

UNIVERSITATEA “OVIDIUS” DIN CONSTANȚA
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ
DOMENIUL DE DOCTORAT MEDICINĂ DENTARĂ

POSIBILITĂȚI DE UTILIZARE A BETA DEFENSINELOR ÎN
DIAGNOSTICUL ȘI MONITORIZAREA PERI-
IMPLANTITELOR

~ REZUMAT ~

Conducător de doctorat

Prof. univ. dr. BADEA VICTORIA

Student - doctorand

Afef Al-Jaboobi

CONSTANȚA

2017

CUPRINS

CAPITOLUL I. DEFENSINE - COMPONENTE ALE IMUNITĂȚII NATURALE	6
1.1 Definiție. Clasificare	6
1.2 Particularități structurale alfa defensine	8
1.3 Particularități structurale beta defensine	10
1.3.1 hBD-1	10
1.3.2 hBD-2	11
1.3.3 hBD-3	12
1.4 Defensine – mecanisme de acțiune	16
1.4.1 Acțiune antibacteriană	16
1.4.2 Acțiune antivirală	22
1.4.3 Acțiune antitumorală	24
CAPITOLUL II. BETA DEFENSINE ÎN BOALA PARODONTALĂ	26
2.1 Definiția, clasificarea și epidemiologia bolii parodontale	26
2.2 Specii bacteriene parodontopatogene	29
2.3 Fiziopatogenia bolii parodontale	30
2.4 Implicarea beta defensinelor în boala parodontală	32
CAPITOLUL III. BETA DEFENSINE ÎN PERI-IMPLANTITĂ	36
3.1 Definiția, clasificarea și epidemiologia bolii peri-implantare	36
3.2 Specii bacteriene implicate în boala peri-implantară	37
3.3 Fiziopatogenia peri-implantitei	40
3.4 Implicarea beta defensinelor în peri-implantită	41
CAPITOLUL IV. PERSPECTIVE POSIBILE PRIVIND UTILIZAREA PEPTIDELOR ANTIBACTERIENE ÎN PRACTICA MEDICALĂ	42
4.1 Utilizarea defensinelor ca biomarkeri	42
4.2 Utilizarea defensinelor în tratamentul antibacterian	43
4.3 Utilizarea defensinelor în tratamentul infecției cu virus HIV	44
4.4 Utilizarea defensinelor în tratamentul cancerului	44
4.5 Utilizarea defensinelor în creșterea eficienței vaccinurilor	44
4.6 Utilizarea defensinelor în implantologie	44
CAPITOLUL V. INTERLEUKINA 1 ÎN PERI-IMPLANTITĂ	46
5.1 Definiție și încadrarea interleukinei 1	46
5.2 Rolul interleukinei 1 în patogenia bolii peri-implantare	47
STUDIUL I- STUDII PRIVIND POSIBILA CORELAȚIE DINTRE BETA-3 DEFENSINE ȘI STATUSUL CLINIC ORODENTAR DIN MUCOZITĂ ȘI PERIIMPLANTITĂ	49
INTRODUCERE	49
MATERIAL ȘI METODE	51
1. LOTUL DE STUDIU	51
2. EXAMENUL CLINIC GENERAL ȘI ORODENTAR	54
2.1. Mobilitatea	54
2.2. Dimensiunea coroanei	55
2.3. Raportul coroană-rădăcină	55
2.4. Poziția și axul dintelui stâlp	55
2.5. Prezența cariilor, evaluarea statusului endodontic și parodontal	55
2.6. Configurația radiculară și aria suprafeței radiculare	55
2.7. Evaluarea câmpului osos primitor de implant	56
2.8. Evaluarea stării de sănătate a mucoasei gingivale și igiena cavității bucale	56
3. EXAMENUL RADIO-IMAGISTIC	56
3.1. Radiografia retroalveolară	57
3.2. OPG	57
3.3. CT	58
4. DELIMITAREA LOTULUI DE STUDIU	58
5. DESCRIEREA IMPLANTULUI DENTAR	61
6. ETAPELE TEHNICE ALE INSERTIEI IMPLANTULUI DENTAR	64
7. EVALUAREA POST-INSERTIE IMPLANT DENTAR	72
8. PRODUSE PATOLOGICE ȘI METODE DE RECOLTARE	72
8.1. Recoltarea fluidului periimplantar (Peri-implant crevicular fluid – PICF)	73
8.2. Recoltarea salivei totale	73
9. DETERMINAREA BETA-3 DEFENSINEI PRIN TEHNICA ELISA	75
10. METODE DE PROCESARE STATISTICĂ	82
11. ACCEPTUL COMISIEI DE ETICĂ	83
IPOTEZA DE LUCRU	83
SCOPUL STUDIULUI	83
REZULTATE	84
DISCUȚII	102

CONCLUZII PRELIMINARE.....	105
STUDIUL II- BETA-3 DEFENSINE ȘI IL-1 ÎN PERI-IMPLANTITĂ	106
INTRODUCERE.....	106
IPOTEZA DE LUCRU.....	106
SCOPUL STUDIULUI.....	106
OBIECTIVELE STUDIULUI.....	106
MATERIAL ȘI METODE.....	107
CUANTIFICAREA IL1- β - METODA ELISA.....	107
REZULTATE.....	108
DISCUTII.....	117
CONCLUZII PRELIMINARE.....	119
STUDIUL III- BETA-3 DEFENSINE ȘI SPECII BACTERIENE ÎN PERI-IMPLANTITĂ	120
INTRODUCERE.....	120
IPOTEZA DE LUCRU.....	120
SCOPUL STUDIULUI.....	120
OBIECTIVELE STUDIULUI.....	121
MATERIAL ȘI METODE.....	121
PROTOCOLUL DE ANALIZĂ MICROBIOLOGICĂ.....	121
REZULTATE.....	124
DISCUTII.....	128
CONCLUZII PRELIMINARE.....	130
ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUTIILE INOVATOARE ALE TEZEI.....	131
IMPACTUL REZULTATELOR OBTINUTE.....	132
CONCLUZII FINALE.....	134
BIBLIOGRAFIE.....	136
INDEX DE FIGURI IN TEXT.....	149
INDEX DE TABELE IN TEXT.....	152
INDEX DE GRAFICE IN TEXT.....	153
LISTA CU ABREVIERILE FOLOSITE IN CADRUL TEZEI DE DOCTORAT.....	156
LUCRARI PUBLICATE DIN DOMENIUL TEZEI DE DOCTORAT CA PRIM AUTOR.....	157

Cuvinte cheie: beta defensine, peri-implantita,diagnostic, monitorizare

Defensine. Definiție și clasificare.

Cea mai scurtă definiție a defensinelor arată că acestea sunt peptide antibacteriene cu rol important în imunitatea înăscută și care sunt produse de leucocite și celule epiteliale. [1, 4]

Un scurt istoric al decoperirii defensinelor arată că în 1956 Skarnes și Watson identifică o **leukină cu efect bactericid**; concomitent Hirsch descrie prezența în fagocitele de iepure a unor peptide cu efecte antibacteriene. [5, 6]

Începând cu anul 1980 au fost descrise sub denumirea de **polipetide antimicrobiene** și au fost încadrate ca și componente ale sistemului imun și ulterior au fost denumite **defensine**. [5, 6]

Analiza evoluției filogenetice a defensinelor a arătat că aceste peptide au fost perfect conservate, fiind prezente începând de la celula eucariotă, insecte, plante, până la mamifere, inclusiv la specia umană, [6] existând în literatura de specialitate date care arată că evoluția lor a început în urmă cu 130 milioane ani. [4]

Rezultatele unor studii recente (2016) arată că au fost identificate până în prezent mai mult de 800 de astfel de peptide, ele fiind prezente într-o pondere foarte mare la plante și insecte și doar 30 dintre ele fiind identificate la mamifere. [8]

Particularități structurale ale beta defensinelor

Beta-defensinele au greutate moleculară între 4-5 kD, 38-50 aminoacizi și 3 punți disulfidice, repartizate după cum urmează: cis1-cis5; cis2-cis4; cis3-cis6. [4, 8, 22]

Structura terțiară se diferențiază 4 tipuri distincte de beta-defensine umane (hBD1-4). Prezența lor este asociată mai ales cu țesuturile epiteliale, fiind prezente pe suprafața pielii și a mucoasei intestinale.

