

DIAGNÓSTICO DE PERIIMPLANTITIS BASADO EN EL ANÁLISIS DEL LÍQUIDO CREVICULAR

DIAGNOSIS OF PERIIMPLANTITIS BASED ON THE ANALYSIS OF THE CREVICULAR FLUID

Martha Idalia Treviño Cantú,
Luis Javier Leyva Muñoz,
Norma Cruz Fierro,
Juan Manuel Solís Solís

Departamento de Fisiología,
Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Nuevo León.

Correo electrónico: solisuan@gmail.com

RESUMEN

La periimplantitis es ocasionada por la interacción entre el implante y el tejido periimplantar, y está condicionada por el diseño y tipo de material del implante, el tejido periimplantar y la placa dentobacteriana acumulada. El líquido crevicular contiene marcadores para determinar el estado del tejido periimplante. El objetivo de este artículo es la revisión en la literatura de marcadores presentes en el líquido crevicular y su impacto como auxiliar de diagnóstico. Su análisis puede ayudar a detectar lesiones aún no discernibles, así como monitorear la osteointegración y la respuesta a la carga oclusal, con el fin de mejorar el éxito del implante. Se pueden utilizar los siguientes marcadores para diagnosticar el estado del tejido periimplante: Presencia de Interleucinas específicas, actividad de la Metaloproteinasas, medición de los niveles de Catepsina K, presencia de Osteoprotegerina y relación con el factor de crecimiento vascular endotelial.

PALABRAS CLAVE: Periimplantitis, líquido crevicular, marcadores.

OVERVIEW

Periimplantitis is caused by the interaction between the implant and periimplant tissue, and is determined by the design and materials of the implant, the periimplant tissue and the accumulated dental plaque. The crevicular liquid contains markers to determine the State of periimplant tissue. The aim of this article is the revision in the literature of markers present in the crevicular fluid and its impact as a diagnostic aid. Their analysis can help to detect lesions not yet discernible, as well as monitor the osseointegration and the response to occlusal load, in order to improve the success of the implant. The following markers can be used to diagnose the State of the periimplant tissue: presence of specific interleukins, activity of Metalloproteinases, measuring levels of Cathepsin K, presence of Osteoprotegerin and relation of vascular endothelial growth Factor.

KEY WORDS: periimplantitis, crevicular liquid, markers.

INTRODUCCIÓN

La periimplantitis representa una condición inflamatoria asociada con la presencia de un biofilm submarginal, una avanzada destrucción de los tejidos suaves y mineralizados que rodean el implante endoóseo, y una lesión inflamatoria de la mucosa.^{1,2,3} La etiología de la enfermedad es condicionada por el estado del tejido que rodea el implante, su diseño, grado de aspereza, el pobre alineamiento de los componentes del implante, morfología externa⁴ y la acumulación de placa, siendo éste el factor más importante⁵, sin embargo, la sobrecarga oclusal también es decisiva para las complicaciones biomecánicas provocando una pérdida de hueso y el fracaso eventual del implante.^{6,7} Se han investigado posibles indicadores de riesgo de enfermedad periimplante, los cuales incluyen la falta de higiene oral, tabaquismo, antecedentes de periodontitis, la diabetes, las características genéticas, consumo de alcohol y la superficie del implante.⁸ El diagnóstico está basado en cambios en el color de la encía, sangrado, profundidad de las bolsas periimplante, supuración, pérdida gradual de la altura del hueso,⁹ dolor, hinchazón, radiolucidez en la radiografía periapical¹⁰ por medio del líquido crevicular.^{11,12} El líquido crevicular nos permite obtener diferentes marcadores específicos para determinar el estado del tejido periimplante.¹³

