

Univerzitet u Beogradu
Stomatološki fakultet

Dragana Lj. Rakašević

***Procena efikasnosti fotodinamske terapije kod
periimplantitisa***

Doktorska disertacija

Beograd, 2017.

The University of Belgrade
The Faculty of Dental Medicine

Dragana Lj. Rakašević

***The evaluation of efficiency of the photodynamic
therapy in peri-implantitis***

PhD thesis

Belgrade, 2017

Mentor: *Profesor Dr Zoran Aleksić*

Članovi komisije:

Profesor dr Saša Janković

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Profesor dr Božidar Dimitrijević

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Profesor dr Zoran Lazić

Vojno-Medicinska Akademija, Beograd

Docent dr Jelena Roganović

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Datum odbrane

2017. godine

Zahvalnost



“Zahvalnost je čarobna vrлина koja rehabilitiše naš odnos prema stvarima, bićima i odlikama koje imamo. Ona odvraća naš pogled od svega onog što nemamo prema svemu onom što imamo i što nam je dragoceno. Sposobnost čoveka da oseća zahvalnost jedan je od ključnih elemenata sreće i uspeha.”

Svoju veliku zahvalnost na podršci i realizaciji svih mojih ideja i želja, dugujem svom mentoru *prof. dr Zoranu Aleksiću*. Zahvalna sam mu što me je uveo u svet parodontologije i implantologije i što mi je tokom dugogodišnjeg perioda omogućavao svojim savetima da prevaziđem i rešim razne poslovne situacije.

Prof. dr Zoranu Laziću, iskazujem veliku zahvalnost što me je uveo u svet implantologije i svojim radom, podrškom i upornošću omogućio da započnem i završim doktorsku disertaciju.

Posebnu zahvalnost dugujem *prof. dr Novaku Stamatoviću*, koji me je pozvao, uveo u svet implantologije i omogućio da se realizuje moja doktorska disertacija. Takođe, neizmernu zahvalnost iskazujem mojim dragim saradnicima sa Vojnomedicinske Akademije *dr Radetu Miloviću*, *dr Zoranu Tatiću* i *prof. dr Smiljki Matić*, bez koje ovaj doktorat ne bi bio moguć.

Neizmernu zahvalnost na ogromnom trudu, moralnoj podršci i savetima dugujem svom dragom mentor *prof. dr Saši Jankoviću*. Zahvalna sam na ogromnom znanju i veštinama koje me je naučio i što mi je omogućio da napredujem i da dalje verujem u sebe. Takođe, divnim ljudima kolektiva Klinike za parodontologiju i oralnu medicinu zahvaljujem se na divnom radu, podršci i druženju tokom svih ovih godina.

Doc. dr Jeleni Roganović i *dr Ljiljani Đukić* zahvaljujem se na velikoj pomoći u izradi ove doktorske disertacije. Neizmernu zahvalnost iskazujem *dr Bojanu Rakonjcu* koji me je uveo u svet mikrobiologije i bez čije pomoći ne bi realizovala svoj rad.

Zahvaljujem se svim članovima moje komisije na dragocenim sugestijama i trudu koji su dali da unaprede ovaj istraživački rad.

Veliku zahvalnost na realizaciji i izradi doktorske disertacije dugujem *Bredent* kompaniji.

Prof. dr Dejanu Markoviću, mom dragom profesoru, osobi koja je pratila moj naučni rad i moje odrastanje, koja je uvek bila tu za sve moje dileme i nedoumice, da sasluša i da pruži savet, zahvaljujem se na svemu a pre svega na podsticaju i moralnoj podršci.

Posebnu i veliku zahvalnost iskazujem mojoj majci i ocu na ogromnom strpljenju, razumevanju, podršci i ljubavi koju mi svakodnevno pružaju i bez kojih danas ne bih bila ovo što jesam. Najveću zahvalnost dugujem svom dedi, čoveku koji me je uveo u naučnu priču i koji je bio i jeste moj najveći uzor u životu.

Procena efikasnosti fotodinamske terapije kod periimplantitisa

Rezime

Uvod. Peri-implantitis se definiše kao inflamatorni proces koji zahvata pored mekih tkiva i potpornu kost oko oseintegriranog implantata u funkciji. Osnovni etiološki faktor u razvoju peri-implantitisa su mikroorganizmi dentalnog plaka, koji udruženi sa ekstenzivnim imunim odgovorom domaćina dovode do gubitaka peri-implantnih tkiva. Pored glavnih etioloških faktora, brojni akcesorni faktori- *opšti i lokalni*, mogu da potspeše nastanak i progresiju peri-implantitisa. U patogenezi peri-implantnih oboljenja važnu ulogu imaju sve subpopulacije Th limfocita: Th1, Th2 i Th17 ćelije koje sekretuju različite pro- i anti-inflamatorne citokine. Produkcija i izlučivanje IL-17 praćena je kaskadnim reakcijama i međusobnim aktivacijama interleukina kao što su IL-1 β , IL-6, IL-21 i IL-23. Značajna uloga IL-17 ogleda se u raznim inflamatornim oboljenjima kao što je reumatoidni artritis, paradontopatija i peri-implantitis. Značajno povišena koncentracija IL-17 detektovana je u peri-implantnoj cervikalnoj tečnosti kod osoba sa dijagnostikovanim peri-implantitisom. Mikroorganizmi i njihovi produkti kao što je *Porphyromonas gingivalis*, mogu da indukuju diferencijaciju Th17 ćelije i da omoguće produkciju IL-17. IL-17 ćelija uzajamnim dejstvom sa IL-6 i IL-1 β sudeluju u diferencijaciji osteoklasta, uzrokujući indirektnu ili direktnu osteoklastogenezu. Osnovni cilj terapije peri-implantitisa je redukcija zapaljenja u peri-implantnom tkivu i stvaranje povoljnih uslova za reparaciju i regeneraciju zahvaćenih tkiva. Eliminacija patogenih mikroorganizama i dekontaminacija implantne površine predstavlja najbitniji korak u postizanju stabilnih kliničkih rezultata. Fotodinamska terapija (FDT), predstavlja novo pomoćno ne-invazivno terapijsko sredstvo u terapiji bakterijskih, virusnih i gljivičnih infekcija. Definiše se kao kiseonik-zavisna fotohemijaska reakcija, koja nastaje aktivacijom fotoaktivne materije (*engl. photosensitizer*), pomoću svetlosti lasera niske talasne dužine (630 nm-700 nm) u prisustvu kiseonika. Izlaganjem fotodinamskog sredstva svetlosti lasera, dolazi do stvaranja slobodnih radikala i slobodnog kiseonika, prouzrokujući fotohemijasko oštećenje i smrt ćelije. **Cilj rada** bila je procena kliničkih, imunoloških i mikrobioloških parametara pre i 3 meseca nakon hirurške terapije, sa ili bez primene dodatne FDT.

Metode rada. Implantati sa dijagnostikovanim peri-implantitisom ($n = 52$) bili su podeljeni u dve grupe: eksperimentalnu grupu ($n=27$) i kontrolnu grupu ($n=25$). U cilju smirivanja znakova inflamacije, inicijalna-nehirurška terapija praćena mehaničkom obradom peri-implantnog džepa, sprovedena je kod

svih pacijenata mesec dana pre hirurške procedure. Tokom hirurške procedure u eksperimentalnoj grupi za dekontaminaciju implantne površine korišćena je FDT, dok je u kontrolnoj grupi za dekontaminaciju implantne površine, korišćen 2% gel hlorheksidina (CHX). Koštani defekti bili su popunjeni koštanim zamenikom i bioresorptivnom membranom. Hirurški konci uklonjeni su nakon 7 dana. Klinički parametri: Krvarenje na provokaciju (KNP), Dubina peri-implantnog džepa (DPDž), Nivo pripojnog epitela (NPE), Marginalna recesija (MR), Supuracija (SUP), praćeni su pre terapijske procedure i 3 meseca nakon terapije. Uzorci za mikrobiološku uzimani su pre bilo koje terapijske procedure, tokom hirurške procedure pre i nakon dekontaminacije implantne površine i tri meseca nakon hirurške procedure. Za indentifikaciju izolovanih anaeroba korišćen je sistem koji radi po principu biohemijske analize izolovanih mikrobioloških sojeva. Ukupna koncentracija interleukina (IL): IL-17, IL-6, IL-21, IL-22, IL-23 i IL-1 β u peri-implantnom cervikalnom fluidu, merena je pre terapijske procedure, mesec dana nakon nehirurške terapije i tri meseca nakon terapijske procedure.

Rezultati. Rezultati istraživanja pokazali su da primenom obe anti-inflamatorne terapije dolazi do statističkog značnog poboljšanja kliničkih parametara i redukcije mikrobioloških i imunoloških uzročnika infekcije ($p < 0.001$). Statistički značajna redukcija KNP bila je nakon primene FTD u odnosu na primenu CHX ($p < 0.001$), tri meseca nakon terapije. Nije postojala statistički značajna razlika, između grupa, u DPDž i NPE. Ukupna koncentracija IL-17, IL-6, IL-21 i IL-1 β bila je statistički značajno smanjena u obe grupe nakon 3 meseca. Primenom FDT pokazana je statistički značajnija redukcija IL-17, IL-1 β i IL-6 u poređenju sa primenom standardne metode dekontaminacije ($p < 0.001$). Primenom FDT, kao pomoćnog sredstva, omogućava se potpuna eliminacija anaerobnih bakterija sa implantnih površina, kao i iz peri-implantnog džepa 3 meseca nakon terapije.

Zaključak. Aplikacijom pomoćne fotodinamske terapije dolazi do poboljšanja kliničkih parametara. Rezultati istraživanja pokazuju da FDT može da se koristi kao dodatno terapijsko sredstvo za dekontaminaciju implantne površine i peri-implantnog tkiva, omogućavajući smanjenje pro-inflamatornih interleukina i eliminaciju anaerobnih mikroorganizama.

Ključne reči: peri-implantitis, interleukin, dekontaminacija, fotodinamska terapija

Naučna oblast: Stomatologija

Uža naučna oblast: Parodontologija i implantologija

UDK broj: 616.314-089.843(043.3)

The evaluation of efficiency of the photodynamic therapy in peri-implantitis

Overview

Introduction Peri-implantitis is defined as an inflammatory process in the soft and hard tissue of surrounding osseointegrated implants in the function. The main aetiology factor in the development of the peri-implantitis is anaerobes, associated with the excessive immunological answer of the host, responsible for peri-implant tissue loss. Moreover, there are additional factors- *general and local*, which could promote development and progression of peri-implantitis. The subpopulation of Th lymphocytes such as Th1, Th2 and Th17 cells plays an important role in a pathogenesis of peri-implantitis. Different pro- and anti-inflammatory cells have been produced by an induced Th cell. Production and secretion of IL-17 are followed by the cascade interactions and activations of interleukins IL-1 β , IL-6, IL-21 and IL-23. IL-17 has an important role in different inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis, periodontitis and peri-implantitis. The total amount of IL-17 is increased significantly in a peri-implant cervical fluid. Furthermore, differentiation of Th17 and secretion of IL-17 could have been induced by the microorganisms and their products such as *Porphyromonas gingivitis*. Synergistically, IL-17 with IL-6 and IL-1 β produced differentiation of osteoclasts, contributing directly or indirectly to osteoclastogenesis. The main goal of peri-implant therapy is a reduction of inflammation and creation of favourable conditions for the tissue repair and regeneration. Eradication of the causative bacteria and decontamination of the implant surface is essential in achieving predictable and stable clinical results. Photodynamic therapy (PDT) is a non-invasive adjuvant therapeutic method in the treatment of bacterial, viral and fungal infection. It is defined as an oxygen-dependent photochemical reaction that occurs upon light-mediated activation of a photosensitizing compound leading to the generation of cytotoxic reactive oxygen species, predominantly singlet oxygen. This reaction induces oxidative damage to the cell membrane and cell wall causing the death of cells. **Objective** The aim of this study was to evaluate clinical, immunological and microbiological outcomes of peri-implantitis when diverse surgical methods were used (with or without an adjunctive PDT).

Methods Fifty-two diagnosed peri-implantitis sites were divided into two groups: experimental and control group. Before the surgical procedure, the initial- nonsurgical therapy followed by mechanical debridement of peri-implant pocket, was used in order to reduce the signs of inflammation. In the experimental group (27 peri-implantitis) PDT was used for decontamination of implant surface and peri-

implant tissues during the surgical procedure. Application of chlorhexidine gel followed by saline irrigation was used for decontamination in the control group (25 peri-implantitis). Artificial bone and bioresorbable collagen membrane were used for reconstruction of infrabony defects. Bleeding on probing (BOP), peri-implant probing depth (PPD), clinical attachment level (CAL), suppuration (SUP) and marginal recession (MR) were recorded at baseline and three months after the surgery. Additionally, samples for microbiological identification were collected before therapy, during the surgical therapy (before and after decontamination of implant surface), and three months thereafter, and analysed with identification systems using biochemical analysis. At the same time, the total amounts of IL-6, IL-17, IL-21, IL-22, IL-23 and IL-1 β in the peri-implant crevicular fluid were measured by enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA.

Results The results of the study showed that both additional anti-inflammatory therapies achieved significant improvement of clinical outcomes and reduction of the microbiological and immunological cause of infection. The use of PDT resulted in significant decrease of BOP in comparison to CHX ($p < 0.001$), three months after the therapy. There was no significant difference in PD and CAL results between two groups. The total amount of IL-17, IL-6 and IL-21 decreased significantly in both groups after the period of three months. PDT was associated with significant decrease of IL-17 and IL-6 ($p < 0.001$) when compared with the standard method of therapy. It showed significant decontamination of implant surfaces with complete elimination of anaerobic bacteria immediately after the surgical procedure and three months later when PDT was used ($p < 0.001$).

Conclusion Application of adjuvant photodynamic therapy improved clinical parameters. The results indicate that PDT can be proposed as an adjuvant therapy for decontamination of implant surface and surrounding peri-implant tissues in the treatment of peri-implantitis.

Keywords: peri-implantitis, interleukin, decontamination, photodynamic therapy

Scientific field: Dentistry

Scientific field specialised: Periodontology and Implantology

UDC number: 616.314-089.843(043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD.....	3
1.1. Peri-implantna oboljenja- definicija, podela	4
1.1.1. Prevalence.....	4
1.2. Klasifikacija peri-implantitisa.....	5
1.3. Mehanizam oseintegracije i građa peri-implantnog tkiva	7
1.3.1. Mehanizam oseintegracije	7
1.3.2. Građa peri-impantnog tkiva.....	9
1.4. Faktori rizika	10
1.5. Etiopatogeneza peri-implantitisa.....	12
1.5.1. Etiologija	12
1.5.2. Mehanizam odbrane tkiva na infekciju i patogeneza nastanka peri-implantitisa...	13
1.6. Klinička slika i metode dijagnostikovanja peri-implantnih oboljenja	21
1.7. Terapija peri-implantitisa	23
1.7.1. Nehirurška terapija peri-implantitisa/ Zatvorena tehnika.....	24
1.7.2. Hirurški tretman/ Otvorena tehnika.....	26
1.7.3. Eksplantacija implantata (engl. Explantation).....	27
1.8. Dekontaminacija implantne površine (engl. Surface decontamination)	28
1.8.1. Primena lasera u dekontaminaciji implantne površine.....	31
1.8.1.1. Delovi lasera i osnovni principi rada laserske terapije	31
1.8.1.2. Delovanje lasera na biološka tkiva i primena laserske terapije	32
1.8.2. Fotodinamska terapija i njena primena u stomatologiji	35
1.8.2.1. Istorijat fotodinamske terapije	35
1.8.2.2. Sastav fotodinamske terapije	36
1.8.2.3. Mehanizam dejstva fotodinamske terapije	38
1.8.2.4. Primena fotodinamske terapije u stomatologiji	39

2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	42
2.1. Radna hipoteza	42
2.2. Ciljevi istraživanja.....	42
3. MATERIJAL I METODE	43
3.1. Parametri praćenja.....	44
3.1.1. Klinički parametri praćenja i merenja	44
3.1.2. Imunološki i mikrobiološki parametri praćenja.....	45
3.2. Terapijska procedura	49
3.2.1. Hirurški tretman.....	49
3.3. Period praćenja pacijenata.....	51
3.4. Statistička analiza podataka	51
4. REZULTATI.....	53
4.1. Demografski parametri i implantne karakteristike kod pacijenata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom	53
4.2. Evaluacija kliničkih parametara tri meseca nakon terapije peri-implantitisa	56
4.3. Evaluacija koncentracija pro-inflamatornih interleukina u PICF.....	59
4.4. Evaluacija mikrobioloških parametara.....	63
5. DISKUSIJA	70
5.1. Uticaj demografskih parametara i implantnih karakteristika kod pacijenata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom	70
5.2. Evaluacija kliničkih parametara tri meseca nakon terapije peri-implantitisa	75
5.3. Evaluacija koncentracija pro-inflamatornih interleukina u PICF.....	83
5.4. Evaluacija mikrobioloških parametara kod pacijenata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom.....	90
6. ZAKLJUČCI.....	96
7. LITERATURA	97

1. UVOD

Savremena implantološka terapija predstavlja jednostavnu, svakodnevnu i rutinsku hiruršku proceduru, sa predvidljivim hirurškim rezultatima. U periodu praćenja od 16 godina zabeležena je uspešnost ugradnje i stabilnosti implantata oko 82,9% [1]. Ipak, nakon ugradnje endoosealnih implantata mogu da se jave određene komplikacije, koje se dele na *rane* i *kasne* komplikacije [2].

Rane komplikacije nastaju nakon ugradnje endoosealnih implantata kao posledica poremećaja procesa oseointegracije tzv pasivna oseointegracija. Ova komplikacija se karakteriše ili gubitkom implantata ili fibroznim zarastanja hirurške rane oko implantata. Jedna od faktora ili uslova koji dovodi do rane komplikacije može biti: trauma tkiva tokom hirurške procedure (npr. pregrejavanje koštanog tkiva $>47^{\circ}$, povećanje sile opterećenja implantata preko 150 μ m tokom faze zarastanja), kompresija tkiva, pre-operativna kontaminacija, kao i kontaminacija hirurškog polja tokom operacije.

U poslednje dve decenije sve je veća pojava komplikacija koje se javljaju nakon protetske rehabilitacije i uspostavljanja funkcije oralnih implantata u usnoj duplji tokom određenog vremenskog perioda. Kasna komplikacija može nastati kao posledica biomehaničkih ili bioloških faktora ili udruženim delovanjem oba pomenuta faktora.

Biomehaničke komplikacije mogu nastati kao posledica prekomernog opterećenja implantata u funkciji (engl. „*overload*“) ili kao posledica frakture fiksnog protetskog rada. Prekomerni mehanički stres implantata u funkciji, nastaje delovanjem prekomernih lateralnih ili aksijalnih sila preopterećenog implantata, dovodeći do mikropukotina kosti oko oseointegrisanog implantata, uzrokujući na ovaj način pojavu peri-implantnih oboljenja ili gubitka implantata. Takođe gubitak implantata može nastati usled odšrafljenja suprastrukture, frakture abatmenta ili frakture samog tela implantata.

Biološke komplikacije predstavljaju infekciju oko peri-implantnog tkiva koje nastaju kao posledica udruženog dejstva mikroorganizama i imunog odgovora domaćina na infekciju i jednim imenom se nazivaju *peri-implantna oboljenja*. Često se biološka komplikacija nadovezuje na mehaničku komplikaciju, pa je nemoguće utvrditi tačnu granicu između ova dva faktora i uzroka nastanka komplikacije [3].

1.1. Peri-implantna oboljenja- definicija, podela, prevalence

Osamdesetih godina 20. veka, Andrea Mombeli uvodi termin „Peri-implantitis“, koji se opisuje kao destruktivni proces koji zahvata tvrda i meka tkiva oko oseointegrisanog implantata u funkciji [4]. Kasnije, 1993. godine na prvoj Evropskoj radnoj grupi Parodontologa (engl. *1st European Workshop of Periodontology*), oboljenja peri-implantnog tkiva definisana su kao inflamatorni procesi koji zahvataju potporna tkiva oseointegrisanog implantata [5].

Peri-implantna oboljenja, u zavisnosti od zahvaćenosti tkiva inflamatornim procesom, podeljena su na dva entiteta: *peri-mukozitise* i *peri-implantitise*.

Peri-mukozitis je definisan kao reverzibilni inflamatorni proces koji zahvata samo meka tkiva oko oseointegrisanog implantata, što ga razlikuje od sledećeg razvojnog stadijuma zapaljenja-*peri-implantitisa*, ireverzibilnog inflamatornog procesa koji zahvata i potpurnu kost implantata u funkciji.

Modifikacija definicije peri-implantnih oboljenja usledila je nakon više od jedne decenije. Raniji pojam *ireverzibilno* impliciralo je nemogućnost terapijske procedure zbog čega, *Zizman i Berglundi* [6] daju novu modifikovanu definiciju peri-implantnih oboljenja. Prema ovim autorima, *peri-mukozitis* se opisuje kao infektivni proces, ograničen samo na meko peri-implantno tkivo, bez znakova gubitka potporne kosti, dok je *peri-implantitis* opisan kao infektivni proces koji pored mukoze zahvata i kost oko oseointegrisanog implantata [6, 7]. Kasnije su definiciju ovog oboljenja potvrdili Dr. Jörg Neugebauer i Dr. Freimut Vizethum na „Trećoj Evropskoj Konzensusnoj konferenciji (EuCC)“ u Kelnu, 2008. godine.

Treba napomenuti da termin „neuspešna implantološka terapija“ (*engl. failing implants*) nije isto kao i termin „peri-implantitis“. Prisustvo infekcije, ne znači uvek da je implantološka terapija neuspešna i da će za posledicu doći do eksplantacije implantata. Ukoliko je prisutna infekcija, kao i kod parodontopatije, započinje se odgovarajuća terapijska procedura sa ciljem spašavanja implantata i njegovog opstanka u usnoj duplji.

1.1.1. Prevalence

„Kolika je stopa zastupljenosti peri-implantitisa?“ predstavlja često pitanje na koje nije dat precizan i tačan odgovor. Rađene su brojne epidemiološke studije sa ciljem da se utvrdi

prevalenca i zastupljenost peri-implantitisa. Razlike u procentu zastupljenosti peri-implantitisa, koje su bile između 10 i 50% na desetogodišnjem nivou, dobijene su kao posledica nepreciznih definicija samog oboljenja, različitog dizajna studije i malog broja uzorka. U studiji Roos-Jansaker navodi se da u periodu između 9 do 14 godina dolazi do pojave peri-implantitisa na 6,6 implantata kod 16% pacijenata. Mombeli i sar. zabeležili su u periodu između 5 do 10 godina, pojavu peri-implantitisa na 10% implantata kod 20% pacijenata [8]. Smatra se da su Zitzmann i Berglundh dali najprecizniju prevalencu pojave peri-implantitisa. Navodi se da je kod 28% do 56% pacijenata bio dijagnostikovao peri-implantitis, a procenat implantata sa znacima i simptomima peri-implantitisa kretao se između 12% i 43% [7]. Pretpostavlja se da će u periodu između 5 i 10 godina, na svakom desetom implantatu i kod svakog petog pacijenta postojati mogućnost pojave znaka peri-implantitisa.

1.2. Klasifikacija peri-implantitisa

Klasifikacije peri-implantitisa predložene su na osnovu etiologije, dubine peri-implantnog džepa i resorpcije koštanog tkiva oko oseintegriranog implantata. Tokom dugogodišnjih istraživanja pokazana je pozitivna korelacija i sličnosti između peri-implantitisa i hronične parodontopatije, na osnovu koje su peri-implantitisi prema stepenu progresije oboljenja bili podeljeni na tri stadijuma: rani (*engl. early*), umereni (*engl. moderate*) i napredni (*engl. advance*) stadijum. Iako danas ne postoji potvrđena i precizna klasifikacija peri-implantitisa, u par naučno-istraživačkih radova predložena je klasifikacija peri-implantitisa na osnovu kliničkih parametara i na osnovu tipa koštanih defekata [9-13].

Stuart Froum klasifikovao je peri-implantitise na osnovu kliničke slike. Prema njegovoj klasifikaciji peri-implantitisi su podeljeni prema dubini peri-implantnih džepova, resorpciji koštanog tkiva i prisustva znakova inflamacije tj.. provokacije na krvarenja sa/ili bez prisutne supuracije (Tabela 1) [9].

Tabela 1. Klasifikacija peri-implantitisa prema kliničkim i radiološkim znacima [9].

<p>Rani stadijum peri-implantita (<i>engl. early</i>)</p>	<p>PD ≥ 4mm, Prisutno krvarenje na provokaciju (KNP) na dve ili više strana oko implantata/ sa ili bez prisutne supuracije Gubitak koštanog tkiva < 25% implantne dužine</p>
<p>Umereni stadijum peri-implantita (<i>engl. moderate</i>)</p>	<p>PD ≥ 6mm, Prisutno krvarenje na provokaciju (KNP) na dve ili više strana oko implantata/ sa ili bez prisutne supuracije Gubitak koštanog tkiva od 25% do 50% implantne dužine</p>
<p>Uznapredovali stadijum peri-implantitisa (<i>engl. advanced</i>)</p>	<p>PD ≥ 8mm, Prisutno krvarenje na provokaciju (KNP) na dve ili više strana oko implantata/sa ili bez prisutne supuracije Gubitak koštanog tkiva > 50% implantne dužine</p>

Schwarz i saradnici dali su predlog klasifikacije peri-implantitisa prema tipu koštanog defekta. Klasifikacija je predložena nakon dugogodišnjeg perioda praćenja i poređenja konfiguracije i veličine koštanih defekata, mereći vertikalni i horizontalni gubitak koštanog tkiva na eksperimentalnim modelima i studijama rađenim na ljudima [11, 14, 15]. U zavisnosti od tipa resorpcije kosti, koštani defekti su podeljeni na dve velike grupe- Klasa I sa potklasama i Klasa II.

➤ Klasa I- Infrakoštani (kosi) tip resorpcije marginalne kosti:

- Klasa Ia- definiše kao horizontalni i vertikalni gubitak koštanog tkiva sa dehiscencijom ograničene samo na vestibularnoj koštanoj lameli
- Klasa Ib- definiše kao horizontalni i vertikalni gubitak koštanog tkiva gde je pored vestibularne lamele došlo i do resorpcije mezijalne i distalne strane kosti oko oseointegriranog implantata.
- Klasa Ic- cirkumferentna resorpcija alveolarne kosti oko oseointegriranog implantata sa dehiscencijom samo vestibularne lamele
- Klasa Id- cirkumferentna resorpcija alveolarne kosti oko oseointegriranog implantata sa dehiscencijom vestibularne lamele i oralne koštane lamele.

- Klasa Ie- cirkumferenta resorpcije alveolarne kosti, oko celog implantata bez prisutne dehiscencije vestibularne ili oralne lamele

➤ Klasa II- Supra-alveolarni (horizontalni) tip resorpcije marginalne kosti.

Tokom dugogodišnjeg perioda praćenja i analiza, pokazano je da nema uniformnih klasa i da su tipovi koštanih defekata najčešće kombinacija klase i potklase. Najčešće je bila zastupljena Klasa Ib infrakoštanih defekata [11]. Zhang i saradnici [10] dali su predlog klasifikacije koštanog defekta oko oseointegriranog implantata u funkciji, praćeni samo na mandibuli i analizirani na osnovu rendgen snimka. Prema ovim autorima, najčešći koštani defekti bili su tanjirastog (42,8-44,6%) ili klinastog oblika (26-27,4%).

Najnovija klasifikacija peri-implantitisa data je na osnovu etiologije nastanka ovog oboljenja. Prema etiologiji nastanka, peri-implantitisi mogu biti podeljeni na: peri-implantitise nastale kao posledica mikroorganizama dentalnog plaka, peri-implantitise nastale kao posledica egzogenih i jatrogenih faktora, peri-implantitise nastale kao posledica nedostatka keratizovane gingive i peri-implantitisi nastali kao posledica patoloških promena na kosti ili prisustva sistemskih oboljenja [13].

1.3. Mehanizam oseointegracije i građa peri-implantnog tkiva

1.3.1. Mehanizam oseointegracije

Definiciju oseointegracije dentalnih implantata dao je, 1977. godine, Brenemark sa saradnicima. Kasnije Albrektsson i sar., daju nov koncept oseointegracije, koji je zasnovan po principu sidrenja dentalnih implantata. *Oseointegracija* se definiše kao „funktionalna ankiloza“, koja predstavlja čvrstu, stabilnu i dugotrajnu vezu između implantata i peri-implante kosti, stvarajući dinamični sistem konstantnih metaboličkih i morfoloških promena na nivou koštanog grebena. Karakteriše se odsustvom periodoncijuma kao amortizera okluzalnih sila [16].

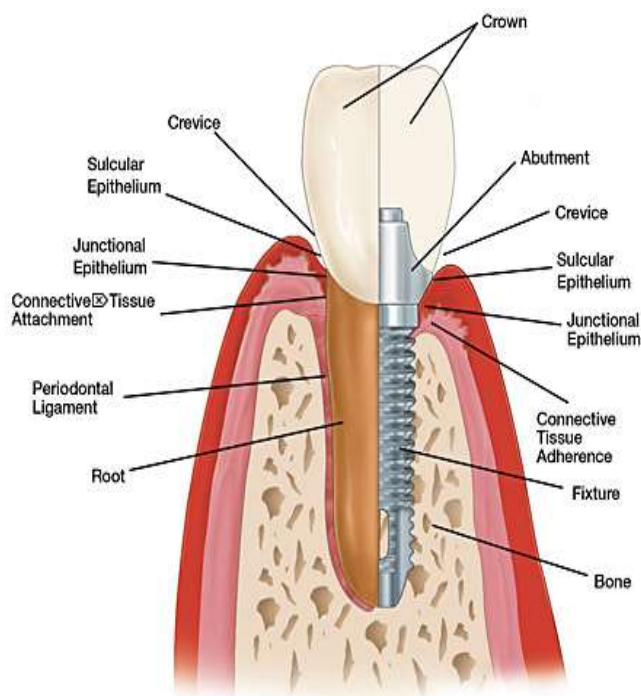
Proces oseointegracije prolazi kroz dve faze. Prvu fazu čini primarna oseointegracija implantata- *modeliranje i remodeliranje*, dok duga faza podrazumeva fazu adaptiranja tkiva na okluzalno opterećenje, tokom uspostavljanja funkcije implantata u usnoj duplji. Tokom

prve faze oseointegracije dolazi do niza reakcija u koštanom tkivu sa ciljem uspostavljanja primarne stabilnosti. U ovoj fazi tokom ugradnje implantata dolazi do povrede mukoze i koštanog tkiva, usled čega proces oseointegracije prolazi kroz *fazu zarastanja* povređenog tkiva. Faza zarastanja karakteriše se nizom složenih zapaljenskih reakcija sa naizmeničnim regeneracijama i reparacijama tkiva na nivou kortikalne i spongiozne kosti. Ukratko, nakon implantacije, stvara se prostor između implantata i koštanog tkiva, koji je ispunjen koagulumom. Koagulum se tokom prve nedelje organizuje i nakon četvrtog dana biva delimično zamenjen. Nakon ovoga sledi proces angiogeneze i formiranja granulacionog tkiva, bogatog makrofazima i neutrofilima. Krajem prve nedelje formira se mlado vezivno tkivo, aktivacijom faktora rasta koje otpuštaju makrofazi i nediferencirane mezenhimalne ćelije. Mlado vezivno tkivo koje je bogato novostvorenim krvnim sudovima, fibroblastima, nediferenciranim mezenhimalnim ćelijama postepeno sazreva u osteoid. Iz osteoida se stvara vlaknasta kost (primarni osteoid), koja je bogata brojnim kolagenim vlaknima i krvnim sudovima. U ovoj fazi dolazi do resorpcije nekrotiče kosti, a u kosnoj srži pojavljuju se osteoklasti. Opisana faza čini fazu modelovanja. Faza remodelovanja dešava se posle 4 nedelje. Vlaknasta kost se resorbuje dejstvom osteoklasta i zamenjuje se spongioznom kosti koja preuzima ulogu u stabilizaciji implantata [17].

Jedan od uslova uspešne implantološke terapije i uspostavljanja primarne stabilnosti implantata je postojanje dovoljne količine kortikalne i/ili spongiozne kosti. Albertsson i sar. navode da pored građe koštanog tkiva, brojni faktori kao što su: dizajn, površina implantata, mesto ugradnje implantata, hirurška tehnika ugradnje; omogućavaju uspešno zarastanje i prihvatanje implantata u usnoj duplji [18]. Velika pažnja poklanja se dijametar i mikrodizajnu površine implantata. Dijametar implantata utiče srazmerno na lokalnu kompresiju kosti, posledično kompromitujući ishranu kosti. Danas na tržištu, zastupljene su različite površine implantata nastale aditivnim procesima (oblaganje hidroksiapatitom, TiO₂ i fluorizacija) ili subaktivnim procesima (mašinska obrada, nagrizanje kiselinom, peskiranje), koje deluju na povećanje osteokonduktivnosti, indukujući različite odgovore koštanog mehanizma i sudelujući na proces oseointegracije.

1.3.2. Građa peri-impantnog tkiva

Građa peri-implantnih tkiva znatno se razlikuje od građe parodontalnog tkiva, jer peri-implantno tkivo nema kao koren zuba cement i periodoncijum. Peri-implantno tkivo se sastoji od: peri-implantne mukoze, zone supra-alveolarnog vezivnog tkiva i potporne kosti.



Peri-implantna mukoza odgovara gingivi kod stalnih zuba. Predstavlja meka tkiva koja okružuju inserirani implantat. Formira se ili nakon reponiranja mukoperiostalnog režnja tokom procesa zarastanja kod jednofazne metode ugradnje implantata ili nakon postavljanja abutmeta kod dvofazne metode ugradnje implantata. Tokom ove faze zarastanja i remodelovanja, dolazi do formiranja transmukoznog pripoja (mekotkivni pripoj), koji

predstavlja „lepak“ između mekog tkiva i supra-krestalne površine oralnog implantata i abutmeta. Na ovaj način se obezbeđuje barijera i zaštita dubljih peri-implantnih tkiva. Peri-implantna mukoza je kao i gingiva, svetloružičaste boje i čvrste konzistencije.

Histološki, peri-implantna mukoza podeljena je na spoljašnji i membranski epitel. Spoljašnji epitel čini dobro keratizovani oralni epitel, koji se spaja sa membranskim epitelom na marginalnom delu mukoze. Membranski epitel okrenut je prema implantatu koji je hemidezmozomima povezan sa površinom implantata. Oba epitela formiraju se nekoliko nedelja nakon hirurške intervencije (1-2 nedelje). Prosečna debljina epitela je 2 mm [19]. Ispod epitela nalazi se zona supra-alveolarnog vezivnog tkiva visine 1-1,5 mm. Karakteriše se većim brojem kolagenih vlakana koja nastaju iz periosta. Za razliku od parodontalnih vlakana, ova peri-implantna vlakna paralelno su orjentisana u odnosu na površinu implantata.

Peri-implantna mukoza i zona supra-alveolarnog vezivnog tkiva čine biološku štitinu kod implantata, prosečne veličine 3-3,5 mm.

Potporna kost oko inseriranog implantat predstavlja bezubi alveolarni greben vilice, koga čine kortikalna kost koja obuhvata lamelarnu i spongioznu kost. Kosna srž sastoji se iz krvnih sudova bogatih adipocitima i mezenhimalnim ćelijama.

Za razliku od parodontalnog tkiva, peri-implantno tkivo je slabo vaskularizovano. Vaskularizacija peri-implantnog tkiva potiče samo od supra-periostalnih krvnih sudova koji se nalaze izvan alveolarnog grebena. Ovi krvni sudovi se granaju i daju vaskularizaciju za supra-alvolarno vezivno tkivo, koje stvara kapilarne krvne sudove ispod oralnog epitela i vaskularni pleksus, koji se nalazi odmah lateralno od epitelne membrane. Područje između površine implantata i koštanog tkiva, usled prisutne ankilotične veze karakteriše se odsustvom vaskularizacije tj.. vaskularnog pleksusa.

Odsustvo cementa, periodontalnih ligamenata i vaskularizacije oko implantata omogućava drugačije biološke karakteristike peri-implantnih tkiva. Sama barijerna sposobnost mekih tkiva je smanjena. Redukovani broj vlakana i odsustvo kosih vlakana, smanjuje peri-implantnim tkivima moć amortizacije okluzalnih sila. Na ovaj način implantat je podložniji traumi koja može da bude i jedan od glavnih faktora za širenje infekcije u dublja peri-implantna tkiva.

