

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



TEZĂ DE DOCTORAT

**STUDII PRIVIND UTILIZAREA IL1-beta, OPG și TNF-
alfa ÎN EVALUAREA PACIENȚILOR DUPĂ
INSERAREA IMPLANTELOR DENTARE**

REZUMAT

Conducător de doctorat: Prof. univ. dr. Victoria Badea

Doctorand: Dobrescu Marcel-Lucian

**CONSTANȚA
2022**

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

TEZĂ DE DOCTORAT

**STUDII PRIVIND UTILIZAREA IL1-beta, OPG și TNF-
alfa ÎN EVALUAREA PACIENȚILOR DUPĂ
INSERAREA IMPLANTELOR DENTARE**

REZUMAT

Conducător de doctorat: Prof. univ. dr. Victoria Badea

Doctorand: Dobrescu Marcel-Lucian

**CONSTANȚA
2022**

Cuprins

PARTEA GENERALĂ. STUDIUL GENERAL AL CUNOAȘTERII	12
INTRODUCERE	12
IMPLANTOLOGIA – SCURT ISTORIC.....	14
CAPITOLUL 1. IMPLANTOLOGIA MODERNĂ - Tipuri de implant dentare.....	17
1.1 Implantul Neodent.....	19
1.2 Implantul Implantium (Dentium)	20
1.3 Implantele dentare din zirconiu și titan.....	21
CAPITOLUL 2. IMPACTUL IMPLANTOLOGIEI ÎN ESTETICA DENTARĂ	23
2.1 Estetica în medicina dentară.....	23
2.2 Implantul dentar în reabilitarea orală maxilară anterioară....	25
2.3 Factori care influențează rezultatul estetic	26
CAPITOLUL 3. OSTEOINTEGRAREA IMPLANTULUI DENTAR	28
3.1 Relația implantului dentar cu țesuturile moi și dure	29
3.2 Osteointegrarea implantelor dentare.....	31
3.3 Citokine proinflamatorii-Interleukina 1-beta (Il1-beta), Tumor necrosis factor (TNF-alfa), Osteoprotegerina (OPG) și impactul lor în osteointegrare.....	33
3.4 Biomarkeri în predicția statusului pacienților post implant dentar.....	38
CAPITOLUL 4. COMPLICAȚII DUPĂ INSERAREA IMPLANTULUI DENTAR - PERI-IMPLANTITĂ.....	41
4.1 Clasificare	42

4.2 Etiopatogenia peri-implantitei.....	44
4.3 Fiziopatogenia peri-implantitei	49
CAPITOLUL 5. METODOLOGIE GENERALĂ.....	52
5.1 Tipuri de implantate folosite-Protocol de inserare a implantelor dentare.....	52
5.2 Tehnica de recoltare a fluidului gingival crevicular și a fluidului peri-implantar	57
5.3 Tehnica de identificare a citokinelor proinflamatorii-tehnica ELISA	59
METODE DE CUANTIFICARE A IL1-beta, OPG si TNF-alfa- METODA ELISA	59
5.4 Metode de identificare a speciilor bacteriene din fluid peri-implantar și fluid crevicular.....	60
5.5 Prezentarea lotului de studiu. Criterii de includere si excludere	60
5.6 Design-ul de studiu - Prezentarea lotului de studiu	64
5.7 Analiza statistică.....	67
CAPITOLUL 6. STUDIUL I - IL1-beta, TNF-alfa, OPG ȘI CORELAȚIA CU PARAMETRI CLINICI LA ȘAPTE ZILE DUPĂ INSERAREA DE IMPLANTE DENTARE.....	70
6.1 Introducere.....	70
6.2 Ipoteza de lucru.....	71
6.3 Scop și obiective.....	71
6.4 Rezultate obținute.....	71
6.5 Discuții	84
6.6 Concluzii preliminare	88

CAPITOLUL 7. STUDIUL II - Particularități ale florei bacteriene la pacienții cu implante dentare	90
7.1 Introducere	90
7.2 Ipoteza de lucru	92
7.3 Scop și obiective.....	92
7.4 Rezultate obținute.....	92
7.5 Discuții	101
7.6 Concluzii preliminare	103
CAPITOLUL 8. STUDIUL III- IL1-beta, TNF-alfa, OPG LA TREI ȘI ȘASE LUNI DUPĂ INSERAREA DE IMPLANTE DENTARE	105
8.1 Introducere	105
8.2 Ipoteza de lucru	106
8.3 Scop și obiective.....	106
8.4 Rezultate obținute.....	106
8.5 Discuții	117
8.6. Concluzii preliminare	122
CAPITOLUL 9. ESTIMAREA VALORICĂ A BIOMARKERILOR PRIVIND CAPACITATEA DE A REALIZA DIAGNOSTICUL DE MUCOZITĂ ȘI PERI-IMPLANTITĂ	123
9.1 ESTIMAREA VALORICĂ A BIOMARKERILOR PRIVIND CAPACITATEA DE A REALIZA DIAGNOSTICUL DE MUCOZITĂ	123
9.2 ESTIMAREA VALORICĂ A BIOMARKERILOR PRIVIND CAPACITATEA DE A REALIZA DIAGNOSTICUL DE PERI-IMPLANTITĂ	141
9.3 Discuții. Concluzii.....	157

CAPITOLUL 10. ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATOARE ALE TEZEI.....	160
CAPITOLUL 11. CONCLUZII GENERALE.....	162
Bibliografie	164
INDEX DE FIGURI IN TEXT.....	179
INDEX DE TABELE IN TEXT.....	182

PARTEA GENERALĂ. STUDIUL GENERAL AL CUNOAȘTERII

INTRODUCERE

Conform Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), sănătatea orală este definită ca absență a afecțiunilor dentare și a durerii faciale cronice, a cancerului orofaringian, a inflamațiilor orale, defectelor congenitale cum ar fi labioschizis sau palatoschizis, absență a afecțiunilor gingivale, cariilor dentare, pierderii dinților și a altor boli care afectează gura și cavitatea orală. [1]

IMPLANTOLOGIA – SCURT ISTORIC

Omenirea a realizat din cele mai vechi timpuri importanța unei bune dentiții; astfel dinții au fost folosiți inclusiv ca armă de atac și de apărare, iar efectele pierderii dinților asupra sănătății generale se resimțeau și atunci. Primele date care atestă existența implantelor dentare vizează o formă empirică a implantelor endo-osoase, care se pare ca s-au folosit încă din timpul civilizației Maya, în urmă de mai bine 1350 de ani. Date din istoria medicinei arată în urma descoperirilor făcute, că aceste modele de implante endo-osoase au fost realizate inițial în Egipt, unde cei mai bogați oameni își înlocuiau dinții pierduți cu cei extrași de la sclavi sau de la oamenii săraci care își vindeau dinții; când nu se găseau dinți umani se foloseau chiar dinți de animale (țap, maimuță, câine). [2,3,4,5]

CAPITOLUL 1. IMPLANTOLOGIA MODERNĂ - Tipuri de implant dentare

Putem clasifica implantele ce pot fi achiziționate în trei categorii:

- Endo-osos – implant plasat transosos, cu două subtipuri: cilindric și lamă.

1. Implantul *cilindric* are un diametru ce variază între 3.3-5 mm și o lungime între 7-13 mm, deși anumite companii au introdus implanturile subțiri 2-2.8 mm pentru creasta resorbită pe orizontal, cu diametru de 6 mm pentru cazurile de atrofie severă, sau de 30-52.5 mm pentru implanturile zigomatice.

2. Implantul *lamă*, ce nu poate fi utilizat pentru înlocuirea independentă a unui singur dinte lipsă nefiind stabil.

- Subperiostal – implantul construit după amprentarea câmpului osos expus chirurgical (alveolar și bazal); este fixat intim pe os, sub periost, cu bonturi transgingivale sau bare și au avantajul de a distribui forța masticatorie pe întreaga creastă alveolară.
- Transosos – cu o placă de stabilizare submandibulară, implantul traversează osul mandibular de la bază până la creasta alveolară.

S-a considerat că implantele moderne ce se inseră în os (endo-osoase) sunt acceptate, deoarece la majoritatea acestora nu se observă (radiologic și histologic) o delimitare la nivelul interfaței os-implant. [5]

CAPITOLUL 2. IMPACTUL IMPLANTOLOGIEI ÎN ESTETICA DENTARĂ

2.1 Estetica în medicina dentară

După pierderea dinților, se poate aștepta la o reducere considerabilă a volumului țesuturilor dure și moi. În maxilarul anterior, pierderea țesutului poate face ca viitoarele restaurări ale implantelor dentare să fie mai puțin previzibile în ceea ce privește realizarea și menținerea țesuturilor moi favorabile. Acest lucru este cu atât mai evident în situații dificile din punct de vedere estetic, cum ar fi pacienții cu o linie ridicată de zâmbet. [19]

2.2 Implantul dentar în reabilitarea orală maxilară anterioară

Pentru planificarea tratamentului implantului în zona estetică, este important să privim cu atenție țesuturile moi care vor încadra restaurarea. Realizarea unei papile complet formate între restaurarea implantului și dinții adiacenți în rezultatul final poate fi o provocare. Dacă țesutul interdental și osul subiacent s-au pierdut cu desăvârșire înainte de plasarea

implantului, este posibil să nu se poată obține contururi papilare ideale. [20]

2.3 Factori care influențează rezultatul estetic

Cei mai importanți factori care influențează rezultatul estetic al restaurărilor prin inserarea de implant sunt: linia zâmbetului, poziția dintelui, poziția rădăcinii dinților adiacenți, particularitățile parodonțiului, forma dintelui, poziția implantului.