La detección temprana y confiable de periimplantitis es un prerequisite para el plan de tratamiento en pacientes tratados con implantes dentales endoósicos, los marcadores periodontales puede ayudar a detectar la severidad de la destrucción preexistente y la pérdida de hueso periodontal activa.^{14,15} El líquido crevicular es un exudado inflamatorio mediado osmóticamente, cambios en la velocidad de flujo ocurren de acuerdo a la condición de los tejidos periimplante.¹⁶ El análisis del fluido crevicular puede ayudar a

detectar tempranamente lesiones metabólicas y bioquímicas aún no discernibles, así como para monitorear la osteointegración y la respuesta del hueso a la carga oclusal, con el fin de mejorar el éxito del implante.^{18,19} Se pueden utilizar los siguientes marcadores extraídos del líquido crevicular para diagnosticar el estado de los tejidos que rodean al implante: presencia de interleucinas específicas,^{20,21,22} actividad de la Metaloproteinasas de la Matriz,^{23,24} medición de los niveles de Catepsina K,^{10,25,26,27} presencia de Osteoprotegerina^{28,29,30} y relación con el factor de crecimiento vascular endotelial.^{31,32} El objetivo de este artículo es la revisión en la literatura de marcadores presentes en el líquido crevicular y su impacto como auxiliar de diagnóstico, incluso antes de que la enfermedad presente síntomas.

PERIIMPLANTITIS RELACIONADA CON INTERLEUCINAS MÉTODOS UTILIZADOS PARA RECOLECCIÓN DE MARCADORES

En estudios recientes se colectó el líquido crevicular de pacientes con periimplantitis, cuantificándose IL-1 β , IL-6, IL-17, IL-8, IL-10, IL-22, IL-23R, IL-23 utilizando pruebas ELISA, inmunohistoquímica y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).^{33,34} Similarmente, empleando PCR, se han colectado células de la mucosa bucal para medir interleucinas o identificar sus polimorfismos.^{34,35}

FUNCION

Las interleucinas son un grupo particular de mediadores característicos de los linfocitos T y de los macrófagos, son consideradas como citocinas, la mayoría viaja unas cuantas micras para unirse a un receptor específico de la membrana de otra célula, es decir actúan de forma paracrina. Existen varios tipos con funciones diferentes, y con

DIAGNÓSTICO DE PERIIMPLANTITIS BASADO EN EL ANÁLISIS DEL LÍQUIDO CREVICULAR

repercusión clínica también diferente.¹⁸ Un incremento de IL-6, IL-8, IL-17 puede inducir la producción de otras citocinas inflamatorias, contribuyendo a la patogénesis de la pérdida ósea.^{2,36} La combinación de IL-1alfa e IL-1beta en pacientes con periimplantitis, actúa como factor de riesgo que lleva a una gran destrucción de los tejidos, ya que éste gen polimórfico (IL-1) puede afectar los resultados del tratamiento en los individuos con genotipo positivo.³⁷ Los niveles elevados de IL-1 en el líquido crevicular de la periimplantitis juegan un papel importante en la patogénesis y severidad de la enfermedad.^{38,39} Se ha demostrado que hay una expresión elevada de IL-22 e IL-23 en pacientes con periimplantitis, lo que induce la expresión de las citocinas proinflamatorias teniendo un rol crucial en la reparación del tejido y reconstrucción en la patogénesis de la periimplantitis.⁴⁰

PERIIMPLANTITIS RELACIONADA CON LA METALOPROTEINASA DE LA MATRIZ (MMP) MÉTODOS UTILIZADOS PARA RECOLECCIÓN DE MARCADORES

En estudios realizados para registrar la actividad de MMP-8 (colagenasa), MMP-7 monoclonal y formas moleculares de LN-5 gamma, se recurrió a utilizar tiras de papel y recolectar el líquido crevicular periimplante (de implantes sanos y con periimplantitis), se midieron las formas moleculares y activación de la colagenasa-2 y el octapéptido DNP-sintético mediante la prueba Western Immunoblotting. La recolección de estos marcadores nos otorgan datos valiosos sobre el estado del implante.^{9,21,22}

FUNCION

La metaloproteinasas MMP-8 es la proteínasa más competente para iniciar la degradación de colágeno tipo I y de la matriz extracelular, asociada con la destrucción

del tejido periodontal/periimplante llevando a la pérdida del implante.² Por medio de estas pruebas se obtuvo que la concentración de colagenasa (MMP-8) en periimplantitis fue 91% mayor que en sitios sanos,^{38,39} observándose también, niveles elevados de MMP-8 que reflejan la fase inflamatoria activa en la periimplantitis.² Las inmunoreactividades de las especies activas MMP-8 y MMP-7 en el líquido crevicular periimplante eventualmente refleja la etapa y curso de la periimplantitis, MMP-7 puede actuar potencialmente como MMP-8 y su presencia incrementar la patogénesis de la enfermedad,²¹ igualmente, la presencia de MMP-9 puede utilizarse como un biomarcador ya que su actividad se encuentra elevada en la periimplantitis.²⁴

