP group. Longitudinal studies in larger populations are needed to confirm these findings and elucidate the role of this biomarker in peri-implant disease.

Keywords: Periodontitis, Peri-implantitis, Mucositis, Saliva, Biomarkers, Cytokines.

INTRODUCTION

Although the success of dental implants and high long-term survival rates have been demonstrated (Moraschini, et al., 2015), after implantation, a number of implants may have an inflammatory response in peri-implant supporting tissues (Clark & Levin, 2016).

This infectious-inflammatory change around implants is known as peri-implant disease (PID) and presents as mucositis or peri-implantitis. Peri-implant mucositis (MP) is characterized by inflammatory infectious disease that results in reversible inflammation of peri-implant soft tissues and peri-implantitis (PI) by the loss of soft and hard tissues around the implants (Lindhe J., & Meyle, J., 2008; Jepsen et al., 2015; Tonetti et al., 2015).

The inflammatory process in response to pathogenic bacteria is mediated by inflammatory cytokines, such as tumor necrosis alpha factor (TNF- α) and interleukins (IL), which have the property of activating collagenase and other proinflammatory factors (Gately et al., 1998). In an attempt to control local tissue destruction, certain anti-inflammatory cytokines are released. Among the anti-inflammatory agents, IL-10 and IL-4 are etiopathogenically associated with periodontal diseases and PID (Fiorentino, et al., 1991; Velde, et al., 1990). IL-10 and TNF- α play an important role in periodontitis (PE) (Galbraith, et al., 1999), and it appears that their role in PID is important in suppressing the host's immune and inflammatory response (Malefyt et al. 1992). One study has indicated that the analysis of the markers TNF- α and IL-1 β may facilitate the diagnosis of PID (Faot et al., 2015). These markers were also related to the activity of osteoclasts and bone resorption in PID as described in Yaghobee et al. (2013).

Bone metabolism is regulated by three TNF family member proteins: the nuclear activator-kappa B ligand receptor (RANKL), the nuclear factor-kappa B activating receptor (RANK) and the osteoprotegerin (OPG) system (Lerner, 2004). Osteoclast progenitor cells may undertake their RANK-stimulated differentiation in immunological response to bacterial liposaccharides causing bone resorption. Inhibition of osteoclast progenitor cells is performed by OPG (Bostanci et al., 2007). Because of the role played in the stimulation and inhibition of bone resorption, the

variation in RANK and OPG concentration in the peri-implant sulcus fluid (FSPI) has been considered a promising tool for the diagnosis and prognosis of PID (Rakic et al., 2014).

Studies have attempted to clarify the role of cytokines in this immuno-inflammatory response, but the literature presents conflicting and scarce data regarding the concentration of potential markers of PE and PI (Costa et al., 2010; Napimoga et al., 2011) and their role in the progression of these diseases (Prakasam et al., 2014; Janska et al., 2016). In addition, cytokines, chemokines, enzymes of cellular destruction and the molecules produced as a consequence of tissue destruction in PE and PID are released and can be identified in saliva (Taba et al. 2005; Giannobile et al. 2009; Faot et al. 2015; de Lima et al., 2016).

Recent studies indicate that the use of immunological markers may aid in the diagnosis of health and PID. The advantage of using saliva instead of blood or gingival sulcus (FSG) analysis is that it is a non-invasive collection method, has high availability, is painless and does not require special equipment for collection (Miller et al., 2010).

It is a fact that the literature includes numerous studies on the association between PID and levels of inflammatory markers in FSPI in gingival tissue biopsies and blood. However, surprisingly, despite the advantages of using saliva, salivary marker studies related to the presence and progression of PID are rare. Additionally, to date, clinical changes in peri-implant conditions associated with salivary markers in individuals with MP in the absence or presence of periodontal and peri-implant maintenance therapy (TMPP) have not been reported in longitudinal follow-up studies.

The literature highlights that TMPP decreases biological complications and increases the success of long-term implants (Howe, 2017; Salinas T. & Eckert S, 2012; Rocuzzo et al., 2010; Pjetursson et al., 2012).

In this sense, the objective of this study was to compare the salivary concentrations of IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF- β and TNF- α immunological markers related to the peri-implant condition of individuals with MP between baseline examination and final exam in the absence and presence of TMPP.

MATERIALS AND METHODS

Sample

The sample for this study was obtained from a study conducted in 2006 with partially edentulous individuals rehabilitated with dental implants with the objective of identifying possible risk factors and the prevalence of PID (Ferreira et al., 2006). Eighty nonsmokers who were diagnosed with MP in 2006 (T1) were re-called, and new periodontal / peri-implant clinical exams and immunological collections were repeated in 2012 (T2), resulting in a 5-year interval between T1 and T2. These individuals were divided into 2 groups: one group that performed regular TMPP, that is, at least one visit / year (GTP = 39), and one that did not perform periodontal / peri-implant maintenance (GNTP = 41). The periodontal and peri-implant clinical data of these individuals were previously reported by Costa et al. (2012).

In T1 and T2, the following parameters for the teeth and implants in periodontal / peri-implant examinations were recorded: clinical attachment level (CAL), periodontal probing depth (PS) and peri-implant probing depth (PSi), bleeding on periodontal probing (BOP) and bleeding on peri-implant probing (BOPi), periodontal (PL) and peri-implant (PLi) plaque index (Silness and Løe, 1964; Mombelli et al., 1987). In the implants, the presence of peri-implant suppuration (Si) was also evaluated, as was radiographic measurements to evaluate bone levels. The methodology for collecting these clinical data was described in detail by Ferreira et al. (2006). Salivary sample collection was performed at the time of clinical evaluations at T1 and T2 and will be described later.

The procedure and the research were explained in detail to each participant, and free and informed consent was obtained. Additionally, all individuals with periodontal and peri-implant changes were referred for free treatment in the clinics of the Federal University of Minas Gerais (UFMG). This study was approved by the Research Ethics Committee of UFMG under protocol number 05650203000-10.

Inclusion and exclusion criteria

The present study adopted the same inclusion and exclusion criteria as Ferreira et al., (2006). To be included in the sample, the participants could not have systemic diseases that influence periodontal and peri-implant clinical examination, had to attend the scheduled visit for the examination, had not used systemic antimicrobials in the 3 months prior to clinical examination, and had unitary or partial prosthetic

rehabilitations suitable for a correct clinical examination. Patients with prosthetic overdentures (due to the high incidence of soft tissue complications and difficulties during the exam) were excluded. Smokers (individuals who smoked more than 100 cigarettes in their lifetime) and ex-smokers (individuals who quit smoking up to 3 years before the clinical exams) were excluded from the study (Tomar & Asma 2000; Sgolastra et al., 2015). All evaluated implants had at least 6 months and up to 5 years in function.

Diagnosis of periodontal and peri-implant diseases

PE was diagnosed with the presence of 4 or more teeth with one or more sites with $PS > 4$ mm and $CAL \geq 3$ mm at the same site (López et al., 2002). The implant / subject was diagnosed with MP in the presence of a site with BOPi (Lang et al., 2011). An implant / subject was diagnosed with PI when BOPi and / or Si, $PSi \geq 5$ mm and presence of bone loss confirmed by radiography (Lang et al., 2011, Karoussis et al., 2003) or a value of $PSi \geq 5$ mm, even though there was no SSi and / or Si, but presented with bone loss at the radiographic examination (Karoussis et al., 2003, Ferreira et al., 2006). If the individual had an implant diagnosed with PI, then another with MP was considered the worst diagnosis.

Collection of saliva samples for immunological analysis

Salivary exam

Non-stimulated total saliva samples were collected by a single investigator (F.O.C.), and whenever possible, at the same time in the two-hour period after the last meal. The participants were instructed to rinse their mouths with water, and 5 ml of the saliva produced was collected in a Falcon-type millimeter tube. Saliva samples were frozen at $-80^{\circ}C$ until analysis by an investigator (T.A.S.) who was unaware of the previous phases of the experiment. For the assays, the samples were thawed and diluted 1: 1 in a solution of PBS (0.4 mM NaCl and 10 mM $NaPO_4$) containing protease inhibitors (0.1 mM Phenylmethylsulfonyl Fluoride, 1 mM benzethonium chloride, 10 mM EDTA and 0.01 mg / ml aprotinin A) and 0.05% Tween-20. The samples were later centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes at $4^{\circ}C$, and the supernatant used to analyze the concentrations of IL-1 β , IL-10, MMP-2 / TIMP-2 complex, RANK, OPG, TGF- β and TNF- α using commercially available kits (R & D Systems, Minneapolis, MN, USA). The concentrations of the biomarkers were

expressed in pg / ml according to the manufacturer's specifications and corrected for the protein concentration of the saliva (mucin) at the collection times (T1 and T2).

Statistical analysis

The data collected were analyzed with SPSS software (Statistical Package for Social Sciences, IBM Inc., USA) version 23.0. Initially, descriptive analyses were performed to obtain the mean, standard deviation, absolute and relative frequency of the data. The normality of the data was verified by the Kolmogorov-Smirnov test. To verify if there were differences in the investigated variables between the groups, the data were subjected to Mann-Whitney U and chi-square (or Fisher exact) tests. To verify if there was an association in the biomarker concentrations between the initial and final diagnosis, the data were submitted to the Wilcoxon test. The level of significance was set at 5% ($p < 0.05$).

RESULTS

The characteristics of interest in the biological, social and behavioral variables of the sample at T1 and T2 are presented in Table 1. Notably, individuals in the GNTP group presented with significantly higher PL indices (sum of the means of PL and PLi) when compared to the GTP group after 5 years (1.9 ± 0.5 vs. 1.4 ± 0.7 , $p = 0.001$). Additional data on peri-implant periodontal clinical parameters in relation to these variables were previously reported by Costa et al. (2012).

There was a higher incidence of PLi in the GNTP group (43.9%) compared to the GTP group (18%) ($p < 0.001$). There was an increase in the number of individuals with PE in the GNTP group when comparing T1 (22.0%) and T2 (41.5%). (Table 1).

In the GNTP group, individuals with MP had lower levels of TNF- α when compared to individuals with PI ($p = 0.033$). There was no statistically significant difference in the concentrations of the other markers evaluated between T1 and T2 (Table 2).

No significant difference was found in the concentrations of the biomarkers evaluated for individuals with MP diagnosis in T1 and T2. Additionally, no significant difference was found in the concentrations of the biomarkers evaluated for the individuals with the MP diagnosis at T1 and PI at T2 (Table 3). In addition, there was no statistically significant difference between the GNTP and GTP groups in relation to the

concentrations of the biomarkers independent of the final clinical diagnosis (Tables 4 and 5).

All individuals (n = 12) who presented with MP at T1 but presented as healthy at T2 were in the GTP group (Table 6). None of the biomarkers evaluated had significantly different concentrations between healthy and MP implants.

DISCUSSION

Saliva samples can be easily obtained in a non-invasive manner and at low cost, but few published studies have examined saliva biomarkers to investigate the presence and progression of PID. In this sense, this longitudinal study aimed to evaluate peri-implant clinical condition and levels of salivary biomarkers IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF and TNF- α in individuals diagnosed with MP in the presence or absence of TMPP over a 5-year period.

After investigation of salivary levels, we observed that the concentration of TNF- α was significantly higher in individuals in the GNTP group who developed PI after 5 years. Our findings are in agreement with those of several authors who found increased salivary cytokine levels in cases of PE (Gomes et al., 2016, Gumus et al., 2004, Singh et al., 2014, Frodge et al., 2008) and PID (Fonseca et al., 2004, Rocha et al., 2004). However, these findings are contradictory to those of other studies that did not find these differences in salivary levels (Gamel et al., 2017 and Teles et al., 2009). A high salivary concentration of TNF- α has been associated with an increased risk of developing PE (Chauhan et al., 2016). However, in the study by Fonseca et al. (2014), after measuring the concentration of IL-1 β in total saliva, saliva of the parotid gland and FSPI, only the FSPI measurement showed an increase in concentration when comparing a group of implants diagnosed with MP with a second group of implants diagnosed with PI. The authors attributed the results to the dilution of the mediators in the saliva that makes them difficult to detect. However, the sample consisted of only 20 individuals with a cross-sectional analysis of cytokine concentrations. The present study included a sample of 80 individuals and a 5-year follow-up, which may influence the contradictory results.

The study by Rocha et al. (2014) reinforces the results of the present study because the authors evaluated 50 individuals and showed a higher concentration of IL-1 β in unstimulated saliva in individuals with implants diagnosed with PI compared to healthy implants.

Notably, the results of our study showed that the individuals who had resolved MP with peri-implant health belonged to the GTP group, and the prevalence of PI in the GNTP group (43.9%) was higher than in the GTP group (18%) ($p < 0.001$). Similar findings were reported by Aguirre-Zorzano et al., (2015).

Pjetursson et al. (2005) reported that in 47 individuals with a history of PE followed for 7.9 years, the prevalence of PI was 31.9% among the participants who underwent TMPP and 52.2% among those who did not undergo TMPP ($p = 0.102$). The authors noted that lack of adherence to a regular periodontal / peri-implant maintenance program is correlated with a high incidence of peri-implant bone loss and implant loss.

In this sense, four main factors may have had a greater influence on our findings: smoking, the presence of PE, cytokines polymorphisms and the absence of TMPP (Dias et al., 2018, Lucena et al., 2017). Smoking is considered a major risk factor for PID (Clementini et al., 2014; Konstantinidis et al., 2015, Renvert et al., 2015). In this study, smokers were excluded from the sample in order to minimize this confounding factor in data analysis.

In the GTP group, 12 individuals with MP in T1 were diagnosed as healthy at T2. This result is in agreement with the studies on the influence of preventive maintenance in the control of PE and MP. The findings of the systematic review and meta-analysis by Monje et al. (2016) showed that TMPP is important in preventing and reducing the occurrence of PE and MP. Another systematic review study with meta-analysis reinforced the importance of peri-implant maintenance because the best way to prevent PI is MP control (Jepsen et al., 2015). The literature shows that professional follow-up in maintenance consultations prevents the development of PE, which is a risk factor for PI (Lee et al., 2012). Another study has shown that TMPP reduces the occurrence of PI in individuals with a history of PE, and the lack of TMPP is correlated with the higher incidence of peri-implant bone loss in individuals with and without a history of PE (Rocuzzo et al., 2013). According to Smith et al., (2017),

the primary objective for avoiding the occurrence of complications with implants is based on a reinforcement of plaque control and reduction of risk factors, such as smoking and adjustment of prostheses, that hinder good local hygiene.

In addition to periodic maintenance, the concentrations of periodontal and peri-implant biomarkers have been studied in an attempt to predict their progression (Liskmann et al., 2006). In the study by Gomes et al., (2016) the authors demonstrated that saliva analysis can be used to verify the progression of PE, since the authors verified that TNF- α concentration was low at the beginning of PE and increased as it progressed. In the present study, a similarity to the previously mentioned study was observed: the cytokine in question was low in the MP group and increased in the PI implant group. However, a controversial result was demonstrated by Fonseca et al., (2014), who did not find significant differences between salivary levels of TNF- α when comparing a group of implants diagnosed with MP and another group diagnosed with PI. A possible explanation for this divergence in the comparisons of salivary cytokine levels may be attributed to the influence of TNF- α polymorphisms that lead to decreased cytokine expression (Dias et al., 2018; Ding et al., 2014).