CAPITOLUL 3. OSTEOINTEGRAREA IMPLANTULUI DENTAR

3.1 Relația implantului dentar cu țesuturile moi și dure

Implantologia orală a avut succes datorită descoperirii proprietăților biologice și mecanice ale titanului. Multe studii au raportat că mai mulți factori, inclusiv geometria implantului, designul suprafeței (macro-, micro- și nano-), umectabilitatea / energia, hidrofilia sau hidrofobia, par să influențeze fazele inflamatorii și regenerative care apar în timpul osteointegrării.

3.2 Osteointegrarea implantelor dentare

Pentru a realiza un proces de osteointegrare optimă se impune minimizarea aderenței bacteriană prin toate mijloacele, promovând în același timp și stimularea diferențierii celulelor osteogene și fibroblastice pentru a obține integrarea perfectă a implantului în țesuturi dure și moi. Scopul cercetărilor viitoare

este de a proiecta modele de implant polivalent cu proprietăți vizând biocompatibilitatea și osteointegrarea pe de o parte și prevenirea periimplantitei pe de altă parte. [38]

3.3 Citokine proinflamatorii-Interleukina 1-beta (Il1-beta), Tumor necrosis factor (TNF-alfa), Osteoprotegerina (OPG) și impactul lor în osteointegrare

Citokinele sunt definite ca și componente importante în cadrul răspunsului inflamator și care, din punct de vedere chimic sunt peptide sau proteine imunomodulatorii produse de un număr mare de celule, cum ar fi limfocitele T sau B (LT, LB), monocite și neutrofile, dar și de celule din parodontiu, cum ar fi fibroblastele și celulele epiteliale

3.4 Biomarkeri în predicția statusului pacienților post implant dentar

Biomarkerii pot fi definiți ca fiind substanțe care pot fi măsurate obiectiv și care evaluează procese biologice normale, patologice și răspunsuri farmacologice în urma unei intervenții terapeutice. Prin urmare, biomarkerii sunt substanțe produse în organismul indivizilor sănătoși sau de către bolnavi care prezintă o afecțiune, ei fiind folosiți în monitorizarea statusului clinic, în identificarea momentului de debut al bolii sau a răspunsului obținut în urma unui tratament.

CAPITOLUL 4. COMPLICAȚII DUPĂ INSERAREA IMPLANTULUI DENTAR - PERI- IMPLANTITĂ

Peri-implantita a fost definită în principal ca un răspuns inflamator al mucoasei din jurul implantului cu pierderea osoasă marginală, în timp ce mucozita este o inflamație a țesuturilor moi. [49]

4.1 Clasificare

O clasificare recentă, acceptată de specialiștii în domeniu, realizată de Ata-Ali et al. în funcție de cele mai relevante semne clinice pentru mucozită și peri-implantită este prezentată în tabelele de mai jos. [53]

Tabelul 3. Clasificarea mucozitei [53]

Stadii	Definiție
Stadiul 0A	PD $\leq$ 4 mm și IS și/sau SUP, fără semne de pierdere osoasă urmată de procesul de refacere osoasă în timpul vindecării
Stadiul 0B	PD $>$ 4 mm și IS și/sau SUP, fără semne de pierdere osoasă urmată de procesul refacerii osoase în timpul vindecării

PD = șanț peri-implantar; IS = indice de sângerare; SUP = supurație

Tabelul 4. Clasificarea peri-implantitei [53]

Stadii	Definiție
Stadiul I	IS și/sau SUP și pierdere osoasă ≤ 3 mm dincolo de remodelarea osoasă
Stadiul II	IS și/sau SUP și pierdere osoasă > 3 mm și < 5 mm dincolo de remodelarea osoasă
Stadiul III	IS și/sau SUP și pierdere osoasă ≥ 5 mm dincolo de remodelarea osoasă
Stadiul IV	IS și/sau SUP și pierdere osoasă $\geq 50\%$ din lungimea implantului* dincolo de remodelarea osoasă

IS= Indice de sângerare ; SUP = supurație

4.2 Etiopatogenia peri-implantitei

Studiile bacteriologice efectuate în timp au sugerat că speciile bacteriene implicate în aceste infecții sunt comune cu cele care generează în mare măsură parodontita și de aici a apărut și ipoteza verificată de altfel, că dinții afectați prin boala parodontală sunt sursa de infecție a implantului, și sunt deci responsabili de apariția peri-implantitei. Speciile bacteriene implicate în producerea mucozitei sunt preponderent coci și bacili gram pozitivi, imobili, aerobi, în timp ce în peri-implantită sunt identificați preponderent bacili gram negativi anaerobi alături de spirochete.

4.3 Fiziopatogenia peri-implantitei

Din punct de vedere fiziopatogenic, marea majoritate a specialiștilor în domeniu apreciază că bacteriile reprezintă punctul de plecare în apariția și derularea procesului inflamator local, cu toate prejudiciile clinice care le presupune pentru pacient. [56, 57, 58, 59, 60]

CAPITOLUL 5. METODOLOGIE GENERALĂ

5.1 Tipuri de implantate folosite-Protocol de inserare a implantelor dentare

În cadrul studiului și cercetărilor personale am folosit implantate Dentium produse în Coreea de Sud - compania Dentium Co LTD. [63]

5.2 Tehnica de recoltare a fluidului peri-implantar

Fluidul crevicular peri-implantar (FCPI) - este un exudat tisular în care sunt prezente proteine plasmatice, peptide antimicrobiene, citokine și imunoglobuline, componente care susțin printre altele și potențialul antibacterian al acestui fluid.

5.3 Tehnica de identificare a citokinelor proinflamatorii-tehnica ELISA

METODE DE CUANTIFICARE A IL1-beta, OPG si TNF-alfa-METODA ELISA

Pentru determinarea acestor biomarkeri am utilizat kit-uri produse de firma Salimetrics pentru IL1-beta, Affymetrix eBioscience pentru OPG și ABCAM pentru TNF-alfa, kit-uri care permit determinarea cantitativă a acestor parametri prin tehnica ELISA (enzyme linked immunosorbent assay).

5.4 Metode de identificare a speciilor bacteriene din fluid peri-implantar și fluid crevicular

Din necesitatea identificării cât mai exacte a speciilor bacteriene implicate în aceste afecțiuni, a fost realizată și perfectată o metodă modernă de identificare-sistemul API. [65]

5.5 Prezentarea lotului de studiu. Criterii de includere și excludere

În delimitarea lotului de studiu, criteriile de includere și excludere, precum și în alegerea parametrilor clinici și paraclinici utilizați, am ținut cont de datele din literatura de specialitate accesată. Așa cum am precizat în Capitolul 4 din Stadiul Actual al Cunoașterii, J. Ata Ali a realizat o clasificare actualizată în 2015, în care utilizează pentru mucozită parametri clinici (adâncimea șantului peri-implantar, indicele de sângerare și prezența supurației), în timp ce pentru peri-implantită utilizează numai indicele de sângerare, supurație alături de examenul radiologic [53], clasificare urmărită în studiile efectuate și de alți autori. [66, 67, 68]

5.6 Design-ul de studiu - Prezentarea lotului de studiu

Lotul de studiu a fost constituit dintr-un grup de 320 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 1223 de implante dentare, în perioada ianuarie 2020-ianuarie 2022. Menționăm că 286 (89.38%) de pacienți au avut evoluție favorabilă postinserție implant dentar și 34 (10.62%) au avut evoluție nefavorabilă.

Din grupul de pacienți cu evoluție favorabilă, am selectat aleator 20 pacienți care au constituit grupul control. La aceștia am adăugat cei 34 de pacienți cu evoluție nefavorabilă a implantului dentar, formând astfel, lotul de studiu de 54 de pacienți.

În urma examenului clinic orodentar și radiologic, pacienții din lotul de studiu au fost încadrați în 3 categorii după cum urmează în tabelul 9.

Tabel 9. Ponderea eșantioanelor de pacienți din lotul de studiu

Sănătoși	20	37.04%
Mucozita	24	44.44%
Peri-implantită	10	18.52%
Total	54	100%

5.7 Analiza statistică

Rezultatele obținute au fost analizate statistic folosind programul SPSS STATISTICS 19 și MedCalc Software.