1.4. Faktori rizika

Pored glavnih etioloških faktora, brojni su akcesorni faktori koji mogu da omoguće nastanak i progresiju peri-implantnog oboljenja. Faktori se mogu podeliti na *opšte i lokalne* faktore rizika.

Opšte faktore rizika čine: loše navike (bruksizam, pušenje), genetska predispozicija, razna sistemska oboljenja (diabetes melitus, bisfosfonatna terapija, osteoporoza, imunosupresija, zračna terapija).

Pušenje predstavlja jedan od najčešćih predisponirajućih faktora rizika u nastanku parodontopatije i peri-implantitsa. Pušenje može da deluje na opstanak implantata u usnoj duplji. Ono redukuje adekvatno održavanje oralne higijene i otežava proces oseointegracije

oko samog implanta [1]. Smatra se da pušenje predstavlja jedan od glavnih faktora progresije i nastanka peri-implantitisa kod pacijenata sa dijagnostikovanom hroničnom parodontopatijom [20], kao i da može da dovede i do gubitka marginalne kosti i gubitka samog implantata [21-23]. Pokazano je da pušenje dovodi do gubitka koštanog tkiva na godišnjem nivou čak za 0.16 mm/godini.

Lokalni faktori rizika, koji mogu usloviti nastanak peri-implantnih oboljenja, su: parodontalna oboljenja, biološki kvalitet gingive, struktura implantata, loša oralna higijena, biološki kvalitet alveolarne kosti (kvalitet kosti, volumen kosti), jatrogeni faktori i hirurška procedura (pregrevavanje kosti, mehanička trauma, menadžment mekih tkiva, malpozicija implanta).

Parodontalna oboljenja predstavljaju jedan od značajnijih lokalnih predisponirajućih faktora u nastanku i progresiji peri-implantitisa, kao i gubitku samog implantata [21, 23]. Zabeleženo je da parodontopatija povećava rizik za nastanak peri-implantnog oboljenja i gubitka implantata [20]. Procenat gubitka implantata bio je veći kod pacijenata sa agresivnom formom parodontopatije u odnosu na pacijente sa hroničnom formom parodontopatije.

Biološki kvalitet gingive (širina keratizovane gingive, fenotip gingive), predstavlja kontraverzno pitanje za nastanak peri-implantitisa. Ipak, u brojnim radovima navodi se da je za uspeh implantološke terapije i sprečavanje pojave peri-implantitisa potrebna širina keratizovane gingive veća od 2 mm [24].

Jatrogeni faktori najčešće su povezani sa protetskom restauracijom i prisutnim stranim telom u peri-implantnom džepu. U brojnim istraživanjima pokazano je da su peri-implantitis bili češći kod cementiranog fiksnog rada (most ili solo krune) nego protetskog rada na šraf. Jedan od razloga leži u višku cementa potisnutog u peri-implante prostore [25]. Pored ovoga, neadekvatna dimenzija suprastrukture može da stvori prostor nepristupačan za čišćenje i održavanje oralne higijene. Ovaj prazan prostor (*engl. gap*) predstavlja mesto za retenciju samog cementa i dentalnog plaka i dovodi do kasnijih komplikacija peri-implantnog tkiva.

Makro i mikrodizajn implantne površine, takođe, može predstavljati jedan od akcesornih faktora u nastanku i progresiji peri-implantitisa [21]. Iako su mišljenja različita, makrodizajn implantata može da dovede do većeg stresa na koštano tkivo koje može da uslovi veći gubitak kosti u kontaktu vratnog dela implantata i koštanog tkiva. Pokazano je da ukoliko koštano tkivo dođe u kontakt sa neelementom ligurom dolazi do pojave peri-implantitisa [26].

1.5. Etiopatogeneza peri-implantitisa

1.5.1. Etiologija

Osnovni etiološki faktor u razvoju peri-implantnog oboljenja su mikroorganizmi dentalnog plaka, koji udruženi sa ekstenzivnim imunim odgovorom domaćina dovode do gubitaka peri-implantnih tkiva. Nakon eksponiranja implantata u oralnoj sredini, mikroorganizmi mogu za samo 30 minuta kod parcijalno bezubih pacijenata da kolonizuju površinu eksponiranog implantata.

Za razliku od zdravog peri-implantnog tkiva, kod koga su dominantne gram pozitivne (G⁺) bakterije, kod obolelog peri-implantnog tkiva dominiraju najčešće gram negativni (G⁻) anaerobi i spirohete. Sličan mikrobiološki sastav kao kod osoba sa dijagnostikovanom hroničnom parodontopatijom, izolovan je iz sulkusa oko inflamiranog implantata [27]. Mikroorganizmi povezani sa nastankom znakova peri-implantitisa uključuju bakterije crvenog kompleksa (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* i *Tannerella forsythia*) i narandžastog kompleksa (*Fusobacterium spp.* i *Prevotella intermedia*), podeljenih i opisanih po Sokranskom [28]. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* takođe je izolovana kod peri-implantitisa. Prisustvo ove bakterije kao i *P. gingivalis*, povezuje sa postojanjem peri-implantnog odnosno parodontalnog džepa, jer ove bakterije nisu bile izolovane kod bezubih pacijenata. *Candida albicans* i *Staphylococcus aureus*, takođe su izolovane iz peri-implantnog džepa i povezuju se sa nastankom peri-implantitisa [1, 4, 29]. Na kolonizaciju mikroorganizma veliku uticaj imaju osobine implantata. *S. aureus* pokazala je veliki afinitet adherencije za titanijsku površinu *in vitro* studijama, što je povezano sa detekcijom ove bakterije samo na implantnim površinama i dubljim peri-implantnim džepovima. Prisustvo ove bakterije povezuje se sa težim oblicima ili terapijskim-rezistentnim tipovima peri-implantitisa.

Agresivni mikroorganizmi dentalnog plaka, preko svojih toksina, enzima i raspadnutih produkata, oštećuju peri-implantna tkiva izazivajući inflamatorne i destruktivne odgovore. Mikroorganizmi mogu da izazovu destrukciju tkiva na dva načina:

1. Direktno, kroz invaziju tkiva i produkciju supstanci koje indukuju nekrozu i smrt tkiva
2. Indirektno, aktivirajući inflamatorne ćelije koje mogu da produkuju i oslobađaju medijatore koji deluju kao efektori sa potentnom kataboličkom i inflamatornom aktivnošću.

1.5.2. Mehanizam odbrane tkiva na infekciju i patogeneza nastanka peri-implantitisa

U usnoj duplji prisutna su dva mehanizma odbrane domaćina od štetnih uticaja iz spoljašnje sredine kao i prodora parodontopatogenih mikroorganizama.

Prvu biološku barijeru odbrane od prodora patogenog agensa iz spoljašnje sredine čini epitel oko oseointegriranog implantata. Iako je pokazano da je tkivni odgovor na infekciju oko implantata sličan imunom odgovoru kod parodontopatije i gingivitisa, razlike ipak postoje. Konekcija vezivno-tkivnog kompleksa oko implantata, odnosno epitel i longitudinalno orijentisana supra-alveolarna kolagena vlakna bitno se razlikuje od parodontalnog kompleksa oko zuba (zubno-gingivalne veze). Ovako slaba veza oko implantata lako biva uništena zbog čega dolazi do direktnog i brzog širenja bakterijske infekcije na koštano tkivo [26, 27], što ga čini drugačijim od parodontopatije kod koje infekcija može biti zaustavljena u nivou vezivno-tkivnog kompleksa zuba.

Nakon ugradnje implantata, glikoproteini iz pljuvačke adheriraju na izloženu titanijumsku površinu implantata zajedno sa pratećim kolonijama mikroorganizama. Formiranje biofilma igra bitnu ulogu u inicijaciji i progresiji peri-implantne bolesti i značajan je za nastanak infekcije oko implantata. Probijanjem epitelne barijere dolazi do niza zapaljenskih reakcija u tkivu koji se manifestuju prisustvom hiperplazije mukoze i inflamacije peri-implantnog tkiva oko vrata implantata. Kada patogeni mikroorganizmi probiju prvu liniju odbrane, epitelnu barijeru, mogu biti eliminisani na dva načina: opsonizacijom ili fagocitozom i/ili aktiviranjem adaptivnog imunog sistema.

Patogeni agens može biti eliminisan opsonizacijom ili destrukcijom pomoću aktiviranja komplemenata-komplementarnog sistema ili fagocitozom bakterije, pomoću makrofaga koji na sebi nose receptore za određene komponente bakterije. Nakon akumulacije dentalnog plaka neutrofilni leukociti se regrutuju u peri-implantni prostor, privučeni hemostatskim peptidima oslobođenih od strane mikroorganizama. Destruisane epitelne ćelije

imaju sposobnost produkcije interleukina koje imaju sposobnost privlačenja neutrofila. Neutrofili kao i makrofazi imaju sposobnost fagocitoze i digestije bakterija. Makrofazi takođe, dodatno stimulišu ćelije monocitne-makrofazne linije da luče interleukine tj. monokine.

Dodatna akumulacija dentalnog plaka i povećanje koncentracije patogenih mikroorganizama i njihovih štetnih produkata dovodi do povećanja neutrofila koji nisu više u mogućnosti da sami kontrolišu infekciju. Ovo dovodi do degranulacije neutrofila i oslobađanja njihovih toksina koji prouzrokuju tkivnu destrukciju. Oko implantata dolazi do taloženja inflamatornih ćelija, a epitelno tkivo biva ulcerisano. Usled ovoga prisutni dentalni plaka se pomera apikalno, dovodeći do dalje progresije oboljenja praćeno pojavom destrukcije kosti oko oseintegrisanog implantata. Kada postoji prevelika koncentracija mikroorganizma ili je nemoguće da se organizam urođenim mehanizmom odbrane odbrani od patogenog agensa, dolazi do aktiviranja adaptivnog imunog sistema i aktiviranja humoralnog (B ćelijski) ili ćelijskog (T ćelijski) imunog odgovora domaćina.

Agresivni parodontopatogeni mogu da zaobiđu proces fagocitoze, zahvaljujući njihovim morfološkim i genetskim rezistencijama. Na ovaj način, oni se pomoću specifičnih mehanizama "sakrivaju" u tkivu domaćina, dovodeći do kontinuirane infekcije. Takođe, dolazi do održavanja visokih koncentracija pro-inflamatornih citokina, što za posledicu ima ekscesivan imunološki odgovor. Pošto se infekcija ne može eliminisati spontano, imunološki odgovor se kontinuirano nadograđuje i dovodi do oštećena tkiva.

Kako su dokazane sličnosti peri-implantitisa i parodontopatije može se pretpostaviti da progresija peri-implantne bolesti nastaje, kao i kod parodontopatije, kao posledica prisustva i akumulacije patogenih bakterija i produkcije velike količine pro-inflamatornih medijatora (citokina), ekstracelularnog matriksa metaloproteinaze (MMP) i prostaglandina (PEG). Produkcija anti-inflamatornih citokina (IL-10, transformišući factor β , TGF- β , MMP-inhibitora) je smanjena kod ovih oboljena.

Citokini su polipeptidi ili glikopeptidi koji predstavljaju nespecifične medijatore zapaljenske reakcije. Čini ih grupa solubilnih, niskomolekularnih proteina koji, pored hormona i neurotransmitera, spadaju u vrlo važne glasnike ćelijske komunikacije. Međućelijski signal, koji je nastao kao odgovor na različite egzogene stimulacije, prenosi se pomoću specifičnih receptora na citokinima. Tokom ovog puta dolazi do aktivacije gena sa

posledičnom fenotipskom ili funkcionalnom promenom, integrišući odgovor ćelije u fiziološkom ili patološkom smeru. Citokini održavaju stalnu komunikaciju između imunog sistema, endokrinog i nervnog sistema. Luče ih limfociti, ćelije monocitno-makrofaznog sistema (monokini), trombociti i druge necirkulišuće ćelije. Citokinima pripada i grupa interleukina, tumorskih faktora rasta i interferona. Interleukini predstavljaju grupu medijatora odgovornih za međusobno komuniciranje leukocita. Kako citokini učestvuju u nespecifičnoj i specifičnoj imunosti tako imaju sposobnost da aktiviraju native T i/ili B ćelije, pokrećući na ovaj način adaptivni imuni odgovor.

U patogenezi peri-implantnih oboljenja važnu ulogu imaju sve subpopulacije Th limfocita: Th1, Th2 i Th17 ćelije koje se karakterišu aktivacijom transkriptornih faktora i sekrecijom različitih pro- i anti-inflamatornih citokina. Brandtzaeg i Kraus su 1965. godine, demonstrirali prisustvo imunoglobulina- produkata plazma ćelija, u gingivalnom tkivu osoba obolelih od parodontopatije, a 1970. godine Ivanyi i Lehner pokazali su centralnu ulogu T-ćelija i ćelija posredovane-imunosti u etiopatogenezi parodontopatije [30, 31]. Pored učestvovanja u homeostazi, T-ćelije moduliraju inflamatorno/imuni odgovor i posreduju u gubitku koštanog tkiva.

U tkivu domaćina, antigen bakterijske ćelije vezuje se za antigen-prezentujuću ćeliju kao što je dendritična ćelija, makrofag i B-ćelija. Ovakva antigen-prezentujuća ćelija intereaguje sa CD4⁺ T-pomoćnom ćelijom (Th0) dovodeći do diferencijacije native T-ćelije u subpopulacije: Th1, Th2, Th17 i regulatornu T-ćelija (Tregs), koje proizvode različite citokine.

Aktivacijom Th1 subpopulacije ćelija nastaje ćelijski-posredovan imuni odgovor i uz prisustvo endogenog IL-12 dolazi do produkcije citokina kao što su IL-2, TNF-β i IFN-γ. Oni deluju na intracelularne bakterije, viruse i tumorske ćelije, aktivirajući makrofage i citotoksičnu T-ćeliju. Th2 subpopulacija ćelija posreduje u humoralnom imunom odgovoru i praćena je produkcijom IL-4, IL-5, IL-6 i IL-10, IL-13 i TGF-β. Ova ćelijska subpopulacija održava rezistentnost organizma na ekstracelularne patogene.

S druge strane, Th17 i Treg ćelije imaju značajnu ili kritičnu ulogu u autoimunosti i održavanju imune homeostaze. Th17 je nov podtip CD4⁺ T limfocita, otkriven 2005. godine, koji predstavlja nezavisnu subpopulaciju T-ćelije. Aktivacijom Th17 proizvode se IL-17, IL-22, IL-26. Dugo se smatralo da IL-17 kao glavni produkt Th17 ćelije učestvuje u odbrani

tkiva od ekstracelularnih bakterija i gljivičnih infekcija. Kasnija istraživanja pokazala su njegov značajan posredovani uticaj u patogenezi autoimunih bolesti: inflamatorna bolest creva, psorijaza, multiple skleroze, astme, reumatoidni artritis, sistemski lupus eritematosus [32] kao i kod inflamatornih oboljenja među kojima, spadaju parodontopatije, a u novije vreme i peri-implantana oboljenja. Regulacija i diferencijacija Th17 nastaje kombinovanjem transformišućeg faktora rasta beta (TGF- β) i IL-6. Takođe, IL-1 β i tumor nekrosis faktor (TNF- α) potpomažu dalju diferencijaciju Th17 ćelije [33]. Citokini nastali produkcijom Th17 ćelije dovode do aktivacije i regrutacije neutrofila i makrofaga koji učestvuju i pojačavaju (amplifikuju) lokalni imuni odgovor, uzrokujući oštećenje okolnog tkiva.

Interleukin 17, IL-17

Familija IL-17 predstavlja pro-inflamatorni citokin, glavni produkt Th17 ćelije. IL-17 predstavlja homodimer, sastavljen od kombinacije neglikozilisanih i glikozilisanih formi aminokiselina. Ova familija sastoji se od 6 članova (A-F). IL-17A kloniran je u T-ćelijskom hibridu dok ostali članovi IL-17 su grupisani od B-F i čine izoforme homologne IL-17A. Receptor za IL-17 pripada grupi transmembranskih proteina, rasprostranjenih i ekspresovanih na raznim tipovima ćelija, zbog čega se smatra da IL-17 ima mogućnost da deluje na funkcije širokog spektra ćelija domaćina.

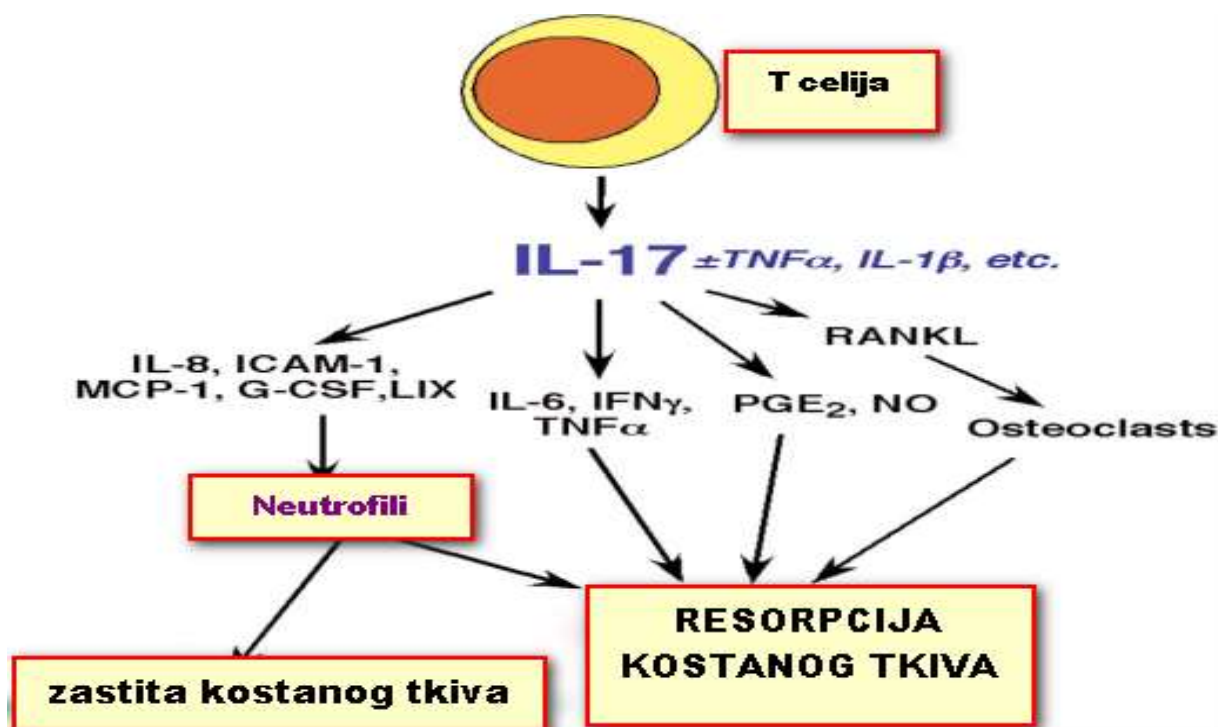
Aktivacija IL-17 praćena je kaskadnim reakcijama i međusobnim interakcijama interleukina. Produkcija i izlučivanje IL-17 u spoljnoj sredini nastaje u prisustvu IL-1 β , IL-6 i IL-23. Ukratko, IL-6 prvo aktivira IL-21, a oni zajedno aktiviraju IL-23. Studije su pokazale da IL-23 na kraju pomaže dodatnoj aktivaciji i diferencijaciji Th17 ćelije. Dokazano je da samo kombinovanjem svih faktora: TGF- β sa IL-1 β , IL-6, TNF- α i IL-23, a ne pojedinačnim dejstvom svakog citokina, dolazi do aktivacije CD4⁺T ćelije i produkcije IL-17.

Pokazana je plejotropna biološka aktivnost IL-17, na različite tipove ćelija: fibroblaste, endotelne i epitelne ćelije. IL-17 stimuliše gingivalne fibroblaste da indukuju i produkuju IL-6 (vremenski i dozno-zavisno *in vivo* uslovima). Takođe, IL-17 indukuje makrofage i deluje na regulaciju matriks metaloproteinaze (MMPs), dovodeći do oštećenja tkiva domaćina [34]. Delujući na gingivalne fibroblaste i makrofage, IL-17 dovodi do produkcije hemokina npr. IL-8, kao i ekspresije CCL20 humanih gingivalnih fibroblasta. IL-17 stimuliše produkciju prostaglandina E2 i indukuje stvaranje azot-oksida. Pored ovoga IL-

IL-17 stimuliše produkciju i $\text{TNF}\alpha$, IL-1 α , MCP-1, IL-8, IL-6 koji kontrolišu aktivnost neutrofila i dovode do nastanka autoimunih bolesti. Značajna uloga IL-17 ogleda se u raznim inflamatornim oboljnjima. Pretpostavlja se da IL-17 ima značajan doprinos u nastanku parodontopatije i peri-implantitisa. Detektovana je značajno povišena koncentracija IL-17 u peri-implantnoj cervikalnoj tečnosti kod osoba sa dijagnostikovanim peri-implantitisom [35, 36]. Kada se IL-17 veže za IL-17R, ekspresovan na ćeliji periodoncijuma, dolazi do inicijacije serija transdukcionih signala koji dovode do novih kaskadnih reakcija. Signalnom transdukcijom, kao i kod IL-1 β i $\text{TNF}\alpha$, aktiviraju se signalni molekuli kao što su NF-K κ B, MAPK, ERK1, ERK2, koji predstavljaju okidače daljih inflamatornih reakcija.

U radovima Lester i sar. navodi se da povećanjem gubitka nivoa pripojnog epitela (NPE), značajno se povećava koncentracija IL-17, IL-23, IL-6 i IL-1 β , a da nakon terapijske procedure njihove koncentracije znatno opadaju [37]. Pokazano je u eksperimentalnim studijama, da spoljašnji membranski protein *Porphyromonas gingivalis*-a može da indukuje diferencijaciju CD4⁺T ćelije u Th17 ćeliju i produkciju IL-17, kod osoba obolelih od hronične parodontopatije. Usled postojanja povezanosti parodontopatije i peri-implantitisa, smatra se da *P. gingivalis* može da doprinese povećanje koncentracije IL-17 u peri-implantom tkivu [31].

Koštana homeostaza kontrolisana je različitim solubilnim faktorima kao što su faktori rasta, hormoni i citokini. Takahashi i sar. pokazali su da T-ćelije mogu direktno da učestvuju u koštanom metabolizmu pomoću citokin-T-ćelijskog derivata, receptora aktivatora NF-k κ B liganta (RANKL) i RANK [38]. Regulacija inflamatornih reakcija i koštane resorpcije ostvaruje se stvaranjem veze sa drugim ćelijskim tipovima. U skorašnjoj literaturi, pokazano je da IL-17 učestvuje direktno ili indirektno u procesu remodelacije kosti tako što stimuliše osteoblaste da proizvode faktore koji deluju na aktivnost ili/i formaciju osteoklasta (osteoklastogeneza). Osteoklasti su definisani kao IL-17 reagujuće ćelije koje ekspresuju mRNA kod IL-17 receptora. Th17 ćelija ima sposobnost da proizvodi IL-6 i da povećava regulaciju i aktivnost IL-1 β i $\text{TNF}\alpha$. Oni zajedno povećavaju inflamatorni odgovor i proizvode MMP i ekspresuju RANKL, pri čemu dolazi do povećane koštane resorpcije. Ekspresija i prisutnost RANKL dokazana je na ćelijama parodontalnog ligamenta (PDL) i ćelijama gingivalnih fibroblasta [39].



Slika 1. Suprotstavljena uloga IL-17 u delovanju na koštano tkivo. IL-17 nastaje produkcijom CD4⁺ T ćelije i deluje na različite ćelije, stvarajući okidač za nastanak inflamacije. Većina ovih okidača ima uticaj na koštani metabolizam. Indirektnim dejstvom ovi faktori mogu da indukuju osteoklastogenezu, favorizujući destrukciju kosti. Suprotno ovome, hemotaktički faktori regrutuju i aktiviraju neutrofile, koji deluju u dva smera: štite koštano tkivo ili dovode do koštane resorpcije.

engl. G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor; ICAM, intercellular adhesion molecule; IFN, interferon; IL, interleukin; LIX, LPS-inducible CXC, chemokine; MCP, monocyte chemotactic protein; PGE2, prostaglandin E2; RANKL, receptor activator of nuclear factor- κ B ligand; TNF, tumor necrosis factor

Interleukin 21, IL-21

IL-21 je novootkriveni tip citokina, produkt aktivirane T-ćelije, koji deluje na široki spektar limfoidnih i mijeloidnih ćelija imunog sistema. Po svojoj građi predstavlja homolog sa strukturom proteina IL-2, IL-4 i IL-15. Sudeluje u regulaciji urođenog i stečenog imunskog sistema. Studije rađene na miševima pokazuju da Th17 ćelija produkuje IL-21 odmah nakon njene aktivacije. IL-21 ima autokrinu ulogu u ekspresiji i produkciji ROR γ t i IL-17. Smatra se da IL-21 može delimično da zameni IL-6 tokom diferencijacije Th17 ćelije i na ovaj način omogućava dejstvo Th17 ćelije u okolnim ćelijama i tkivima. Delujući po

principu povratne sprege, u prisustvu IL-6 i IL-21 aktivirana Th17 proizvodi još veću koncentraciju IL-21. Smatra se da je endogena produkcija IL-21 od strane Th17 ćelije biološki značajna jer broj stimuliranih ćelija koje proizvode IL-17 značajno je smanjen u odsustvu IL21/IL21R signala. One predstavljaju poseban faktor koji sudjeluje u nastanku inflamatornih i autoimunih oboljenja. Prekomerna koncentracije IL-21, pronađene su u gingivalnoj tečnosti i isječku parodontalnog tkiva kod obolelih od hronične parodontopatije [40-42].

Interleukin 1 β , IL-1 β

IL-1 predstavlja multifunkcionalni citokin koji je podeljen na dva molekula, sličnih po svojoj biološkoj funkciji, IL-1 α i IL-1 β . Oba interleukina imaju sposobnost da se vežu za iste receptore raznih ćelija domaćina. IL-1 familiji pripada i IL-1 receptor antagonista (IL-1ra). IL-1 sintetišu razne ćelije kao što su: makrofazi, monociti, limfociti, moždane ćelije, vaskularne ćelije, fibroblasti. Poznato je da IL-1 β ima značajnu imunološku i inflamatornu ulogu kao i širok spektar dejstva u regulaciji tkiva i homeostazi. Kako ovaj citokin sudjeluje sa raznim inflamatornim medijatorima, IL-1 β ima značajnu ulogu u regulaciji i pojačavanju inflamatornog odgovora kod parodontopatija i peri-implantitisa.

IL-1 β predstavlja najvažniji citokin koji stimuliše koštanu resorpciju istovremeno inhibišući osteogenezu. Pored koštane resorpcije IL-1 β stimuliše katabolizam vezivnog tkiva, migraciju i regrutaciju leukocita iz okolnog u inflamirano tkivo i aktivira monocite i makrofage i druge ćelije domaćina da proizvode PGE2 i MMP, učestvujući na ovaj način u osteoklastogenezi. IL-1 β reguliše degradaciju komponenata plazminogenog sistema ekstracelularnog matriksa i kolagenaze tokom infamacije i zarastanja tkiva.

Visoka koncentracija IL-1 β kao i TNF- α pronađena je kod peri-implantitisa i hronične parodontopatije. Takođe, pokazano je da inhibicijom IL-1 β sprečava se dalja progresija infamacije i dolazi redukcije daljeg oštećenja tkiva [43-45].

Interleukin 23, IL-23

IL-23 proizvode makrofazi, dendritične i epitelne ćelije. Sam interleukin ima značajnu ulogu u diferencijaciji i ekspanziji Th17. Predstavlja homodimer koji se sastoji od

jednog 19Kd (p19) lanca uparenog sa p40 proteinom IL-12. Sama nativna T-ćelija nema mogućnost ekspresije receptora IL-23, već ekspresija IL-23 zavisi od faktora koji iniciraju diferencijaciju Th17 ćelije kao što su IL-6 i IL-21. Smatra se da IL-23, nije inicijalni faktor u diferencijaciji Th17 ćelije ali ima ulogu u održavanju i ekspanziji Th17 ćelije. Alternativni tip imunskog odgovora na patogene bakterije opisan je kao IL-23/IL-17 put. Ova staza se aktivira pod dejstvom bakterija koje indukuju sintezu IL-23 ključnu za inicijaciju i održavanje inflamatornog odgovora. Prisustvo ovog mehanizma delovanja IL-23/IL-17 omogućava progresiju parodontalne bolesti [46-48].

IL-23 omogućava *in vivo* koštanu inflamaciju i učestvuje u patogenezi nekoliko autoimunih bolesti, kao što su autoimuni encefalitis, kolageno-indukovan artritis i inflamatorna bolest creva. Pokazana je povećana koncentracija IL-23 u lamini proprijii kod parodontalnih i peri-implantnih lezija.

Interleukin 6, IL-6

IL-6 je pro-inflamatorni plejotropni citokin koga sintetišu monociti, limfociti, endotelne ćelije i fibroblasti. Ovaj interleukin učestvuje u sazrevanju megakariocita, stimuliše stvaranje hepatocita i imunoglobulina, proliferišući i diferentujućii B limfocite. Stimuliše put hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlezda, učestvujućii na ovaj način u kontroli zapaljenske reakcije. Zajedno sa THF- α , IL-1 β , lipopolisaharidom ćelijskog zida bakterijske ćelije, IL-6 ima potencijal da aktivira osteoklaste povećanjem njihove produkcije u makrofazima, fibroblastima i endotelnim ćelijama kod osoba kod kojih je dijagnostikova peri-implantitis. Pokazano je da stimuliše diferencijaciju T limfocita, posebno Th17 limfocita, potspešujućii na taj način produkciju IL-17.

Interleukin 22, IL-22

Th17 ćelijska subpopulacija daje ekspresiju i produkciju IL-22, u prisustvu IL-23. U novije vreme, dokazana je i nova Th ćelijska subpopulacija Th22 koja ima samo sposobnost ekspresije IL-22. IL-6 i TNF- α mogu da promovišu i održavaju postojanost Th22 ćelije kao i dalju produkciju IL-22. Usled mogućnosti produkcije IL-22 od strane Th17 ćelije, smatra se da ovaj interleukin učestvuje i u nastanku gingivitisa, parodontopatije i peri-implantitisa. Pokazano je *in vitro* uslovima da IL-22 posreduje u proliferaciji keratinocita i hiperplaziji

epitela. U zavisnosti od vrste tkiva gde se izlučuje, IL-22 može da potspeši inflamaciju ili da smanji i limitira oštećenje tkiva na koje deluje IL-17. Pored ovoga, IL-22 ima i ulogu u reparaciji tkiva koja je nastala nakon bakterijske infekcije [49].

1.6. Klinička slika i metode dijagnostikovanja peri-implantnih oboljenja

Oboljenja peri-implantnog tkiva nepovoljno utiču na stabilnost implantata i opstanak protetskih radova koje ti implantati nose. Peri-implantitis počinje u koronarnom delu implantata, dok je apikali deo implantata čvrsto integrisan za koštano tkivo. Napredovanjem inflamatornog procesa, dolazi do poslednjeg stadijuma ovog oboljenja i progresivnog gubitka koštanog tkiva koji zahvata kompletnu implantnu površinu, što za posledicu ima mobilnost i gubitka implantata.

Rana dijagnoza peri-implantnih oboljenja ima najbolju prognozu. Dijagnoza se postavlja nakon kliničkog pregleda i analize rendgen snimka. Peri-implantitis se klinički manifestuje znacima inflamacije praćenih edemom i eritemom mukoze oko vrata implantata. Akutna faza ovog oboljenja praćenja je pojavom simptoma bola i nelagodnosti. Klinički znaci koji ukazuju na moguće prisustvo peri-implantitsa su [50]:

1. Krvarenje na provokaciju sa ili bez prisustva gnojnog supurata
2. Dubina peri-implantnog prostora veća od 4 mm
3. Gubitak nivoa pripojnog epitela
4. Marginalna recesija gingive
5. Mobilnost implantata

“Pozitivno” krvarenje na provokaciju (KNP, *engl. BOP*) predstavlja najznačajniji dijagnostički znak peri-implantitisa. Definiše se kao prisustvo krvarenja u peri-implantnom sulkusu ili džepu nakon sondiranja parodontalnom sondom. Gubitak koštanog tkiva uzrokuje povećanje dubine peri-implantnog prostora i gubitak nivoa pripojnog epitela (NPE, *engl. CAL*). Istraživanja su pokazala da je gubitak koštanog tkiva srazmeran gubitku NPE i povećanju peri-implantnog prostora [51].

Klinički pregled podrazumeva i proveru okluzije. U kliničkoj analizi okluzije na implantatu najčešće se koriste standardni okluzalni markeri, a pored njih mogu se primenjivati i naprednije kompjuterske dijagnostičke metode kao što je *t-scan* analiza.

Radiografska analiza, predstavlja važan dijagnostički metod kojim se evaluira stanje potporne kosti oko implantata. Rendgen snimak se radi nakon ugradnje implantata, postavljanja protetskog rada, godinu dana nakon ugradnje implantata i tokom kontrolnih pregleda. Analizom i poređenjem ovih snimaka može da se utvrdi prisustvo ili odsustvo peri-implantitisa. Proces gubitka marginalne kost predstavlja fiziološku pojavu koja je najintenzivnija u prvoj godini nakon ugradnje implantata i iznosi do 1 mm, dok nakon toga na godišnjem nivou dolazi do postepenog gubitka od 0,2 mm. Peri-implantitis može biti dijagnostikovao ukoliko je pored kliničkih znakova prisutan gubitak koštanog tkiva veći od 1,8 mm nakon prve godine od ugradnje. Same vrednosti gubitka koštanog tkiva najčešće su individualne, a uslovljene su tipom implantata, dizajnom abatmenta, kao i mnogim drugim faktorima [3, 52-55]. Minimalne promene u koštanom tkivu suprakrestalnog predela ne mogu biti relevantne sve dok ne dostigne kritičan oblik i veličinu. Najprecizniju metodu radiografisanja daje retroalveolarni snimak sa paralelnom tehnikom snimanja uz upotrebu dugog konusa. Pored retroalveolarnog snimka koriste se i ortopantomografski snimak kao i kompjuterski vođena tomografija, sa analizom koštanog tkiva u sve tri dimenzije [56]. Konvencionalna radiografija doprinosi visok stepen lažno-negativnog nalaza radiograma i zato ima smanjenu mogućnost rane detekcije patoloških promena.

Pored ovih metoda dijagnostike postoje i pomoćne, *sekundarne*, dijagnostičke metode koje mogu preciznije da ukažu na prisustvo ili odsustvo peri-implantitisa kao što su: mikrobiološka analiza, kvalitativna i kvantitativna analiza peri-implantnog cervikalnog fluida (PICF) [21, 50].

Peri-implantna tečnost (peri-implantni cervikalni fluid- PICF) je osmolitički transudat vaskularne mreže gingivalnog pleksusa, koji ispunjava peri-implantni sulkus oko vratnog dela ugrađenog implantata. Po sastavu je sličan eksudatu gingivalne tečnosti i sadrži enzime poreklom iz domaćina i njihove inhibitore, citokine i druge zapaljenske medijatore i modifikatore imunološkog odgovora kao i produkte razgradnje tkiva, koji čine pokazatelje zapaljenske reakcije. PICF predstavlja reflektujućí fiziološki proces odgovora i interakcije gingivalnog epitela i lokalnih leukocita na mikroorganizme dentalnog plaka. Predstavlja dodatni dijagnostički parametar koji može da ukaže na prisustvo ili odsustvo peri-implantnog

oboljenja, praćenog nivoom i koncentracijom citokina. Koristeći standardne tehničke metode kao što su ELISA, Western Blot i rPCR, pokazana je pouzdanost i tačnost u prisustvu i koncentraciji citokina u PICF. Analizom nivoa koncentracije citokina u PCIF moguće je rano detektovati medijatore zapaljenske reakcije. Takođe, analizom ove tečnosti moguće je praćenje intenziteta aktivnosti patološkog procesa, progresiju raznih oboljenja, praćenje oseointegracije, kao i praćenje uspeha terapijske procedure.

Kako se u savremenoj medicini i dalje traga za idealnom dijagnostičkom metodom, analiza PCIF po svojim karakteristikama (pouzdana, neinvazivna, lako izvodljiva) usvojena je kao najvalidnija metoda za monitoring stanja ispitivanog tkiva.

