



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ANÁLISE VOLUMÉTRICA DO FLUIDO CREVICULAR
GENGIVAL E DO FLUIDO CREVICULAR PERI-IMPLANTAR EM
LOCAIS COM SAÚDE E DOENÇA**

Trabalho submetido por
Soraia Fonseca de Azevedo
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2021



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ANÁLISE VOLUMÉTRICA DO FLUIDO CREVICULAR
GENGIVAL E DO FLUIDO CREVICULAR PERI-IMPLANTAR EM
LOCAIS COM SAÚDE E DOENÇA**

Trabalho submetido por
Soraia Fonseca de Azevedo
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Mestre José Maria Cardoso

Setembro de 2021

AGRADECIMENTOS

Jamais seria possível a realização deste projeto final de curso, sem o apoio incondicional de diversas pessoas. Assim, quero deixar o meu profundo agradecimento:

Ao meu orientador, Mestre José Maria Cardoso, pela dedicação e disponibilidade demonstrada ao longo da realização deste projeto.

À Prof. Doutora Madalena Oom, pela ajuda que facultou no início da realização deste projeto final.

Ao Prof. Doutor Luís Proença, pela ajuda na análise estatística.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz, por ser a minha casa nestes últimos 5 anos, por todas as vivências e conhecimentos que me forneceu.

Um agradecimento muito especial aos meus pais, por todo o esforço e dedicação, e por todos os sacrifícios em prol do meu futuro. Por todo o incentivo e toda a confiança depositada em mim.

Um obrigada à minha irmã, por tudo.

Um obrigada ao Gonçalo Quina, pelo parceiro incrível que é e pelo apoio incondicional.

Um agradecimento também às minhas colegas de box e todas as pessoas que conheci ao longo destes 5 anos de curso.

RESUMO

Introdução: O fluido crevicular, em locais clinicamente saudáveis, é um líquido intersticial que aparece como um transudado no sulco devido a um gradiente osmótico. Em locais não saudáveis este fluido pode ser classificado como um exsudado inflamatório produzido pela gengiva inflamada ao nível de sulcos e bolsas. Num periodonto com inflamação, este fluido encontra-se presente em maior volume. É um potencial marcador da severidade da inflamação dos tecidos, podendo o estudo das variações do seu volume auxiliar no diagnóstico e no tratamento da doença periodontal e peri-implantar .

Objetivo: Análise volumétrica comparativa do fluido crevicular nas localizações: dente saudável, dente com periodontite, implante saudável e implante com peri-implantite, para determinar se existem diferenças significativas entre situações de saúde e doença. Pretende-se também com este estudo avaliar se existem diferenças volumétricas nas localizações com implantes comparativamente a zonas de dentes, nas mesmas condições de saúde e doença.

Materiais e métodos: Foram selecionados 18 pacientes, previamente submetidos a um questionário. Constituíram-se 2 grupos, o grupo de saúde (N=11) e o grupo de doença Periodontal e Peri-implantar (N=10). A recolha do fluido iniciou-se com o isolamento relativo da zona, seguido da inserção de um Periopaper no sulco/bolsa até ser sentida resistência, tendo-se aguardado 30 segundos até à sua remoção. O volume de fluido foi calculado com a inserção do Periopaper no Periotron 8000 (Oralflow Inc., New York, NY, USA). Utilizou-se o teste de Friedman na análise estatística.

Resultados: Na análise comparativa foram identificadas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,004$) na comparação entre dente saudável e implante com peri-implantite ($p=0,029$, teste de Friedman).

Conclusão: O volume de fluido crevicular apresenta-se mais elevado quanto mais severa for a inflamação dos tecidos.

Palavras-chave: Periodontite, Peri-implantite, Fluido Crevicular, Periotron

ABSTRACT

Introduction: In clinical healthy sites, gingival crevicular fluid appears as an interstitial fluid resembling a transudate in the sulcus due to the osmotic gradient. In unhealthy sites, crevicular fluid can be classified as an inflammatory exudate secreted by the inflamed gingiva into the sulcus/pockets. In an inflamed periodontium, this fluid is present in larger volumes. It's a potential marker of the severity of the inflammation in the site, and the study of its volumetric changes can be pertinent to better diagnose and treat periodontal and peri-implant disease.

Objective: Volumetric and comparative analysis of crevicular fluid: healthy tooth, tooth with periodontitis, healthy implant, and implant with peri-implantitis, to determine if there are significant differences between healthy and disease conditions. It is also intended with this study to assess whether there are volumetric differences in locations with implants compared to areas of teeth, in the same health and disease conditions.

Materials and methods: 18 patients were selected, previously submitted to a questionnaire, and informed consent. Two groups were constituted, the Periodontal and Peri-implant health group (N=11) and the Periodontal and Peri-implant disease group (N=10). Fluid collection in selected locations began with relative isolation, a Periopaper was inserted in the sulcus/pocket, in which it remained for 30 seconds until its removal. The fluids volume was calculated by inserting the Periopaper into the Periotron 8000 (Oralflow Inc., New York, NY, USA). The Friedman test was used in the statistical analysis.

Results: In the comparative analysis, statistically significant differences ($p=0.004$) were identified in the comparison between healthy tooth and implant with peri-implantitis ($p=0.029$, Friedman test).

Conclusion: The volume of crevicular fluid is higher the more severe the tissue inflammation is.

Keywords: Periodontitis, Peri-implantitis, crevicular fluid, Periotron

ÍNDICE GERAL

I. INTRODUÇÃO.....	13
1. Doença periodontal.....	13
1.1. Definição.....	13
1.2. Prevalência.....	15
1.3. Etiologia.....	16
1.4. Indicadores/fatores de risco	16
1.4.1. Doenças sistémicas	16
1.4.2. Tabaco.....	18
1.4.3. Estatuto socioeconómico / raça.....	19
1.4.4. Genética.....	19
2. Peri-implantite	20
2.1. Definição.....	20
2.2. Prevalência.....	22
2.3. Etiologia.....	23
2.4. Indicadores/fatores de risco	24
2.4.1. Doenças sistémicas : diabetes.....	24
2.4.2. Tabaco.....	25
2.4.3. História de doença periodontal	26
2.4.4. Fatores relacionados com o implante	27
2.4.5. Fenótipo gengival	28
2.4.6. Mau controlo de placa bacteriana / falta de manutenção regular	29
2.4.7. Genética.....	30
3. Fluido crevicular	30
3.1. Composição.....	30

3.2.	<i>Mediadores inflamatórios de periodontite e peri-implantite no FC</i>	31
3.3.	<i>FC como meio de diagnóstico</i>	33
3.4.	<i>Meios de recolha do FC</i>	36
3.5.	<i>Análise do conteúdo imunológico do FC</i>	38
II.	MATERIAIS E MÉTODOS	41
III.	RESULTADOS	45
IV.	DISCUSSÃO	51
V.	CONCLUSÃO	57
VI.	BIBLIOGRAFIA	59
VII.	ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Periotron 8000 (Oraflow Inc., New York, NY, USA). Figura do autor	37
Figura 2 – Calibração do Periotron 8000 (Oralflow Inc., New York, NY, USA). Figura do autor	43
Figura 3 - Inserção de Periopaper no sulco/bolsa. Figura do autor	44

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Dados recolhidos para os 3 pacientes incluídos nos 4 grupos	46
Tabela 2 - Dados recolhidos para os grupos de saúde	46
Tabela 3 - Dados recolhidos para os grupos de doença.....	47
Tabela 4 – Estatística Descritiva para os grupos 1-4 na unidade de Periotron.....	47
Tabela 5 – Estatística Descritiva para os grupos 1-4, na unidade de microlitros	48
Tabela 6 – Comparação por Método Pairwise dos grupos 1 a 4	49

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGEs – produtos finais da glicosilação avançada

BMP – proteína óssea morfogénica

DP – doença periodontal

FC – fluido crevicular

FCCG – fluido crevicular gengival

FCPI – fluido crevicular peri-implantar

Flt-3L – ligante da tirosina quinase 3 do tipo FMS

GM-CSF – fator estimulante da colónia de macrófagos-granulócitos

IL – interleucina

MMP – metaloproteinase da matriz

OPG – osteoprotegerina

OPN – osteopontina

PDGF-BB – fator de crescimento, subunidade BB, derivado de plaquetas

PGE-2 – prostaglandina E2

PI – peri-implantite

RANKL – ligante do recetor ativador do fator nuclear kappa B

sCD-40L – recetor de CD40 humano solúvel

sRANKL – ligante do recetor ativador do fator nuclear kappa B, solúvel

TGF- β – fator de crescimento transformante β

Th17 – células T 17 “helper”

TNF – fator de necrose tumoral

TNF- α – fator de necrose tumoral alfa

Treg – linfócito T regulador

I. INTRODUÇÃO

1. Doença periodontal

1.1. Definição

A doença periodontal (DP), mais concretamente a periodontite constitui uma das doenças mais prevalentes na cavidade oral (Scannapieco & Gershovich, 2020). É considerada uma doença crónica e multicausal (Loos & Van Dyke, 2020), e vê-se associada muitas vezes com um estilo de vida mais pobre, um estatuto socioeconómico mais baixo, com o fraco acesso a serviços de saúde oral, e associada também a comportamentos de risco para a saúde geral como o tabaco, obesidade, consumo de álcool, dietas ricas em hidratos de carbono e uma fraca higiene oral (Tefera & Bekele, 2020).

Esta é caracterizada por uma resposta destrutiva, imunológica e inflamatória, do hospedeiro, a uma infeção bacteriana dos tecidos periodontais, que resulta na perda e destruição do osso alveolar, resultando, em muitos casos, na mobilidade dentária e eventualmente na perda dentária. De um ponto de vista clínico, a doença alterna entre períodos de atividade e períodos de latência, e se não for tratada progride de uma ligeira inflamação para uma destruição severa dos tecidos (Loos & Van Dyke, 2020 ; Luan et al., 2018 ; Bostanci & Belibasakis, 2018 ; Bhardwaj & Prabhuji, 2013 ; Highfield, 2009).

Numa fase inicial de progressão da doença existe uma inflamação da gengiva definida por gengivite, que é uma condição clínica reversível induzida pela acumulação de placa bacteriana. A periodontite surge quando a gengivite não é tratada, consistindo neste caso numa doença irreversível que envolve perda de osso (Kinane et al., 2017; Loos & Van Dyke, 2020). A periodontite pode ser definida como localizada ou generalizada, considerando-se generalizada quando estão envolvidos mais de 30% dos dentes e localizada quando estão envolvidos menos de 30% destes (Tonetti & Sanz, 2019).

A resposta periodontal do hospedeiro às bactérias orais consiste em duas linhas de defesa distintas, mas relacionadas, a imunidade inata e a imunidade adaptativa. A imunidade inata periodontal é a primeira linha de defesa contra os patógenos orais, que consiste na barreira epitelial oral e na atividade das células fagocitárias, como os neutrófilos e os macrófagos, que atacam diretamente e removem as bactérias invasoras. Em contraste, a imunidade adaptativa consiste num antigénio específico de resposta

imune que depende das funções das células B e T, sendo a resposta adaptada para combater o patógeno ou a célula infetada. Em conjunto, a imunidade inata e a adaptativa colaboram para limitar a infecção bacteriana e restabelecer uma homeostasia dos tecidos periodontais (Luan et al., 2018 ; Loos & Van Dyke, 2020).

O estado de inflamação dos tecidos periodontais pode ser categorizado, recorrendo a índices clínicos como o índice gengival e a hemorragia à sondagem para avaliar o estado de inflamação, em adição, o índice de placa fornece uma estimativa do fator causal principal, a placa bacteriana, que é primariamente responsável pela inflamação. Para além destes índices, juntamente com a profundidade de sondagem e exames radiográficos é possível fazer uma avaliação mais precisa do estado de evolução da doença (Bhardwaj & Prabhuj, 2013).

O produto desta resposta inflamatória local eventualmente culmina no sulco gengival que se converte numa bolsa periodontal com o avançar da doença (Loos & Van Dyke, 2020 ; Bostanci & Belibasakis, 2018).

Esta resposta inflamatória inicia-se no epitélio, que liberta mediadores bioquímicos, entre os quais as IL (interleucinas), PGE-2 (prostaglandina E2) e o TNF- α (fator de necrose tumoral α) que recrutam neutrófilos. Estes fagócitos, expressam na sua membrana plasmática, recetores específicos que reconhecem e se ligam às moléculas de superfície das bactérias, a fim de eliminar as mesmas. Na presença de microrganismos da placa bacteriana, esta resposta inflamatória pode não ser suficiente para combater os patógenos, neste sentido são recrutadas mais células de imunidade, como os monócitos e as células T. Nesta fase, a inflamação já perdurou e já houve reabsorção óssea pelos osteoclastos e degradação das fibras do ligamento pelas MMPs (metaloproteinases da matriz), houve também formação de tecido de granulação. (Liccardo et al., 2019; Priyamvara et al., 2020)

Saúde periodontal é definida pela presença de profundidades de sondagem \leq a 3 mm e hemorragia à sondagem em menos de 10% das localizações, ausência de edema e eritema, ausência de perda de inserção e perda óssea e ausência de sintomas do paciente (Caton et al., 2018; Chapple et al., 2018).

A periodontite pode ser diagnosticada nos casos em que se verifica CAL (perda de inserção) interproximal em 2 ou mais dentes não adjacentes, ou CAL vestibular ou lingual de 3 ou mais milímetros com profundidades de sondagem \geq 3 mm em 2 ou mais dentes. Considerando-se estas condições quando a CAL teve causas relacionadas com a periodontite, excluindo recessão gengival com origem traumática, cáries dentárias que se

estendem na área cervical do dente, CAL na face distal de um segundo molar e associada a má posição dentária ou extração do terceiro molar, lesão endodôntica drenando através do periodonto marginal, e ocorrência de fratura radicular vertical. (Tonetti et al., 2018)

Inicialmente acreditava-se que toda a gengivite progredia para periodontite, no entanto a visão atual é que embora a gengivite preceda a periodontite, nem toda a gengivite evolui para esta (Kinane, 2001).

1.2. Prevalência

As formas mais severas da periodontite, que podem levar a um aumento da mobilidade dentária e eventualmente à perda de dentes, encontram-se em cerca de 5-20% da população adulta (Bevilacqua et al., 2016).

Num estudo realizado por Kinane (2001), este concluiu que cerca de 35% dos adultos incluídos no estudo apresentavam periodontite, destes, 13% dos adultos com mais de 30 anos apresentavam periodontite moderada a severa e cerca de 22% tinham uma forma ligeira da patologia (Bevilacqua et al., 2016).

No estudo de Tefera & Bekele (2020), foi determinado que, para os participantes envolvidos, a inflamação periodontal foi encontrada em 42,4% dos pacientes, nos quais a hemorragia à sondagem e a deposição de tártaro foram sinais clínicos identificados. A presença de bolsas pouco profundas foi verificada em 21,7% dos pacientes e 5,9% destes apresentava bolsas periodontais profundas (Tefera & Bekele, 2020).

Eke et al. (2015) determinaram no seu estudo que 46% dos adultos de Estados Unidos da América apresentavam periodontite, dos quais 8,9% apresentavam uma forma severa da doença. No geral, 3,8% das localizações estudadas (representando 10,6% de todos os dentes incluídos) apresentavam uma profundidade de sondagem maior ou igual a 4mm e 19,3% das localizações (correspondendo a 37,4% dos dentes incluídos) apresentavam uma perda de inserção maior ou igual a 3mm. Os autores encontraram neste estudo uma relação positiva entre a prevalência da DP e o aumento da idade, e reportaram que a prevalência é maior em pessoas do sexo masculino. Encontraram que a prevalência da doença é maior em hispânicos (63,5%) e em pacientes de raça negra (59,1%), seguidos pelos americano-asiáticos (50,5%) e por último a raça caucasiana com a menor prevalência (40,8%), na população dos Estados Unidos da América (Eke et al., 2015; Michaud et al., 2017).