CAPITOLUL 6. STUDIUL I - IL1-beta, TNF-alfa, OPG ȘI CORELAȚIA CU PARAMETRI CLINICI LA ȘAPTE ZILE DUPĂ INSERAREA DE IMPLANTE DENTARE

6.1 Introducere

Eu am ales să urmăresc în cadrul cercetării personale dinamica TNF-alfa și IL1-beta din prima categorie, iar din a doua categorie, OPG. Aceasta este motivația pentru care am ales în teza de doctorat studierea acestor markeri în contextul complex al peri-implantitei, în speranța că rezultatele obținute să poată constitui un mic pas înainte privind optimizarea monitorizării pacientului după inserarea de implante dentare și în același timp, să pot aduce elemente noi legate de dezvoltarea cunoașterii pe această temă.

6.2 Ipoteza de lucru

Interleukina1-beta, TNF-alfa și OPG sunt markeri ce pot fi folosiți în aprecierea evoluției pacienților după inserarea implantelor dentare.

6.3 Scop și obiective

Evaluarea corectă clinică și paraclinică utilizând biomarkeri are ca scop stabilirea și aplicarea celei mai corecte scheme de monitorizare și tratament, astfel ca riscul de pierdere a implantului să fie cât mai mic. Obiectivele acestui studiu sunt

cuantificarea la șapte zile după inserarea implantelor dentare a următorilor biomarkeri:

- ❖ IL1-beta;
- ❖ TNF-alfa;
- ❖ OPG ;
- ❖ Evaluarea acestor parametri biologici în raport cu aspectul radiologic.

6.4 Rezultate obținute

6.5 Discutii

Valorile IL1-beta, OPG și TNF-alfa au fost mai mari în jurul implantelor care au generat mucozita și peri-implantita, comparativ cu implantele cu evoluție favorabilă; diferențele cu cea mai mare semnificație între cele trei loturi au fost înregistrate pentru IL1-beta. Valoarea predictivă deosebită a IL1-beta este demonstrată și de corelația înalt semnificativă statistic cu adâncimea șanțului peri-implantar și cu indicele de sângerare atât pentru pacienții cu mucozită, cât și cei cu peri-implantită, rezultate citate și de alți autori. Osteoprotegerina și TNF-alfa se corelează foarte înalt cu indicele de sângerare la pacienții cu mucozită și la cei cu peri-implantită, rezultate citate și de Hasan Gündoğar și A. B. Petkovic. [45, 76]

Din evaluarea rezultatelor obținute, diferențele cu semnificația statistică cea mai mare au fost observate pentru TNF-alfa în FCPI între pacienții cu mucozită și cei cu peri-

implantită, ceea ce este foarte util pentru practician. Rezultate similare au fost citate și în alte studii vizând cuantificarea de TNF-alfa, alături de alți biomarkeri la pacienți cu evoluție favorabilă a implantelor și la pacienți cu peri-implantită pe termen scurt. [82]

Legat de OPG sunt citate în literatura de specialitate și alte studii similare cu cele din prezenta teză de doctorat; astfel, Rakic M. et al. care concluzionează că și în prezentul studiu, că OPG se corelează cu parametri clinici și poate fi folosit pentru diagnosticul și monitorizarea peri-implantitei, existând diferențe cu semnificație statistică între loturile de pacienți cu peri-implantită și cei cu implant cu evoluție favorabilă. [66, 89]

CAPITOLUL 7. STUDIUL II - Particularități ale florei bacteriene la pacienții cu implant dentare

7.1 Introducere

Importanța pe care bacteriile o au în etiopatogenia mucozitei și a peri-implantitei este incontestabilă; numeroase studii realizate până în prezent au demonstrat existența unor valențe multiple ale relației cauză - efect legat de prezența biofilmului bacterian peri-implantar cu reacția inflamatorie a țesuturilor moi în cazul mucozitei, respectiv țesuturi moi și dure în cazul peri-implantitei. Rolul covârșitor al speciilor bacteriene patogene în apariția mucozitei este demonstrat prin reversibilitatea acestei afecțiuni după trei săptămâni de tratament complex, care vizează implicit și distrugerea bacteriilor patogene. [67]

7.2 Ipoteza de lucru

În contextul celor mai sus prezentate, ipoteza de lucru în acest pilon de cercetare este că bacteriile generează și întrețin modificările țesuturilor peri-implantare, în contextul clinic de mucozită și peri-implantită.

7.3 Scop și obiective

Scopul studiului este de a optimiza diagnosticul de mucozită și peri-implantită prin prisma bacteriană, în vederea instituirii cât mai precoce a celei mai eficiente scheme de tratament.

Obiectivele studiului sunt:

1. Identificarea speciilor bacteriene care se corelează cel mai bine cu statusul clinic de mucozită și peri-implantită.
2. Evaluarea posibilității ca între prezența bacteriilor și infecțiile post inserție implant dentar (mucozită și peri-implantită) să existe relație de cauzalitate - calcul prin Odds Ratio.
3. Stabilirea măsurii în care speciile bacteriene pot contribui la evoluția nefavorabilă a peri-implantitei, riscul de progresie al bolii - calcul prin Risc Ratio.

7.4 Rezultate obținute

Tabel 32. Repartiția speciilor bacteriene identificate în cele două tipuri de produse patologice

Specii bacteriene	FCPI	Placă subgingivală
<i>Porphyromona spp.</i>	20	20
<i>Prevotella spp.</i>	16	16
<i>Peptostreptococcus</i>	8	8
<i>Fusobacterium spp.</i>	8	8
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	15	15
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	6
<i>Veillonella parvula</i>	12	10
<i>Streptococcus intermedius</i>	19	22
<i>Streptococcus constellatus</i>	19	26
<i>Streptococcus sanguis</i>	18	17
<i>Streptococcus gordonii</i>	15	9
<i>Streptococcus vestibularis</i>	11	9
Total	169	196

În funcție de prezența/absența și numărul speciilor bacteriene patogene identificate alături de speciile saprofite, s-a realizat un scor bacterian pe care l-am folosit în continuare în cadrul cercetării în acest capitol.

Tabelul 33. Repartiția scorurilor bacteriene pe cele trei loturi luate în studiu

Scor	1	2	3	4	5
Evoluție favorabilă	10	9	1	0	0
Mucozită	2	2	19	0	1
Peri-implantită		1	1	3	5
Total	12	13	20	3	6

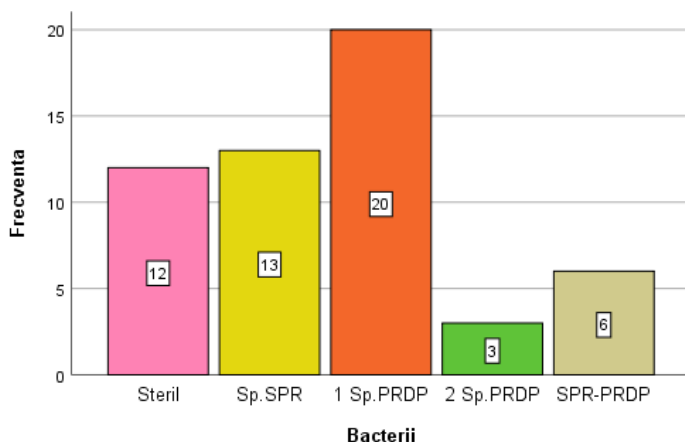


Figura 48. Repartiția scorurilor bacteriene pe cele trei loturi luate în studiu

7.5 Discuții

Dat fiind faptul că în literatura de specialitate nu am găsit date legate de calculul matematic, în ideea de a aduce dovezi obiective cu privire la relația de cauzalitate între bacterii și infecțiile consecutive inserării implantului dentar, în prezentul studiu am apreciat această relație calculând Odds Ratio (Od.R); am considerat de asemenea, că este util și relevant în același timp pentru evaluarea pacientului după inserarea de implanturi dentare, să putem aprecia corect riscul de progresie a bolii - Risc Ratio (Rr), risc legat de prezența bacteriilor.

7.6 Concluzii preliminare

1. Speciile bacteriene patogene identificate cu ponderea cea mai mare au fost specii ale genurilor *Prevotella* și *Porphyromonas*, specii cu valoare predictivă în definirea peri-implantitei.
2. Relația de strânsă cauzalitate între bacterii și infecțiile consecutive inserării de implante dentare este demonstrată prin valorile foarte mari calculate prin Odds ratio.
3. Implicarea certă a bacteriilor în aceste infecții este dovedită prin creșterea riscului de evoluție spre mucozită a pacienților cu evoluție favorabilă în condițiile asocierii unei singure specii bacteriene patogene.
4. Prezența speciilor bacteriene patogene se corelează cu adâncimea șanțului peri-implantar atât în cazul mucozitei, cât și în cazul peri-implantitei; cel mai înalt nivel al corelației fiind în contextul peri-implantitei.
5. Prezența bacteriilor patogene se corelează cu indicele de sângerare la pacienții cu mucozită și la cei cu peri-implantită.
6. Examenul bacteriologic al fluidului peri-implantar este extrem de util în monitorizarea pacientului după inserarea implantelor dentare.
7. Identificarea speciilor bacteriene patogene permite efectuarea tratamentului conform antibiogramei în vederea blocării procesului inflamator peri-implantar.