În cavitatea oro-dentară au fost identificate la nivelul mucoasei gingivale și pe suprafața limbii; de asemenea, au fost identificate în salivă în contextul diferitelor procese inflamatorii ale cavității oro-dentare, precum și în cancerul oral. [8, 23]

Studii recente (2016) arată că hBD1 și hBD-2 au fost identificate în diferitele forme de cancer oral. [8] În afara de hBD1-4 prezentate, au fost delimitate din punct de vedere

structural încă două beta-defensine, notate hBD5 și hBD6 a căror prezență a fost exprimată mai ales în epididim. [3]

Distribuția hBD2 și hBD3 în epiteliul oral normal: stratul bazal pentru hBD 3 și straturile superficiale pentru hBD 1 și hBD 2 .[38]

Definiția, clasificarea și etiologia bolii peri-implantare

Reabilitarea orală a pacientului edentat total sau parțial, folosind implanturi sau proteze fixate pe implant dentar, a revoluționat total medicina dentară și a re poziționat conceptul de reabilitare orală.[61]

Din păcate însă, pe termen scurt sau lung, pot apărea complicații, printre care și boala peri-implantară. Aceasta este definită la modul general ca un proces inflamator distructiv al sistemelor de fixare și susținere a implantului dentar. [61]

Numeroși autori au studiat flora bacteriană din placa supra și subgingivală peri-implantară, atât la pacienții cu evoluție favorabilă cât și la cei cu semne clinice de peri-implantită și s-a constatat că flora bacteriană este similară, existând doar diferențe cantitative privind speciilor patogene. [89]

Flora bacteriană peri-implantară la pacienții cu evoluție favorabilă este formată mai ales din coci Gram pozitivi, bacili imobili și un număr limitat de specii bacteriene Gram negative anaerobe. [90]

Mucozita este particularizată prin prezența unui număr mare de coci, bacili mobili și spirochete, flora bacteriana similară gingivitei. [90]

Peri-implantita se asociază cu prezența unui număr mare de bacili Gram negativi anaerobi, similari cu cei identificați în boala parodontală, respectiv specii aparținând complexului roșu: *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* și *Prophyromonas gingivalis*.

De asemenea, rezultatele acestor studii au demonstrat că nu sunt există diferențe majore privind componența florei bacteriene identificată în jurul dinților naturali și cea din jurul implantului. [89, 87, 91]

Fiziopatogenia peri-implantitei

Existând o etiologie comună, peri-implantita are multe elemente comune cu parodontita și în ceea ce privește patogenia. [80]

Studiile realizate de Berglundh T. et all. arată că procesul inflamator în mucosită este dominat de prezența unui infiltrat cu limfocite B, limfocite T, neutrofile PMN și macrofage similar gingivitei [96].

S-a constatat că în peri-implantită se identifică aceleași elemente celulare la care se adaugă o densitate mare a celulelor dendritice; celularitatea descrisă în peri-implantită este similară cu cea identificate în parodontitei cu deosebirea că densitatea elementelor celulare enumerate este mai mare în peri-implantită decât în parodontita. [97, 98]

Un alt element important în fiziopatogenia peri-implantitei este legat de prezența citokinelor proinflamatorii IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , MMP în fluidul peri-implantar ca răspuns în cadrul procesului inflamator declanșat de bacterii. [99, 100]

Implicarea beta defensinelor în peri-implantită

Deși microbiota cavității orale impresionează prin numărul de specii bacteriene și densitatea calculată în fluidele orale (fluid gingival, salivă), totuși există pârgii prin care flora normală saprofită și cea patogenă sunt împiedicate parțial în declanșarea proceselor patologice în această nișă ecologică. Astfel, echilibrul cantitativ între speciile bacteriene și întreținerea relației de simbioză cu gazda diminuează într-o oarecare măsură fenomenul de aderare bacteriană pe biomaterialul implantat. [53, 61]

În acest scenariu de apărare locală prin mijloace nespecifice intervin și defensinele: alfa-defensinele rezultate din degranularea leucocitelor PMN atrase în focarul de infecție și beta-defensinele sintetizate în diferitele straturi ale epiteliului gingival ca urmare a prezenței bacteriilor patogene.

Perspective posibile privind utilizarea peptidelor antibacteriene în practica medicală

1. Utilizarea defensinelor ca biomarkeri

Peri-implantita fiind afecțiune cu un impact deosebit pentru sănătatea oro-dentară s-a căutat în timp identificarea și utilizarea unor markeri de diagnostic și monitorizare a acestor afecțiuni în vederea limitării incidenței așa cum a fost prezentată în capitolele precedente.

Interesul pentru posibila utilizare a defensinelor ca markeri de diagnostic și monitorizare peri-implantitei este dovedit prin prezența în literatura de specialitate a studiilor citate. Dezvoltarea tehnicilor precum și a echipamentelor de cercetare au permis aprofundarea studiilor de genomică, proteomică și metabolomică, studii care au adus răspunsul la unele întrebări legate de implicarea defensinelor în patologia cavității oro-dentare. [105, 106]

Fluidele din cavitatea orală, respectiv saliva și fluidul gingival, reprezintă importante produse biologice în care se face determinare calitativă și cantitativă a defensinelor alături de alți biomarkeri utilizați în cadrul diagnosticului afecțiunilor oro-dentare. [107]

2 Utilizarea defensinelor în tratamentul antibacterian

Spre deosebire de antibioticele clasice, peptidele antimicrobiene au o serie de avantaje care cu siguranță le va recomanda în viitor ca alternative ale antibioticelor.

Isegananul din categoria cateciline porcine a fost testat și s-a ajuns în prezent în faza a III-a de studii clinice privind utilizare în tratamentul mucozitei orale ulcerative și se poate aprecia ca rezultatele obținute sunt încurajatoare pentru utilizarea acestuia în tratamentul mucozitei orale umane.

Există studii care arată că hBD-3 este foarte activ împotriva tulpinilor bacteriene rezistente și multirezistente la antibiotice, respectiv *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* și *Acinetobacter baumannii*. [111]

3. Utilizarea defensinelor în implantologie

Tendențele viitoare privind studiile de genomică sunt ca prin inginerie genetică să se obțină concentrații eficiente de defensine în fluidele cavității orale, astfel încât să poate fi prevenită apariția celei mai frecvente afecțiuni oro-dentare, respectiv caria dentară.

De asemenea, se dorește să se obțină o concentrație optimă de defensine astfel încât să se păstreze un echilibru în ecosistemul oral între speciile bacteriene saprofite și cele patogene, în vederea împiedicării inițierii și derulării fenomenelor infecțioase, inclusiv apariția peri-implantitei și a bolii parodontale. [110, 114]

MATERIAL ȘI METODE

1. LOTUL DE STUDIU

Lotul de studiu a fost selectat dintr-un grup de 290 pacienți prezentați în cabinetul privat de medicină dentară și în cadrul departamentului de Implantologie al Facultății de Medicină Dentară, Universitatea Ovidius din Constanța. La aceștia au fost inserate un total de 1160 de implanturi dentare, în perioada ianuarie 2015-decembrie 2016. Menționez că 263 de pacienți au avut evoluție favorabilă postinserție implant dentar, respectiv un procent de 90,3%, și 27 au avut evoluție nefavorabilă, respectiv un procent de 9,7%.

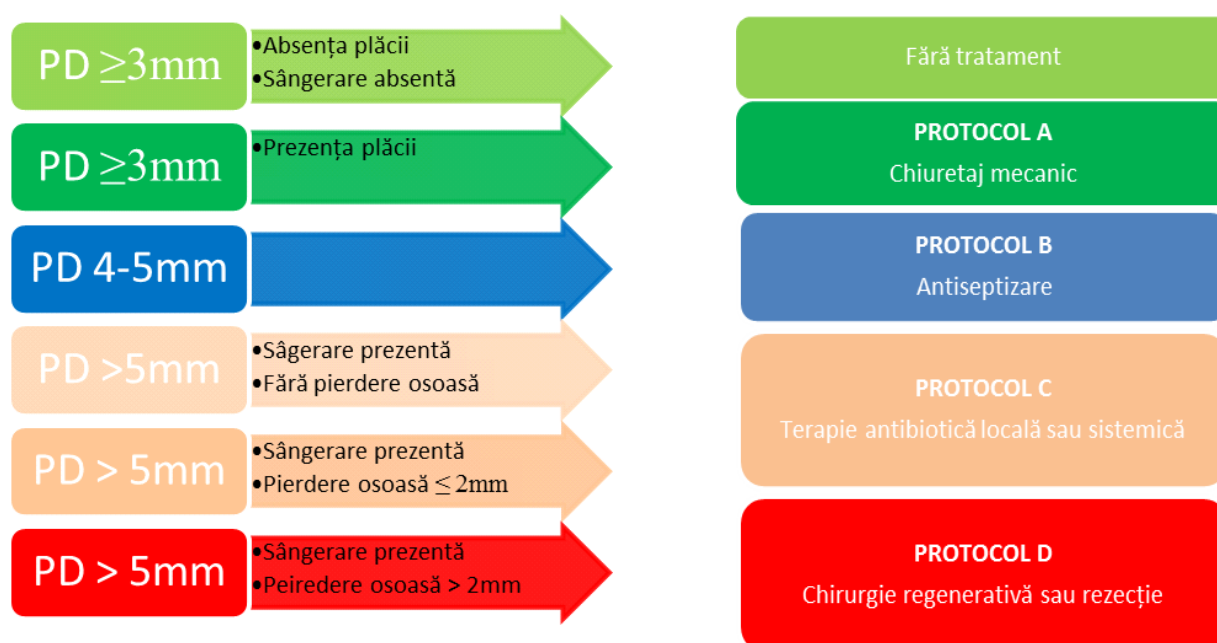
Din grupul de pacienți cu evoluție favorabilă, am selectat aleator 9 pacienți care au constituit grupul control; la aceștia am adăugat cei 27 de pacienți cu evoluție nefavorabilă a implantului dentar, formând astfel, lotul de studiu de 36 de pacienți, reprezentând 12,4% din grupul inițial.