1.3. Etiologia

Não há dúvida que os casos de DP são resultado da exposição dos tecidos periodontais à microflora que adere ao dente na forma de um biofilme, também referido como placa bacteriana. Com o tempo surge um microbioma não simbiótico que juntamente com uma inflamação desregulada do hospedeiro, favorece o crescimento de certos micróbios neste biofilme capazes de produzir substâncias que exacerbam a inflamação, o que leva muitas vezes à destruição de tecido ósseo e consequentes perdas dentárias. (Alassy et al., 2019; Loos & Van Dyke, 2020; Niemiec, 2008; Scannapieco & Gershovich, 2020)

A placa bacteriana é um biofilme organizado de microrganismos que se aderem à superfície ou a outros microrganismos de tal modo que permite que estes sobrevivam e resistam a mecanismos de defesa do organismo ou a tratamentos antibióticos. À medida que o biofilme evolui, perde-se a relação de simbiose microbiana, como referido anteriormente, o que causa uma alteração de espécies Gram positivas para espécies maioritariamente Gram negativas e anaeróbias no ambiente subgengival. Adicionalmente, o metabolismo de hidratos pelo biofilme oral leva a uma produção de ácidos orgânicos que por sua vez diminuem o pH, desmineralizando a superfície dentária. (Bui et al., 2019)

A presença de bactérias como *P. intermedia*, *P. gingivalis* e *Tannerella forsythia* encontra-se relacionada com o risco aumentado de perda óssea e DP (Kinane, 2001; Loos & Van Dyke, 2020).

As principais bactérias associadas à periodontite são Gram negativas e entre elas estão a *Treponema*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella*, *Capnocytophaga*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* e *Eikenella*. Estas bactérias são consideradas como agentes causais da DP (Bui et al., 2019).

A presença de tártaro, que por sua vez provoca maior acumulação de placa bacteriana, é também um fator etiológico para o desenvolvimento de DP (Alassy et al., 2019; Donos, 2018).

1.4. Indicadores/fatores de risco

1.4.1. Doenças sistémicas

As doenças sistémicas podem afetar a resposta do hospedeiro e neste sentido podem contribuir como fatores de risco tanto para a gengivite como para a periodontite.

Neutropenia e síndrome de Down são duas condições clínicas associadas com a DP severa. Existe também evidência clínica de que se verifica uma associação positiva entre a diabetes mellitus e o risco aumentado de periodontite. A síndrome da imunodeficiência adquirida parece também estar relacionada com formas severas de gengivite e periodontite, que normalmente se manifesta como periodontite ulcerativa necrosante, no entanto outros estudos mais recentes contradizem estas afirmações, referindo que não parece haver uma maior predisposição para a periodontite nestes doentes. (Highfield, 2009; Kinane, 2001; Kinane et al., 2017; Loos & Van Dyke, 2020)

A diabetes mellitus é uma doença caracterizada por hiperglicemia, causada por deficiência na produção (diabetes mellitus tipo 1) ou na ação (diabetes mellitus tipo 2) da insulina, podendo ser herdada ou adquirida (Bui et al., 2019; Liccardo et al., 2019). A associação da diabetes mellitus com a DP foi reportada várias vezes ao longo dos anos, levando ao aprofundamento da sua investigação, tendo sido concluído que o tratamento da DP é capaz de reduzir os níveis de hemoglobina glicada em pacientes diabéticos (Liccardo et al., 2019).

A relação entre a periodontite e a diabetes mellitus tem interferência nos dois sentidos, no sentido em que tanto a periodontite tem influência na diabetes como o oposto também se verifica. A diabetes pode levar a diferentes complicações como fraca cicatrização, nefropatias e neuropatias, doença macrovascular, retinopatia e periodontite (Bui et al., 2019). Por outro lado, a infeção crónica associada à periodontite pode levar a respostas inflamatórias exacerbadas e desreguladas, que podem por sua vez levar a um fraco controlo metabólico do açúcar no sangue assim como um aumento do requerimento de insulina (Bui et al., 2019; Liccardo et al., 2019).

Um estudo recente realizado em pacientes com idade igual ou superior a 40 anos, demonstrou que a periodontite se encontrava significativamente mais prevalente em pacientes que sofriam de diabetes quando comparado com não-diabéticos, para pacientes do mesmo sexo e idade (Miguel-Infante et al., 2019). Níveis sistémicos de mediadores inflamatórios, incluindo a Proteína-C reativa, TNF- α e IL-6, que se encontram elevados na presença de DP, encontram-se também relacionados com a diabetes mellitus (Liccardo et al., 2019).

Assim como se verifica entre a periodontite e a diabetes mellitus, também a doença de Alzheimer apresenta uma relação bidirecional com a periodontite. Alzheimer é uma doença progressiva neuro-degenerativa caracterizada pela progressiva e irreversível

debilitação na memória, capacidade de raciocínio e linguagem assim como na capacidade de aprender, que culmina ultimamente na morte (Bui et al., 2019).

Kothari et al. (2016), no seu estudo demonstraram que indivíduos com danos cerebrais apresentavam uma maior prevalência para uma fraca higiene oral e para DP crónica generalizada. A relação oposta também se verifica pois os patógenos característicos da periodontite estão diretamente relacionados com a neuro-degeneração da doença de Alzheimer (Bui et al., 2019), uma vez que são responsáveis por induzir inflamação sistémica, disrupção do aporte de sangue para o cérebro, neuro-inflamação e neuro-degeneração (Kamer et al., 2020).

Por outro lado, a periodontite também pode constituir um fator de risco para outras doenças sistémicas. A microbiota da cavidade oral pode provocar inflamação neste meio, mas pode também contribuir para uma inflamação sistémica, aumentando o nível de inflamação através da entrada de microrganismos e toxinas para a corrente sanguínea (Bui et al., 2019).

Pacientes com DP têm um risco mais elevado de desenvolver doença cardiovascular. Uma meta-análise realizada por Bahekar et al. (2007), que combinou 5 estudos de cohort, que envolviam 86 092 pacientes, demonstrou que pacientes com periodontite apresentam um risco 1,14 vezes maior de desenvolver doença cardiovascular quando comparado com os grupos controlo; os estudos de caso-controlo pelos mesmo autores, com a inclusão de 1423 pacientes demonstraram um risco ainda maior de 2,22 vezes de desenvolver doença cardiovascular (Bahekar et al., 2007; Bui et al., 2019).

Determinou-se que os fatores de risco comuns à DP e à doença cardiovascular incluem o tabaco, a diabetes mellitus, a idade, o estatuto socioeconómico, a inflamação crónica, a imunossupressão, a história na família de alguma das patologias, a pobre nutrição, a obesidade e o stress. Devido à existência de múltiplos fatores comuns de risco, em muitos casos é difícil definir a relação causal de uma e de outra doença (Priyamvara et al., 2020).

1.4.2. Tabaco

O tabaco é um dos principais fatores de risco associado com a periodontite crónica destrutiva, apresentando um efeito destrutivo acentuado nos tecidos periodontais que se pode manifestar de várias formas. Existem estudos que comprovam que fumadores apresentam perda de inserção mais acentuada do que não-fumadores, o mesmo se verifica para a presença de bolsas e para a perda dentária (Becker et al., 2014; Bergstrom, 2004;

Scannapieco & Gershovich, 2020; Üstün & Ö. Alptekin, 2007). O tabaco tem um efeito potencialmente exacerbante da patogênese da DP uma vez que tem efeitos negativos no sistema imuno-inflamatório do paciente assim como na microbiota oral (Sa, 2014; Scannapieco & Gershovich, 2020). O seu efeito vascular de vasoconstrição e o efeito negativo na reação imunológica pode camuflar sinais de inflamação dos tecidos, como hemorragia, eritema e edema, dificultando o diagnóstico precoce da periodontite e levando a longo prazo à destruição óssea, formação de bolsas e eventualmente perda dentária (Becker et al., 2014; Bergstrom, 2004).

No caso de pacientes que deixam de fumar verifica-se um aumento inicial da inflamação dos tecidos com normalização à medida que o tempo progride (Bergstrom, 2004). Estudos demonstram também que a maioria dos pacientes que não responde bem ao tratamento da periodontite são fumadores (Becker et al., 2014; Bergstrom, 2004; Scannapieco & Gershovich, 2020).

Evidências científicas atuais demonstram que o risco relativo de contrair periodontite destrutiva é 5 a 6 vezes superior em fumadores comparativamente a não-fumadores, no entanto este risco pode aumentar para cerca de 10 a 15 vezes dependendo da exposição ao fator de risco. Com base noutros estudos é possível concluir que um fumador que fuma mais de 20 cigarros por dia durante 20 anos tem um risco 20 vezes superior de desenvolver DP destrutiva (Bergstrom, 2004).

1.4.3. Estatuto socioeconómico / raça

O estatuto socioeconómico assim como a raça são também indicadores de risco para a doença, o primeiro no sentido em que determina o acesso a cuidados de saúde oral e o segundo expressa-se essencialmente no sentido em que a prevalência para periodontite parece ser menor na raça caucasiana quando comparado com outras raças. (Kinane, 2001; Kinane et al., 2017; Michaud et al., 2017)

1.4.4. Genética

A genética também tem um papel como fator de risco para a DP e ainda estão a ser estudados os polimorfismos genéticos que podem aumentar a predisposição para a doença. Para além dos polimorfismos genéticos, acredita-se que a periodontite pode ser hereditária com uma probabilidade de ser herdada em cerca de 50% dos casos. (Kinane, 2001; Kinane et al., 2017; Loos & Van Dyke, 2020)

2. Peri-implantite

2.1. Definição

Assim como os dentes, os implantes endósseos emergem do osso pelos tecidos periodontais na cavidade oral, onde existem inúmeros microrganismos constituintes da microflora oral. A barreira de mucosa é altamente colonizada e recorrentemente sujeita a trauma nas funções normais. A colocação dos implantes envolve uma avaliação precisa, dependendo de uma adequada anatomia óssea, de tecidos moles favoráveis a cobrir este osso e de uma cavidade oral saudável. O sucesso a longo prazo da reabilitação com implantes depende não só da osteointegração, mas também da interface de tecido mucoso e do próprio implante. (Becker et al., 2014; Berglundh et al., 2019; Ephros et al., 2020; Zani et al., 2016)

Assim, dentes e implantes partilham as mesmas estruturas básicas de suporte, nomeadamente o sulco, o epitélio juncional e a interface de tecido conjuntivo. No entanto, os implantes têm uma interface de tecido conjuntivo mais fraca pois as fibras de colagénio apresentam uma orientação diferente do que os dentes, além de não apresentarem as fibras de Sharpey que fornecem um selamento preciso entre o osso e o cimento. Em adição, o suplemento de sangue aos tecidos peri-implantares pode não ser tão robusto como no periodonto natural devido à ausência de ligamento periodontal e à manipulação cirúrgica durante a colocação do implante (Ephros et al., 2020).

A integridade da barreira de mucosa depende da colocação adequada do implante num meio igualmente adequado que permitam conexões protéticas bem asseguradas. A manutenção desta barreira depende não só do médico dentista como do próprio paciente (Al-Sabbagh & Shaddox, 2019; Ephros et al., 2020).

Um implante é considerado saudável quando não existe evidência de sinais clínicos de inflamação em redor do mesmo, ou seja, os tecidos moles peri-implantares têm uma cor rosada e consistência firme, sem hemorragia e/ou supuração à sondagem, sem aumento das profundidades de sondagem e sem perda de osso marginal em redor do implante, para além do processo de remodelação óssea fisiológico inicial. Uma boa osteointegração desempenha um papel importante na manutenção da saúde no implante. (Berglundh et al., 2019; Dursun & Tözüm, 2016; Fu & Wang, 2020)

Por outro lado, os implantes podem apresentar mucosite peri-implantar, que é uma condição reversível que não envolve perda de osso, mas que se não for tratada pode evoluir para peri-implantite (PI). A PI já envolve perda de osso, sendo por isso irreversível

(Becker et al., 2014; Corrêa et al., 2019; Ephros et al., 2020; Fu & Wang, 2020; Janska et al., 2016). Esta tem origem num desequilíbrio do microbioma bacteriano que ativa uma resposta do hospedeiro que consiste num processo inflamatório (Alassy et al., 2019; Wang et al., 2016).

A mucosite peri-implantar define-se pela inflamação dos tecidos moles em redor do implante, caracterizando-se por um aspeto eritematoso e edemaciado dos tecidos gengivais, e pela presença de hemorragia e/ou supuração à sondagem com aumento das profundidades de sondagem, mas sem perda de osso marginal em redor do implante para além de 2 mm (Alassy et al., 2019; Berglundh et al., 2019; Corrêa et al., 2019; Ephros et al., 2020; Fu & Wang, 2020; Janska et al., 2016). A PI define-se como uma doença progressiva e irreversível do osso e tecidos moles em redor do implante osteointegrado, para além dos sinais clínicos presentes na mucosite. Em adição vai apresentar uma perda de osso em redor do implante, formação de bolsas mais profundas e supuração. (Alassy et al., 2019; Becker et al., 2014; Berglundh et al., 2019; Corrêa et al., 2019; Dursun & Tözüm, 2016; Ephros et al., 2020; Fu & Wang, 2020)

Na peri-implantite retrógrada (RPI) existe uma lesão periapical sintomática associada ao implante coronalmente osteointegrado. Acredita-se que esta está associada à retenção de bactérias no alvéolo após a extração, que podem permanecer no mesmo até um ano após a exodontia do dente (Ephros et al., 2020; Fu & Wang, 2020). Autores dividem os casos de RPI em dois grupos, o grupo 1 no qual a RPI ocorre aquando da colocação do implante podendo originar-se por contaminação do campo cirúrgico, uso de calor excessivo ou compressão na colocação do implante, osteotomias extensas, presença de corpos estranhos ou cargas oclusais prematuras que levem a microfraturas do osso; e o grupo 2 que se refere aos casos em que já existia doença, incluindo condições patológicas pulpo-periapicais no alvéolo da extração, raízes retidas, doença óssea subjacente, presença de radiotransparência periapical em dentes adjacentes ou células remanescentes de quistos ou granulomas (Ephros et al., 2020; Fu & Wang, 2020). Sintomas como dor e edema tanto podem manifestar-se tão cedo como uma semana após a colocação do implante, como acontecerem até quatro anos após a colocação do mesmo (Ephros et al., 2020; Fu & Wang, 2020). No tratamento da RPI a terapia com antibiótico é aconselhada, o tratamento pode passar pelo desbridamento cirúrgico do implante caso a lesão permaneça após a toma de antibiótico (Sarmast et al., 2016).

2.2. Prevalência

Dados relativos à prevalência da PI são inconsistentes e variam consideravelmente entre diversos estudos publicados.

Estes dados podem ser afetados por inúmeros fatores, entre os quais a duração do follow-up após a colocação do implante, quanto maior o período de follow-up maior a prevalência de PI. Outros fatores podem influenciar a prevalência como a má higiene oral, história de doença periodontal, certas doenças sistêmicas e o tabaco (Ephros et al., 2020). Dentro destes fatores, a história de DP é importante ter em consideração pois é regularmente a causa de perdas dentárias e necessidade de colocação de implantes, podendo estes pacientes apresentar um risco cinco vezes maior de desenvolver PI (Becker et al., 2014; Ephros et al., 2020).

Lee et al. (2017) conduziram uma revisão sistemática e meta-análise que estimou a prevalência média de PI, relativamente ao implante e relativamente ao sujeito. Encontraram que a prevalência seria 9,25% e 19,83%, baseada em implantes e baseada no sujeito respetivamente; e que a prevalência de mucosite baseada nos implantes e baseada nos sujeitos é de 29,48% e 46,83% respetivamente (Ephros et al., 2020).

Numa meta-análise mais antiga, Atieh et al. (2013) encontraram que a prevalência média de PI baseada nos implantes e baseada nos sujeitos seria 9,6% e 18,8% respetivamente. Para a mucosite peri-implantar é estimada uma prevalência baseada nos implantes e nos sujeitos de 30,7% e 63,4% respetivamente (Ephros et al., 2020).

Com base nestas duas meta-análises, cerca de metade dos pacientes com implantes vão desenvolver mucosite peri-implantar, e uma percentagem menor, mas significativa, vai perder osso em redor do implante (Ephros et al., 2020).

Noutro estudo, Derks, J. et al. (2015) determinaram que a prevalência de mucosite e PI é de cerca de 43% para os países da Europa e cerca de 22% para a América do Norte e do Sul. Zhang et al. (2018) concluíram num estudo prospetivo que a prevalência desta doença, relativamente ao paciente e relativamente ao implante, é de cerca de 19% e 11,2% respetivamente. (Fu & Wang, 2020)

Num questionário com avaliação clínica por Eke et al. (2009-2014) foi reportado que aproximadamente 42% dos americanos com mais de 30 anos desenvolveram PI e que destes, 7,8% desenvolveu uma forma severa da doença (Fu & Wang, 2020).

Derks e Tomasi (2015) reportaram na sua meta-análise que a prevalência de PI, fazendo a análise a nível do implante, é de 22%.

Um estudo mais recente de Pimentel et al. (2018) salientou que 9,2% dos implantes e 19,1% dos pacientes apresentavam PI (Corrêa et al., 2019).