8. Înțelegerea factorilor care stau la baza etiopatogeniei bacteriene a peri-implantitei este esențială în dezvoltarea strategiilor de prevenire, diagnostic și tratament a peri-implantitei

CAPITOLUL 8. STUDIUL III- IL1-beta, TNF-alfa, OPG LA TREI ȘI ȘASE LUNI DUPĂ INSERAREA DE IMPLANTE DENTARE

8.1 Introducere

Studiile privind dinamica citokinelor proinflamatorii în contextul acestei afecțiuni s-au concentrat pe analiza IL-1 beta și a TNF-alfa, dat fiind cunoscut rolul lor în derularea procesului inflamator, reducerea capacității de regenerare a țesuturilor peri-implantare și apariția resorbției osoase; de asemenea, a fost studiată modalitatea de creștere a expresiei receptorului factorului nuclear K (RANKL) sub influența TNF-alfa. [76, 114]

Similar, extrem de valoroase sunt datele legate de OPG, ca factor cheie în reglarea metabolismului osos și biomarker prețios în aprecierea distrugerii osului alveolar și a pierderii osoase. Din aceste considerente am apreciat că este util în continuare să evaluez clinic și paraclinic pacienții luați în studiu, după trei și șase luni de la inserarea implantelor dentare, în ideea de a surprinde cât mai corect dinamica biomarkerilor

pentru o apreciere cât mai obiectivă a evoluției favorabilă sau nefavorabilă a pacienților.

8.2 Ipoteza de lucru

Ținând cont de cele mai sus prezentate, studiul III pleacă de la presupunerea că există o creștere inițială a citokinelor proinflamatorii, cel mai probabil, în contextul traumei chirurgicale; ulterior, în condițiile întreținerii procesului inflamator de către bacterii, ar exista o sinteză în exces a celor trei biomarkeri cu distrugerea consecutivă a osului maxilar în formele severe de peri-implantită.

8.3 Scop și obiective

- ❖ Scopul studiului este evaluarea clinică și paraclinică a pacienților utilizând biomarkeri, astfel încât să fie posibil diagnosticul și aplicarea cât mai precoce a unei scheme de tratament, pentru a putea fi recuperați cât mai mulți pacienți cu mucozită și peri-implantită, și în final, riscul de pierdere a implantului să fie cât mai mic.
- ❖ Obiectivele acestui studiu sunt evaluarea dinamicii IL1-beta, TNF-alfa și OPG la trei și șase luni după inserarea implantelor dentare.

8.4 Rezultate obținute

După evaluarea realizată la trei luni după inserarea implantelor dentare zece pacienți cu mucozită au trecut în grupul celor cu evoluție favorabilă și patru pacienți cu peri-implantită au trecut în grupul celor cu mucozită, rezultând o

rearanjare a pacienților pe grupe de studiu arată așa cum se vede în Tabelul 56.

Tabel 56. Grupele de studiu după trei luni de la inserarea implantelor dentare

Sănătoși - 7zile	Mucozit ă -7zile	Peri- implanti tă-7zile	Sănătoși - 3 luni	Mucozit ă- 3 luni	Peri- implanti tă- 3 luni
20	24	10	30	14	10
Total 54			Total 54		

Tabel 60. Grupele de studiu după șase luni de la inserarea implantelor dentare

Sănătoși - 3 luni	Mucozit ă- 3 luni	Peri- implanti tă- 3 luni	Sănătoși - 6 luni	Mucozit ă -6 luni	Peri- implanti tă- 6 luni
30	14	10	40	5	9
Total 54			Total 54		

8.5 Discuții

Așa cum se vede în Tabelul 60, aplicarea protocoalelor de tratament a permis ca numărul de pacienți cu evoluție favorabilă să crească, iar cei cu mucozită și peri-implantită să scadă la finalul celor șase luni de evaluare. Subliniez că evoluția cazurilor de mucozită spre peri-implantită după șase

luni de la inserarea implantelor dentare a fost posibilă în condițiile în care pacienții nu au respectat toate recomandările legate de igiena cavității bucale și nu au fost prezenți la consultațiile consecutive programate; progresia indicelui de sângerare și a adâncimii șanțului peri-implantar au fost cele mai importante modificări ale parametrilor clinici înregistrate la acești pacienți, în paralel cu creșterea IL1-beta, OPG și aTNF-alfa, rezultate similare cu cele publicate de Costa F.o.et al. pe un lot de 80 de pacienți, evaluați pe o perioadă de cinci ani. [115]

8.6. Concluzii preliminare

- 1.** Evaluarea parametrilor clinici și paraclinici prin cuantificare de biomarkeri alături de datele oferite de imaginile radiologice reflectă un cumul de evenimente clinice și paraclinice cu semnificație importantă pentru momentul la care se fac aceste evaluări.
- 2.** Evaluarea biomarkerilor la trei luni după inserarea implantelor dentare arată în câteva cazuri o creștere importantă a valorilor, modificarea parametrilor clinici și radiologici sugestivi pentru peri-implantită înregistrându-se de abia la evaluarea după 6 luni.
- 3.** Aceste rezultate sugerează că cei trei biomarkeri sunt foarte sensibili și ar putea fi utilizați în diagnosticul precoce al infecției peri-implantare.
- 4.** Studiul statistic al rezultatelor obținute arată că există diferențe cu înaltă semnificație ($p \leq 0.0001$) privind valorile celor trei biomarkeri între cele trei loturi de studiu, evaluate după trei și respectiv șase luni de la inserarea implantelor dentare.

5. Diferențele statistice înalt semnificative ale acestor valori demonstrează utilitatea celor trei biomarkeri în diagnosticul de mucozită și peri-implantită, instituirea tratamentului și conservarea implantelor inserate.
6. Acuratețea diagnosticului prin utilizarea TNF-alfa, IL1-beta și OPG poate avea un impact pozitiv semnificativ în monitorizarea pacienților cu peri-implantită în condițiile în care prevalența acestei afecțiuni ar putea crește.
7. În această ordine de idei, identificarea și validarea unui set de biomarkeri utili în diagnosticul precoce al peri-implantitei ar putea reprezenta un pas important în implantologie.
8. Consider că, înțelegerea rolurilor biomarkerilor cuantificați în fluidul crevicular peri-implantar, va crea în viitorul apropiat premisele identificării precoce a proceselor inflamatorii premergătoare acestei afecțiuni.

CAPITOLUL 9. ESTIMAREA VALORICĂ A BIOMARKERILOR PRIVIND CAPACITATEA DE A REALIZA DIAGNOSTICUL DE MUCOZITĂ ȘI PERI- IMPLANTITĂ

9.1 ESTIMAREA VALORICĂ A BIOMARKERILOR PRIVIND CAPACITATEA DE A REALIZA DIAGNOSTICUL DE MUCOZITĂ

9.2 ESTIMAREA VALORICĂ A BIOMARKERILOR PRIVIND CAPACITATEA DE A REALIZA DIAGNOSTICUL DE PERI- IMPLANTITĂ

IL1-beta

Am considerat că este util din punct de vedere practic să fac o analiză a capacității testelor efectuate, de a realiza cât mai corect diagnosticul de mucozită, respectiv peri-implantită pe baza biomarkerilor analizați, respectiv: IL1-beta, OPG, TNF-alfa, precum și în funcție de cei mai importanți parametri clinici evaluați în cadrul cercetării personale, respectiv: adâncimea șanțului peri-implantar, prezența sângerării, prezența bacteriilor patogene.

Pentru fiecare biomarker am determinat sensibilitatea, specificitatea, valoarea predictivă pozitivă, valoarea predictivă negativă (utilizând ca prevalență a bolii datele obținute în cadrul studiului), rata de probabilitate pozitivă și rata de probabilitate negativă respectiv suprafața de sub curba ROC. Indicele Youden J a fost de asemenea calculat pentru valoarea prag determinată în urma analizei statistice.

9.3 Discuții. Concluzii

1. IL1-beta are capacitatea cea mai mare de încadrare corectă a pacienților pentru diagnosticul de mucozită și peri-implantită (valoarea suprafeței de sub curba ROC-0,990).
2. Prezența unei singure specii bacteriene patogene reprezintă un important factor ce poate modifica statusul de pacient cu evoluție favorabilă după inserarea de implante dentare.
3. Adâncimea șanțului peri-implantar este un parametru suficient de revelator pentru diagnosticul de mucozită doar în combinație cu IL1-beta.
4. Întrucât adâncimea șanțului peri-implantar are sensibilitate de 100% și specificitate de 100%, aceasta

este un parametru clinic cu valoare covârșitoare în cadrul diagnosticului de peri-implantită.