Repartiția pe sexe a pacienților din lotul de studiu este după cum urmează: 22 femei (61,1%) și 14 bărbați (38,9%) cu vârsta cuprinsă în intervalul 27-70 de ani.

În urma examenului clinic orodentar și radiologic, pacienții din lotul de studiu au fost încadrați în 3 categorii după cum urmează: 9 pacienți cu evoluție favorabilă; 12 pacienți cu mucozită; 15 pacienți cu peri-implantită.

2. EVALUAREA POST-INSERTIE IMPLANT DENTAR

După evaluarea clinică oro-dentară realizată la 7 zile post-implant dentar, pe baza aceluiași parametri clinici și radiologici, pacienții au fost tratați conform protocoalelor Cumulative interceptive supportive therapy (CIST) propuse de Mombelli și Lang, așa cum reiese din figura de mai jos. [126, 127]



Protocoale de tratament (CIST)

3. PRODUSE PATOLOGICE ȘI METODE DE RECOLTARE

Așa cum este prezentat în literatura de specialitate, sediile de sinteză pentru hBD1-3 sunt celulele ductelor salivare, celulele mucoasei orale și unele celule ale sângelui (leucocitele PMN). [41, 129]

De asemenea, există studii care atestă faptul că mucinele salivare fac imposibilă cuantificarea reală a hBD-2 și -3 în salivă; concret, reziduurile de acid sialic maschează hBD-2 și -3 în proporție de 25-30% [130].

Din aceste considerente am decis ca pentru evaluarea cantitativă a hBD-3 să folosim fluidul peri-implantar și saliva pentru cuantificarea IL-1 beta. Probele de fluid peri-implantar s-au recoltat folosind conuri de hârtie sterile, care au fost introduse în fiecare șanț peri-implantar timp de 30 de secunde.

4. DESCRIEREA IMPLANTULUI DENTAR

Am folosit implantul NeoCMI Implant System de la NeoBiotech care este un implant de tip șurub realizat din titan pur. [128] El prezintă un sistem de conectare cu proteza și un sistem intern de tip hex (IS). De asemenea, suprafața implantului este de tip IS-II Active, care asigură o microporozitate a suprafeței necesară pentru a mări aria de contact cu osul alveolar. [128]

STUDIUL I-CERCETARI PRIVIND POSIBILA CORELAȚIE DINTRE BETA-3 DEFENSINE ȘI STATUSUL CLINIC ORODENTAR DIN MUCOZITĂ ȘI PERI-IMPLANTITĂ

În prezent, implanturile dentare sunt cea mai importantă metodă în substituirea unuia sau mai multor dinți lipsă în diferite situații clinice.

Scopul medicinei dentare moderne este de a restaura sistemul oro-dentar al pacientului, consolidând starea de sănătate, din punct de vedere funcțional, confort și estetică, prin refacerea unui singur dinte cariat sau prin înlocuirea mai multor dinți. [61, 80]

Dezvoltarea și introducerea conceptului de osteointegrare a implanturilor endoosoase de către Dr. Branemark a fost un moment important în evoluția principiilor de tratament în medicina dentară. Astfel, utilizarea implanturilor dentare a crescut în ultimele trei decenii, oferind o soluție pentru edentația parțială sau completă, cu multe beneficii pentru pacienți. [61]

În același timp, pe lângă avantajele prezentate de tratamentul cu implante dentare, există și posibilitatea apariției complicațiilor reprezentate de mucozită și peri-implantită. [80] Ambele afecțiuni sunt caracterizate printr-o reacție inflamatorie în țesuturile înconjurătoare implantului. [61, 79, 80]

Mucozita a fost descrisă ca o boală în care prezența inflamației se limitează la țesuturile moi din jurul unui implant dentar, fără semne de pierdere a țesutului osos adiacent, cu prezența remodelării osoase în timpul vindecării. Peri-implantita a fost definită ca proces

inflamator în jurul unui implant, care include atât inflamația țesuturilor moi cât și pierderea progresivă a osului adiacent. [61, 79, 80]

Studiile realizate de Mombelli et al. arată că prevalența peri-implantitei raportată la cifra de implanturi inserate este de 10% iar raportată pe cifra de pacienții cu implant dentar este de 20%, cifre estimate după evaluare pacienților timp de 5-10 ani. [83]

Există valori diferite ale prevalenței mucozitei și peri-implantitei, între 5 și 63,4%, calculate în funcție de o mare varietate de factori luați în considerare, cum ar fi mărimea lotului de pacienți și designul studiului. [122, 123]

Unul dintre cei mai importanți factori în etiopatogenia peri-implantitei este colonizarea bacteriană a suprafeței implanturilor. Contaminarea bacteriană a implantului generează un răspuns inflamator care poate fi evaluat din fluidul crevicular peri-implantar (PICF), definit ca un exudat inflamator mediat osmotic originar din vasele plexului gingival.

Compoziția acestuia este similară cu lichidul gingival (GCF), conținând mediatori inflamatori, produși de degradare tisulară și defensine, ca parte a imunității înnăscute a gazdei împotriva speciilor de bacterii prezente în jurul implantului dentar. [105]

IPOTEZA DE LUCRU-Efectul anti-bacterian al hBD-3 ar putea influența statusul clinic oro-dentar din mucozită și peri-implantită.

SCOPUL STUDIULUI-a fost de a identifica existența unei posibile corelații între cantitatea hBD-3 din fluidul peri-implantar și parametrii de evaluare ai statusului clinic oro-dentar în mucozită și peri-implantită.

REZULTATE

Procesarea statistică a valorilor hBD-3 obținute la cele trei loturi arată că există diferențe semnificativ statistice între loturile de pacienți cu mucozită și peri-implantită și între pacienții cu evoluție favorabilă a implantului și cei cu peri-implantită.

Studiul statistic al valorilor adâncimii șanțului peri-implantar (ASP) arată că există diferențe înalt semnificativ statistice între cele trei loturi de studiu ($p \leq 0,001$).

Analiza statistică arată că există o corelație inversă înaltă între ASP și valorile hBD-3 cuantificate la lotul de pacienți cu evoluție favorabilă a implantului. La lotul de pacienți cu peri-implantita și mucozită studiul statistic arată că există o corelație pozitivă înaltă între cei

doi parametri evaluați ($p \leq 0,001$).

CONCLUZII PRELIMINARE

1. Defensina hBD-3 cuantificată în fluidul crevicular peri-implantar poate fi folosită ca parametru de evaluare a statusului clinic al pacientului după inserția implantului dentar.
2. Cuantificarea hBD-3 poate fi folosită în monitorizarea pacientului cu implant dentar în vederea evaluării apariției complicațiilor posibile: mucozita și peri-implantita.
3. Evaluarea hBD-3 la pacientul cu implant dentar poate constitui un argument obiectiv în alegerea corectă a protocolului terapeutic.

STUDIUL II- BETA-3 DEFENSINE ȘI IL-1 ÎN PERI-IMPLANTITĂ

Intensitatea procesului inflamator în peri-implantită este explicată prin abundența de PMN și macrofage, aceste celule reprezentând principala sursă de sinteză a IL-1 [137, 138, 139]. Rolul covârșitor al IL-1 beta în peri-implantită este explicat de potențialul acestei interleukine de a stimula răspunsul imun umoral și răspunsul imun celular precum și prin posibilitatea de a induce sinteza altor interleukine, printre care cele mai importante sunt IL-6 și IL-2 [100, 137, 138, 139]

IPOTEZA DE LUCRU-Interleukina 1 beta este element nodal în cadrul procesului inflamator din peri-implantită, expresia cantitativă a acesteia fiind legată de intensitatea procesului inflamator.