1.7. Terapija peri-implantitisa

Peri-implantitis je složeno oboljenje usled čega je terapija peri-implantitisa kompleksna i predstavlja veliki izazov u rešavanju ovog problema. Dosadašnja terapija peri-implantnih oboljenja bazirana je na konceptu terapije parodontopatija, zbog ranije dokazanih sličnosti ovog oboljenja sa peri-implantitisom [57].

Osnovni cilj terapije peri-implantitisa je redukcija zapaljenja u peri-implantnom tkivu i stvaranje povoljnih uslova za reparaciju i regeneraciju zahvaćenih tkiva sa ciljem prevencije, progresije i ponovnog javljanja ovog oboljenja. Terapijski uspeh može se postignuti na različite načine. Jedan od postojećih načina je eliminacija uzročnika peri-implantitisa, odnosno redukcija ili eliminacija mikroorganizama dentalnog plaka u peri-implantnom džepu, kao i debridman i/ili dekontaminacija peri-implantnog tkiva i površine implantata. Uklanjanjem neadekvatnih protetskih nadoknada, omogućava se adekvatna kontrola dentalnog plaka i sprečava se ponovna re-infekciju [58].

Terapija peri-implantitisa sprovodi se u više terapijskih modaliteta:

1. Nehirurška (inicijalna faza) terapije koju čine: mehanička obrada, primena antibiotske terapije, primena antiseptika, laserska, fotodinamska terapija
2. Hirurška terapija sa primenom dodatne regenerativne i/ ili resektivne terapije

3. Eksplantacija implantata

Danas terapijske procedure peri-implantitisa podrazumevaju najčešće kombinovanje više terapijskih modaliteta. Izbor same terapijske procedure, zavisi od stepena destrukcije marginalne kosti tj.. tipa i veličine koštanog defekta, dubine peri-implantiog džepa sa gubitkom pripojnog epitela. Najvažnija faza u terapiji peri-implantitisa je dekontaminacija implantne površine tokom hirurške procedure [4].

1.7.1. Nehirurška terapija peri-implantitisa/ Zatvorena tehnika

Nehirurška terapija (tj.. konvencionalna, konzervativna ili kauzalna terapija) peri-implantitisa predstavlja terapijski protokol koji se izvodi kada je peri-implantitis dijagnostikovao u inicijalnom odnosno ranom stadijumu sa prisutnom blagom inflamacijom peri-implantnog tkiva i dubinom sondiranja do 3 mm [58]. Cilj ove terapije je redukcija inflamacije i smanjivanje znakova inflamacije kao što su KNP i supuracija. Terapija se izvodi na više načina: primenom ručnih instrumenata, rotirajućih titanijumskih četkica, ultrazvučnih instrumenata, air-powder sistema [59, 60]. Često se ova terapija kombinuje sa primenom sistemskih ili lokalnih antibiotika, antiseptika i laserske terapije [4, 57, 61-63].

1.7.1.1. Mehanička terapija

Mehanička terapija podrazumeva mehaničku obradu peri-implantnog prostora i eksponirane površine implantata, primenom ručnih instrumenata ili mašinskih instrumenata uz stalnu irigaciju. Tokom mehaničke obrade postiže se eliminacija dentalnog plaka, supra- i sub-gingivalnog kamenca na protetskim radovima i delimično eksponiranim implantnim površinama.

Različiti sistemi i instrumenti i primenjuju se u mehaničkoj obradi implantnih površina:

- ✓ Karbonska vlakna, plastične, titaniumske kirete, plastične četkice
- ✓ Vektorski sistem (karbidna fiber vlakna kombinovana sa aerosolnim sprejom na bazi hidroksiapatita)

- ✓ Air powder sistem za peskiranje implantne površine

Čelične kirete nisu preporučene za obradu implantnih površine, jer su po tvrdoći jače od titanijumske površine implantata. One mogu da oštete i modifikuju implantnu površinu i da uspore ili onemoguće proces re-oseointegracije. Predloženi su instrumenti koji su po svojoj tvrdoći manje čvrstoće od titanijuma. Zato se češće upotrebljavaju grafitne ili plastične kirete. U istraživanjima Renverta i saradnika pokazano je da primenom samo mehaničke obrade peri-implantnog džepa, dolazi do delimične redukcije i smanjenja mikroorganizama dentalnog plaka i KNP. Primenom vektorskog ultrasoničnog sistem nisu pokazane klinički značajni rezultati kod tretiranih peri-implantitisa, u odnosu na primenu samo kireta, nakon 6 meseci [64-66]. Air-powder sistema pokazao je efikasne rezultate, a sam metod i uspešnost terapije zavisi od abrazivnog sredstva koje se koristi (hidroksiapatiti-trikalcijum fosfat, titanijum-dioksid) [67].

1.7.1.2. Antiseptici i antibiotici u terapiji peri-implantitisa

U terapiji peri-implantitisa u brojnim kliničkim, *in vivo* i *in vitro* studijama korišćeni su sistemski ili lokalni antibiotici i antiseptici. Ova dodatna terapija primenjuje se kada je peri-implantni džep veći od 4-5 mm sa pozitivnim znakom KNP, sa/bez supuracije i resorpcijom marginalne kosti oko implantata [58]. Sistemska i lokalna upotreba antibiotika (kao npr. tetraciklin, doksicilin, amoksicilin, metronidazol, monociklin-hlorid, ciprofloksacin) dovodi do značajne redukcije peri-implantnog džepa nakon prve godina praćenja [68]. Lokalna primena antibiotika ima veće prednosti u odnosu na sistemske, jer ima mogućnost kontrolisanog oslobađanja leka. Ipak, lokalna primena antibiotika nije dala značajne kliničke rezultate tokom šestomesečnog perioda praćenja u poređenju sa drugim terapijskim metodama [69].

Najčešće primenjivan antiseptički rastvor ili gel je na bazi hlorheksidin diglukonata (0.1%, 0.12%, 0.2%). Pored pozitivnog dejstva, primena antibiotika i antiseptika pokazala je postojanje neželjenih efekata, alergijskih reakcija, rezistentnosti bakterija i siromašne re-oseointegracije.

1.7.2. Hirurški tretman/ Otvorena tehnika

Hirurška terapijska procedura smatra se efektivnijim i superiornijim terapijskim pristupom u lečenju peri-implantitisa u odnosu na nehiruršku terapiju [15]. Primenom ove metode pod kontrolom oka, omogućava se direktni pristup implantnim površinama, debridman granulacionog tkiva i dekontaminacija implantne površine. Terapija je indukovana kada je gubitak koštanog tkiva veći od 3 mm, a dubina peri-implantnih džepova veća od 5 mm. U zavisnosti od morfologije i tipa koštanog defekta, regenerativna/resektivna terapija predstavlja dodatnu metodu hirurškog tretmana [57, 70]. Terapija se izvodi u tri hirurške faze: odizanje mukoperiostalnog reznja (*engl. Open flap surgery*), dekontaminacija implantne površine i primena regenerativnog i/ili resektivnog terapijskog modaliteta.

Regenerativna terapija ima za cilj da omogući zarastanje rane i potpuno ponovnu re-oseointegraciju tkiva, primenom vođene koštane i tkivne regeneracije (*engl. Guide bone regeneration, GBR and guide tissue regeneration, GTR*). Danas se primenjuju različiti koštani graftovi u tretmanu implantnog defekta koji mogu biti autogenog, ksenogenog i alogenog porekla [71-74]. Iako su najbolje rezultate pokazali autogeni koštani transplantati, primena sekundarne hirurške intervencije na donor mestu i brža resorpcija transplantata, dovela je do smanjene upotrebe i okretanje ka drugim koštani zamenici.

Pokazano je da primenom koštanih graftova dolazi do re-oseointegracije i stvaranja koštanog tkiva. Nakon aplikacije koštanog zamenika postavlja se resorptivna ili neresorptivna membrana, da bi se postigli bolji klinički rezultati u odnosu na upotrebu samo koštanog grafta ili same membrane [1]. Najčešće korišćene su neresorptivne politertra-fluoro-etilena membrane, *e-PTFE* [75, 76] i kolagene membrane. Kada je širina keratizovane gingive manja od 2 mm, umesto membrane koristi se transplantat vezivnog tkiva. Ukoliko je širina keratizovane gingive veća od 2 mm, mogu da se koriste bioresorptivne kolagene membrane [14, 73, 77].

Resektivna terapija ima za cilj da eliminacijom peri-implantnog i koštanog džepa i dobijanjem adekvatne mekotkivne morfologije, omogući održavanje adekvatne oralne higijene, sprečavanjem pojave re-infekcije. Ova terapija najčešće se primenjuje kada postoji suprakoštani defekt (veći od 3 mm). Metoda se bazira na principu primene osteotomije i osteoplastike sa apikalnim reponiranjem mukoperiostalnog reznja. Implantoplastika predstavlja terapijski postupak koji se izvodi tokom resektivne terapije. Ona predstavlja

postupaka glačanja implante površine, uklanjanjem implantnih navoja pomoću čeličnog borera i poliranjem površine. Primenom ove metode dekontaminacije postiže se značajno poboljšanje kliničkih parametara kao što su: smanjenje peri-implantnog džepa, nivoa pripojnog epitela i KNP [78-80]. Romeo i saradnici tokom tri godine praćenja radiografskih i kliničkih parametara, dobili su smanjeni gubitak koštanog tkiva od 0.01 mm do 1.54 mm. Na ovaj način resektivnom terapijom sa ili bez primene implantoplastike, postižu se stabilni klinički rezultati [57, 70]. Nedostatak ove terapije predstavlja progresivna marginalna recesija, usled čega dolazi do impakcije hrane i nemogućnost ponovne re-oseintegracije. Ovo čini veliki estetski nedostatak ukoliko se primenjuje u frontalnoj regiji [58, 70, 81].

1.7.3. Eksplantacija implantata (*engl. Explantation*)

Eksplantacija (vađenje) implantata je krajna terapijska metoda u tretmanu peri-implantitisa. Primenjuje se kada je kliničkim pregledom dijagnostikovana mobilnost implantata, sa peri-implantnim džepom koji je veći od 8 mm ili cirkumferentnim koštanom defektom koji se proteže celom dužinom implantne površine. Na radiogramu prisutno je rasvetljenje koje okružuje implantat celom njegovom dužinom [58].

1.8. Dekontaminacija implantne površine (engl. Surface decontamination)

“Kontaminacija” je definisana kao kolonizacija mikroorganizama i/ili njihovih produkata (lipopolisaharida) na implantnu površinu, koji dovode do inflamatorne reakcije i odgovora domaćina na inflamaciju, što za posledicu ima gubitak mekog i koštanog tkiva [4].

Površina komercijalnog dostupnog implantata prekrivena je tankim slojem titanijum-oksida koji omogućava oseointegraciju [4]. Mikrodizajn implantata karakteriše se hrapavom površinom i brojnim navojima različite udaljenosti. Ovakva struktura implantata otežava adekvatno čišćenje površine i kompletnu eliminaciju mikroorganizama. Zbog toga, dekontaminacija implantne površine predstavlja jednu od najtežih, najbitnijih i najvažnijih koraka u terapiji peri-implantitisa.

Cilj dekontaminacije implante površine je postizanje stabilnih, predvidljivih kliničkih rezultata. Još ne postoji adekvatan dokaz, koja bakterija, njen deo ili produkt je neophodno ukloniti da bi se postigla adekvatna dekontaminacija implante površine. Smanjivanjem ukupnog broja kako ne-specifičnih bakterija, tako i specifičnih parodontopatogenih bakterija iz peri-implantnog džepa, može se uspostaviti ponovna ravnoteža između implantata i imunog sistema domaćina. Predloženi su različiti metodi dekontaminacije podeljeni na: mehaničke (upotreba kireta, ultrazvučnih instrumenata, air-power abrazivnog sistema), hemijske (limunska kiselina, vodonik peroksid, tetraciklin-hlorid, fiziološki rastvor, EDTA, hlorheksidin diglukonat, fotodinamska terapija) i fizičke (implantoplastika, laser). Ove metode često su kombinovane sa sistemskim ili lokalnim antibioticima [59, 61, 79, 80, 82-90]. Neadekvatna dekontaminacija može ozbiljno da naruši i poremeti re-oseointegraciju implantata.

Sama implantna površina diktira odabir terapijske metode i dekontaminacije implantne površine. Primenom air-powder sistema, fiziološkog rastvora ili limunske kiseline podjednako efikasno se eliminiše *P. gingivalis* kod mašinsko tretiranih implantnih površina [4]. Ipak, pomoću SEM-a (skening elektronski mikroskop) pokazano je da primenom ovih metoda, ne dolazi do potpune eliminacije rezidua sa implantne površine. Ova hemijska sredstva mogu dovesti do gubitka hrapavosti hidroksiapatitnog pokrivača implantata.

Air-powder abrazivni sistem se često koristi u dekontaminaciji implantne površine. Ovaj sistem kombinuje vazduh, čestice i vodu, koji rade pod pritiskom od 65 do 100 psi

(engl. pound per square inch) odnosno od 4.4-6.89 bara. Pokazano je da primenom ovog sistema dolazi do eliminacije čak od 84% do 98% bakterijskih endotoksina i da 100% eliminiše biofilm sa implantnih površina i korena zuba. Iako ostvaruje značajan baktericidni efekat, primenom ovog sistema kod mašinsko tretiranih implantnih površina dolazi do promene topografije površine implantata, a velike količine abrazivnih čestica adheriraju na implantnu površinu. Takođe, pokazano je da ovaj sistem ne utiče na adheziju i proliferaciju ćelija, *in vitro* uslovima. Neželjni efekat air-powder sistem manifestuje se u vidu pojave emfizema [91].

Hlorheksidin diglukonat, CHX, je bis-binguanidno hemoterapeutsko sredstvo. Deluje na G^+ i G^- bakterije, fakultativne anaerobe i aerobe, gljivice, buđ, viruse. CHX se široko primenjuje i u medicini, u tretmanu dezinfekcije kože, zarastanju rana kod opekotina, kao i dezinfekciji ruku pre hirurške intervencije. U stomatologiji CHX predstavlja zlatni standard u terapiji gingivitisa i kontroli dentalnog plaka. Danas, CHX predstavlja jedan od najčešće primenjivanih i ispitanih antiseptičkih sredstava koji se koriste u dekontaminaciji peri-implantnih oboljenja. Antibakterijska aktivnost CHX ogleda se u njegovom pozitivnom naelektrisanju pri normalnoj pH vrednosti. CHX se vezuje za negativno naelektrisanu fosfolipidnu membranu bakterija, dovodeći do promena u osmotskom ekvilibrijumu bakterijske ćelije i propuštanja kalijumove i fosforne pumpe. Ovo dovodi do povećanja permeabilnosti ćelija i curenja intracelularnih jona. Kako se koncentracija CHX povećava, tako dolazi do taloženja citoplazme u ćeliji uzrokujući smrt same ćelije. U malim terapijskim dozama hlorheksidin deluje bakteriostatički, dok u visokim koncentracijama deluje baktericidno. Baktericidna sposobnost ogleda se u njegovoj mogućnosti da inhibiše glikocidne i proteolitičke enzime u bakterijskim ćelijama kao i da redukuje matriks metaloproteinaznu aktivnost bakterijskih ćelija [92, 93].

Negativni efekat CHX odgleda se u njegovome citotoksičnom delovanju na ćelije alveolarne kosti i epitelne ćelije gingive, indukujući dozno-zavisno smanjenje proliferacije gingivalnih fibroblasta. Na ovaj način dolazi do redukovanja i smanjenja stvaranje koncentracije kolagenih i ne-kolagenih proteina, dovodeći do smanjenja ćelijske proliferacije. *In vitro* uslovima, pokazano je citotoksično dejstvo CHX na periodontalne ligamente, inhibicija sinteze DNA, proteina i mitohondrijalne aktivnosti ćelije [94]. CHX može poremetiti aktivnost stvaranja citoskeleta, stimulišući apoptozu i autonekrozu/nekrozu ćelija, dovodeći do njene smrti. Dokazana je osetljivost endotelnih i osteoblastnih ćelija na CHX

[93]. Međutim, analizom pomoću SEM mikroskopa pokazano je da ne dolazi do promene fenotipa osteoblasta nakon delovanja 0,12% koncentracije CHX, 1 minut, ili 1% koncentracije CHX, 30 sekundi [91]. Iako u velikim dozama CHX (0,5%-2% tokom 10 min) dolazi do baktericidnog efekta na parodontopatogene, pokazana je manja osetljivost pojedinih parodontopatogena na ovo sredstvo [92]. Istraživanja su pokazala da hlorheksidin može da potpuno spreči zarastanje rana nakon hirurške intervencije, ne ometajući proces oseointegracije. Mišljenja oko ove tvrdnje su podeljena. Studije rađene *in vivo*, sugerišu da visoke doze CHX mogu da spreče kontrakciju kolagenih vlakana i tako uspore i onemoguće proces zarastanja rane. Ipak rezultati rađeni *in vitro* uslovima ne poklapaju se sa rezultatima rađenim *in vivo* uslovima. Pucher i Daniel navode da studije rađene *in vitro* imaju sterilne uslove i kao takve nemaju bakterije, koju su veoma rasprostranjene u usnoj duplji. Prisustvo bakterijskih ćelija značajno može da promeni dejstvo CHX jer se u najvećem procentu vezuje za bakterije, dok se jako malim količinama CHX vezuje za ćelije domaćina [95]. Pažnja mora da se obrati tokom ekspozicije CHX vezivnom ili koštanom tkivu domaćina, zbog ranije dokazanog citotoksičnog efekta. Ipak, klinička studija pokazala je da aplikacija 1% gela CHX nema uticaj i neželjeni efekat tokom procesa zarastanja hirurške rane [96, 97].

U terapiji peri-implantitisa primena CHX dala je različite rezultate. Dokazano je da 0,12% doza CHX eliminiše čak do 92,9% endotoksina koje izlučuje *P. gingivalis* na mašinskim tretiranim implantnim površinama, 62,9% na titanijum peskiranima površinama i oko 60% na hidroksiapatitnim površinama [91]. Eksperimentalne studije rađenim na zečevima, majmunima i psima, pokazale su da primenom CHX tokom dekontaminacije implantne površine i kombinovanjem GBR i membranama, dolazi do značajnog stvaranja koštanog tkiva i re-oseointegracije za čak 40% [98]. Studija rađena na ljudima pokazala je da nakon dekontaminacije implantne površine primenom 0,1% ili 0,2% CHX i GBR, stvara se 1.5-3.6 mm koštanog tkiva, dok se dubina peri-implantnog džepa redukuje do 3 mm [91]. Pozitivan efekat različitih koncentracija CHX (2% u odnosu na 0,12%+0,05% cetilpiridinium hlorid) na poboljšanje kliničkih, mikrobioloških i radioloških peri-implantitisa, prikazan je u studiji De Waal i sar. nakon 12 meseci [88, 96].

1.8.1. Primena lasera u dekontaminaciji implantne površine

Brz napredak laserske tehnologije u poslednje dve decenije doveo je do uvođenja lasera u svakodnevnu stomatološku praksu. Stručna literatura se konstantno dopunjuje novim rezultatima koji pokazuju pozitivan efekat lasera u terapiji raznih oboljenja, što proširuje indikaciju za njihovu primenu.

Razvoj lasera predstavljaju rezultate dugogodišnjih istraživanja, zasnovanih na Ajštanovom konceptu stimulisanе energije, odnosno atomske teorije kontrolisane radijacije iz 1917. godine, Plankovoj kvantnoj terapiji i Borovoj teoriji spontane apsorpcije i emisije radijacije [99]. Nakon što je Teodor Mamian prvi konstruisao i proizveo prvi vidljivi laser (pulsni rubinski instrument) 1960. godine, a Goldman osnovao laboratoriju za lasersko istraživanje godinu dana kasnije, laser počinje da se polako uvodi u svakodnevnu kliničku i naučnu praksu u raznim poljima medicine i stomatologije [100, 101].

1.8.1.1. Delovi lasera i osnovni principi rada laserske terapije

Lasersku komoru čine: laserski medijum (plin, voda, čvrsta materija), eksitacioni mehanizam (hemijski, električni i hemijski) i povratni mehanizam, koji omogućavaju primenu opisane laserske teorije.

Osnovni parametri lasera su talasna dužina, energija lasera, snaga lasera, vreme ekspozicije i vrsta zračenja. Talasna dužina (mm) je obrnuto proporcionalna frekvenciji (Hz) i predstavlja udaljenost između najbližih tačaka talasa koji imaju istu fazu treperenja. Energija se meri u džulima (J) i predstavlja sposobnost obavljanja rada lasera i zavisi od same snage lasera (W). Vreme izloženosti tkiva laserskom zračenju predstavlja vreme ekspozicije i meri se u sekundama.

Rad lasera zasniva se na svojstvima svetlosti elektromagnetnog zračenja. Svetlost je sastavljena od fotona (čestica ili kvantne energije), koja se prenosi u obliku talasa. Elektromagnetni spektar predstavlja distribuciju frekvencije i talasnih dužina atomske energije. Za razliku od bele svetlosti koju nalazimo u prirodi i koja je inkohrentna sa višestrukim frekvencijama ili bojama, laserska svetlost je *monohromatska, koherentna i usmerena*. Monohromatska znači da svetlost laserskog zračenja sadrži ili jednu frekvenciju ili

vrlo uzak spektralni raspon. Koherentnost predstavljaju svi fotoni koji se nalaze u istoj fazi u vremenu i prostoru, istovremeno usmereni tj. međusobno paralelni u snopu. Zahvaljujući tome što je usmerenost lasera mala, divergencija svetlosti na velikoj udaljenosti je takođe zanemarljiva što omogućava da laserski zrak bude usmeren i fokusiran [102].

Prema Borovoj teoriji, rad lasera se zavisi od atomske aktivnosti. Elektroni kruže oko jezgra u određenim putanjama čineći određeno stanje atoma. Atom ima sposobnost apsorpcije izvorne energije (električne, hemijske, svetlosne ili termičke), kada se nalazi u nepobuđenom stanju. Spontanom apsorpcijom izvorne energije atom prelazi iz nepobuđenog u pobuđeno, ekscitirano stanje odnosno na viši energetska nivo. Ekscitirani atom teži da se vrati u prvobitno stanje najniže energije, emitujući energiju u obliku kvanta elektromagnetnog zračenja. Na ovaj način nastaje spontana emisija fotona, a kvant vidljivog zračenja naziva se foton. Ovaj nastali foton deluje na drugi atom, koji ako je u ekscitiranom stanju opet emituje foton, koji deluje na treći atom i tako nastaje lančana reakcija. Ova lančana reakcija predstavlja stimulisanu energiju novih fotona koji imaju istu frekvenciju, smer i koji putuju u istoj fazi kroz vreme i prostor.

1.8.1.2. Delovanje lasera na biološka tkiva i primena laserske terapije

Uticao lasera na biološka tkiva određen je uzajamnim delovanjima fizičke osobine obasjanog tkiva i parametara laserskog zračenja: talasnom dužinom, vremenom ekspozicije, energijom zračenja, pulsним ili kontinuiranim modom [103-106].

Laserski zrak deluje na tkivo na četiri načina:

- 1. Fotomehanički-** *koristi se u terapiji za uklanjanje tetovaža, pigmentnih lezija*
- 2. Fotohemijski-** *koristi se u sklopu fotodinamske terapije*
- 3. Fototermički-** *terapija vaskularnih lezija i epilacija*
- 4. Fotobiomodulacijski, biostimulacija-** *cilj ovog dejstva lasera ogleda se u stimulaciji rasta kose, zarastanju rana, smirivanju upalnih reakcija i promena nastalih u usnoj dupli (afti).*

U zavisnosti od emisije elektromagnetnog zračenja svetlost može biti reflektovana, apsorbirana, transmitovana ili raspršena, a udeo refleksije, transmisije, apsorpcije ili raspršenosti zavisi od svojstva obasjanog tkiva i talasne dužine laserske svetlosti. Refleksija tj. odbijanje reflektujućeg zraka od ciljno tkivo, nedeluje na ciljno tkivo i kao takva može da bude opasna jer reflektujući zrak može da se usmeri na oko i izazove oštećenje. Apsorpcijom tkivo preuzima energiju zračenja koje deluje na ciljano tkivo. Apsorpcijska karakteristika tkiva zavisi od kromofora koji predstavljaju ciljano mesto za laserski zrak. Kromofori su voda, protein, hemoglobin, melanin i hidroksiapatit i zavise od talasne dužine laserskog zračenja. Voda i hidroksiapatit imaju sposobnost da apsorbiraju svetlost veće talasne dužine, dok melanin i hemoglobin isključivo apsorbiraju zračenja male talasne dužine. Transmisijom omogućava se prolazak svetlosti kroz tkiva, u zavisnosti od talasne dužine i svojstva tkiva. Raspršenost kao četvrti oblik interakcije emitujućeg zraka može da ima neželjene posledice na samo tkivo. Ovim vidom interakcije zrak se raspršuje u samom tkivu, smanjujući energiju, izazivajući neželjeno biološko dejstvo na tkivo (npr. termičko oštećenje okolnih struktura tkiva) [103].

Laser je primenu našao u parodontologiji, oralnoj medicini, dentalnoj implantologiji, endodonciji, protetici, restaurativnoj stomatologiji, dečijoj stomatologiji i estetskoj stomatologiji [106, 107]. U zavisnosti od tkiva na koje deluju i parametara koji se koriste tokom rada, laseri su podeljeni na *visoko-energetske lasere i lasere niske energije zračenja odnosno lasere male snage*. Visoko-energetski laseri imaju dejstvo na tvrda i meka tkiva i najčešće se koriste u hirurškim terapijskim procedurama. Ovi laseri imaju i baktericidni efekat koji se ostvaruje povećanjem temperature (termalni efekat), direktnom ablacijom ili destrukcijom ćelijskog zida bakterijske ćelije. Na ovaj način dolazi do smrti same bakterije. Najčešće primenjivani su ugljen-dioksidni laser (CO₂), erbijum-dopt:jitijum, aluminijum-garnet laser (Er:YAG, Er:YSGG), neodijum-dopt:jitijum(Nd:YAG), aluminijum-garnet i diodni laser [108].

CO₂, Nd: YAG i diodni laseri, nemaju sposobnost eliminacije subgingivalnog konkrementa. Izlaganjem kalkulusa svetlosti ovih lasera, dovelo bi do zagrevanja tkiva i pojave nekoze samog tkiva i okoline. Ipak, pokazana je sposobnost dekontaminacije implantnih površina primenom diodnih lasera kao i stimulacija osteoblasta i fibroblasta koje omogućavaju produkciju kolagenih vlakana i adekvatno zarastanje tkiva [109]

U terapiji peri-implantitisa najčešće se koriste Er: YAG laseri. Ovaj laser talasne dužine do 2940 nm ima sposobnost da ablacijom ukloni kalkulus bez povećavanja temperature i stvaranja štetnog efekta na sam implantat ili okolno tkivo. Željena i ne željena dejstva ovog lasera zavise od same karakteristike implante površine ali i od parametara i načina upotrebe lasera [110-113]. Implantne površine prekrivene titanijumom imaju izuzetno malu moć apsorpcije, zahvaljujući čemu ne dolazi do povećanja temperature. Eksperimenti na animalnim modelima pokazali su da dekontaminacijom implantne površine primenom Er: YAG laser može se ukloniti sloj titanijum-dioksida, pri čemu dolazi do promene morfologije samog implanta. Za razliku od površina koje su prekrivene titanijum dioksidom, SLA površine gube svoju biokompatibilnost nakon izlaganja dejstvu Er: YAG lasera [15, 78, 79, 110].

Pored pozitivnog baktericidnog efekta i redukcije broja subgingivalnih bakterija, visoko-energetski laseri mogu prouzrokovati i neželjene efekte na tretirano tkivo kao npr. ireverzibilno termalno oštećenje okolnog peri-implantnog i parodontalnog tkiva. Neadekvatna upotreba visokog energetskog lasera, u zavisnosti od parametara i tipa samog lasera, može dovesti do neočekivanih sporednih efekata kao što je prekomerna ablacija ili toplotna koagulacija, kao i karbonizacija i nekroza korena zuba, vezivnog tkiva gingive, kosti i pulpe zuba. Takođe, tokom dekontaminacije implantne površine, može da nastane oštećenje implante površine i promene njene mikrostrukture, dovodeći do retencije i rezistencije mikroorganizama i nemogućnosti postizanja re-oseointegracije [15].

Usled neželjenih i sporednih efekata laserske terapije, istraživači dolaze do otkrića novog terapijskog modaliteta, *fotodinamska terapija* koji se bazira na konceptu fotohemijskog delovanja, primenom lasera i fotoaktivne materije. Fotodinamska terapija, za razliku od visoko-energetskih lasera, deluje selektivno na bakterijske ćelije, neoštećujući okolno tkivo domaćina.

1.8.2. Fotodinamska terapija i njena primena u stomatologiji

Fotodinamska terapija (*engl. Photodynamic therapy, FDT*), predstavlja novo pomoćno ne-invazivno terapijsko sredstvo, koje je otkriveno slučajno početkom 20. veka. Definiše se kao kiseonik-zavisna fotohemijaska reakcija, koja nastaje aktivacijom hemijske materije- fotoaktivne materije (*engl. photosensitizer*), pomoću svetlosti lasera niske talasne dužine (630 nm-700 nm) u prisustvu kiseonika. Izlaganjem fotodinamskog sredstva svetlosti lasera, dolazi do stvaranja slobodnih radikala i slobodnog kiseonika, prouzrokujući fotohemijasko oštećenje i smrt ćelije [114-116].

Danas se FDT primenjuje kao dodatno terapijsko rešenje u tretmanu bakterijskih, virusnih i gljivičnih infekcija kako kod zdravog organizma, tako i kod organizma rezistentnih ili osetljivih na odgovarajuće lekove ili terapiju.

1.8.2.1. Istorijat fotodinamske terapije [116]

Koreni fotodinamske terapije i korišćenje svetlosne energije pronađeni su još u antičkom periodu pre 6000 godina, gde su se kao terapijsko sredstvo koristili, u staroj Grčkoj, Egiptu, Indiji u oblastima medicine i hirurgije. U Egiptu, pronađeni su istorijski spisi koji pominju primenu materije i svetla, u terapiji opekotina nastale od sunca. Stari Indijci primenjivali su ovu metodu lečenja u terapiji vitiliga.

Sve do početka 20^{og} veka, ovo terapijsko sredstvo izgubilo je svoju primenu, kada je ponovo reotkriveno u zapadnoj civilizaciji. Primenu današnje, savremene fotodinamske terapije, prvi je zabeležio danski fizičar Nils Finse. On je pokazao uspešno lečenje tuberkulozno-kožnog oboljenja- Lupus Vulgaris, koristeći toplotu- koja nastaje filtriranjem svetla karbonid-lučne lampe (Finsenova lampa). Osar Raab, radeći u laboratoriji profesora Von Tappeiner, prvi je dao koncept o interakciji svetlosne energije i hemijskog sredstva koje indukuje smrt ćelije. Raab je došao do zaključka da najveći uticaj u ovoj terapiji ima slobodan kiseonik koji proizvodi hemijsku reakciju u organizmu. Ova terapijska metoda dobila naziv "Fotoaktivna akcija". Thomas Doughery i njegovi saradnici su, 1978. godine, radeći na onkološkom institutu Roswell Park, Buffalo, New York, uveli i testirali fotodinamsku terapiju u kliničku praksu. Oni su istraživali primenu tada nove fotoaktivne materije- derivata hematoporfirina, u terapiji kožnih i potkožnih tumora, došavši do

fantastičnih rezultata. Kasnije je John Toth promenio naziv “Fotoaktivna akcija” u “*Fotodinamska terapija- FDT*”.

1999. godine, “Agencija za registraciju hrana i lekova” odobrava ovu vrstu terapije u terapiji prekanceroznih lezija glave i lica. FDT se sve više primenjuje u kliničkoj praksi kao ne-invazivo terapijsko sredstvo u raznim granama medicine i stomatologije. Kasnije je zabeleženo pozitivno delovanje FDT u antibakterijskoj, antivirusnoj, antifungalnoj terapiji organizma otpornih na razne sistemske i lokalne lekove. Ova terapija počinje da se uvodi u tretmanu raznih oboljenja kao što su psorijaza, aktinska keratoza, reumatoidni artritis, makularna degeneracija uzrokovana starosnim dobom, tretmanu oralnih karcinoma kao i u dijagnozi malignih transformacija oralnih lezija. Primenu i princip FDT u stomatologiji prvi je objasnio ‘90tih godina prof. Dortbudak u brojnim publikacija, nakon čeka počinje i ekspanzija ove terapije u raznim granama stomatologije [117].

1.8.2.2. Sastav fotodinamske terapije

Fotohemijaska reakcija nastaje kombinovanim delovanjem tri elementa: laserskog svetla odgovarajuće talasne dužine, fotoaktivne materije (*engl. photosensitizer*) i kiseonika. Pokazano je da fotohemijaska reakcija ne može da nastane samo primenom jednog ili dva navedena elementa.

Svetlo koje aktivira fotoaktivnu materiju predstavlja vidljivo svetlo lasera male snage, specifičnih talasnih dužina. Aktivacija fotoaktivne materije najčešće se dešava emisijom crvenog svetla laserskog zraka, talasne dužine 630-700 nm. Kako ljudsko tkivo transmituje efikasno crvenu svetlost, svetlost prodire kroz tkivo od 0,5 do 1,5 cm i na taj način limitira dubinu nekroze i/ili apoptoze ostvarujući terapijski efekat. Primenom različitih lasera male talasne dužine: helijum-neon lasera (633nm), gallium-aluminium-arsenid diodni laser (630, 830, 906nm), argon lasera (488-514nm), nastaje lasersko svetlo koje emituje plavu, crvenu i infracrvenu svetlost. Opisana je primena i LED lampi (diode koje emituju svetlost) čije ne-lasersko svetlo može da aktivira fotoaktivnu materiju.

Danas postoje različite prirodne ili veštačke fotoaktivne materije. Idealna fotoaktivna materija mora da deluje samo na ciljno tkivo ili ćelije izazivajući lokalnu toksičnost, pri čemu ne sme da deluje na udaljene organe i ćelije. Fotohemijaska materija mora da ima: fotofizičke,

fotohemijske i fotobiološke karakteristike. One podrazumevaju: visoku selektivnu akumulaciju u tumorima; nisku toksičnost i brzu eliminaciju iz kože i epitela; maksimalnu apsorpciju; minimalne i niske širine transmisije kroz biološka tkiva; visok stepen produkcije slobodnog kiseonika *in vivo*; rastvorljivost u vodi, injekcionim rastvorima i krvnim derivatima; nemogućnost hemijske promene materije prilikom izlaganja svetlosti tokom skladištenja i čuvanja kao i efikasnost, dostupnost i ekonomičnost.

Opisane su različite generacije fotoaktivne materije čiji osnovni sastojci su triciklinski atomi. Najčešće primenjivane fotoaktivne materije koje se aktiviraju na različitim talasnim dužinama su: derivati hematoporfirina (620–650 nm), fenotiazin hlorid: toluidin plavo i metilen plavo (620–700 nm), cianin (600–805 nm), derivati fitoterapika (550–700 nm), hitalocianines (660–700 nm).

U antimikrobnoj terapiji najčešće primenjivane fotoaktivne materije su toluidin-O plavo, metilen plavo i fenotiazin-hlori koji su slični po hemijskom i fizičkom-hemijskom sastavu. Toluidin plava boja, daje ljubičastu prebojenost tkiva, bojeći granule u mast ćelijama i proteoglicin/glikozoaminoglicin u vezivnom tkivu. U oralnoj hirurgiji fotoaktivna materija se koristi za detekciju mukoznih tumora i atipičnog epitela jer nema sposobnost vezivanja za zdrav epitel mukoze [118]. Metilen-plava materija predstavlja redoksi indikator. Ona je plava u oksidovanoj sredini, a kasnije smanjenjem oksidacije postaje bezbojna. Koristi se za identifikaciju displazija i prekanceroznih lezija mukoze.