An important aspect of our study related to saliva concentration was discussed by Wozniak et al. (2002). The authors observed that total salivary cytokines may represent only a fraction of the total content in saliva. The authors observed that cytokines can be negatively affected (diluted) by salivary components (mucin), which decreases the detection power of the ELISA assay. Another study showed that mucin had already been found to be increased in saliva in cases of chronic PE compared to periodontally healthy cases (Kejriwal et al., 2014). The study by Jaedicke et al. (2012) showed that when using ELISA for salivary analysis, a correction must be made by the protein such that the test can be considered reliable. This concern over the influence of salivary protein was considered in our study, since the concentrations of the cytokines were corrected by the salivary protein to attempt to decrease the salivary viscosity effect at the collection time points (T1 and T2).

In addition to the absence of significant differences in the salivary concentration of IL-1 β , IL-10 TGF- β and RANKL / OPG between T1 and T2, it is worth noting that the

hypothesis would be that we would find increased levels of IL-1 β , IL- 10, TGF- β and RANKL / OPG in the GNTP group compared to the GTP group, especially in the individuals who developed PI. However, other studies have also observed that the salivary levels of this biomarker are not able to differentiate MP from PI (Liskmann et al., 2006; Abduljabbar et al., 2016; Acharya et al., 2016). This result may have been obtained because of the difficulty in detecting cytokines in PID and PE. Due to the periods of activity and inactivity of these pathologies, at low concentrations, the biomarkers may have an increase or decrease in their release in saliva, FSPI and FSG (Kinney et al., 2011; Wohlfahrt et al., 2014).

MMPs have been studied for their ability to cleave components of the extracellular matrix. In particular, MMP-2 has an important relationship with PID because it is able to cleave collagen type 1, which is an abundant component in gingival conjunctive tissue, is linked to the monitoring of collagen degradation and has been associated with tissue destruction in chronic PE (Bataiosu et al., 2015). Nizam et al. (2015) showed that there were no differences in salivary concentration between PE and periodontal health. This finding reinforces the findings in our study because it diminishes the influence of PE in the results, as the sample in this study had individuals who did not present with PE at T1 but presented with PE at T2. Due to the important relationship with collagen degradation and scarcity of studies on salivary MMP, we emphasize that it should be used in future studies to better understand the relationship with PID. Thus, the quantification of salivary markers was considered a promising diagnostic tool for understanding, prevention and progression of PE and PID (Desai and Mathews, 2014; Ebersole et al., 2015). For future research, it is important to note that together with cytokine analysis of the salivary glands, this approach can greatly benefit the diagnosis because observing a high concentration of a proinflammatory cytokine may prove to produce increased risk of developing PE and PID before its clinical signs of activity are exacerbated (Ulker et al., 2008).

It can be concluded that this study showed a beneficial role of TMPP in maintaining the balance of periodontal and peri-implant clinical condition and that in the absence of TMPP, the salivary concentration of TNF- α was increased. Additionally, the increased salivary level of TNF- α was associated with worse peri-implant clinical condition. Thus, it is suggested that TNF- α may be considered a potential biomarker

of PID, but new studies in different populations and with different designs are needed to clarify this cytokine's role in peri-implant diagnosis and progression.

Conflict of interest:

The authors declare that there are no conflicts of interest related to this research.

Financial support:

This study was supported by grants from the National Council of Scientific and Technological Development – CNPq, Brazil [(productivity research grants #307034/2015-1, #307024/2015-6), and #402158/2016-4].

REFERENCES

1. Abduljabbar T, Al-Sahaly F, Kellesarian SV, Kellesarian TV, Al-Anazi M, Al-Khathami M, Javed F, Vohra F. (2016). Comparison of peri-implant clinical and radiographic inflammatory parameters and whole salivary destructive inflammatory cytokine profile among obese and non-obese men. *Cytokine*, 88,51-56. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.08.017>.
2. Acharya A, Koh ML, Kheur S, Watt RM, Jin L, Mattheos N. (2016). Salivary IL-1 β and red complex bacteria as predictors of the inflammatory status in sub-peri-implant niches of subjects with peri-implant mucositis. *Clin Oral Implants Res*, 27,662-667. <https://doi.org/10.1111/clr.12713>.
3. Aguirre-Zorzano, L. A., Estefanía-Fresco, R., Telletxea, O., & Bravo, M. (2015). Prevalence of peri-implant inflammatory disease in patients with a history of periodontal disease who receive supportive periodontal therapy. *Clinical Oral Implants Research*, 26, 1338–1344. <https://doi.org/10.1111/clr.12462>.
4. Bataiosu M, Taisescu CI, Pisoschi CG, Pascu EI, Ţuculină MJ, Dăguci L, Dăguci C, BaniŢă IM. (2015). Effects of therapy with two combinations of antibiotics on the imbalance of MMP-2/TIMP-2 in chronic periodontitis. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 56, 77–83.
5. Bostanci, N., Ilgenli, T., Emingil, G., Afacan, B., Han, B., Töz, H., Atilla, G., Hughes, F.J., Belibasakis, G.N. (2007). Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: Implications of their relative ratio. *Journal of Clinical Periodontology*, 34, 370–376. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01061>.

6. Buduneli, N., Biyikolu, B., Sherrabeh, S., & Lappin, D. F. (2008). Saliva concentrations of RANKL and osteoprotegerin in smoker versus non-smoker chronic periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 846–852. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01310.x>
7. Casado, P. L., Canullo, L., De Almeida Filardy, A., Granjeiro, J. M., Barboza, E. P., & Leite Duarte, M. E. (2013). Interleukins 1 β and 10 expressions in the periimplant crevicular fluid from patients with untreated periimplant disease. *Implant Dentistry*, 22(2), 143–150. <https://doi.org/10.1097/ID.0b013e3182818792>
8. Chauhan, A., Yadav, S. S., Dwivedi, P., Lal, N., Usman, K., & Khattri, S. (2016). Correlation of Serum and Salivary Cytokines Level With Clinical Parameters in Metabolic Syndrome With Periodontitis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 30(5), 649–655. <https://doi.org/10.1002/jcla.21917>
9. Chen, J., Cai, H., Suo, L., Xue, Y., Wang, J., & Wan, Q. (2017, April 1). A systematic review of the survival and complication rates of inlay-retained fixed dental prostheses. *Journal of Dentistry*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2017.02.006>.
10. Clark, D., & Levin, L. (2016). Dental implant management and maintenance: How to improve long-term implant success? *Quintessence International*, 47(5), 417–23. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a35870>
11. Clementini, M., Rossetti, P. H. O., Penarrocha, D., Micarelli, C., Bonachela, W. C., & Canullo, L. (2014). Systemic risk factors for peri-implant bone loss: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 43(3), 323–334. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.11.012>.
12. Costa, F. O., Takenaka-Martinez, S., Cota, L. O. M., Ferreira, S. D., Silva, G. L. M., & Costa, J. E. (2012). Peri-implant disease in subjects with and without preventive maintenance: A 5-year follow-up. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(2), 173–181. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01819.x>
13. Costa, P. P., Trevisan, G. L., Macedo, G. O., Palioto, D. B., Souza, S. L. S., Grisi, M. F. M., ... Taba, M. (2010). Salivary Interleukin-6, Matrix Metalloproteinase-8, and Osteoprotegerin in Patients with Periodontitis and Diabetes. *Journal of Periodontology*, 81(3), 384–391. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.090510>.
14. De Lima, C. L., Acevedo, A. C., Grisi, D. C., Taba, M., Guerra, E., & De Luca Canto, G. (2016). Host-derived salivary biomarkers in diagnosing periodontal disease: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 43(6), 492–502. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12538>.
15. de Waal Malefyt, R., Yssel, H., Roncarolo, M. G., Spits, H., & de Vries, J. E. (1992). Interleukin-10. *Curr Opin Immunol*, 4(3), 314–320.

16. Dias S. A. M. R., Pinho C. M. R., Almeida F.R, Bandeira A. F. F., Celerino S. R., Crovella S., Carvalho F., Vajgel B, Cimões R. (2018). Evaluation of DEFB1 polymorphisms in individuals with chronic periodontitis and diabetes mellitus type 2 in a population of northeastern Brazil. *Spec Care Dentist*, 38, 227-233. [https://doi: 10.1111/scd.12296](https://doi.org/10.1111/scd.12296).
17. Ding, C., Ji, X., Chen, X., Xu, Y., & Zhong, L. (2014). TNF- α gene promoter polymorphisms contribute to periodontitis susceptibility: Evidence from 46 studies. *Journal of Clinical Periodontology*, 41(8), 748–759. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12279>.
18. Ebersole, J. L., Nagarajan, R., Akers, D., & Miller, C. S. (2015). Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00062>.
19. Faot, F., Nascimento, G. G., Bielemann, A. M., Campão, T. D., Leite, F. R. M., & Quirynen, M. (2015). Can Peri-Implant Crevicular Fluid Assist in the Diagnosis of Peri-Implantitis? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Periodontology*, 86(5), 631–645. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.140603>.
20. Ferreira, S. D., Silva, G. L. M., Cortelli, J. R., Costa, J. E., & Costa, F. O. (2006). Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *Journal of Clinical Periodontology*, 33(12), 929–935. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2006.01001.x>.
21. Fonseca, F. J. P. O., Junior, M. M., Lourenço, E. J. V., de Moraes Teles, D., & Figueredo, C. M. (2014). Cytokines expression in saliva and peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant disease. *Clinical Oral Implants Research*, 25(2), 68-72. <https://doi.org/10.1111/clr.12052>.
22. Fiorentino, D. F., Zlotnik, A., Mosmann, T. R., Howard, M., & O'Garra, A. (1991). IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *Journal of Immunology* 147(11), 3815–3822. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.3.1628>.
23. Frodge, B. D., Ebersole, J. L., Kryscio, R. J., Thomas, M. V., & Miller, C. S. (2008). Bone Remodeling Biomarkers of Periodontal Disease in Saliva. *Journal of Periodontology*, 79(10), 1913–1919. <https://doi.org/10.1902/jop.2008.080070>.
24. Galbraith, G. M., Hendley, T. M., Sanders, J. J., Palesch, Y., & Pandey, J. P. (1999). Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 26, 705–709. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.1999.t01-1-261101.x>
25. Gamel, E. B., Hashim, N. T., Satti, A., & Gismalla, B. G. (2017). Salivary TNF α levels in groups of subjects with rheumatoid arthritis and chronic periodontitis. *BMC Research Notes*, 10(1) 34-40. <https://doi.org/10.1186/s13104-016-2341-7>.
26. Gately MK1, Renzetti LM, Magram J, Stern AS, Adorini L, Gubler U, Presky D.H. (1998). The interleukin-12/interleukin-12-receptor system: Role in normal and pathologic immune responses. *Annu Rev Immuno*,16, 495-521.<https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.16.1.495>.
27. Giannobile, W. V., Beikler, T., Kinney, J. S., Ramseier, C. A., Morelli, T., & Wong, D. T. (2009). Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: Current state

- and future directions. *Periodontology* 2000, 50(1), 52–64. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2008.00288.x>
28. Gomes, F. I. F., Aragão, M. G. B., Barbosa, F. C. B., Bezerra, M. M., de Paulo Teixeira Pinto, V., & Chaves, H. V. (2016). Inflammatory Cytokines Interleukin-1 β and Tumour Necrosis Factor- α - Novel Biomarkers for the Detection of Periodontal Diseases: a Literature Review. *Journal of Oral & Maxillofacial Research*, 7(2), e2. <https://doi.org/10.5037/jomr.2016.7202>.
29. Gomes, M. A. B., Rodrigues, F. H., Afonso-Cardoso, S. R., Buso, A. M., Silva, A. G., Favoreto, S., & Souza, M. A. (2006). Levels of immunoglobulin A1 and messenger RNA for interferon γ and tumor necrosis factor α in total saliva from patients with diabetes mellitus type 2 with chronic periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*, 41(3), 177–183. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2005.00851.x>
30. Gümüş, P., Nizam, N., Lappin, D. F., & Buduneli, N. (2014). Saliva and Serum Levels of B-Cell Activating Factors and Tumor Necrosis Factor- α in Patients With Periodontitis. *Journal of Periodontology*, 85(2), 270–280. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.130117>.
31. Howe, M. S. (2017). Implant maintenance treatment and peri-implant health. *Evid Based Dent*, 18(1):8-10. <https://doi.org/10.1038/sj.ebd.6401216>.
32. Jaedicke, K. M., Taylor, J. J., & Preshaw, P. M. (2012). Validation and quality control of ELISAs for the use with human saliva samples. *Journal of Immunological Methods*, 377, 62–65. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2012.01.010>.
33. Jaedicke, K. M., Preshaw, P. M., & Taylor, J. J. (2016). Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 70(1), 164–183. <https://doi.org/10.1111/prd.12117>.
34. Janska, E., Mohr, B., & Wahl, G. (2016). Correlation between peri-implant sulcular fluid rate and expression of collagenase2 (MMP8). *Clinical Oral Investigations*, 20(2), 261–266. <https://doi.org/10.1007/s00784-015-1501-9>.
35. Jepsen, S., Berglundh, T., Genco, R., Aass, A. M., Demirel, K., Derks, J., Zitzmann, N. U. (2015). Primary prevention of peri-implantitis: Managing peri-implant mucositis. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(S16), S152–S157. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12369>.
36. Karoussis, I. K., Müller, S., Salvi, G. E., Heitz-Mayfield, L. J. A., Brägger, U., & Lang, N. P. (2004). Association between periodontal and peri-implant conditions: A 10-year prospective study. *Clinical Oral Implants Research*, 15(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2004.00982.x>
37. Kejriwal, S., Bhandary, R., Thomas, B., & Kumari, S. (2014). Estimation of Levels of Salivary Mucin, Amylase and Total Protein in Gingivitis and Chronic Periodontitis Patients. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8, ZC56–ZC60. <http://doi.org/10.7860/JCDR/2014/8239.5042>.
38. Konstantinidis, I. K., Kotsakis, G. A., Gerdes, S., & Walter, M. H. (2015). Cross-sectional study on the prevalence and risk indicators of peri-implant diseases. *European Journal of Oral Implantology*, 8, 75–88.