SCOPUL STUDIULUI-este de a stabili posibila corelație între IL-1 beta cuantificată în fluidul crevicular peri-implantar și statusul clinic la pacienții cu evoluție favorabilă și peri-implantită.

OBIECTIVELE STUDIULUI

Evaluarea cantitativă a IL-1 beta la pacienți cu evoluție favorabilă post-implant dentar, pacienți cu peri-implantită; Evaluarea corelației între IL-1 beta și statusul clinic oro-dentar la cele 2 loturi de pacienți; Evaluarea semnificației statistice între IL-1 beta și beta 3 defensine cuantificate în fluidul peri-implantar la cele 2 loturi de pacienți, în cele 3 momente ale evaluării.

REZULTATE

În cadrul acestui pilon de cercetare am evaluat cele două “extreme” din punct de vedere clinic, respectiv, lotul de pacienți cu evoluție favorabilă post-implant dentar și lotul cu peri-implantită, pornind de la premiza că între cele două loturi există cele mai mari diferențe privind intensitatea procesului inflamator.

Am obținut rezultate care arată existența unor diferențe înalt semnificativ statistice privind valorile IL1- β între loturile de pacienți cu evoluție favorabilă și cel cu peri-implantită în toate cele 3 momente ale evaluării ($p < 0.0001$).

Studiul posibilei corelații între adâncimea șanțului peri-implantar și IL1- β în lotul pacienților cu evoluție favorabilă și în lotul pacienților cu peri-implantită după inserția implantelor dentare arată existența unei asociații pozitive înalte între cei doi parametrii.

CONCLUZII PRELIMINARE

1. IL-1 β cuantificat în fluidul peri-implantar poate fi folosit pentru evaluarea statusului clinic oro-dentar la pacientul postimplant dentar.
2. IL-1 β și hBD-3 pot fi utilizați ca biomarkeri pentru diagnosticul și monitorizarea pacienților după inserarea implantelor dentare.

STUDIUL III- BETA-3 DEFENSINE ȘI SPECII BACTERIENE ÎN PERI-IMPLANTITĂ

Rolul bacteriilor în inițierea procesului inflamator din peri-implantită este o realitate necontestabilă, existând în literatura de specialitate accesată foarte multe studii în care este demonstrată modalitatea prin care bacteriile inițiază și întrețin această afecțiune. [61, 83]

Primele studii pe această temă au pornit de la similaritățile existente între boala parodontală și peri-implantită în ceea ce privește paleta comună de specii bacteriene generatoare a acestor afecțiuni. [142, 143]

Evident că în timp a fost demonstrată și existența unor elemente care particularizează peri-implantita din punct de vedere a etiologiei bacteriene. Astfel, evoluția favorabilă post-implant dentar este caracterizată din punct de vedere bacteriologic de colonizarea fluidului peri-implantar de specii aparținând familiei *Streptococcus*.

În cadrul peri-implantitei se realizează inițial o colonizare cu specii saprofite, lipsite de patogenitate, dar ulterior apare colonizarea cu specii de bacili Gram negativi, cu înalt potențial de patogenitate, printre care *P. gingivalis*, *T. denticola* și *T. forsythia* ocupă un loc

important. [61, 80, 83]

IPOTEZA DE LUCRU -Speciile bacteriene parodontopatogene sunt implicate în inițierea și derularea procesului inflamator în peri-implantită.

SCOPUL STUDIULUI -este de a identifica prezența speciilor bacteriene în fluidul peri-implantar după inserția implantului dentar la pacienți cu evoluție favorabilă, cu mucozită și cu peri-implantită.

OBIECTIVELE STUDIULUI

Identificarea speciilor bacteriene din fluidul crevicular peri-implantar la cele 3 loturi de pacienți; Stabilirea corelației dintre adâncimea șanțului peri-implantar și prezența speciilor bacteriene la cele 3 loturi de pacienți considerați în studiu; Stabilirea corelației dintre prezența speciilor bacteriene și hBD-3 la cele 3 loturi de pacienți considerați în studiu.

PROTOCOLUL DE ANALIZĂ MICROBIOLOGICĂ

Bacteriile strict anaerobe patogene s-au dezvoltat în incinte speciale în care anaerobioza a fost realizată folosind reducători de oxigen (GEN bag anaer, BioMerieux). Identificarea speciilor bacteriene s-a făcut în sistem API-BioMerieux folosind următoarele tipuri de truse: rapid ID 32 A, API 20 STREP, ID 32 STAPH.

REZULTATE

Ținând cont că studiile de specialitate prezintă faptul că finalizarea colonizării bacteriene se realizează după două săptămâni după inserția implantului dentar [52,100, 138], rezultatele prezentului studiu arată că există o asocieră între adâncimea șanțului peri-implantar și prezența combinației celor 3 specii bacteriene (*Porphyromonas species*, *Fusobacterium mortiferum* și *nucleatum*, *Tannerella forsythia*) la toate cele 3 loturi de pacienți evaluați la 21 de zile.

Noutatea studiului este legată de existența unei asociații cu semnificație statistică între adâncimea șanțului peri implantar și speciile bacteriene considerate în studiu, evidențiindu-se această asocieră la toate cele 3 loturi de pacienți.

De asemenea, ca un alt element de noutate al prezentului studiu este identificarea unor

valori prag pentru hBD-3 în contextul prezenței speciilor bacteriene considerate pentru mucozită și peri-implantită.

Aceste valori reprezintă „semnale de alarmă” pentru medicul curant, astfel încât pacienții la care se înregistrează valori ale hBD-3 peste pragul estimat, în asociere cu speciile bacteriene menționate, necesita monitorizare și tratament conform protocoalelor terapeutice în vigoare. Trebuie menționat faptul că asocierea prezenței *S. aureus* semnifică prognostic evolutiv rezervat, așa cum este menționat și în alte studii. [90]

Ceea ce aduce ca noutate prezentul studiu cu privire la microbiologia peri-implantitei este identificarea corelației dintre speciile bacteriene Gram negative anaerobe și nivelul de afectare peri-implantară exprimat prin adâncimea șanțului peri-implantar, existând semnificație statistică între acești parametri, pentru un prag critic al șanțului peri-implantar de 4 mm la peri-implantită și 3 mm la mucozită.

CONCLUZII PRELIMINARE

1. Prezența speciilor bacteriene cu potențial de patogenitate ca elemente de colonizare a fluidului peri-implantar definește evoluția ulterioară a pacientului după inserția implantului dentar.
2. Asocierea dintre hBD-3 cu speciile bacteriene patogene necesită tratament și monitorizare adecvată.

CONCLUZII FINALE

- Defensina hBD-3 cuantificată în fluidul crevicular peri-implantar poate fi folosită ca parametru de evaluare a statusului clinic al pacientului după inserția implantului dentar.
- Cuantificarea hBD-3 poate fi folosită în monitorizarea pacientului cu implant dentar în vederea evaluării apariției complicațiilor posibile: mucozita și peri-implantita.
- Evaluarea hBD-3 la pacientul cu implant dentar poate constitui un argument obiectiv în alegerea corectă a protocolului terapeutic.
- IL-1 β cuantificat în fluidul peri-implantar este un biomarker care poate fi folosit pentru evaluarea statusului clinic oro-dentar la pacientul postimplant dentar.
- IL-1 β și hBD-3 pot fi utilizați ca biomarkeri pentru diagnosticul și monitorizarea pacienților după inserarea implantelor dentare.
- Prezența speciilor bacteriene cu potențial de patogenitate ca elemente de colonizare a

șanțului peri-implantar, cunatificate în fluidul peri-implantar sunt elemente care definesc evoluția clinică ulterioară a pacientului după inserția implantului dentar.

- Asocierea dintre hBD-3 cu speciile bacteriene patogene necesită tratament și monitorizare adecvată.