Ferreira et al. (2018) concluíram na sua meta-análise que pacientes mais suscetíveis a desenvolver DP, como são os pacientes com história prévia de Periodontite, têm um risco 2,3 vezes maior de desenvolver PI, quando comparado com pacientes periodontalmente saudáveis (Fu & Wang, 2020).

Numa revisão sistemática foi determinada que a prevalência de mucosite peri-implantar pode variar de 19 a 65% com uma média de 43% e para a PI pode variar entre 1 e 47 % com uma média de 22%. (Dursun & Tözüm, 2016)

Joos-Jansaker et al. (2006) reportaram que a mucosite peri-implantar está presente em 48% dos implantes com follow-up de 9 a 14 anos. (Al-Sabbagh & Shaddox, 2019)

Gürlek et al. (2017) referem que a prevalência de mucosite varia entre 36,3% e 64,6% e a prevalência de PI varia entre 8,9% e 47,1%. (Gürlek et al., 2017)

Outro estudo referiu que a PI foi encontrada em 28-56% dos pacientes e 12-43% dos implantes após 5 anos de follow-up. (Zani et al., 2016)

Numa revisão narrativa foi determinado que a prevalência de PI era de 22% e a prevalência de mucosite era de 43%. (Alassy et al., 2019)

2.3. Etiologia

Estudos experimentais de indução de mucosite peri-implantar em humanos determinaram que a placa bacteriana é o agente etiológico principal na causa desta doença, e a sua remoção leva à restituição da saúde peri-implantar (Fu & Wang, 2020; Janska et al., 2016; Lachmann et al., 2007; Renvert et al., 2018).

Semelhante à periodontite, também a PI apresenta mais bactérias Gram-negativas quando comparado com localizações saudáveis, no entanto na PI existe uma maior diversidade microbiana do que na DP (Alassy et al., 2019; Rokaya et al., 2020).

Histologicamente, na PI, as lesões apresentam o dobro do tamanho quando comparado com as lesões de periodontite, apresentando também mais vasos sanguíneos e maior infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo. A PI demonstrou um aumento de 97% de nível de MMPs em doença, incluindo a MMP-8, o que na DP corresponde a 78%, quando comparado com tecidos saudáveis (Rokaya et al., 2020).

2.4. Indicadores/fatores de risco

Os fatores de risco associados à DP e à PI são muito idênticos entre si. Incluem a pré-existência de doenças sistêmicas, como a diabetes, o tabaco, história de periodontite, predisposição genética, entre outras. A não manutenção da saúde oral e dos implantes também está na causa do desenvolvimento da doença. (Alassy et al., 2019; Al-Sabbagh & Shaddox, 2019; Becker et al., 2014; Janska et al., 2016; Lachmann et al., 2007)

2.4.1. Doenças sistêmicas : diabetes

Doenças sistêmicas como a diabetes são importantes de ter em consideração, pois poderão constituir fatores de risco para o desenvolvimento de PI (Becker et al., 2014; Janska et al., 2016; Lachmann et al., 2007).

A Federação Internacional da diabetes estimou que cerca de 415 milhões de adultos, com idades entre os 20 e os 79 anos, correspondendo a 8,8% da população global, sofria de diabetes mellitus tipo 2 em 2015. Prevê-se que este número irá drasticamente aumentar para 642 milhões de adultos, correspondendo a 10,4% da população global, em 2040 (Fu & Wang, 2020).

Para a diabetes é essencial explorar os métodos usados para adquirir o controlo da glucose no sangue e assegurar o sucesso destes mesmos métodos. A hemoglobina glicada é um valor importante a ter em consideração nestes pacientes, pois permite recolher informação sobre os níveis de glucose no sangue nos três meses antecedentes, sendo uma ótima ferramenta para avaliar o nível de controlo da glicémia do paciente ao longo do tempo. Pacientes com fraco controlo dos níveis de glucose no sangue apresentam períodos de hiperglicémia, o que se traduz numa redução da quimiotaxia dos glóbulos brancos, num impacto na capacidade de cicatrização e num potencial efeito adverso na conexão implante-osso e na relação implante-tecidos moles (Corrêa et al., 2019; Ephros et al., 2020).

No meio oral, um estado hiperglicémico tem como consequência um aumento de inflamação, stress oxidativo, apoptose e alterações das funções das células polimorfonucleares. Existe uma sobre-regulação e libertação de citocinas pró-inflamatórias, assemelhando-se à resposta produzida pela placa bacteriana nos tecidos periodontais. Estes processos imunológicos suportam os achados clínicos, que revelam que níveis mais elevados de produtos de extremidade glicada em pacientes hiperglicémicos estão associados a um aumento do índice de placa, de hemorragia à

sondagem, da profundidade de sondagem, da perda de osso marginal e de perda da estabilidade do implante, quando comparado com pacientes saudáveis (Corrêa et al., 2019; Fu & Wang, 2020).

No estudo de Ferreira et al. (2006), foi demonstrado que a prevalência para PI era 24% numa amostra populacional de indivíduos a tomar medicação anti-hiperglicêmica ou apresentados com níveis de açúcar no sangue em jejum de 126mg/dL. Em contraste, apenas 7% dos pacientes saudáveis apresentavam PI (Fu & Wang, 2020).

Existe uma associação positiva entre a diabetes tipo 2 e a PI com uma razão de probabilidade de 1,89 para 2,50. Os pacientes com diabetes tipo 2 apresentavam uma probabilidade 3,39 vezes superior de desenvolver PI quando comparados com pacientes saudáveis quando o coeficiente “fumador” foi excluído da análise (Fu & Wang, 2020).

Outros estudos de Cohort reportaram uma análise contraditória na qual a hiperglicemia alterava sem dúvida a cicatrização do osso em redor do implante e a própria estabilidade do implante, mas não afetava a taxa de sobrevivência dos mesmos. Também reportaram não haver uma associação forte e considerável entre a hiperglicemia e a PI (Fu & Wang, 2020). Os resultados inconclusivos podem ser devido à distinção pouco clara entre a diabetes tipo 2 descontrolada e controlada e devido ao controlo glicémico ser reportado pelo próprio paciente (Fu & Wang, 2020).

De acordo com Al-Sowygh et al. (2018), a análise das concentrações de produtos finais da glicosilação avançada (AGEs) no FCPI de pacientes com diabetes mellitus tipo 2, com diferentes controlos glicémicos, encontrou níveis mais altos de AGEs em estados glicémicos mais elevados, sugerindo que os AGEs podem ser considerados como potenciais biomarcadores de inflamação no contexto de diabetes para a PI (Corrêa et al., 2019).

2.4.2. Tabaco

Fumadores devem ser aconselhados a descontinuar o hábito, pois os estudos demonstram que nos fumadores existe uma maior perda de osso marginal em redor do implante. Foi demonstrado que o tabaco afeta a cicatrização, reduz a resposta inflamatória quimiotática e afeta os mecanismos bactericidas. Estas consequências do tabaco podem contribuir para o desenvolvimento de PI e eventual falha do implante, visto que podem levar a uma maior incidência de perda de osso que aumenta a suscetibilidade para desenvolver a doença. (Corrêa et al., 2019; Ephros et al., 2020; Fu & Wang, 2020)

ArRejaie et al. (2019) também referem que os fumadores normalmente apresentam níveis mais elevados de citocinas pró-inflamatórias, maiores profundidades de sondagem, supuração e índices de placa e gengival mais elevados nas localizações com implantes, quando comparados com não-fumadores (Fu & Wang, 2020).

A análise do microbioma peri-implantar revelou que fumar resulta num aumento dos níveis de *Fusobacterium*, *Tannerella* e *Mogibacterium* que são bactérias altamente relacionadas com a inflamação dos tecidos (Fu & Wang, 2020).

Neste sentido, acredita-se que o tabaco está associado a um maior risco de desenvolver PI (Corrêa et al., 2019; Ephros et al., 2020; Fu & Wang, 2020).

No entanto um estudo transversal de Aguirre-Zorzano et al. (2015) que examinou 239 pacientes com implantes dentários durante um período de follow-up de 5 anos concluiu que a prevalência de PI era de 15% e que os fumadores não pareciam apresentar um risco mais elevado de desenvolver esta doença. (Fu & Wang, 2020)

Estes resultados contraditórios podem ser explicados pela possibilidade dos hábitos tabágicos serem maioritariamente auto reportados pelo paciente, e que a dose e duração do consumo de tabaco variavam consideravelmente entre cada estudo. Em adição, os efeitos do tabaco podem ser camuflados por outros fatores, como a manutenção de uma boa higiene oral, a aderência à manutenção periodontal e a suscetibilidade para a periodontite (Fu & Wang, 2020).

2.4.3. História de doença periodontal

A história de periodontite tem interesse tomar em consideração visto que está associada a alterações na microflora oral normal, que podem incluir um aumento na carga bacteriana assim como aumentos seletivos de organismos potencialmente patogénicos, que podem ter um impacto na integridade da interface de tecidos moles peri-implantares e em último caso na conexão com o osso (Chrcanovic et al., 2014; Heitz-Mayfield, 2008).

Agregatibacter actinomycetemcomitans e *Porphyromonas gingivalis* são bactérias que normalmente se encontram em pequenas quantidades no biofilme implantar saudável, mas podem tornar-se patógenos responsáveis pela mucosite peri-implantar e progressão para PI (Ephros et al., 2020; Fu & Wang, 2020).

Ferreira et al. (2018) concluíram na sua meta-análise que pacientes mais suscetíveis de desenvolver periodontite, como são os pacientes com história prévia de DP, têm um

risco 2,3 vezes maior de desenvolver PI, quando comparado com pacientes periodontalmente saudáveis (Fu & Wang, 2020).

Segundo Schou et al. (2006) é estimado que implantes que substituam dentes periodontalmente afetados tenham uma perda de 0,5mm superior de osso marginal após 5 anos (Fu & Wang, 2020).

Chrcanovic et al. (2014) concluíram no seu estudo que a taxa de falência para implantes em situações de história de DP é de 5,37% comparativamente a 3,84% em indivíduos saudáveis sem história de DP.

Dalago et al. (2017) referiram no seu estudo transversal que a história de DP se encontra associada a um maior risco de desenvolver PI, mencionando que este facto se pode atribuir à presença de patógenos periodontais na cavidade oral. Após a colocação do implante, rapidamente existe a colonização de bactérias na superfície do mesmo, neste sentido existe o risco aumentado de desenvolver PI quando existe história de DP.

2.4.4. Fatores relacionados com o implante

A superfície do implante tem um efeito significativo no sucesso da osteointegração de implantes de titânio (Zandim-Barcelos et al., 2019). A evolução das superfícies dos implantes dentários, desde os *designs* originais que usavam uma superfície maquinada até à atual superfície moderadamente rugosa, permitiu uma osteointegração mais rápida na fase inicial de cicatrização, assim como uma melhor estabilidade do implante, e melhores resultados a longo prazo (Fu & Wang, 2020; Heitz-Mayfield, 2008; Zandim-Barcelos et al., 2019).

Uma revisão de estudos longitudinais avaliou a rugosidade da superfície do implante em relação com a taxa de sobrevivência dos mesmos e reportou uma elevada taxa de sobrevivência de 98,4% para implantes de superfície rugosa com uma média de perda de osso marginal de 1,01mm, quando os implantes foram colocados apropriadamente e devidamente mantidos. A meta-análise revelou uma diferença significativa entre a média de perda de osso marginal entre superfícies moderadamente rugosas e ligeiramente rugosas dos implantes (1,01mm vs 0,86mm respetivamente) (Doornewaard et al., 2017).

Rakic et al. (2018) na sua meta-análise reportaram que implantes com moderada rugosidade de superfície estavam associados a uma prevalência mais baixa de PI (5,4% a nível do implante e 5,9% a nível do paciente) quando comparado com superfícies pouco rugosas e superfícies muito rugosas. Embora a existência de estudos com conclusões

diferentes, é certo que implantes com superfícies expostas rugosas são extremamente retentivos para a placa bacteriana e propensos ao desenvolvimento de PI. Neste sentido é aconselhada a seleção de implantes com colar não rugoso para minimizar a retenção de placa.

O material da coroa do implante pode também ter impacto no desenvolvimento de PI se o material selecionado não for o mais biocompatível. Saravanakumar et al. (2017) determinaram com o seu estudo que as coroas de zircónia eram as que exibiam menor inflamação nos tecidos após uma análise de 3 meses, com base nos níveis de IL-1 β no fluido crevicular peri-implantar (FCPI).

Supraestruturas do implante com sobrecontorno podem potenciar também a PI. Katafuchi et al. (2018) encontraram, com o seu estudo, que coroas sobre implantes com sobrecontorno com um ângulo de emergência superior a 30° apresentam uma prevalência duas vezes superior para desenvolver PI, quando comparadas com coroas com ângulos de emergência menos acentuados. Esta situação pode justificar-se pela dificuldade acrescida em manter um bom controlo de placa na plataforma do implante. Neste sentido é importante que, no momento da reabilitação com implante, a coroa seja colocada com um ângulo de emergência inferior a 30° para permitir uma melhor higienização da zona (Fu & Wang, 2020).

2.4.5. Fenótipo gengival

A espessura da mucosa e a quantidade de gengiva queratinizada aderida são componentes chave para caracterizar o fenótipo dos tecidos gengivais peri-implantares. Acredita-se que o biótipo gengival tem um papel importante na manutenção da saúde peri-implantar, pois este tem influência na facilidade de higienizar a cavidade oral e manter a estabilidade do osso marginal peri-implantar. No entanto, nos anos recentes, tornou-se mais evidente que implantes colocados em localizações com tecido gengival espesso (mais de 2mm) tinham 2 a 5 vezes menos reabsorção óssea do osso crestal quando comparados com localizações com tecido gengival pouco espesso (Fu & Wang, 2020; Grischke et al., 2019; Heitz-Mayfield, 2008).

Existe uma associação positiva entre a espessura do tecido gengival e a preservação do osso marginal peri-implantar, sendo referido que em locais onde existe maior espessura de tecido gengival existe uma média de 0,8mm mais osso do que em locais menos espessos (Dreyer et al., 2018; Fu & Wang, 2020; Grischke et al., 2019).

A maior parte dos estudos realizados com ensaios clínicos em humanos reportou que a presença de uma banda larga de gengiva queratinizada, com 2 mm ou mais, reduziu significativamente a acumulação de placa, a inflamação dos tecidos e as profundidade de sondagem, pois os pacientes apresentam menos desconforto na escovagem. Esta gengiva queratinizada também garantia uma proteção contra a recessão gengival e a perda de osso crestal (Dreyer et al., 2018; Fu & Wang, 2020; Grischke et al., 2019).

Neste sentido, para evitar a remodelação óssea na plataforma do implante em locais com biotipo gengival fino, enxertos de tecido mole autogeno ou substitutos de tecido mole podem ser usados para aumentar a espessura dos tecidos em redor do implante. Aumentando a espessura do tecido gengival permite aos pacientes uma maior facilidade na higienização oral e assim prevenir a PI (Dreyer et al., 2018; Fu & Wang, 2020).

Roccuzzo et al. (2016) realizaram um estudo longitudinal de 10 anos que revelou que quase metade dos pacientes, cerca de 43%, reportaram desconforto durante a higienização oral quando não havia gengiva queratinizada em redor dos implantes. No caso dos implantes rodeados por apenas mucosa alveolar, estes apresentavam significativamente mais placa bacteriana, cerca de 16%, quando comparado com os implantes rodeados por mucosa queratinizada.

Bonino et al. (2018) realizaram um estudo prospetivo no qual concluíram que os pacientes preferem ter mucosa queratinizada em redor do implante pois torna a reabilitação mais estética.

2.4.6. Mau controlo de placa bacteriana / falta de manutenção regular

É demonstrado em inúmeros estudos sobre a doença periodontal que o fraco controlo de placa ou a falta de manutenção regular estão associados a uma maior perda dos dentes, e perda de suporte ósseo. O que veio a realçar a importância de um controlo da infeção, tanto pelo paciente como pelo profissional nas consultas de manutenção para a prevenção da progressão da periodontite e para evitar o aparecimento de peri-implantite (Schwarz et al., 2018).

Um estudo longitudinal de 5 anos demonstrou que a incidência de PI se apresentava menor em pacientes que frequentavam as consultas de manutenção (18%), quando comparado com pacientes que não frequentavam estas consultas (44%) (Costa et al., 2012).

Estes resultados estão em concordância com os resultados de Roccuzzo et al. (2012), estes autores reportaram que pacientes que, num período de 10 anos, não frequentaram as

consultas de manutenção recomendadas requeriam mais tratamentos para a PI (41%) quando comparado com os pacientes que frequentavam as consultas de rotina (27%).