39. Kinney JS, Morelli T, Braun T, Ramseier CA, Herr AE, Sugai JV, Shelburne CE, Rayburn LA, Singh AK, Giannobile W.V. (2011). Saliva/pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression. *J Dent Res*, 90, 752-758. <https://doi.org/10.1177/0022034511399908>.
40. Lang, N. P., & Berglundh, T. (2011). Periimplant diseases: Where are we now? - Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*, 38, 178–181. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01674.x>
41. Lerner, U. H. (2004). New molecules in the tumor necrosis factor ligand and receptor superfamilies with importance for physiological and pathological bone resorption. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 15, 64–81. <https://doi.org/10.1177/154411130401500202>.
42. López, N. J., Smith, P. C., & Gutierrez, J. (2002). Periodontal therapy may reduce the risk of preterm low birth weight in women with periodontal disease: a randomized controlled trial. *Journal of Periodontology*, 73, 911–924. <https://doi.org/10.1902/jop.2002.73.8.911>.
43. Lucena, K. C.R., de Lima Junior, S. F., Arrais Ribeiro, I. L., Cimoës, R., & Tavares Carvalho, A. A. (2017). Clinical and Metabolic Effects of two Periodontal Therapeutic Modalities in Diabetic Patients with Residual Pockets. *Pesquisa brasileira em odontopediatria e clinica integrada*, 17, 2577. <https://doi.org/10.4034/PBOCI.2017.171.02>
44. Lindhe, J., & Meyle, J. (2008). Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 282–285). <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01283.x>
45. Liskmann, S., Vihalemm, T., Salum, O., Zilmer, K., Fischer, K., & Zilmer, M. (2006). Correlations between clinical parameters and interleukin-6 and interleukin-10 levels in saliva from totally edentulous patients with peri-implant disease. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 21, 543–550.
46. Moraschini, V., Poubel, L. A. D. C., Ferreira, V. F., & Barboza, E. D. S. P. (2015). Evaluation of survival and success rates of dental implants reported in longitudinal studies with a follow-up period of at least 10 years: A systematic review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 44, 377–388. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2014.10.023>
47. Miller, C. S., Foley, J. D., Bailey, A. L., Campell, C. L., Humphries, R. L., Christodoulides, N., McDevitt, J. T. (2010). Current developments in salivary diagnostics. *Biomarkers in Medicine*, 4, 171–189. <https://doi.org/10.2217/bmm.09.68>.
48. Napimoga, M. H., Nunes, L. H. A. C., Maciel, A. A. B., Demasi, A. P. D., Benatti, B. B., Santos, V. R. Duarte, P. M. (2011). Possible Involvement of IL-21 and IL-10 on Salivary IgA Levels in Chronic Periodontitis Subjects. *Scandinavian Journal of Immunology*, 74, 596–602. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02605.x>
49. Nizam, N., Basoglu, O. K., Tasbakan, M. S., Holthöfer, A., Tervahartiala, T., Sorsa, T., & Buduneli, N. (2015). Do salivary and serum collagenases have a role in an association between obstructive sleep apnea syndrome and periodontal disease?

- A preliminary case-control study. *Archives of Oral Biology*, 60, 134–143. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.09.006>.
50. Pjetursson, B. E., Helbling, C., Weber, H. P., Matuliene, G., Salvi, G. E., Brägger, U., Lang, N. P. (2012). Peri-implantitis susceptibility as it relates to periodontal therapy and supportive care. *Clinical Oral Implants Research*, 23, 888–894. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2012.02474.x>.
51. Prakasam, S., & Srinivasan, M. (2014). Evaluation of salivary biomarker profiles following non-surgical management of chronic periodontitis. *Oral Diseases*, 20, 171–177. <https://doi.org/10.1111/odi.12085>.
52. Rakic, M., Struillou, X., Petkovic-Curcin, A., Matic, S., Canullo, L., Sanz, M., & Vojvodic, D. (2014). Estimation of Bone Loss Biomarkers as a Diagnostic Tool for Peri-Implantitis. *Journal of Periodontology*, 85, 1566–1574. <https://doi.org/10.1902/jop.2014.140069>.
53. Renvert S, Polyzois I. (2015). Risk indicators for peri-implant mucositis: a systematic literature review. *J Clin Periodontol*, 42 (Suppl 16), S172-186. doi: 10.1111/jcpe.12346.
54. Rocuzzo, M., De Angelis, N., Bonino, L., & Aglietta, M. (2010). Ten-year results of a three-arm prospective cohort study on implants in periodontally compromised patients. Part 1: Implant loss and radiographic bone loss. *Clinical Oral Implants Research*, 21, 490–496. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2009.01886.x>
55. Rocuzzo, M., Bonino, L., Dalmaso, P., & Aglietta, M. (2014). Long-term results of a three arms prospective cohort study on implants in periodontally compromised patients: 10-year data around sandblasted and acid-etched (SLA) surface. *Clinical Oral Implants Research*, 25, 1105–1112. <https://doi.org/10.1111/clr.12227>.
56. Rocha, F. S., Jesus, R. N. R., Rocha, F. M. S., Moura, C. C. G., & Zanetta-Barbosa, D. (2014). Saliva Versus Peri-implant Inflammation: Quantification of IL-1 β in Partially and Totally Edentulous Patients. *Journal of Oral Implantology*, 40, 169–173. <https://doi.org/10.1563/AAID-JOI-D-11-00224>.
57. Salinas T, Eckert S. (2012). Implant-supported single crowns predictably survive to five years with limited complications. *J Evid Based Dent Pract.*, 12(Suppl 3), 213-214. doi: 10.1016/S1532-3382(12)70040-4.
58. Sgolastra F, Petrucci A, Severino M, Gatto R, Monaco A. (2015). Smoking and the risk of peri-implantitis. A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res*, 26, 62-67. doi: 10.1111/clr.12333.
59. Singh, P., Gupta, N., Bey, A., & Khan, S. (2014). Salivary TNF-alpha: A potential marker of periodontal destruction. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 18, 306. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.134566>.
60. Smith, M. M., Knight, E. T., Al-Harhi, L., & Leichter, J. W. (2017). Chronic periodontitis and implant dentistry. *Periodontology 2000*, 74, 63–73. <https://doi.org/10.1111/prd.12190>.
61. Taba, M., Kinney, J., Kim, A. S., & Giannobile, W. V. (2005). Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dental Clinics of North America*, 49, 551-571. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2005.03.009>.

62. Tabari ZA, Azadmehr A, Tabrizi MA, Hamissi J, Ghaedi F.B. (2013). Salivary soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin ratio in periodontal disease and health. *J Periodontal Implant Sci.*, 43, 227-232. doi: 10.5051/jpis.2013.43.5.227.
63. Tobón-Arroyave, S. I., Isaza-Guzmán, D. M., Restrepo-Cadavid, E. M., Zapata-Molina, S. M., & Martínez-Pabón, M. C. (2012). Association of salivary levels of the bone remodelling regulators sRANKL and OPG with periodontal clinical status. *Journal of Clinical Periodontology*, 39, 1132–1140. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12012>.
64. Tomar, S. L., & Asma, S. (2000). Smoking-Attributable Periodontitis in the United States: Findings from NHANES III. *Journal of Periodontology*, 71, 743–751. <https://doi.org/10.1902/jop.2000.71.5.743>.
65. Tonetti, M. S., Eickholz, P., Loos, B. G., Papapanou, P., Van Der Velden, U., Armitage, G., Suvan, J. E. (2015). Principles in prevention of periodontal diseases: Consensus report of group 1 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(S16), S5–S11. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12368>.
66. Velde, A. A., Huijbens, R. J., Heije, K., de Vries, J. E., & Figdor, C. G. (1990). Interleukin-4 (IL-4) inhibits secretion of IL-1 beta, tumor necrosis factor alpha, and IL-6 by human monocytes. *Blood*, 76, 1392–1397.
67. Teles, R. P., Likhari, V., Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (2009). Salivary cytokine levels in subjects with chronic periodontitis and in periodontally healthy individuals: A cross-sectional study. *Journal of Periodontal Research*, 44, 411–417. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2008.01119.x>
68. Ülker, A. E., Tulunoglu, Ö., Özmeric, N., Can, M., & Demirtas, S. (2008). The Evaluation of Cystatin C, IL-1 β , and TNF- α Levels in Total Saliva and Gingival Crevicular Fluid From 11- to 16-Year-Old Children. *Journal of Periodontology*, 79, 854–860. <https://doi.org/10.1902/jop.2008.070422>.
69. Smith, P. C., Guerrero, J., Tobar, N., Cáceres, M., González, M. J., & Martínez, J. (2009). Tumor necrosis factor-alpha-stimulated membrane type 1-matrix metalloproteinase production is modulated by epidermal growth factor receptor signaling in human gingival fibroblasts. *Journal of Periodontal Research*, 44, 73–80. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2007.01081.x>
70. Yaghobee, S., Khorsand, A., & Paknejad, M. (2013). Comparison of interleukin-1 β levels in gingival crevicular fluid and peri-implant crevicular fluid and its relationship with clinical indexes. *Journal of Dentistry*, 10, 1–9.
71. Yue, Y., Liu, Q., Xu, C., Loo, W. T. Y., Wang, M., Wen, G., Ng, E. L. Y. (2013). Comparative evaluation of cytokines in gingival crevicular fluid and saliva of patients with aggressive periodontitis. *The International Journal of Biological Markers*, 28, 108–112. <https://doi.org/10.5301/jbm.5000014>.
72. Wohlfahrt, J. C., Aass, A. M., Granfeldt, F., & Reseland, J. E. (2014). Sulcus fluid bone marker levels and the outcome of surgical treatment of peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 41, 424–431. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12229>.

73. Wozniak, K. L., Arribas, A., Leigh, J. E., & Fidel, P. L. (2002). Inhibitory effects of whole and parotid saliva on immunomodulators. *Oral Microbiology and Immunology*, 17, 100–107. <https://doi.org/10.1046/j.0902-0055.2001.00101.x>

Table list

Table 1 – Sample characteristics.

Table 2 – Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) in GNTP and GTP groups related to clinical diagnosis at T2.

Table 3 – Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) based on clinical evolution from T1 to T2.

Table 4 – Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) based on clinical evolution from T1 to T2 in the GNTP group.

Table 5 – Comparison of biomarker concentration (pg/ml) based on clinical evolution from T1 to T2 in the GTP group.

Table 6 - Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) in the individuals in the GTP group with healthy implants diagnosed at T2.

Table 1. Sample characteristics

Variants	Baseline exam (T1)			Final exam (T2)		
	GNTP <i>n</i> = 41	GTP <i>n</i> = 39	<i>p</i>	GNTP <i>n</i> = 41	GTP <i>n</i> = 39	<i>p</i>
Gender						
Male	22 (53.7%)	24 (61.5%)	0.476	22 (53.7%)	24 (61.5%)	0.476
Female	19 (46.3%)	15 (38.5%)		19 (46.3%)	15 (38.5%)	
Age (years)**	46.3 ± 10	42.7 ± 13	0.171	51.4 ± 10.5	48 ± 13	0.195
Diabetes*						
Yes	6 (14.6%)	5 (12.8%)	0.814	6 (14.6%)	7 (17.9%)	0.688
No	35 (85.4%)	34 (87.2%)		35 (85.4%)	32 (82.1%)	
N° Teeth**						
	849	805	0.927	846	797	0.794
	20.6 ± 6.2	20.6 ± 7		20.6 ± 6.2	20.3 ± 6.9	
Mean Tooth loss **	2.9 ± 3.9	3.0 ± 5.6	0.283	2.9 ± 3.9	4.3 ± 4.8	0.607
Implants**						
	183	157	0.143	180	156	0.419
	4.4 ± 3.8	3.9 ± 2.1		4.4 ± 3.8	4.5 ± 3.1	
	21.3 ± 7.1	24.7 ± 17.4	0.454	80.5 ± 9	77.4 ± 12.5	0.457
Definitive prosthesis (months)**						
Plaque index	1,6 ± 0,6	1,4 ± 0,6	0,176	1,9 ± 0,5	1,4 ± 0,7	0,001
Periodontal diagnose						
Healthy	32 (78.0%)	29 (74.4%)	0.698	24 (58,5%)	28 (71,8%)	0.214
PE	9 (22.0%)	10 (25.6%)		17 (41,5%)	11 (28,2%)	
Peri-implant diagnose¥						
Healthy	0	0	NA	0 (0.0%)	12 (30.7%)	0,000
MP	41	39	NA	23 (56.0%)	20 (51.2%)	
PI	0	0	NA	18 (43.9%)	7 (18%)	

GNTP: group without periodontal / peri-implant preventive maintenance; GTP: group with periodontal / peri-implant preventive maintenance. PE: periodontitis; MP: mucositis; PI: peri-implantitis; NA, not applicable. **n* (%): Chi-square test; ¥ Fisher exact test; **mean ± standard deviation; means compared by Mann–Whitney U-test.

Table 2. Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) in GNTP and GTP groups related to clinical diagnose at T2

	GNTP		P	GTP		p	TOTAL SAMPLE		
	MP	PI		MP	PI		MP	PI	p
	Mean (SD)	Mean (SD)		Mean (SD)	Mean (SD)		Mean (SD)	Mean (SD)	
IL-1	22,63 (24.72)	19.59 (22.32)	0.729	20.13 (26.30)	102.80 (217.71)	0.240	21.47 (25.19)	42.68 (116.50)	0.727
IL-10	0.004 (0.012)	0.008 (0.02)	0.669	0.004 (0.009)	0.004 (0.009)	0.766	0.004 (0.01)	0.007 (0.01)	0.612
TNF	0.002 (0.01)	0.01 (0.02)	0.033	-	0.002 (0.005)	-	0.001 (0.007)	0.01 (0.02)	0.005
TGF	0.001 (0.004)	0.005 (0.01)	0.920	0.01 (0.01)	0.02 (0.03)	0.978	0.005 (0.01)	0.01 (0.02)	0.612
MMP-2	0.02 (0.03)	0.05 (0.12)	0.446	0.007 (0.005)	0.007 (0.005)	0.725	0.01 (0.02)	0.04 (0.10)	0.312
RANK	0.03 (0.01)	0.03 (0.001)	0.074	0.002 (0.005)	-	-	0.02 (0.02)	0.02 (0.01)	0.901
OPG	0.03 (0.04)	0.02 (0.02)	0.386	0.008 (0.00)	0.006 (0.004)	0.766	0.02 (0.03)	0.01 (0.02)	0.990

GNTP: group without periodontal / peri-implant maintenance; GTP: group with periodontal / peri-implant maintenance. IL: Interleukin; MP: mucositis; PI: peri-implantitis; TGF: transforming growth factor; TNF: tumor necrosis factor alpha; MMP: metalloproteinase; SD standard deviation; means compared by Mann–Whitney U-test.