5. În cazul apariției sângererii, în vederea diagnosticului de peri-implantită este suficientă cuantificarea unuia din cei doi biomarkeri cu arie sub curba ROC de 1 (IL1-beta sau OPG).
6. În prezența speciilor bacteriene patogene, cuantificarea în paralel a oricăruia dintre cei trei biomarkeri, este suficientă pentru validarea diagnosticului de peri-implantită.

CAPITOLUL 10. ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATOARE ALE TEZEI

Elementele de **ORIGINALITATE** ale tezei sunt următoarele:

1. Demonstrarea relației de cauzalitate dintre IL1-beta, OPG, TNF-alfa și peri-implantită.
2. Demonstrarea relației de cauzalitate dintre bacterii și peri-implantită.
3. Aprecierea matematică riscului de progresie al bolii legat de IL1-beta, OPG, TNF-alfa și parametri clinici.
4. Identificarea valorilor prag ale IL1-beta, OPG, și TNF-alfa în funcție de care se poate estima evoluția clinică ulterioară a pacienților după inserția de implante dentare.

5. Identificarea combinațiilor dintre speciile bacteriene în funcție de care se poate estima evoluția clinică ulterioară a pacienților după inserția de implant dentare.

6. Aprecierea matematică riscului de progresie al bolii legat de speciile bacteriene patogene.

7. Ierarhizarea valorică a parametrilor clinici în funcție de posibilitatea de evaluare cât mai corectă a pacienților după inserarea de implant dentare.

CONTRIBUȚII INOVATOARE în domeniul Implantologiei ale rezultatelor tezei

1. Estimarea posibilei evoluții de la statusul clinic de implant cu evoluție favorabilă-mucozită și mucozită-periimplantită prin identificarea scorului bacterian.

2. Estimarea posibilei evoluției de la statusul clinic de implant cu evoluție favorabilă-mucozită și mucozită-periimplantită prin identificarea combinațiilor între cei trei biomarkeri și specii bacteriene patogene.

3. Identificarea unor valori PRAG ale celor trei biomarkeri peste care riscul de evoluție nefavorabilă este mare.

4. Rezultatele obținute creează premisele optimizării schemei de diagnostic al peri-implantitei prin cuantificarea celor trei biomarkeri și a scorului bacterian.

CAPITOLUL 11. CONCLUZII GENERALE

- 1.** Cuantificarea citokinelor în fluidul peri-implantar este o metodă neinvazivă care poate fi folosită în predicția peri-implantitei, precum și pentru monitorizarea pacientului cu peri-implantită.
- 2.** Interleukina 1-beta se corelează înalt cu adâncimea șanțului peri-implantar la toate loturile de studiu având cea mai mare capacitate de a delimita cele trei tipuri de status clinic după inserarea implantelor dentare.
- 3.** Osteoprotegerina are o bună capacitate de a face delimitare între loturilor de pacienți cu evoluție favorabilă și mucozită.
- 4.** Factorul de necroză tumorală-alfa permite diferențierea cu nivel mare de sensibilitate între pacienți cu mucozită și peri-implantită.
- 5.** Osteoprotegerina și TNF-alfa se corelează înalt cu adâncimea șanțului peri-implantar la lotul de pacienți cu mucozită, configurându-se ca parametrii extrem de utili în diagnosticul mucozitei.
- 6.** O singură specie bacteriană patogenă identificată creează o diferență cu înalta semnificație statistică între statusul de pacient cu evoluție favorabilă și cel cu mucozită, demonstrând rolul important al bacteriilor în evoluția nefavorabilă a pacienților după inserarea implantelor dentare.

7. Examenul bacteriologic al fluidului peri-implantar este extrem de utilă în monitorizarea pacientului după inserarea implantelor dentare.
8. Relația de strânsă cauzalitate între bacterii și infecții este demonstrată prin valorile foarte mari calculate prin Odds ratio precum și a riscului relativ de progresie nefavorabilă a mucozitei în contextul asocierii de specii bacteriene patogene.
9. Identificarea speciilor bacteriene patogene permite efectuarea tratamentului conform antibiogramei în vederea blocării evoluției procesului inflamator peri-implantar.
10. Evaluarea biomarkerilor la trei luni după inserarea implantelor dentare arată în câteva cazuri o creștere importantă a valorilor, modificarea parametrilor clinici și radiologici sugestivi pentru peri-implantită înregistrându-se de abia la evaluarea după 6 luni.
11. Aceste rezultate sugerează că cei trei biomarkeri sunt foarte sensibili și ar putea fi utilizați în diagnosticul precoce al infecției peri-implantare.
12. Acuratețea diagnosticului prin utilizarea TNF-alfa, IL 1-beta și OPG poate avea un impact pozitiv semnificativ în monitorizarea pacienților cu peri-implantită.
13. Identificarea și validarea unui set de biomarkeri utili în diagnosticul precoce al peri-implantitei ar fi un pas important în monitorizarea pacientului după inserarea de implante dentare.

- 14.** Înțelegerea factorilor care stau la baza etiopatogeniei bacteriene a peri-implantitei este esențială în dezvoltarea strategiilor de prevenire, diagnostic și tratament a peri-implantitei.
- 15.** Identificarea mecanismelor moleculare și celulare care controlează relația os-implant dentar și cunoașterea dinamicii osteointegrării vor fi elemente care vor asigura cheia succesului în Implantologie.

Bibliografie

1. <https://insp.gov.ro/sites/cnepss/wp-content/uploads/2017/03/Proiect-de-planificare-a-campaniei>

Ziua-Mondiala-a-Sanatatiei-Orale-2017.pdf

2. Jan Lindhe. Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 4th edition – 2003;

3. Ugo Pasqualini, Marco E Pasqualini. Treatise of Implant Dentistry: The Italian Tribute to Modern Implantology. Carimate (IT): Ariesdue; 2009 Oct. PMID: 28125196 Bookshelf ID: NBK409628

4. Kari Luotio. Clinical Guidelines for Dental Implant Treatment, A manual of the system. OSD, 2001, Vol.2; [4]

5. Carl E. Misch. Contemporary Implant Dentistry . 1993 pg 20-22; pg 260-262.

6. Tomas Albrektsson . Are Oral Implants the Same As Teeth?. J Clin Med. 2019 Sep; 8(9): 1501 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31546951/>

7. M Hodosh, G Shklar, M Povar. A vitreous carbon-polymethacrylate composite for dental implants. J Biomed Mater Res. 1975 Jan;9(1):97-108. doi: 10.1002/jbm.820090109.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.820090109>

8. John A. Hobkirk – Dental Implants – 2000;

9. Raluca Cosgarea, Anton Sculean, Jamil Avad Shibli, Giovanni Edoardo Salvi. Prevalence of peri-implant diseases – a critical review on the current evidence. *Brazilian Oral Research*, 2019 Sep 30;33(suppl 1):e063.

10. Michael Norton. *Dental Implants – A guide for the General Practitioner* -1995;

11. https://ultradental.net/wp-content/uploads/2018/06/GM-Catalogue_Helix.pdf

12. <https://www.straumann.com/neodent/ca/en/dental-professionals/implant-systems/implants-line/gm-implant-line/gm-helix.html>

13. <http://www.dentium.com/data/CM/pkzaPAG7SFp6h.pdf>

14. Karthik Sivaraman, Aditi Chopra, Aparna I. Narayan, Dhanasekar Balakrishnan. Is zirconia a viable alternative to titanium for oral implant? A critical review. *J Prosthodont Res*. 2018 Apr;62(2):121-133. doi: 10.1016/j.jpor.2017.07.003. Epub 2017 Aug 18.

15. Fernanda H. Schunemann, Maria E. Galarraga-Vinueza, Ricardo Magini, Marcio Fredel, Filipe Silva, Julio C. M. Souza, Yu Zhang, Bruno Henriques; “ Zirconia surface modifications for implant dentistry; PubMed (2019) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6402584/>

16. Javad Yazdani, Elham Ahmadian, Simin Sharifi, Shahriar Shahi, Solmaz Maleki Dizaj. A short view on nanohydroxyapatite as coating of dental implants. *Biomed Pharmacother*. 2018 Sep;105:553-557. doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.013. Epub 2018 Jun 7.

17. Andre Wilson Machado. 10 commandments of smile esthetics. SciELO. Dental Press J. Orthod. 19 (4) • Jul-Aug 2014 • <https://doi.org/10.1590/2176-9451.19.4.136-157.sar> .