Serino & Ström (2009) revelaram com a sua análise científica que um paciente com pobre controlo da placa bacteriana apresentavam 3 vezes mais probabilidade de desenvolver PI do que pacientes com uma adequada higiene oral.

Está provado que a aderência do paciente à terapia de suporte apresenta uma redução significativa da probabilidade da ocorrência de PI (Ephros et al., 2020).

2.4.7. Genética

Shimpuku et al. (2003) sugerem que um polimorfismo genético específico do gene IL-1 (genótipo IL-1B-511 2/2) está relacionado com a perda precoce de osso marginal peri-implantar. Leite, MF., Santos, MC., de Sousa, AP. e Line, SR. (2008) sugerem também que um polimorfismo no promotor MMP-1 (G-1607GG), reconhecido por aumentar a atividade transcripcional, está relacionado com a falha do implante. Rakic, M., Petkovic-Curcin, A., Struillou, X., et. al (2015) demonstraram que os polimorfismos TNF α -308 A/G e CD14-159 C/T se encontram relacionados com o desenvolvimento de PI e poderiam contribuir como marcadores na doença. (Corrêa et al., 2019)

Estes polimorfismos poderão ter um papel importante no desenvolvimento da doença, entre estes, os polimorfismos do gene IL-1 têm particular destaque, existindo referências que pacientes com o genótipo positivo para este gene apresentam maior perda de osso marginal. (Heitz-Mayfield, 2008; Javed et al., 2011)

3. Fluido crevicular

3.1. Composição

Os avanços na tecnologia permitiram um maior aprofundamento nos conhecimentos na área da Periodontologia. Bill (1959) confirmou a presença de fluido crevicular em humanos e considerou esse fluido como sendo um transudado. Loe (1965) demonstrou que o fluido crevicular gengival (FCG) é um exsudado inflamatório e não um transudado contínuo. Assim, o FCG é então considerado um exsudado inflamatório e tem origem num processo inflamatório. (Attar et al., 2018; Barros et al., 2016; Wassall & Preshaw, 2016)

Numa localização saudável, o FCG consiste num fluido intersticial que aparece no sulco devido ao gradiente osmótico. Na presença de inflamação dos tecidos periodontais, este fluido apresenta-se com um aspeto semelhante a soro. Foi demonstrado histologicamente e clinicamente que a produção de FCG aumenta significativamente quando a gengiva está severamente inflamada. (Bevilacqua et al., 2016; Donos, 2018; Wassall & Preshaw, 2016)

O fluido crevicular (FC) tem na sua constituição mediadores inflamatórios, nomeadamente citocinas. Estas moléculas são capazes de regular respostas imunológicas locais e sistémicas assim como a própria cicatrização, entre outros processos biológicos. No caso de inflamação crónica, as citocinas têm um papel importante na fase inicial, regulando nomeadamente a progressão e a modulação do hospedeiro no caso da DP (Barros et al., 2016; Bostanci & Belibasakis, 2018; Firat et al., 2011; Wassall & Preshaw, 2016).

Para além das citocinas, fazem também parte da sua constituição outros mediadores para a DP e a PI, entre os quais fibroblastos, macrófagos e neutrófilos. Em adição as MMPs, principalmente a MMP-8 e a MMP-9 também são mediadores presentes no FC. Estas são libertadas por neutrófilos, fibroblastos e osteoclastos e levam à degradação do colagénio do tecido conjuntivo e do osso alveolar (Barros et al., 2016; Bostanci & Belibasakis, 2018; Faot et al., 2015; Janska et al., 2016; Rahnama et al., 2014).

Os macrófagos e neutrófilos, em resposta às bactérias, são ativados para produzir importantes mediadores inflamatórios como o TNF- α , IL-6, IL-1 e outras citocinas relacionadas com a resposta do hospedeiro. Para além destes mediadores, também fazem parte da constituição do FC, o RANKL (ligante do recetor ativador do fator nuclear kappa B) e a osteoprotegerina (OPG), assim como também a osteocalcina (Barros et al., 2016; Bostanci & Belibasakis, 2018; Dursun & Tözüm, 2016).

3.2. Mediadores inflamatórios de periodontite e peri-implantite no FC

O TNF- α é um marcador pró-inflamatório existente no FC que promove a perda de osso alveolar, participando na formação de osteoclastos (Corrêa et al., 2019; Dursun & Tözüm, 2016; Faot et al., 2015; Rahnama et al., 2014). Este induz também a apoptose de fibroblastos e assim a redução na capacidade de reparação dos tecidos peri-implantares (Dursun & Tözüm, 2016; Schierano et al., 2008).

As citocinas anti-inflamatórias são moléculas imunorreguladoras que controlam a resposta das citocinas pró-inflamatórias. Dentro destas existe a IL-10 que é secretada pelos linfócitos T, monócitos e queratinócitos e é ativada pelas células B, manifestando efeitos reguladores nos macrófagos, neutrófilos, células B e mastócitos. IL-1, IL-2, IL-4, IL-6 e IL-8 são outras interleucinas estudadas que estão presentes no FC (Faot et al., 2015; Firat et al., 2011; Rahnama et al., 2014).

A IL-1 é a principal citocina pró-inflamatória produzida essencialmente por macrófagos e por granulócitos e outras células (Corrêa et al., 2019; Faot et al., 2015; Machtei et al., 2006).

Dentro das citocinas, a IL-1 β é também de particular interesse na periodontite pois está relacionada com a reabsorção óssea, e estimula também a produção de eicosanóides. Esta pode ser encontrada em valores aumentados dentro do FCG em pacientes com DP, sendo então um mediador chave na resposta inflamatória do hospedeiro a inúmeras desordens inflamatórias, como é o caso da periodontite (Corrêa et al., 2019; Dursun & Tözüm, 2016; Faot et al., 2015; Firat et al., 2011; Lachmann et al., 2007).

Também está demonstrado que a inibição de IL-1 β reduz a progressão da inflamação dos tecidos (Dursun & Tözüm, 2016).

A IL-1 e o TNF- α são, como já referido, também mediadores chave na inflamação crónica e acredita-se que juntos tenham um efeito sinérgico na reabsorção óssea (Machtei et al., 2006).

A PGE-2 é outro mediador pró-inflamatório, esta é vasodilatadora, pelo que o aumento da sua concentração provoca um aumento da permeabilidade vascular em locais com inflamação, sendo um promotor local do metabolismo ósseo, encontrando-se assim associada à reabsorção óssea juntamente com osteoclastos, e encontra-se em concentrações mais elevadas no FC na presença de DP e PI. A sua ação provoca um aumento da secreção de MMPs (Dursun & Tözüm, 2016; Lachmann et al., 2007; Machtei et al., 2006; Rahnama et al., 2014).

O aumento da concentração de MMPs encontra-se associado com a destruição irreversível do tecido de conexão peri-implantar (Dursun & Tözüm, 2016; Machtei et al., 2006).

A elastase é uma enzima libertada pelos leucócitos e contribui também para o dano tecidual durante a inflamação. (Dursun & Tözüm, 2016)

A análise microbiológica de amostras de FCG e FCPI (fluido crevicular peri-implantar) demonstra também a presença de bactérias no fluido como *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Prevotella intermedia* (Alassy et al., 2019; Rahnama et al., 2014).

3.3. FC como meio de diagnóstico

O fluxo de FCG e FCPI varia de acordo com a condição clínica dos tecidos, sendo maior quando estes tecidos apresentam maior inflamação (Bhardwaj & Prabhuji, 2013; Wassall & Preshaw, 2016).

Indivíduos saudáveis têm uma taxa de fluxo de FCG que varia entre 3 e 8 mL por hora. Indivíduos com periodontite moderada têm uma taxa de fluxo de FCG de cerca de 20 mL por hora, no caso de periodontite severa estas taxas podem ser tão altas como 137 mL por hora (Chibebe et al., 2008). O volume e a taxa de fluxo de FCG variam consoante a alteração na permeabilidade dos tecidos, que ocorre nos estágios iniciais de inflamação (Bhardwaj & Prabhuji, 2013; Chibebe et al., 2008).

A análise do FCG e do FCPI poderá constituir uma análise não-invasiva da DP e da PI, respetivamente, tendo em consideração os indicadores e marcadores da destruição óssea, podendo inclusivamente ser útil na determinação da gravidade da doença. O volume de fluido aumenta com o aumento da permeabilidade vascular do sulco ou bolsa causada pela ação dos mediadores inflamatórios, sofrendo também, a composição do fluido, alterações nestas condições (Rahnama et al., 2014).

Na presença de DP, os patógenos periodontais estimulam a libertação de biomarcadores imunológicos como o TNF- α , a IL-1 β , IL-6, IL-7, RANKL (Gürlek et al., 2017; Javed et al., 2011; Machtei et al., 2006). A maioria das espécies bacterianas envolvidas na patogénese da periodontite são Gram negativas como a *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Porphyromonas gingivalis*, que são bactérias associadas à destruição periodontal. (Gürlek et al., 2017; Javed et al., 2011, 2011)

As MMPs, IL-1 β , PGE2 e TNF- α são dos mediadores mais relevantes na reabsorção óssea e apresentam-se em concentrações mais elevadas na presença de periodontite, contudo numa fase de tratamento periodontal de suporte e na ausência de inflamação é de esperar uma redução na concentração destes marcadores (Machtei et al., 2006; Morado Pinho et al., 2012).

Foi demonstrado em vários estudos que tanto o TNF- α como a IL-1 β , presentes no fluido crevicular, podem ser utilizados para o diagnóstico precoce de PI. Investigadores descrevem uma sobre-regulação da IL-1 β na mucosite e na PI. Em adição, evidência científica confirmou que níveis de IL-1 se encontram positivamente correlacionados com o insucesso de implantes. (Nowzari et al., 2008; Wang et al., 2016).

Outros estudos demonstraram também que a concentração de IL-1 β e de IL-8 se apresenta significativamente aumentada no FCPI em pacientes com PI, enquanto que as concentrações da citocina anti-inflamatória IL-10 encontram-se reduzidas na PI. A IL-17, cuja resposta inflamatória é mediada por Th17 (células T 17 “helper”), é outra molécula pró-inflamatória que intervém em inúmeras ações inflamatórias biológicas que incluem o recrutamento de neutrófilos e macrófagos e a estimulação de outros mecanismos pró-inflamatórios. Neste contexto, a IL-23 tem um papel crucial em intensificar a resposta das Th17 (Corrêa et al., 2019; Dursun & Tözüm, 2016).

Estudos que avaliaram os níveis de IL-17, IL-23 e a expressão genética do TGF- β para tecidos peri-implantares saudáveis e doentes, demonstraram uma predominância da resposta de Th17 e uma diminuição da resposta de Treg (Linfócitos T reguladores) na presença de PI, quando comparada com uma condição de saúde peri-implantar, especialmente causado pelo aumento dos níveis de IL-23 e diminuição dos níveis de TGF- β (fator de crescimento transformante β) observado nos tecidos peri-implantares (Corrêa et al., 2019; Dursun & Tözüm, 2016; Faot et al., 2015).

Duarte et al. (2016), na sua revisão sistemática, procuraram determinar se os níveis de citocinas no FCPI poderiam ser utilizados para diferenciar implantes saudáveis de implantes com PI, tendo determinado que a maioria dos estudos descreviam uma concentração aumentada, estatisticamente significativa, de mediadores pró-inflamatórios, no FCPI em implantes com PI comparativamente a implantes saudáveis.

Zani et al. (2016) realizaram um estudo transversal, no qual analisaram o perfil dos biomarcadores, usando uma larga escala de 20 analitos potencialmente relacionados com a patogénese da PI, no FCPI de implantes saudáveis e implantes com PI. Neste estudo confirmaram que os biomarcadores locais podem contribuir para distinguir saúde peri-implantar de doença. De acordo com os modelos logísticos deste estudo, a combinação de 6 biomarcadores: Flt-3L (ligante da tirosina quinase 3 do tipo FMS), GM-CSF (fator estimulante da colónia de macrófago-granulócito), IL-10, sCD40L (recetor de CD40 humano solúvel), IL-17 e TNF- α ; aumentou significativamente a capacidade de realizar

um diagnóstico quando comparado ao modelo de diagnóstico de biomarcadores isolados. Em adição, entre as 20 moléculas analisadas, IL-10, IL-15, IL-17, o antagonista do recetor da IL-1 (IL-1ra), Flt-3L, moduladores das células T : sCD-40L, GM-CSF, TNF- α e PDGF-BB (fator de crescimento, subunidade BB, derivado de plaquetas), foram encontrados em pelo menos 13% dos modelos utilizados, indicando que estes analitos poderiam ser mais bem estudados como prováveis mediadores para o diagnóstico de PI.

Modificações no padrão individual da resposta do hospedeiro no FC também pode ter um impacto nos níveis de MMPs, nomeadamente a MMP-1, MMP-7 e a MMP-8. As MMPs, em especial a MMP-8 que é considerada a principal metaloproteinase de matriz na periodontite, exercem uma ação fundamental em inúmeros processos inflamatórios com repercussões nos tecidos através da destruição da matriz extracelular e dos componentes da membrana basal. A MMP-8, foi descrita como o primeiro sinal do desenvolvimento de PI e parece estar relacionada com o desenvolvimento de mucosite em redor do implante, em resposta aos depósitos de placa, como referido por Basegmez, C. (2012) e Salvi, GE. (2012). Thierbach et al. (2016) e Ramseier et al. (2016) também suportaram que os níveis de MMP-8 se encontram aumentados em implantes diagnosticados com PI. Kivelä-Rajamaki, M. et al (2003) no seu estudo transversal encontraram também que os níveis de MMP-8 aumentados no FC podem indicar a presença de uma fase ativa da doença inflamatória peri-implantar e, como referido por Arakawa et al (2012) no seu estudo, a MMP-8 é a principal colagenase na PI ativa. Irshad et al. (2013) também revelaram que níveis aumentados de mediadores inflamatórios, como a MMP-1, em fibroblastos de locais com PI, em resposta a *P. gingivalis*, podem ter um impacto relevante na patogénese da PI. (Corrêa et al., 2019; Dursun & Tözüm, 2016)

Na presença de lesões em redor do implante, a sobre-regulação de marcadores pró-inflamatórios e metaloproteinases nos tecidos peri-implantares pode também induzir a quimiotaxia de osteoclastos ativos, modificando o padrão de expressão de mediadores de reabsorção/remodelação de osso em redor do implante. Arikian et al. (2011) também reportaram no seu estudo níveis reduzidos de OPG e aumentados de RANKL em locais com PI quando comparado a locais saudáveis. Contrariamente, outros autores reportaram que o ratio RANKL/OPG se encontrava aumentado na presença de PI quando comparado com saúde peri-implantar, suportando o negativo impacto da reabsorção de osso alveolar na PI. No seguimento, Rakic et al. (2013) demonstraram que não só as concentrações de RANK, sRANKL e OPG se encontravam aumentadas em pacientes com PI, quando comparados com pacientes saudáveis, como também os níveis de esclerostina, um

marcador reconhecido que leva a uma diminuição da formação de osso. De acordo com estes dados, RANKL, OPG e esclerostina podem ser considerados biomarcadores de prognóstico na PI (Corrêa et al., 2019; Wang et al., 2016).

Che et al. (2018) revelaram que a OPN (osteopontina) pode exercer um papel crucial na produção de IL-1 β e na apoptose na PI. Como é evidenciado pela investigação no FCPI de pacientes e por estudos experimentais em culturas de células, a OPN pode ter um papel na redução da inflamação ao reduzir a concentração de citocinas pro-inflamatórias na PI (Corrêa et al., 2019).

A OPN é um marcador osteo-imunoinflamatório para o desenvolvimento e mineralização de osso e também para a inflamação infecciosa como um modulador imunológico que regula a produção de citocinas. No entanto este mediador ainda precisa de ser mais investigado para avaliar a sua real relação com a PI. (Corrêa et al., 2019; Faot et al., 2015)

Níveis mais elevados de fosfatase alcalina e elastase também se encontram presentes no FCPI em implantes com PI, comparativamente a implantes saudáveis (Dursun & Tözüm, 2016).

Schminke et al. (2015) demonstraram que as BMPs (proteínas ósseas morfogénicas), em especial a BMP-7, se encontravam em menores concentrações em tecido ósseo inflamado quando comparado com tecidos peri-implantares saudáveis (Corrêa et al., 2019).

Recker et al. (2015) determinaram que a IL-17A e o TNF- α se encontram aumentados tanto na presença de PI como na presença de DP, no entanto encontram-se em concentrações mais elevadas no primeiro.

3.4. Meios de recolha do FC

Uma grande vantagem técnica de diagnóstico através do FC é que a sua recolha consiste numa técnica simples e não invasiva (Bostanci & Belibasakis, 2018; Rahnama et al., 2014; Wang et al., 2016) .