Table 3. Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) based on clinical evolution from T1 to T2

	Mucositis		p	Peri-implantitis		p
	T1 (MP)	T2 (MP)		T1 (MP)	T2 (PI)	
	Mean (SD)	Mean (SD)		Mean (SD)	Mean (SD)	
IL-1	17.79 (25.02)	21.47 (25.19)	0.217	21.46 (23.33)	42.68 (116.50)	0.506
IL-10	0.004 (0.01)	0.004 (0.01)	0.678	0.008 (0.01)	0.007 (0.01)	0.866
TNF	-	0.001 (0.007)	-	0.01 (0.02)	0.01 (0.02)	0.999
TGF	0.009 (0.02)	0.005 (0.01)	0.661	0.005 (0.009)	0.01 (0.02)	0.386
MMP-2	0.01 (0.01)	0.01 (0.02)	0.673	0.02 (0.03)	0.04 (0.10)	0.677
RANK	0.02 (0.01)	0.02 (0.02)	0.554	0.02 (0.01)	0.02 (0.01)	0.357
OPG	0.02 (0.05)	0.02 (0.03)	0.058	0.02 (0.02)	0.01 (0.02)	0.904

GNTM: group without periodontal / peri-implant maintenance; GTP: group with periodontal / peri-implant maintenance. IL: Interleukin; MP: mucositis; PI: peri-implantitis; TGF: transforming growth factor; TNF: tumor necrosis factor alpha; MMP: metalloproteinase; SD standard deviation; Wilcoxon test

Table 4. Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) based on clinical evolution from T1 to T2 in the GNTP group

	Mucositis			Peri-implantitis		
	T1 (MP)	T2 (MP)	p	T1 (MP)	T2 (PI)	p
	Mean (SD)	Mean (SD)		Mean (SD)	Mean (SD)	
IL-1	18.30 (28.67)	22.63 (24.72)	0.266	19.15 (25.53)	19.59 (22.32)	0.999
IL-10	0.005 (0.01)	0.004 (0.01)	0.715	0.009 (0.02)	0.008 (0.02)	0.715
TNF	-	0.002 (0.01)	-	0.017 (0.02)	0.01 (0.02)	0.753
TGF	0.001 (0.001)	0.001 (0.004)	0.500	0.002 (0.001)	0.005 (0.001)	0.109
MMP-2	0.019 (0.017)	0.027 (0.034)	0.274	0.03 (0.04)	0.05 (0.12)	0.983
RANK	0.037 (0.006)	0.038 (0.01)	0.927	0.03 (0.008)	0.03 (0.09)	0.879
OPG	0.045 (0.06)	0.032 (0.04)	0.121	0.02 (0.03)	0.02 (0.02)	0.913

GNTP: group without periodontal / peri-implant maintenance; GTP: group with periodontal / peri-implant maintenance. IL: Interleukin; MP: mucositis; PI: peri-implantitis; TGF: transforming growth factor; TNF: tumor necrosis factor alpha; MMP: metalloproteinase; SD standard deviation; Wilcoxon test

Table 5. Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) based on clinical evolution from T1 to T2 in the GTP group

	Mucositis			Peri-implantitis		
	T1 (MP)	T2 (MP)	p	T1 (MP)	T2(PI)	p
	Mean (SD))	Mean (SD)		Mean (SD)	Mean (SD)	
IL1	17.21 (20.76)	20.13 (26.30)	0.730	27.42 (16.51)	102.08 (217.17)	0.310
IL-10	0.003 (0.008)	0.004 (0.009)	0.345	0.004 (0.008)	0.004 (0.009)	0.999
TNF	-	-	-	-	0.002 (0.005)	0.317
TGF	0.02 (0.03)	0.01 (0.01)	0.463	0.018 (0.008)	0.023 (0.03)	0.866
MMP-2	0.009 (0.007)	0.007 (0.005)	0.411	0.004 (0.002)	0.007 (0.005)	0.310
RANK	0.004 (0.009)	0.002 (0.005)	0.345	0.006 (0.009)	-	0.109
OPG	0.012 (0.012)	0.008 (0.009)	0.267	0.004 (0.003)	0.006 (0.004)	0.866

GNTp: group without periodontal / peri-implant maintenance; GTP: group with periodontal / peri-implant maintenance. IL: Interleukin; MP: mucositis; PI: peri-implantitis; TGF: transforming growth factor; TNF: tumor necrosis factor alpha; MMP: metalloproteinase; SD standard deviation; Wilcoxon test.

Table 6. Comparison of biomarker concentrations (pg/ml) in the individuals in the GTP groups with healthy implants diagnosed at T2

	MP(T1)	Healthy(T2)	PI	
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	p*
IL1	25.72 (12.13)	17.75 (31.18)	138.95 (298.44)	0.171
IL10	12.13 (24.95)	5.09 (17.63)	30.14 (58.47)	0.543
TNF	-	-	12.53 (33.15)	-
TGF	71.06 (68.33)	96.19 (111.16)	148.82 (222.61)	0.911
MMP2	254.45 (339.19)	234.99 (91.66)	245.65 (147.79)	0.369
RANK	13.62 (33.61)	6.88 (23.85)	-	0.513
OPG	179.18 (205.95)	183.78 (184.44)	268.03 (140.03)	0.234

GNTp: group without periodontal / peri-implant maintenance; GTP: group with periodontal / peri-implant maintenance. IL: Interleukin; MP: mucositis; PI: peri-implantitis; TGF: transforming growth factor; TNF: tumor necrosis factor alpha; MMP: metalloproteinase; SD standard deviation; means compared by Mann–Whitney U-test.

5.2 ARTIGO 2

REVISÃO SISTEMÁTICA: Os níveis dos biomarcadores salivares podem distinguir implantes saudáveis dos implantes com doença peri-implantar?

Resumo:

Introdução e objetivo: Já é reconhecido que os sinais e sintomas da doença peri-implantar tem sido mal interpretados ou negligenciados na prática clínica diária. Assim existe a necessidade de se aperfeiçoar as ferramentas de diagnóstico e prognóstico na implantodontia. Neste sentido essa revisão sistemática tem o objetivo de responder a seguinte questão focal: os níveis de biomarcadores salivares podem distinguir implantes saudáveis de implantes com doença peri-implantar ?

Materiais e métodos:

Foi realizada uma busca no banco de dados eletrônico Pubmed / MEDLINE, Web of Science, Biblioteca Cochrane, OVID e Scielo. Os artigos e resumos identificados foram considerados relevantes se comparassem os níveis de citocinas na saliva de indivíduos com implantes saudáveis aos níveis salivares dos indivíduos com peri-implantite não tratada.

Resultados:

Níveis salivares mais baixos de interleucina 1 β foram encontrados em implantes saudáveis do que em implantes inflamados. Uma correlação significativamente positiva foi encontrada entre os níveis salivares de interleucina 6 e as condições inflamatórias peri-implantares. As concentrações salivares de antioxidantes totais, urato e ascorbato foram maiores em implantes saudáveis do que em implantes inflamados. Os dados extraídos dos estudos avaliados nesta revisão revelaram heterogeneidade em relação aos parâmetros clínicos avaliados, restauração definitiva sobre implante, perda óssea e definições de doenças peri-implantares.

Conclusões

Não há uma evidência forte que os biomarcadores salivares poderiam ajudar a distinguir os implantes saudáveis daqueles com doença periimplantar.

PALAVRAS-CHAVE: quimiocinas; citocinas; implantes dentários; peri-implantite; mucosite; saliva

SYSTEMATIC REVIEW: Could biomarker levels in the saliva help to distinguish between healthy implants and implants with peri-implantar disease?

Abstract

Background:

It is recognized that the signs and symptoms of peri-implant diseases have been misunderstood or neglected in clinical practice. Thus, there is a need for additional diagnostic and prognostic tools in implantology.

Purpose:

Could biomarker levels in the saliva help to distinguish between healthy implants and implants with peri-implant disease?

Materials and Methods:

An electronic database search of Pubmed/MEDLINE, Web of Science, the Cochrane Library, OVID and Scielo was performed. The articles and abstracts identified were considered relevant if they compared cytokine levels in saliva from patients with healthy implants to those in saliva from patients with untreated peri-implantitis.

Results:

Lower salivary levels of interleukin 1 β were found in healthy implants than in inflamed implants. A significantly positive correlation was found between the salivary levels of IL-6 and peri-implant inflammatory conditions. The salivary concentrations of total antioxidants, urate and ascorbate were higher in healthy implants than in inflamed implants. The data extracted from the studies evaluated in this review revealed heterogeneity in relation to the clinical parameters assessed, implant restoration, bone loss and peri-implant disease definitions.

Conclusions:

No strong evidence was identified to indicate that salivary biomarkers could help to distinguish between healthy implants and those with peri-implant disease.

KEY WORDS: chemokines; cytokines; dental implants; peri-implantitis; mucositis; saliva

1 INTRODUCTION

Recently published research has described the prevalence of peri-implantitis (PI) in approximately 12% to 37% of patients (Casado, Villas-Boas, Mello, Duarte & Granjeiro, 2013; Marrone, Lasserre, Bercy & Brecx, 2013; Ramanauskaite & Juodzbaly, 2016). This prevalence variation can be explained by methodology, case definition, study design and population size with different risk profiles (Smeets, Henningsen, Jung, Heiland, Hammächer & Stein, 2014).

In clinical practice, the most frequently used tools to diagnose mucositis (MP) and PI are the combination of probing depth (PD), radiograph, bleeding, mobility, suppuration and bone loss (Heitz-Mayfield, 2008). However, the direction of probing, prosthetic overlaps and tissue biotypes can influence the precision of clinical tools (Merli, Bernardelli, Giulianelli, Toselli, Moscatelli, Pagliaro & Nieri, 2014). Because it is difficult to interpret the patient's symptoms, the signs of PI could be misunderstood or neglected by clinicians. The challenge is to obtain the most accurate data to minimize possible mistakes on a patient's evaluation. Despite all efforts to minimize the misinterpreted data, there is a need for new diagnosis and prognosis tools in implantology (Javaid, Ahmed, Durand & Tran, 2016).

A non-invasive method to obtain additional information regarding patient evaluation has already been described in the literature (Miller, 1994; Slavkin, 1998). The saliva is a useful fluid that carries considerable information about an individual's status, and oral health can be used as a source of investigation (Sánchez, Miozza, Delgado & Busch, 2014). Using salivary biomarkers, it is possible to identify a more robust diagnosis to prevent tissue breakdown in peri-implant disease (PID) (Jaedicke, Preshaw & Taylor, 2016). The advantages of salivary testing include helping in the diagnosis and surveillance of disease, as well as with the prognosis and research. Similar to blood, saliva is a complex fluid that contains a variety of hormones, antibodies, antimicrobial constituents and growth factors, many of which arrive in the saliva from the blood by passing through the spaces between the cells by transcellular and paracellular routes (Aguirre, Testa-Weintraub, Banderas, Haraszthy, Reddy & Levine, 1993). Moreover, saliva has benefits compared with other peri-implant fluids because of its low cost, easy collection and handling, and availability in large quantities (Javaid et al., 2016).

The objective of this systematic review of the literature was to examine data comparing salivary biomarker levels from healthy implants with those from PID implants.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 FOCUSED QUESTION

Could the biomarker levels in saliva help distinguish between healthy implants and implants with peri-implant disease?

2.2 PROTOCOL

The present systematic review was performed based on the PRISMA statement guidelines (Jaedicke et al., 2016) and Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions (Higgins & Green, 2011). The protocol for this systematic review is registered in Prospero with the number CRD42017056940.

2.3 SEARCH STRATEGY

This review includes articles through literature searching in accordance with the PRISMA statement. An electronic database search of Pubmed/MEDLINE, Web of Science, Cochrane Library electronic, OVID and Scielo were performed. Studies dating from the inception of the respective databases through December 2017 were selected using MeSH terms and other combination to identify articles that compared the cytokines levels in saliva from patients with healthy implants with those with untreated PI.

The following terms were used: ((peri-implant disease OR periimplant disease OR peri-implantitis OR periimplantitis OR peri-implant infection OR periimplant infection OR dental implant" were combined with the terms AND "cytokine OR interleukin OR IL OR biomarker OR RANKL OR chemokine OR tumor necrosis factor OR TNF OR interferon OR transforming growth factor OR TGF OR osteoprotegerin OR OPG OR RANK OR matrix metalloproteinase OR MMP OR saliva"))).

The keywords employed were searched in Health Sciences Descriptors (DeCs) and Medical Subject Headings (Mesh). No language restriction was applied in this search. The articles and abstracts identified were considered relevant if the cytokine

levels in saliva from patients with healthy implants were compared with those from patients with untreated PID.

A manual search of dental implant-related journals was performed. To identify the relevant journals to be hand searched, the Cochrane Worldwide Handsearching Programme (<http://us.cochrane.org/master-list>) was checked. This handsearching included the following journals: *Periodontology 2000*; *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*; *Clinical Implant Dentistry and Related Research*; *Journal of Periodontology and Implant Dentistry*; *Journal of Periodontal and Implant Science*; *Clinical Oral Implants Research*; *Journal of Periodontology and Implant Research*; *Journal of Periodontology*; *European Journal of Oral Implantology*; *Implant Dentistry*; *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*; *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*; *International Journal of Oral and Maxillofacial implants*; *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*; *Journal of Clinical Periodontology*; *Dental press implantology*; *Journal of Dental Research*; *Journal of Oral Implantology*; *Oral and implantology*.

The authors screened all titles resulting from the searches according to the eligibility criteria mentioned below. Studies dating from the inception of the respective databases through December 2017 were selected. The selection of articles was based on analysis of the title and abstract from studies regarding the eligibility criteria. The full text of papers considered pertinent for this review were read.

2.4 INCLUSION CRITERIA

Only studies comparing, by statistical methods, the salivary biomarkers levels in the whole saliva from patients with healthy implants and those with untreated MP or untreated PI.

2.4.1 PARTICIPANTS: They were aged 18 years or older with osseointegrated implant(s).

2.4.2 DISEASE STATUS: Participants should have either healthy implants or PID implants.

2.5 EXCLUSION CRITERIA

Studies that evaluated biomarkers in tissue, serum or implant fluid sulcus only.

All the corresponding authors of the included articles were contacted by e-mail to identify and obtain data from any unpublished or ongoing studies. The references contained in all studies, including systematic reviews, were checked for additional data.

2.6 OUTCOMES

The primary outcome was to distinguish healthy implants from implants with PID by the analysis of salivary biomarkers. The secondary outcome included distinguishing MP implants from PI implants by analysis of salivary biomarkers.

2.7 REVIEW METHOD AND DATA EXTRACTION

First, two independent reviewers (AG and DWD de O) screened titles and abstracts derived from the electronic search and assessed the papers based on the inclusion criteria mentioned above. Each of these authors made a list of all preselected articles for full-text reading. The lists were compared, and in the case of disagreements, if a study could be suitable to be included in this review, decisions were made after discussion with a third author (FOC) based on the inclusion and exclusion criteria. All articles were read by all reviewers. Second, the authors (AG and DWD de O) independently revised the bibliography of all selected studies for any additional references not included previously. Again, in the case of disagreement, new lists were made by each author, compared and discussed with the third reviewer author (FOC) to determine its inclusion in the study. This procedure was applied at all steps, and the reviewers were previously trained for each database.

3 RESULTS

The electronic search provided 1,876 potential publications after eliminating duplicates. Based on inclusion and exclusion criteria, only 3 articles were suitable. The 1,873 articles that did not fit the inclusion criteria were excluded. A manual search provided 7 additional articles. The flow chart selection of papers represented by 10 articles that were included for full-text reading is represented by Figure 1. Four manuscripts were excluded for many reasons, as described in table 1 (Abduljabbar, Al-Sahaly, Kellesarian, Kellesarian, Al-Anazi, Al-Khathami, Javed & Vohra ,2016; Acharya, Koh, Kheur, Watt, Jin & Mattheos, 2016; Pigossi, Alvim-Pereira, Alvim-Pereira, Trevilatto, Scarel &Caminaga, 2014; Tatarakis, Kinney, Inglehart, Braun, Shelburne, Lang, Giannobile & Oh, 2014).

3.1 CHARACTERISTICS OF SELECTED STUDIES

The characteristics of the studied population such as age, genre and country were shown in most of the studies. The mean age ranged from 62.5 years to 75.26 years. One study (Rocha, Jesus, Rocha, Moura & Zanetta-Barbosa, 2014) did not mention the participant's age in the study. All the selected articles for full-text reading were cross-sectional studies. In total, 122 individuals were evaluated in this systematic review. All individuals were selected at dental clinics or universities. One of the studies reported that patients were screened from a university programme based on dental implant maintenance (Liskmann, Vihalemm, Salum, Zilmer, Fischer & Zilmer, 2006).

The participants of six pre-selected studies had received no antibiotics and/or anti-inflammatory and/or immunosuppressive agents at least 3 months prior to the initial clinical evaluation. Two authors (Liskmann et al., 2006; Sánchez-Siles, Lucas-Azorin, Salazar-Sánchez, Carbonell-Meseguer & Camacho-Alonso, 2016) considered smokers in the sample screening. None of the articles included patients with periodontal disease. All studies analysed salivary biomarkers in healthy and unhealthy implants from different patients.