Fotohemijska osetljivost materije povezana je sa naelektrisanjem same fotoaktivne materije. Neutralne ili anjonske fotoaktivne materije vezuju se i inaktiviju efikasno *gram pozitivne* bakterije. Proteoglicin i lipotehoinske kiseline kod G^+ bakterija, omogućavaju fotoaktivnoj materije da difunduje u citoplazmu bakterijske ćelije. Fotoaktivna materija ima afinitet da se veže i za negativno naelektrisanje spoljašnje membrane *gram negativne* bakterije ali ne dolazi do njegove aktivacije nakon iluminacije. Delovanje fotoaktivne materije na G^- bakterije postiže se vezivanjem materije za katjonski molekul pomoću membranskog aktivnog agenta (tretman sa Tris-EDTA) ili konjukcijom materije sa monoklonskim antitelima koja se vezuju za ćelijsko specifične antigene.

Neželjeno dejstvo same fotosenzitivne materije ogleda u pojavi prebojenosti tkiva, nekada pojave bola nakon primene, kao i alergijske reakcije na neki od sastojaka ove materije. Najčešća neželjena dejstva nastaju nakon intravenske primene ove materije i

izlaganju suncu ili dnevnoj svetlosti jer mogu da nastanu opekotine, crvenila, pojačano znojenje, koje traju i nedeljama. Fotoaktivna materija se resorbuje i nestaje tokom 24h.

1.8.2.3. Mehanizam dejstva fotodinamske terapije

Fotoaktivna materija se vezuje za ciljne ćelije i boji ih. Zraci odgovarajuće talasne dužine aktiviraju fotoaktivnu materiju u prisustvu endogenog (tkivnog) kiseonika, pri čemu materija prelazi iz niskog energetskeg stanja u aktivno ekscitovano stanje. Ekscitovana fotoaktivna materija teži ili da se vrati u stanje niže energije (osnovno stanje) emitujući florescencu ili prelazi u više energetske- triplet, trolarno stanje. Duže vreme življenja tripletnog stanja omogućava interakciju ekscitovane fotoaktivne materije sa okolnim molekulima. Smatra se da produkovanje citotoksičnih molekula nastaje najčešće u ovom trolarnom stanje fotoaktivne materije. Tokom delovanja trolarnog stanje fotoaktivne materije sa biomolekulima mogu nastati dva tipa reakcija (Šema 1).

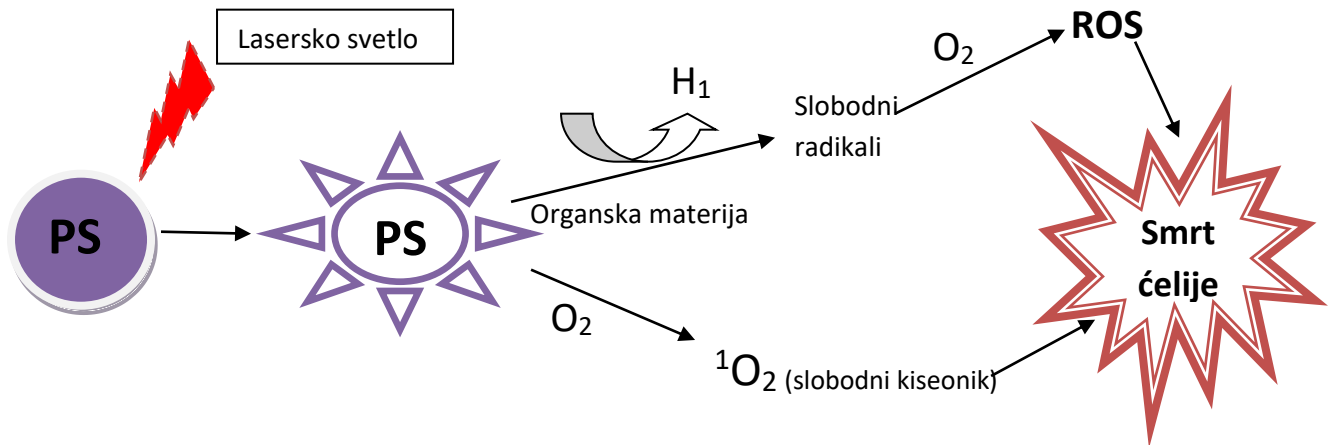
Kod *I tip reakcije* ekscitovane materije reaguje sa organiskim molekulima, koji oslobađaju vodonikov atom, stvarajući slobodne radikale i jone. Slobodni radikali su uglavnom visoko reaktivni i reaguju sa endogenim kiseonikom produkujući visoko reaktivne produkte kiseonika (ROS): superoksid, vodonik peroksid, hidroksile radikale koji su veoma štetni za membranu ćelija. Na taj način dolazi do ireverzibilnog biološkog oštećenja.

Tokom *II tipa reakcije*, fotoaktivna materija koja je u triplet stanju reaguje sa kisonikom stvarajući elektronsko-ekscitovano visoko reaktivno stanje kiseonika- *slobodni kiseonik* (1O_2). Slobodni kiseonik može da reaguje sa raznim biološkim strukturama, stvarajući veoma veliku hemijsku reaktivnost i indukujući oksidativni stres sa letalnim efektom na bakterijske ćelije. Na ovaj način dolazi do smrti mikroorganizama, usled oštećenja ćelijskog zida i membrane ćelija bakterija, gljivica i virusa. Slobodni kiseonik ima kratko vreme življenja ($<0.04\mu s$) i mali radijus dejstva– $0,2 \mu m$, zbog čega sama reakcija i dejstvo fotoaktivne materije je limitirano. Ono deluje samo na lokalnom nivou odnosno u blizini gde je fotoaktivna materija aplikovana. Na ovaj način izbegnut je sporedni efekat dejstva fotoaktivne materije na udaljene molekule, ćelije i organe.

Mehanizam delovanja FDT na molekularnom nivou objašnjava se oštećenjem DNK lanca ili oštećenjem citoplazmatske membrane bakterije usled čega nastaje citotoksična i

vaskulotoksična reakcija. Na ovaj način dolazi smrti bakterijske ćelije inaktivirajući transportni membranski sistem i inhibirajući aktivnost membranskih enzima i lipidne peroksidaze.

Šema 1.



1.8.2.4. Primena fotodinamske terapije u stomatologiji

FDT se primenjuje u raznim granama stomatologije u tretmanu bakterijskih, virusnih i gljivičnih infekcija. Brojna klinička istraživanja pokazala su uspešnost ove terapije i u terapiji raznih *solidnih tumora* u usnoj duplji i *prekancerovnih oralnih lezija* kao što su oralna leukoplakija, eritroplakija, oralna verukozna hiperplazija.

U *restaurativnoj stomatologiji* pominje se primena FDT u prevenciji i tretmanu karijesne lezije. Studije izvođene *in vitro* pokazale su značajni bakterijski efekat FDT koja dovodi do smrti i eliminacije G⁺ bakterija: *Streptococcus sorbrinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*. U *endodontskoj terapiji*, FDT se primenjuje u dezinfekciji inficiranog kanala gangrenoznih ili nekrotičnih korena zuba sa periapikalnim lezijama. Rađenje su brojne *ex vivo* studije i klinička istraživanja, koja su poredila FDT i razne konvencionalne dostupne metode dezinfekcije kanala korena zuba (natrijum hipohlorid, CHX). Pokazano je da primenom FDT dolazi do značajne redukcije čak i eliminacije patogenih bakterija kao što su *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces*, *Porphyromonas* i

Prevotella spp. iz kanala korena zuba. Veliku uspešnost FDT pokazala je i u terapiji *Candida albicans* i terapiji labijalnog herpes simplex virusa.

U parodontološkoj i ne-hirurškoj peri-implantnoj terapiji, FDT primenjuje se kao pomoćno terapijsko sredstvo u tretmanu ovih oboljenja. Fotoaktivna materija aplikuje se direktno u parodontalni i peri-implanti džep, dostižući najudaljeniju tačku i adherirajući se za koren zuba i implantnu površinu. Prednost ove terapije je eliminacija parodontopatogenih bakterija sa nepristupačnih mesta gde je standardnim instrumentima nemoguće pristupiti (duboki parodontalni džepovi, furkacije zuba, navoji implante površine, meki zid peri-implantnog ili parodontalnog džepa).

U eksperimentalnim istraživanjima, pokazano je da primenom FDT dolazi do eliminacije bakterija kao što su *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *A. Actinomycetemcomitans* i *S. Sanguis*. Takođe, zabeleženo je dolazi do značajne detoksifikacije i eliminacije endotoksina bakterija- lipopolisaharida, dovodeći do smanjenja njegove biološke aktivnosti na tkivo domaćina i smanjene produkcije pro-inflamatornih citokina [119-125].

Humane studije pokazale su da primenom FDT i fenotiazin-hlorid kao fotoaktivne materije u terapiji početnog stadijuma i stadijuma pune kliničke slike parodontopatije, dolazi do poboljšanja kliničkih i mikrobioloških parametara. Pored pozitivnih rezultata, nije uočena statistički značajna razlika između konvencionalne terapije i kombinovane konvencionalne i FDT. Ove rezultate potvrdili su Dilzis i saradnici, poređujući dejstvo visoko-energetskog lasera (KPT laser) sa FDT i konvencionalnom terapijom u terapiji hronične parodontopatije [126]. U ovoj studiji, konvencionalna terapija sa ili bez primene FDT imala je slične rezultate u kliničkim parametrima, 6 meseci nakon terapije. Takođe, korišćenjem FDT dolazi do smanjenja pro-inflamatornih citokina i proteina akutne faze kao što su IL-17, b-FGF, MIP-1. Suprotno ovom stavu, studija Giannopoulou i sar., pokazala je smanjenja dubine parodontalnog džepa, odsustvo krvarenja na provokaciju, povećanje nivoa pripojnog epitela, praćeno 3 meseca nakon kombinovane konvencionalne i FDT [127]. Primenom FDT kao pomoćnog sredstva, zabeleženo je poboljšanje kliničkih parametara i redukcija citokina TNF- α i RANKL citokina u terapiji agresivne parodontopatije [119].

Efikasno dejstvo pomoćne FDT u terapiji parodontopatije, dovodi do uvođenja FDT u terapiju peri-implantitisa, zbog ranije dokazane sličnosti ova dva oboljenja. Tokom ne-hirurškog tretmana peri-implantitisa, primenom pomoćne FDT dolazi do značajnog

poboljšanja kliničkih parametara kao što je smanjenje KNP i dubine peri-implantnog džepa, redukcija mikrobioloških parametara i smanjenje nivoa pro-inflamatornih citokina (IL-1 β , IL-8, IL-10) [123]. U *in vitro* istraživanju Hass i sar., pokazano je pomoću SEM mikroskopa, da nakon primene FDT ne dolazi do oštećenja različitih implantnih površina i daljeg rasta bakterija (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*) [75]. Više studija potvrdilo je pozitivne rezultate i eliminaciju parodontopatogena u terapiji peri-implantitisa primenom FDT [75, 128, 129]. Maroti i sar. su u *in vitro* studiji dobili značajnu redukciju patogenih mikroorganizama na anjonizovanim hrapavim implantnim površinama primenom FDT i hlorheksidina [89]. Korišćenjem FDT u dekontaminaciji implantne površine tokom hirurške terapije rađene na animalnim modelima, zabeležena je značajna redukcija patogenih bakterije (*Prevotella spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Streptococcus beta-haemolyticus*). Pokazano je da primenom FDT, praćeno kasnijom augmentacijom koštanog tkiva i bioresorptivnim membranama, dolazi do re-oseointegracije i porasta koštanog tkiva od 31 do 41% u poređenju sa konvencionalnim metodama dekontaminacije (0- 14%). Iako je prikazan pozitivan učinak FDT tokom hirurške terapije peri-implantitisa na poboljšanje kliničkih i mikrobioloških parametara, do sada ne postoje radovi koji se bave uticajem ove terapije i na imunološke parametre nakon hirurške procedure peri-implantitisa.

2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

2.1. Radna hipoteza

Peri-implantitis je multikauzalno oboljenje, čiji glavni uzročnici, parodontopatogeni i neadekvatni imuni odgovor organizma, dovode do promena u peri-implantnom tkivu uzrokujući resorpciju kosti, inflamaciju mekog tkiva i krvarenje na provokaciju.

FDT dovodi do značajnog smanjenja nivoa pro-inflamatornih citokina koji potpješuju i održavaju zapaljenski odgovor tkiva i indirektno učestvuju u koštanoj resorpciji, u odnosu na primenu CHX, 3 meseca nakon hirurške procedure. Primenom FDT omogućava se eliminacija parodontopatogena sa implantnih površina i okolnog peri-implantnog tkiva. Na ovaj način, dolazi do značajnog poboljšanja kliničkih parametara u poređenju sa primenom CHX. Adekvatna dekontaminacija implantne površine omogućava re-oseointegraciju i uspostavljanje ponovne funkcije implantata u usnoj duplji.

2.2. Ciljevi istraživanja

1. Proceniti postojanje razlike u kliničkim parametrima (peri-implantni status) kod implantata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom, između grupa kod kojih je primenjena fotodinamska terapija kao metod dekontaminacije implantne površine u odnosu na primenu hlorheksidina kao standardne metode dekontaminacije implantne površine, 3 meseca nakon hirurške procedure
2. Utvrditi prisustvo i promenu koncentracije pro-inflamatornih citokina, po grupama i između ispitivanih grupa i ispitati međusobni odnos koncentracije ispitivanih pro-inflamatornih citokina, pre i 3 meseca nakon terapijske procedure
3. Ispitati postojanje korelacije kliničkih parametara peri-implantnog tkiva i koncentracije ispitivanih pro-inflamatornih citokina, po grupama i između ispitivanih grupa, u periodu praćenja
4. Utvrditi prisustvo anaerobnih mikroorganizama u peri-implantnom džepu i na implantnoj površini, po grupama kao i između ispitivanih grupa, pre i nakon terapije

3. MATERIJAL I METODE

Kliničko istraživanje, selekcija pacijenata i terapija peri-implantitisa, izvođena je na dve kliničke institucije: Klinika za parodontologiju, Stomatološki fakultet, Univerziteta u Beogradu i Klinika za Oralnu implantologiju, Vojno-medicinska Akademija, Beograd. U istraživanje mogli su da uđu samo pacijenti koji su zadovoljavali odgovarajuće kriterijume za uključivanje u studiju (Tabela 2).

Tabela 2.

<i>Kriterijumi za uključenje u studiju</i>	<i>Kriterijumi za isključenje iz studije</i>
<ul style="list-style-type: none">✓ 18 i više godina starosti✓ Sposobni da razumeju informacije o protokolu studije <p>Prisustvo peri-implantitisa koje se definiše:</p> <ul style="list-style-type: none">• dubina peri-implantnog džepa- 5 mm ili više milimetara• krvarenje na provokaciju (KNP) na barem jednoj peri-implantnoj strani• radiografska analiza kosti (ortopantomograma i retroalveolarnog radiograma)sa prisutnim gubitkom koštanog tkiva >3 mm<ul style="list-style-type: none">• implant u funkciji ≥ 1 godine <ul style="list-style-type: none">✓ Postojanje adekvatnog nivoa oralne higijene kod pacijenata<ul style="list-style-type: none">✓ Da tri meseca unazad od momenta uzorkovanja nisu imali nikakav parodontološki/peri-implantni tretman	<ul style="list-style-type: none">• Sistemsko oboljenje: Diabetes melitus, reumatska oboljenja ili nekontrolisana sistemska oboljenja• Upotreba antibiotika u prethodna tri meseca• Upotreba anti-inflamatorika u prethodna šest meseci od trenutka uzorkovanja• Upotreba alkohola i droge u poslednjih 5 godina• Trudnoća i Laktacija

Procena količine resorpcije alveolarne kosti oko implantata dobijena je analizom i poređenjem rendgen snimka sa rendgen snimcima napravljenih nakon ugradnje implantata i protetskog opterećenja implantata. Gubitak kosti oko oseointegriranog implantata u funkciji

više od 2 navoja implantata predstavljao je dijagnostički parametar peri-implantitisa i uključujući kriterijum za ulazak u studiju.

Pre terapijskog postupka, pacijenti su bili upoznati sa protokolom istraživanja i morali su da daju pismenu saglasnost o dobrovoljnom učestvovanju u istraživanju, prethodno odobrenog od Etičkog komiteta (registarski broj 36/28).

Pacijenti koji su zadovoljavali kriterijume za uključivanje u studiju, metodom slučajnog izbora, bili su podeljeni u dve grupe: *eksperimentalnu grupu* i *kontrolnu grupu*. U eksperimentalnoj grupi, u cilju dekontaminacije implantne površine i periimplantnog tkiva, primenjena je fotodinamska terapija.

Ukratko, u istraživanju koristila se HELBO fotodinamska terapija (HELBO®; Bredent medical, Senden, Germany). Terapija se sastoji od primene fotoaktivne materije- fenotiazin hlorid (HELBO ® Blue photosensitizer; Bredent medical GmbH & Co KG) i diodnog lasera (HELBO® TheraLite Laser, HELBO® 2D Spot Probe; HELBO® TheraLite Laser HELBO® 3D Pocket probe, Bredent medical GmbH & Co KG), koji radi na talasnoj dužini od 660 nm i iradijaciji 100 mW. Dokazano je da primenom ovog vida terapije ne dolazi do promene mikro i makro strukture implantne površine [89, 130, 131]

3.1. Parametri praćenja

3.1.1. Klinički parametri praćenja i merenja

Praćeni su klinički parametri:

1. Krvarenje na provokaciju (KNP),
2. Indeks akumulacije plaka (PI)
3. Prisutnost supuracije (SUP)
4. Dubina peri-implantnog džepa (DPDŽ),
5. Nivo pripojnog epitela (NPE),
6. Marginalna recesija gingive (MRG)

Dubina peri-implantnog džepa predstavlja rastojanje od ivice mukoze do dna peri-implantnog džepa, merenog u milimetrima. Nivo pripojnog epitela definiše se kao rastojanje od ramena implantata do dna peri-implantnog džepa, merenog u milimetrima. Marginalna

recesija predstavlja razliku između dubine peri-implantnog džepa i nivoa pripojnog epitela. Krvarenje na provokaciju predstavlja pozitivan parametar i pokazatelj zapaljenske reakcije. Parodontalna sonda se aplikuje u peri-implanti džep 15 sekundi. Ukoliko je nakon izvlačenja sonde prisutno krvarenje iz peri-implantnog džepa, beleženo je u parodontalnom kartonu sa brojem 1. Odsustvo krvarenja na provokaciju nakon sondiranja označeno je brojem 0 [132]. Indeks akumulacije dentalnog plaka duž marginalne ivice gingive i prisustvo supuracije beleženo je brojevima: 0- nema, 1- prisutno. Radi preciznosti rezultata analize kliničkih parametara merenje se radilo u 6 tačaka (buko-mezijalna, buko-medijalna, buko-distalna, oro-mezijalna, oro-medijalna, oro-distalna), pri čemu se dobijao indeks zbirnih vrednosti iz ovih tačaka. Parodontalna sonda (PCPUNC 15, Hu Friedy, Chicago, USA) treba da bude tako postavljena da bude paralelna sa aksijalnom osovinom implantata pod pritiskom od 0.25N [58]. Parametri su mereni pre i tri meseca nakon terapijske procedure. Suprastruktura je bila uklonjena pre merenja kliničkih parametara, ukoliko je postojala mogućnost. Nova provizorna protetska nadoknada napravljena je 15 dana nakon završene terapijske procedure, ukoliko je bilo potrebno.

Klinički parametri mereni su na preostalim prisutnim zubima u šest tačaka (buko-mezijalna, buko-medijalna, buko-distalna, oro-mezijalna, oro-medijalna, oro-distalna). Anamnestički i klinički parametri beleženi su u jedinstveni evidencioni karton.

3.1.2. *Imunološki i mikrobiološki parametri praćenja*

3.1.2.1. *Imunološki parametri praćenja i uzimanje uzoraka peri-implantnog cervikalnog fluida (PICF)*

Prisustvo i koncentracija inflamatornih interleukina (IL-17A, IL-21, IL-22, IL-6 i IL-23 i IL-1 β) u peri-implantnoj cervikalnoj tečnosti (PICF) analizirano je pre terapijske procedure, mesec dana nakon kauzalne terapije i tri meseca nakon hirurške terapije peri-implantitisa.

Mesto uzorkovanja definisano je nakon kliničkog pregleda i rendgen snimka. Uzorci PICF uzimani su iz najdubljeg peri-implantnog džepa reprezentativnog implantata. Kako bi se izbegla moguća kontaminacija krvlju, uzorci su uzimani 24h nakon kliničkog merenja. Mesto uzorkovanja bilo je izolovano vaterolnoma i blago posušeno pusterom, kako bi se

izbegla kontaminacija pljuvačkom. Supragingivalni plak pažljivo je uklonjen vaterolnom. Sterilne filter tračice (Periopaper, Pro Flow, Amityville, NY, USA) plasirane su u peri-implanti džep do momenta prvog blagog otpora i ostavljene su tokom 30 sekundi. Uzorak kontaminiran krvlju bio je isključen iz biohemijske analize. Volumen PICF iz tračica, meren je pomoću kalibrisanog aparata Peritrona 6000 (InterstateDrug Exchange, Amityville, NY, USA). Filter tračice su zatim odlagane u zasebnu plastičnu epruveticu (Eppendorf) napunjenu sa 0.5 mL PBS-a. Uzorci su vorteksovani 10s i centrifugirani tokom 5 minuta na 3000g sa ciljem odvajanja ćelija i debrisa. Tračice su nakon ovog postupka eliminisane iz tubice. Dobijeni supernatant je suvo zamrzavati na -20°C i tako čuvati do momenta analiziranja.



Slika 2. Uzimanje uzorka PICF iz peri-implantnog džepa, pomoću Periopaper-a

3.1.2.2. *Kvantifikacija interleukina u gingivalnoj tečnosti*

Ispitivanje prisustva i koncentracije interleukina (IL-23, IL-1 β , IL-21, IL-22, IL-6 i IL-17A) u gingivalnoj tečnosti urađeno je pomoću imunoesejske (“sendvič” ELISA) metode. Za potrebe ovog istraživanja korišćeni su sledeći ELISA eseji:

1. Human IL-21 Platinum ELISA (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria);
2. Human IL-22 Platinum ELISA (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria);
3. Human IL-6 High Sensitivity ELISA (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria);

4. Human IL-17A High Sensitivity ELISA (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria)
5. Human IL-23 Platinum ELISA (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria);
6. Human IL-1 β High Sensitivity ELISA (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria);

Prilikom rada praćeni su protokoli proizvođaća dobijeni uz korišćene ELISA eseje. Ukratko, ciljni molekuli (interleukini) prisutni u uzorku ili standardima se vezuju za specifićna antitela prethodno fabrićki apsorbovana na dno bunara mikrolejta. Zatim, u bunare mikrolejta dodaju se antitela konjugovana sa biotinom koja se vezuju za ciljne molekule. Na ovaj naćin ciljni molekuli se nalaze u "sendviću" izmeću dva antitela. Nakon inkubacije nevezana antitela konjugovana sa biotinom se uklanjaju ispiranjem. U bunare se zatim dodaje kompleks Streptavidin-HRP koji se vezuje za antitela konjugovana sa biotinom. Posle inkubacije nevezani kompleks Streptavidin-HRP se uklanja ispiranjem. Nakon ove faze ispiranja dodaje se rastvor supstrata koji reaguje sa HRP pri ćemu se do sada bezbojni rastvor boji. Intenzitet boje rastvora odgovara kolićini ciljnih molekula prisutnih u uzorku ili standardu. Za razliku od protokola za odrećivanje koncentracije IL-21 i IL-22, kod odrećivanja koncentracije IL-6, IL-1 β i IL-17A fazi dodavanja supstrata i razvoja boje rastvora, usled aktivnosti HRP, prethode faze amplifikacije signala: dodavanje amplifikatora I (biotinil-tiramid) odnosno amplifikatora II (Streptavidin-HRP kompleks) praćeno inkubacijom i ispiranjem. Aktivnost HRP i razvoj boje se prekida dodavanjem kiseline nakon ćega se pomoću spektrofotometra Multiskan EX (Thermo Electron Corporation, Vantaa, Finland) na talasnoj dućini od 450 nm oćitava optićka gustina obojenog rastvora. Koncentracije ciljnih molekula u uzorku se odrećuju interpolacijom sa standardne krive formirane na osnovu poznatih koncentracija standarda i zabelećenih vrednosti optićkih gustina.

Dobijene koncentracije izraćene su kao pg uzorka/ μ l peri-implantne gingivalne tećnosti (PICF). Minimalne detekcione granice kitova bile su: IL-17A (0.01 pg/ml), IL-6 (0.03 pg/ml), IL-21 (20 pg/mL), IL-22 (5 pg/ml), IL-1 β (0.05 pg/ml), IL-23 (5 pg/ml).

3.1.2.3. *Mikrobiološki parametri praćenja, uzimanje uzoraka i mikrobiološka analiza dobijenog uzorka*

Za mikrobiološku analizu uzimana su četiri uzorka. Dva uzorka uzimana su iz peri-implantnog džepa/sulkusa pre bilo koje terapijske procedure i tri meseca nakon hirurške terapije. Druga dva uzorka uzimana su tokom same hirurške procedure.

Uzorci iz peri-implantnog džepa/sulkusa uzimani su pomoću sterilnog papirnog poena po istom principu kao i uzorci za imunološku analizu. Papirni poen je odmah stavljan u epruvetu koju ispunjava transportni supstrat koji održava vitalnost aerobnih, anaerobnih i uslovno anaerobnih bakterija, tokom 48h na sobnoj ili sniženoj temperaturi (ESWAB LQ Amies, COPAN Diagnostics inc., USA).

Tokom hirurške procedure, brisevi su uzimani sa implantne površine. Prvi bris uzet je nakon odizanja mukoperiostalnog flapa i uklanjanja granulacionog tkiva, bez prethodnog ispiranja hirurškog polja. Bris je odmah stavljan u epruvetu ispunjenom transportnim supstratom (ESWAB LQ Amies, COPAN Diagnostics inc., USA). Po istom postupku, drugi bris, uzet je sa implantne površine odmah nakon dekontaminacije implantne površine.

Uzorci su odmah transportovani u mikrobiološku laboratoriju, Instituta za mikrobiologiju Vojno-medicinske Akademije (VMA), radi daljeg postupka analize. Ukratko, uzorci su zasejavani standardnom procedurom za dijagnostiku aerobnih i anaerobnih bakterija. Svaki uzorak je zasejavan na dva krvna agara (Colombia agar, Odeljenje za pravljenje hranjivih podloga, VMA). Za detekciju kolonija anaerobnih patogena korišćen je krvni agar inkubiran na temperaturi od 36.5°C u kontejneru za anaerobe, dok je drugi krvni agar bio za detekciju aerobnih sojeva mikroorganizama inkubiranih na istoj temperaturi. Anaerobni uslovi u kontejneru obezbeđeni su pomoću generatorskih kesica za anaerobne uslove "GENbox anaer" (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Četrdeset osam sati nakon porasta kolonije zasejanih u anaerobnim uslovima, pikirane su sve različite bakterijske kolonije koji su ponovo zasejavane na onoliko krvnih ploča koliko je bilo detektovanih kolonija. Iz svake kolonije zasejavani su pikirani uzorci na dva krvna agara koji su bili inkubirani u aerobnim i anaerobnim uslovima. Uzorci, čiji je porast bio samo na ploči sa anaerobnim uslovima ušli su u postupak identifikacije sojeva. Proces identifikacije anaeroba urađen je paralelno pomoću dva anatomskih sistema: BBL Crystal ID Kit za anaerobe (Becton Dickinson, Oregon, USA) i VITEK 2 ID ANC (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Oba sistema rade po principu biohemijske analize.

3.2. Terapijska procedura

Terapija peri-implantitisa izvodila se u dve faze: *nehirurška i hirurška faza terapije*. Terapijski postupak primenjen je odmah nakon uzimanja uzoraka za imunološku i mikrobiološku analizu tokom druge pacijentove posete. Ispitanici su tokom ove posete biti obučeni o pravilnoj tehnici pranja zuba, upotrebi dentalnog konca i interdentalne četkice. Antiseptična sredstva za ispiranje usta nisu bila preporučena tokom istraživanja.

Kod svih pacijenta primenjena je inicijalna (nehirurška) faza terapije, sa ciljem smirivanja znakova zapaljenske reakcije pre hirurške procedure. Ova faza podrazmevala je obradu peri-implantnog džepa (mehanički debridman) pomoću titanijumskih kireta (Langer 5/6 Titanijum Curette) nakon čega je sledila i hemijska irigacija (fiziološkim rastvorom) peri-implantnog prostora. Pacijentima u eksperimentalnoj grupi nakon završene inicijalne terapije, u istoj poseti, primenjena je pomoćna fotodinamska terapija (aFDT). Nakon završene mehaničke obrade peri-implantnog džepa, u peri-implantni prostor aplikovana je fotoaktivna materija, 3 minuta, koja je zatim isprana fiziološkim rastvorom, prema uputstvu proizvođača. Fotoaktivna materija aktivirana je pomoću fiber optičkog vlakna diodnog lasera (HELBO[®] TheraLite Laser, HELBO[®] 3D Pocket Probe; Bredent medical GmbH & Co KG) u trajanu 60 s/zubu.

3.2.1. Hirurški tretman

Hirurška faza terapije peri-implantitisa izvođena je četiri nedelje nakon nehirurške faze terapije peri-implantitisa (prema Schwarz-u i sar.). Terapija se izvodila u lokalnoj infiltracionoj anesteziji (2% lidokain sa adrenalinom, 1:100000). Sulkusna incizija rađena je s vestibularne i oralne strane, nakon čega je odignut mukoperiostalni režanj, tupom disekcijom uz korišćenje raspatorijuma, vodeći računa da se očuva interdentalna papila. Nakon odizanja mukoperiostalnog režnja urađena je obrada hirurškog polja. Granulaciono tkivo uklonjeno je primenom titanijumske kirete (Langer 5/6 Titanijum Curette). Nakon pažljivog debridmana pristupilo se dekontaminaciji implantne površine i okolnog peri-implantnog tkiva.

- ***Eksperimentalna grupa (aFDT)- grupa „FDG“***

U eksperimentalnoj grupi (27 peri-implantitisa) za dekontaminaciju implantne površine i okolnog peri-implantnog tkiva korišćena je fotodinamska terapija. Fotoaktivna materija- fenotiazin hlorid, aplikovana je 3 minuta na implantnu površinu i okolno peri-implantno tkivo nakon čega je isprana fiziološkim rastvorom, prema uputstvu proizvođača. Fotoaktivne materije aktivirana je pomoću laserskog svetla diodnog lasera ((HELBO® TheraLite Laser, HELBO® 2D Spot Probe, Bredent medical GmbH & Co KG). Fiber vlakna sa aktiviranim laserskim svetlom, postavljano je na implantnu površinu i okolna peri-implantna tkiva u trajanju 30 s/implantatu.

- ***Kontrolna grupa- grupa „KG“***

Za dekontaminaciju implantne površine u kontrolnoj grupi (25 peri-impantitisa) primenjen je 1% gel hlorheksidin digukonata (Chlorhexamed® – Direkt). Gel je pažljivo aplikovan pomoću sterilnih nastavaka na implantnu površinu, vodeći računa da ne dođe do kontakta sa okolnom kosti. Nakon 1 minuta, gel je ispran fiziološkim rastvorom u trajanju od jednog minuta.

Augmentacija koštanog defekta rađena je u obe grupe nakon završenog debridmana i dekontaminacije peri-implantnog tkiva i implantne površine, primenom koštanog substituenta, goveđeg porekla i bioresorptivne membrane (BioOss® and BioGuide®, Geistlich biomaterials, North America). Mukoperiostalni režanj reponiran je i ušiven 4-0 svilenim koncem.

Tokom postoperativnog perioda ispitanicima nisu preporučena antiseptična sredstva. Ispitanicima je prepisan je antibiotik (Amoksicilin, 500mg, tri puta po dnevno po jedna kapsula). U slučaju alergije na penicilin, ordinirao se Klindamicin (600mg, dva puta dnevno). Medikamentozna terapija primenjiva se 5 dana.

3.3. *Period praćenja pacijenata*

Tokom perioda praćenja nakon hirurške terapije, ispitanici su zvani na redovne kontrolne preglede. Praćeno je pojava znakova komplikacija i zarastanje hirurške rane nakon hirurške intervencije prvog i trećeg dana. Hirurški konac uklonjen je 7 dana nakon hirurške intervencije. Supragingivalni dentalni plak ukoliko je bio prisutan tokom kontrolnih pregleda: 7-og, 15-og, 30-og, 60-og i 90-og dana, bio je uklonjen, a ispitanici su prošli kroz ponovnu re-motivaciju i obuku o pravilnom načinu i tehnici održavanja oralne higijene. Ukoliko je tokom ovog perioda došlo do komplikacija ili javljanja re-infekcije, ispitanik je bio isključen iz daljeg istraživanja.

Evaluacija kliničkih parametra rađena je trećeg meseca nakon terapijske procedure. Pre merenja kliničkih parametara uzeti su uzorci za imunološku i mikrobiološku analizu.

3.4. *Statistička analiza podataka*

Primarne varijable praćene u ovom istraživanju bile su promene kliničkih parametara: KNP, DPDŽ, NPE, PI, pre i nakon terapijske procedure. Vrednosti kliničkih parametara izražene su u srednjim vrednostima. Sekundarne varijable su imunološki i mikrobiološki parametri. Imunološki parametri predstavljali su ukupnu koncentraciju po uzorku pro-inflamatornih interleukina (IL-17A, IL-6, IL-21, IL-22) dobijenih iz PICF pre i nakon terapijskog postupka. Mikrobiološki parametri prikazani su kao prisutnost svih anaeroba (striktni ili fakultativni) detektovanih u peri-implantnom džepu/sulkusu i sa implantne površine.

NPE uzet je kao parametar za izračunavanje veličine uzorka neophodne za adekvatnu statističku analizu i jačinu studije. Veličina uzorka izračunata je sa ciljem da se otkrije najmanje jedna razlika između eksperimentalne grupe (primena FDT) i kontrolne grupe (primena CHX). Jačinom studije od 80%, $\alpha=0.05$ i pretpostavkom da standardna devijacija SD ne prelazu vrednost od 1.2, bilo je potrebno 25 implantata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom po grupi.

ANOVA model korišćen je za statističku evaluaciju efekta primenjenih terapijskih modaliteta i njenog uticaja na kliničke, imunološke i mikrobiološke parametre tokom vremena praćenja. Terapijske procedure korišćene su kao faktor, a početne vrednosti kao

kovarijable za modeliranje promena početnih vrednosti za svaki parametar tokom vremena. Mann Whitney test, χ^2 test and Fisher Test korišćen je za prikaz razlika u demografskih parametara, implantnih karakteristika, prisutnosti izolovanih sojeva mikroorganizama, i njihovo poređenje između ispitivanih grupe. Cochran Q test and Wilcoxon Signed Ranks korišćen je za prikaz razlika unutar grupa. Logistička regresija primenjena je za procenu prisutnosti marginalne recesije. LsMeans korišćen je za evaluaciju kliničkih i imunoloških parametara mesec dana i tri meseca nakon primenjenih terapijskih procedura. Pearsonov koeficijent korelacije korišćen je da bi se pokazalo da li postoji linearna povezanost između kliničkih parametara i interleukina kao i između samih interleukina pre i nakon terapije. Vrednost $p < 0.05$ smatrane su statistički signifikante. Vrednost 0 pokazuje da ne postoji korelacija između ispitivanih parametara.

4. REZULTATI

4.1. Demografski parametri i implantne karakteristike kod pacijenata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom

U randomizovanom-kliničkom istraživanju bilo je uključeno 52 pacijenata, kod kojih je primenjena hirurška terapijska procedura na implantatima sa znacima i simptomima peri-implantitisa, klasifikovanih prema stepenu destrukcije peri-implantnog tkiva [9]. Neželjeni efekti i komplikacije nisu zabeleženi nakon hirurške procedure i tokom perioda praćenja.

Pacijenti u obe grupe bili su približno iste starosne dobi (60 ± 7.7 godina života) bez statistički značajne razlike u distribuciji godina i pola između ispitivanih grupa (Tabela 3).

Tabela 3.

	FDG	KG	p- value
Broj ispitanika	27 (51.92%)	25 (48.08%)	
Pol Muški	17 (68%)	17 (62.96%)	0.702
Prosečna starosna doba (mean \pm SD)	57.59 \pm 10.9	60.00 \pm 7.7	0.479
Prosečno vreme (godine) od ugradnje implantata (mean \pm SD)	7.41 \pm 3.34	6.56 \pm 3.69	0.266
Pacijenti sa ranije lečenom parodontopatijom; n (%)	8 (29.6%)	10 (40%)	0.432

Rezultati istraživanja pokazuju da nije postojala statistički značajna razlika u vremenu od ugradnje implantata do pojave bolesti. Oko trećine ispitanika (35%), imalo je ranije dijagnostikovanu i lečenu parodontopatiju. Nije zabeležena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa u distribuciji prisustva ranije lečene parodontopatije.