Este fluido pode ser recolhido com recurso a vários métodos, entre os quais, micropipetas, fios torcidos, lavagens creviculares e tiras de papel absorventes. Sendo este último um método mais aplicável para a recolha do FC visto que dos métodos disponíveis é o que provoca menos trauma nos tecidos moles. Por esse motivo, o risco de ocorrer um aumento da produção de fluido, por estimulação mecânica, é mais reduzido com esta

técnica, servindo a própria tira de papel estéril para a medição de volume desse mesmo fluido, mas também permite analisar até cerca de 100 analitos em cada tira. Após a recolha do fluido com tiras de papel absorventes (periopaper), que permanecem 30 segundos no sulco ou bolsa, o volume pode ser medido com recurso ao Periotron 8000 (Oraflow Inc). (Alassy et al., 2019; Attar et al., 2018; Günday et al., 2014; Wang et al., 2016)

O Periotron é um aparelho eletrónico desenhado para a análise do volume de fluido crevicular e de fluxo salivar. As tiras de papel absorventes absorvem entre 0 e 1,2 µl de FC do sulco/bolsa gengival, quantificando o seu volume através da inserção da tira de papel entre os seus elétrodos (Attar et al., 2018; Barros et al., 2016; Chibebe et al., 2008; Firat et al., 2011; Wassall & Preshaw, 2016). O Periotron 8000 (Oralflow Inc., New York, NY, USA), visível na Figura 1, constitui a versão mais recente do dispositivo. É capaz de quantificar o volume de fluido crevicular através das tiras de Periopaper mencionadas anteriormente. Este mede a capacitância elétrica de uma tira de papel húmida em contacto com a sua superfície. Neste contacto é criado um campo elétrico com cargas opostas que induz a polaridade das moléculas, reduzindo a diferença de potencial entre as placas e aumentando a capacitância. Deste modo, quanto maior o número de moléculas polares na tira de papel, maior a capacitância e consequentemente maior a pontuação do Periotron. A capacitância consiste numa grandeza escalar que mede a capacidade de armazenamento de energia, de dispositivos elétricos, relacionando carga com diferença de potencial. (Sehdev et al., 2017)

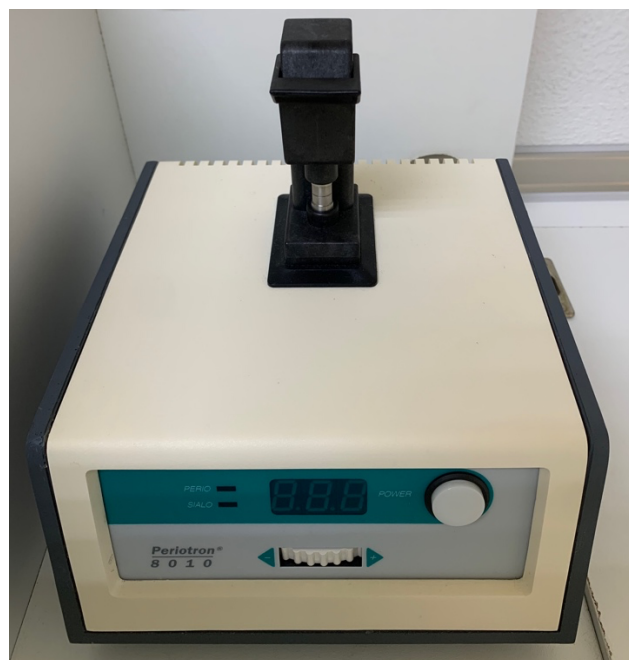


Figura 1 - Periotron 8000 (Oraflow Inc., New York, NY, USA). Figura do autor

O fluido crevicular, mesmo sendo um método de diagnóstico e prognóstico promissor, é também extremamente sensível a fatores externos, que podem comprometer o seu potencial como diagnóstico de DP e PI. Foi já demonstrado que o seu volume é influenciado por fatores como a estimulação mecânica, sendo de esperar que haja uma maior produção de fluido após as refeições. A concentração de hormonas também tem um papel importante na produção deste fluido, assim como o tabaco, a terapia periodontal e certos fármacos como anti-inflamatórios e antibióticos, tendo sido inclusivamente demonstrado que tetraciclinas são excretadas pelo FCG e que a azitromicina provoca uma diminuição do volume do fluido. A hora do dia também parece afetar o volume de fluido assim como a profundidade e anatomia do sulco ou bolsa. Também é importante ter em consideração que este fluido tem características únicas que garantem uma extrema variação entre diferentes localizações (Günday et al., 2014; Gunpinar et al., 2017; Hatipoğlu et al., 2007).

3.5. Análise do conteúdo imunológico do FC

Após a recolha do FC é possível fazer a sua análise molecular, para esta é necessário conservar a amostra. Esta pode ser conservada colocando a amostra num tubo próprio individual que é armazenado, congelado em nitrogénio líquido, e colocado num congelador a -80°C até à sua análise (Morado Pinho et al., 2012; Recker et al., 2015; Wang et al., 2016; Wassall & Preshaw, 2016).

A análise molecular dos seus componentes pode ser feita com recurso a uma centrífugadora, que irá permitir a extração do material que poderá ser analisado recorrendo a ensaios de imunoabsorção enzimática como ELISA (Bostanci & Belibasakis, 2018; Faot et al., 2015; Firat et al., 2011; Gunpinar et al., 2017; Lachmann et al., 2007).

O ensaio clínico utilizando ELISA baseia-se em testes de captura de antigénios por anticorpos presentes nos poços das placas de microtitulação (Wassall & Preshaw, 2016). Este ensaio é muito usado em Periodontologia. O antigénio utilizado neste ensaio clínico encontra-se ligado a uma fase sólida. Esta fase sólida é constituída por tubos e microplacas que podem ser constituídos de poliestireno rígido, polivil ou polipropileno. A microplaca escolhida deve ser capaz de absorver adequadamente o antigénio e o anticorpo, sem absorver os componentes de outras fases. A fosfatase alcalina, beta

galactosidase, peroxidase e glicose oxidase são enzimas que podem ser empregadas no ensaio ELISA. Os efeitos catabólicos das enzimas determinam a velocidade e especificidade da reação imunológica durante a reação substrato-enzima, esta pode ficar completa no período de 30 a 60 minutos. Os resultados são lidos com recurso a um espectrofotômetro e em 400-600nm. (Aydin, 2015)

Luminex também é um método que pode ser utilizado para a análise do conteúdo imunológico do FC (Dursun & Tözüm, 2016). Este ensaio permite a análise de uma amostra mais elevada, comparativamente com o ensaio ELISA. Luminex é uma técnica baseada nos princípios da citometria de fluxo que permite a análise simultânea de 100 analitos diferentes, permitindo também realizar bioensaios tanto imunoquímicos, como enzimáticos de recetor para ligante e testes de ácido nucleico (Khalifian, 2015; Mountjoy, 2021). Neste ensaio, os reagentes, que podem constituir anticorpos, oligonucleotídeos, substratos, entre outros, são ancorados na superfície das microesferas de poliestireno. Cada uma dessas microesferas tem um espectro de emissão único, permitindo a identificação simultânea de todas as microesferas e assim a própria identificação da reação ou teste que está a decorrer em cada superfície. Cada microesfera está marcada com fluoróforos criando uma proporção entre cada uma, no sentido em que a primeira se apresenta com 100% do primeiro fluoróforo e 0% do segundo, a segunda microesfera apresenta 99% do primeiro e 1% do segundo, seguindo esta proporção até que 100 microesferas sejam perfeitamente identificáveis dentro do tubo de reação. Após as diferentes incubações, nas quais os fluoróforos se fixam aos reagentes específicos do ensaio, a placa na qual ocorreu a reação é lida com recurso ao sistema específico de Luminex no qual as microesferas passam pelo fluxo da corrente. (Khalifian, 2015)

Outros métodos incluem a análise LC-MS/MS (Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas) e análise proteómica (Barros et al., 2016). A investigação do conteúdo proteico do FC com recurso à espectrometria de massas parece ser útil na pesquisa de biomarcadores de periodontite (Kido et al., 2012). A proteómica é o estudo global de todos os aspetos das proteínas e a espectrometria de massas tem vindo a ser um dos métodos mais informativos para esse mesmo estudo. Esta oferece informação complementar para a informação estrutural detalhada obtida através de métodos de fase condensada, como é o caso da espectroscopia por ressonância magnética nuclear e da cristalografia de raios X. Algumas vantagens da espectrometria de massas são a facilidade de automatizar, é uma técnica mais sensível e fácil de conjugar com diferentes técnicas de separação e tem também como vantagem poder ser usada em misturas mais complexas.

Um dos principais objetivos da proteômica baseada na espectrometria de massas é identificar e quantificar proteínas e as suas modificações após a sua tradução, podendo esta identificação ser realizada para misturas de proteínas purificadas, enriquecidas ou complexas. A LC-MS/MS constitui um método de análise proteômica de conjugação de cromatografia líquida com a espectrometria de massas. (Matthiesen & Bunkenborg, 2013)

II. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi submetido à Comissão de Ética da Cooperativa de Ensino Superior Egas Moniz, tendo sido aprovado no dia 28 de janeiro de 2021 (Anexo 1).

Todos os pacientes envolvidos no estudo assinaram um consentimento informado (Anexo 2). O local de recolha da amostra foi a Clínica Dentária Egas Moniz, tendo sido autorizada a mesma pela Direção Clínica.

Todas as avaliações clínicas e recolhas feitas neste estudo foram realizadas pelo mesmo operador.

A amostra foi constituída por 18 pacientes, 4 do sexo masculino e 14 do sexo feminino, acompanhados na unidade curricular de Periodontologia da Clínica Dentária Egas Moniz.

A cada paciente foi atribuído um questionário, que recolheu informação relativa a dados sociodemográficos, e dados que serviram para a inclusão ou exclusão do paciente no estudo (Anexo 3).

Como critérios de exclusão considerou-se a presença de hábitos tabágicos, presença de doença imune ou inflamatória, história de Hepatite e toma recente de antibiótico ou anti-inflamatórios (nos últimos 6 meses). Pacientes com implantes em função há menos de 2 anos foram excluídos. Lesão hiperplásica do tecido mole e tratamento ortodôntico foram também critérios de exclusão.

A amostra foi constituída por 4 grupos, um grupo caracterizado por presença de saúde periodontal (grupo 1), outro relativo a saúde peri-implantar (grupo 3), outro caracterizado pela presença de periodontite (grupo 2) e outro referente a pacientes com peri-implantite (grupo 4).

O grupo 1 e 2 tiveram como critérios de inclusão a existência de pelo menos um dente monorradicular, com saúde periodontal no caso do primeiro grupo e periodontite no caso do grupo 2. Para a inclusão nos grupos 3 e 4 os critérios foram a existência de pelo menos um implante há mais de 2 anos em função, com saúde peri-implantar para o grupo 3 e com peri-implantite para o grupo 4.

Saúde periodontal foi definida pela presença de profundidades de sondagem ≤ 3 mm e hemorragia à sondagem em menos de 10% das localizações, ausência de edema e eritema, ausência de perda de inserção e perda óssea e ausência de sintomas do paciente (Caton et al., 2018; Chapple et al., 2018).

A presença de periodontite considerou-se nos casos em que se verificou CAL (perda de inserção) interproximal em 2 ou mais dentes não adjacentes, ou CAL vestibular ou lingual de 3 ou mais milímetros com profundidades de sondagem ≥ 3 mm em 2 ou mais dentes. Considerando-se estas condições quando a CAL teve causas relacionadas com a periodontite, excluindo recessão gengival com origem traumática, cáries dentárias que se estendem na área cervical do dente, CAL na face distal de um segundo molar e associada a má posição dentária ou extração do terceiro molar, lesão endodôntica drenando através do periodonto marginal, e ocorrência de fratura radicular vertical. (Tonetti et al., 2018)

Saúde peri-implantar definiu-se pela ausência de sinais clínicos de inflamação, ausência de hemorragia e/ou supuração à sondagem, e ausência de perda óssea além das mudanças no nível da crista óssea resultantes da remodelação óssea inicial. No caso de haver registos anteriores de profundidade de sondagem do implante, considera-se que não houve perda óssea se não houver aumento dessa profundidade de sondagem. Dentro destes aspetos, o mais importante a ter em consideração é a ausência de sinais clínicos de inflamação, sendo importante ter em consideração que a profundidade de sondagem do implante depende da altura dos tecidos moles relativamente à localização do implante. Neste sentido pode considerar-se a existência de saúde peri-implantar em redor de implantes com diferentes níveis de suporte ósseo. A remodelação óssea inicial corresponde a uma perda de até 2 mm, pelo que variações de mais de 2 mm durante o primeiro ano após a colocação do implante, devem ser consideradas patológicas. (Araujo & Lindhe, 2018; Berglundh et al., 2018)

A presença de peri-implantite considerou-se em situações onde se verificou hemorragia e/ou supuração à sondagem. Na ausência de dados de exame prévio, considerou-se PI também na presença de profundidades de sondagem ≥ 6 mm, níveis ósseos ≥ 3 mm para apical da porção mais coronal da parte intraóssea do implante. Na presença de recessão da mucosa marginal, esta deve ser considerada na avaliação da profundidade de sondagem. No caso de existir referência dos valores de profundidade de sondagem iniciais do implante, considerou-se também a existência de patologia no caso de se verificar um aumento dessa profundidade, e perda óssea além das mudanças do nível da crista óssea resultantes da remodelação óssea inicial. (Berglundh et al., 2018; Schwarz et al., 2018)

A análise do volume do fluido crevicular gengival e peri-implantar foi feita com recurso ao Periotron 8000 (Oralflow Inc., New York, NY, USA), utilizando tiras de papel absorventes, com 1,4cm que conseguem absorver volumes até 1,2 μ L. O Periotron

permite a medição de volume do fluido através da detecção de mudanças de condutividade entre um Periopaper de controlo, seco, e uma tira de teste que contém o fluido. Este aparelho foi previamente calibrado (Figura 2) com recurso a soro de cavalo, micropipetas e às respetivas tiras estéreis de PerioPaper. A calibração foi realizada através de uma curva excel usando a fórmula: $y = -203,42x^4 + 497,92x^3 - 435,3x^2 + 319,78x - 6,2895$ ($R^2 = 0,9994$).

A calibração do aparelho foi feita através da média (arredondada a uma casa decimal) de três valores obtidos com o Periotron 8000 para cinco volumes diferentes de soro de cavalo (0,25 µL, 0,5 µL, 0,75 µL, 1 µL e 1,25 µL), através dos quais se obteve a curva de calibração.



Figura 2 – Calibração do Periotron 8000 (Oralflow Inc., New York, NY, USA). Figura do autor

O procedimento clínico de recolha de fluido crevicular começou pelo isolamento do dente ou implante com rolos de algodão e secagem da superfície externa dos tecidos moles, com ar, durante 5 segundos. A placa supragengival visível foi removida com recurso a curetas manuais. De seguida a tira estéril foi inserida no sulco ou bolsa, de forma atraumática para evitar a estimulação mecânica do fluido (Figura 3), até ser sentida resistência, independentemente da profundidade de sondagem. Aguardou-se 30 segundos até à sua remoção.

A medição da profundidade de sondagem nos locais em questão foi feita com recurso a uma sonda periodontal CP12. Esta deve ser realizada numa data prévia à data da recolha, de modo que esta medição não estimulasse a produção de fluido crevicular no momento da recolha. (Alassy et al., 2019; Bevilacqua et al., 2016; Hyun & Lee, 2009; Machtei et al., 2006; Morado Pinho et al., 2012; Nowzari et al., 2008)

As amostras recolhidas contaminadas com sangue e/ou saliva foram descartadas. É possível ver na Figura 3 o exemplo de uma recolha que foi descartada por estar contaminada com sangue.



Figura 3 - Inserção de Periopaper no sulco/bolsa. Figura do autor

Foi criada uma base de dados no Microsoft Excel, com todos os dados recolhidos ao longo da investigação. Esta base de dados incluía o dente/implante selecionado de cada paciente da amostra, assim como a profundidade de sondagem e localização da recolha, juntamente com a pontuação obtida do Periotron e a sua conversão para microlitros.

O tratamento estatístico dos dados foi realizado com recurso ao *software* IBM SPSS Statistics, versão 27.0. Na análise estatística descritiva foram utilizadas medidas de média e desvio padrão, assim como o valor mínimo e máximo recolhidos. Na análise estatística inferencial foi utilizado o teste de Friedman, para verificar a existência de diferenças significativas entre o volume de fluido crevicular e a presença de saúde/doença para dentes/implantes.