Only one study did not show the implant's brand and, regarding prosthesis types, it was unclear about the final restoration on implants (Severino, Beghini, de Araújo, de Melo, Miguel, Rodrigues & de Lima, 2016). Most of the studies analysed mandibular implants supporting overdentures, except three (Rocha et al., 2014; Sánchez-Siles et al., 2016; Severino et al., 2016). Most of the studies collected clinical data and saliva samples in patients who received final restoration after at least 6 months. Unclear information regarding definitive restoration time was observed in one article (Liskmann, Vihalemm, Salum, Zilmer, Fischer & Zilmer, 2007).

3.2 SAMPLE DEFINITIONS

Three studies grouped implants according to the MP and PI diagnosis and called them inflamed implants (Rocha et al., 2014; Liskmann et al., 2006; Severino et al., 2016). Those studies were included in the final analysis because the main objective of this systematic review was to distinguish healthy implants from PID. Periapical radiographs were used to confirm bone loss in PI in three studies (Rocha et al., 2014; Sánchez-Siles et al., 2016; Severino et al., 2016), while panoramic radiographs were used in another study (Fonseca, Moraes Junior, Lourenço, Teles & Figueredo, 2014). Two articles (Liskmann et al., 2006; Liskmann et al., 2007) considered only clinical

signs of PI to identify this pathology and did not perform radiography to visualize implant bone loss. The PI case definition in all studies was based on mucosal inflammation around implants plus increased PD. One study considered PD more than or equal to 3 mm to define PI (Severino et al., 2016), and remaining selected full-text studies considered PD more than or equal to 4 mm to define PI. For the MP definition, all articles considered marginal bleeding and a PD less than or equal to 3 mm without bone loss apart from one (Sánchez-Siles et al., 2016) whose study did not include MP implants in the sample. The implants were considered healthy by all authors when the PD was not greater than 3 mm with the absence of marginal bleeding. The reported mean PD from healthy implants ranged from 1.5 ± 0.48 mm to 2.63 ± 2.1 mm and 3.82 ± 0.38 mm to 5.5 ± 0.8 mm for implants with PI. One study (Liskmann et al., 2006) did not clarify the PD mean results.

3.3 SALIVA SAMPLES

All studies collected unstimulated saliva, except one (Liskmann et al., 2007) that collected both unstimulated and stimulated saliva. Only one study (Severino et al., 2016) obtained saliva samples derived from the parotid gland; the other authors collected whole saliva. All studies included in this systematic review used commercial immunoenzymatic assay (ELISA) kits for the cytokine assessment. According to the selected studies, 19 salivary biomarkers were compared at least once between the saliva of healthy implants and unhealthy implants [IL-17, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-33, interferon gamma (IFN- γ), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), malondialdehyde (MDA), urate, ascorbate, myeloperoxidase (MPO) and total antioxidant status of saliva].

3.4 SALIVARY BIOMARKERS

Two studies (Severino et al., 2016; Liskmann et al., 2007) evaluated 4 biomarkers, one study (Fonseca et al., 2014) measured 12 cytokines, one study (Liskmann et al., 2006) evaluated 2 cytokines, and another (Rocha et al., 2014) evaluated only one cytokine. One study could not identify differences between healthy implants and MP or PI implants through saliva concentration analysis of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-33 (Severino et al., 2016). The IL-1 β salivary concentration was used in two studies (Rocha et al., 2014; Fonseca et al., 2014). One study (24) did not demonstrate differences between the salivary concentrations of IL-1 β in MP and PI implants. Conversely, another author (19) showed that in healthy implants, the IL-1 β salivary concentration was lower than that in inflamed implants. The salivary concentration of

IL-6 was evaluated in 3 studies (Liskmann et al., 2006, Severino et al., 2016; Liskmann et al., 2007), and only one (Liskmann et al., 2006) associated the IL-6 to worse peri-implant clinical conditions. One study (Liskmann et al., 2007) found higher salivary concentrations of the total antioxidant status, urate and ascorbate from healthy implants than those from inflamed implants.

The salivary levels of IL-17, IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-33, IFN- γ , malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO) and TNF- α could not distinguish PID from healthy implants in any of the studies selected for full-text reading.

Due to significant methodological differences in the included studies, a meta-analysis could not be performed. Instead, a descriptive systematic review was performed. The primary characteristics of the articles are described in table 2 and 3.

The data extracted from the studies evaluated in the present review revealed heterogeneity related to the clinical parameters assessed, implant restoration, bone loss and PID definitions; therefore, the studies seem to show methodological distinction. Thus, it was not possible to establish a quantitative synthesis of the data, thereby rendering meta-analysis impossible.

DISCUSSION

Peri-implantitis can result in bone loss around the implant and eventual loss of the implant (Sasada & Cochran, 2017). Therefore, to prevent PI, it is essential to establish an early diagnosis and proper treatment of PID (Ata-Ali, Flichy-Fernández, Alegre-Domingo, Ata-Ali, Palacio & Peñarrocha-Diago, 2015).

PID DEFINITIONS

Regarding the current knowledge on definitions of PID, (Sarmiento, Norton & Fiorellini, 2016) its proper diagnosis is relevant to the prognosis, treatment and maintenance of dental implants. Different diagnosis criteria for PID were observed in all studies selected for full-text reading. Several articles (Liskmann et al., 2006; Liskmann et al., 2007) grouped MP and PI implants as inflamed implants, and the diagnostic tools used for the diagnosis were PD and bleeding on probing without a radiograph. According to the Seventh European Workshop of Periodontics (Lang & Berglundh, 2011), as well as other studies (Padiál-Molina, Suarez, Rios, Galindo-

Moreno & Wang, 2014, Correa, Spin-Neto, Stavropoulos, Schropp, da Silveira & Wenzel, 2014), when changes in the clinical parameters indicate PID (e.g., increased BOP and increased PD), the clinician is encouraged to perform radiography to evaluate possible implant bone loss. The absence of radiographs to measure bone loss, especially in cases of PI diagnoses, could lead to measurement errors (Tonetti, Eickholz, Loos, Papapanou, van der Velden, Armitage, Bouchard, Deinzer, Dietrich, Hughes, Kocher, Lang, Lopez, Needleman, Newton, Nibali, Pretzl, Ramseier, Sanz-Sanchez, Schlagenhauf & Suvan, 2015), and it was demonstrated that a radiograph must be performed to confirm implant bone loss and the PI diagnosis. Two studies (Liskmann et al., 2006, Liskmann et al., 2007) in this review did not perform radiography to diagnose PID, and they were considered to show a high risk of bias. Therefore, the results of these two studies should be interpreted with caution because the risk of bias selection for MP and PI implants.

Most studies included in this review classified implants as healthy, MP or PI based on PD described in mm. The actual literature already highlights that implants should be classified based on the severity of PID (Ramanauskaite et al., 2016; Ata-Ali, Ata-Ali & Bagan, 2015).

A classification to distinguish implants with a higher number of inflammatory cytokines and implants with less inflammatory conditions based on clinical parameters is crucial to verify the prevalence of PID and extent of the pathology and prognosis (Froum & Rosen, 2012). Unfortunately, most of the selected studies did not make this distinction for unhealthy implants. Therefore, in most articles, there is a lack of information regarding whether the inflammatory biomarkers in saliva were related to clinical parameters, such as PD, clinical attachment loss, and bleeding on probing. This is a vital point due to a strong link between saliva biomarker levels and the severity and extension of inflammatory disease (Dursun & Tözüm, 2016). Consequently, almost all study data included in this systematic review should be carefully interpreted because the implants grouped with the same diagnosis could be clinically and immunologically distinct. Only two studies classified the PI implants as shallow, moderate or severe (Rocha et al., 2014; Fonseca et al., 2014).

CYTOKINE ANALYSIS

This review systematically compiled data from 6 studies matched in focused questions and laboratorial methodologies that compared the biomarker levels in saliva between healthy implants and implants with PI. Nineteen different types of

salivary biomarkers (IL-17, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-33, IFN- γ , TNF- α , urate, malondialdehyde, ascorbate, MPO and the total antioxidant status of saliva) were analysed under different clinical peri-implant conditions in these 6 studies. Proinflammatory cytokines (i.e., IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-17 and TNF- α) were studied most commonly, followed by anti-inflammatory cytokines (i.e., IL-4 and IL-10), osteoclastogenesis-related cytokines (RANK, RANK-L and OPG), antioxidation protein products (urate, malondialdehyde, ascorbate, MPO and total antioxidant status) and chemokines (IL-8).

IL-1 β plays an important role in PID because it regulates the degradation of extracellular matrix components of the plasminogen system and collagenase activity in inflammation and wound healing (Casado, Canullo, de Almeida, Granjeiro, Barboza & Duarte, 2013). Of the 3 studies that investigated the salivary IL-1 β levels, 2 showed statistically significant differences between the healthy and unhealthy groups (Liskmann et al., 2006; Severino et al., 2016). The IL-1 β level was associated with increased probing depth in PI (Rocha et al., 2014) and higher salivary concentration in PI than in MP (Fonseca et al., 2014). Therefore, these studies should be interpreted with caution because there is a high risk of bias: in the same group, both authors gathered individuals with full arch prostheses and with partial restorations. The full-arch fixed restoration is more likely biofilm retention and, consequently, inflamed surrounding implant tissue than partial restoration (Busscher, Rinastiti, Siswomihardjo & van der Mei, 2010). Thus, the clinical aspects of implants could be overestimated. For the reasons listed above, this finding could not clarify whether IL-1 β can serve as a predictable marker of peri-implant inflammation.

High levels of salivary IL-8 in MP implants was found compared with those of salivary levels from healthy implants (Fonseca et al., 2014). It is important to clarify that this difference was found only in saliva collected from the parotid duct, not from the total saliva sample. The literature shows a higher concentration of IL-8 in healthy implants than in PI implants only in the peri implant sulcus fluid (Derks & Tomasi, 2015). The literature already demonstrated higher concentrations of IL-1 β , IL-6, and IL-10 when collected from the peri-implant sulcus fluid (Duarte, de Mendonça, Máximo, Santos, Bastos & Nociti Júnior, 2009; Konttinen, Lappalainen, Laine, Kitti, Santavirta & Teronen, 2006), but the concentration levels of these biomarkers in the saliva remain unknown. In this review, 4 studies demonstrated that the salivary levels of IL-1 β , IL-6, and IL-10 were higher in individuals with PID than in those with healthy implants

(Rocha et al., 2014, Liskmann et al., 2006; Liskmann et al., 2007; Fonseca et al., 2014).

Although IL is the most abundant cytokine in studies of implant saliva analyses, the levels of other biomarkers and enzymes could be evaluated to reflect the inflammatory condition. MPO, an antimicrobial leukocyte-derived enzyme that is found in high concentrations in the primary granules of leukocytes and catalyses the formation of several reactive oxidant species, was reported to be increased in infectious peri-implant diseases (Duarte et al., 2009; Darabi, Kadkhod & Amirzargar, 2013). One study found differences in the salivary concentrations of MDA and MPO between healthy implants and implants with PI. Therefore, the variation was not statically significant (Sánchez-Siles et al., 2016). In fact, high concentrations of MDA and MPO in PID were demonstrated in the literature, when measured in the peri-implant sulcus or gingival sulcus fluid; however, in the saliva, this difference was not proven (Darabi, Kadkhoda, Amirzargar, 2013; Durrani & Singh, 2015). The evidence is weak to use these biomarkers to distinguish between healthy and PID implants.

It is important to note that two studies (Liskmann et al., 2006; Liskmann et al., 2007) reported on the same population regarding the outcomes investigated in this review. The only difference between these clinical trials is that one (Liskmann et al., 2006) published data on saliva from 30 individuals with implant-supported overdentures and compared the levels of IL-6 and IL-10 of healthy and PID implants, and the other (Liskmann et al., 2007) investigated saliva from 30 individuals with implant-supported overdentures and compared the levels of urate, ascorbate, myeloperoxidase in saliva and total antioxidant status of saliva in healthy and PID implants.

RECOMMENDATIONS FOR FUTURE STUDIES

For future investigations, the criteria of subject selection should be standardized to the PI diagnosis, PI categorization by extension and severity, as well as implant characteristics (anatomical area, implant size length and final restoration) and detection limits of the assay. If future studies follow these criteria, it will be easier to compare different populations and the probability will be higher to determine biomarkers that can distinguish between healthy implants and PI implants.

A protocol was employed to guide the search strategy, study selection and data collection. However, the present systematic review may have several limitations, such as absence of meta-analysis and non-inclusion of the EMBASE database due to methodological and logistical reasons.

CONCLUSIONS

Based on the studies included in this review, there is no strong evidence to conclude that salivary biomarkers could help to distinguish between healthy implants and PI implants. Adequately randomized clinical trials are needed to identify a promising salivary biomarker. Additionally, the results of the present systematic review must be viewed with caution because many of the studies in this review had a high risk of bias, and two articles arose be the same research.

Financial support

There is no financial support to declare.

Conflict of interest

There is no conflict of interest to declare.

REFERENCES

- Abduljabbar, T., Al-Sahaly, F., Kellesarian, S.V., Kellesarian, T.V., Al-Anazi, M., Al-Khathami, M., Javed, F., Vohra, F. (2016). Comparison of peri-implant clinical and radiographic inflammatory parameters and whole salivary destructive inflammatory cytokine profile among obese and non-obese men. *Cytokine*, 88, 51-56.
- Acharya, A., Koh, M.L., Kheur, S., Watt, R.M., Jin, L., Mattheos, N. (2016). Salivary IL-1 β and red complex bacteria as predictors of the inflammatory status in sub-peri-implant niches of subjects with peri-implant mucositis. *Clin Oral Implants Res*, 27, 662-7.
- Aguirre, A., Testa-Weintraub, L.A., Banderas, J.A., Haraszthy, G.G., Reddy, M.S., Levine, M.J. (1993). Sialochemistry: a diagnostic tool? *Crit Rev Oral Biol Med*, 4, 343-350.
- Ata-Ali, J., Flichy-Fernández, A.J., Alegre-Domingo, T., Ata-Ali, F., Palacio, J., Peñarrocha-Diago, M. (2015). Clinical, microbiological, and immunological aspects of healthy versus peri-implantitis tissue in full arch reconstruction patients: a prospective cross-sectional study. *BMC Oral Health*, 1, 15-43.
- Ata-Ali, J., Ata-Ali, F., Bagan, L. (2015). A Classification Proposal for Peri-Implant Mucositis and Peri-Implantitis: A Critical Update. *Open Dent J*, 11, 393-395.
- Busscher, H.J., Rinastiti, M., Siswomihardjo, W., van der Mei, H.C. (2010) Biofilm formation on dental restorative and implant materials. *J Dent Res*, 89, 657-665.

Casado, P.L., Villas-Boas, R., de Mello, W., Duarte, M.E., Granjeiro, J.M.(2013). Peri-implant disease and chronic periodontitis: is interleukin-6 gene promoter polymorphism the common risk factor in a Brazilian population? *Int J Oral Maxillofac Implants*, 28, 35-43.

Casado, P.L., Canullo, L., de Almeida, Filardy, A., Granjeiro, J.M., Barboza, E.P., Leite, Duarte, M.E. (2013). Interleukins 1 β and 10 expressions in the periimplant crevicular fluid from patients with untreated periimplant disease. *Implant Den*, 22, 143-150.