Peri-implantitisi najviše su bili zabeleženi kod implantata proizvođača: Nobel Biocare® “Replace Select Tapered” (30.8%), Nobel Biocare® “Brånemark System” (26.92%) i BST (Vojnomedicinska akademija, Beograd) (26.92%).

Tabela 4. Implantne karakteristike

		FDG	KG	p-vrednost
Dizajn implantata n (%)	<i>Paralelan</i>	18 (72%)	13 (48.15%)	0.07
	<i>“Tapered”</i>	7 (28%)	14(51.85%)	
Implantna površina	<i>MTX</i>	0 (0%)	5 (18.5%)	0.01
	<i>OSS</i>	4 (16%)	1 (3.7%)	
	<i>POL</i>	4 (16%)	10 (37%)	
	<i>TiU</i>	17 (68%)	11 (40.74%)	

**MTX*- engl. acid washed surface, *Zimmer Dental Implant System*; *TiU*- titanijumsko-oksidsan površinski sloj, *Nobel Biocare® “Replace Select Tapered”* i *“Brånemark System”* implantni sistem; *POL*- polirane implantne površine, *BST* implantni sistem; *OSS*- *Osseospeed, Astra Tech* implantni sistem

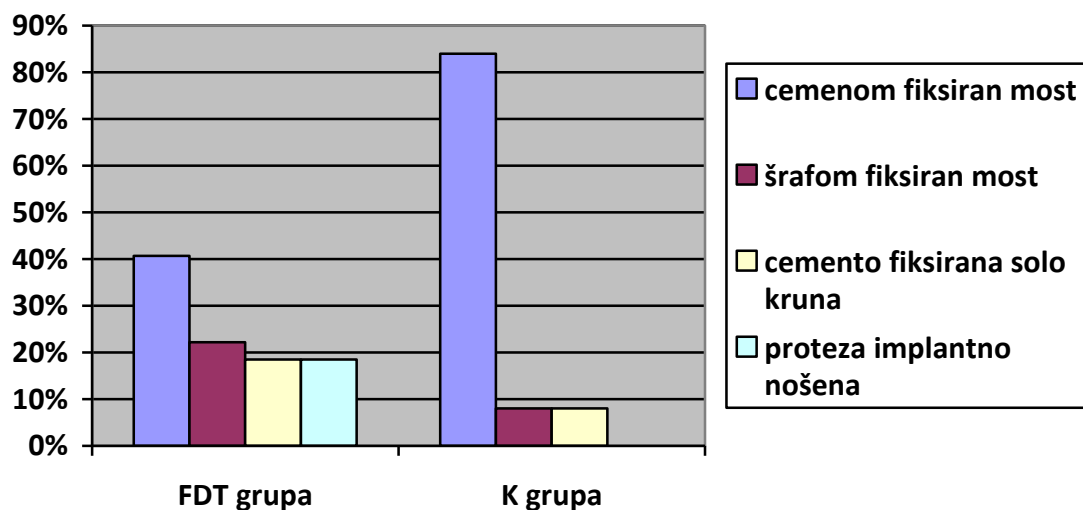
Makrodizajn i mikrodizajn implantne površine uticao je na pojavu peri-implantitisa. Peri-implantitisi najčešće su bili zastupljeni kod implantata sa paralelnim zidom (59.6%), sa ravnomernom raspodelom između grupa u odnosu na dizajn implantata ($p>0.05$). Nehomogenost između grupa postojala je u odnosu na vrstu implantne površine. Najučestalija pojava peri-implantitisa zabeležena je kod implantata sa *TiU* površinom- *Nobel Biocare® “Replace Select Tapered”* i *“Brånemark System”* (53.85%); i poliranih implantnih površina- *BST* implantni sistem (26.92%). Prema broju navoja implantati su bili podeljeni na implantate sa: jednostrukim, dvostrukim i trostrukim navojima, pri čemu nije postojala statistički značajna razlika u distribuciji navoja u odnosu na ispitivane grupe ($p>0.05$).

Peri-implantitisi najviše su bili lokalizovani na mandibuli. Iako je najveći procenat peri-implantitisa bio u molarnoj regiji (63%), rezultati istraživanja nisu pokazali povezanost uticaja lokalizacije peri-implantitisa sa kliničkim, mikrobiološkim i imunološkim parametrima ($p>0.05$), (Tabela 5). Najučestalija pojava peri-implantitisa bila je dijagnostikovana kod 32 pacijenta (62%) koji su imali cementiran fiksni rad (Grafikon 1.).

Tabela 5. Lokalizacija inseriranog implatata i tip koštanog defekta kod dijagnostikovanog peri-implantitisa

		FDG	KG	p-vrednosti
Vilična kost n (%)	Maksila	8 (29.6%)	6 (24%)	0.64
	Mandibula	19 (76%)	19 (70.4%)	
Lokalizacija implantata n (%)	Frontalna regija	0 (0%)	1 (4%)	0.06
	Premolarna regija	13 (48.15%)	5 (20%)	
	Molarna regija	14 (51.85%)	19 (76%)	

Grafikon 1. Protetski radovi i način njihove fiksacije na implantatima sa dijagnostikovanim peri-implantitisom



4.2. Evaluacija kliničkih parametara tri meseca nakon terapije peri-implantitisa

Svi tretirani peri-implantitisi bili su podeljeni prema stepenu destrukcije peri-implantnog tkiva na umereni (engl. *moderate*) i rani (engl. *early*) stadijum peri-implantitisa klasifikovani prema S. Froumu [9]. Od ukupnog broja peri-implantitisa koji su ušli u istraživanje (n=52), 12 peri-implantitisa pripadali su umerenom (engl. *moderate*) stadijumu PI sa prosečnom dubinom PDŽ preko 6 mm, dok je kod 31 peri-implantitisa detektovan rani (engl. *early*) stadijum PI prosečne dubine PDŽ preko 4 mm [9]. Kod ostalih peri-implantitisa (n=9) zabeleženo je prisustvo barem jednog PDŽ sa dubinom preko 6 mm, što je bio jedan od kriterijuma za ulazak u istraživanje.

DPDŽ, NPE

Srednje LSMeans vrednosti DPDŽ promenjene u odnosu na vrednosti zabeležene pre terapije, pokazuju da je 3 meseca nakon hirurške terapije, došlo do statistički značajnog smanjenja DPDŽ za -2.13 mm nakon primene FDT i -2.10 mm nakon primene CHX ($p < 0.0001$). Promene LSMean vrednosti NPE 3 meseca nakon terapije, pokazuju da je došlo do statistički značajnog smanjenja NPE u obe grupe za -1.61 mm u FDG i -1.97 mm u KG. Nije postojala statistički značajna razlika u primeni terapijskih modaliteta u DPDŽ i NPE između ispitivanih grupa u tromesečnom periodu praćenja ($p = 0.86$ za DPDŽ i $p = 0.3$ za NPE) (Tabela 6).

Tabela 6. Prikaz razlike LSMean vrednosti kliničkih parametara, tri meseca nakon terapije upoređenih sa zabeleženim početnim vrednostima

		LSMean (SD)	p-value ⁺	LSMean Change (SD)	p-value *
DPDŽ	FDG	-2.13 (0.15)	<0.001	-0.03 (0.17)	0.86
	KG	-2.1 (0.11)	<0.001		
NPE	FDG	-1.61 (0.22)	<0.001	0.36	0.22
	KG	-1.97 (0.23)	<0.001		
IKNP	FDG	-83.15 (3.37)	<0.001	-12.85	0.012*
	KG	-70.3 (3.5)	<0.001		

*Statistički značajna razlika tri meseca nakon terapije u odnosu na početne vrednosti, između dve ispitivane grupe; $p < 0.05$

MR, VDMR

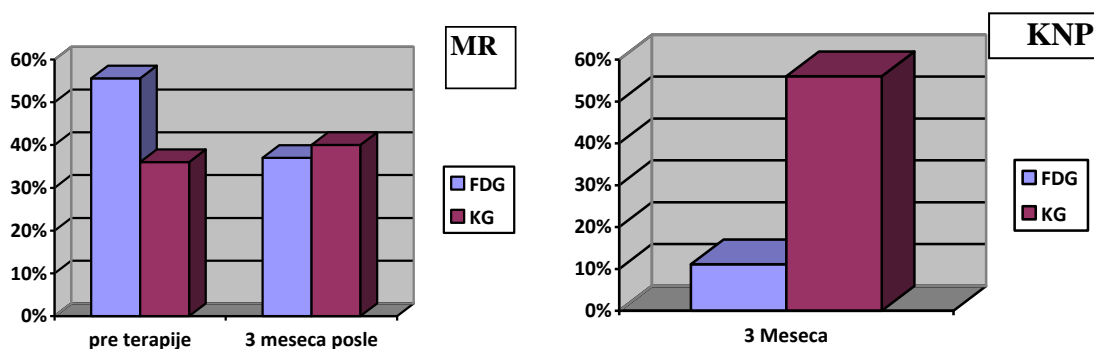
Prisustvo marginalne recesije, zabeleženo je u 55% u FDG i 36% u KG (Grafikon 2.), prosečnih vrednosti FDG: 0.57 ± 0.9 mm i KG: 0.83 ± 1 mm, pre početka terapije. Tri meseca nakon hirurške terapije, nije došlo do statistički značajne promene u pojavi MR u obe ispitivane grupe ($p > 0.05$). Prosečne vrednosti vertikalne dimenzije MR smanjile su se oko 0.1 mm u obe grupe.

BOP, SUP, PI

Prisustvo supuracije (SUP) zabeleženo je, pre početka terapije, kod 20% peri-implantitisa u KG i 44.4% u peri-implantitisa FDG. Tri meseca nakon terapije, nije detektovana pojava supuracije u PDŽ nakon kliničkog pregleda.

Pre terapije kod svih pacijenata zabeleženo je u više tačaka KNP, prosečnih vrednosti indeksa krvarenja (IKNP) 85 ± 18 . Tri meseca nakon primenjenih terapijskih metoda dekontaminacije implantne površine, u obe grupe došlo je do redukovanja znaka inflamacije odnosno KNP (FDG: 11%, KG: 52%) (Grafikon 3.). Primenom FDT došlo je do statistički značajnog smanjenja KNP za -83.15, u odnosu na zabeležene početne vrednosti, kao i u odnosu na primenu CHX ($p = 0.002$).

Grafikon 2 i 3. Prisutnost marginalne recesije (MR) i krvarenja na provokaciju (KNP), 3 meseca nakon terapije



U obe testirane grupe, zabeleženo je poboljšanje nivo oralne higijene nakon tri meseca. Iako je u obe grupe došlo do statističke značajne redukcije dentalnog plaka (Plak indek, Pi, $p < 0.0001$), nije zabeležena statistički značajna razlika u nivou Pi između grupa, $p = 0.86$.

Parodontalni status pacijenta

LSMean vrednosti kliničkih parametara merenih na preostalim zubima (FMPDŽS, FMNPES, FMKNPS, FMPIS) bile su statistički značajno promenjene 3 meseca nakon završene terapije, u obe ispitivane grupe ($p < 0.05$). Prosečna dubina PDŽ bila je statistički značajno smanjena 3 mesecna nakon primenjene FDT u odnosu na primenu CHX (Tabela 7).

Tabela 7. Evaluacija parodontalnog statusa tokom perioda praćenja

		<i>LSMean (SD)</i>	<i>p-value</i> ⁺	<i>LSMean Change (SD)</i>	<i>p-value</i> [*]
<i>FMPDŽS</i>	FDG	-0.44 (0.5)	<0.001	-0.18 (0.07)	0.01*
	KG	-0.25 (0.5)	<0.001		
<i>FMNPES</i>	FDG	-0.32 (0.07)	0.002	-0.15 (0.1)	0.15
	KG	-0.16 (0.07)	0.07		
<i>FMKNPS</i>	FDG	-27.23 (0.9)	<0.001	-2.27 (1.43)	0.12
	KG	-24.95 (1.01)	<0.001		
<i>FMPIS</i>	FDG	-28.83 (0.85)	<0.001	-2.15 (1.24)	0.09
	KG	-26.68 (0.89)	<0.001		

*Statistički značajna razlika tri meseca nakon terapije u odnosu na početne vrednosti, između dve ispitivane grupe; $p < 0.05$. FMPDŽS- full-mouth periodontal depth score, FMNPES- full-mouth clinical attachment score, FMKNPS- full-mouth bleeding on probing score, FMPIS- full-mouth plaque index score

4.3. Evaluacija koncentracija pro-inflamatornih interleukina u PICF

IL-17A

Nisu zabeležene statistički značajne promene LSMean vrednosti koncentracije IL-17A, mesec dana nakon inicijalne faze terapije, između i unutar ispitivanih grupa ($p > 0.05$). LSMean koncentracija IL-17A u PICF bila je statistički značajno smanjena za $-13.36 \text{ pg}/\mu\text{l}$ u FDG i $-9.79 \text{ pg}/\mu\text{l}$ u KG, tri meseca nakon hirurške procedure u odnosu na zabeležene početne vrednosti (Grafikon 4.). Koncentracija IL-17A statistički se značajno razlikovala 3 meseca nakon primene FDT u odnosu na primenu CHX ($p < 0.001$).

IL-6

U kontrolnoj grupi zabeleženo je statistički značajno smanjenje koncentracije IL-6 mesec dana nakon inicijalne terapije za $-1.86 \text{ pg}/\mu\text{l}$ u odnosu na detektovane početne vrednosti ($p = 0.03$). U eksperimentalnoj grupi nije zabeležena značajnija promena koncentracije ovog IL mesec dana nakon inicijalne terapije. LSMean koncentracije IL-6 bile su statistički značajno smanjene za $6.56 \text{ pg}/\mu\text{l}$ nakon primene FDT i za $-4.33 \text{ pg}/\mu\text{l}$ nakon primene CHX ($p < 0.0001$), u odnosu na početne vrednosti (Grafikon 7.). Statistički značajna razlika u smanjenju koncentracije IL-6 detektovana je u FDG u odnosu na KG, 3 meseca nakon hirurške terapije.

IL-1 β

U obe testirane grupe zabeleženo je da mesec dana nakon kauzalne terapije dolazi do statističkog značajnog smanjenja nivoa koncentracije IL-1 β , FDG: $-55.57 \text{ pg}/\mu\text{l}$ i KG: $-37.77 \text{ pg}/\mu\text{l}$ u odnosu na vrednosti zabeležene pre početka terapije (Grafikon 5.). Nije zabeležena statistički značajna razlika između grupa nakon kauzalne terapije ($p = 0.13$). LSMean koncentracije IL-1 β , u odnosu na početne vrednosti, bile su značajno statistički smanjenje za $-103.03 \text{ pg}/\mu\text{l}$ nakon primene FDT i za $-49.6 \text{ pg}/\mu\text{l}$ nakon primene CHX ($p < 0.0001$). Primenom FDT u eksperimentalnoj grupi, tri meseca nakon hirurške terapije, zabeleženo je

statistički značajno smanjenje koncentracije IL-1 β u odnosu na primenu CHX u kontrolnoj grupi ($p < 0.0001$).

IL-21

Mesec dana nakon inicijalne terapije zabeleženo je statistički značajno smanjenje LSMean vrednosti koncentracije IL-21 u PICF za -92.4 pg/ μ l samo u KG. Tri meseca nakon hirurške terapije, LSMean vrednosti koncentracije IL-21 bile su statistički značajno smanjene u obe ispitivane grupe u odnosu na početne koncentracije: -12.9 pg/ μ l u FDG i -13 pg/ μ l u KG (Grafikon 6.).

IL-22 i IL-23

U PICF nije zabeleženo prisustvo IL-22 i IL-23, kako pre tako i nakon primenjene terapije.

Nije zabeležena korelacija pre i nakon terapije, između ispitivanih kliničkih parametara i pro-inflamatornih interleukina. Promene vrednosti PICF pre terapije i nakon terapije, prikazane su u Tabeli 9.

Korelacija interleukina pre i tri meseca nakon hirurške terapije

Rezultati istraživanja pokazali su da postoji pozitivna korelacija između ispitivanih interleukina pre i tri meseca nakon terapije (Tabela 8). Pokazano je da pre terapije postoji statistički značajna povezanost između IL-21 i IL-17A ($p = 0.003$), dok ova značajnost nije postojala tri meseca nakon terapije ($p = 0.86$). Pozitivna korelacija i statistički značajna razlika postojala je između IL-17 i IL-1 β ($p = 0.005$); IL-17 i IL-6 ($p = 0.02$), 3 meseca nakon terapije.

Tabela 8.a. Međusobna korelacija ispitivanih interleukina pre terapije

	IL-17	IL-6	IL-21
IL-1 β	0.096	0.197	0.185
IL-21	0.405*	0.083	
IL-6	0.165		

b. Međusobna korelacija ispitivanih interleukina tri meseca nakon terapije

	IL-17	IL-6	IL-21
IL-1 β	0.382*	0.217	0.166
IL-21	0.025	0.078	
IL-6	0.322*		

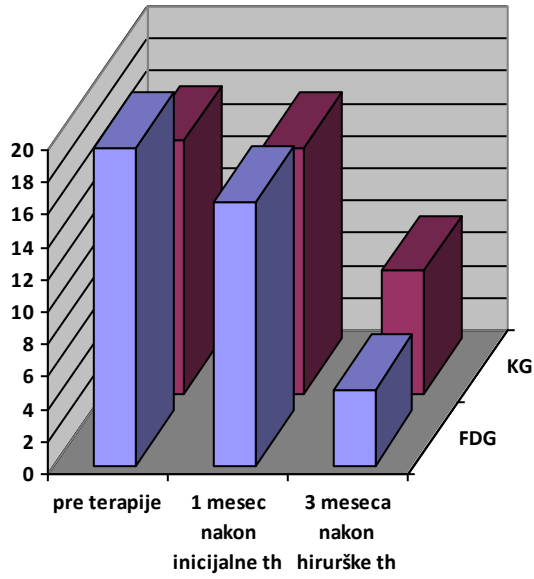
Pearsonov linearni koeficijent korelacije, CI=95% , pozitivan ili negativan koeficijent korelacije, * p<0.05

Tabela 9. Prikaz srednje vrednosti volumena peri-implantnog cervikalnog fluida pre terapije, mesec dana nakon inicijalne (kauzalne) terapije i 3 meseca nakon terapije

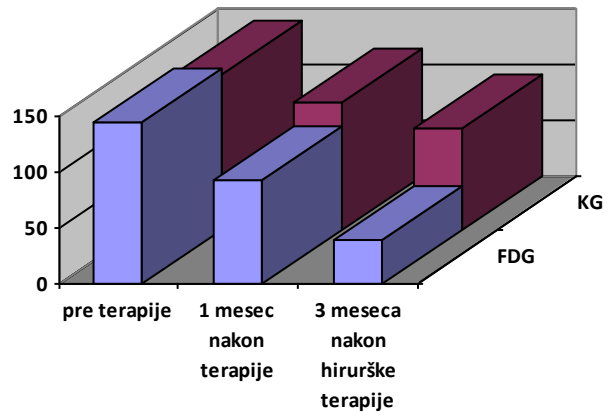
PICF	Pre terapije	Mesec dana	3 meseca
FDG	5.95	4.74	3.51
KG	5.79	5.61	4.51

Grafikon 4, 5, 6 i 7.

Koncentracija IL 17A (pg/ μ l)

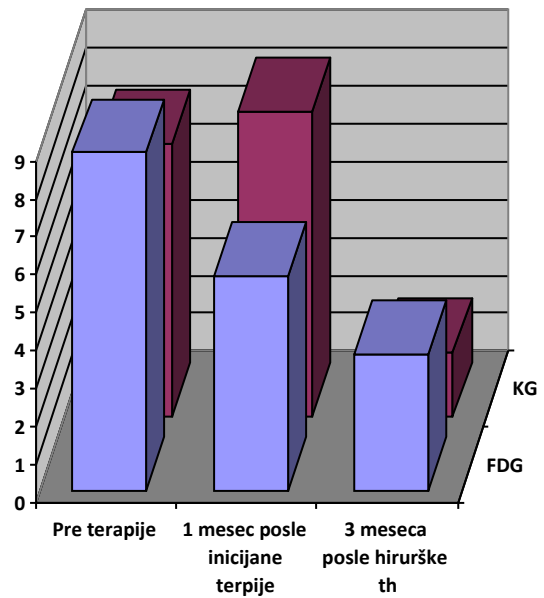
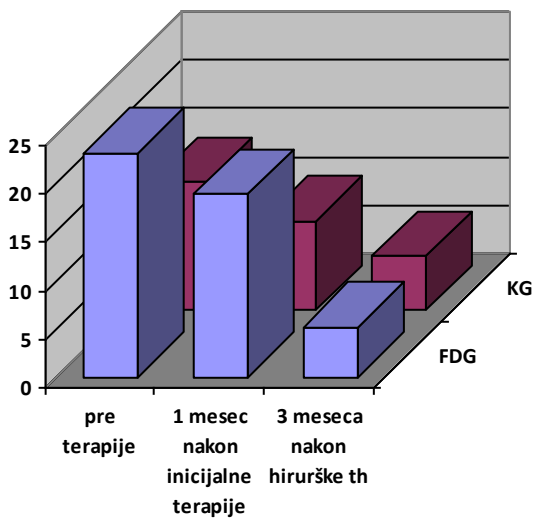


Koncentracija IL 1b (pg/ μ l)



Koncentracija IL 6 (pg/ μ l)

Koncentracija IL 21 (pg/ μ l)



4.4. Evaluacija mikrobioloških parametara

Striktno i fakultativno anaerobni mikroorganizmi: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces spp.*, *Veillonella*, *Streptococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Eubacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacteria* izolovani su iz PDŽ i sa implantne površine. Nije zabeležena statistički značajna razlika u distribuciji ovih anaeroba pre terapije ($p > 0.05$). Pojedini sojevi anaeroba bili su izolovani samo sa implantnih površina (Tabela 10, Grafikon).

Rezultati istraživanja pokazali su da nakon primene oba anti-inflamatorna terapijska modaliteta, odmah nakon dekontaminacije implantne površine i 3 meseca nakon terapije, dolazi do statistički značajne redukcije i u nekim slučajevima eliminacije anaerobnih mikroorganizama ($p < 0.05$), kao što su: *Clostridium spp.*, *Veillonella spp.*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus*, *Lactobacillus gasei*. Primenom FDT pokazana je statistički značajna redukcija određenih vrsta anaeroba u poređenju sa primenom CHX tokom perioda praćenja (*Staphylococcus aureus*, $p = 0.002$; *Peptostreptococcus asaccharolyticus*, $p = 0.035$; *Actinomyces naeslundii*, $p = 0.014$; *Prevotella intermedia*, $p = 0.011$; *Porphyromonas gingivalis*, $p = 0.001$; *Actinomyces meyeri*, $p = 0.007$, *Eubacterium spp.* $p = 0.01$, *Bifidobacteria spp.* $p = 0.05$, *Prevotella spp.* $p = 0.05$). *Candida albicans* izolovana je iz PDŽ u eksperimentalnoj grupi-14% i 16.7% u kontrolnoj grupi. U obe testirane grupe, nije zabeleženo prisustvo *Candide spp.* u PDŽ, 3 meseca nakon terapije ($p = 0.07$).

U kontrolnoj grupi, tri meseca nakon terapije iz PDŽ izolovani su sojevi anaerobnih mikroorganizama: *Lactobacillus spp.* i *Actinomyces odontoliticus* čije prisustvo je bilo statistički značajnije u odnosu na eksperimentalnu grupu, FDG ($p < 0.05$). Sojevi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* i *Treponema denticola* nisu bili izolovani i detektovani u PDŽ i na implantnim površinama.

Tabela 10. Prikaz nekoliko sojeva anaeroba u period praćenja. Broj (n) anaerobno kultivisano- pozitivnih i anaerobno kultivisano- negativnih implantata pre terapije, nakon dekontaminacije implantne površine; srednja vrednost (%) od ukupno prisutnih anaerobnih bakterija.

Anaerobi	FDG (n=27)				KG (n=25)			
	T _{pre}	S _{pre}	S _{post}	T _{post}	T _{pre}	S _{pre}	S _{post}	T _{post}
<i>Porfyromonas gingivalis</i>	4 (14.3)	8 (28.6)	0 (0)	0 (0) [¥]	4 (16.7)	2 (8.3)	0 (0)	0 (0)
<i>Prevotella intermedia</i>	5 (17.9)	6 (21.4)	0 (0)	0 (0) [¥]	1 (4.2)	3 (12.5)	0 (0)	0 (0)
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 (3.6)	4 (14.3)	0 (0)	0 (0) [¥]	2 (8.3)	5 (20.8)	0 (0)	0 (0) [¥]
<i>Actinomyces naeslundii</i>	2 (7.1)	8 (28.6)	0 (0)	3 (10.7) [¥]	4 (16.7)	6 (25)	0 (0)	2 (8.3)
<i>Veillonella spp.</i>	9 (32.1)	9 (32.1)	2 (7.1)*	2 (7.1) [¥]	3 (12.7)	9 (37.5)	7 (29.2)*	3 (12.5) [¥]
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 (0)	3 (10.7)	0 (0)	0 (0) [¥]	0 (0)	5 (20.8)	0 (0)	0 (0) [¥]
<i>Staphylococcus sachararolyticu</i>	0 (0)	2 (7.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (8.3)	0 (0)	0 (0)
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1 (3.6)	0 (0)	0 (0)	3 (10.7)	4 (16.7)	0 (0)	0 (0)	4 (16.7) [¥]

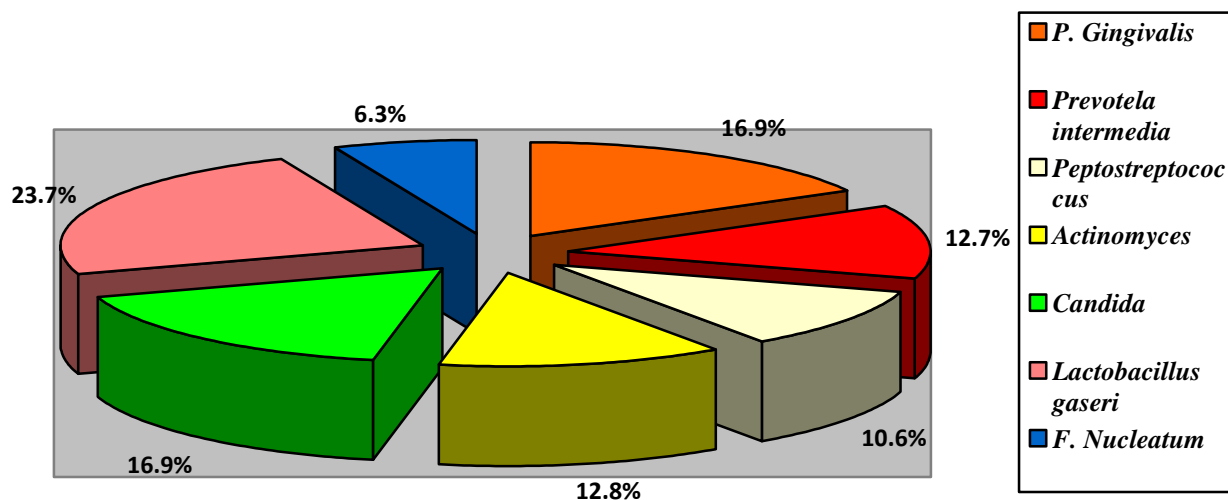
N=52. T_{pre}- pre terapije; S_{pre}- pre dekontaminacije– za vreme hirurške procedure; S_{post}- odmah nakon dekontaminacije– za vreme hirurške procedure; T_{post}- tri meseca nakon terapije.

* Statistički značajna razlika tri meseca nakon terapije u odnosu na početne vrednosti, pre i nakon dekontaminacije implantne površine između dve ispitivane grupe; p <0.05;

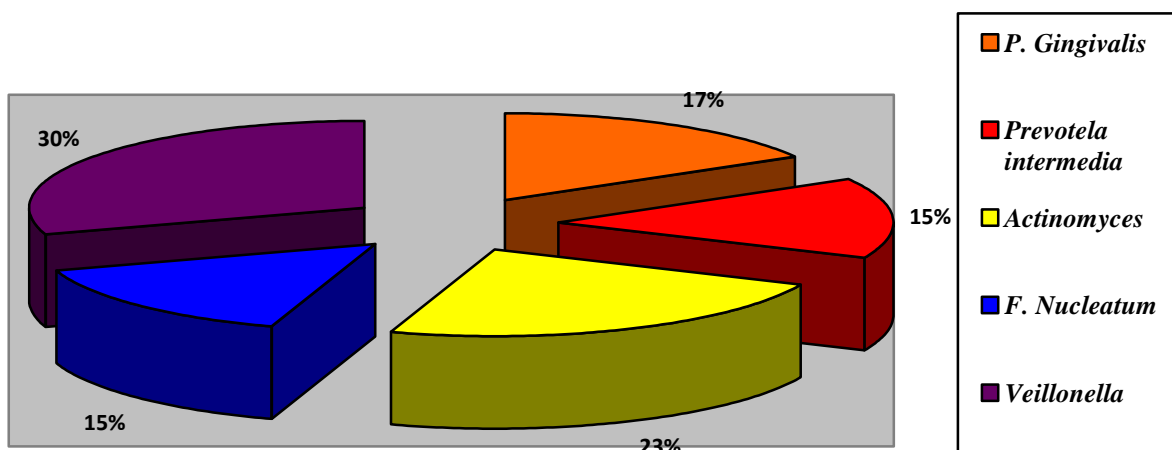
¥ Statistički značajna razlika tri meseca nakon terapije u odnosu na početne vrednosti, pre i nakon dekontaminacije implantne površine unutra dve ispitivane grupe; p < 0.05

Grafikon „Pie“ 8 i 9.

Distribucija anaeroba izolovanih iz peri-implantnog džepa



Distribucija anaeroba izolovanih sa implantne površine



Nehirurška faza terapije peri-implantitisa



Sto sa opremom za nehiruršku fazu terapije. (s leva na desno) optičko vlakno, fotoaktivna materija (Helbo Blue®), fiziološki rastvor, laser, stomatološki pregled sa titanijumskom kiretom, hlorheksidin gel

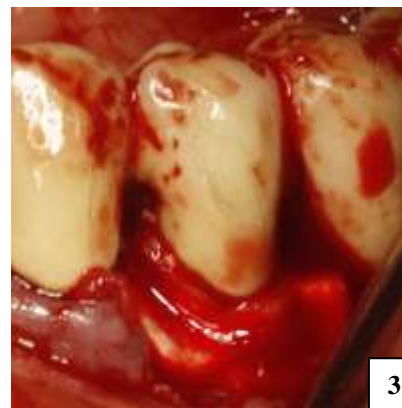
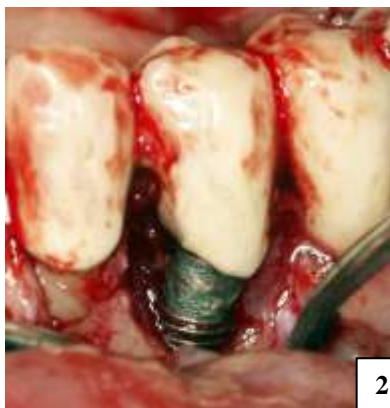


Slučaj 1.- Nehirurška faza peri-implantitisa. 1. Peri-implantitis; 2. Mehanička obrada peri-implantnog džepa; 3. Aplikacija fotodinamske terapije; 4. Ispiranje fotoaktivne materije fiziološkim rastvorom; 5. Aktivacija fotoaktivne materije pomoću diodnog lasera (Helbo[®]).

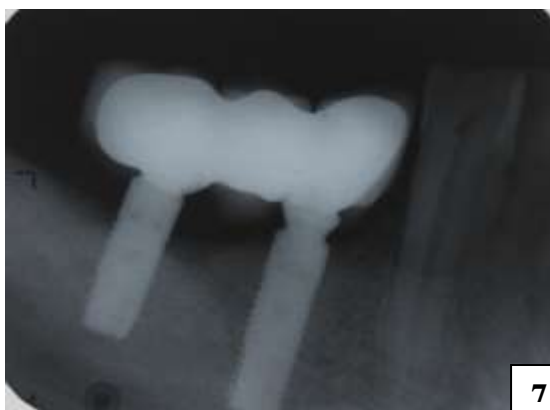
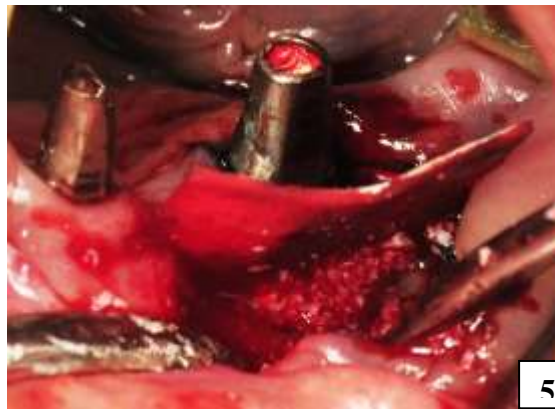
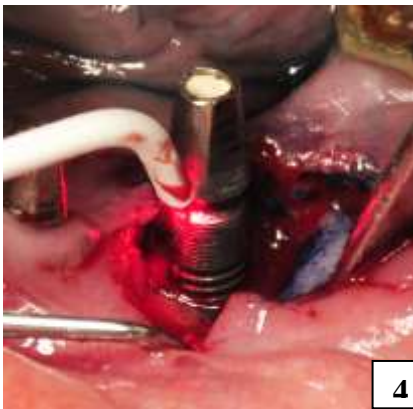
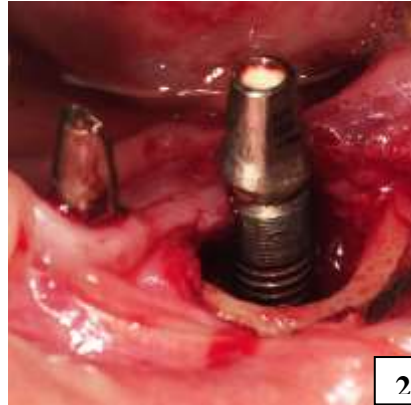


Slučaj 2.- Nehirurška faza peri-implantitisa. 1. Peri-implantitis; 2. Merenje dubine peri-implantnog džepa; 3. Mehanička obrada peri-implantnog džepa.

Hirurška faza peri-implantitisa



Slučaj 3.- Hirurška terapija peri-implantitisa (Kontrolna grupa). 1. Retroalveolarni snimak, prikaz koštanog defekta; 2. Peri-implantni defect 3. Postavljanje bioresorptivne membrane 4. Repozicija mukoperiostalnog režnja; 5. Klinička slika 3 meseca nakon terapije



Slučaj 4. Hirurška faza peri-implantitisa. 1. Retroalveolarni snimak-prikaz peri-implantnog koštanog defekta; 2. Peri-implantni koštani defect; 3. Aplikacija fotoaktivne materije (Helbo Blue®); 4. Aktivacija fotoaktivne materije pomoću diodnog lasera (Helbo®); 5. Aplikacija koštanog zamenika i bioresorptivne membrane u peri-implantni koštani defect; 6. Repozicija mukoperiostalnog režnja; 7. i 8. Šest meseci nakon terapije- klinički i retroalveolarni prikaz

5. DISKUSIJA

Rezultati istraživanja, dobijenih tri meseca nakon sprovedene hirurške terapije peri-implantitisa pokazali su da obe metode dekontaminacije implantne površine dovode do poboljšanja kliničkih, imunoloških i mikrobioloških parametara.