III. RESULTADOS

No presente estudo optou-se por recolher o máximo de medições possíveis no máximo de pacientes possível no prazo de 25 de março de 2021 a 17 de julho de 2021.

Foram selecionados 18 pacientes para o estudo, entre os quais 4 eram do sexo masculino e 14 eram do sexo feminino, com idades entre os 36 e os 75 anos, sendo a média de 60 anos. O grupo do sexo feminino apresenta uma média de idades de 59 anos e o grupo do sexo masculino apresenta uma média de idades de 64 anos.

Todos os pacientes selecionados tinham 1 ou mais implantes em função há pelo menos 2 anos, período indicado para permitir uma boa osteointegração, nenhum paciente era fumador ou possuía alguma doença imune ou inflamatória. Também foram excluídos pacientes que tomaram antibiótico ou anti-inflamatório regularmente nos últimos 6 meses visto que ambos têm influência não só no diagnóstico de gengivite, mucosite peri-implantar, DP e/ou PI como também no próprio volume de fluído crevicular (Attar et al., 2018; Bevilacqua et al., 2016).

Dos 18 pacientes, 3 são incluídos nos 4 grupos de análise (saúde periodontal, saúde peri-implantar, DP e IP), 8 são incluídos no grupo saúde-saúde e 7 são incluídos no grupo doença-doença. Assim sendo o grupo saúde-saúde tem um N=11 e o grupo doença-doença tem um N=10. Os 3 pacientes incluídos nos 4 grupos de análise são os 3 do sexo feminino. Dentro do grupo saúde-saúde estão incluídos 2 pacientes do sexo masculino e 9 pacientes do sexo feminino, e no grupo doença-doença estão incluídos 2 pacientes do sexo masculino e 8 pacientes do sexo feminino.

A análise estatística foi realizada com recurso ao teste de Friedman de forma a avaliar se existem diferenças significativas entre os diferentes grupos.

As seguintes tabelas dizem respeito aos valores recolhidos.

Mais precisamente, a tabela 1 é constituída pelos 3 pacientes que foram incluídos nos quatro grupos e contém as pontuações obtidas do Periotron e a sua conversão para uL, assim como o dente/implante selecionado e a localização e profundidade de sondagem (PS) na zona da recolha.

Tabela 1 – Dados recolhidos para os 3 pacientes incluídos nos 4 grupos

Nº		1	2	3
Dente/Implante PS	Grupo 1	12 2MV	13 3CV	13 3MV
	Grupo 2	41 4DV	42 5DV	45 4ML
	Grupo 3	11 2DV	14 4MV	22 2MV
	Grupo 4	22 5DV	17 12MV	12 6MV
Periotron uL	Grupo 1	12 0,06	83 0,43	19 0,09
	Grupo 2	96 0,51	168 0,97	64 0,31
	Grupo 3	30 0,13	95 0,50	34 0,15
	Grupo 4	102 0,55	189 1,23	110 0,60

A tabela 2 contém todos os dados relativos aos pacientes que foram incluídos nos dois grupos de saúde. Sendo a amostra de N=11, é possível ver na tabela qual o dente/implante selecionado para a recolha, assim como a localização selecionada e respetiva PS, também é possível ver as pontuações obtidas pelos Periotron para cada localização e a sua conversão para uL.

Tabela 2 - Dados recolhidos para os grupos de saúde

Nº	Dente/Implante PS		Periotron uL	
	Grupo 1	Grupo 3	Grupo 1	Grupo 3
1	12 2MV	11 2DV	12 0,06	30 0,13
2	13 3CV	14 4MV	83 0,43	95 0,50
3	13 3MV	22 2MV	19 0,09	34 0,15
4	11 2DV	16 5MP	71 0,35	102 0,55
5	13 3MV	15 2CV	17 0,08	34 0,15
6	22 3DV	14 2MV	21 0,10	59 0,28
7	13 3DV	15 3MV	8 0,05	44 0,20
8	22 2DV	26 2DV	25 0,11	31 0,14
9	35 3MV	36 3MV	23 0,10	43 0,20
10	11 2DV	26 2MV	7 0,04	27 0,12
11	11 2MV	23 5DP	17 0,08	80 0,41

Na tabela 3 constam os valores respetivos para os grupos de doença. Sendo a amostra de N=10. Assim como nas tabelas anteriores, é possível ver qual o dente/implante de onde foi realizada a recolha, assim como a localização da mesma e a sua PS. Consta também na tabela a pontuação obtida do Periotron e a sua conversão para uL.

Tabela 3 - Dados recolhidos para os grupos de doença

Nº	Dente/Implante PS		Periotron uL	
	Grupo 2	Grupo 4	Grupo 2	Grupo 4
1	41 4DV	22 5DV	96 0,51	102 0,55
2	42 5DV	17 12MV	168 0,97	189 1,23
3	45 4ML	12 6MV	64 0,31	110 0,60
4	32 4DV	22 5CP	155 0,88	119 0,66
5	43 6MV	35 6DV	182 1,08	176 1,03
6	11 4DV	32 6MV	78 0,40	150 0,85
7	12 4DV	11 6MV	187 1,15	189 1,23
8	21 4DV	13 5DP	100 0,54	122 0,67
9	45 4MV	14 9MV	79 0,40	111 0,61
10	44 4MV	26 6MV	66 0,32	110 0,60

Na tabela abaixo, constam as médias, desvio padrão e valor máximo e mínimo de cada grupo.

Tabela 4 – Estatística Descritiva para os grupos 1-4 na unidade de Periotron

PERIOTRON	N	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÁXIMO	MÍNIMO
Grupo 1	11	27,55	7,61	83	7
Grupo 2	10	117,50	15,73	187	64
Grupo 3	11	52,64	8,27	102	27
Grupo 4	10	137,80	11,06	189	102

Para o grupo 1, que apresenta uma amostra de N=11, a média para os valores recolhidos do Periotron foi de $27,55 \pm 7,61$. Dentro deste grupo o valor mais alto que foi recolhido corresponde a 83, na unidade do Periotron, e o valor mínimo corresponde a 7.

Para o grupo 2, com N=10, a média dos valores foi de $117,50 \pm 15,73$. O valor máximo obtido neste grupo foi de 187 e o valor mínimo foi de 64.

No caso do grupo 3, o número da amostra corresponde a 11 e a média dos valores recolhidos é igual a $52,64 \pm 8,27$. Neste grupo o valor máximo e mínimo obtidos corresponde a 102 e 27, respetivamente.

Os implantes com peri-implantite, correspondente ao grupo 4, N=10, obtiveram uma média de valores obtidos de $137,80 \pm 11,06$ em que o valor máximo obtido foi 189 e o valor mínimo foi 102.

Na tabela abaixo constam os valores que se apresentam na tabela 4 convertidos para uL.

Tabela 5 – Estatística Descritiva para os grupos 1-4, na unidade de microlitros

uL	N	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÁXIMO	MÍNIMO
Grupo 1	11	0,14	0,04	0,43	0,04
Grupo 2	10	0,66	0,10	1,15	0,31
Grupo 3	11	0,26	0,05	0,55	0,12
Grupo 4	10	0,80	0,08	1,23	0,55

O valor em microlitros foi convertido através dos valores obtidos no Periotron, com recurso à equação obtida através da curva de calibração.

Nesta unidade de medida, sabemos, após a análise descritiva dos dados recolhidos, que para o grupo 1, com uma amostra igual a 11, a média de volume corresponde a $0,14\mu\text{L} \pm 0,04$ e os valores máximo e mínimo correspondem a $0,43\mu\text{L}$ e $0,04\mu\text{L}$ respetivamente.

No grupo 2, com uma amostra igual a 10, a média de volume calculada com os valores obtidos corresponde a $0,66\mu\text{L} \pm 0,10$. Neste grupo o volume mais alto obtido foi de $1,15\mu\text{L}$ e o mais baixo de $0,31\mu\text{L}$.

Para o grupo 3, com N=11, a média de volume corresponde a $0,26\mu\text{L} \pm 0,05$, para este grupo o volume máximo recolhido foi de $0,55\mu\text{L}$ e o volume mínimo foi de $0,12\mu\text{L}$.

Os implantes com peri-implantite (grupo 4) apresentam uma média de volume de fluido crevicular de $0,80\mu\text{L} \pm 0,08$. Neste grupo o número da amostra foi igual a 10 e o volume máximo e mínimo recolhido foi de $1,23\mu\text{L}$ e $0,55\mu\text{L}$ respetivamente.

Na análise comparativa foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os valores de volume de fluido crevicular dos grupos em estudo ($p=0,029$, teste de Friedman). Em concreto, tal verificou-se exclusivamente na comparação entre Grupo 1 (saúde periodontal) e o Grupo 4 (peri-implantite) ($p=0,004$).

Tabela 6 – Comparação por Método Pairwise dos grupos 1 a 4

AMOSTRA	Sig.
Grupo 1 – Grupo 3	0,343
Grupo 1 – Grupo 2	0,058
Grupo 1 – Grupo 4	0,004
Grupo 2 – Grupo 3	0,343
Grupo 3 – Grupo 4	0,058
Grupo 2 – Grupo 4	0,343

IV. DISCUSSÃO

O registo de volume de FC é útil como um indicador geral de inflamação. (Wassall & Preshaw, 2016)

O volume do fluido absorvido por um Periopaper pode ser quantificado usando o Periotron 8000. É importante que, assim que o fluido seja recolhido com as respetivas tiras de papel absorvente, estas sejam inseridas no aparelho o mais rápido possível para que a evaporação seja mínima. (Bevilacqua et al., 2016; Wassall & Preshaw, 2016)

É importante ter em consideração que existem fatores que podem influenciar o volume de FC, nomeadamente a hora do dia e a profundidade e anatomia do sulco/bolsa. Neste sentido se as recolhas forem realizadas sempre no mesmo fuso horário e os dentes/implantes incluídos apresentarem características idênticas entre si, a margem de erro dos resultados é diminuída. A estimulação mecânica também é um fator que provoca um aumento na produção de fluido crevicular, assim como a concentração de hormonas sexuais, a terapia periodontal e certos fármacos. (Günday et al., 2014; Gunpinar et al., 2017) (Gunpinar et al., 2017)

Os pacientes fumadores foram excluídos do estudo, pois o volume de FC é significativamente mais baixo quando comparado com não-fumadores, mesmo havendo uma tendência para profundidades de sondagem maiores em fumadores, comparativamente com não-fumadores (Javed et al., 2011; Üstün & Ö. Alptekin, 2007).

Os valores de referência para o Periotron consideram que valores de Periotron entre 0 e 20 correspondem a uma gengivite incipiente, em que não há sinais ou sintomas clínicos visíveis de inflamação e os danos são potencialmente reversíveis com uma boa higiene oral. Esta fase corresponde ao início da resposta imunitária em que há um aumento da permeabilidade dos vasos e o fluído passa para o sulco transportando plasma e leucócitos polinucleares. Nesta fase começa a destruição de fibras de colagénio. Para valores de Periotron entre 20 e 40 já existe um ligeiro edema da gengiva e pode haver hemorragia à sondagem, nesta fase existe uma gengivite progressiva. Células epiteliais passam através do fluido crevicular para o sulco que continua a drenar. O colagénio perivascular é substituído por fluído, plasma de proteínas e células inflamatórias. Nesta fase existe alguma perda permanente de colagénio. Valores de Periotron que se encontrem entre 40 e 80 dizem respeito a uma gengivite moderada e periodontite, em que existe edema visível com hemorragia à sondagem. Nesta fase já existe aumento das

profundidades de sondagem. Valores que se encontrem entre 80 e 200 dizem respeito a uma periodontite severa, em que existe recessão gengival e perda óssea marcadas e eventualmente perda de dentes. No entanto estes valores são apenas uma referência e não devem ser tratados como absolutos no diagnóstico, visto que muitos fatores têm interferência no volume de FC. (Attar et al., 2018; Hyun & Lee, 2009)

Tendo em conta esta escala de referência, verifica-se que realmente os grupos de saúde deste estudo apresentam pontuações de Periotron mais reduzidas quando comparadas com os grupos de doença, também se verifica que localizações de implantes apresentam uma tendência para apresentar pontuações mais elevadas, e assim volumes mais elevados de fluido crevicular. Na tabela 1, exposta nos resultados, vemos que as pontuações de Periotron para os dois grupos de doença (grupo 2 e 4) se encontram acima de 64. Tais pontuações colocam estes grupos na situação de gengivite moderada e periodontite para os valores até 80 e numa situação de periodontite severa para os valores acima de 80, segundo a escala de referência. Para os dois grupos de saúde (grupo 1 e 3), verifica-se que foram obtidas pontuações que se inserem na categoria de gengivite incipiente (pontuações de Periotron de 0 a 20). No grupo 1 obtivemos pontuações dentro desse intervalo em 6 das 11 amostras recolhidas. Das restantes 5 pontuações, 3 apresentaram valores até 25 e 2 valores entre 71 e 83. Para o grupo de saúde respetivo a localizações de implantes (grupo 3), a pontuação mais baixa obtida foi de 27 e a mais elevada de 102.

Estes valores atípicos para os grupos de saúde podem justificar-se com os fatores mencionados anteriormente como potenciais modificadores da produção de fluido crevicular gengival e peri-implantar. Um destes fatores é o facto dos implantes, mesmo em situações de saúde, poderem apresentar profundidades de sondagem mais elevadas.

Bevilacqua et al. (2016), no seu estudo, determinaram que o volume de fluido crevicular era semelhante para dentes e implantes com as mesmas condições de saúde ou de doença ativa. Em contrapartida, encontraram diferenças significativas entre os volumes de fluido crevicular entre dentes/implantes com saúde e doença ($p < 0,05$), para os quais os volumes de FC na presença de peri-implantite se encontravam aproximadamente 3 vezes superior comparativamente com o implante saudável. Encontraram correlações significativas entre a profundidade de sondagem e o volume de FCG ($p = 0,890$; $p < 0,005$) e de FCPI ($p = 0,810$; $p < 0,005$) apenas no caso de saúde periodontal ou peri-implantar, significando que quando maior a profundidade de sondagem, maior o volume de FC (Bevilacqua et al., 2016).

Verificou-se uma tendência, ainda que não seja estatisticamente significativa, semelhante neste estudo, em que se obtiveram pontuações mais elevadas para os implantes comparativamente com os dentes (quer em saúde, quer em doença), situação que se pode justificar em parte pela profundidade de sondagem que pode ser superior em implantes mesmo em condições de saúde, sendo possível analisar também que os implantes com PI apresentavam pontuações de Periotron cerca de duas vezes superiores comparativamente com implantes saudáveis. Também se verificou alguma tendência para pontuações mais elevadas nas localizações com maior profundidade de sondagem.

Tözüm et al. (2007) focaram-se na pesquisa de semelhanças entre a produção de FCG e FCPI em dentes e em implantes em estádios de inflamação ativos, no entanto o seu estudo apresenta-se com resultados questionáveis pois nem todos os sujeitos selecionados no estudo apresentavam as quatro situações de interesse (locais com saúde periodontal, doença periodontal, saúde peri-implantar e peri-implantite). Bevilacqua et al. (2016) optaram então por selecionar para o estudo apenas sujeitos que apresentassem os quatro grupos em questão para reduzir o risco de viés devido a variabilidade intra sujeito. Os resultados do seu estudo vão de acordo com os estudos anteriores, demonstrando que existe um aumento de volume do FCG e do FCPI em locais com doença comparativamente a locais com saúde. Com base nesta informação, Bevilacqua et al. (2016) afirmaram que a produção de fluido crevicular está principalmente relacionada com a presença de uma lesão inflamatória ativa e não tanto com a estrutura histológica do sulco/bolsa (Bevilacqua et al., 2016).

Este autor também verificou que o fluxo de FC parece estar relacionado diretamente com o volume de FCG e FCPI de dentes e implantes saudáveis, o mesmo não se verificou em casos de doença ativa. Isto pode indicar que em condições fisiológicas, o sulco produz pequenas quantidade de fluido que lentamente são drenadas para fora deste, numa quantidade proporcional à profundidade do sulco. Esta ausência aparente de relação entre o fluxo de fluido e a presença de doença ativa pode justificar-se pelo facto de na presença de inflamação ocorrer um aumento da produção deste fluido. No entanto esta produção varia entre cada sujeito e entre cada dente e implante, dependendo da anatomia e histopatologia de cada sulco e/ou bolsa e dependendo das características da microbiota. Sendo assim é importante ter em consideração que uma bolsa mais profunda não é necessariamente a bolsa mais inflamada. Assim, no estudo de Bevilacqua et al. (2016) foi concluído que os volumes de FCG e FCPI eram semelhantes nos locais com saúde com

uma PS menor ou igual a 3, assim como nos locais com doença ativa e PS superior ou igual a 5. O que se apresenta em conformidade com o presente estudo.