BIBLIOGRAFIE

1. Grigore Mihăescu, Imunologie și Imunochimie, Editura Universității din București, 2001, 456 p, ISBN 973-575-556-4
2. Kenneth Murphy, Janeway's Immunobiology, 8th Edition, 2011, ISBN 9780815342434, Garland Science, Taylor&Francis Group, 888 p, Chapter 2: innate immunity: The first line of defence, pp. 37-73, http://www.garlandscience.com/res/pdf/9780815342434_ch02.pdf, citat 14.06.2016
3. Klotman M.E., Chang T.L., Defensins in innate antiviral immunity, Nature Reviews, Immunology, 2016, 6:447-456, doi:10.1038/nri1860
4. Justyna Jarczak, Ewa M. Kościuczuk, Paweł Lisowski, Nina Strzałkowska, Artur Jóźwik, Jarosław Horbańczuk, Józef Krzyżewski, Lech Zwierzchowski, Emilia Bagnicka, Defensins: Natural component of human innate immunity, Human Immunology, 2013 September; 74(9): 1069–1079. Published online 2013 June 10. doi: 10.1016/j.humimm.2013.05.008
5. Zuzanna Ślebioda, Elżbieta Szponar, Anna Kowalska, Defensins and their role in the maintenance of the oral cavity homeostasis – a literature review, Central European Journal of Immunology 2013; 38(1):111-117, DOI: 10.5114/ceji.2013.34367
6. Kim A. Brogden, Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria?, Nature Reviews Microbiology 3, 238-250 (March 2005) | doi:10.1038/nrmicro1098
7. Ganz T. Defensins and host defense. Science. 1999 Oct 15;286(5439):420-1.
8. Sayali Bhavsar Shintre, Megha Trehan, Understanding the Roles of Gingival Defensins: A Brief Review, International Research Journal of Clinical Medicine, Vol 1, Issue 1, Jan 2016, 20-22
9. Robert I. Lehrer, Primate defensins, Nature Reviews Microbiology 2, 727-738 (September 2004) | doi:10.1038/nrmicro976
10. Wang G. Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. Methods Mol. Biol. 2015;1268:43–66
11. Wang G. Human antimicrobial peptides and proteins. Pharmaceuticals. 2014;7:545–594.
12. Ericksen, B.; Wu, Z.; Lu, W.; Lehrer, R.I. Antibacterial activity and specificity of the six human alpha-defensins. Antimicrob. Agents Chemother. 2005, 49, 269–275.
13. Verma, C.; Seebah, S.; Low, S.M.; Zhou, L.; Liu, S.P.; Li, J.; Beuerman, R.W. Defensins: Antimicrobial peptides for therapeutic development. Biotechnol. J. 2007, 2, 1353–1359
14. Wang G. Database-guided discovery of potent peptides to combat HIV-1 or superbugs.

Pharmaceuticals. 2013;6:728–758.

15. Chang, T.L.; Vargas, J., Jr.; DelPortillo, A.; Klotman, M.E. Dual role of alpha-defensin-1 in anti-HIV-1 innate immunity. *J. Clin. Invest.* 2005, 115, 765–773.

16. Hazrati, E.; Galen, B.; Lu, W.; Wang, W.; Ouyang, Y.; Keller, M.J.; Lehrer, R.I.; Herold, B.C. Human alpha- and beta-defensins block multiple steps in herpes simplex virus infection. *J. Immunol.* 2006, 177, 8658–8666.

17. Guangshun Wang, Human Antimicrobial Peptides and Proteins, Pharmaceuticals 2014, 7(5), 545-594; doi:10.3390/ph7050545

18. Cao Xie, Adam Prahl, Bryan Ericksen, Zhibin Wu, Pengyun Zeng, Xiangqun Li, Wei-Yue Lu, Jacek Lubkowski, Wuyuan Lu, Reconstruction of the Conserved β -Bulge in Mammalian Defensins Using D-Amino Acids, THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY VOL. 280, NO. 38, pp. 32921–32929, September 23, 2005

19. Hill CP, Yee J, Selsted ME, Eisenberg D (March 1991). "Crystal structure of defensin HNP-3, an amphiphilic dimer: mechanisms of membrane permeabilization". *Science* 251(5000): 1481–5. doi:10.1126/science.2006422. PMID 2006422.

20. Szyk, A., Wu, Z., Tucker, K., Yang, D., Lu, W. and Lubkowski, J. (2006), Crystal structures of human α -defensins HNP4, HD5, and HD6. *Protein Science*, 15: 2749–2760. doi:10.1110/ps.062336606

21. Biljana Mojsoska, Håvard Jenssen, Peptides and Peptidomimetics for Antimicrobial Drug Design, Pharmaceuticals 2015, 8(3), 366-415; doi:10.3390/ph8030366

22. Hazlett, L.; Wu, M. Defensins in innate immunity. *Cell Tissue Res.* 2011, 343, 175–188.

23. Wenghoefer, M.; Pantelis, A.; Najafi, T.; Deschner, J.; Allam, J.P.; Novak, N.; Reich, R.; Martini, M.; Bergé, S.; Fischer, HP.; Jepsen, S.; Winter, J. Gene expression of oncogenes, antimicrobial peptides, and cytokines in the development of oral leukoplakia. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2010, 110, 351–356.

24. Wah J., Wellek A, Frankenberger M, Unterberger P, Welsch U, Bals R Antimicrobial peptides are present in immune and host defense cells of the human respiratory and gastrointestinal tracts..2006 Jun;324(3):449-56. Epub 2006 Feb 24

25. Frederic, M., Yamaai, T., Mizukawa, N., Kaneda, Y., Katase, N., Gunduz, M., Nagatsuka, H. and Sugahara, T. (2008), Expression of human β -defensin -1, -2, and -3 in non-inflamed pseudocyst, mucocoeles. *Oral Diseases*, 14: 652–657. doi: 10.1111/j.1601-0825.2008.01451.x

26. Jochen Winter, Matthias Wenghoefer, Human Defensins: Potential Tools for Clinical

Applications, *Polymers* 2012, 4, 691-709; doi:10.3390/polym4010691

27. Flavia Sammartino The role of immune system in the development of periodontal disease: a brief review *Rev. odonto ciênc.* 2010;25(3):300-305
28. Guozhang Zou , Erik de Leeuw , Chong Li, Marzena Pazgier , Changqing Li, Pengyun Zeng, Wei-Yue Lu, Jacek Lubkowski , Wuyuan Lu, Toward Understanding the Cationicity of Defensins, ARG AND LYS VERSUS THEIR NONCODED ANALOGS, *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY* VOL. 282, NO. 27, pp. 19653–19665, July 6, 2007
29. Laube DM, Dongari-Bagtzoglou A, Kashleva H, Eskdale J, Gallagher G, Diamond G, Differential regulation of innate immune response genes in gingival epithelial cells stimulated with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. 2008 Feb;43(1):116-23. Epub 2007 Nov 13.
30. Kanda N, Watanabe S Leptin enhances human beta-defensin-2 production in human keratinocytes. 2008 Oct;149(10):5189-98. doi: 10.1210/en.2008-0343. Epub 2008 Jun 12.
31. Ganz, T. Defensins: Antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2003, 3, 710–720
32. Suresh, A.; Verma, C. (2006). "Modelling study of dimerization in mammalian defensins". *BMC Bioinformatics* 7: S17. DOI:10.1186/1471-2105-7-S5-S17.
33. Vishnu Dhople, Amy Krukemeyer, Ayyalusamy Ramamoorthy, The human beta-defensin-3, an antibacterial peptide with multiple biological functions, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, Volume 1758, Issue 9, September 2006, Pages 1499–1512, doi:10.1016/j.bbamem.2006.07.007
34. Zhibin Wu, David M. Hoover, De Yang, Cyril Boulègue, Fanny Santamaria, Joost J. Oppenheim, Jacek Lubkowski, Wuyuan Lu, Engineering disulfide bridges to dissect antimicrobial and chemotactic activities of human β -defensin 3, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* ,July 22, 2003, vol. 100, no. 15, 8880-8885, www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1533186100
35. Ashank Mishra¹, Bagalkotkr Apeksha², Pradeep Koppolu¹, Swapna Amara Lingam³ Role of antimicrobial peptides in periodontal innate defense mechanism; 2015, 7(2): 74-76.
36. Niyonsaba, F.; Ushio, H.; Nakano, N.; Ng, W.; Sayama, K.; Hashimoto, K.; Nagaoka, I.; Okumura, K.; Ogawa, H. Antimicrobial peptides human beta-defensins stimulate epidermal keratinocyte migration, proliferation and production of proinflammatory cytokines and chemokines. *J. Invest. Dermatol.* 2007, 127, 594–604
37. Abiko, Y.; Saitoh, M.; Nishimura, M.; Yamazaki, M.; Sawamura, D.; Kaku, T. Role of β -