5.1. Uticaj demografskih parametara i implantnih karakteristika kod pacijenata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom

Rezultati našeg istraživanja pokazali su ravnomernu raspodelu pacijenata po polu, približno iste starosne dobi (60 ± 7.7 godina života). Kao i u rezultatima drugih studija, potvrđeno je da preraspodela pacijenata po polu i godištu nema uticaj na pojavu peri-implantitisa. U studiji Olmedo-Gala i sar., pokazan je veći rizik gubitka implantata kod osoba muškog pola ($p=0.001$) [133], što je suprotno rezultatima ranijih istraživanja. Uticaj pola na pojavu peri-implantitisa, u ovoj studiji, može se objasniti kao nehomogenost preraspodele uzoraka i zastupljenosti većeg broja ispitanika muškog pola. U istoj studiji navodi se, da je gubitak implantata bio veći kod pušača, osoba muškog pola. Brojne studije preseka navode da pušenje predstavlja jedan od najčešćih predisponirajućih faktora rizika za pojavu peri-implantitisa [8] i gubitak oseointegriranog implantata [1, 134]. Smatra se da pušenje za 4.7 puta povećava rizik za nastanak peri-implantitisa [8]. Skorašnja meta-analiza povezuje pušenje i veliki broj konzumiranih cigara dnevno (više od 15) sa povećanjem gubitka koštanog tkiva, za 0.16 mm na godišnjem nivou, oko oseointegriranog implantata [134]. Takođe, pušenje može da utiče na proces zarastanja rana u usnoj duplji. Oseointegracija i adekvatan nivo oralne higijene bio je statistički značajno smanjen kod pušača [135]. U našem istraživanju zabeleženo je da je samo 25% od ukupnog broja ispitanika konzumiralo manje od 10 cigara dnevno. Za razliku od prethodnih studija, rezultati našeg istraživanja nisu dokazali povezanost i uticaj cigara na pojavu peri-implantitisa, zbog malog broja ispitanika koji su bili pušači i koji su konzumirali manje od 10 cigara/danu.

Pušenje i dijagnostikovana parodontopatija predstavljaju povezane faktore koji povećavaju rizik za nastanak peri-implantitisa i gubitak oseointegriranih implantata [1]. U

našem istraživanju kod trećine ispitanika kod kojih je na implantnim površinama dijagnostikovano peri-implantitis, zabeleženo je prisustvo ranije lečene hronične parodontopatije. Ranija istraživanja pokazala su da je parodontopatija jedan od značajnih faktora rizika koja se povezuje sa nastankom peri-implantitisa i gubitkom dentalnih implantata [1, 8, 133]. Neredovne kontrole i održavanje postignutih terapijskih rezultata, mogu da doprinesu recidivu parodontopatije. Ova pojava može da doprinese progresiji ovog oboljenja i pogoršanju kliničkih parametara. Olmedo-Gala sa saradnicima pokazao je da su gubici oseointegriranih implantata bili znatno veći i češći kod pacijenata sa uznapredovanom nelečenom parodontopatijom ($p < 0.05$) [133]. U rezultatima našeg istraživanja prikazana je homogena distribucija ranije lečene parodontopatije, po grupama, kod pacijenata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom. Polazeći od ranije spomenutih činjenica i uticaja parodontopatije na pojavu peri-implantitisa [1, 27], možemo pretpostaviti da je prisustvo recidiva ranije lečene parodontopatije kod trećine pacijenata koji su ušli u istraživanje, moglo biti potencijalni „okidač“ za pojavu znakova peri-implantitisa.

Najveći broj implantata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom bio je lokalizovan na mandibuli, najviše u molarnoj (63%) regiji. Distribucija zastupljenosti peri-implantitisa po regiji u ovom istraživanju razlikuje se od studije Vervaeke i sar. [134], gde su implantati integrisani u maksili, pokazali veći stepen gubitka peri-implantne kosti i pojavu peri-implantitisa, u odnosu na implantate integrisane u mandibuli. Suprotno ovoj studiji, u drugoj studiji pokazano je da gubitak implantata nije bio povezan sa ugradnjom implantata u maksilu ili mandibulu [133]. Ipak, dosadašnje studije tokom dugogodišnjeg perioda praćenja, dokazale su da lokalizacija ne utiče na pojavu peri-implantitisa i gubitka implantata, ali da je njihova pojava bila češća i veća u posteriornoj regiji, što se podudara sa rezultatima našeg istraživanja [133, 136]. Poznato je da se kvalitet i građa koštanog tkiva znatno razlikuje po vilicama i regijama. Lošiji kvalitet kosti, u posteriornim regijama obe vilice, može biti jedan od objašnjenja uzroka i nastanka peri-implantitisa i kasnijeg gubitka implantata. Mandibularnu kost u posteriornoj regiji najčešće čini gusta kompaktna kost. Iako ona predstavlja jednu od idealnijih uslova za postizanje dobre oseointegracije, takođe, može da predstavlja povećan rizik za nastanak nekroze kao posledice pregrevanja koštanog tkiva tokom hirurške faze ugradnje implantata. Ovo kasnije može uticati na proces oseointegracije i opstanak implantata u usnoj duplji. Takođe, pokazano je da u posteriornoj regiji tokom dugogodišnjeg perioda praćenja, dolazi do opadanja gustine koštanog tkiva i povećanja okluzalnog stresa na oseointegrirane implantate, koji zajedno mogu dovesti do pojave per-

implantitisa i gubitka implantata [136]. Na gubitak koštanog tkiva oko implantata značajno utiče debljina gingive i prisutnost keratizovane gingive [137]. Posteriorna regija donje vilice karakteriše se čestim odsustvom ili minimalnom količinom tj. širinom keratizovane gingive (KG). Usled neadekvatne količine ili odsustva KG tokom funkcija žvakanja ili govora, stvaraju se prostori između peri-implantnog tkiva i implantata u funkciji koji nastaju povećanjem vuče inseriranih mišićnih vlakana i bukalne mukoze oko oseointegriranog implantata. Na ovaj način dolazi do akumulacije dentalnog plaka i otežanog održavanja oralne higijene, što dovodi do inflamacije peri-implantnog tkiva i kasnije pojave marginalne recesije oko oseointegriranog implantata.

Jedna od novijih klasifikacija peri-implantitisa deli ova oboljenja prema njihovoj etiologiji [13]. Prema etiologiji nastanka peri-implantitisa pored bioloških faktora, brojni jatrogeni faktori, biomehanički faktori i karakteristike samih implantata (makro- i mikro-dizajn) značajno doprinose pojavi i progresiji ovog oboljenja [21].

U istraživanju pokazana je povezanost karakteristika i dizajna implantata sa pojavom peri-implantitisa. Poznata je ranije navedena činjenica, da mikro-dizajn i površina implantata mogu da stvaraju veći stres na koštano tkivo, koje može da uslovi gubitak kosti, naročito u kontaktu vratnog dela implantata i koštanog tkiva. Rezultati našeg istraživanja pokazali su da je učestalija pojava peri-implantitisa bila kod implantata sa paralelnim zidom (59.6%). Peri-implantitisi bili su učestaliji kod implantata sa TiU površinom (53.85%) implantnih sistema: Nobel Biocare® “Replace Select Tapered” i “Brånemark System”, dok je manja zastupljenost ovog oboljenja bila dijagnostikovana kod implantnih sistema sa poliranom površinom (26.92%): BST implantni sistem. Najmanja zastupljenost peri-implantitisa bila je dijagnostikovana kod implantnih sistema sa površinom “OsseoSpeed TX profil”, Astra Tech implantni system (9.6%) i MTX površinom, Zimmer Dental implantnog sistema (9.6%). Nehomogena preraspodela i mali broj uzorka različitih implantnih površina, koji su ušli u ovo istraživanje može biti jedno od objašnjenja pojave peri-implantitisa kod implantata sa TiU površinama. Različito obrađene i tretirane implantne površine imaju za cilj da indukuju različite odgovore koštanog mehanizma, sudelujući na ovaj način u procesu oseintegracije. Tokom dugogodišnjeg perioda opservacije, brojne heterogene studije pokušale su da pokažu uticaj implantnih površina na gubitak peri-implantnog tkiva i njihovu povezanost sa peri-implantitisima. Slično našim rezultatima, u sistematskom radu i meta-analizi [138], pokazan je veći stepen gubika koštanog tkiva i pojava peri-implantitisa kod implantata sa hrapavom i

tretiranom površinom, u poređenju sa implantatima polirane površine. Suprotno našim rezultatima, TiU površine implantata pokazale su veći stepen preživljavanja na jednogodišnjem nivou sa gubitkom koštanog tkiva 1.4 mm, u poređenju sa mašinsko-tretiranim implantnim površinama (1.7 mm). Usled prisutnih brojnih heterogenih studija, sa različitim dizajnima i površinama implantata i različitim opservacionim periodom praćenja promena peri-implantnog koštanog tkiva, potrebno je evaluirati povezanost istih tipova implantnih površina i gubitka kosti nakon više od 10-godišnjeg perioda opterećenja implanta u usnoj duplji. Kod implantata u našem istraživanju zabeležena je pojava peri-implantitisa i gubitka koštanog tkiva preko 5 mm, nakon više od 7 godina od funkcionalnog opterećenja. Iako postoji heterogenost u distribuciji implantnih površina u ovom istraživanju, zabeležena pojava peri-implantitisa (>10 godina) može ukazati na agresivniji uticaj TiU implantnih površina na peri-implantno koštano tkivo. Eksperimentalna studija rađena na psima, pokazala je veću zastupljenost peri-implantitisa kod anodiziranih površina (TiUnite) u odnosu na SLA implantne površine, mašinski obrađene ili kiselinama-jetkane implantne površine, što se podudara s rezultatima našeg istraživanja [139].

Implantati u studiji bili su podeljeni prema broja navoja na jednostruke, dvostruke i trostruke, pri čemu nije postojala statistički značajna razlika u distribuciji navoja u odnosu na ispitivane grupe i pojavu peri-implantitisa ($p > 0.05$). Studija rađena na 3D kompjuterskom modelu pokazala je da, veći broj navoja implantata može da dovede do pojave većih aksijalnih sila koje delujući na koštano tkivo indukuju pojavu koštanog stresa. U zavisnosti od načina distribucije sile i broja navoja, povećanjem koštanog stresa dolazi do gubitka koštanog tkiva. Pored javljanja koštanog stresa, studija je pokazala da su jednostruki, dvostruki i trostruki navoji imali sličan efekat na stabilnost implantata [140].

Dizajn i tip protetskog rada na implantatima, značajno može da utiče na pojavu i progresiju peri-implantitisa. Neadekvatan protetski rad može da otežava pravilno održavanje oralne higijene, usled čega dolazi do akumulacije dentalnog plaka i pojave znakova peri-implantitisa. Statistički značajna pojava peri-implantitisa u našoj studiji, bila je kod ispitanika sa fiksnim radom (most) ili solo krunama, kod kojih je retencija postignuta glas-jonomer cementom. Peri-implantitisi bili su dijagnostikovani kod više od 61.5% pacijenata sa cementno-fiksiranim mostom, dok je u znatnom manjem broju peri-implantitis bio dijagnostikovani na fiksnim radovima čiji je retencija postignuta pomoću šrafa (15.4%). U dosta manjem procentu (9.6%), prisutnost peri-implantitisa zabeležena je kod implantno-

nošenih proteznih radova. Suprotno našim rezultatima, u studija Neidira i sar., prisustvo komplikacija nakon 8 godina bilo je češće kod implantno-nošenih totalnih proteza. Takođe, nije zabeležen uticaj cemento-retiniranog fiksnog rada na pojavu peri-implantitisa [141]. Slično rezultatima našeg istraživanja, u studiji Linkevicius i sar. pojava peri-implantitisa bila češća kod implantno-nošenih fiksnih mostova, fiksirani pomoću cementa [25]. Takođe, studija rađena na uskim implantatima, potvrdila je češću pojavu komplikacija (16.8%) i gubitka koštanog tkiva kod fiksnih radova koji su cementno-retinirani [136]. Češća pojava peri-implantitisa kod cementiranog fiksnog rada može se objasniti pojavom viška cementa (rezidualnog) koji ostaje u prostorima oko oseointegrisanog implantata. U ranijim studijama [25, 142-144], rezidualni cement prikazan je kao jedan od jatrogenih faktora koji dovodi do komplikacije i pojave akutne faze peri-implantitisa ili gubitka samog implantata. Takođe, pokazana je i čvrsta povezanost rezidualnog cementa u nastanku i progresiji hroničnog peri-implantitisa. Sam cement je hrapave strukture i predstavlja idealno mesto za akumulaciju i retenciju dentalnog plaka. Odsustvo kolagenih vlakana oko implantata, omogućava lakše potiskivanje cementa u peri-implantne prostore i brži nastanak infekcije. Otežano uklanjanje viška cementa, može se objasniti i činjenicom da usled potrebe postizanja adekvatnih estetskih zahteva, ivice krunica najčešće se nalaze subgingivalno u peri-implantnom tkivu. Plasirane krunice više od 1.5 mm subgingivalno, onemogućava potpuno i adekvatno čišćenje i uklanjanje viška cementa iz ovih prostora usled čega dolazi do jatrogene pojave peri-implantnog oboljenja.

5.2. Evaluacija kliničkih parametara tri meseca nakon terapije peri-implantitisa

Jedan od glavnih izazova u terapiji peri-implantitisa je adekvatna dekontaminacija implantne površine. Da bi se uspostavila ponovna re-oseointegracija potrebno je da se potpuno eliminišu svi faktori (biološki i mehanički) koji su doveli do pojave peri-implantitisa i da se uspostavi adekvatni uslovi, koji su postojali pre kontaminacije implantne površine i peri-implantnog tkiva. Inficirana površina dovodi do smanjenja energije na implantnim površinama, što onemogućava ponovni koštani rast i uspostavljanje kontakta sa titanijumskom implantnom površinom. Dekontaminacija implantne površine predstavlja jedan od važnijih koraka u obezbeđivanju uslova za ponovnu re-oseointegraciju. Idealni metod dekontaminacije, podrazumeva ne samo obezbeđivanje čiste i biokompatibilne implantne površine, već i eventualno vraćanje prvobitnih implantnih karakteristika koji su postojali pre kontaminacije [145]. U dosadašnjoj literaturi, nije utvrđen standardni ili idealni protokol koji bi omogućio adekvatnu dekontaminaciju implantne površine i obezbedio dugotrajan uspeh terapije peri-implantitisa. Predložene su razne metode dekontaminacije implantne površine kao što su mehanički debridman sa aplikacijom lokalnih ili sistemskih antibiotika ili antiseptika [61, 83, 96, 146], upotreba lasera, implantoplastika [81, 87, 111] ali nisu omogućile ponovnu pojavu re-oseointegracije. Takođe, predložene metode nisu dale dugotrajniji uspeh tokom održavanja postignutih kliničkih rezultata. Većine opisanih metoda dale su neželjene i sporedne efekte, nakon njihove primene kao što su bakterijska rezistencija i alergijska reakcija. Primena antibiotika lokalno ili sistemski ima za cilj da suzbije i eliminiše infekciju iz peri-implantnog tkiva. Sistemska upotreba antibiotika često prvo prouzrokuje neželjene efekte u organizmu, pre nego što se postigne eradikacija infekcije u kosti. Iako lokalna upotreba antibiotika ima za cilj da smanji sistemsku toksičnost tokom suzbijanja infekcije, pažnja mora da se obrati na uticaj ovih lekova na vitalnost ćelija i osteogenetske aktivnosti, kao i mogućnosti stvaranja toksične reakcije na mestu njene aplikacije [147].

Primena implantoplastike pored pozitivnih ima i neželjene efekte. Jedan od nedostataka implantoplastike predstavlja pojava marginalne recesije, koja stvara funkcionalan i estetski nedostatak [81, 86]. Tokom izvođenja ove metode, dolazi do povećanje

temperature implantnog tela, koje može da utiče na čvrstoću implantata i njegovog okolnog tkiva, što istovremeno i predstavlja jednu od negativnih strana implantoplastike [91, 148]. Poznati antimikrobni efekat dentalnih lasera, omogućio je široku primenu ovih uređaja u dezinfekciji implante površine [75, 128, 129, 148-150]. Pored pozitivnih efekata, upotrebom dentalnih lasera nije postignuta adekvatna dekontaminacija implante površine i potpuna eliminacija mikroorganizama. Primenom dentalnih lasera može doći do povećanja temperature implantnog tela i promena same implante površine, stvarajući na taj način oštećenje samog implantata i okolo peri-implantnog tkiva [110, 151, 152].

Kao metod dekontaminacije implantne površine u našem istraživanju koristio se 2% hlorheksidin diglukonat (CHX) u gelu i fotodinamska terapija (FDT). Široka upotreba CHX kao zlatnog standarda i njegov pozitivan efekat opisan je u brojnim publikacijama u tretmanu parodontopatije i peri-implantitisa, kako *in vitro* i *in vivo* studijama, tako i u studijama na ljudima. Za razliku od same laserske terapije, fotodinamska terapija, predložena je kao manje štetno i efektivnije rešenje u dekontaminaciji implantne površine [75, 129, 150]. Ovo neinvazivno terapijsko sredstvo dovodi do eliminacije mikroorganizama uzročnika parodontopatije i peri-implantitisa [75, 128, 129]. Pozitivni efekat ove terapije opisan je u toku nehirurške faze, odnosno dekontaminacije parodontalnih i peri-implantnih prostora [114]. Primenom FDT i mehaničke obrade parodontalnog džepa pokazano je poboljšanje kliničkih parametara: redukcija dubine parodontalnog džepa i smanjenje krvarenja na provokaciju praćenih nakon tri i šest meseci [153-155]. Ovaj terapijski modalitet svoju široku primenu našao je u nehirurškoj terapiji peri-implantitisa, postižući poboljšanje kliničkih parametara nakon određenog perioda praćenja [125, 156]. Ipak, Scwarz i sar.[14, 63, 157, 158] navode limitiran efekat primene samo nehirurške terapije u tretmanu peri-implantitisa. Nehirurška terapija peri-implantitisa podrazumeva mehaničku obradu sa ili bez primene lokalnih antibiotika, FDT ili dentalnih lasera, koja daje kratkoročni uspeh terapije od 6 do 12 meseci sa ponovnom mogućnosti javljanja re-infekcije nakon ovog perioda. Jedan od objašnjenja ove pojave i nepredvidljivosti nehirurške terapije može se objasniti nemogućnošću potpunog debridmana i dekontaminacije tretiranog tkiva, kao i nepotpune eliminacije bakterija sa implantnih površina i okolnog tkiva. Ovo može da dovede do odsustva kontakta novostvorene kosti i implantat, nakon dekontaminacije. Zbog toga, prednost se daje hirurškoj terapiji koja se ogleda u direktnom pristupu implantnoj površini i koštanim defektima nakon odizanja mukoperiostalnog režnja. Takođe, tokom hirurške terapije, pod kontrolom oka, moguće je izvesti potpuno uklanjanje granulacionog tkiva i

dekontaminaciju eksponirane implante površine i okolnog tkiva sa primenom regenerativne procedure kao što je koštani graft/zamenik za koštano tkivo, sa ili bez vođene koštane i tkivne regeneracije (*engl.* Guide bone and tissue regeneration, GBR and GTR)[158].

U ovom istraživanju, nakon dekontaminacije implantne površine primenom jedne od dve pomoćne metode dekontaminacije (FDT ili CHX) tokom hirurške procedure, u koštane defekte aplikovana je kost bovinog porekla (BioOss[®], Geistlich biomaterials, North America) uz primenu bioresorptivne membrane (BioGuide[®], Geistlich biomaterials, North America). Rezultati istraživanja pokazali su da u obe grupe, tri meseca nakon hirurške terapije, dolazi do poboljšanja svih kliničkih parametara. Tokom perioda praćenja, došlo je do statističkog značajnog poboljšanja parodontalnog statusa (plak indeksa, krvarenje na provokaciju, gingivalnog indeksa) kod ispitanika u obe grupe. Zadovoljavajući parodontalni status, može da doprinese uspehu i održavanju postignutih rezultata. Redovni kontrolni pregledi, kontrola dentalnog plaka i motivacija pacijenata o značaju i pravilnom održavanju oralne higijene, bitni su faktori koji omogućavaju stabilnost postignutih rezultata tokom dužeg perioda praćenja [159].

Rezultati istraživanja, pokazali su da je u obe ispitivane grupe došlo do statistički značajne redukcije peri-implantnog džepa (PDŽ) i povećanja nivoa pripojnog epitela (NPE), tri meseca nakon hirurške terapije. Dubina peri-implantnog džepa bila je smanjena za 2.1 mm, nakon primene obe terapijske metode dekontaminacije (FDT i CHX) i popunjavanja koštanih defekata regenerativnim materijalom (*engl.* GBR). Primenom FDT nije pokazan superiorniji efekata u redukciji PDŽ u odnosu na primenu CHX. Kako je postignuta redukcija PDŽ i povećanje NPE za 1.61 mm u eksperimentalnoj grupi i 1.9 mm u kontrolnoj grupi u odnosu na početne vrednosti, rezultati istraživanja su potvrdili činjenicu da potpunom dekontaminacijom implantne površine sa primenom FDT ili CHX, može da dođe do poboljšanja kliničkih parametara i eventualne re-oseointegracije [145]. Ipak, prisustvo koštanog tkiva nemoguće je utvrditi samo na osnovu kliničkih parametara. Zbog ove činjenice javlja se potreba za dodatnim histološkim ili imunološkim analizama koje bi potvrdile uspešnost postignutih rezultata. Rezultati studije Heitz-Mayfield i sar. [83] prikazali su da, umereni i napredni stadijum peri-implantitisa može biti uspešno tretiran kod većeg broja pacijenata primenom anti-infektivnog protokola. U ovoj studiji, u cilju rešavanja peri-implantitisa istraživači su dekontaminaciju implante površine izvodili pomoću titanijumskih kireta i irigacije implantnih površina fiziološkim rastvorom, tokom hirurške procedure.

Nakon završenog tretmana, pacijentima je prepisana antibiotska terapija (amoksicilin i metronidazol) tokom 7 dana i dat je antiseptični rastvor na bazi 0.12% CHX tokom 14 dana. Tri meseca nakon terapije, dobijena je statistički značajna redukcija dubine PDŽ za 2.3 mm i redukcije znakova inflamacije kao što je KNP i supuracija. Postignuti terapijski efekat održavan je tokom 6 i 12 meseci. Redukcija PDŽ, koja je iznosila u proseku oko 2 mm, dobijena je i u našem istraživanju. Ipak, redukcija PDŽ od 2 mm u obe studije ne daje nam precizne informacije o eventualnoj re-oseointegraciji. Takođe, u istoj studiji, primenom retroalveolarnog radiograma pokazano je stvaranje koštanog tkiva samo kod 3 tretirana implantata, dok kod drugih implantata, nivo koštanog tkiva bio je isti kao pre početka terapije. Jedan od razloga smanjenja peri-implantnog džepa u ovoj studiji moglo je biti zbog fibroznog, a ne koštanog zarastanja tkiva oko implantata. Pokazano je da antibiotici pored alergijske reakcije, mogu imati toksičan efekat na osteogensku aktivnost ćelija i formiranje koštanog tkiva [147]. Usled širokog porasta bakterijske rezistencije tokom primene konvencionalnih antibiotika, pažnja se mora usmeriti na manje štetne metode dekontaminacije kao što je FDT, koja ne dovodi do pojave bakterijske rezistencije i alergijskih reakcija.

U studiji Schwarz-a i sar. [14], tokom hirurške procedure nakon dekontaminacije implante površine fiziološkim rastvorom, koštani defekti različitih konfiguracija, bili su popunjavani sa dva različita regenerativna materijala (kost bovinog porekla kombinovana sa kolagenom membranom i nanokristal-hidroksiapatit). Rezultati ove studije pokazali su značajnu redukciju PDŽ sa 7.1 mm na 4.5 mm, 6 meseci nakon terapije, dok je prosečna vrednost NPE bila smanjena sa 7.5 mm na 5.2 mm nakon primene bovine kosti i kolagene membrane. Primenom ove regenerativne terapije dobijeno je poboljšanje kliničkih parametara za oko 2 mm, što se može komparirati sa rezultatima naše studije gde je primenom bovine kosti i kolagene membrane, dobijeno smanjenje PDŽ i poboljšanja NPE za oko 2 mm. Rezultati našeg istraživanja dobijeni su samo posle tri meseca i sugerišu nam neophodnost daljih kliničkih praćenja, uz pravilno održavanje oralne higijene i redovne kontrole pregede. U studiji Haas i sar. [75] i eksperimentalnoj studiji na psima [129], pokazana je efikasnost FDT kao metode dekontaminacije, tokom hirurške terapije peri-implantitisa uz primenu regenerativne terapije. Slično kao i u našem istraživanju, Haas sa saradnicima pokazao je da primenom FDT kao metode dekontaminacije implantne površine i popunjavanjem defekata sa autogenom kosti, dolazi do poboljšanja kliničkih parametara i stvaranja koštanog tkiva oko 2 mm. Fotoaktivna materija korišćena u ovoj studiji bila je Toluidin-Blue, koja je aktivirana

pomoću diodnog lasera talasne dužine 906nm, 1 min. U drugoj eksperimentalnoj studiji rađenoj na psima, Sibil sa saradnicima koristio je FDT (Fotoaktivna materija: Toluidin-Blue aktivirana pomoću GaAlAs diodnog lasera, 50Mw, 830nm) za dekontaminaciji dve različite implante površine (čista titanijumska površina i površina peskirana Ti česticama) uz primenu GBR. Pet meseci nakon terapije dobijeno je zdravo perimukozno tkivo. Interesantni rezultati ove eksperimentalne studije pokazali su da je popunjavanje peri-implantnog defekta nakon hirurške terapije bilo praćeno pojavom dugog epitelnog pripoja, koje je bio ekstenđirano apikalno do ramena implantata. Vezivno tkivo bilo je prožeto gustim kolagenim vlaknima, koja su se prostirala paralelno sa prethodno dekontaminiranom implantom površinom. Eksperiment je pokazao stvaranje koštanog tkiva u različitim stadijumima maturacije i remodelovanja kosti. Procenat osteointegracije kretao se najviše oko 73%. U koronarnom delu implantata bilo je prisutno kapsulirano vezivno tkivo koje je odvajalo novoformiranu kost od koronarne površine tela implantata. U ovom eksperimentu pokazano stvaranje koštanog tkiva odnosno re-oseointegracija za 41.9% nakon primene FDT i GBR [129]. Kako je u ovoj studiji postignuta re-oseointegracija, možemo potvrditi raniju pretpostavku da je u našem istraživanju, smanjenje dubine PDŽ bilo je praćeno formiranjem koštanog tkiva i eventualnom re-oseointegracijom. Posebna pažnja se mora usmeriti na implantnu površinu, koja menja svoje karakteristike nakon kontaminacije i dekontaminacije površine i koja različito može da deluje u procesu koštanog zarastanja i re-oseointegracije.

Prisustvo marginalne recesije pre početka terapije, zabeleženo u ovom istraživanju, bilo je 55% u eksperimentalnoj i 36% u kontrolnoj grupi, prosečnih vrednosti 0.57 mm (eksperimentalna grupa) i 0.83 mm (kontrolna grupa). Pojava marginalne recesije može se objasniti na više načina. Kod par pacijenata bio je pronađen rezidualni cement u peri-implantom prostoru i na implantnim površinama, čije prisustvo je moglo da dovede do pojave inflamacije i nastanak recesije. Takođe, kod više implantata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom primećena je neadekvatna debljina keratizovane gingive, tanak biotip gingive i bukalna pozicija implantata, koji su mogli da budu jedan od razloga pojave MR. Nakon hirurškog tretmana, nije zabeležena pojava novih recesija ali ni potpuno prekrivanje implantne površine u obe grupe. Naši rezultati zbog odsustva novih marginalnih recesija razlikuju se od rezultata drugih studija kod kojih je nakon hirurške terapije zabeležena pojava MR.

Pre terapije kod svih implantata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom zabeležen je indeks krvarenja (IKNP) prosečne vrednosti 85, izmerenih u svih 6 tačaka. Krvarenje na provokaciju (KNP) bilo je prisutno na svim implantatima sa dijagnostikovanim peri-implantitisom, pre bilo koje terapijske procedure. Rezultati našeg istraživanja pokazali su da obe metode dekontaminacije dovode do statistički značajne redukcije KNP i indeksa KNP. Pokazano je da je primenom FDT došlo statistički značajnije redukcije KNP u odnosu na primenu CHX. Tri meseca nakon terapije u eksperimentalnoj grupi, u kojoj je bila primenjena FDT, zabeleženo je KNP kod 11% lečenih peri-implantitisa. Krvarenje na provokaciju predstavlja najvažniji parametar koji pokazuje inflamaciju peri-implantnog tkiva. Iz ovih rezultata, može se zaključiti da upotrebom FDT postiže se eliminacija znaka KNP i omogućava se uspostavljanje bržeg zarastanje tkiva. Zbog svoje fluidnosti, FDT može da se aplikuje ne samo na implantat već i na peri-implantno tkivo što doprinosi mogućnosti šireg obima dekontaminacije peri-implantnog tkiva. Schar i sar. [123] pokazali su pozitivan uticaj FDT na kliničke parametare nakon nehirurške terapije peri-implantitisa. Ovi autori pokazali su, poredeći efikasnost FDT i lokalne aplikacije minociklin-hlorid mikrosfera (Arestin®), da obe pomoćne metode, dovode do redukcije krvarenja na provokaciju tri meseca nakon tretmana. Primenom FDT, KNP bilo je redukovano za 44% nakon 3 meseca, dok 6 meseci nakon terapije, KNP bilo je smanjeno kod 63% tretiranih implantata. Rezultati ovog istraživanja, podudaraju se sa rezultatima našeg istraživanja, gde je u oba slučaja nakon primene FDT, došlo do smanjenja KNP. Različit procenat postizanja efikasnosti u smanjenju znaka KNP, između našeg istraživanja i prethodne studije, može se objasniti metodom pristupa implantnoj površini. U našem istraživanju pristup implantnoj površini je bio hirurški, a ovim načinom terapije omogućili smo da FDT deluje na veće površine implantata i okolnog peri-implantnog tkivo. Ipak, u rezultatima prethodne studije nije zabeležena statistički značajna promena NPE, što se razlikuje od rezultata našeg istraživanja. U našoj studiji, hirurški pristup sa GBR omogućio je pored smanjenja PDŽ poboljšanje NPE. Ovaj rezultat potvrđuje raniju tvrdnju Schwarz-a i saradnika, da je hirurški metod bolji od nehirurškog u terapiji peri-implantitisa. Studija Heitz-Mayierl [83] zabeležila je potpunu eliminaciju KNP kod samo 47% lečenih peri-implantitisa, dok je studija Maximo i sar. [160] zabeležila redukciju znaka KNP kod 52% tretiranih implantata sa znacima peri-implantitisa. U studiji Maxima i sar. nakon hirurške terapije i debridmana implantne površine, pacijentu je prepisan samo antiseptički rastvor (0.12% CHX). Prikazani rezultati obe studije slični su rezultatima dobijenih u kontrolnoj grupi u našem istraživanju, gde je kao metod dekontaminacije korišćen CHX. Primenom FDT u našem istraživanju, zabeleženo je statistički značajnije

smanjenje KNP u poređenju sa prethodne dve studije i kontrolom grupom našeg istraživanja. Bolja efikasnosti FDT u poređenju sa drugim primenjenim metodama, može se objasniti pojavom oksidativne reakcije, koja nastaje na implantnim površinama i peri-implantnom tkivu, omogućavajući adekvatnu eliminaciju uzročnika infekcije i inflamacije. Pozitivan efekat primene FDT, prikazan je u studiji Romea i sar., gde je tri meseca nakon nehirurškog tretmana peri-implantitisa džepa, došlo do smanjenja KNP za 90%, redukcije PDŽ za 3mm, kao i poboljšanja plak indeksa [161]. Poboljšanje nivoa oralne higijene i statistički značajna redukcija dentalnog plaka (Plak indek, Pi, $p < 0.0001$) bila je zabeležena kod svih ispitanika koji su ušli u istraživanje, tokom perioda praćenja. Kako je pokazano da mikroorganizmi imaju veliki afinitet da adheriraju na titanijumske površine, kao i činjenica da dentalni plak značajno utiče na promenu karakteristika implantne površine, dovodeći do smanjenja energije na njenoj površini i redukovanja tkivne integracije, posebna pažnja treba da se obrati na održavanje postignutih rezultata. Ovo podrazumeva redovne i češće kontrole i uklanjanje dentalnog plaka oko implantata, kao i remotivacija pacijenata o pravilnom održavanju oralne higijene.

Hlorheksidin diglukonat koristi se u različitim koncentracijama kao “zlatni standard” za dekontaminaciju implantne površine tokom hirurške terapije peri-implantitisa. Poređenjem 0.12% i 2% koncentracije CHX u studiji Wala i sar. [88, 96], nije pokazana značajnija efikasnost ovog sredstva u poboljšanju kliničkih i radioloških parametara nakon hirurške terapije peri-implantitisa u periodu od 3, 6 i 12 meseci. Krvarenje na provokaciju, kao najvažniji znak i pokazatelj inflamacije, bilo je jako malo smanjeno nakon primene CHX, praćenog 3 meseca nakon hirurške terapije. Slično ovim rezultatima, rezultati prikazani u kontrolnoj grupi našeg istraživanja pokazali su prisutnost KNP na 50% tretiranih implantata, 3 meseca nakon terapije. Ipak, za razliku od prethodne dve studije, indeks KNP u kontrolnoj grupi, bio je statistički značajno smanjen nakon primene 2% CHX u gelu. Konzistencija, koncentracija i način aplikacije CHX može biti potencijalni razlog za postizanje boljih rezultata u kliničkim parametrima u poređenju sa prethodne dve pomenute studije. CHX u gelu može da se aplikuje pod kontrolom oka na eksponiranu implantnu površinu, ne dolazeći u kontakt sa okolnim tkivom ili kosti, dok primenom tečnog CHX to nije moguće. Takođe, ispiranjem površina tečnim CHX nemamo pravi uvid da li su sve površine ravnomerne bile izložene ovom sredstvu. Pored ovoga, gel je čvršće konzistencije i može duže da se zadržava na implantnoj površini i nakon njegove irigacije. Iako je poznato neželjeno dejstvo CHX na fibroblaste i ćelije koje formiraju kost, u dve kliničke studije pokazano je da aplikacija 1%

gela hlorheksidina nema uticaj i neželjeni efekat na proces zarastanja rane tokom hirurške intervencije [96, 97].

Slično rezultatima našeg istraživanja studija Rocuzzo i sar. pokazala je da primenom EDTA i 1% gela CHX dolazi do uspešne dekontaminacije implantne površine i stvaranja zdravog peri-implantnog tkiva, 12 meseci nakon hirurške terapije. Rezultati ove studije pokazali su da nakon dekontaminacije implantne površine i popunjavanja koštanih defekata demineralizovanom bovinom kosti kombinovanom sa 10% kolagenom, dolazi do smanjenja PDŽ za 2.92 mm. Indeks KNP bio je smanjen sa 71.5% na 18.3%, dok je plak indeks bio prisutan na 11.3% tretiranih implantata, godinu dana nakon terapije. Iako se vreme praćenja znatno razlikuje, rezultati ove studije bili su približno slični rezultatima kontrolne grupe našeg istraživanja. Treba napomenuti da, CHX svoju efikasnost ostvaruje toksičnim delovanjem na mikroorganizme koje naseljavaju implantnu površinu. CHX biva apsorbovan u oksidirani sloj titanijumskih implantata, dovodeći na ovaj način do inhibicije rasta mikroorganizama i stvarajući idealne uslove za formiranje nove kosti. Ipak, polazeći od eksperimenta rađenih na bigl psima [162], postavlja se pitanje da li primenom CHX kao metode dekontaminacije dolazi do re-oseointegracije. U ovoj studiji, dve različite kontaminirane implantne površine tretirane sa CHX sa kasnijom primenom sistemskih antibiotika, nisu uspele da dokažu stvaranje nove kosti odnosno pojavu re-oseointegracije. Ovi kontradiktorni rezultati sugerišu da “prava oseointegracija teško može da se postigne u potpunosti” primenom samo CHX [162].

5.3. Evaluacija koncentracija pro-inflamatornih citokina u PICF

Nastanak peri-implantitisa povezuje se sa ekscesivnim odgovorom citokin-povezane reakcije ćelija domaćina na produkte koje luče parodontopatogeni, kao što su lipopolisaharidi ili endotoksini. Različita populacija Th ćelija uključena je u produkciju različitih profila citokina i sledstveno tome, utiče na progresiju samog oboljenja. Dokazano je da su citokini koji nastaju produkcijom Th17 ćelije ili učestvuju u njenoj maturaciji, uključeni u patogenezu parodontopatije, jer imaju sposobnost da indukuju osteoklastogenezu [163]. Citokini sudeluju kao mreža ćelija koja preuzima kontrolu nad inflamatornim mehanizmom, povećavajući ili suprimirajući inflamatornu reakciju u tkivu domaćina. Usled postojanja sličnosti parodontopatije i peri-implantitisa [21, 27, 164], više puta dokazan je i uticaj Th17 povezanih citokina na nastanak i progresiju peri-implantitisa.