18. L R Rubin. The anatomy of a smile: its importance in the treatment of facial paralysis. Plast Reconstr Surg. 1974 Apr;53(4):384-7. doi: 10.1097/00006534-197404000-00002.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4815693/>

19. Tassos Irinakis, Salwa Aldahlaw .The dome technique: a new surgical technique to enhance soft-tissue margins and emergence profiles around implants placed in the esthetic zone. Clin Cosmet Investig Dent. 2018; 10: 1–7.

20. Rosenstiel, Land, Fujimoto. CONTEMPORARY FIXED PROSTHODONTICS. 2016.

21. Krasimir Ivanov Chapanov, Georgi Veselinov Iliev, Stoyan Torezov Kazakov. Online-based software for guidin immediate implantation to replace a tooth with root resorption in the esthetic zone. Clin Case Rep. 2020 Dec; 8(12): 2382–2389.

22. Gaurav Gupta, D. K. Gupta, Neelja Gupta, Priyanka Gupta, and Kuldeep Singh Rana. Immediate Placement, Immediate Loading of Single Implant in Fresh Extraction Socket. Contemp Clin Dent. 2019 Apr-Jun; 10(2): 389–393.

23. Gunjan Srivastava, Swagatika Panda, Saurav Panda, Subrat Kumar Padhiary, Sitansu Sekhar Das, Massimo Del Fabbro. Reproducibility and validity of anterior implant esthetic indices: A review. J Indian Soc Periodontol. 2020 Jul-Aug; 24(4): 301–308.

24. Norina Forna, Dorian Agop-Forna. Esthetic aspects in implant-prosthetic rehabilitation. *Med Pharm Rep.* 2019 Dec; 92(Suppl No 3): S6–S13.
25. Urs Belser, Daniel Buser, Frank Higginbottom. Consensus statements and recommended clinical procedures regarding esthetics in implant dentistry. *The International Journal of Oro Maxillofacial Implants*, 2004, vol.19, Issue 7
26. Gabriele Cervino, Luca Fiorillo, Alina Vladimirovna Arzukanyan, Gianrico Spagnuolo, Marco Cicciu. Dental Restorative Digital Workflow: Digital Smile Design from Aesthetic to Function. *Dent. J.* 2019, 7(2), 30.
27. Zeba Jafri, Nafis Ahmad, Madhuri Sawai, Nishat Sultan, Ashu Bhardwaj. Digital Smile Design-An innovative tool in aesthetic dentistry. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2020 Apr-Jun; 10(2): 194–198.
28. Long Bai, Zhibin Du, Jingjing Du et al. A multifaceted coating on titanium dictates osteoimmunomodulation and osteo/angio-genesis towards ameliorative osseointegration. *Biomaterials.* 2018 Apr;162:154-169. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.02.010. Epub 2018 Feb 6.
29. Vathsala Patil, Nithesh Naik, Srikanth Gadicheria, Komal Smriti, Adithya Raju, Udit Rathee. Biomechanical Behavior of Bioactive Material in Dental Implant: A Three-Dimensional Finite Element Analysis. *ScientificWorldJournal.* 2020; 2020: 2363298.
30. Fabio Carnovale, Romeo Patini, David Penarrocha, Maurizio Muzzi, Roberto Pistilli, Luigi Canullo. Measurement of gap between abutment and fixture in dental conical

connection implants. A focused ion beam SEM observation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2020 Jul; 25(4): e449–e454.

31. Gaetano Marenzi, Filomena Impero, FabioScherillo, Jose Camilla Sammartino, Antonio Squillace, Gianrico Spagnulo. Effect of Different Surface Treatments on Titanium Dental Implant Micro-Morphology. *Materials (Basel)* 2019 Mar 4;12(5):733.

32. Arkadiusz Makowiecki, Jakub Hadzik, Artur Blaszczyzyn, TomasGedrange, Marzena Dominiak . An evaluation of superhydrophilic surfaces of dental implants - a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health*. 2019 May 10;19(1):79.

33. Arkadiusz Makowiecki, Jakub Hadzik, Artur Blaszczyzyn, TomasGedrange, Marzena Dominiak. Is zirconia a viable alternative to titanium for oral implant? A critical review. *J Prosthodont Res*. 2018 Apr;62(2):121-133.

34. Gerardo Asensio, Blanca Vázquez-Lasa, Luis Rojo. Achievements in the Topographic Design of Commercial Titanium Dental Implants: Towards Anti-Peri-Implantitis Surfaces. *J Clin Med*. 2019 Nov; 8(11): 1982.

35. Anqi Zhou, Hui Yu1, Jiayi Liu, Jianan Zheng et al. Role of Hippo-YAP Signaling in Osseointegration by Regulating Osteogenesis, Angiogenesis, and Osteoimmunology, *Cell Dev Biol*, 19 August 2020 | <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00780>

36. Livia Nastri, Antimo Moretti, Silvia Migliaccio, Marco Paoletta, Marco Annunziata, Sara Liguori, et al. Do Dietary Supplements and Nutraceuticals Have Effects on Dental

Implant Osseointegration? A Scoping Review. *Nutrients*. 2020 Jan; 12(1): 268.

37. Hamdan S. Alghamdi. Methods to Improve Osseointegration of Dental Implants in Low Quality (Type-IV) Bone: An Overview. *Journal List J Funct Biomater* v.9(1); 2018 Mar PMC5872093.

38. Ralf Smeets, Bernd Stadlinger, Frank Schwarz, Benedicta Beck-Broichsitter, Ole Jung, Clarissa Precht, et. Al. Impact of Dental Implant Surface Modifications on Osseointegration. *Review Biomed Res Int*. 2016;2016:6285620.

39. Olinescu A, Panait M. *Introducere în imunologie*, Editura InfoMedica, București, 2004, ISBN 973-7912-22-5.

40. Mihaescu G. *Imunologie și Imunochimie*. Editura Universității din București, 2001, ISBN 973-575-556-4.

41. HUGO Gene Nomenclature Committee, www.genenames.org/genefamilies/IL

42. Šubarić L, Mitić A, Matvijenko V, Jovanović R., Tivković D., Perić D., Vlahović Z. Interleukin 1-beta analysis in chronically inflamed and healthy human dental pulp, *Military Medical Journal*, pp 172-182, vol 74, 2016.

43. H Sun, Q Li, Y Zhang, Y Bi, X Li, Y. Shu, X. et. al. Regulation of OPG and RANKL expressed by human dental follicle cells in osteoclastogenesis. *Cell and Tissue Research*, pp 399–405, vol 362, 2015.

44. ER Kapasa, PV Giannoudis, X Jia, PV Hatton, XB Yang. The Effect of RANKL/OPG Balance on Reducing Implant Complications. *J. Funct. Biomater*. 2017, 8(4), 42.

45. Hasan Gündoğar, Meral Uzunkaya. The Effect of Periodontal and Peri-Implanter Health on IL-1 β and TNF- α Levels in Gingival Crevicular and Peri-Implanter Sulcus Fluid: a Cross-Sectional Study. *Odovtos* vol.23 n.1 San José Jan./Apr.,2021, <http://dx.doi.org/10.15517/ijds.2021.44071>

46. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2010 Nov;5(6):463-6.

47. Dalal Hazam Alotaibi1, Mansour KA Assery, Maha S Mezied and Lama Abdulla AlAzhari. Potential Biomarkers for Peri-Implantitis: A Cross-Sectional Study of Type I Collagen Levels in the Sulcular Fluid in relation to Cross-Linked N-Telopeptide and Calprotectin, *publicat Ann Med Health Sci Res*. 2020;10: 1158-1162.

48. Jeff Yuanjun, Wang, Hom-Lay. Biomarkers Associated With Periimplant Diseases , *publicat in Clinical Science and Techniques*, 2014 - Volume 23 - Issue 5 - p 607-611.

49. Andrea Mombelli, Niklaus P. Lang The diagnosis and treatment of peri-implantitis, *published: 23 February 2007, Periodontology 2000*, vol 16, pg 63-76

<https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1998.tb00124.x>

50. Stefan Renvert, G. Rutger Persson, Flavia Q. Pirih, Paulo M. Camargo Peri-implant health, peri-implant mucositis, and peri-implantitis: Case definitions and diagnostic considerations. *First published: 20 June 2018* <https://doi.org/10.1111/jcpe.12956>.

51. Hatem Alassy, Praveen Parachuru and Larry Wolff.Peri-Implantitis Diagnosis and Prognosis Using Biomarkers in Peri-

Implant Crevicular Fluid: A Narrative Review. *Diagnostics* 2019, 9(4), 214.

52. Leya Bahlou, Nancy Mouradian, Reginaldo Bruno Gonçalves. Peri-Implantitis and The Risk Factors, August 1, 2018.

53. Javier Ata-Ali1, Fadi Ata-Ali, Leticia Bagan. A Classification Proposal for Peri-Implant Mucositis and Peri-Implantitis: A Critical Update. *Open Dent J.* 2015; 9: 393–395.