Também o presente estudo procurou que os pacientes do estudo fossem incluídos nos quatro grupos, no entanto devido a limitações do tamanho de amostra e de tempo, apenas 3 dos pacientes deste estudo se apresentam nessas condições. Mesmo assim, foi possível observar a mesma tendência analisada no estudo de Bevilacqua et al. (2016), de que o fluido crevicular aparenta ter maior fluxo em localizações com doença inflamatória ativa.

No estudo de Bevilacqua et al. (2016) também encontraram que o volume de fluido apresentava-se maior na presença de doença tanto periodontal como peri-implantar, e no caso de saúde, os valores mais elevados de volume pareciam estar relacionados apenas com a profundidade de sondagem. Com os resultados deste estudo os investigadores salientaram a necessidade de em investigações futuras se procurar caracterizar bem os grupos, reduzindo ao máximo a possibilidade de viés. Uma limitação do estudo, considerada pelos autores, foi a inclusão de pacientes com diferentes sistemas de implantes, embora ainda não seja conhecido se esse ponto poderá afetar o fluxo de FC. Especificamente, o tipo de conexão do implante, a superfície do implante, o comprimento do perímetro do implante, o tipo de aplicação protética e o protocolo cirúrgico. (Bevilacqua et al., 2016)

Bhardwaj & Prabhuji (2013) concluíram no seu estudo que os volumes de FCPI se encontravam significativamente mais elevados em locais com mucosite e PI, quando comparado com locais com saúde peri-implantar. Os seus dados revelaram que o volume de FCPI era tanto maior quanto maior fosse a severidade da inflamação dos tecidos. O grupo com peri-implantite também demonstrou volumes significativamente mais elevados quando comparado com o grupo com mucosite. Relativamente aos volumes de FCG, também reportaram diferenças significativas entre os grupos com saúde, gengivite e DP. Estes investigadores também compararam os volumes de FC baseado na sua localização maxilar ou mandibular, mas concluíram que as diferenças não eram significativas. Quando foram comparados os volumes de FCG e FCPI com as profundidades de sondagem de cada localização, foi encontrada uma forte correlação positiva, indicando que quanto maior a profundidade de sondagem, maior o volume de fluido (Bhardwaj & Prabhuji, 2013).

Como no estudo de Bhardwaj & Prabhuji (2013), também o presente estudo demonstrou diferenças entre os grupos de saúde e doença, no entanto as mesmas só foram estatisticamente significativas quando comparado o grupo de saúde para localizações de

dente (grupo 1) e o grupo de PI (grupo 4). Esta situação pode dever-se ao reduzido número de amostra deste estudo, que comparativamente com o estudo de Bhardwaj & Prabhuji (2013) é inferior. No presente estudo também parece haver uma associação entre a profundidade de sondagem e o volume de fluido, no entanto esta condição não foi analisada estatisticamente pois o número de amostra não permitia que os resultados fossem estatisticamente relevantes. Mesmo assim, esta tendência pode justificar-se pela simples anatomia do sulco/bolsa, que possuindo uma maior área naturalmente também será capaz de armazenar um maior volume deste fluido. Esta relação é mais evidente na comparação dos grupos 2 e 4 (DP-PI).

Verificou-se que em situação de doença os volumes de FCG e FCPI se encontram mais elevados, isto acontece porque em situação de inflamação e/ou doença periodontal ou peri-implantar existe uma maior produção deste fluido. No entanto, após a análise estatística, os resultados deste estudo relataram que apenas se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos 1 e 4 ($p=0,029$, teste de Friedman). Em concreto, tal verificou-se exclusivamente na comparação entre dente saudável (grupo 1) e PI (grupo 4), com $p=0,004$.

Estes resultados podem dever-se às limitações do estudo, visto que não foi possível fazer recolhas sempre na mesma hora e não foi possível controlar se o paciente fez alguma refeição antes da consulta. Existe evidência de que se verifica uma maior produção de FC após uma refeição. Devido à limitação de tempo e de pacientes não foi possível determinar um intervalo mais curto para os valores de profundidade de sondagem, pelo que foram feitas recolhas para cada grupo sem que todos os dentes/implantes de cada grupo de saúde e doença tivessem a mesma profundidade de sondagem, o que parece interferir com o volume de fluido. Por outro lado, não foi possível limitar as recolhas apenas à arcada superior para diminuir a possibilidade de contaminação por saliva. Fatores como a idade do paciente e o fuso horário da recolha, que são fatores provados como tendo influência no volume de fluido, não foram possíveis de individualizar, dadas as limitações de tempo e da população estudada.

V. CONCLUSÃO

Este estudo teve como objetivo a análise volumétrica comparativa do fluido crevicular em quatro localizações distintas: dente saudável, dente com periodontite, implante saudável e implante com peri-implantite, com o intuito de determinar se existem diferenças significativas entre situações de saúde e doença. Em adição pretendeu-se também, com este estudo, avaliar se existem diferenças volumétricas, estatisticamente significativas, nas localizações com implantes comparativamente a zonas de dentes, nas mesmas condições de saúde e doença.

Verificou-se que existem diferenças estatisticamente significativas entre o grupo saúde periodontal e o grupo peri-implantite e que há uma tendência para valores mais elevados em situações de doença independentemente se estamos a considerar implantes ou dentes. Os valores mais elevados foram observados nos implantes com doença. Este facto e o facto de só se obter uma diferença estatisticamente significativa entre o grupo saúde periodontal e peri-implantite pode relacionar-se com a maior agressividade da patologia peri-implantar comparativamente à patologia periodontal.

Foram encontradas algumas limitações na realização deste estudo que, no futuro, seria de interesse serem evitadas para reproduzir os melhores resultados possíveis. A restrição do tamanho da amostra foi uma das limitações encontradas, uma vez que esta foi constituída por pacientes da clínica universitária Egas Moniz e sujeita a múltiplos fatores de exclusão, resultando no final num número de amostra mais reduzido. A limitação de tempo de 4/5 meses também se demonstrou uma dificuldade acrescida à restrição da amostra. Por outro lado, este número reduzido de pacientes passíveis de serem incluídos no estudo levou a uma dificuldade em limitar as recolhas de fluido exclusivamente à mandíbula ou à maxila, tornando difícil controlar variáveis como a contaminação por saliva que apresenta um risco maior de ocorrer a nível mandibular. A hora do dia foi também uma variável difícil de controlar neste estudo, constituindo um fator que pode interferir com o volume do fluido.

O fluido crevicular apresenta-se como um fator de diagnóstico promissor para a avaliação da severidade de inflamação dos tecidos periodontais e/ou peri-implantares, não só a nível da sua análise imunológica como também através da análise do seu volume, que aparenta ser tanto maior quanto mais severa for a inflamação. Em investigações futuras seria de interesse diminuir ao máximo o número de variáveis que podem interferir

Análise volumétrica do fluido crevicular gengival e do fluido crevicular peri-implantar em locais com saúde e doença

com o volume do fluído, para que se possa padronizar o melhor método de recolha, de forma a incluir esta análise nos meios de diagnóstico da DP e da PI.

VI. BIBLIOGRAFIA

- Alassy, H., Parachuru, P., & Wolff, L. (2019). Peri-Implantitis Diagnosis and Prognosis Using Biomarkers in Peri-Implant Crevicular Fluid: A Narrative Review. *Diagnostics*, 9(4), 214. <https://doi.org/10.3390/diagnostics9040214>
- Al-Sabbagh, M., & Shaddox, L. M. (2019). Is Peri-Implantitis Curable? *Dental Clinics of North America*, 63(3), 547–566. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2019.02.003>
- Araujo, M. G., & Lindhe, J. (2018). Peri-implant health. *Journal of Periodontology*, 89, S249–S256. <https://doi.org/10.1002/JPER.16-0424>
- Attar, N. B., Banodkar, A. B., Gaikwad, R. P., Patil, C. L., & Simon, S. (sem data). Evaluation of gingival crevicular fluid volume in relation to clinical periodontal status with periotron 8000. *International Journal of Applied Dental Sciences*, 4.
- Attar, N. B., Banodkar, A. B., Gaikwad, R. P., Patil, C. L., & Simon, S. (2018). Evaluation of gingival crevicular fluid volume in relation to clinical periodontal status with periotron 8000. *International Journal of Applied Dental Sciences*, 4.
- Aydin, S. (2015). A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*, 72, 4–15. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.04.012>
- Bahekar, A. A., Singh, S., Saha, S., Molnar, J., & Arora, R. (2007). The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis: A meta-analysis. *American Heart Journal*, 154(5), 830–837. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2007.06.037>
- Barros, S. P., Williams, R., Offenbacher, S., & Morelli, T. (2016). Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontology 2000*, 70(1), 53–64. <https://doi.org/10.1111/prd.12107>
- Becker, S. T., Beck-Broichsitter, B. E., Graetz, C., Dörfer, C. E., Wiltfang, J., & Häsler, R. (2014). Peri-Implantitis versus Periodontitis: Functional Differences Indicated by Transcriptome Profiling: The Peri-Implantitis Transcriptome. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 16(3), 401–411. <https://doi.org/10.1111/cid.12001>
- Berglundh, T., Armitage, G., Araujo, M. G., Avila-Ortiz, G., Blanco, J., Camargo, P.

- M., Chen, S., Cochran, D., Derks, J., Figuero, E., Hämmerle, C. H. F., Heitz-Mayfield, L. J. A., Huynh-Ba, G., Iacono, V., Koo, K.-T., Lambert, F., McCauley, L., Quirynen, M., Renvert, S., ... Zitzmann, N. (2018). Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, *45*, S286–S291. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12957>
- Berglundh, T., Jepsen, S., Stadlinger, B., & Terheyden, H. (2019). Peri-implantitis and its prevention. *Clinical Oral Implants Research*, *30*(2), 150–155. <https://doi.org/10.1111/clr.13401>
- Bergström, J. (2004). Tobacco smoking and chronic destructive periodontal disease. *Odontology*, *92*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s10266-004-0043-4>
- Bevilacqua, L., De Biasi, M., Lorenzon, M. G., Frattini, C., & Angerame, D. (2016). Volumetric Analysis of Gingival Crevicular Fluid and Peri-Implant Sulcus Fluid in Healthy and Diseased Sites: A Cross-Sectional Split-Mouth Pilot Study. *The Open Dentistry Journal*, *10*(1), 131–138. <https://doi.org/10.2174/1874210601610010131>
- Bhardwaj, S., & Prabhuji, M. L. V. (2013). Comparative volumetric and clinical evaluation of peri-implant sulcular fluid and gingival crevicular fluid. *Journal of Periodontal & Implant Science*, *43*(5), 233. <https://doi.org/10.5051/jpis.2013.43.5.233>
- Bonino, F., Steffensen, B., Natto, Z., Hur, Y., Holtzman, L. P., & Weber, H. (2018). Prospective study of the impact of peri-implant soft tissue properties on patient-reported and clinically assessed outcomes. *Journal of Periodontology*, *89*(9), 1025–1032. <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0031>
- Bostanci, N., & Belibasakis, G. N. (2018). Gingival crevicular fluid and its immune mediators in the proteomic era. *Periodontology 2000*, *76*(1), 68–84. <https://doi.org/10.1111/prd.12154>
- Bui, F. Q., Almeida-da-Silva, C. L. C., Huynh, B., Trinh, A., Liu, J., Woodward, J., Asadi, H., & Ojcius, D. M. (2019). Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomedical Journal*, *42*(1), 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.12.001>
- Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L. C., Jepsen, S., Kornman, K. S., Mealey, B. L., Papapanou, P. N., Sanz, M., & Tonetti, M. S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of Clinical*

Periodontology, 45, S1–S8. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12935>

Chapple, I. L. C., Mealey, B. L., Van Dyke, T. E., Bartold, P. M., Dommisch, H., Eickholz, P., Geisinger, M. L., Genco, R. J., Glogauer, M., Goldstein, M., Griffin, T. J., Holmstrup, P., Johnson, G. K., Kapila, Y., Lang, N. P., Meyle, J., Murakami, S., Plemons, J., Romito, G. A., ... Yoshie, H. (2018). Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, 89, S74–S84. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0719>

Chibebe, P. C., Terreri, M., Ricardo, L. H., & Pallos, D. (2008). *Uma visão atual do fluido gengival crevicular como método de diagnóstico periodontal*. 8.

Chrcanovic, B. R., Albrektsson, T., & Wennerberg, A. (2014). Periodontally compromised vs. periodontally healthy patients and dental implants: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Dentistry*, 42(12), 1509–1527. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2014.09.013>

Corrêa, M. G., Pimentel, S. P., Ribeiro, F. V., Cirano, F. R., & Casati, M. Z. (2019). Host response and peri-implantitis. *Brazilian Oral Research*, 33(suppl 1), e066. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0066>

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>

Dalago, H. R., Schuldt Filho, G., Rodrigues, M. A. P., Renvert, S., & Bianchini, M. A. (2017). Risk indicators for Peri-implantitis. A cross-sectional study with 916 implants. *Clinical Oral Implants Research*, 28(2), 144–150. <https://doi.org/10.1111/clr.12772>

Donos, N. (2018). The periodontal pocket. *Periodontology 2000*, 76(1), 7–15. <https://doi.org/10.1111/prd.12203>

Doornewaard, R., Christiaens, V., De Bruyn, H., Jacobsson, M., Cosyn, J., Vervaeke, S., & Jacquet, W. (2017). Long-Term Effect of Surface Roughness and Patients' Factors on Crestal Bone Loss at Dental Implants. A Systematic Review and Meta-Analysis: Long-Term Effect of Surface Roughness and Patients' Factors. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 19(2), 372–399. <https://doi.org/10.1111/cid.12457>

Dreyer, H., Grischke, J., Tiede, C., Eberhard, J., Schweitzer, A., Toikkanen, S. E., Glöckner, S., Krause, G., & Stiesch, M. (2018). Epidemiology and risk factors of peri-implantitis: A systematic review. *Journal of Periodontal Research*, *53*(5), 657–681. <https://doi.org/10.1111/jre.12562>

Duarte, P. M., Serrão, C. R., Miranda, T. S., Zanatta, L. C. S., Bastos, M. F., Favari, M., Figueiredo, L. C., & Feres, M. (2016). 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 Periodontal Research*, *51*(6), 689–698. <https://doi.org/10.1111/jre.12354>

Dursun, E., & Tözüm, T. F. (2016). Peri-Implant Crevicular Fluid Analysis, Enzymes and Biomarkers: A Systemetic Review. *Journal of Oral and Maxillofacial Research*, *7*(3). <https://doi.org/10.5037/jomr.2016.7309>

Eke, P. I., Dye, B. A., Wei, L., Slade, G. D., Thornton-Evans, G. O., Borgnakke, W. S., Taylor, G. W., Page, R. C., Beck, J. D., & Genco, R. J. (2015). Update on Prevalence of Periodontitis in Adults in the United States: NHANES 2009 to 2012. *Journal of Periodontology*, *86*(5), 611–622. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.140520>

Ephros, H., Kim, S., & DeFalco, R. (2020). Peri-implantitis. *Dental Clinics of North America*, *64*(2), 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2019.11.002>

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>

Firat, E., Ercan, E., Gurgan, S., Cakir, F. Y., & Berker, E. (2011). The Effect of Bleaching Systems on the Gingiva and the Levels of IL-1 β and IL-10 in Gingival Crevicular Fluid. *Operative Dentistry*, *36*(6), 572–580. <https://doi.org/10.2341/10-058-C>

Fu, J., & Wang, H. (2020). Breaking the wave of peri-implantitis. *Periodontology 2000*, *84*(1), 145–160. <https://doi.org/10.1111/prd.12335>

Grischke, J., Karch, A., Wenzlaff, A., Foitzik, M. M., Stiesch, M., & Eberhard, J. (2019). Keratinized mucosa width is associated with severity of peri-implant mucositis. A cross-sectional study. *Clinical Oral Implants Research*, *30*(5), 457–465. <https://doi.org/10.1111/clr.13432>

Günday, S., Topcu, A. O., Ercan, E., & Yamalik, N. (2014). Analysis of Daytime Variations in Gingival Crevicular Fluid: A Circadian Periodicity? *Journal of*