Promena kliničkih parametara i neadekvatni radiološki snimci, nekada mogu biti pogrešno protumačeni i/ili nisu dovoljno osetljivi i specifični za tačnu procenu stadijuma i aktivnosti oboljenja. U cilju poboljšanja dijagnostičkih metoda, predložene su alternativne ne-invazivne dijagnostičke metode kao što je evaluacija inflamatornih medijatora u peri-implantnom cervikalnom fluidu- PICF, sa ciljem procene stepena inflamacije, stadijuma oboljenja i terapijskog uspeha. Poznato je da kod peri-implantitisa dolazi do povećanja volumena PICF i koncentracije nivoa pro-inflamatornih citokina, na osnovu kojih se procenjuje stepen aktivnosti peri-implantitisa. Ova činjenica potvrđena je i u našem istraživanju, gde je pokazano da nakon terapije dolazi do smanjenja volumena PICF u obe ispitivane grupe. U dostupnoj literaturi, najveći broj radova predstavlja studiju preseka i povezuje prisustvo pro-inflamatornih citokina sa pojavom peri-implantnih bolesti (perimukozitis ili peri-implantitis)[35, 42, 46]. Kako postoji mali broj literature, koji se bavi procenom uspeha hirurške terapije peri-implantitisa i evaluacijom promene Th17 povezanih citokina, komparacija sa rezultatima našeg istraživanja biće ograničena.

U našem istraživanju u obe ispitivane grupe pre bilo koje terapijske procedure, dokazano je prisustvo pro-inflamatornih Th17-povezanih citokina: IL-17A, IL-6, IL-1 β i IL-21 u PICF. Pre hirurške terapije, svi ispitanici su prošli kroz kauzalnu fazu terapije, koja je podrazumevala mehaničku obradu peri-implantnog džepa. U eksperimentalnoj grupi nakon kauzalne terapije, peri-implantni džepovi dodatno su tretirani FDT. Kauzalna faza terapije

predstavlja jedan od značajnijih koraka pre hirurške intervencije. Ova faza ima za cilj da omogući smirivanje znakova inflamacije i da stvori adekvatne uslove za kasniju hiruršku proceduru. Rezultati našeg istraživanja pokazali su da nakon kauzalne terapije nije došlo do statistički značajne promene u koncentraciji IL-17A u obe ispitivane grupe, dok je u kontrolnoj grupi došlo do statističkog značajnog smanjenja koncentracije IL-6 i IL-21, mesec dana nakon terapije u poređenju sa eksperimentalnom grupom (mehanička obrada + FDT). Koncentracija IL-1 β bila je statistički značajno smanjena u obe ispitivane grupe mesec dana nakon kauzalne faze terapije ($p < 0.001$). U randomizovanoj kliničkoj studiji Bassetti i sar. pokazano je da je nakon samo mehaničke obrade peri-implantnog džepa, primenom dva različita vida anti-inflamatorne terapije (FDT i Lokalnih antibiotika), došlo do poboljšanja kliničkih, imunoloških i mikrobioloških parametara nakon perioda od 3, 6 i 12 meseci [69]. Iako je nakon primene FDT pokazano statistički značajno smanjenje parodontalnog džepa 3 meseca nakon terapije, rezultati ove studije nisu pokazali značajnije smanjenje koncentracije IL-1 β , tokom perioda praćenja, što se razlikuje i od rezultata dobijenih u našem istraživanju. U eksperimentalnoj studiji na psima, pokazano je da 3 nedelje i 3 meseca nakon primene kauzalne i fotodinamske terapije dolazi do statistički značajnog smanjenja koncentracije IL-1 β , što se poklapa sa rezultatima našeg istraživanja [44]. U studiji Giannopoulou i sar. [127] nakon primene FDT, došlo je do značajnog smanjenja koncentracije pro-inflamatornih citokina, IL-17 i proteina akutne faze, tokom perioda praćenja od 2 nedelje, 2 i 6 meseci upoređenih sa početnim vrednostima. Kako postoje dokazi o sličnosti između peri-implantitisa i parodontopatije u etiologiji, patogenezi, faktoru rizika i terapiji [27], možemo zaključiti da su rezultati ove studije bili suprotni rezultatima našeg istraživanja. U ovom istraživanju nije pokazana statistička značajnost u smanjenju vrednosti IL-17A nakon kauzalne terapije. Jedano od objašnjenja različitih rezultata ove dve studije, može biti primena različitih kitovima kao i njihov stepen osetljivosti (Bio-Plex i IL-17A high sensitivity). Za detekciju pro-inflamatornih citokina u PICF neophodni su kitovi visoke osetljivosti (engl. high sensitivity ELISA kit), jer omogućavaju detekciju i prisutnost najnižih koncentracija citokina. U još jednoj studiji [119], pokazano je da primenom FDT dolazi do značajnog opadanja nivoa koncentracije TNF- α i RANKL, kod osoba sa dijagnostikovanom agresivnom parodontopatijom nakon 1. i 3. meseca od terapije. Poznato je da ova dva citokina imaju veliku ulogu u procesu osteoklastogeneze, a IL-17 može uticati direktno na produkciju RANKL. Na osnovu ovih činjenica može se pretpostaviti da opadanjem koncentracije svih pomenutih citokina, nakon primene FDT, može usloviti sprečavanje dalje koštane resorpcije i gubitka koštanog tkiva oko zuba i implantata. U studiji Zhao i sar. [31],

pokazano je da nakon kauzalne terapije dolazi do značajnog smanjenja IL-17 i IL-21, kod pacijenata sa dijagnostikovanom hroničnom parodontopatijom. Ovi rezultati mogu se uporediti sa rezultatima našeg istraživanja, gde je pokazano da nakon primene kauzalne faze terapije dolazi do smanjenja koncentracije IL-21 i IL-17A.

Procenu efikasnosti različitih metoda dekontaminacije implante površine tokom hirurških procedura, pratili smo na osnovu promene imunoloških parametara odnosno koncentracije pro-inflamatornih interleukina u PICF. U rezultatima našeg istraživanja zabeleženo je statističko značajno smanjenje koncentracije IL-17A, IL-1 β , IL-6 i IL-21 kod obe testirane grupe, tri meseca nakon terapije, upoređene sa početnim koncentracijama. Suprotno kauzalnoj fazi terapije, pokazano je da postoji statistički značajna razlika između ispitivanih grupa. FDT, kao pomoćna metoda u dekontaminaciji implantne površine, pokazala je statističku značajnost u smanjenu nivoa koncentracije IL-17A, IL-1 β i IL-6 u poređenju sa primenom CHX. Statistički značajnije smanjenje koncentracije pro-inflamatornih interleukina u poređenju sa kauzalnom terapijom, potvrđuje superiornost i veću efikasnost hirurške terapije u odnosu na nehiruršku terapiju [78, 80].

Prisutnost IL-17 u PICF i peri-implantnom tkivu dokazano je više puta kod peri-implantitisa [35], dok kod implantata sa zdravim peri-implantnim tkivom, nije nađeno prisustvo ovog interleukina. IL-17 sudeluje u nekoliko bioloških funkcija koje su povezane sa pro-inflamatornim odgovorom organizma, kao što je regurgitacija neutrofila i makrofaga iz udaljenih delova tkiva. Ovaj interleukin stimuliše kako neimunološke tako i imunološke ćelije da sintetišu druge citokine i produkuju antimikrobne peptide. Sinteza i aktivacija ovog citokina, praćena je kaskadnom reakcijom između IL-6, IL-1 β i IL-23. Ovi citokini uz prisustvo IL-21 dovode do aktivacije Th17 ćelije, koja produkuje IL-17, IL-21, IL-22 i IL-26. Takođe, Th17 ćelija ima sposobnost da produkuje IL-6, kao i da dodatno reguliše produkciju IL-1 β i TNF- α . Na ovaj način Th17 ćelija pojačava inflamatornu reakciju i povećava ekspresiju MMP i RANKL citokina. Prisustvo koncentracija IL-17, IL-1 β , IL-21 i IL-6 u našem istraživanju pre terapije peri-implantitisa, može nam potvrditi činjenicu da ovi citokini sudeluju u koštanom metabolizmu, pospešujući indirektno na gubitak koštanog tkiva.

U rezultatima našeg istraživanja pokazana je pozitivna korelacija između ispitivanih IL kako pre tako i 3 meseca nakon terapije. Zanimljivi rezultati istraživanja pokazuju statističku značajnu povezanost IL-17 i IL-21 pre terapijskog postupka, što nam može potvrditi i raniju činjenicu da aktivacijom Th17 ćelije, dolazi do produkcije ova dva IL.

Takođe, ova pozitivna korelacija pokazuje da sa povećanjem IL-17, kao inflamatornog odgovora u peri-implantnom tkivu, dolazi do povećanja IL-21. Ova korelacija, može nam i objasniti prisustvo znatno povišene koncentracije IL-21 dobijenog u našem istraživanju pre terapijskog postupka. Međusobnim kompariranjem IL tri meseca nakon terapije, pokazana je statistički značajna i pozitivna korelacija između IL-17 i IL-6, kao i IL-17 i IL-1 β . Ova korelacija potvrđuje činjenicu da za produkciju IL-17 neophodno je prisustvo IL-6 i IL-1 β . Pored ovoga, pozitivna korelacija pokazuje da sa smanjenjem ili inhibicijom samo jednog IL, dolazi do značajnog smanjenja i produkcije IL-17.

Produkcijom IL-17, T-ćelije bivaju uključene u destrukciju koštanog tkiva, kod osoba obolelih od reumatoidnog artiritisa [165]. IL-17 može da indukuje produkciju RANKL, koji je povezan sa koštanim metabolizmom i koji predstavlja najznačajniji faktor u diferencijaciji osteoklasta. U studiji Takahashi i sar. pokazano je da u parodontalnoj leziji postoji povezanost RANKL i RANK sa produkcijom IL-17 [38]. Povezanost RANKL sa produkcijom IL-17 govori nam u prilog indirektnog sudelovanja IL-17 u koštanoj resorpciji.

U terapiji peri-implantitisa u studiji Wohlfahrt i sar. koštani defekti bili su rekonstruisani sa čistim titanijumskim granulama. Godinu dana nakon terapije došlo je do statističkog značajnog smanjenje nivoa IL-6, OPG, leptina, MMP-8, koristeći multi-plex ELISA testove za analizu [167]. Iako postoji diskrepanca u periodu praćenja, slično rezultatima našeg istraživanja, rezultati ove studije pokazali su smanjenje nivoa pro-inflamatornih citokina nakon hirurške terapije. IL-6 ima značajnu ulogu u diferencijaciji CD4⁺T ćelije, a takođe je povezan sa produkcijom drugih inflamatornih ćelija i osteoklastogenezom. Smanjenjem koncentracije ovog IL nakon hirurške terapije omogućava se reparacija tkiva, suzbijanje znakova inflamacije sa istovremenom supresijom osteokastogeneze. U eksperimentalnoj grupi našeg istraživanja, pokazan je pozitivan uticaj terapije na statističko značajno smanjenje IL-6. Smanjenjem ovog IL, primenom FDT, mogu se postići anti-inflamatorni uslovi i diferencijacija određenih ćelija koji učestvuju u reparaciji koštanog i mekog tkiva. Sličnu ulogu kao IL-6 u osteoklastogenezi i formiranju osteoklasta, ima i IL-1 β . Visoke koncentracije ovog IL dokazane su više puta kod implantata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom [43, 45, 168]. Takođe, IL-1 β ima značajnu ulogu u razgradnji komponente ekstracelularnog matriksa, sprečavanju regeneracije tkiva, dovodeći do progresije inflamacije [169]. Suprimiranjem ovog IL, kao i kod IL-6, dolazi do mogućnosti reparacije parodontalnog i peri-implantnog tkiva. Kako je u rezultatima našeg

istraživanja došlo do statistički značajnog smanjenja IL-1 β , 3 meseca nakon terapije, možemo potvrditi raniju pretpostavku da suprimiranjem IL-1 β dolazi do reparacije peri-implantnog tkiva i moguće osteogeneze. U studiji Teymouti i saradnika, pokazano je da primenom diodnog lasera i FDT dolazi do statističkog značajnog smanjenja IL-1 β i IL-17 u poređenju sa samo kauzalnom terapijom, kod osoba sa dijagnostikovanom hroničnom parodontopatijom [170].

U studiji preseka Teixeira i sar, zabeležena je statistički značajno veća koncentracija IL-21 kod peri-mukozitisa u odnosu na peri-implantitisa, koristeći multiplex Elisa kitove za analizu PICF [163]. U par studija, dokazano je prisustvo IL-21 u gingivalnom eksudatu, isečku inficiranog tkiva i salivi kod osoba obolelih od hronične parodontopatije [40-42, 171, 172]. Ovi rezultati sugerišu značajnu ulogu IL-21 u patogenezi parodontopatije. Takođe, IL-21 dodatno pojačava lokalni inflamatorni odgovor i povećava destrukciju tkiva. Značajna uloga IL-21 u pojačavanju inflamatorog odgovora može objasniti detektovanje znatno veće koncentracije ovog IL u PICF, pre terapije, u našem istraživanju. Iako nije pronađena statistički značajna povezanost kliničkih parametara i analiziranih IL, prisutnost ovog IL-21 može se povezati sa uznapređovalom formom peri-implantitisa i povećanim gubitkom koštanog tkiva. U ranije opisanim studijama pokazano je da 6 nedelja nakon kauzalne terapije parodontopatije, dolazi do statističkog značajnog smanjenja IL-21 [40, 42]. Treba napomenuti i činjenicu da progresijom bolesti i pogoršavanjem kliničkih parametara nastalih usled imunološkog odgovora organizma na infekciju, dolazi do produkcije citokina, aktivacije osteoklasta i regurgitacije limfocita, PMN i antigen prezentujućih ćelija u inficirano tkivo. Ova regurgitacija i aktivacija proinflamatornih citokina kao što su IL-1 β , IL-6, IL-12 i IL-21 povećava destrukciju tkiva i aktivira rezidualne ćelije, stvarajući dodatni povećani destruktivni odgovora organizma [40].

Iako ne postoje radovi koji se bave evaluacijom promena koncentracija Th17-povezanih citokina nakon hirurške terapije peri-implantitisa kombinovane sa primenom FDT ili CHX, rezultati našeg istraživanja pokazali su da obe metode dekontaminacije doprinose značajnom smanjenju pro-inflamatornih citokina. Ipak FDT imala je veću efikasnost i uticaj na smanjenje koncentracije interleukina u poređenju sa CHX. Jedan od mogućih razloga može biti direktan uticaj FDT na parodontopatogene i njene produkte (lipopolisaharide i endotoksine). Nakon aktiviranja fotoaktivne materije dolazi do stvaranja oksidativnih reakcija u okolnom tkivu, koje omogućavaju eliminaciju uzročnika infekcije odnosno smrt

parodontopatogena i njenih produkta. Poznato anti-inflamatorno dejstvo CHX ogleda se u sprečavanju formiranja dentalnog plaka kao i baktericidnom dejstvu CHX. Nažalost, ovo anti-inflamatorno sredstvo nema mogućnost eliminacije bakterija i njenih produkata sa površine implantata, što može predstavljati podlogu za re-kolonizaciju implantne površine i ponovno javljanje re-infekcije.

Rezultati naše studije nisu pokazali povezanost kliničkih parametara i ispitivanih citokina. Ipak, pozitivan efekat obe metode dekontaminacije, a najviše FDT, ogleda se u poboljšanju kliničkih parametara (npr. KNP) i statistički značajnog smanjenja IL, koje omogućava smanjenje inflamatornog odgovora i reparaciju peri-implantnog tkiva. Kako ispitivani IL, direktno ili posredovano mogu uticati na proces osteoklastogeneze, primenom FDT, ovaj proces destrukcije tkiva može biti zaustavljen. Iako ne postoji povezanosti sa kliničkim parametrima, možemo pretpostaviti da smanjenjem detektovanih IL dolazi do obnavljanja koštanog tkiva tj. osteogeneze.

U našem istraživanju nije pokazana prisutnost IL-23 u PICF pre i nakon terapije kod implantata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom. U ranijim studijama dokazana je ekspresija gena IL-23 u isečku peri-implantnog tkiva. Takođe, prisutnost IL-23 pronađeno je u lamini proprijii kod parodontopatija i peri-implantitisa [37, 46, 49, 174]. Smatra se da IL-23 ima direktan uticaj u diferencijaciji i nastanku Th17 ćelije *in vitro* uslovima [173]. Navodi se takođe da, IL-23 ima ulogu samo u održavanju i ekspanziji Th17 ćelije. Do sada ni jedno istraživanje nije pokazalo prisutnost ovog IL u PICF, što je slično sa rezultatima našeg istraživanja. Iako se zna da IL-23 ima značajnu ulogu u patogenezi parodontopatije i peri-implantitisa, postoji mogućnost da zbog veličine ovog molekula nije moguć prolazak ovog IL iz peri-implantnog tkiva u PICF.

Polazeći od činjenice da IL-22 zajedno sa IL-17 predstavlja produkt Th17 ćelije, želeli smo da pokažemo da promenom nivoa koncentracije IL-17 nakon terapije, dolazi do promene u koncentraciji IL-22. U studiji preseka Teixeira i sar, IL-22 detektovan je u statistički znatno većim koncentracija kod implantata sa mukozitisom u odnosu na implantate sa peri-implantitisom [163]. Potvrđeno je prisustvo IL-22 u lamini proprijii isečka inficiranog peri-implantnog tkiva [49]. Nažalost u našem istraživanju, IL-22, kao i IL-23, nije bio detektovan u PICF ni pre ni nakon završene terapije. Ranije je pomenuto da u prisustvu IL-23, Th17 ćelijska subpopulacija produkuje IL-22, što može i biti jedano od objašnjenja i uzroka ne nalaženja IL u PICF. Odsustvom IL-23 može se povezati sa odsustvom IL-22.

Uloga IL-22 još uvek nije jasno razjašnjena. Napominje se da IL-22 igra značajnu ulogu u reparaciji tkiva tokom povreda ili oštećenja tkiva [49]. Pretpostavka da IL-22 ima anti-inflamatorno dejstvo i da deluju kao pomoć u oporavku tkiva, može biti još jedno od objašnjenja ne nalaženja IL-22 u PICF. Kontradiktornost ove tvrdnje leži u tome, da ako je IL-22 anti-inflamatorni citokin i ima reparatornu ulogu, njegove vrednosti morale su biti zabeležene 3 meseca nakon terapije, što nije prikazano u našem slučaju. Takođe, usled otkrića nove loze Th22, koja sintetiše IL-22, možemo pretpostaviti da aktivacijom Th17 ćelije ne dolazi do izlučivanja IL-22 u peri-implantnoj sulkusnoj tečnosti. Iako se različite pretpostavke mogu izvesti iz ovih kontradiktornih rezultata, potrebna su dalja istraživanja koje će dokazati reparatornu ulogu IL-22 i promenu njegove koncentracije pre i nakon terapije kako peri-implantitisa tako i parodontopatije.

5.4. Evaluacija mikrobioloških parametara kod pacijenata sa dijagnostikovanim peri-implantitisom

Rezultati naše studije, prikazali su prisutnost različitih vrsta anaerobnih mikroorganizama dobijenih nakon kultivacije i analize uzoraka iz peri-implantnog prostora i sa implantne površine. Većina ovih izolovanih mikroorganizama pripadala je patogenim sojevima narandžastog (*Fusobacterium spp*, *Prevotella spp.*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*) i crvenog kompleksa (*P. gingivalis*) opisane i podeljene po Sokranskom [28]. Pored izolovanih sojeva narandžastog i crvenog kompleksa u rezultatima našeg istraživanja bili su izolovani i sojevi koji su pripadali ljubičastom (*Veillonella spp*, *A. odontolyticus*), žutom (*Streptococcus spp.*) i plavom (*A. naeslundii*) kompleksu. Činjenice da bakterije crvenog kompleksa moraju biti praćene prisustvom bakterija narandžastog kompleksa, odnosno da prisutnost bakterija narandžastog kompleksa prethodi kolonizaciji bakterija crvenog kompleksa [28], potvrđene su i u rezultatima našeg istraživanja. Prema ranijoj tvrdnji, povećanjem kolonizacije bakterija narandžastog kompleksa, trebalo bi da se povećava i broj bakterija crvenog kompleksa. Takođe, povećanje dubine parodontalnog džepa i gubitak nivoa pripojnog epitela praćeno je povećanjem broja bakterija crvenog i narandžastog kompleksa. Interesantni rezultati naše studije, pokazuju da, pre terapije peri-implantitisa manji procenat anaeroba crvenog i narandžastog kompleksa bio je izolovan iz peri-implantnog džepa u odnosu na procenat i vrstu anaeroba izolovanih samo sa implantnih površina. Jedan od razloga ove pojave, može i biti način uzorkovanja i njihova analiza. Većina parodontopatogena adherirana je za implantnu površinu ili se nalazi u dubljim partijama tkiva gde papirnim poenima nije moguće prići i uzorkovati dentalni plak. Ranija tvrdnja da sa povećanjem dubine PDŽ povećava se i broj anaeroba kao što su *P. gingivalis*, *P. intermedia* i *F. nucleatum*, potvrđena je i u našim rezultatima. Ovi sojevi najčešće su bili izolovani na implantnim površinama gde su bili prisutni striktno anaerobni uslovi. Prisustvo ovih bakterija na implantnoj površini, može ukazati na povećani afinitet i adheziju ovih bakterija na titanijumsku površinu. Ipak, u našim rezultatima nije pronađeno prisustvo, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythiae* i *Treponema denticolae*. Odsustvo *T. forsythiae* je kontradiktorno sa ranijom tvrdnjom da prisustvo ovog soja je povezano sa prisutnošću *P. gingivalis*. Jedan od razloga ne nalaženja ovih sojeva može se i

objasniti različitom metodom kultivacije i analize dobijenih uzoraka u odnosu na druge ranije primenjene tehnike (npr. rPCR).

Na implantnim površinama pronađeni su u manjem procentu anaerobi ljubičastog, žutog i plavog kompleksa. Smanjen broj ovih anaeroba povezan je sa tvrdnjom da za njihovu kolonizaciju nisu neophodni striktno anaerobni uslovi. Bakterije ljubičastog i plavog kompleksa, predstavljaju prvu fazu u kolonizaciji mikroorganizama dentalnog plaka. Pretpostavlja se da kolonizacijom ovih bakterija, se stvara most za kasniju adheziju bakterija narandžastog i kasnije crvenog kompleksa. Na ovaj način one omogućavaju kasniju fazu kolonizacije i maturacije dentalnog plaka, stvarajući adekvatne uslove za progresiju oboljenja. U dostupnoj literaturi, pokazano je da za samo 30 minuta nakon otvaranja implantata dolazi do kolonizacije implantne površine određenim sojevima bakterija, koje su migrirale sa okolnih zuba [4, 29]. Slične bakterijske vrste kao na zubima sa/ bez parodontopatije bile su pronađene u implantnom sulkusu nakon 12 nedelja i 12 meseci od uspostavljanja funkcije implantata. Ipak, prisustvo *Fusobacterium spp.*, *Streptococcus spp.*, *Peptostreptococcus micros* i *Staphylococcus aureus* bilo je detektovano samo na implantnim površinama u poređenju sa parodontopatičnim zubima, 12 meseci od uspostavljanja funkcije implantata u usnoj duplji [175]. Smatra se da se procenat ovih anaeroba povećava srazmerno s vremenom opterećenja implantata u funkciji i pojavom peri-implantnih oboljenja. U rezultatima našeg istraživanja prisutnost ovih bakterija može se povezati sa pomenutom činjenicom i povezanošću ovih bakterija i vremena od uspostavljanja funkcije implantata do pojave oboljenja. Može se pretpostaviti da ovi anaerobi imaju veliki afinitet za adheziju na implantnu površinu kao i značajnu ulogu i uticaj u progresiji peri-implantitisa. Ovo takođe, može potkrepiti činjenicu da, kod osoba sa ranijom lečenom parodontopatijom je veća mogućnost brže progresije bolesti usled brže kolonizacije parodontopatogena i transfera bakterija sa zuba na implantnu površinu.

Sojevi *Staphylococcus* (*S. aureus* i *S. sachararolyticus*) bili su izolovani samo sa implantnih površina tokom hirurške procedure, pre njene dekontaminacije. Uticaj ovih bakterija na peri-implantna oboljenja još uvek nije tačno utvrđen. Pretpostavlja se da je *S. aureus* jedan od grupe mikroorganizama koji utiču na nastanak peri-implantitisa, zbog njegovog poznatog štetnog delovanja i uticaja na okolna tkiva i veliki patogeni potencijal. Ova bakterija ima sposobnost da kolonizuje implantat tokom postavljanja implantata u usnu duplju. *In vitro* studijama pokazan je veliki afinitet ove bakterije za kolonizaciju

titanijumskih površina, što može objasniti prisustvo i izolaciju ove bakterije samo na implantnim površinama u našem istraživanju.

U peri-implantnom džepu, izolovan je soj *Candida alb.* Prisutnost ove gljivice, povezuje se sa nastankom peri-implantitisa [1]. *Candida alb.* u našem istraživanju bila je izolovana samo iz PDŽ kod implantno-nošenih totalnih proteza. Prisutnost ove gljivice kod nosioca totalnih proteza, povezuje se sa ranijim činjenicama da kolonizacija *Candidae* nastaje usled neadekvatne oralne higijene. Zbog ovoga rezultati našeg istraživanja ne mogu da potvrde ranije pretpostavke da prisutnost ove gljivice utiče na nastanak i progresiju peri-implantnisa.

Rezultati istraživanja pokazali su da nakon primene oba anti-inflamatorna terapijska modaliteta, odmah nakon dekontaminacije implantne površine i 3 meseca nakon terapije, dolazi do statistički značajne redukcije i eliminacije anaeroba. Ipak, bolji efekat u redukciji anaerobnih bakterija pokazala je FDT u poređenju sa primenom CHX.

CHX bio je izabran za naše istraživanje, kao zlatni standard koji se koristi u terapiji parodontopatije i peri-implantitisa. Takođe, CHX ima široki spektar delovanja na G^+ i G^- bakterije i dovodi do poboljšanja kliničkih i mikrobioloških parametara u peri-implantnoj terapiji. Antibakterijski modalitet CHX ogleda se u sposobnosti katjionskog molekula CHX da brzo privuče negativnu naelektirisanu bakterijsku ćeliju, dovodeći do njene promene i eventualne kasnije destrukcije. CHX može biti apsorbovan na oksidiranoj titanijumskoj površini implantata, dovodeći do inhibicije rasta mikroorganizama i omogućavajući njegovo prolongirano delovanje. Ipak, pažnja se mora obratiti na irigaciju nakon aplikacije CHX, zbog poznavanja njegovog negativnog efekta na ćelije fibroblasta i osteoblasta.

Pozitivan efekat i redukcija parodontopatogena kod hronične i agresivne parodontopatije, pokazano je više puta nakon primene FDT [176]. Ovaj efekat ostvaruje se oslobađanjem nascentnog kiseonika, koji uništava membranu bakterija, a njegov penušasti efekat omogućava uklanjanje opasnih produkata iz bakterijskih ćelija: enzima, kolagenaza. Ova činjenica potvrđena je i u rezultatima našeg istraživanja. Nakon primene FDT terapije došlo je statistički značajnije redukcije i čak eliminacije anaeroba u poređenju sa primenom CHX, koji nema sposobnost uklanjanja ovih štetnih produkata. Eliminacija anaeroba objašnjava se sposobnošću FDT da eliminiše mrtve ćelije koje su nastale nakon njenog delovanja. Ukoliko se ne uklone štetni produkti sa implantne površine može doći do re-

infekcije sa pojavom kliničkih znakova inflamacije. Ova činjenica može biti objašnjenje prisutnosti KNP u čak 50% slučajeva kod implantata sa lečenim peri-implantitisom u kontrolnoj grupi u kojoj je primenjen CHX za dekontaminaciju implantne površine.

Brojne studije rađene *in vivo* i *in vitro* uslovima, pokazale su slično našim rezultatima, pozitivan uticaj FDT u poređenju sa primenom CHX [75, 89, 120, 128, 129, 149]. FDT svoju primenu pronašla je i u terapiji osteonekroze. Usled sve veće rezistencije na dostupne antibiotike, eliminišući *Actinomyces naeslundii* uzročnika medikamentozno-povezane osteonekroze vilice, FDT pokazala se kao metod izbora u poređenju sa primenom CHX i poliheksadina [177]. U studiji Marotija i sar. [89] pokazano je da nakon primene FDT i 0.12% CHX dolazi do značajne redukcije mikroorganizama, izolovanih sa implantnih površina prethodno kontaminiranih pljuvačkom pacijenata kod kojih je dijagnostikovano peri-implantitis. Rezultati ovog istraživanja nisu pokazali da postoji značajna razlika između ove dve grupe, što se razlikuje od rezultata našeg istraživanja. Jedan od razloga nesignifikantnosti između grupa u *in vitro* studiji, može se objasniti činjenicom da CHX nije bio ispran fiziološkim rastvorom nakon aplikacije. Poznato je da CHX ima sposobnost da se postepeno oslobađa u periodu od 24h *in vivo* uslovima, što je moglo da utiče na rezultate studije. Usled mogućeg prenošenja CHX na anaerobnu podlogu, moguće je da je došlo do inhibicije rasta samih bakterija tokom perioda inkubacije i kultivacije. Zbog činjenice da CHX ima mogućnost da suprimira fibroblaste i osteoblaste, irigacija fiziološkim rastvorom je neophodna. U eksperimentalnoj i humanoj studiji pokazano je da nakon primene FDT, dolazi do redukcije ali ne i eliminacije parodontopatogena (*Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus spp.*), čije prisustvo na implantnim površinama može se povezati sa bitnim uslovima za progresiju peri-implantitisa [128, 129]. Iako rezultati ove studije pokazuju sličnost sa našim rezultatima, u našem istraživanju nisu zabeleženi parodontopatogeni tokom perioda praćenja. Jedan od razloga može biti različit hemijski sastav fotoaktivne materije. U našem istraživanju korišćen je fenotijazin hlorid, dok se u drugoj studiji kao fotoaktivna materija koristio Toluidin blue. Sam fenotijazin hlorid razlikuje se po hemijskom sastavu od Toluidin blue, zbog toga može imati mogućnost šireg spektra delovanja na različite sojeve mikroorganizama. U prethodnoj studiji nije rađena mehanička obrada implantne površine, što predstavlja i jedan od mogućih razloga ne eliminisanja svih bakterija.

U još jednoj *in vitro* studiji pokazan je pozitivan uticaj FDT. Ova terapija pokazala je smanjenje *S. aureusa* kolonizovane na različitim implantnim površinama (polirane, peskirane

i hemijski modifikovane SLA implantne površine) u poređenju sa 0.12% CHX i fiziološkim rastvorom [131]. Kombinovanjem mehaničke (Ti-četkica) i hemijske (FDT) obrade implantne površine postigla se skora eliminacija soja *S. aureusa* na poliranim i SLA implantnim površinama. Ovaj terapijski modalitet, bio je primenjen i u našem istraživanju, samo što su umesto Ti-četkica bile korišćene Ti-kirete. Eliminacija mikroorganizama sa implantne površine dobijena je kombinovanjem mehaničke i hemijske terapije, čiju efikasnost je potvrdila i ranija studija. FDT predstavlja pomoćno terapijsko rešenje, što i objašnjava manji stepen redukcije mikroorganizama primenom samo fotodinamske terapije. U prethodnoj studiji nije pokazano da primenom FDT, CHX i Ti-četkica dolazi do topografske promene implante površine analizirano pomoću SEM mikroskopa [131]. Ovi rezultati potvrđeni su i u ranijim studijama [129]. Kako ne dolazi do promene topografskih površina nakon primene ovih terapijskih modaliteta, može se pretpostaviti da primenom ove terapije dolazi do stvaranja peri-implantnih uslovi koji su postojali pre pojave oboljenja i eventualne mogućnosti stvaranja koštanog tkiva. Mogućnost re-oseointegracije nakon dekontaminacije implantne površine kombinovanjem mehaničke i FDT, potvrđena je u eksperimentalnoj studiji Sousa i sar. [130]. Nakon dekontaminacije, prethodno kontaminiranih SLA titanijskih diskova sojevima *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Candida* i *Actinomyces*, pokazano je stvaranje nezrelog koštanog tkiva i direktnog kontakta kosti domaćina sa implantnom površinom. Mehanička obrada praćena hemijskom obradom je neophodna jer: 1. dolazi do mehaničkog odstranjivanja patogenog agensa sa implantne površine; 2. primenom hemijskog agensa dolazi do suprimiranja endotoksina (lipopolisaharida) koji se oslobađaju iz G⁻ bakterija i koje dovode do promena u mikrotopografiji implantnih površina, što sve zajedno utiče na samu oseointegraciju. Suprimiranjem endotoksina i redukovanje samih bakterija, dovodi do smanjenja produkcije pro-inflamatornih citokina odgovornih za progresiju peri-implantitisa, što je dokazano i u rezultatima našeg istraživanja. Na ovaj način mogu se stvarati uslovi za re-oseointegraciju.

Slična metodologija uzorkovanja i kultivacije anaeroba dobijenih sa implantnih površina, kao u našem istraživanju korišćena je u studiji Waala i sar [88, 96]. Primenom različitih koncentracija CHX (0.12% i 1%) pokazano je da pored poboljšanja kliničkih parametara dolazi i do redukcije anaerobnih mikroorganizama, izolovanih sa implantnih površina. Za razliku od našeg istraživanja, u ove dve studije, nije pokazana statistička značajnost, nakon dekontaminacije implantne površine primenom različitih koncentracija CHX. Rezultati ove studije razlikuju se od naših rezultata jer u rezultatima našeg istraživanja

obe metode dekonaminacije pokazale su statističku značajnu redukciju i eliminaciju patogenih sojeva. Mogući razlog može biti koncentracija CHX koja se koristila u ove dve studije i način njene aplikacije. Veća koncentracija CHX i njena konzistencija (u našoj studiji 2% gel) može imati veći baktericidni efekat u odnosu na niže koncentracije CHX. Ova je potvrđeno i u ranijim studijama, da sa povećanjem CHX u zavisnosti od doze i vremena izlaganja, povećava se njegov baktericidni uticaj na anerobne mikroorganizme [92, 178]. Iako postoji sličnost sa metodologijom i načinom analiziranja u studiji Waala i sar., u našem istraživanju dobili smo i druge sojeve anaeroba koji pripadaju i striktno i uslovno patogenim bakterijama, što do sada nije prikazano u drugim studijama.

Cilj ovog istraživanja je bio da se prikažu striktni i fakultativni anaerobi izolovani sa implantnih površina i da se njihovo prisustvo poveže da prisutnim oboljenjem. Nakon analize uzoraka iz peri-implantnog džepa i sa implante površine, pronađeni su i neki fekalni sojevi bakterija koji se mogu povezati sa lošom oralnom i ličnom higijenom. Do sada prisutnost ovih sojeva nije dokazana u drugim studijama, a kako oni predstavljaju striktno fakultativne bakterije, potrebna su dalja istraživanja koja bi povezala uticaj ovih bakterija na progresiju peri-implantitisa kao i njihov uticaj na produkciju pro-inflamatornih citokina.

6. ZAKLJUČCI

- Rezultati našeg istraživanja potvrdili su ranije postavljenu hipotezu da peri-implantitis predstavlja multikauzalno oboljenje, na koje utiču parodontopatogeni koji dovode do veće produkcije pro-inflamatornih citokina.
- Pro-inflamatorni citokini povezani sa Th17 ćelijom, kao što su IL-17A, IL-1 β , IL-6, IL-21 značajno doprinose nastanku i progresiji peri-implantnisa. Prisustvo IL-17A, IL-1 β , IL-6 i IL-21 nije bilo povezano sa kliničkim parametrima, ali se može zaključiti da ovi interleukini, mogu direktno ili indirektno delovati na stimulaciju osteoklasta i značajno doprineti resorpciji kosti oko oseointegrisanog implantata.
- Hirurška terapija ima prednost u eliminaciji uzročnika infekcije, usled mogućnosti direktnog pristupa implantatu i peri-implantnom tkivu.
- Fotodinamska terapija, kao pomoćno neinvazivno terapijsko sredstvo omogućava adekvatnu dekontaminaciju implantne površine i okolnog peri-implantnog tkiva.
- Primenom fotodinamske terapije dolazi do značajnog smanjenja nivoa pro-inflamatornih citokina, IL-17A, IL-1 β i IL-6 u odnosu na primenu hlorheksidina, 3 meseca nakon hirurške procedure.
- Primenom FDT i CHX dolazi do značajne redukcije parodontopatogena sa implantnih površina, ali veću efikasnost u eliminaciji parodontopatogena, tokom perioda praćenja pokazala je FDT.
- Eliminacijom parodontopatogena i njegovih štetnih produkata, omogućava se i smanjenje pro-inflamatornih citokina, usled uklanjanja jednog od uzroka pojave bolesti.
- Primenom FDT, eliminišući parodontopatogene i smanjivanjem pro-inflamatornih citokina, stvaraju se povoljni peri-implantni uslovi koji mogu da omoguće re-oseointegraciju oko implantata u funkciji.