54. <https://www.slideshare.net/DrShilpaShiv/periimplantitis-70810908>

55. Seema Ashrafi, and Aniruddh Nitin Narvekar. Evaluation of the Peri-Implant Tissues in Health and Disease. August 1, 2019 Course, American Dental Hygienists' Association

56. GN Belibasakis, D Manoil. Microbial Community-Driven Etiopathogenesis of Peri-Implantitis. First Published August 12, 2020 Review Article Find in PubMed <https://doi.org/10.1177/0022034520949851>, revista Journal of Dental Research.

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

58. Noriko Maruyama, Fumito Maruyama , Yasuo Takeuchi , Chihiro Aikawa , Yuichi Izumi1 & Ichiro Nakagawa. Intraindividual variation in core microbiota in peri-implantitis and periodontitis. *Meta-Analysis Sci Rep.* 2014 Oct 13;4:6602.

59. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998 Feb;25(2):134-44.

60. Samaranayake LP. Essential Microbiology for Dentistry. Ed. Churchill Livingstone 2002. ISBN 0-443-06461-X.
61. Maria Helena Fernandes, Pedro S Gomes. Bone Cells Dynamics during Peri-Implantitis: a Theoretical Analysis. J Oral Maxillofac Res 2016;7(3):e6.
62. Elizabeth R Kapasa, Peter V. Giannoudis, Xiaodong Jia, Paul V. Hatton and Xuebin B Yang. The Effect of RANKL/OPG Balance on Reducing Implant Complications. Review J Funct Biomater. 2017 Sep 22;8(4):42.
- 63.<https://www.spotimplant.com/en/dental-implants/dentium/implantium>
- 64.<https://www.abcam.com/human-tnf-beta-elisa-kit-ab229202.html>
- 65.<https://www.biomerieux-diagnostics.com/apir-id-strip-range>
66. M Rakic, X Struillou, A Petkovic-Curcin et. al. Estimation of bone biomarkers as a diagnostic tool for periimplantitis. Comparative Study J Periodontol. 2014 Nov;85(11):1566-74.
67. Misch CE, Abbas H. Contemporary implant dentistry. Chapter 42, Third edition. Elsevier, 2008.
68. Sarbu I. Curs practic de implantologie orală, Editura Centrului Tehnic-Editorial al Armatei, 2006.
69. Alberto Monje, Maria Vera, Agustín Muñoz-Sanz, Hom-Lay Wang, José Nart. Suppuration as diagnostic criterium of peri-implantitis. J Periodontol. 2021 Feb;92(2):216-224.

70. Hillel Ephros, Shiwoo Kim, Robert DeFalco. Peri-implantitis: Evaluation and Management. Review Dent Clin North Am. 2020 Apr;64(2):305-313.
71. Petcu Cristian Lucian, Informatica Medicala Note de curs, ISBN: 978-973-614-589-6, Ovidius University Press, Constanta 2011.
72. McHugh ML. The odds ratio: calculation, usage, and interpretation, Biochemia Medica, 2009, 19(2): 6-12;
73. Băicuș C, Medicina bazată pe dovezi. Cum înțelegem studiile, Editura Medicală, București, 2007.
74. Tord Berglundh, Gary Armitage, Mauricio G Araujo, Gustavo Avila-Ortiz, Juan Blanco, Paulo M Camargo et al. 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. J Periodontol. 2018 Jun;89 Suppl 1:S313-S318.
75. Yaniv Mayer, Ofir Ginesin, Jacob Horwitz. A nonsurgical treatment of peri-implantitis using mechanic, antiseptic and anti-inflammatory treatment: 1-year follow-up. Clinical Trial Clin Exp Dent Res. 2020 Aug;6(4):478-485.
76. AB Petkovic, SM Matic, NV Stamatovic, D V Vojvodic, TM Todorovic et.al. Proinflammatory cytokines (IL-1b and TNF-a) and chemokines (IL-8 and MIP-1a) as markers of peri-implant tissue condition. J. Oral Maxillofac. Surg. 2010; 39: 478–485;
77. Zhiming Song, Paul Weigl and Bi Wang. Correlations of inflammatory cytokines, oxidative stress markers, and matrix metalloproteinases in gingival crevicular fluid with peri-implantitis. European Journal of Inflammation Volume 17: 1–

5, 2019,
<https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/2058739219845542>

78. Hessam Nowzari, Sharon Phamduong, Javier Enrique Botero, Maria C Villacres, Sandra K Rich. The Profile of Inflammatory Cytokines in Gingival Crevicular Fluid around Healthy Osseointegrated Implants. Comparative Study Clin Implant Dent Relat Res. 2012 Aug;14(4):546-52.

79. Eric Fabian, Robert Landsiedel, Lan Ma-Hock, Karin Wiench, Wendel Wohlleben, Ben van Ravenzwaay. Tissue distribution and toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in rats. Arch Toxicol. 2008 Mar;82(3):151-7.

80. Dieter Cadosch, Erwin Chan, Oliver P Gautschi, Luis Filgueira. Metal is not inert: role of metal ions released by biocorrosion in aseptic loosening--current concepts. J Biomed Mater Res A, 2009 Dec 15;91(4):1252-62.

81. Zoë Berryman,a Laura Bridger, Haizal Mohd Hussaini, Alison M. Rich, Momen Atieh, Andrew Tawse-Smithd. Titanium particles: An emerging risk factor for peri-implant bone loss. Saudi Dent J. 2020 Sep;32(6):283-292.

82. Diederik F M Hentenaar, Yvonne C M De Waal, Arjan Vissink, Arie Jan Van Winkelhoff, Henny J A Meijer, Sylvia C Liefers et. al. Biomarker levels in peri-implant crevicular fluid of healthy implants, untreated and non-surgically treated implants with peri-implantitis. J Clin Periodontol. 2021 Apr;48(4):590-601.

83. Alex Martins GOMES, Dhelfeson Willya Douglas-deOLIVEIRA, Sérgio Diniz FERREIRA, Tarcília Aparecida da SILVA, Luís Otávio Miranda COTA, Fernando Oliveira COSTA. Periodontal disease, peri-implant disease and levels of salivary biomarkers IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF- β and TNF- α : follow-up over 5 years. *J Appl Oral Sci.* 2019 Feb 21;27:e20180316.
84. Paweł Aleksandrowicz, Ewa Brzezińska-Błaszczyk, Elżbieta Kozłowska, Paulina Żelechowska, Andrea Enrico Borgonovo & Justyna Agier. Analysis of IL-1 β , CXCL8, and TNF- α levels in the crevicular fluid of patients with periodontitis or healthy implants. *BMC Oral Health.* 2021 Mar 16;21(1):120.
85. Hom-Lay Wang, Carlos Garaicoa-Pazmino Amy Collins Hwen-Sei Ong Rini Chudri William V. Giannobile, Protein biomarkers and microbial profiles in peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2016 Sep;27(9):1129-36.
86. Erhan Dursun, Tolga Fikret Tözüm. Peri-Implant Crevicular Fluid Analysis, Enzymes and Biomarkers: A Systemetic Review. *Review J Oral Maxillofac Res.* 2016 Sep 9;7(3):e9.
87. Fatih Arikan, Nurcan Buduneli, David F Lappin. C-telopeptide pyridinoline crosslinks of type I collagen, soluble RANKL, and osteoprotegerin levels in crevicular fluid of dental implants with peri-implantitis: A case-control study. *Int. J. Oral Maxillofac Implant.* **2011**, 26, 282–289.
88. Fatih Arikan, Nurcan Buduneli, Necil Kütükçüler, Osteoprotegerin levels in peri-implant crevicular fluid, *Clin Oral Implants Res.* 2008 Mar;19(3):283-8.

89. Mia Rakic, Vojislav Lekovic, Natasa Nikolic-Jakoba, Danilo Vojvodic, Aleksandra Petkovic-Curcin, Mariano Sanz. Bone loss biomarkers associated with peri-implantitis. A cross-sectional study. Clin Oral Implants Res. 2013 Oct;24(10):1110-6.
90. Nil Yakar, Guliz N Guncu, Abdullah C Akman, Asli Pinar, Erdem Karabulut, Rahime M Nohutcu. Evaluation of gingival crevicular fluid and peri-implant crevicular fluid levels of sclerostin, TWEAK, RANKL and OPG. Epub. 2019 Jan;113:433-439
91. Howe MS. Implant maintenance treatment and peri-implant health. Evid Based Dent. 2017;18(1):8-10.
92. Monje A, Aranda L, Diaz KT, Alarcón MA, Bagramian RA, Wang HL, et al. Impact of maintenance therapy for the prevention of periimplant diseases: a systematic review and meta-analysis. J Dent Res. 2016;95(4):372-9.
93. Jepsen S, Berglundh T, Genco R, Aass AM, Demirel K, Derks J, et al. Primary prevention of peri-implantitis: managing peri-implant mucositis. J Clin Periodontol. 2015;42(Suppl 16):S152-7
94. Ausra Ramanauskaite, Karina Obreja, Frank Schwarz. Surgical Management of Peri-implantitis. Current Oral Health Reports volume 7, pages283–303 (2020).
95. Ekaterina Diachkova, Stefano Corbella, Silvio Taschieri, Svetlana Tarasenko. Nonsurgical Treatment of Peri-Implantitis: Case Series, Dent. J. 2020, 8(3), 78;
96. Anders Esberg, Catrine Isehede, Anders Holmlund, Pernilla Lundberg. Peri-implant crevicular fluid proteome before and

after adjunctive enamel matrix derivative treatment of peri-implantitis. *J. Clin. Periodontol.* **2019**, 46, 669–677.