Correa, L.R., Spin-Neto, R., Stavropoulos, A., Schropp, L., da Silveira, H.E., Wenzel, A. (2014). Planning of dental implant size with digital panoramic radiographs, CBCT-generated panoramic images, and CBCT cross-sectional images. *Clin Oral Implants Res*, 25, 690-695.

Darabi, E., Kadkhoda, Z., Amirzargar, A. (2013). Comparison of the levels of tumor necrosis factor- α and interleukin-17 in gingival crevicular fluid of patients with peri-implantitis and a control group with healthy implants. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 12, 75-80.

Derks, J., Tomasi, C. (2015). Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *J Clin Periodontol*, 42(Suppl 16)158-171.

Duarte, P.M., de Mendonça, A.C., Máximo, M.B, Santos, V.R., Bastos, M.F., Nociti, F.H. (2009). Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases. *J Periodontol* , 80, 234-243.

Duarte, P.M., de Mendonça, A.C, Máximo, M.B., Santos, V.R., Bastos, M.F., Nociti Júnior, F.H. (2009). Differential cytokine expressions affect the severity of peri-implant disease. *Clin Oral Implants Res*, 20, 514-520.

Durrani, F., Singh, R. (2015). Myeloperoxidase level around dental implants as an indicator of an inflammatory process. *Indian J Dent*, ;6, 2-6.

Fonseca, F.J., Moraes Junior, M., Lourenço, E.J., Teles, D. de M., Figueredo, C.M. (2014). Cytokines expression in saliva and peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant disease. *Clin Oral Implants Res*, 25, e68-72.

Froum, S.J., Rosen, P.S. (2012). A proposed classification for peri-implantitis. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 32, 533-540.

Heitz-Mayfield, L.J. (2008). Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *J Clin Periodontol*, 35(8 Suppl), 292-304.

- Higgins, J.P., Green, S. (2009). Guide to the contents of a Cochrane protocol and review. *Cochrane Handbook for Systematic Review of Interventions*. Chichester, UK: Wiley-Blackwell, 51–78.
- Jaedicke, K.M., Preshaw, P.M., Taylor, J.J. (2016). Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 70, 164-183.
- Javaid, M.A., Ahmed, A.S., Durand, R., Tran, S.D. (2016). Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *J Oral Biol Craniofac Res*, 6, 66-75.
- Konttinen, Y.T., Lappalainen, R., Laine, P., Kitti, U., Santavirta, S., Teronen, O. (2006). Immunohistochemical evaluation of inflammatory mediators in failing implants. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 26, 135-141.
- Lang, N.P., Berglundh, T. (2011). Working Group 4 of Seventh European Workshop on Periodontology. Periimplant diseases: where are we now?--Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol*, 38(Suppl 11), 178-181.
- Liskmann, S., Vihalemm, T., Salum, O., Zilmer, K., Fischer, K., Zilmer, M. (2006). Correlations between clinical parameters and interleukin-6 and interleukin-10 levels in saliva from totally edentulous patients with peri-implant disease. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 21, 543-550.
- Liskmann, S., Vihalemm, T., Salum, O., Zilmer, K., Fischer, K., Zilmer, M. (2007) Characterization of the antioxidant profile of human saliva in peri-implant health and disease. *Clin Oral Implants Res*, 18, 27-33.
- Marrone, A., Lasserre, J., Bercy, P., Brex, M.C. (2013). Prevalence and risk factors for peri-implant disease in Belgian adults. *Clin Oral Implants Res*, 24, 934-940.
- Merli, M., Bernardelli, F., Giulianelli, E., Toselli, I., Moscatelli, M., Pagliaro, U., Nieri, M. (2014). Inter-rater agreement in the diagnosis of mucositis and peri-implantitis. *J Clin Periodontol*, 41, 927-933.
- Miller, S.M. (1994). Saliva testing a nontraditional diagnostic tool. *Clin Lab Sci*, 7, 39-44.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *BMJ*, 21, b2535.
- Padial-Molina, M., Suarez, F., Rios, H.F., Galindo-Moreno, P., Wang, H.L. (2014). Guidelines for the diagnosis and treatment of peri-implant diseases. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 34, 102-111.

- Preshaw, P.M., and Taylor, J.J. (2011). How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *Journal of Clinical Periodontology*, 38, p. 60–84
- Pigossi, S.C., Alvim-Pereira, F., Alvim-Pereira, C.C., Trevilatto, P.C., Scarel-Caminaga, R.M. (2014). Association of interleukin 4 gene polymorphisms with dental implant loss. *Implant Dent*, 23, 723-731.
- Ramanauskaite, A., Juodzbaly, G. (2016). Diagnostic Principles of Peri-Implantitis: a Systematic Review and Guidelines for Peri-Implantitis Diagnosis Proposal. *J Oral Maxillofac Res*, 9, 7- 8.
- Rocha, F.S., Jesus, R.N., Rocha, F.M., Moura, C.C., Zanetta-Barbosa, D. (2014). Saliva versus peri-implant inflammation: quantification of IL-1 β in partially and totally edentulous patients. *J Oral Implantol*, 40, 169-173.
- Sarmiento, H.L., Norton, M.R., Fiorellini, J.P. (2016). A Classification System for Peri-implant Diseases and Conditions. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 36, 699-705.
- Sasada, Y., Cochran, D.L. (2017). Implant-Abutment Connections: A Review of Biologic Consequences and Peri-implantitis Implications. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 32, 1296-1307.
- Sánchez-Siles, M., Lucas-Azorin, J., Salazar-Sánchez, N., Carbonell-Meseguer, L., Camacho-Alonso, F. (2016). Salivary Concentration of Oxidative Stress Biomarkers in a Group of Patients with Peri-Implantitis: A Transversal Study. *Clin Implant Dent Relat Res*, 18, 1015-1022.
- Sánchez, G.A., Miozza, V.A., Delgado, A., Busch, L. (2014). Total salivary nitrates and nitrites in oral health and periodontal disease. *Nitric Oxide*, 30, 31-35.
- Dursun, E., Tözüm, T.F. (2016). Peri-Implant Crevicular Fluid Analysis, Enzymes and Biomarkers: a Systematic Review. *J Oral Maxillofac Res*, 9, 7-9.
- Severino, V.O., Beghini, M., de Araújo, M.F., de Melo, M.L.R., Miguel, C.B., Rodrigues, W.F., de Lima, Pereira. S.A (2016). Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-33 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant mucositis and peri-implantitis. *Arch Oral Biol*, 72, 194-199.
- Slavkin, H.C. (1998). Toward molecularly based diagnostics for the oral cavity. *J Am Dent Assoc*, 129, 1138-1143.

Smeets, R., Henningsen, A., Jung, O., Heiland, M., Hammächer, C., Stein, J.M.(2014). Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis--a review. *Head Face Med*, 3, 10-34.

Tatarakis, N., Kinney, J.S., Inglehart, M., Braun, T.M., Shelburne, C., Lang, N.P., Giannobile, W.V., Oh, T.J. (2014). Clinical, microbiological, and salivary biomarker profiles of dental implant patients with type 2 diabetes. *Clin Oral Implants Res*, 25, 803-812.

Tonetti, M.S., Eickholz, P., Loos, B.G., Papapanou, P., van der Velden, U., Armitage, G., Bouchard, P., Deiner, R., Dietrich, T., Hughes, F., Kocher, T., Lang, N.P., Lopez, R., Needleman, I., Newton, T., Nibali, L., Pretzl, B., Ramseier, C., Sanz-Sanchez, I., Schlegelhauf, U., Suvan, J.E. (2015). Principles in prevention of periodontal diseases: Consensus report of group 1 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J Clin Periodontol*, 42(Suppl 16), 5-11.

Table list

Table 1 – Brief overview of the excluded studies.

Table 2 – Primary characteristics and principal findings of the selected studies.
Healthy, MP and PI implants.

Table 3 – Primary characteristics and principal findings of the selected studies.
Healthy and inflamed implants.

Figure list

FIGURE 1 Flowchart of the selection of the papers.

FIGURE 1 Flowchart of the selection of the papers.

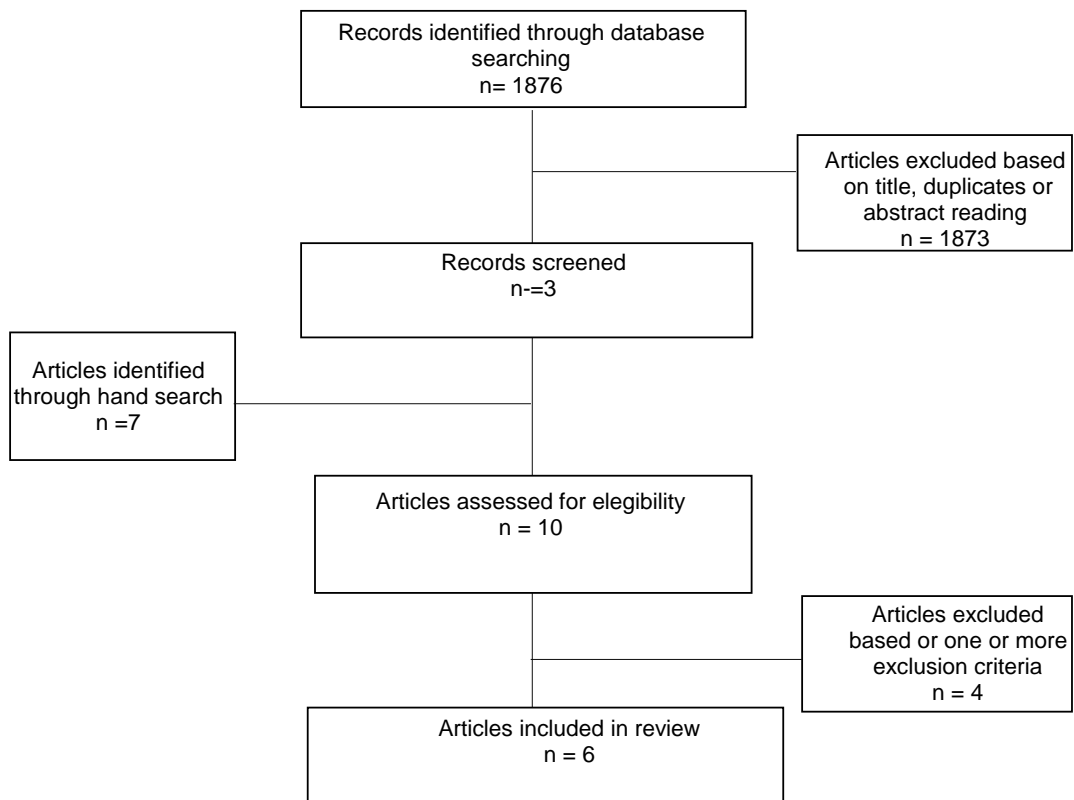


TABLE 1 Brief overview of the excluded studies

Study	Cytokines evaluated	Reason for exclusion
ABDULJABBAR et al., 2016	IL-6 and IL-1 β	This study compare the salivary levels of cytokines in healthy implants with healthy implants from obese or non obese individuals. Peri-implantitis was not present in the study sample.
Acharya et al., 2016	IL-1 β	The study compare the different levels of periodontal susceptibility in individuals with implants affected by MP.
Pigossi et al., 2014	IL-4	The purpose of this study was to investigate the association between interleukin 4 polymorphisms/haplotypes and dental implant loss. Thus, the authors were not concerned with PI.
Tatarakis et al., 2014	IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , INF- γ , CRP, MIP-1a, MIP-1b, MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, osteoprotegerin , adiponectin, and procalcitonin.	This study compare the type 2 diabetes/test group to non-diabetes/control group. All participants had implants in function but without clinical differences among the implants.

TABLE 2 Primary characteristics and principal findings of the selected studies. Healthy, MP and PI implants.

Study	Number of patients		Numbers of implants		Mean probing Depth			Cytokines evaluated	Main results	
	Healthy	MP	PI	Healthy/MP	PI	Healthy	MP			PI
Fonseca et al., 2014	no	12	10	12 MP	10	not present	less or equal 3 mm	more or equal 4 mm	IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IFN- γ , and TNF- α .	The total IL-8 level in saliva from the parotid duct was significantly higher in patients with MP than in those with PI. (P = 0.04).
Sánchez-Siles et al., 2016	30	Not present	30	126 healthy	97	2.92 ± 0.86mm	not present	4.44 ± 0.96mm	MPO and MDA	The total salivary malondialdehyde concentration in the peri-implantitis group was higher than that in the group of healthy patients without implants. The myeloperoxidase concentration was slightly higher in the peri-implantitis group than in the group with healthy implants and the group of implants (without statistically significant differences, p value = 0.584).
Severino et al., 2016	10	10	20	10 healthy 10 MP	20	1.5 ± 0.48mm	3.0 ± 0.45mm	4.3 ± 5.28mm	IL-6, IL-10, IL-17 and IL-33	The peri implant sulcus fluid differed healthy implants from MP and PI implants, but saliva did not differ MP from PI implants.

TABLE 3 Primary characteristics and principal findings of the selected studies. Healthy and inflamed implants.

Study	Number of patients		Number of implants		Mean probing Depth		Cytokines evaluated	Main results
	Healthy	Inflammation	healthy/MP	PI	Healthy	Inflammation		
Liskmann et al., 2006	18	12	36	24	less than or equal 3 mm	more than or equal 4 mm	IL-6 and IL-10	The activities of IL-6 and IL-10 were higher if BOP was present, and the cytokine activity increased with the PD score.
Liskmann et al., 2007	10	6	36	24	less than or equal 3 mm	3.85 (0.38)	urate, ascorbate, MPO, total antioxidant status of saliva	The total antioxidant status of saliva in patients with peri-implant disease was significantly lower than that in healthy controls. Significant differences were observed in both resting and stimulated saliva.
Rocha et al., 2014	5	30	not clear	not clear	less than or equal 3 mm	1.73 ± 0.05 mm to 2.15 ± 0.09 mm	IL-1 β	The healthy groups demonstrated significantly lower levels of IL-1 β compared with the inflammation groups.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo observacional longitudinal demonstrou: (1) um papel benéfico da TMPP em manter longitudinalmente por 5 anos o equilíbrio da condição clínica peri-implantar; (2) O biomarcador salivar TNF- α apresentou maiores níveis em indivíduos que evoluíram do quadro de mucosite peri-implantar para peri-implantite na ausência de manutenção periodontal/peri-implantar; e (3) O biomarcador salivar TNF- α é sugerido como um promissor marcador de progressão da DPi.

Adicionalmente, a revisão sistemática demonstrou que não há evidências sólidas para concluir que os biomarcadores salivares poderiam ajudar a distinguir entre implantes saudáveis de implantes com PI. Além disso, os resultados da presente revisão sistemática devem ser interpretados com cautela devido a inclusão de muitos estudos com um alto risco de viés.

Neste sentido, estudos longitudinais em diferentes populações e ensaios clínicos randomizados adequados são necessários para identificar um biomarcador salivar promissor e elucidar o papel dos diferentes biomarcadores no diagnóstico e progressão da DPi.

REFERÊNCIAS

ABDULJABBAR, T. et al. Comparison of peri-implant clinical and radiographic inflammatory parameters and whole salivary destructive inflammatory cytokine profile among obese and non-obese men. **Cytokine**, v. 88, p. 51 – 56, 2016.