- defensins in oral epithelial health and disease. *Med. Mol. Morphol.* 2007, 40, 179–184.
38. Aaron Weinberg, Ge Jin, Scott Sieg, Thomas S. McCormick, The Yin and Yang of human beta-defensins in health and disease, *Frontiers in immunology*, October 2012 | Volume 3 | Article 294, 1-9
39. Guangshun Wang, Biswajit Mishra, Kyle Lau, Tamara Lushnikova, Radha Golla, Xiuqing Wang, *Antimicrobial Peptides* in 2014, *Pharmaceuticals* 2015, 8:1, 123-150; doi:10.3390/ph8010123
40. S. Krisanaprakornkit, S. Khonghuthian, The role of antimicrobial peptides in periodontal disease (part I): an overview of human defensins and cathelicidin, *Thai Journal of Periodontology*, 2010, 1:33-44
41. Bhagawati S.B., Bhagawati B.T., Mittal S., Role of Defensins in Oral Diseases, *Journal of Indian Academy of Oral Medicine and Radiology*, 2012, 24:2, 142-145
42. Winter, J.; Pantelis, A.; Reich, R.; Martini, M.; Kraus, D.; Jepsen, S.; Allam, J.P.; Novak, N.; Wenghoefer, M. Human beta-defensin-1, -2, and -3 exhibit opposite effects on oral squamous cell carcinoma cell proliferation. *Cancer Invest.* 2011, 29, 196–201.
43. Kohlgraf KG, Pingel LC, Dietrich DE, Brogden KA. Defensins as anti-inflammatory compounds and mucosal adjuvants. *Future microbiology*. 2010;5:99. doi:10.2217/fmb.09.104
44. Wenzel M., Chiriac A.I., Otto A., Zweytick D., May C., Schumacher C., Gust R., Albada H.B., Penkova M., Kramer U., et al. Small cationic antimicrobial peptides delocalize peripheral membrane proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2014;
45. Ali Adem Bahar, Dacheng Ren, *Antimicrobial Peptides*, *Pharmaceuticals* 2013, 6, 1543-1575; doi:10.3390/ph6121543
46. Xiaoying Lu, Zoya Kurago, Kim A. Brogden, Effects of polymicrobial communities on host immunity and response, *FEMS Microbiol Lett* 265 (2006) 141–150, DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00485.x>
47. Bowdish D.M., Davidson D.J., Hancock R.E., Immunomodulatory properties of defensins and cathelicidins, *Curr Top Microbiol Immunol* 2006, 306:27-66
48. Nakashima H., Yamamoto N., Masuda M., Fujii N., Defensins inhibit HIV replication in vitro, *AIDS*, 1993, 7, 1129.
49. Sun, L.; Finnegan, C.M.; Kish-Catalone, T.; Blumenthal, R.; Garzino-Demo, P.; La Terra Maggiore, G.M.; Berrone, S.; Kleinman, C.; Wu, Z.; Abdelwahab, S.; Lu, W.; Garzino-Demo, A. Human beta-defensins suppress human immunodeficiency virus infection: Potential role in

mucosal protection. *J. Virol.* 2005, 79, 14318–14329

50. Jin G, Kawsar HI, Hirsch SA, et al. An Antimicrobial Peptide Regulates Tumor-Associated Macrophage Trafficking via the Chemokine Receptor CCR2, a Model for Tumorigenesis. Fritz JH, ed. *PLoS ONE*. 2010;5(6):e10993. doi:10.1371/journal.pone.0010993.

51. Hameem I. Kawsar, Aaron Weinberg, Stanley A. Hirsch, Andrea Venizelos, Scott Howell, Bin Jiang, Ge Jin, Overexpression of human β -defensin-3 in oral dysplasia: Potential role in macrophage trafficking, *Oral Oncology*, Volume 45, Issue 8, August 2009, Pages 696–702, doi:10.1016/j.oraloncology.2008.10.016

52. Samaranayake L.P., *Essential Microbiology for Dentistry*, Ed. Churchill Livingstone 2002, ISBN 0-443-06461-X

53. Chardin H., Barsotti O., Bonnaure-Mallet M., *Microbiologie en odonto-stomatologie*, Editura Maloine, Paris, 2006, ISBN 2-224-02928-4

54. Dumitriu H.T., *Parodontologie*, ISBN 973-9320-17-1, Ed. Viata Medicala Romaneasca, Bucuresti, 1998;

55. Highfield J., Diagnosis and classification of periodontal disease, *Australian Dental Journal* 2009; 54:(1 Suppl): S11-S26;

56. Carranza F., *Carranza's Clinical Periodontology*, ISBN: 978-1-4377-0416-7, Elsevier Inc., 2012;

57. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/en/index.html> citat 22.01.2014

58. http://www.who.int/oral_health/strategies/cont/en/index.html citat 22.01.2014

59. Patel R., The State of Oral Health in Europe, Report Commissioned by the Platform for Better Oral Helth in Europe, September 2012;

60. Marchetti E., Monaco A., Procaccini L, Mummolo S., Gatto R., Tete S., Baldini A., Tecco S, Marzo G., Periodontal disease: the influence of metabolic syndrome, *Nutrition & Metabolism* 2012, 9:88;

61. Misch E.C., *Dental Implant Proshetics*, 2nd Edition, St. Loius: Mosby Elsevier; 2015:1-1001.

62. Suzuki N., Yoneda M., Hirofuji T., Mixed Red-Complex Bacterial Infetion in Periodontitis, *International Journal of Dentistry*, Vol 2013, article ID 587279, 6 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/587279>

63. Lamont R.J., Kenkinson H.F., *Oral Microbiology at a Glance*, 2010:1-85, United

Kingdom: Wiley-Blackwell, ISBN 978-0-8138-2892-3

64. Bascones-Martinez A., Munoz-Corcuera M., Noronha S., Mota P., Bascones-Ilundain C., Campo-Trapero J., Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: basic mechanisms, *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2009, 14(12):e680-5
65. Wolf H.F., Rateitschak E.M. & K.H., Hassel T.M., *Color Atlas of Dental Medicine: Periodontology*, 3rd Edition, Goerg Thieme Verlag, 2005;
66. Kuula H., Salo T., Pirilä E., Hagströme J., Luomanen M., Gutierrez-Fernandez A., Romanos G.E., Sorsa T., Human β -defensin-1 and -2 and matrix metalloproteinase-25 and -26 expression in chronic and aggressive periodontitis and in peri-implantitis, *Archives of Oral Biology*, Volume 53, Issue 2, February 2008, Pages 175–186
67. Gursoy UK, Könönen E. Understanding the roles of gingival beta-defensins. *Journal of Oral Microbiology*. 2012;4:10.3402/jom.v4i0.15127. doi:10.3402/jom.v4i0.15127.
68. Jurevic RJ, Bai M, Chadwick RB, White TC, Dale BA. Single-Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in Human β -Defensin 1: High-Throughput SNP Assays and Association with Candida Carriage in Type I Diabetics and Nondiabetic Controls. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003;41(1):90-96. doi:10.1128/JCM.41.1.90-96.2003.
69. Ozturk A., Famili P., Vieira A.R., The antimicrobial peptide DEFB1 is associated with caries, *J Dent Res*. 2010 Jun;89(6):631-6. doi: 10.1177/0022034510364491.
70. Brancatisano F.L., Maisetta G., Barsotti F., Esin S., Reduced Beta Defensin 3 in Individuals with Periodontal Disease, *Journal of Dental Research*, 2011, 90:2, 241-245.
71. Dorota Kościelniak, Anna Jurczak, Agnieszka Zygmunt, Wirginia Krzyściak, Salivary proteins in health and disease, *Acta Biochimica Polonica*, Vol. 59, No 4/2012, 451–457
72. Kazuhisa Ouhara, Hitoshi Komatsuzawa, Sakuo Yamada, Hideki Shiba, Tamaki Fujiwara, Masaru Ohara, Koji Sayama, Koji Hashimoto, Hidemi Kurihara, and Motoyuki Sugai, Susceptibilities of periodontopathogenic and cariogenic bacteria to antibacterial peptides, β -defensins and LL37, produced by human epithelial cells, *J. Antimicrob. Chemother.* (June 2005) 55 (6): 888-896, 2005 doi:10.1093/jac/dki103
73. Gomes Pde S., Fernandes M.H., Defensins in the oral cavity: distribution and biological role, *J Oral Pathol Med*. 2010 Jan;39(1):1-9. doi: 10.1111/j.1600-0714.2009.00832.x.
74. Dommisch H, Jepsen S., Diverse functions of defensins and other antimicrobial peptides in periodontal tissues, *Periodontol 2000*. 2015 Oct;69(1):96-110. doi: 10.1111/prd.12093.
75. Lu Q., Samaranayake L.P., Darveau R.P., Jin L., Expression of human beta-defensin-3 in

gingival epithelia, *J Periodontal Res.* 2005 Dec;40(6):474-81.

76. Lee SH., Jun HK, Lee HR, Chung CP, Choi BK., Antibacterial and lipopolysaccharide (LPS)-neutralising activity of human cationic antimicrobial peptides against periodontopathogens, *Int J Antimicrob Agents.* 2010 Feb;35(2):138-45. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.09.024.