7. LITERATURA

1. Smeets, R., et al., *Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis--a review*. Head Face Med, 2014. 10: p. 34.
2. Quirynen, M., M. De Soete, and D. Van Steenberghe, *Infectious risks for oral implants: a review of the literature*.
3. Schwarz, M.S., *Mechanical complications of dental implants*. Clin Oral Implants Res, 2000. 11 Suppl 1: p. 156-8.
4. Mombelli, A., *Microbiology and antimicrobial therapy of peri-implantitis*. Periodontol 2000, 2002. 28: p. 177-89.
5. Albrektsson T and I. F., *Consensus report of session IV. In: Lang NP, Karring T, editors. Proceedings of the first European Workshop on Periodontology*. 1994., Quintessence: London. p. 365–9.
6. Zitzmann, N.U. and T. Berglundh, *Definition and prevalence of peri-implant diseases*. J Clin Periodontol, 2008. 35(8 Suppl): p. 286-91.
7. Lindhe, J. and J. Meyle, *Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology*. J Clin Periodontol, 2008. 35(8 Suppl): p. 282-5.
8. Mombelli, A., N. Muller, and N. Cionca, *The epidemiology of peri-implantitis*. Clin Oral Implants Res, 2012. 23 Suppl 6: p. 67-76.
9. Froum, S.J. and P.S. Rosen, *A proposed classification for peri-implantitis*. Int J Periodontics Restorative Dent, 2012. 32(5): p. 533-40.
10. Zhang, L., et al., *A new classification of peri-implant bone morphology: a radiographic study of patients with lower implant-supported mandibular overdentures*.
11. Schwarz, F., et al., *Comparison of naturally occurring and ligature-induced peri-implantitis bone defects in humans and dogs*. Clin Oral Implants Res, 2007. 18(2): p. 161-70.
12. Schwarz, F., et al., *Impact of defect configuration on the clinical outcome following surgical regenerative therapy of peri-implantitis*.
13. Sarmiento, H.L., M.R. Norton, and J.P. Fiorellini, *A Classification System for Peri-implant Diseases and Conditions*. Int J Periodontics Restorative Dent, 2016. 36(5): p. 699-705.

14. Schwarz, F., et al., *Healing of intrabony peri-implantitis defects following application of a nanocrystalline hydroxyapatite (Ostim) or a bovine-derived xenograft (Bio-Oss) in combination with a collagen membrane (Bio-Gide). A case series.* J Clin Periodontol, 2006. 33(7): p. 491-9.
15. Schwarz, F., et al., *Four-year follow-up of combined surgical therapy of advanced peri-implantitis evaluating two methods of surface decontamination.* J Clin Periodontol, 2013. 40(10): p. 962-7.
16. Albrektsson, T., et al., *Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man.* Acta Orthop Scand, 1981. 52(2): p. 155-70.
17. Berglundh, T., et al., *De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants.* Clin Oral Implants Res, 2003. 14(3): p. 251-62.
18. J., L., B. T., and A. T., *Oseointegracija: povijesna pozadina i sadašnja shvaćanja*, in *Klinička parodontologija i dentalna implantologija (IV izdanje)*, L. J., K. T., and L. N.P., Editors. 2004., Nakladni zavod Globus: Zagreb, Hrvatska. p. 809-20.
19. J., L. and B. T., *Transmukozni pričvstak*, in *Klinička parodontologija i dentalna implantologija (IV izdanje)*, L. J., K. T., and L. N.P., Editors. 2004., Nakladni zavod Globus: Zagreb, Hrvatska. p. 829-38.
20. Sgolastra, F., et al., *Periodontitis, implant loss and peri-implantitis. A meta-analysis.* Clin Oral Implants Res, 2015. 26(4): p. e8-16.
21. Heitz-Mayfield, L.J., *Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators.* J Clin Periodontol, 2008. 35(8 Suppl): p. 292-304.
22. Roos-Jansaker, A.M., et al., *Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part III: factors associated with peri-implant lesions.* J Clin Periodontol, 2006. 33(4): p. 296-301.
23. Saaby, M., et al., *Factors influencing severity of peri-implantitis.* Clin Oral Implants Res, 2014.
24. Wennstrom, J.L. and J. Derks, *Is there a need for keratinized mucosa around implants to maintain health and tissue stability?* Clin Oral Implants Res, 2012. 23 Suppl 6: p. 136-46.
25. Linkevicius, T., et al., *Does residual cement around implant-supported restorations cause peri-implant disease? A retrospective case analysis.* Clin Oral Implants Res, 2013. 24(11): p. 1179-84.

26. F., B. and P. V.R., *Periimplantitis. Aetiology, diagnosis, treatment. A review from literature*. 2010, Current health science journal: Craiova. p. 171-175.
27. Heitz-Mayfield, L.J. and N.P. Lang, *Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis*. Periodontol 2000, 2010. 53: p. 167-81.
28. Socransky, S.S., et al., *Microbial complexes in subgingival plaque*. J Clin Periodontol, 1998. 25(2): p. 134-44.
29. Mombelli, A. and F. Decaillet, *The characteristics of biofilms in peri-implant disease*. J Clin Periodontol, 2011. 38 Suppl 11: p. 203-13.
30. Gemmell, E., K. Yamazaki, and G.J. Seymour, *Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response*. Crit Rev Oral Biol Med, 2002. 13(1): p. 17-34.
31. Zhao, L., et al., *Effect of non-surgical periodontal therapy on the levels of Th17/Th1/Th2 cytokines and their transcription factors in Chinese chronic periodontitis patients*. J Clin Periodontol, 2011. 38(6): p. 509-16.
32. Tesmer, L.A., et al., *Th17 cells in human disease*. Immunol Rev, 2008. 223: p. 87-113.
33. Martinez, G.J., et al., *Regulation and function of proinflammatory TH17 cells*. Ann N Y Acad Sci, 2008. 1143: p. 188-211.
34. Schenkein, H.A., et al., *IL-17 in sera from patients with aggressive periodontitis*. J Dent Res, 2010. 89(9): p. 943-7.
35. Severino, V.O., et al., *Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-33 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant mucositis and peri-implantitis*. Archives of Oral Biology, 2016. 72: p. 194-199.
36. Severino, V.O., M.H. Napimoga, and S.A. de Lima Pereira, *Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-8 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis*. Arch Oral Biol, 2011. 56(8): p. 823-8.
37. Lester, S.R., et al., *Gingival concentrations of interleukin-23 and -17 at healthy sites and at sites of clinical attachment loss*. J Periodontol, 2007. 78(8): p. 1545-50.
38. Takahashi, K., et al., *The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of periodontal disease*. J Clin Periodontol, 2005. 32(4): p. 369-74.
39. Won, H.Y., et al., *Prominent bone loss mediated by RANKL and IL-17 produced by CD4+ T cells in TallyHo/JngJ mice*. PLoS One, 2011. 6(3): p. e18168.
40. Mootha, A., et al., *The Effect of Periodontitis on Expression of Interleukin-21: A Systematic Review*. Int J Inflam, 2016. 2016: p. 3507503.

41. Dutzan, N., et al., *Levels of interleukin-21 in patients with untreated chronic periodontitis*. J Periodontol, 2011. 82(10): p. 1483-9.
42. Dutzan, N., et al., *Interleukin-21 expression and its association with proinflammatory cytokines in untreated chronic periodontitis patients*. J Periodontol, 2012. 83(7): p. 948-54.
43. Andreiotelli, M., et al., *Relationship between interleukin-1 genotype and peri-implantitis: a literature review*. Quintessence Int, 2008. 39(4): p. 289-98.
44. Sorkhdini, P., et al., *Effect of hydrosoluble chlorine-mediated antimicrobial photodynamic therapy on clinical parameters and cytokine profile in ligature-induced periodontitis in dogs*. J Periodontol, 2013. 84(6): p. 793-800.
45. Yaghobee, S., A. Khorsand, and M. Paknejad, *Comparison of Interleukin-1 β Levels in Gingival Crevicular Fluid and Peri-Implant Crevicular Fluid and Its Relationship with Clinical Indexes*. Journal of Dentistry (Tehran, Iran), 2013. 10(1): p. 1-9.
46. Ohyama, H., et al., *The involvement of IL-23 and the Th17 pathway in periodontitis*. J Dent Res, 2009. 88(7): p. 633-8.
47. Zhu, L., et al., *IL-17R activation of human periodontal ligament fibroblasts induces IL-23 p19 production: Differential involvement of NF-kappaB versus JNK/AP-1 pathways*. Mol Immunol, 2011. 48(4): p. 647-56.
48. Qi, Y., et al., *Role of serum IL-23/IL-17 axis in the relationship between periodontitis and coronary heart disease*. Int J Periodontics Restorative Dent, 2013. 33(2): p. 185-91.
49. Luo, Z., et al., *Expression of IL-22, IL-22R and IL-23 in the peri-implant soft tissues of patients with peri-implantitis*. Arch Oral Biol, 2013. 58(5): p. 523-9.
50. Mombelli, A. and N.P. Lang, *The diagnosis and treatment of peri-implantitis*. Periodontol 2000, 1998. 17: p. 63-76.
51. Hultin, M., et al., *Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis*. Clin Oral Implants Res, 2002. 13(4): p. 349-58.
52. Malevez, C., M. Hermans, and P. Daelemans, *Marginal bone levels at Branemark system implants used for single tooth restoration. The influence of implant design and anatomical region*. Clin Oral Implants Res, 1996. 7(2): p. 162-9.
53. Astrand, P., et al., *Nonsubmerged and submerged implants in the treatment of the partially edentulous maxilla*. Clin Implant Dent Relat Res, 2002. 4(3): p. 115-27.
54. Heckmann, S.M., et al., *Stress and inflammation as a detrimental combination for peri-implant bone loss*. J Dent Res, 2006. 85(8): p. 711-6.

55. Parlar, A., et al., *Effects of decontamination and implant surface characteristics on re-osseointegration following treatment of peri-implantitis*. Clin Oral Implants Res, 2009. 20(4): p. 391-9.
56. *Peri-implant mucositis and peri-implantitis: a current understanding of their diagnoses and clinical implications*. J Periodontol, 2013. 84(4): p. 436-43.
57. Ata-Ali, J., et al., *Peri-implantitis: associated microbiota and treatment*. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2011. 16(7): p. e937-43.
58. Lang, N.P., T.G. Wilson, and E.F. Corbet, *Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment*. Clin Oral Implants Res, 2000. 11 Suppl 1: p. 146-55.
59. John, G., J. Becker, and F. Schwarz, *Rotating titanium brush for plaque removal from rough titanium surfaces--an in vitro study*. Clin Oral Implants Res, 2014. 25(7): p. 838-42.
60. Sahm, N., et al., *Non-surgical treatment of peri-implantitis using an air-abrasive device or mechanical debridement and local application of chlorhexidine: a prospective, randomized, controlled clinical study*. J Clin Periodontol, 2011. 38(9): p. 872-8.
61. Heitz-Mayfield, L.J. and A. Mombelli, *The therapy of peri-implantitis: a systematic review*. Int J Oral Maxillofac Implants, 2014. 29 Suppl: p. 325-45.
62. Schwarz, F., et al., *Clinical and histological healing pattern of peri-implantitis lesions following non-surgical treatment with an Er:YAG laser*. Lasers Surg Med, 2006. 38(7): p. 663-71.
63. Schwarz, F., et al., *Nonsurgical treatment of moderate and advanced periimplantitis lesions: a controlled clinical study*. Clin Oral Investig, 2006. 10(4): p. 279-88.
64. Persson, G.R., et al., *Mechanical non-surgical treatment of peri-implantitis: a single-blinded randomized longitudinal clinical study. II. Microbiological results*. J Clin Periodontol, 2010. 37(6): p. 563-73.
65. Renvert, S., A.M. Roos-Jansaker, and N. Claffey, *Non-surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a literature review*. J Clin Periodontol, 2008. 35(8 Suppl): p. 305-15.
66. Faggion, C.M., Jr., et al., *A systematic review and Bayesian network meta-analysis of randomized clinical trials on non-surgical treatments for peri-implantitis*. J Clin Periodontol, 2014. 41(10): p. 1015-25.

67. Al-Ahmad, A., et al., *Antimicrobial photodynamic therapy using visible light plus water-filtered infrared-A (wIRA)*. J Med Microbiol, 2013. 62(Pt 3): p. 467-73.
68. Javed, F., et al., *Clinical efficacy of antibiotics in the treatment of peri-implantitis*. Int Dent J, 2013. 63(4): p. 169-76.
69. Bassetti, M., et al., *Anti-infective therapy of peri-implantitis with adjunctive local drug delivery or photodynamic therapy: 12-month outcomes of a randomized controlled clinical trial*. Clin Oral Implants Res, 2014. 25(3): p. 279-87.
70. Romeo, E., et al., *Therapy of peri-implantitis with resective surgery. A 3-year clinical trial on rough screw-shaped oral implants. Part II: radiographic outcome*. Clin Oral Implants Res, 2007. 18(2): p. 179-87.
71. Figuero, E., et al., *Management of peri-implant mucositis and peri-implantitis*. Periodontol 2000, 2014. 66(1): p. 255-73.
72. Roos-Jansaker, A.M., et al., *Surgical treatment of peri-implantitis using a bone substitute with or without a resorbable membrane: a 5-year follow-up*. J Clin Periodontol, 2014. 41(11): p. 1108-14.
73. Chan, H.L., et al., *Surgical management of peri-implantitis: a systematic review and meta-analysis of treatment outcomes*. J Periodontol, 2014. 85(8): p. 1027-41.
74. Sahrman, P., T. Attin, and P.R. Schmidlin, *Regenerative treatment of peri-implantitis using bone substitutes and membrane: a systematic review*. Clin Implant Dent Relat Res, 2011. 13(1): p. 46-57.
75. Haas, R., et al., *Lethal photosensitization, autogenous bone, and e-PTFE membrane for the treatment of peri-implantitis: preliminary results*. Int J Oral Maxillofac Implants, 2000. 15(3): p. 374-82.
76. Prathapachandran, J. and N. Suresh, *Management of peri-implantitis*. Dent Res J (Isfahan), 2012. 9(5): p. 516-21.
77. Schwarz, F., N. Sahm, and J. Becker, *Combined surgical therapy of advanced peri-implantitis lesions with concomitant soft tissue volume augmentation. A case series*. Clin Oral Implants Res, 2014. 25(1): p. 132-6.
78. Schwarz, F., et al., *Impact of the method of surface debridement and decontamination on the clinical outcome following combined surgical therapy of peri-implantitis: a randomized controlled clinical study*. J Clin Periodontol, 2011. 38(3): p. 276-84.
79. Schwarz, F., et al., *Combined surgical therapy of peri-implantitis evaluating two methods of surface debridement and decontamination. A two-year clinical follow up report*. J Clin Periodontol, 2012. 39(8): p. 789-97.

80. Schwarz, F., et al., *Combined surgical resective and regenerative therapy for advanced peri-implantitis with concomitant soft tissue volume augmentation: a case report*. Int J Periodontics Restorative Dent, 2014. 34(4): p. 489-95.
81. Romeo, E., et al., *Therapy of peri-implantitis with resective surgery. A 3-year clinical trial on rough screw-shaped oral implants. Part I: clinical outcome*. Clin Oral Implants Res, 2005. 16(1): p. 9-18.
82. Carcuac, O., et al., *The effect of the local use of chlorhexidine in surgical treatment of experimental peri-implantitis in dogs*. J Clin Periodontol, 2014.
83. Heitz-Mayfield, L.J., et al., *Anti-infective surgical therapy of peri-implantitis. A 12-month prospective clinical study*. Clin Oral Implants Res, 2012. 23(2): p. 205-10.
84. Levin, L., et al., *Water jet with adjunct chlorhexidine gel for nonsurgical treatment of peri-implantitis*. Quintessence Int, 2014.
85. Salmeron, S., et al., *Laser therapy as an effective method for implant surface decontamination: a histomorphometric study in rats*. J Periodontol, 2013. 84(5): p. 641-9.
86. Subramani, K. and D. Wismeijer, *Decontamination of titanium implant surface and re-osseointegration to treat peri-implantitis: a literature review*. Int J Oral Maxillofac Implants, 2012. 27(5): p. 1043-54.
87. Romanos, G.E., et al., *Peri-implant Diseases: A Review of Treatment Interventions*. Dent Clin North Am, 2015. 59(1): p. 157-178.
88. de Waal, Y.C., et al., *Implant decontamination with 2% chlorhexidine during surgical peri-implantitis treatment: a randomized, double-blind, controlled trial*. Clin Oral Implants Res, 2014.
89. Marotti, J., et al., *Decontamination of dental implant surfaces by means of photodynamic therapy*. Lasers Med Sci, 2013. 28(1): p. 303-9.
90. Meyle, J., *Mechanical, chemical and laser treatments of the implant surface in the presence of marginal bone loss around implants*. Eur J Oral Implantol, 2012. 5 Suppl: p. S71-81.
91. Valderrama, P. and T.G. Wilson, Jr., *Detoxification of implant surfaces affected by peri-implant disease: an overview of surgical methods*. Int J Dent, 2013. 2013: p. 740680.
92. Giannelli, M., et al., *Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: a molecular and ultrastructural investigation*. Toxicol In Vitro, 2008. 22(2): p. 308-17.

93. Hidalgo, E. and C. Dominguez, *Mechanisms underlying chlorhexidine-induced cytotoxicity*. *Toxicol In Vitro*, 2001. 15(4-5): p. 271-6.
94. Chang, Y.C., et al., *The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2001. 92(4): p. 446-50.
95. Pucher, J.J. and J.C. Daniel, *The effects of chlorhexidine digluconate on human fibroblasts in vitro*. *J Periodontol*, 1992. 63(6): p. 526-32.
96. de Waal, Y.C., et al., *Implant decontamination during surgical peri-implantitis treatment: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. *J Clin Periodontol*, 2013. 40(2): p. 186-95.
97. Rodriguez-Perez, M., et al., *Effectiveness of 1% versus 0.2% chlorhexidine gels in reducing alveolar osteitis from mandibular third molar surgery: a randomized, double-blind clinical trial*. (1698-6946 (Electronic)).
98. Schou, S., et al., *Anorganic porous bovine-derived bone mineral (Bio-Oss) and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis in cynomolgus monkeys*. *Clin Oral Implants Res*, 2003. 14(5): p. 535-47.
99. A, E., *Zur Quantentheorie der Strahlung*. 1917, *Physical Z.* p. 121-8.
100. Maiman, T.H., *Stimulated Optical Radiation in Ruby*. *Nature*, 1960. 187(4736): p. 493-494.
101. Goldman, L., et al., *IMPACT OF THE LASER ON DENTAL CARIES*. *Nature*, 1964. 203: p. 417.
102. Ratz, J.L., *Laser physics*. *Clin Dermatol*, 1995. 13(1): p. 11-20.
103. Reinisch, L., *Laser physics and tissue interactions*. *Otolaryngol Clin North Am*, 1996. 29(6): p. 893-914.
104. Coluzzi, D.J., *An overview of laser wavelengths used in dentistry*. *Dent Clin North Am*, 2000. 44(4): p. 753-65.
105. Coluzzi, D.J., *Fundamentals of dental lasers: science and instruments*. *Dent Clin North Am*, 2004. 48(4): p. 751-70, v.
106. Coluzzi, D.J., *Lasers in dentistry*. *Compend Contin Educ Dent*, 2005. 26(6A Suppl): p. 429-35; quiz 436.
107. Cobb, C.M., S.B. Low, and D.J. Coluzzi, *Lasers and the treatment of chronic periodontitis*. *Dent Clin North Am*, 2010. 54(1): p. 35-53.
108. Romanos, G.E., et al., *Lasers use in dental implantology*. *Implant Dent*, 2013. 22(3): p. 282-8.

109. Roncati, M., A. Lucchese, and F. Carinci, *Non-surgical treatment of peri-implantitis with the adjunctive use of an 810-nm diode laser*. J Indian Soc Periodontol, 2013. 17(6): p. 812-5.
110. Schwarz, F., et al., *Clinical evaluation of an Er:YAG laser for nonsurgical treatment of peri-implantitis: a pilot study*. Clin Oral Implants Res, 2005. 16(1): p. 44-52.
111. Renvert, S., et al., *Treatment of peri-implantitis using an Er:YAG laser or an air-abrasive device: a randomized clinical trial*. J Clin Periodontol, 2011. 38(1): p. 65-73.
112. Cheng, X., et al., *Evaluation of the bactericidal effect of Nd:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG laser radiation, and antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in experimentally infected root canals*. Lasers Surg Med, 2012. 44(10): p. 824-31.
113. Nevins, M., et al., *Use of Er:YAG laser to decontaminate infected dental implant surface in preparation for reestablishment of bone-to-implant contact*. Int J Periodontics Restorative Dent, 2014. 34(4): p. 461-6.
114. Meisel, P. and T. Kocher, *Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art*. J Photochem Photobiol B, 2005. 79(2): p. 159-70.
115. Neugebauer, J., *Using photodynamic therapy to treat peri-implantitis*. Interview. Dent Implantol Update, 2005. 16(2): p. 9-16.
116. Rajesh, S., et al., *Antimicrobial photodynamic therapy: An overview*. J Indian Soc Periodontol, 2011. 15(4): p. 323-7.
117. Konopka, K. and T. Goslinski, *Photodynamic therapy in dentistry*. J Dent Res, 2007. 86(8): p. 694-707.
118. Takasaki, A.A., et al., *Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases*. Periodontology 2000, 2009. 51(1): p. 109-140.
119. de Oliveira, R.R., et al., *Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: cytokine profile in gingival crevicular fluid, preliminary results*. J Periodontol, 2009. 80(1): p. 98-105.
120. Miyabe, M., et al., *Effect of photodynamic therapy on clinical isolates of Staphylococcus spp*. Braz Oral Res, 2011. 25(3): p. 230-4.
121. Silva, L.A., et al., *Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of teeth with apical periodontitis: a histopathological evaluation*. J Endod, 2012. 38(3): p. 360-6.
122. Vilela, S.F., et al., *Photodynamic inactivation of Staphylococcus aureus and Escherichia coli biofilms by malachite green and phenothiazine dyes: an in vitro study*. Arch Oral Biol, 2012. 57(6): p. 704-10.

123. Schar, D., et al., *Anti-infective therapy of peri-implantitis with adjunctive local drug delivery or photodynamic therapy: six-month outcomes of a prospective randomized clinical trial*. Clin Oral Implants Res, 2013. 24(1): p. 104-10.
124. Javed, F. and G.E. Romanos, *Does photodynamic therapy enhance standard antibacterial therapy in dentistry?* Photomed Laser Surg, 2013. 31(11): p. 512-8.
125. Bombeccari, G.P., et al., *Photodynamic therapy to treat periimplantitis*. Implant Dent, 2013. 22(6): p. 631-8.
126. Dilsiz, A., V. Canakci, and T. Aydin, *Clinical effects of potassium-titanyl-phosphate laser and photodynamic therapy on outcomes of treatment of chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial*. J Periodontol, 2013. 84(3): p. 278-86.
127. Giannopoulou, C., et al., *Effect of photodynamic therapy, diode laser, and deep scaling on cytokine and acute-phase protein levels in gingival crevicular fluid of residual periodontal pockets*. J Periodontol, 2012. 83(8): p. 1018-27.
128. Dortbudak, O., et al., *Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis*. Clin Oral Implants Res, 2001. 12(2): p. 104-8.
129. Shibli, J.A., et al., *Lethal photosensitization and guided bone regeneration in treatment of peri-implantitis: an experimental study in dogs*. Clin Oral Implants Res, 2006. 17(3): p. 273-81.
130. Sousa, V., et al., *Experimental models for contamination of titanium surfaces and disinfection protocols*. Clinical Oral Implants Research, 2016. 27(10): p. 1233-1242.
131. Widodo, A., et al., *An in vitro study on disinfection of titanium surfaces*. Clinical Oral Implants Research, 2016. 27(10): p. 1227-1232.
132. Ainamo, J. and I. Bay, *Problems and proposals for recording gingivitis and plaque*. Int Dent J, 1975. 25(4): p. 229-35.
133. Olmedo-Gaya, M.V., et al., *Risk factors associated with early implant failure: A 5-year retrospective clinical study*. The Journal of Prosthetic Dentistry, 2016. 115(2): p. 150-155.
134. Vervaeke, S., et al., *A multifactorial analysis to identify predictors of implant failure and peri-implant bone loss*. Clin Implant Dent Relat Res, 2015. 17 Suppl 1: p. e298-307.
135. Sgolastra, F., et al., *Smoking and the risk of peri-implantitis. A systematic review and meta-analysis*. Clin Oral Implants Res, 2015. 26(4): p. e62-7.

136. Artsan, V., et al., *Evaluation of 316 narrow diameter implants followed for 5–10 years: a clinical and radiographic retrospective study*. *Clinical Oral Implants Research*, 2010. 21(3): p. 296-307.
137. Linkevicius, T., et al., *The influence of soft tissue thickness on crestal bone changes around implants: a 1-year prospective controlled clinical trial*. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2009. 24(4): p. 712-9.
138. Doornewaard, R., et al., *Long-Term Effect of Surface Roughness and Patients' Factors on Crestal Bone Loss at Dental Implants. A Systematic Review and Meta-Analysis*. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 2016: p. n/a-n/a.
139. Albouy, J.P., et al., *Implant surface characteristics influence the outcome of treatment of peri-implantitis: an experimental study in dogs*. *J Clin Periodontol*, 2011. 38(1): p. 58-64.
140. Sun, Y., et al. *Comparative study of single-thread, double-thread, and triple-thread dental implant: a three-dimensional finite element analysis*. 2007. 3, 310-314.
141. Nedir, R., et al., *Prosthetic complications with dental implants: from an up-to-8-year experience in private practice*. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2006. 21(6): p. 919-28.
142. Vindasiute, E., et al., *Clinical Factors Influencing Removal of the Cement Excess in Implant-Supported Restorations*. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2015. 17(4): p. 771-8.
143. Linkevicius, T., et al., *The influence of margin location on the amount of undetected cement excess after delivery of cement-retained implant restorations*. *Clin Oral Implants Res*, 2011. 22(12): p. 1379-84.
144. Linkevicius, T., et al., *The influence of the cementation margin position on the amount of undetected cement. A prospective clinical study*. *Clin Oral Implants Res*, 2013. 24(1): p. 71-6.
145. Tastepe, C.S., et al., *Cleaning and modification of intraorally contaminated titanium discs with calcium phosphate powder abrasive treatment*. *Clin Oral Implants Res*, 2013. 24(11): p. 1238-46.
146. Klinge, B., A. Gustafsson, and T. Berglundh, *A systematic review of the effect of anti-infective therapy in the treatment of peri-implantitis*. *J Clin Periodontol*, 2002. 29 Suppl 3: p. 213-25; discussion 232-3.
147. Rathbone, C.R., et al., *Effect of various concentrations of antibiotics on osteogenic cell viability and activity*. *Journal of Orthopaedic Research*, 2011. 29(7): p. 1070-1074.

148. Suarez, F., et al., *Implant surface detoxification: a comprehensive review*. *Implant Dent*, 2013. 22(5): p. 465-73.
149. Shibli, J.A., et al., *Lethal photosensitization in microbiological treatment of ligature-induced peri-implantitis: a preliminary study in dogs*. *J Oral Sci*, 2003. 45(1): p. 17-23.
150. Shibli, J.A., et al., *Treatment of ligature-induced peri-implantitis by lethal photosensitization and guided bone regeneration: a preliminary histologic study in dogs*. *J Periodontol*, 2003. 74(3): p. 338-45.
151. Romanos, G., et al., *The use of CO(2) laser in the treatment of peri-implantitis*. *Photomed Laser Surg*, 2009. 27(3): p. 381-6.
152. Monzavi, A., et al., *Implant Surface Temperature Changes during Er:YAG Laser Irradiation with Different Cooling Systems*. *J Dent (Tehran)*, 2014. 11(2): p. 210-5.
153. Lulic, M., et al., *One-year outcomes of repeated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: a proof-of-principle randomized-controlled clinical trial*. *J Clin Periodontol*, 2009. 36(8): p. 661-6.
154. Monzavi, A., et al., *Antimicrobial photodynamic therapy using diode laser activated indocyanine green as an adjunct in the treatment of chronic periodontitis: A randomized clinical trial*. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2016. 14: p. 93-7.
155. Betsy, J., et al., *Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy in the management of chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial*. *J Clin Periodontol*, 2014. 41(6): p. 573-81.
156. Deppe, H., et al., *Nonsurgical antimicrobial photodynamic therapy in moderate vs severe peri-implant defects: a clinical pilot study*. *Quintessence Int*, 2013. 44(8): p. 609-18.
157. Schwarz, F., et al., *Influence of different treatment approaches on non-submerged and submerged healing of ligature induced peri-implantitis lesions: an experimental study in dogs*. *J Clin Periodontol*, 2006. 33(8): p. 584-95.
158. Schwarz, F., et al., *Surgical regenerative treatment of peri-implantitis lesions using a nanocrystalline hydroxyapatite or a natural bone mineral in combination with a collagen membrane: a four-year clinical follow-up report*. *J Clin Periodontol*, 2009. 36(9): p. 807-14.
159. Heitz-Mayfield, L.J.A., et al., *Supportive peri-implant therapy following anti-infective surgical peri-implantitis treatment: 5-year survival and success*. *Clinical Oral Implants Research*, 2016.

160. Maximo, M.B., et al., *Short-term clinical and microbiological evaluations of peri-implant diseases before and after mechanical anti-infective therapies*. Clin Oral Implants Res, 2009. 20(1): p. 99-108.
161. Romeo, U., et al., *The Antimicrobial Photodynamic Therapy in the Treatment of Peri-Implantitis*. Int J Dent, 2016. 2016: p. 7692387.
162. Wetzel, A.C., et al., *Attempts to obtain re-osseointegration following experimental peri-implantitis in dogs*. Clin Oral Implants Res, 1999. 10(2): p. 111-9.
163. Teixeira, M.K., et al., *Th17-related cytokines in mucositis: is there any difference between peri-implantitis and periodontitis patients?* Clin Oral Implants Res, 2016.
164. Meffert, R.M., *Periodontitis vs. peri-implantitis: the same disease? The same treatment?* Crit Rev Oral Biol Med, 1996. 7(3): p. 278-91.
165. Gaffen, S.L., *Biology of recently discovered cytokines: interleukin-17--a unique inflammatory cytokine with roles in bone biology and arthritis*. Arthritis Res Ther, 2004. 6(6): p. 240-7.
166. Duarte, P.M., et al., *Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases*. J Periodontol, 2009. 80(2): p. 234-43.
167. Wohlfahrt, J.C., et al., *Sulcus fluid bone marker levels and the outcome of surgical treatment of peri-implantitis*. J Clin Periodontol, 2014. 41(4): p. 424-31.
168. Duarte, P.M., et al., *Differential cytokine expressions affect the severity of peri-implant disease*. Clin Oral Implants Res, 2009. 20(5): p. 514-20.
169. Dursun, E. and T.F. Tozum, *Peri-Implant Crevicular Fluid Analysis, Enzymes and Biomarkers: a Systemetic Review*. J Oral Maxillofac Res, 2016. 7(3): p. e9.
170. Teymouri, F., S.Z. Farhad, and H. Golestaneh, *The Effect of Photodynamic Therapy and Diode Laser as Adjunctive Periodontal Therapy on the Inflammatory Mediators Levels in Gingival Crevicular Fluid and Clinical Periodontal Status*. J Dent (Shiraz), 2016. 17(3): p. 226-32.
171. Napimoga, M.H., et al., *Possible involvement of IL-21 and IL-10 on salivary IgA levels in chronic periodontitis subjects*. Scand J Immunol, 2011. 74(6): p. 596-602.
172. Isaza-Guzman, D.M., et al., *Association study between salivary levels of interferon (IFN)-gamma, interleukin (IL)-17, IL-21, and IL-22 with chronic periodontitis*. Arch Oral Biol, 2015. 60(1): p. 91-9.

173. Mardegan, G.P., et al., *Transforming growth factor-beta, interleukin-17, and IL-23 gene expression profiles associated with human peri-implantitis*. Clin Oral Implants Res, 2016.
174. Luo, Z., et al., *Clinical significance of IL-23 regulating IL-17A and/or IL-17F positive Th17 cells in chronic periodontitis*. Mediators Inflamm, 2014. 2014: p. 627959.
175. Salvi, G.E., et al., *One-year bacterial colonization patterns of Staphylococcus aureus and other bacteria at implants and adjacent teeth*. Clinical Oral Implants Research, 2008. 19(3): p. 242-248.
176. Gursoy, H., et al., *Photodynamic therapy in dentistry: a literature review*. Clin Oral Investig, 2013. 17(4): p. 1113-25.
177. Hafner, S., et al., *Photodynamic Inactivation of Actinomyces naeslundii in Comparison With Chlorhexidine and Polyhexanide—A New Approach for Antiseptic Treatment of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw?* Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2016. 74(3): p. 516-522.
178. Proksch, S., et al., *Melatonin as a candidate therapeutic drug for protecting bone cells from chlorhexidine-induced damage*. J Periodontol, 2014. 85(12): p. e379-89.

Biografija

Dragana Rakašević rođena je 17.10.1987. godine u Sremskoj Mitrovici. Svoje osnovno, gimnazijsko i srednje-muzičko obrazovanje završila je u Sremskoj Mitrovici, 2006. godine. Stomatološki fakultet, Univerziteta u Beogradu upisala je 2006. godine. Tokom osnovnih studija prezentovala je 2 naučna rada. Nagrađena je 2010. godina za najbolji naučno-istraživački rad na biomedicinskom studentskom kongresu sa internacionalnim učešćem. Takođe, 2011. proglašena je za najboljeg studenta V godine, Stomatološkog fakulteta u Beogradu. Diplomirala je u oktobru, 2011.godine sa prosečnom ocenom 8.78. Pripravnički staž obavila je na klinikama Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, a stručni ispit položila je 2012. godine. Doktorske studije iz oblasti Parodontologije upisala je 2011. godine. Naučno-istraživački rad u okviru svoje doktorske disertacije objavila je pod mentorstvom profesora dr Zorana Aleksića. Takođe, 2015. godine upisala je specijalizaciju iz oblasti Parodontologija i Oralna Medicina na Stomatološkom fakultetu, Univerziteta u Beogradu. Saradnik je na projektu Ministarstva prosvete i nauke republike Srbije (#41008: „Interakcija etiopatogenetskih mehanizama parodontopatije i peri-implantitisa sa sistemskim bolestima današnjice“, rukovodilac profesor dr Vojislav Leković). Autor i koautor je na sedam radova saopštenih na domaćim i međunarodnim kongresima i naučnim skupovima, predavač po pozivu i učesnik u brojnim nacionalnim i međunarodnim kongresima i skupovima. Svoje znanje svakodnevno usavršava čitajući stručnu literaturu i posećujući brojne inostrane workshop-ove i kongrese. Od 2013. godine član je Udruženja parodontologa Srbije i Evropske federacije parodontologa.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Dragana Rakašević

број индекса 002/2011

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Procena efikasnosti fotodinamske terapije kod peri-implantitisa

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 18.4.2017.

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: **Dragana Rakašević**

Број индекса: **002/2011**

Студијски програм **Doktorske studije**

Наслов рада **Procena efikasnosti fotodinamske terapije kod peri-implantitisa**

Ментор **prof. dr Zoran Aleksić**

Потписани/а **Dragana Rakašević**

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 18.4.2017.

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Procena efikasnosti fotodinamske terapije kod peri-implantitisa

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 18.4.2017.

1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.