ACHARYA, A. et al. Salivary IL-1 β and red complex bacteria as predictors of the inflammatory status in sub-peri-implant niches of subjects with peri-implant mucositis. **Clinical Oral Implants Research**, v. 27, n. 6, p. 662 – 667, 2016.

AGRALI ÖB, KURU BE, YARAT A, KURU L. Evaluation of gingival crevicular fluid transforming growth factor- β 1 level after treatment of intrabony periodontal defects with enamel matrix derivatives and autogenous bone graft: A randomized controlled clinical trial. **Niger J Clin Pract**, v. 4, n. 19, p. 535-43, 2016.

ALBREKTSSON, T, ZARB G, WORTHINGTON P, ERIKSSON AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 1, n. 1, p. 11 – 25, 1986.

ALBUQUERQUE, C. M. et al. Association of the IL-10 polymorphisms and periodontitis: A meta-analysis. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 10, p. 9319 – 9329, 2012.

ATA-ALI, J. et al. Clinical, microbiological, and immunological aspects of healthy versus peri-implantitis tissue in full arch reconstruction patients: A prospective cross-sectional study. **BMC Oral Health**, v. 15, n. 1, 2015.

BAUM, B. J. et al. Scientific frontiers: emerging technologies for salivary diagnostics. **Advances in dental research**, v. 23, n. 4, p. 360 – 368, 2011.

BEHFARNIA, P. et al. Serum, saliva, and GCF concentration of RANKL and osteoprotegerin in smokers versus nonsmokers with chronic periodontitis. **Advanced Biomedical Research**, v. 5, n. 1, 2016.

BEIKLER, T.; FLEMMIG, T. F. Implants in the medically compromised patient. *Critical reviews in oral biology and medicine: an official publication of the American Association of Oral Biologists*, v. 14, n. 4, p. 305 – 316, 2003.

BELIBASAKIS, G. N.; BOSTANCI, N. The RANKL-OPG system in Clinical periodontology. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 3, n. 39, p. 239 – 248, 2012.

BERGLUNDH, T.; DONATI, M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, n. suppl. 6, p. 87 – 107, 2005.

BERGLUNDH, T.; PERSSON, L.; KLINGE, B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. **Journal of Clinical Periodontolog**, v. 3, n. 29, p. 197 – 212, 2002.

BERTOLINI, D. R. et al. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors. **Nature**, v. 319, n. 6053, p. 516 – 8, 1986.

BIRKEDAL-HANSEN, H. et al. *Matrix metalloproteinases: A review*. **Journal of Periodontology**, v. 5, n. 64, p. 197 – 250, 1993.

BLACK, R. A. et al. Generation of biologically active interleukin-1 beta by proteolytic cleavage of the inactive precursor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 263, n. 19, p. 9437 – 9442, 1988.

BORDIN, S.; FLEMMIG, T. F.; VERARDI, S. Role of fibroblast populations in peri- implantitis. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 24, n. 2, p. 197 – 204, 2009.

BOSTANCI, N. et al. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: Implications of their relative ratio. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 34, n. 5, p. 370 – 376, 2007.

BOTERO, J. E. et al. Subgingival Microbiota in Peri-Implant Mucosa Lesions and Adjacent Teeth in Partially Edentulous Patients. **Journal of Periodontology**, v. 76, n. 9, p. 1490 – 1495, 2005.

BUDUNELI, N. et al. Saliva concentrations of RANKL and osteoprotegerin in smoker versus non-smoker chronic periodontitis patients. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 35, n. 10, p. 846 – 852, 2008.

BUDUNELI, N.; KINANE, D. F. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. In: **Journal of Clinical Periodontology**, v. 38, n. suppl. 11, p. 85 – 105, 2011.

BURT, B. Position paper - Epidemiology of periodontal diseases. **Journal of periodontology**, v. 76, n. 8, p. 1406 – 1419, 2005.

BĂTĂIOSU, M. et al. Effects of therapy with two combinations of antibiotics on the imbalance of MMP-2/TIMP-2 in chronic periodontitis. **Romanian Journal of Morphology and Embryology**, v. 56, n. 1, p. 77 – 83, 2015.

CASADO, P. L. et al. Interleukins 1 beta and 10 expressions in the periimplant crevicular fluid from patients with untreated periimplant disease. **Implant Dentistry**, v. 22, n. 2, p. 143 – 150, 2013.

CASADO, P. L. et al. History of chronic periodontitis is a high risk indicator for Peri-Implant disease. **Brazilian Dental Journal**, v. 24, n. 2, p. 136 – 141, 2013.

CHRISTODOULIDES, N. et al. Lab-on-a-chip methods for point-of-care measurements of salivary biomarkers of periodontitis. In: **Annals of the New York Academy of Sciences**. [S.l.: s.n.], 2007. v. 1098, p. 411 – 428.

CORNELINI, R. et al. Transforming growth factor-beta 1 expression in the peri-implant soft tissues of healthy and failing dental implants. **Journal of periodontology**, v. 74, n. 4, p. 446 – 50, 2003.

COSTA, F. O. et al. Peri-implant disease in subjects with and without preventive maintenance: A 5-year follow-up. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 39, n. 2, p. 173 – 181, 2012.

D.A. COSTA, T. et al. Inflammation Biomarkers of Advanced Disease in Nongingival Tissues of Chronic Periodontitis Patients. **Mediators of Inflammation**, v. 3, 2015.

CROTTI, T. et al. Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. **Journal of Periodontal Research**, v. 38, n. 4, p. 380 – 387, 2003.

CURRAN, S.; MURRAY, G. I. Matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis, **J Pathol**, v.3, n.189, p. 1999 300 – 308, 1999.

DARABI, E.; KADKHODA, Z.; AMIRZARGAR, A. Comparison of the levels of tumor necrosis factor- α and interleukin-17 in gingival crevicular fluid of patients with peri-implantitis and a control group with healthy implants. **Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology**, v. 12, n. 1, p. 75 – 80, 2013.

DESAI, G. S.; MATHEWS, S. T. Saliva as a non-invasive diagnostic tool for inflammation and insulin-resistance. **World Journal of Diabetes**, v. 5, n. 6, p. 730 – 738, 2014.

DEW, G. et al. Localization of matrix metalloproteinases and TIMP-2 in resorbing mouse bone. **Cell and Tissue Research**, v. 299, n. 3, p. 385 – 394, 2000.

DINARELLO, C. A. Interleukin-1 and Its Biologically Related Cytokines. **Advances in Immunology**, v. 44, n. C, p. 153 – 205, 1989.

DING, Y. et al. Modulation of host matrix metalloproteinases by bacterial virulence factors relevant in human periodontal diseases. **Oral Dis**, v. 1, n. 4, p. 279 – 286, 1995.

DONG, C. Differentiation and function of pro-inflammatory Th17 cells. **Microbes and Infection**, v. 11, n. 5, p. 584 – 588, 2009.

DUARTE, P. M. et al. Differential cytokine expressions affect the severity of peri-implant disease. **Clinical Oral Implants Research**, v. 20, n. 5, p. 514 – 520, 2009.

DUARTE, P. M. et al. Effect of Anti-Infective Mechanical Therapy on Clinical Parameters and Cytokine Levels in Human Peri-Implant Diseases. **Journal of Periodontology**, v. 80, n. 2, p. 234 – 243, 2009.

DUARTE, P. M. et al. Could cytokine levels in the peri-implant crevicular fluid be used to distinguish between healthy implants and implants with peri-implantitis? A systematic review. **Journal of Periodontology**, v.6, n. 51, p. 689 – 698, 2016.

EBERSOLE, J. L. et al. Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 5, n. 19, p. 62, 2015.

EBERSOLE, J. L. et al. Patterns of salivary analytes provide diagnostic capacity for distinguishing chronic adult periodontitis from health. **Journal of Clinical Immunology**, v. 33, n. 1, p. 271 – 279, 2013.

EREN, G. et al. Evaluation of GCF MMP-1, MMP-8, TGF- β 1, PDGF-AB, and VEGF levels in periodontally healthy smokers. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 45, n. 4, p. 850 – 856, 2015.

ESPOSITO, M. et al. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. **European journal of oral sciences**, v. 106, n. 3, p. 721 – 764, 1998.

FAOT, F. et al. Can Peri-Implant Crevicular Fluid Assist in the Diagnosis of Peri-Implantitis? A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Periodontology**, v. 86, n. 5, p. 631 – 645, 2015.

FERREIRA, S. D. et al. Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 33, n. 12, p. 929 – 935, 2006.

FINE, D. H. et al. Macrophage inflammatory protein-1alpha: a salivary biomarker of bone loss in a longitudinal cohort study of children at risk for aggressive periodontal disease? **Journal of periodontology**, v. 80, n. 1, p. 106 – 113, 2009.

FIorentino, D. et al. IL-10 INHIBITS CYTOKINE PRODUCTION BY ACTIVATED MACROPHAGES. *Journal of immunology*, v. 147, n. 11, p. 3815 -3822, 1991.

FONSECA, F. J. P. O. et al. Cytokines expression in saliva and peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant disease. **Clinical Oral Implants Research**, v. 25, n. 2, 2014.

FRODGE, B. D. et al. Bone Remodeling Biomarkers of Periodontal Disease in Saliva. **Journal of Periodontology**, v. 79, n. 10, p. 1913 – 1919, 2008.

FROUM, S.; KHOULY, I. Survival Rates and Bone and Soft Tissue Level Changes Around One-Piece Dental Implants Placed with a Flapless or Flap Protocol: 8.5-Year Results. **The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v. 37, n. 3, p. 327 – 337, 2017.

GALBRAITH, G. M. et al. Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 26, n. 1996, p. 705 – 709, 1999.

GARLET, G. P. et al. Patterns of chemokines and chemokine receptors expression in different forms of human periodontal disease. **Journal of Periodontal Research**, v. 38, n. 2, p. 210 – 217, 2003.

GATELY, M. K. et al. THE INTERLEUKIN-12/INTERLEUKIN-12-RECEPTOR SYSTEM: Role in Normal and Pathologic Immune Responses. **Annual Review of Immunology**, v. 16, n. 1, p. 495 – 521, 1998.

GIANNOBILE, W. V. et al. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: Current state and future directions. **Periodontology 2000**, v. 50, n. 1, p. 52 – 64, 2009.

GONÇALVES JUNIOR, R. et al. MMP13, TIMP2 and TGFB3 gene polymorphisms in Brazilian subjects with chronic periodontitis and periimplantitis. **Brazilian Dental Journal**, v. 27, n. 2, p. 128 – 134, 2016.

GOODSON, J. M. Gingival crevice fluid flow, **Periodontol 2000** n. 31, p. 43 – 54, 2003.

GOMES, et. Al. Inflammatory Cytokines Interleukin-1beta and Tumour Necrosis Factor-alpha - Novel Biomarkers for the Detection of Periodontal Diseases: a Literature Review. **Journal of Oral & Maxillofacial Research**, v.7, n.2, p. e2, 2016.

GRBIC, J. T. et al. Risk Indicators for Future Clinical Attachment Loss in Adult Periodontitis. Patient Variables. **Journal of Periodontology**, v. 62, n. 5, p. 322 – 329, 1991.

GUMUs, P. et al. Saliva and Serum Levels of B-Cell Activating Factors and Tumor Necrosis Factor α in Patients With Periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 85, n. 2, p. 270 – 280, 2014.

GURSOY, U. K. et al. Salivary MMP-8, TIMP-1, and ICTP as markers of advanced periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 37, n. 6, p. 487 – 493, 2010.

HARDER, S. et al. Surface contamination of dental implants assessed by gene expression analysis in a whole-blood in vitro assay. A preliminary study. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 39, n. 10, p. 987 – 994, 2012.

HERR, A. E. et al. Microfluidic immunoassays as rapid saliva-based clinical diagnostics. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 13, p. 5268 – 5273, 2007.

HONDA, T. et al. Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 144, n. 1, p. 35 – 40, 2006.

HONIG, J. et al. Increased interleukin-1 beta (IL-1 β) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. **Journal of Periodontal Research**, v. 24, n. 6, p. 362 – 367, 1989.

JAEDICKE, K. M.; PRESHAW, P. M.; TAYLOR, J. J. Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. **Periodontology 2000**, v. 70, n. 1, p. 164 – 183, 2016.

JAVED, F. et al. Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. **Cytokine**, v. 53, n. 1, p. 8 – 12, 2011.

KAROUSSIS, I. K. et al. Association between periodontal and peri-implant conditions: a 10-year prospective study. **Clinical Oral Implants Research**, v. 15, n. 1, p. 1 – 7, 2004.

KAUSHIK, R.; YELTIWAR, R. K.; PUSHPANSHU, K. Salivary interleukin-1 β levels in patients with chronic periodontitis before and after periodontal phase i therapy and healthy controls: a case-control study. **Journal of Periodontology**, v. 82, n. 9, p. 1353 – 1359, 2011.

KEJRIWAL, S. Estimation of levels of salivary mucin, amylase and total protein in gingivitis and chronic periodontitis patients. **Journal of Clinical And Diagnostic Research**, v. 8, n. 10, p. 73-79, 2014.

KINANE, D. F.; PRESHAW, P. M.; LOOS, B. G. Host-response: Understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions - consensus of the Seventh European Workshop On Periodontology. **Journal of Clinical Periodontology**. v. 38, n. suppl. 11, p. 44 – 48, 2011.

KINNEY, J. S. et al. Saliva/pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression. **Journal of Dental Research**, v. 90, n. 6, p. 752 – 758, 2011.

KONG, Y. Y. et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. **Nature**, v. 397, n. 6717, p. 315 – 323, 1999.

KONTTINEN, Y. T. et al. Immunohistochemical evaluation of inflammatory mediators in failing implants. **The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v. 26, n. 2, p. 135 – 41, 2006.

LANG, N. P.; BERGLUNDH, T. Periimplant diseases: where are we now? - consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. **Journal of Clinical Periodontology**. v. 38, n. 11, p. 178 – 181, 2011.

LAPPIN, D. F. et al. Effect of smoking on serum RANKL and OPG in sex, age and clinically matched supportive-therapy periodontitis patients. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 34, n. 4, p. 271 – 277, 2007.

LERNER, U. H. New molecules in the tumor necrosis factor ligand and receptor superfamilies with importance for physiological and pathological bone resorption. **Rev Oral Biol Med**, v.15, n.2, p. 64 – 81, 2004.

LICHTMAN AH.; ABBAS AK. T-cell subset: recruiting the right kind of help. **Current Biology**, v. 7, n. 4, p. R242 – 244, 1997.

LISKMANN, S. et al. Correlations between clinical parameters and interleukin-6 and interleukin-10 levels in saliva from totally edentulous patients with peri-implant disease. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 21, n. 4, p. 543 – 550, 2005.

LIU, D. et al. Expression of RANKL and OPG mRNA in periodontal disease: possible involvement in bone destruction. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 11, n. 1, p. 17 21, 2003.

LUO, Z. et al. Expression of IL-22, IL-22R and IL-23 in the peri-implant soft tissues of patients with peri-implantitis. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 5, p. 523 – 529, 2013.

MACHTEI, E. E.; OVIED-PELEG, E.; PELED, M. Comparison of clinical, radiographic and immunological parameters of teeth and different dental implant platforms. **Clinical Oral Implants Research**, v. 17, n. 6, p. 658 – 665, 2006.

MALEFYT, R. D. W. et al. Interleukin-10. **Current Opinion in Immunology**, v. 4, p. 314 – 320, 1992.