77. Telma Blanca Lombardo Bedran, Márcia Pinto Alves Mayer, Denise Palomari Spolidorio, Daniel Grenier, Synergistic Anti-Inflammatory Activity of the Antimicrobial Peptides Human Beta-Defensin-3 (hBD-3) and Cathelicidin (LL-37) in a Three-Dimensional Co-Culture Model of Gingival Epithelial Cells and Fibroblasts, *PLOS ONE*, www.plosone.org, 2014, Volume 9, Issue 9, | e106766, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0106766>

78. Dommisch, H., Reinartz, M., Backhaus, T., Deschner, J., Chung, W., & Jepsen, S. (2012). Antimicrobial responses of primary gingival cells to *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(10), 913-922. DOI: 10.1111/j.1600-051X.2012.01933.x

79. Sanz I., Chapple L., Clinical research on peri-implant diseases: Consensus report of Working Group 4, *Journal of Clinical Periodontology*, 2012, 39:12s, 202-206.

80. American Academy of Periodontology Report: Peri-Implant Mucositis and Peri-Implantitis: A Current Understanding of Their Diagnoses and Clinical Implications, *Journal of Periodontology*, 2013, 84:4, 436-443.

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

82. Lindhe J, Meyle J., Group D of European Wotkshop on Periodontology, Peri-implant disease: Consensus Report of the Sixth European Wotkshop on Periodontology, *J Clin Periodontol*, 2008, 35(8 Suppl):282-5

83. Mombelli A., Muller N., Cionca N., The epidemiology of peri-implantitis, *Clinical Oral Implants Research*, 2012, 23:Suppl 6, 67–76.

84. Derks J., Hakansson J., Weenstrom J.L., Tomasi C., Larsson M., Berglund T., Effectiveness of implant therapy analyzed in a Swedish population: early and late implant loss, *J Dent Res*, 2015, 94(3 Suppl):44S-51S.

85. Heitz-Maifield L.J., Lang N.P., Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis, *Periodontology* 2000, 2010, 53, 167-181.

86. Noriko Maruyama, Fumito Maruyama, Yasuo Takeuchi, Chihiro Aikawa, Yuichi Izumi, Ichiro Nakagawa, Intraindividual variation in core microbiota in peri-implantitis and

- periodontitis, SCIENTIFIC REPORTS, 4 : 6602, DOI: 10.1038/srep06602, www.nature.com/scientificreports
87. Shibli J.A., Melo L., Ferrari D.S., Figueiredo L.C. Faveri M., Feres M., Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants, *Clin Oral Implants Res*, 2008, 19(10):975-82.
88. Al-Ahmad A, Wiedmann-Al-Ahmad M, Fackler A, Follo M, Hellwig E, Bächle M, Hannig C, Han JS, Wolkewitz M, Kohal R., In vivo study of the initial bacterial adhesion on different implant materials, *Arch Oral Biol*. 2013 Sep;58(9):1139-47. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.04.011
89. Neilands J., Wickström C., Kinnby B., Davies J.R., Hall J., Friberg B., Svensäter G., Bacterial profiles and proteolytic activity in peri-implantitis versus healthy sites, *Anaerobe*. 2015 Oct;35(Pt A):28-34. doi: 10.1016/j.anaerobe.2015.04.004.
90. Persson Rutger G., Renvert S., Cluster of Bacteria Associated with Peri-Implantitis, *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, Volume 16, Issue 6, pages 783–793, December 2014
91. Mombelli A., Décaillot F., The characteristics of biofilms in peri-implant disease, *J Clin Periodontol*. 2011 Mar;38 Suppl 11:203-13. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01666.x.
92. Charalampakis G., Leonhardt A., Rabe P., Dahlen G., Clinical and microbiological characteristics of peri-implantitis cases: a retrospective multicentre study, *Clinical Oral Implants Research*, 2012, 23, 1045–1054.
93. Busscher H.J., Rinastiti M., Siswomihardjo W., van der Mei H.C., Biofilm formation on dental restorative and implant materials, *J Dent Res*. 2010 Jul;89(7):657-65. doi: 10.1177/0022034510368644.
94. Kolenbrander P.E., Palmer R.J. Jr., Periasamy S., Jakubovics N.S., Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance, *Nat Rev Microbiol*. 2010 Jul;8(7):471-80. doi: 10.1038/nrmicro2381
95. Hui Zheng, Lixin Xu, Zicheng Wang, Lianshuo Li, Jieni Zhang, Qian Zhang, Ting Chen, Jiuxiang Lin, Feng Chen, Subgingival microbiome in patients with healthy and ailing dental implants, *Scientific Reports*, 5:10948, DOI: 10.1038/srep10948, www.nature.com/scientificreports/
96. Berglundh T., Zitzmann NU, Donati M., Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions?, *J Clin Periodontol*. 2011 Mar;38 Suppl 11:188-202. doi:

10.1111/j.1600-051X.2010.01672.x.

97. Horewicz V.V., Ramalho L, dos Santos JN, Ferrucio E, Cury PR., Comparison of the distribution of dendritic cells in peri-implant mucosa and healthy gingiva, *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013 Jan-Feb;28(1):97-102. doi: 10.11607/jomi.2487.
98. Degidi M., Artese L, Piattelli A, Scarano A, Shibli JA, Piccirilli M, Perrotti V, Iezzi G., Histological and immunohistochemical evaluation of the peri-implant soft tissues around machined and acid-etched titanium healing abutments: a prospective randomised study., *Clin Oral Investig*. 2012 Jun;16(3):857-66. doi: 10.1007/s00784-011-0574-3.
99. Fawad Javed, Khalid Al-Hezaimi, Ziad Salameh, Khalid Almas, Georgios E. Romanos, Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis, *Cytokine* 53 (2011) 8–12, doi:10.1016/j.cyto.2010.08.013
100. Güncü GN, Akman AC, Günday S, Yamalık N, Berker E., Effect of inflammation on cytokine levels and bone remodelling markers in peri-implant sulcus fluid: a preliminary report., *Cytokine*. 2012 Aug;59(2):313-6. doi: 10.1016/j.cyto.2012.04.024.
101. Sung-Geun Kim, Ji-Youn Hong, Seung-Il Shin, Ji-Hoi Moon, Jin-Yong Lee, Yeek Herr, Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* fimA genotypes in periimplant sulcus of Koreans using new primer, *J Periodontal Implant Sci*. 2016 Feb;46(1):35-45 <http://doi.org/10.5051/jpis.2016.46.1.35>
102. Badea Victoria, Grigorian Mircea, Nuca Cristina, Amariei Corneliu, Martinescu Alina, Voineagu Lavinia, Study regarding the use of salivary 8-hydroxydeoxyguanosine and Interleukine-1 gene polymorphism – as potential biomarkers in the diagnosis of aggressive periodontitis, *Revista Romana de Medicina de Laborator*, Vol 21, Nr 1/4, Martie 2013.
103. Martinescu A.A., Badea V., Nucă C., Petcu L.C., Balaban D.P., Caraiane A., Grigorian M. Genetic predisposition in aggressive periodontitis expressed by interleukine-1 gene polymorphism, *European Journal of Human Genetics*, Volume 23, Supplement 1, June 2015, pp. 407.
104. Bormann KH, Stühmer C, Z'Graggen M, Kokemöller H, Rücker M, Gellrich NC., IL-1 polymorphism and periimplantitis. A literature review, *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 2010;120(6):510-20.
105. Güncü G.N., Yilmaz D., Könönen E., Gürsoy U.K., Salivary Antimicrobial Peptides in Early Detection of Periodontitis, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2015, 5:99.
106. Ingrid Glurich, Amit Acharya, Murray H. Brilliant, Sanjay K. Shukla, *Progress in oral*