97. Xiaogen Zhang, Zhifa Wang, Li Hu, Xiaoqing Shen, Chundong Liu. Identification of Potential Genetic Biomarkers and Target Genes of Peri-Implantitis Using Bioinformatics Tools. *Biomed Res Int.* 2021 Dec 11;2021:1759214.

98. Asier Eguia Del Valle, José López-Vicente, Rafael Martínez-Conde, Luis-Antonio Aguirre-Zorzano. Current understanding of genetic polymorphisms as biomarkers for risk of biological complications in implantology. *J Clin Exp Dent.* 2018 Oct 1;10(10):e1029-e1039

99. Diaz PI, Valm AM. Microbial Interactions in Oral Communities Mediate Emergent Biofilm Properties. *J.Dent.Reschers* 2020 Jan;99(1):18-25.

100. Sahrman, P.; Gilli, F.; Wiedemeier, D.B.; Attin, T.; Schmidlin, P.R.; Karygianni, L. The Microbiome of Peri-Implantitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Microorganisms* **2020**, 8, 661.

101. Dalia Khalil and Margareta Hultin. Peri-implantitis Microbiota. An Update of Dental Implantology and Biomaterial. 2018. doi:10.5772/intechopen.79486.

102. Yuchen Zhang, Yinhu Li, Yuguang Yang, Yiging Wang, Xiao Cao, Yu Jin et. al. Periodontal and Peri-Implant Microbiome Dysbiosis Is Associated With Alterations in the Microbial Community Structure and Local Stability. *Front Microbiol.* 2022 Jan 25;12:785191.

103. Yanchi Chen, Tao Shi, Yiling Li, Linyang Huang, Derong Yin. *Fusobacterium nucleatum*: The Opportunistic Pathogen of

Periodontal and Peri-Implant Diseases. Front Microbiol. 2022 Mar 11;13:860149

104. Georgios A. Kotsakis, Daniel G. Olmedo. Peri-implantitis is not periodontitis: Scientific discoveries shed light on microbiome-biomaterial interactions that may determine disease phenotype. Periodontol 2000. 2021 Jun;86(1):231-240.

105. Yuhei Hashimoto, Shinsuke Okada, Keisuke Yasuda, Maiko Kawagoe, Mikihiro Kajiya, Kazuhiro Tsuga. Microbial differences between active and remission peri-implantitis. Scientific reports. 2022. Volume 12, Article Number 5284.

106. Canullo Luigi, Orlato Rossetti, Paulo Henrique. Identification of Staphylococcus aureus at the internal and external implant surfaces in individuals with periimplant disease: A cross-sectional study. March 11, 2016 / Categories: Digital Dentistry, Implant Dentistry

107. Mirjam M Furst, Giovanni E Salvi, Niklaus P Lang, G Rutger Persson. Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. Clin Oral Implants Res. 2007. 18(4): 501-8.

108. Hom-Lay Wang, Carlos Garaicoa-Pazmino, Amy Collins, When-Sei Ong, Rini Chudri, William V. Giannobile. Protein biomarkers and microbial profiles in peri-implantitis. Wiley Online Library.2015. Clinical Oral Implants Research,vol.27. issue 9. Pages: 1129-1136.

109. Diederik F M Hentenaar, Yvonne C M De Waal , Arjan Vissink, Arie Jan Van Winkelhoff, Henny J A Meijer, Sylvia C Liefers, Frans G M Kroese , Gerry M Raghoobar , Biomarker levels in peri-implant crevicular fluid of healthy implants,

untreated and non-surgically treated implants with peri-implantitis, *J Clin Periodontol*. 2021 Apr;48(4):590-601.

110. Yuchen Zhang, Yinhu Li, Yuguang Yang, Yiqing Wang, Xiao Cao, Yu Jin, et. al. Periodontal and Peri-Implant Microbiome Dysbiosis Is Associated With Alterations in the Microbial Community Structure and Local. *Front Microbiol*. 2022 Jan 25;12:785191.

111. Elani H.W., Starr J.R., Da Silva J.D., Gallucci G.O. Trends in Dental Implant Use in the U.S., 1999-2016, and Projections to 2026. *J. Dent. Res*. 2018;97:1424–1430.

112. Heitz-Mayfield L.J.A., Salvi G.E. Peri-implant mucositis. *J. Periodontol*. 2018

113. Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang H-L. Peri-implantitis. *J. Periodontol*. 2018; 89:S267–S290.

114. Marcela Cristina Damião ANDRUCIOLI, Mírian Aiko Nakane MATSUMOTO, Sandra Yasuyo FUKADA, Maria Conceição Pereira SARAIVA, Ana Zilda Nazar BERGAMO, Fábio Lourenço ROMANO et. al. Quantification of pro-inflammatory cytokines and osteoclastogenesis markers in successful and failed orthodontic mini-implants. *J Appl Oral Sci*. 2019 Oct 7;27:e20180476.

115. Costa F.O, Takenaka-Martinez S, Cota LO, Ferreira SD, Silva GL, Costa JE. Peri-implant disease in subjects with and without preventive maintenance: a 5-year follow-up. *J Clin Periodontol*. 2012;39:173–181.

116. Amália M Bielemann, Raissa M Marcello-Machado, Fábio Renato Manzolli Leite, Frederico Canato Martinho, Otacílio Luiz Chagas-Júnior et. al. Comparison between inflammation-related markers in peri-implant crevicular fluid

and clinical parameters during osseointegration in edentulous jaws. Clin. Oral. Invest. (2018) 22:531–543.

117 Iya Ghassib, Zhaozhao Chen, Juanfang Zhu, Hom-Lay Wang. Use of IL-1 β , IL-6, TNF- α , and MMP-8 biomarkers to distinguish peri-implant diseases: A systematic review and meta-analysis. Clin Implant Dent Relat Res. 2019; 21(1):190-207.

118. Ryota Kibune, Kosuke Muraoka, Masaki Morishita, Wataru Ariyoshi, and Shuji Awano. Relationship between Dynamics of TNF- α and Its Soluble Receptors in Saliva and Periodontal Health State, Dent. J. (Basel). 2022 Feb; 10(2): 25.

119. Adriana Cutrim de Mendonça. Tumor Necrosis Factor-Alpha Levels After Surgical Anti-Infective Mechanical Therapy for Peri-Implantitis: A 12-Month Follow-Up, Journal of Periodontology 80 (4):693-9, 2009.

120 C. Theodoridis, C. Doukeridou, G. Menexes. Comparison of RANKL and OPG levels in peri-implant crevicular fluid between healthy and diseased peri-implant tissues. A systematic review and meta-analysis, *Clinical Oral Investigations* volume 26, pages823–836 (2022).

121. Derks J, Schaller D, Hakansson J, Wennstrom JL, Tomasi C, Berglundh T. Peri-implantitis—onset and pattern of progression. J Clin Periodontol. 2016; 43:383–388.

122. Becker J, John G, Becker K, Mainusch S, Diedrichs G, Schwarz F. Clinical performance of two-piece zirconia implants in the posterior mandible and maxilla: a prospective cohort study over 2 years. Clin Oral Implants Res. 2017;28:29–35.

123. Rejina Shrestha, Amar Bhochhibhoya, Peri-implantitis: A Classification Update, Nepal Journal of Health Sciences , 1 (2), 52–62.

124. Angel Insua, Alberto Monje ,Hom-Lay Wang , Richard J Miron. Basis of bone metabolism around dental implants during osseointegration and peri-implant bone loss, J Biomed Mater Res A, 2017 Jul;105(7):2075-2089.

125. Simon Windael, Bruno Collaert, Stefanie De Buyser, Hugo De Bruyn, Stijn Vervaeke. Early peri-implant bone loss as a predictor for peri-implantitis: A 10-year prospective cohort study. Clin Implant Dent Relat Res. 2021 Jun;23(3):298-308.

126. Mia Rakic, Alberto Monje, Sandro Radovanovic, Aleksandra Petkovic-Curcin, Danilo Vojvodic, Zoran Tati. Is the personalized approach the key to improve clinical diagnosis of peri-implant conditions? The role of bone markers. Journal of Periodontology 91(7), 2019.