- Periodontology*, 85(3), e47–e56. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.130367>
- Gündoğar, H., & Uzunkaya, M. (sem data). *The Effect of Periodontal and Peri-Implant Disease on Gingival Crevicular Fluid and Peri-Implant Sulcus Fluid: A Cross Sectional, Pilot Study*. 1.
- Gunpinar, S., Alptekin, N., & Dundar, N. (2017). Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 in patients with aggressive periodontitis. *Oral Diseases*, 23(6), 763–769. <https://doi.org/10.1111/odi.12658>
- Gürlek, Ö., Gümüş, P., Nile, C. J., Lappin, D. F., & Buduneli, N. (2017). Biomarkers and Bacteria Around Implants and Natural Teeth in the Same Individuals. *Journal of Periodontology*, 88(8), 752–761. <https://doi.org/10.1902/jop.2017.160751>
- Hatipoğlu, H., Yamalik, N., Berberoğlu, A., & Eratalay, K. (2007). Impact of the Distinct Sampling Area on Volumetric Features of Gingival Crevicular Fluid. *Journal of Periodontology*, 78(4), 705–715. <https://doi.org/10.1902/jop.2007.060331>
- Heitz-Mayfield, L. J. A. (2008). Peri-implant diseases: Diagnosis and risk indicators. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 292–304. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01275.x>
- Highfield, J. (2009). Diagnosis and classification of periodontal disease. *Australian Dental Journal*, 54, S11–S26. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2009.01140.x>
- Hyun, Y.-C., & Lee, Y.-J. (2009). Gingival crevicular fluid measure on individual tooth by use of Periotron 8000. *International Journal of Clinical Preventive Dentistry*, 5(1), 8.
- 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>
- Javed, F., Al-Hezaimi, K., Salameh, Z., Almas, K., & Romanos, G. E. (2011). Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Cytokine*, 53(1), 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2010.08.013>
- Kamer, A. R., Craig, R. G., Niederman, R., Fortea, J., & de Leon, M. J. (2020). Periodontal disease as a possible cause for Alzheimer’s disease. *Periodontology 2000*, 83(1), 242–271. <https://doi.org/10.1111/prd.12327>
- Katafuchi, M., Weinstein, B. F., Leroux, B. G., Chen, Y.-W., & Daubert, D. M. (2018). Restoration contour is a risk indicator for peri-implantitis: A cross-sectional radiographic analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(2), 225–232. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12829>

- Khalifian, S. (2015). *The Use of Luminex Assays to Measure Cytokines*. 5.
- Kido, J., Bando, M., Hiroshima, Y., Iwasaka, H., Yamada, K., Ohgami, N., Nambu, T., Kataoka, M., Yamamoto, T., Shinohara, Y., Sagawa, I., & Nagata, T. (2012). Analysis of proteins in human gingival crevicular fluid by mass spectrometry: Mass spectrometric analysis of gingival crevicular fluid. *Journal of Periodontal Research*, 47(4), 488–499. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2011.01458.x>
- Kinane, D. F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease: Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 25(1), 8–20. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2001.22250102.x>
- Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017). Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17038. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>
- Kothari, M., Spin-Neto, R., & Nielsen, J. F. (2016). Comprehensive oral-health assessment of individuals with acquired brain-injury in neuro-rehabilitation setting. *Brain Injury*, 30(9), 1103–1108. <https://doi.org/10.3109/02699052.2016.1167244>
- Lachmann, S., Kimmerle-Müller, E., Axmann, D., Scheideler, L., Weber, H., & Haas, R. (2007). Associations between peri-implant crevicular fluid volume, concentrations of crevicular inflammatory mediators, and composite IL-1A -889 and IL-1B +3954 genotype: A cross-sectional study on implant recall patients with and without clinical signs of peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*, 18(2), 212–223. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2006.01322.x>
- Liccardo, D., Cannavo, A., Spagnuolo, G., Ferrara, N., Cittadini, A., Rengo, C., & Rengo, G. (2019). Periodontal Disease: A Risk Factor for Diabetes and Cardiovascular Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1414. <https://doi.org/10.3390/ijms20061414>
- Loos, B. G., & Van Dyke, T. E. (2020). The role of inflammation and genetics in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 83(1), 26–39. <https://doi.org/10.1111/prd.12297>
- Luan, X., Zhou, X., Naqvi, A., Francis, M., Foyle, D., Nares, S., & Diekwisch, T. G. H. (2018). MicroRNAs and immunity in periodontal health and disease. *International Journal of Oral Science*, 10(3), 24. <https://doi.org/10.1038/s41368-018-0025-y>
- Machtei, E. E., Oved-Peleg, E., & Peled, M. (2006). Comparison of clinical, radiographic and immunological parameters of teeth and different dental implant platforms. *Clinical Oral Implants Research*, 17(6), 658–665. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2006.01282.x>

- Matthiesen, R., & Bunkenborg, J. (2013). Introduction to Mass Spectrometry-Based Proteomics. Em R. Matthiesen (Ed.), *Mass Spectrometry Data Analysis in Proteomics* (Vol. 1007, pp. 1–45). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-392-3_1
- Michaud, D. S., Fu, Z., Shi, J., & Chung, M. (2017). Periodontal Disease, Tooth Loss, and Cancer Risk. *Epidemiologic Reviews*, 39(1), 49–58. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxx006>
- Miguel-Infante, A., Martínez-Huedo, M. A., Mora-Zamorano, E., Hernández-Barrera, V., Jiménez-Trujillo, I., de Burgos-Lunar, C., Cardenas Valladolid, J., Jiménez-García, R., & Lopez-de-Andrés, A. (2019). Periodontal disease in adults with diabetes, prevalence and risk factors. Results of an observational study. *International Journal of Clinical Practice*, 73(3), e13294. <https://doi.org/10.1111/ijcp.13294>
- Morado Pinho, M., Almeida Pinto, P., Faria Almeida, R., Pinhão Ferreira, A., & Sanz, M. (2012). Marcadores inflamatórios no fluido gengival durante o movimento dentário—Estudo clínico prospetivo. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 53(1), 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.rpemd.2011.11.011>
- Mountjoy, K. G. (sem data). *ELISA versus LUMINEX assay for measuring mouse metabolic hormones and cytokines: Sharing the lessons*. 21.
- Niemiec, B. A. (2008). Periodontal Disease. *Topics in Companion Animal Medicine*, 23(2), 72–80. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2008.02.003>
- Nowzari, H., Botero, J. E., DeGiacomo, M., Villacres, M. C., & Rich, S. K. (2008). Microbiology and Cytokine Levels Around Healthy Dental Implants and Teeth. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 10(3), 166–173. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8208.2007.00076.x>
- Priyamvara, A., Dey, A. K., Bandyopadhyay, D., Katikineni, V., Zaghlol, R., Basyal, B., Barssoum, K., Amarín, R., Bhatt, D. L., & Lavie, C. J. (2020). Periodontal Inflammation and the Risk of Cardiovascular Disease. *Current Atherosclerosis Reports*, 22(7), 28. <https://doi.org/10.1007/s11883-020-00848-6>
- Rahnama, M., Czupkałło, Ł., Kozicka-Czupkałło, M., & Łobacz, M. (2014). Gingival Crevicular Fluid – Composition and Clinical Importance in Gingivitis and Periodontitis. *Polish Journal of Public Health*, 124(2), 96–98. <https://doi.org/10.2478/pjph-2014-0022>
- Rakic, M., Galindo-Moreno, P., Monje, A., Radovanovic, S., Wang, H.-L., Cochran, D., Sculean, A., & Canullo, L. (2018). How frequent does peri-implantitis occur? A

systematic review and meta-analysis. *Clinical Oral Investigations*, 22(4), 1805–1816. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2276-y>

Recker, E. N., Avila-Ortiz, G., Fischer, C. L., Pagan-Rivera, K., Brogden, K. A., Dawson, D. V., & Elangovan, S. (2015). A Cross-Sectional Assessment of Biomarker Levels Around Implants Versus Natural Teeth in Periodontal Maintenance Patients. *Journal of Periodontology*, 86(2), 264–272. <https://doi.org/10.1902/jop.2014.140354>

Renvert, S., Persson, G. R., Pirihi, F. Q., & Camargo, P. M. (2018). Peri-implant health, peri-implant mucositis, and peri-implantitis: Case definitions and diagnostic considerations: Diagnostic criteria of peri-implant health and diseases. *Journal of Periodontology*, 89, S304–S312. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0588>

Roccuzzo, M., Bonino, F., Aglietta, M., & Dalmaso, P. (2012). Ten-year results of a three arms prospective cohort study on implants in periodontally compromised patients. Part 2: Clinical results. *Clinical Oral Implants Research*, 23(4), 389–395. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02309.x>

Roccuzzo, M., Grasso, G., & Dalmaso, P. (2016). Keratinized mucosa around implants in partially edentulous posterior mandible: 10-year results of a prospective comparative study. *Clinical Oral Implants Research*, 27(4), 491–496. <https://doi.org/10.1111/clr.12563>

Rokaya, D., Srimeepong, V., Wisitrasameewon, W., Humagain, M., & Thunyakitpisal, P. (2020). Peri-implantitis Update: Risk Indicators, Diagnosis, and Treatment. *European Journal of Dentistry*, 14(04), 672–682. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1715779>

Sa, M. (2014). *Influence of Smoking on Clinical Parameters and Gingival Crevicular Fluid Volume in Patients with Chronic Periodontitis*. 13(2), 5.

Saravanakumar, P., Thallam veeravalli, P., Kumar V, A., Mohamed, K., Mani, U., Grover, M., & Thirumalai Thangarajan, S. (2017). Effect of Different Crown Materials on the InterLeukin-One Beta Content of Gingival Crevicular Fluid in Endodontically Treated Molars: An Original Research. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.1361>

Sarmast, N. D., Wang, H. H., Soldatos, N. K., Angelov, N., Dorn, S., Yukna, R., & Iacono, V. J. (2016). A Novel Treatment Decision Tree and Literature Review of Retrograde Peri-Implantitis. *Journal of Periodontology*, 87(12), 1458–1467. <https://doi.org/10.1902/jop.2016.160219>

Scannapieco, F. A., & Gershovich, E. (2020). The prevention of periodontal disease—

- An overview. *Periodontology 2000*, 84(1), 9–13. <https://doi.org/10.1111/prd.12330>
- Schierano, G., Pejrone, G., Brusco, P., Trombetta, A., Martinasso, G., Preti, G., & Canuto, R. A. (2008). TNF- α TGF- β 2 and IL-1 β levels in gingival and peri-implant crevicular fluid before and after de novo plaque accumulation. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(6), 532–538. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01224.x>
- Schwarz, F., Derks, J., Monje, A., & Wang, H.-L. (2018). Peri-implantitis. *Journal of Periodontology*, 89, S267–S290. <https://doi.org/10.1002/JPER.16-0350>
- Sehdev, B., Ganji, K. K., Bhongade, M. L., Toriya, J., Imanishi, T., Shoumura, M., & Alam, M. K. (2017). Evaluation of the Impact of the Clinical Periodontal Status on Volumetric Features of Gingival Crevicular Fluid by using Periotron[®] 8000. *Journal of Hard Tissue Biology*, 26(2), 187–194. <https://doi.org/10.2485/jhtb.26.187>
- Serino, G., & Ström, C. (2009). Peri-implantitis in partially edentulous patients: Association with inadequate plaque control. *Clinical Oral Implants Research*, 20(2), 169–174. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2008.01627.x>
- Tefera, A., & Bekele, B. (2020). Periodontal Disease Status and Associated Risk Factors in Patients Attending a Tertiary Hospital in Northwest Ethiopia. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry, Volume 12*, 485–492. <https://doi.org/10.2147/CCIDE.S282727>
- Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of Periodontology*, 89, S159–S172. <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0006>
- Tonetti, M. S., & Sanz, M. (2019). Implementation of the new classification of periodontal diseases: Decision-making algorithms for clinical practice and education. *Journal of Clinical Periodontology*, 46(4), 398–405. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13104>
- Üstün, K., & Ö. Alptekin, N. (2007). The Effect of Tobacco Smoking on Gingival Crevicular Fluid Volume. *European Journal of Dentistry*, 01(04), 236–239. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1698345>
- Wang, H.-L., Garaicoa-Pazmino, C., Collins, A., Ong, H.-S., Chudri, R., & Giannobile, W. V. (2016). Protein biomarkers and microbial profiles in peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*, 27(9), 1129–1136. <https://doi.org/10.1111/clr.12708>
- Wassall, R. R., & Preshaw, P. M. (2016). Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontology 2000*, 70(1), 65–79.

<https://doi.org/10.1111/prd.12109>

Zandim-Barcelos, D. L., Carvalho, G. G. de, Sapata, V. M., Villar, C. C., Hämmerle, C., & Romito, G. A. (2019). Implant-based factor as possible risk for peri-implantitis. *Brazilian Oral Research*, 33(suppl 1), e067. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0067>

Zani, S. R., Moss, K., Shibli, J. A., Teixeira, E. R., Oliveira Mairink, R., Onuma, T., Feres, M., & Teles, R. P. (2016). Peri-implant crevicular fluid biomarkers as discriminants of peri-implant health and disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 43(10), 825–832. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12586>

VII. ANEXOS

ANEXO 1

Comissão de Ética EGAS MONIZ



Proc. Interno nº 932

Ex.ma Senhora
Soraia Fonseca de Azevedo

Monte de Caparica, 28 de janeiro de 2021.

Ex.ma Senhora,

Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado “Análise volumétrica do fluido crevicular gengival e do fluido crevicular peri-implantar em locais com saúde e doença”, foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

ANEXO 2



Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17_03

Monte de Caparica, de de

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Dentária na Unidade Curricular de Trabalho de Projeto Final do Instituto Universitário Egas Moniz, sob a orientação do Prof. Mestre José Maria Cardoso, solicita-se autorização para a participação no estudo "Análise volumétrica do fluído crevicular gengival e do fluído crevicular peri-implantar em locais com saúde e doença". O objetivo deste estudo é perceber a relação entre o grau de inflamação da gengiva e o volume do fluído existente entre a gengiva e o dente/implante.

Este estudo decorre na Clínica Dentária Egas Moniz com participantes com implantes dentários.

A participação neste estudo é voluntária. A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo.

Participando neste estudo ser-lhe-á atribuído um questionário, que recolherá informação relativa a dados sociodemográficos, e dados que servirão para a sua inclusão ou exclusão no estudo, nomeadamente hábitos tabágicos, presença de doença imune ou inflamatória, história de Hepatite e toma recente de antibióticos ou anti-inflamatórios. A recolha de fluído crevicular consistirá na inserção de uma tira estéril no espaço entre a gengiva e o dente/implante, de forma atraumática e aguardar-se-á 30 segundos até à sua remoção. Será também medida a profundidade desse espaço em questão.

A duração da recolha das informações será de cerca de dez minutos e não precisará de segundo momento de avaliação.

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelo(s) orientador(es) e/ou pelos seus mandatados. A sua recolha é anónima e confidencial.



Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17_03

(Riscar o que não interessa)

ACEITO/NÃO ACEITO participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

(Assinatura do participante ou, no caso de menores, do pai/mãe ou tutor legal)

ANEXO 3



Questionário

Este questionário enquadra-se num estudo com o título “**Análise volumétrica do fluido crevicular gengival e do fluido crevicular peri-implantar em locais com saúde e doença**”, no âmbito da realização da tese de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Universitário Egas Moniz, sob a orientação do Mestre José Maria Cardoso.

O questionário é constituído por perguntas de recolha de dados sociodemográficos, e um conjunto de questões que servem como fatores de exclusão no estudo.

Todas as respostas recolhidas são tratadas anonimamente.



Questionário _____

Data: __/__/__

Idade

Preencha com uma cruz (X) ou com a informação pedida.

Género

M
<input type="checkbox"/>

F
<input type="checkbox"/>

Gravidez

S
<input type="checkbox"/>

N
<input type="checkbox"/>

Amamentação

S
<input type="checkbox"/>

N
<input type="checkbox"/>

Apresenta alguma doença imune ou infamatória?

(Doenças genéticas, Doenças que afetem a mucosa oral e o tecido gengival, Doenças que afetem o tecido conjuntivo, Doenças endócrinas e metabólicas, Infecção por HIV, Diabetes mellitus, Artrite etc.)

S
<input type="checkbox"/>

N
<input type="checkbox"/>

Se sim qual? _____

História de Hepatite?

S
<input type="checkbox"/>

N
<input type="checkbox"/>

Se sim qual? _____

Tomou regularmente antibióticos ou anti-inflamatórios durante os últimos 6 meses?

Sim
<input type="checkbox"/>

Não
<input type="checkbox"/>

Se sim qual? _____

Hábitos Tabágicos

Sim
<input type="checkbox"/>

Não
<input type="checkbox"/>

Média de Cigarros por dia
<input type="text"/>

Ex-fumador



Implantes dentários colocados

Clínica Universitária Egas Moniz

Outro local

Se noutro local indique há quanto tempo foi colocada a coroa sobre o implante _____