- personalized medicine: contribution of 'omics', *Journal of Oral Microbiology* 2015, 7: 28223 - <http://dx.doi.org/10.3402/jom.v7.28223>
107. Taylor JJ, Protein biomarkers of periodontitis in saliva, *ISRN Inflamm.* 2014 Apr 22;2014:593151. doi: 10.1155/2014/593151
108. Jansen PAM, Rodijk-Olthuis D, Hollox EJ, Kamsteeg M, Tjabringa GS, de Jongh GJ, et al. (2009) β -Defensin-2 Protein Is a Serum Biomarker for Disease Activity in Psoriasis and Reaches Biologically Relevant Concentrations in Lesional Skin. *PLoS ONE* 4(3): e4725. doi:10.1371/journal.pone.0004725
109. Kaltsa G, Bamias G, Siakavellas SI, et al. Systemic levels of human β -defensin 1 are elevated in patients with cirrhosis. *Annals of Gastroenterology : Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology.* 2016;29(1):63-70.
110. Dale BA, Fredericks LP. Antimicrobial Peptides in the Oral Environment: Expression and Function in Health and Disease. *Current issues in molecular biology.* 2005;7(2):119-133. doi:10.1093/jac/dki103.
111. Grudlewska Katarzyna, Sysakiewicz Martyna, Buda Kamil, Sobecka Monika, Alska Ewa, Zukow Walery, Sokołowski Remigiusz, Ciesielska Natalia. Possibility of using defensins in medicine = Możliwość wykorzystania defensyn w medycynie. *Journal of Health Sciences.* 2014, 04(07):011-017. ISSN 1429-9623/2300-665X. DOI: 10.13140/2.1.2753.3449 <http://dx.doi.org/10.13140/2.1.2753.3449>
112. Hamid Nasri, Fatemeh Dehghan Shahreza, Defensins usage as novel therapeutic and diagnostic approach, *Immunopathol Persa.* 2015;1(1):e05,
113. Mateescu M, Baixe S, Garnier T, Jierry L, Ball V, Haikel Y, et al. (2015) Antibacterial PeptideBased Gel for Prevention of Medical ImplantedDevice Infection. *PLoS ONE* 10(12): e0145143, doi:10.1371/journal.pone.0145143
114. El Kholy K, Van Dyke T. Implants and inflammation –What is the future?. *J Int Clin Dent Res Organ [serial online]* 2015 [cited 2016 Jun 15]; 7:48-54
115. Aleksandra Petković-Ćurčin, Smiljana Matić, Danilo Vojvodić, Novak Stamatović, Tatjana Todorović, Cytokines in pathogenesis of peri-implantitis, *Vojnosanit Pregl* 2011; 68(5): 435–440, DOI:10.2298/VSP1105435P
116. Mohan S.K., Yu C., The IL1 α -S100A13 Heterotetrameric Complex Structure. A component in the non-classical pathway for interleukin 1 α secretion, *J Biol Chem* 2011, 286(16): 14608-14617

117. Finzel, B.C., Watenpaugh, K.D., Einspahr, H.M., Crystal Structure Of Recombinant Human Interleukin-1beta At 2.0 Angstroms Resolution, (1989) *J.Mol.Biol.* 209: 779-791
118. Page R.C., Kornman K.S., The pathogenesis of human periodontitis: An introduction. *Periodontol* 2000 1997; 14(1): 9–11.
119. Candel-Martí M.E., Flichy-Fernández A.J., Alegre-Domingo T., Ata-Ali J., Peñarrocha-Diago M.A., Interleukins IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 and periimplant disease. An update., *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011 Jul 1;16(4):e518-21.
120. Yaghobee S, Khorsand A, Rasouli Ghohroudi AA, Sanjari K, Kadkhodazadeh M. Assessment of interleukin-1beta and interleukin-6 in the crevicular fluid around healthy implants, implants with peri-implantitis, and healthy teeth: a cross-sectional study. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons.* 2014;40(5):220-224. doi:10.5125/jkaoms.2014.40.5.220.
121. Javier Ata-Ali, Antonio Juan Flichy-Fernández, Teresa Alegre-Domingo, Fadi Ata-Ali, Jose Palacio, Miguel Peñarrocha-Diago, Clinical, microbiological, and immunological aspects of healthy versus peri-implantitis tissue in full arch reconstruction patients: a prospective cross-sectional study, . *BMC Oral Health* (2015) 15:43, DOI 10.1186/s12903-015-0031-9
122. Zitzmann N.U., Berglundh T., Definition and prevalence of peri-implant diseases, *Journal of Clinical Periodontology*, 2008, 35, 286–291.
123. Charyeva O., Altynbekov K., Zhartybaev R., Sabdanaliev A., Long-term dental implant success and survival—a clinical study after an observation period up to 6 years, *Sweden Dental Journal*, 2012, 36:1, 1-6.
124. Sîrbu Ioan, *Curs practic de implantologie orală*, Editura Centrului Tehnic-Editorial al Armatei, București, 2006, ISBN 973-7601-43-2.
125. Froum S.J., Rosen P.S., A Proposed classification for peri-implantitis, *The international Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, 2012, 32(5), 533-540.
126. Mombelli A., Lang N.P., The diagnosis and treatment of peri-implantitis, *Periodontology* 2000, 1998, Vol 17, 63-76.
127. Rajesh K.S., Spoorthi K.H., Shashikanth H., Arun Kumar M.S., Peri-implantitis 360, *Int J Dent Med Res*, 2015, 1(6), 213-219.
128. <http://www.neobiotechus.com/>, citat 09.12.2016.
129. Abiko Y., Saitoh M., Salivary defensins and their importance in oral health and disease, *Curr Pharm Des*, 2007, 13(30), 3065-72.

130. Ghosh S.K., Gerken T.A., Schneider K.M., Feng Z., McCormick T.S., Weinberg A., Quantification of human beta-defensin-2 and -3 in body fluids: Application for studies of innate immunity, *Clinical Chemistry*, 2007, 53(4), 757-765.
131. Comes C.A., Popescu S.-Spineni, *Metodologia Cercetarii Stiintifice* Ed. Cernaprint, 2005
132. Băicuș, C., *Medicina bazată pe dovezi. Cum înțelegem studiile*, Editura Medicală, București, 2007, pag1-7
133. Becker S.T., Beck-Broichsitter B.E., Graetz C., Dörfer C.E., Wiltfang J., Häsler R., Peri-implantitis versus periodontitis: functional differences indicated by transcriptome profiling, *Clin Implant Dent Relat Res.*, 2014, 16(3), 401-11
134. Paramashivaiah R., Prabhuji M.L.V., Interrelationship between periodontitis and peri-implantitis: myth or reality?, *International Journal of Oral Health Dentistry*, 2015, 1(1), 20-24.
135. Ertugrul A.S., Dikilitas A., Sahin H., Alpaslan N., Bozoglan A., Tekin Y., Gingival crevicular fluid levels of human beta-defensins 1 and 3 in subjects with periodontitis and/or type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study, *Journal of Periodontal Research*, 2013, 48:4, 475-82.
136. Dunsche A., Açil Y., Dommisch H., Siebert R., Schröder J.M., Jepsen S., The novel human beta-defensin-3 is widely expressed in oral tissues. *Eur J Oral Sci.* 2002, 110(2), 121-4.
137. Gualini F., Berglundh T., Immunohistochemical characteristics of inflammatory lesions at implants, *J Clin Periodontol.* 2003; 30(1):14-18
138. McPetersen R.A., Pincus M.R., Immunology and Immunopathology. In *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods – Saunders Elsevier 21st Edition* 2007, 862
139. Rich R.R., Fleisher T.A., Cytokines and Cytokines receptors. In *Clinical Immunology, Principles and Practice – Mosby Elsevier 3rd Edition* 2008, 143-165
140. <https://www.salimetrics.com/assay-kit/interleukin-1-il-1-salivary-immunoassay-kit-elisa-eia>
141. Yaghobee S., Khorsand A., Paknejad M., Comparison of interleukin-1 beta levels in gingival crevicular fluid and peri-implant crevicular fluid and its relationship with clinical indexes. *J Dent (Teheran).* 2013, 10(1), 1-9
142. Ebadian A, Kadkhodazadeh M, Zarnegarnia P, Dahlén G. Bacterial Analysis of Peri-

implantitis and Chronic Periodontitis in Iranian Subjects. *Acta Medica Iranica* 2012; 50(7): 486-492.

143. Jakobi ML, Stumpp SN, Stiesch M, Eberhard J, Heuer W. The Peri-Implant and Periodontal Microbiota in Patients with and without Clinical Signs of Inflammation. *Dent J* 2015; 3: 24-42.

144. Rakic M, Grusovin MG, Canullo L. The microbiologic profile associated with peri-implantitis in humans: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2016; 31(2): 359-68.

145. Mombelli A. Microbiology and antimicrobial therapy of peri-implantitis, *Periodontol* 2000 2002; 28: 177-89.

146. Charalampakis G. Peri-implantitis from a microbiological perspective, PhD Thesis, University of Gothenburg. Sahlgrenska Academy, Institute of Odontology. Department of Oral Microbiology, date of defence 2013-03-15, <http://hdl.handle.net/2077/31715>, cited 05.10.2016.

147. Gattani D, Ansari ST. Peri-implant Diseases: Pathogenesis and treatment. *International Journal of Clinical Implant Dentistry* 2010; 2(1): 23-30.