PERIIMPLANTITIS RELACIONADA CON LOS NIVELES DE CATEPSINA-K MÉTODOS UTILIZADOS PARA RECOLECCIÓN DE MARCADORES

El líquido crevicular fue colectado de los sitios bucales y linguales con tiras de papel, los niveles de Catepsina-K y el total de proteína del líquido crevicular fueron determinados por el kit de actividad de Catepsina-K BioVision,¹⁸ las medidas de la pérdida de hueso marginal fueron calculadas por radiografías intraorales digitalizadas,²⁹ otro método utilizado para la recolección de esta enzima fue por medio del kit Bitinchoninic Acid Assay (BCA).²⁴ Igualmente las muestras se pueden analizar por qPCR.²⁵

FUNCION

La Catepsina-K es una proteasa específica de osteoclastos, juega un rol vital en la reabsorción y remodelación de hueso.^{36,38} Para demostrar la relación de la enzima Catepsina-K con la periimplantitis se realizó un estudio y se observó que en la periimplantitis existieron más altos niveles de catepsi-

na-K (10.26 unidades) que en los implantes sanos (3.44 unidades), observándose claramente mayor actividad de Catepsina-K en la periimplantitis, por lo que se sugiere la participación directa de esta enzima en el metabolismo óseo alrededor del implante.¹⁹ Por otro lado, la comparación entre un grupo de dientes naturales e implantes dentales considerando la actividad enzimática de la Catepsina-K demostró influir en la presencia de pérdida de hueso alveolar e inflamación, lo que nos lleva a pensar que la Catepsina-K se puede utilizar como un parámetro bioquímico para el monitoreo de pérdida ósea relacionado directamente con la periimplantitis.²¹ Un estudio realizado por Strbac GD, y cols.¹⁵ mostró que los niveles absolutos de Catepsina-K en el líquido crevicular de todos los implantes investigados tuvieron una correlación positiva con la profundidad de bolsa, el Índice modificado de sangrado, el Índice de placa modificado y con signos radiográficos de pérdida ósea, por lo tanto, los parámetros de periimplantitis están asociados con una alta cantidad de Catepsina-K.²⁴

PERIIMPLANTITIS RELACIONADA CON OSTEOPROTEGERINA (OPG) MÉTODOS UTILIZADOS PARA RECOLECCIÓN DE MARCADORES

Para la obtención de muestras se ha utilizado la prueba Enzyme-Linked Immunosorbent Assay,^{12,36} los datos clínicos y bioquímicos se pueden evaluar estadísticamente por medio de la prueba Mann-Whitney U,¹¹ y las correlaciones Spearman se utilizan para relacionar estos datos.³²

FUNCION

El receptor activador de ligando NF-KB (RANKL) y la osteoprotegerina (OPG) son un sistema de moléculas que regulan la

reabsorción de hueso.³⁷ Siendo el receptor activador de ligando NF-KB (RANKL) un mediador clave de la formación, la activación y supervivencia de osteoclastos.³⁸

Se investigó la correlación de la osteoprotegerina (OPG) en el líquido crevicular de pacientes con periimplantitis, su presencia reflejó un riesgo incrementado en la pérdida de hueso alveolar alrededor de los implantes, y sus concentraciones locales pueden ayudar a distinguir sitios sanos o con la enfermedad.¹⁸ De igual manera se reveló que la cantidad total de OPG se relacionó positivamente con el líquido crevicular en periimplantitis, índice gingival y sangrado al sondear, por lo que estos hallazgos sugieren que el nivel de OPG en el líquido crevicular necesita investigación adicional para utilizarlo como un posible marcador al evaluar el estado de salud de los tejidos circundantes de los implantes dentales³⁹ por otro lado Belibasakis GN, y colaboradores⁴ mencionan que la proporción incrementada de RANKL/OPG puede utilizarse como un biomarcador que denota la presencia de periodontitis, pudiendo relacionarlo con periimplantitis, estos niveles elevados después del tratamiento pueden indicar mecanismos moleculares todavía activos, sosteniendo un gran riesgo para que la enfermedad tenga aparición o recidiva.^{22,40}