MANRIQUE, N. et al. Hypertension modifies OPG, RANK, and RANKL expression during the dental socket bone healing process in spontaneously hypertensive rats. **Clinical Oral Investigations**, v. 19, n. 6, p. 1319 – 1327, 2015.

MARCANTONIO, C. et al. Prevalence and Possible Risk Factors of Peri-implantitis: A Concept Review. **Journal Contemporary Dental Practice**, v. 16, n. 9, p. 750 – 757, 2015.

MARDEGAN, G. P. et al. Transforming growth factor β , interleukin-17, and IL-23 gene expression profiles associated with human peri-implantitis. **Clinical Oral Implants Research**, v. 28, n. 7, p. e10 – e15, 2017.

MCCULLOCH, C. A. Host enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 21, n. 7, p. 497 – 506, 1994.

MEDZHITOV, R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. **Nature**, v. 449, n. 7164, p. 819 – 826, 2007.

MENDONÇA, A. C. de et al. Tumor Necrosis Factor-Alpha levels after surgical anti-infective mechanical therapy for peri-implantitis: a 12-month follow-up. **Journal of Periodontology**, v. 80, n. 4, p. 693 – 699, 2009.

MERLI, M. et al. Inter-rater agreement in the diagnosis of mucositis and peri-implantitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 41, n. 9, p. 927 – 933, 2014.

MESCHIARI, C. A. et al. Salivary MMPs, TIMPs, and MPO levels in periodontal disease patients and controls. **Clinica Chimica Acta**, v. 421, p. 140 – 146, 2013.

MILLER, C. S. et al. Current developments in salivary diagnostics. **Biomarkers in Medicine**, v. 4, n. 1, p. 171 – 189, 2010.

MIRRIELES, J. et al. Rheumatoid arthritis and salivary biomarkers of periodontal disease. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 37, n. 12, p. 1068 – 1074, 2010.

MOMBELLI A, VAN OOSTEN MA, SCHURCH E JR, LAND NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 2, n. 4, p. 145 – 151, 1987.

MONOV, G. et al. Soluble RANKL in crevicular fluid of dental implants: A pilot study. **Clinical Implant Dentistry and Related Research**, v. 8, n. 3, p. 135 – 141, 2006.

NEGRI, B. M. et al. Impact of a chronic smoking habit on the osteo-immunoinflammatory mediators in the peri-implant fluid of clinically healthy dental implants. **Archives of Oral Biology**, v. 70, p. 55 – 61, 2016.

NG, P. Y. B. et al. Candidate salivary biomarkers associated with alveolar bone loss: cross-sectional and in vitro studies. **FEMS immunology and medical microbiology**, v. 49, n. 2, p. 252 – 260, 2007.

NIZAM, N. et al. Do salivary and serum collagenases have a role in an association between obstructive sleep apnea syndrome and periodontal disease? A preliminary case-control study. **Archives of Oral Biology**, v. 60, n. 1, p. 134 – 143, 2015.

OH H.; HIRANO J.; TAKAI H.; OGATA Y. Effects of initial periodontal therapy on interleukin-1 β level in gingival crevicular fluid and clinical periodontal parameters. **Journal of oral science**, v. 57, n. 2, p. 67 – 71, 2015.

OHYAMA, H. et al. The Involvement of IL-23 and the Th17 Pathway in Periodontitis. **Journal of Dental Research**, v. 88, n. 7, p. 633 – 638, 2009. ISSN 0022-0345.

ÖZÇAKA, O.; NALBANTSOY, A.; BUDUNELI, N. Interleukin-17 and interleukin-18 levels in saliva and plasma of patients with chronic periodontitis. **Journal of Periodontal Research**, v. 46, n. 5, p. 592 – 598, 2011.

PANAGAKOS, F. et al. Detection and Measurement of Inflammatory Cytokines in Implant Crevicular Fluid: A Pilot Study. **International Journal Oral Maxillofacial Implants**, v. 11, n. 6, p. 794 – 799, 1996.

PJETURSSON, B. E. et al. Peri-implantitis susceptibility as it relates to periodontal therapy and supportive care. **Clinical Oral Implants Research**, v. 23, n. 7, p. 888 – 894, 2012.

PRAKASAM, S.; SRINIVASAN, M. Evaluation of salivary biomarker profiles following non-surgical management of chronic periodontitis. **Oral Diseases**, v. 20, n. 2, p. 171 – 177, 2014.

RAKIC, M. et al. Bone loss biomarkers associated with peri-implantitis. A cross-sectional study. **Clinical Oral Implants Research**, v. 24, n. 10, p. 1110 – 1116, 2013.

RAKIC, M. et al. Estimation of Bone Loss Biomarkers as a Diagnostic Tool for Peri- Implantitis. **Journal of Periodontology**, v. 85, n. 11, p. 1566 – 1574, 2014.

RAMSEIER, C. A. et al. Host-derived biomarkers at teeth and implants in partially edentulous patients. A 10-year retrospective study. **Clinical Oral Implants Research**, v. 27, n. 2, p. 211 – 217, 2016.

RATHNAYAKE, N. et al. Salivary biomarkers of oral health - A cross-sectional study. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 40, n. 2, p. 140 – 147, 2013.

RATHNAYAKE, N. et al. Salivary Diagnostics—Point-of-Care diagnostics of MMP-8 in dentistry and medicine. **Diagnostics**, v. 20, n. 1, p. 7, 2017.

RICE, D. P. C.; KIM, H. J.; THESLEFF, I. Detection of gelatinase B expression reveals osteoclastic bone resorption as a feature of early calvarial bone development. **Bone**, v. 21, n. 6, p. 479 – 486, 1997.

ROCHA, F. S. et al. Saliva Versus Peri-implant Inflammation: Quantification of IL-1 β in Partially and Totally Edentulous Patients. **Journal of Oral Implantology**, v. 40, n. 2, p. 169 - 173, 2014.

SALMINEN, A. et al. Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 41, n. 5, p. 442 – 450, 2014.

SCANNAPIECO, F. A. et al. Salivary biomarkers associated with alveolar bone loss. **Annals of the New York Academy of Sciences**, n. 1098, p. 496 – 497, 2007.

SCAREL-CAMINAGA, R. M. et al. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 31, n. 6, p. 443 – 448, 2004.

SCHIERANO, G. et al. Cytokine production and bone remodeling in patients wearing overdentures on oral implants. **Journal of Dental Research**, v. 79, n. 9, p. 1675 – 1682, 2000.

SCHIERANO, G. et al. Transforming growth factor-beta and interleukin 10 in oral implant sites in humans. **Journal Dentistry Research**, v. 82, n. 6, p. 428 – 432, 2003.

SCHIERANO, G. et al. In vitro effect of transforming growth factor-beta on adhesion molecule expression by human gingival fibroblasts cultured in the presence of a titanium abutment. **Journal of Periodontology**, v. 72, n. 12, p. 1658 – 1665, 2001.

SCHULTZE-MOSGAU, S. et al. Expression of interleukin 1-beta, transforming growth factor beta-1, and vascular endothelial growth factor in soft tissue over the implant before uncovering. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**, v. 101, n. 5, p. 565 – 571, 2006.

SÉGUIER, S. et al. Is collagen breakdown during periodontitis linked to inflammatory cells and expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human gingival tissue? **Journal of periodontology**, v. 72, n. 10, p. 1398 – 406, 2001.

SERGEJEVA, S.; LINDÉN, A. Impact of IL-17 on cells of the monocyte lineage in health and disease. **Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets**, v. 9, n. 2, p. 178 – 86, 2009.

SEVERINO, V. O. et al. Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-33 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant mucositis and peri-implantitis. **Archives of Oral Biology**, v. 72, p. 194 – 199, 2016.

SEVERINO, V. O.; NAPIMOGA, M. H.; PEREIRA, S. A. D. L. Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-8 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 8, p. 823 – 828, 2011.

SEXTON, W. M. et al. Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 38, n. 5, p. 434 – 441, 2011.

SORSA, T.; TJÄDERHANE, L.; SALO, T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. **Oral Diseases**, v.10, n. 6, p. 311 – 318, 2004.

STADLER, A. F. et al. Gingival crevicular fluid levels of cytokines/chemokines in chronic periodontitis: a meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 43, n. 9, p. 727 – 745, 2016.

STERNLICHT, M.; WERB, Z. How Matrix metalloproteinases regulate cell behavior. **Annu Rev Cell Bio Annual Review of Cell Biology**, v. 17, p. 463 – 516, 2009.

STRBAC, G. D. et al. Cathepsin K levels in the crevicular fluid of dental implants: A pilot study. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 33, n. 4, p. 302 – 308, 2006.

TABA M. JR.; KINNEY J.; KIM AS.; MILLER WV. *Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. **Dental Clinics of North America***, v. 49, n. 3, p. 551 – 571, 2005.

TABARI, Z. A. et al. Salivary soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin ratio in periodontal disease and health. **Journal of Periodontal & Implant Science**, v. 43, n. 5, p. 227-32, 2013.

TAKAHASHI, K. et al. The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of periodontal disease. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, n. 4, p. 369 – 374, 2005.

TATARAKIS, N. et al. Clinical, microbiological, and salivary biomarker profiles of dental implant patients with type 2 diabetes. **Clinical Oral Implants Research**, v. 25, n. 7, p. 803 – 812, 2014.

TELES, R. P. et al. Salivary cytokine levels in subjects with chronic periodontitis and in periodontally healthy individuals: A cross-sectional study. **Journal of Periodontal Research**, v. 44, n. 3, p. 411 – 417, 2009.

TOBÓN-ARROYAVE, S. I. et al. Association of salivary levels of the bone remodelling regulators sRANKL and OPG with periodontal clinical status. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 39, n. 12, p. 1132 – 1140, 2012.

UITTO, V. J.; OVERALL, C. M.; MCCULLOCH, C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. **Periodontology 2000**, v. 31, p. 77 – 104, 2003.

VASSALLI, P. The Pathophysiology of Tumor Necrosis Factors. **Annual Review of Immunology**, v. 10, n. 1, p. 411 – 452, 1992.

VASTARDIS, S. et al. Influence of periodontal disease on Th1/Th2-type cytokines in saliva of HIV-positive individuals. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 18, n. 2, p. 88 – 91, 2003.

VERNAL, R. et al. Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, n. 4, p. 383 – 389, 2005.

VIGNALI, D. A. A.; COLLISON, L. W.; WORKMAN, C. J. How regulatory T cells work. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 7, p. 523 – 532, 2008.

WENG, H. et al. Matrix metalloproteinase gene polymorphisms and periodontitis susceptibility: A meta-analysis involving 6,162 individuals. **Scientific Reports**, v. 20, n. 6, p. 2481-2482, 2016.

XIANG, J. et al. Expression of matrix metalloproteinase-1, matrix metalloproteinase-2 and extracellular metalloproteinase inducer in human periodontal ligament cells stimulated with interleukin-1 beta. **Journal of periodontal research**, v. 44, n. 6, p. 784 – 93, 2009.

YAGHOBE, 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.

YOON, A. J. et al. Inflammatory biomarkers in saliva: Assessing the strength of association of diabetes mellitus and periodontal status with the oral inflammatory burden. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 39, n. 5, p. 434 – 440, 2012.

ZHU, J.; YAMANE, H.; PAUL, W. E. Differentiation of Effector CD4 T Cell Populations. **Annual Review of Immunology**, v. 28, n. 1, p. 445 – 489, 2010.

ZITZMANN, N. U.; BERGLUNDH, T. Definition and prevalence of peri-implant diseases. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 35, n. suppl. 8, p. 286 – 291, 2008.

8 ANEXOS

Lista de anexos

Artigo 1

Anexo 1 Diagnóstico clínico em T1 E T2103

Anexo 2 Aprovação comitê de ética104

Anexo 1 - Artigo 1 Diagnóstico clínico Peri-implantar em T1 E T2

PACIENTE	GNTM	Baseline T1	Exame final T2	PACIENTE	GTM	Baseline T1	Exame final T2
1		MPP + PE	PI + PE	42		MP	MP
2		MP + PE	PI + PE	43		MP	MP
3		MP + PE	PI + PE	44		MP + PE	PI + PE
4		MP	PI	45		MP + PE	PI + PE
5		MP + PE	PI + PE	46		MP + PE	PI + PE
6		MP	PI + PE	47		MP + PE	PI + PE
7		MP + PE	PI + PE	48		MP + PE	PI + PE
8		MP	PI + PE	49		MP	PI
9		MP + PE	PI + PE	50		MP	
10		MP	PI + PE	51		MP	
11		MP	PI	52		MP + PE	MP + PE
12		MP + PE	PI + PE	53		MP	
13		MP	PI + PE	54		MP	MP
14		MP + PE	PI + PE	55		MP	
15		MP + PE	PI + PE	56		MP	
16		MP	PI + PE	57		MP + PE	MP + PE
17		MP	MP	58		MP + PE	MP + PE
18		MP	MP	59		MP	MP
19		MP	PI	60		MP	MP
20		MP	MP + PE	61		MP	
21		MP	MP	62		MP	MP
22		MP	MP	63		MP	MP
23		MP	MP	64		MP + PE	MP + PE
24		MP	MP	65		MP	MP
25		MP	MP	66		MP	
26		MP	MP + PE	67		MP	MP
27		MP	MP	68		MP	MP
28		MP	MP	69		MP	
29		MP	MP	70		MP	MP
30		MP	MP	71		MP	MP
31		MP	MP	72		MP	MP
32		MP	MP	73		MP	MP + PE
33		MP	MP	74		MP	MP
34		MP	MP	75		MP	
35		MP	MP	76		MP	
36		MP	MP	77		MP + PE	PI + PE
37		MP	MP	78		MP	
38		MP	MP	79		MP	
39		MP	MP	80		MP	MP
40		MP	MP				
41		MP	PI + PE				

MP=mucosite peri-implantar; PI= peri-implantite; PE=periodontite

GNTM= grupo não terapia de manutenção; GTM = grupo terapia de manutenção

T1 exame inicial – 2006; T2 exame final – 2012

Anexo 2 - Artigo 1 Aprovação comitê de ética estudo imunológico

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC 0565.0.203.000-10

Interessado(a): Prof. Fernando de Oliveira Costa
Depto. Clínica, Patologia e Cirurgia Odontológicas
Faculdade de Odontologia - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 15 de dezembro de 2010, o projeto de pesquisa intitulado "Estudo prospectivo de parâmetros clínicos periodontais e perimplantares: um *follow-up* de 5 anos" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Profa. Maria Teresa Marques Amâral
Coordenadora do COEP-UFMG

9 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O DOUTORADO

Artigo completo publicado em periódicos:

Douglas de Oliveira DW, Lages FS, Lanza LA, Gomes AM, Queiroz TP, Costa Fde O. Dental Implants with Immediate Loading Using Insertion Torque of 30 Ncm: A Systematic Review. *Implant Dent.* 2016 Oct;25(5):675-83. (**Qualis B1**)

Disciplinas Optativas

Formação em docência do ensino superior – carga horária de 60 H aula – Conceito Final A.

Artigos submetidos a periódico:

- Periodontal disease, peri-implant disease and levels of salivary biomarkers IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF and TNF- α : follow-up over 5 years.
Journal of Applied Oral Science
- Could the biomarker levels in saliva help distinguish between healthy implant and implants with peri-implant disease? A systematic review.
Arquives of Oral Biology