PERIIMPLANTITIS RELACIONADA CON EL FACTOR DE CRECIMIENTO VASCULAR ENDOTELIAL (VEGF) MÉTODOS UTILIZADOS PARA LA RECOLECCIÓN DE MARCADORES

Para la recolección de marcadores, los exámenes clínicos se concentraron en el estado periodontal de los tejidos blandos alrededor de los implantes dentales con el uso de una sonda Florida, la pérdida de hueso se examinó radiográficamente y las concentraciones de VEGF se realizaron mediante la

prueba ELISA.¹⁹ Otro estudio optó por tomar biopsias de enca queratinizada saludable para hacer una comparación con los tejidos blandos que sufren periimplantitis.²⁹

FUNCION

El factor de crecimiento vascular endotelial es una citocina angiogénica multifuncional que juega un papel importante en las respuestas inmunes implicadas en la patogénesis de los procesos inflamatorios de los tejidos que rodean a los implantes.^{32,33} El VEGF podría ser relevante para los procesos angiogénicos en tejido sano así como el tejido periodontal enfermo, ya que el estado periodontal influye en el nivel de VEGF salival.³⁴ Se encontraron altas concentraciones en el líquido crevicular de periimplantitis a diferencia de los sitios sanos clínicamente, también se encontró una fuerte relación con la profundidad de bolsa, lo que lleva a pensar que las concentraciones de VEGF en el fluido crevicular en pacientes con periimplantitis pueden estar implicado en la progresión de la enfermedad por la promoción en la formación de nuevos vasos sanguíneos durante el proceso angiogénico.³⁵ Se muestra en pacientes con periimplantitis, que las células del infiltrado inflamatorio fueron positivas para VEGF en un 80%-100% de los casos, debido a su presencia, este marcador es probablemente un factor tanto en el mantenimiento de la fisiología periodontal y de la progresión de la periimplantitis.^{32,33}

CONCLUSION

El análisis de líquido crevicular es fundamental para obtener un diagnóstico más preciso, ya que permite evaluar el estado del implante, así como el periodonto, por lo que se ha considerado de gran utilidad para la prevención y diagnóstico de la periimplantitis. Nos permite obtener un panorama más exacto de la condición del implante, generar-

do un pronóstico más certero sobre el estado del implante, para así actuar oportunamente garantizando el éxito del tratamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Xu L, Yu Z, Lee HM, Wolff MS, Golub LM, Sorsa T, Kula H. Characteristics of collagenase-2 from gingival crevicular fluid and peri-implant sulcular fluid in periodontitis and peri-implantitis patients: pilot study. *Acta Odontol Scand*. 2008; 66(4):219-24.
- Faria R, Belén A, Bascones A. Nuevos métodos de diagnóstico en Periodoncia. *Métodos bioquímicos. Avances en Periodoncia e Implantología Oral*. 2001; 13(1): 29-37.
- Heitz-Mayfield LJ. Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *J Clin Periodontol*. 2008; 35(8 Suppl):292-304.
- Kivela-Rajamaki M, Masi P, Srinivas R, Tervahartala T, Teronen O, Husa V, Salo T, Sorsa T. Levels and molecular forms of MMP-7 (matrilysin-1) and MMP-8 (collagenase-2) in diseased human peri-implant sulcular fluid. *J Periodontol Res*. 2003; 38(6):583-90.
- Javed F, Al-Hezaimi K, Salameh Z, Almas K, Romanos GE. Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Cytokine*. 2011; 53(1):8-12.
- Peñarocha-Diogo MA, Maestre-Ferrín L, Cervera-Ballester J, Peñarocha-Oltra D. Implant periapical lesion: Diagnosis and treatment. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2012; 17(6):e1023-7.
- Kivela-Rajamaki MJ, Teronen OP, Masi P, Husa V, Tervahartala TI, Pirlila EM, Salo TA, Mellanen L, Sorsa TA. Laminin - 5 gamma 2-chain and collagenase-2 (MMP-8) in human peri-implant sulcular fluid. *Clin Oral Implants Res*. 2003; 14(2):158-65.
- Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol*. 2012; 39(3):239-48.
- Tobón-Arroyave IS, Szaza-Guzmán DM, Restrepo-Cadavid EM, Zapata-Molina SM,

- Martínez-Pabón MC. J. Association of salivary levels of the bone remodelling regulators sRANKL and OPG with periodontal clinical status. *Clin Periodontol*. 2012; 39(12):1132-40.
- Yamalik N, Günday S, Kilinc K, Karabulut E, Berker E, Tözüm TF. Analysis of cathepsin-K levels in biologic fluids from healthy or diseased natural teeth and dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2011; 26(5):991-7.
 - Zitzmann NU, Berglundh T, Ericsson I, Lindhe J. Spontaneous progression of experimentally induced periimplantitis. *J Clin Periodontol*. 2004; 31(10):845-849.
 - Sánchez-Garcés MA, Gay-Escoda C. Periimplantitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2004; 9(Suppl:69-74): 63-9.
 - Yamalik N, Günday S, Uysal S, Kilinc K, Karabulut E, Tözüm TF. Analysis of cathepsin-K activity at tooth and dental implant sites and the potential of this enzyme in reflecting alveolar bone loss. *J Periodontol*. 2012; 83(4):498-505.
 - Fu JH, Hsu YT, Wang HL. Identifying occlusal overload and how to deal with it to avoid marginal bone loss around implants. *J Oral Implantol*. 2012; 5 Suppl: S91-103.
 - Strbac GD, Monov G, Cei S, Kandler B, Watzek G, Gruber R. Cathepsin K levels in the crevicular fluid of dental implants: a pilot study. *J Clin Periodontol*. 2006; 33(4):302-8.
 - Koregol AC, More SP, Nainegali S, Kalburgi N, Verma S. Analysis of inorganic ions in gingival crevicular fluid as indicators of periodontal disease activity: A clinico-biochemical study. *Contemp Clin Dent*.
 - Giannobile WV. Crevicular fluid biomarkers of oral bone loss. *Curr Opin Periodontol*. 1997; 4:1-20. 2011; 2(4):278-82.
 - Kunjappu JJ, Mathew VB, Hegde S, Kashyap R, Hosadurga R. Assessment of the alkaline phosphatase level in gingival crevicular fluid, as a biomarker to evaluate

- the effect of scaling and root planning on chronic periodontitis: An in vivo study. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2012; 16(1):54-7.
- Hall J, Britse AO, Jemt T, Friberg B. Eur. A controlled clinical exploratory study on genetic markers for peri-implantitis. *J Oral Implantol*. 2011; 4(4):371-82.
 - Bormann KH, Stühmer C, Z'Graggen M, Kokemöller H, Rucker M, Gellrich NC. Schweiz Monatsschr Zahnmed. IL-1 polymorphism and periimplantitis. A literature review. 2010; 120(6):510-20.
 - Kaklamano EG, Tsalkis L. A review on peri-implant crevicular fluid assays potential in monitoring and predicting peri-implant tissue responses. *J Int Acad Periodontol*. 2002; 4(2):49-59.
 - Tsuhida S, Satoh M, Umemura H, Sogawa K, Kawashima Y, Kaplo S, Sawai S, Nishimura M, Kodera Y, Matsushita K, Nomura F. Proteomic analysis of gingival crevicular fluid for discovery of novel periodontal disease markers. *Proteomics*. 2012; 12(12):2190-2202.
 - Severino VO, Napimoga MH, de Lima Pereira SA. Arch Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-8 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Oral Biol*. 2011; 56(8):823-8.
 - Hamdy AA, Ebrahem MA. The effect of interleukin-1 allele 2 genotype (IL-1a(-889) and IL-1b(+3954)) on the individual's susceptibility to peri-implantitis: case-control study. *J Oral Implantol*. 2011; 37(3):325-34.
 - Melo RF, Lopes BM, Shibli JA, Marcantonio Junior E, Marcantonio RA, Galli GM. Interleukin-1β and Interleukin-6 Expression and Gene Polymorphisms in Subjects with Peri-Implant Disease. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2012; 14(6):905-14.
 - Andriotelli M, Koutayas SO, Madianos PN, Strub JR. Relationship between interleukin-1 genotype and peri-implantitis: a literature review. *Quintessence Int*. 2008; 39(4):289-98.

- Arikan F, Buduneli N, Lappin DF. Int C-telo peptide pyridine line cross links of type I collagen, soluble RANKL, and osteoprotegerin levels in crevicular fluid of dental implants with peri-implantitis: a case-control study. *J Oral Maxillofac Implants*. 2011; 26(2):282-9.
- Arikan F, Buduneli N, Kütükçüler N. Osteoprotegerin levels in peri-implant crevicular fluid. *Clin Oral Implants Res*. 2008; 19(3):283-8.
- Mierzwinska-Nastalska E, Lomzynski L, Jaworska-Zaremba M, Kostorzewa-Janicka J. Eur J Vascular endothelial growth factor in gingival crevicular fluid around dental implants. *Med Res*. 2010; 15 Suppl 2:88-91.
- Cornellini R, Artese L, Rubini C, Fioroni M, Ferrero G, Santinelli A, Piattelli A. Vascular endothelial growth factor and microvessel density around healthy and failing dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001; 16(3):389-93.
- Luo Z, Wang H, Sun Z, Luo W, Wu Y. Expression of IL-22, IL-22R and IL-23 in the peri-implant soft tissues of patients with peri-implantitis. *Arch Oral Biol*. 2012; pii: S0003-9969(12)00284-1.
- Sorsa T, Tervahartala T, Leppilahti J, Hernandez M, Gamonal J, Tuomainen AM, Lauhio A, Pussinen PJ, Mäntylä P. Collagenase-2 (MMP-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracyclines. *Pharmacol Res*. 2011; 63(2):108-13.
- Basegmez C, Yalcin S, Yalcin F, Ersanli S, Mijritsky E. Evaluation of periimplant crevicular fluid prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase-8 levels from health to periimplant disease status: a prospective study. *Implant Dent*. 2012; 21(4):306-10.
- Ozçakir-Tomruk C, Chiquet M, Mericske-Stern R. Clin Tenascin-C and matrix metalloproteinase-9 levels in crevicular fluid of teeth and implants. *Implant Dent Relat Res*. 2012; 14(5):672-81

- Masataka Asagiri, Toshitake Hirai, Toshihiro Kunigami, Shunya Kamano, Hans-Jürgen Gøber, Kazuo Okamoto, Keizo Nishikawa, Eicke Latz, Douglas T. Golenbock, Kazuhiro Aoki, Keiichi Ohya, Yuuki Imai, Yasuyuki Morishita, Kohei Miyazono, Shigeaki Kato, Paul Saftig, Hiroshi Takayanagi. Cathepsin K-Dependent Toll-Like Receptor 9 Signaling Revealed in Experimental Arthritis. *Science*. 2008; 319(5863):624-627.
- Paul Saftig, Ernst Hunziker, Olaf Wehmeyer, Sheila Jones, Alan Boydes, Winfried Rommerskirch, Jörg Detlev Moritz, Peter Schu, Kurt von Figura. Impaired osteoclastic bone resorption leads to osteoporosis in cathepsin k. *PNAS*. 1998; 95(23):13453-13458.
- Naghan Bostanci, Tunçgençli, Gülnur Emingil, Beral Afacan, Buket Han, Hüseyin Töz, Gül Atilla, Francis J. Hughes, Georgios N. Belibasakis. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol*. 2007; 34:370-376.
- Monov G, Strbac GD, Baron M, Kandler B, Watzek G, Gruber R. Soluble RANKL in crevicular fluid of dental implants: a pilot study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2006; 8(3):135-41.
- Booth V, Young S, Cruchley A, Taichman NS, Paleolog E. Vascular endothelial growth factor in human periodontal disease. *J Periodontol Res*. 1998; 33(8):491-9.

