

STUDI PUSTAKA

Beta defensin polipeptida antimikroba dalam hubungannya dengan periodontitis kronis dan agresif

Sugiharto Wijaya* dan Sri Lelyati C Masulili**

*Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

**Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

*Jl.Salemba Raya No 4, Jakarta Pusat, Indonesia; e-mail: srilelyati@yahoo.com

ABSTRAK

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi yang menyerang periodonsium dan faktor utama penyebab kehilangan gigi di dunia. Di Indonesia, penyakit periodontal menduduki urutan kedua setelah karies dan masih merupakan masalah di masyarakat. Defensin merupakan elemen kunci dari sistem kekebalan bawaan dan sebagai pertahanan pertama untuk jaringan mulut serta organ lainnya. *HBDs* telah terdeteksi dalam epitel gingiva, kelenjar ludah, air liur, dan *gingival crevicular fluid (GCF)*. Tujuan telaah pustaka adalah untuk mengetahui tentang adanya peptida antimikroba *Human Beta Defensin* khususnya *Human Beta Defensin-1* dan pengaruhnya terhadap perkembangan terjadinya periodontitis baik kronis maupun agresif. Terdapat peptida antimikroba yang dikenal dengan nama *Human Beta Defensin* yang merupakan mekanisme pertahanan tubuh awal terhadap infeksi, dimana fungsi dan pengaruhnya masih banyak diperdebatkan oleh para peneliti.

Kata kunci: *human beta defensin*, periodontitis kronis, periodontitis agresif, *gingival crevicular fluid*

ABSTRACT: Antimicrobial polypeptides beta defensin in conjunction with chronic and aggressive periodontitis. *Periodontitis is an inflammatory disease that attacks the periodontium and the main factors causing the loss of teeth in the world. In Indonesia, periodontal disease ranks second after caries and still is a problem in the community. Defensins are key elements of the innate immune system and as a first defense for oral tissues and other organs. HBDs has been detected in the gingival epithelium, salivary glands and saliva and gingival crevicular fluid (GCF). Objective to know about the existence of the Human beta defensin antimicrobial peptides, especially Human beta defensin-1 and its influence on the development of chronic and aggressive periodontitis either. There is an antimicrobial peptide, known as Human beta defensin which is the body's defense mechanism against infection early, in which the function and influence is still much debated by researchers.*

Keywords: *Human beta defensin, chronic periodontitis, aggressive periodontitis, gingival crevicular fluid*

PENDAHULUAN

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi yang menyerang periodonsium dan faktor utama penyebab kehilangan gigi di dunia.¹ Di Indonesia, penyakit periodontal menduduki urutan kedua setelah karies dan masih merupakan masalah di masyarakat.²

Periodontitis adalah suatu kondisi inflamasi jaringan periodontal yang ditandai dengan adanya migrasi *junctional epithelium* ke arah apikal, kehilangan perlekatan dan resorpsi tulang alveolar. Pada pemeriksaan klinis terdapat peningkatan kedalaman probing, perdarahan saat probing (*BOP* positif) serta perubahan kontur fisiologis dari gingival.³ Penyakit periodontal adalah

suatu penyakit infeksi yang disebabkan karena bakteri yang terdapat pada plak gigi. Plak gigi adalah massa kompleks berisi bakteri dan produk metabolitnya, racun, virus, sisa makanan dan sel-sel mati.⁴

Penyakit atau infeksi periodontal dimulai ketika plak atau kalkulus terakumulasi pada permukaan gigi. Kalkulus atau tartar adalah faktor kedua atau mempunyai kontribusi sebagai faktor etiologi penyakit periodontal. Kalkulus adalah plak gigi yang terkalsifikasi, kalkulus tidak mengandung mikroorganisme hidup seperti plak gigi. Walaupun demikian, permukaannya yang berpori memungkinkan terakumulasinya plak.⁴

Periodontitis adalah penyakit inflamasi yang kompleks ditandai dengan kerusakan progresif sekitar jaringan ikat dan pendukung tulang alveolar gigi.⁵ Terbagi menjadi periodontitis agresif dan periodontitis kronis. Faktor sistemik, seperti diabetes, perokok, dan stres, maka progres penyakit akan lebih cepat karena faktor tersebut dapat mengubah respon host terhadap akumulasi plak.³

Dalam merespon terhadap invasi bakteri, maka tubuh akan mensintesis sitokin proinflamasi seperti *IL-1*, *IL-8*, *Tumor Necrosis Factor- (TNF-)*, serta peptide antimikroba penting, salah satunya adalah *Human Beta-defensin-1 (HBD-1)*. Hal ini akan dapat dideteksi dari *Gingival Crevicular Fluid (GCF)* dan secara signifikan dapat ditemukan pada lapisan epitel dari lesi periodontal.⁶

Defensin merupakan elemen kunci dari sistem kekebalan bawaan dan sebagai pertahanan pertama untuk jaringan mulut dan organ lainnya. Mereka menunjukkan spektrum yang luas dari aktivitas terhadap patogen, termasuk bakteri Gram-positif dan Gram-negatif.⁷ Ekspresi variabel *beta-defensin-1 (HBD-1)* dalam rongga mulut bisa membuat seseorang berisiko untuk penyakit periodontal atau karies.⁸ Ada beberapa bukti yang mendukung peran kemungkinan *HBD-1* pada penyakit periodontal dan karies. Ekspresi konstitutif *HBD-1* telah ditunjukkan dalam rongga mulut ketika paparan konstan mikro-organisme oral hadir. *Human Beta Defensin-1* juga disekresi dalam cairan biologis, seperti cairan sulkus gingiva⁹ dan air liur,¹⁰ yang menunjukkan bahwa ekspresi *HBD-1* mungkin memainkan peran sebagai bagian dari pertahanan host *innate* dalam mempertahankan gingiva normal dan kesehatan mulut.

Beta Defensin bertindak sebagai chemoattractants untuk T-sel dan sel dendritik dari sistem kekebalan *adaptive*,¹¹ menunjukkan peran utama untuk peptida

ini dalam pertahanan host terhadap infeksi. Penelitian terhadap binatang, induksi

Aggregatibacter actinomycetemcomitans, bakteri *periopathogenic*, menghasilkan peningkatan kadar *HBD-1* pada epitel gingiva.¹² Penyelidikan awal dengan varian polimorfik di *HBD-1(692 G> A)* pada orang Kaukasia Amerika Utara dengan periodontitis kronis menyeluruh tidak mendukung peran *HBD-1* dalam penyakit periodontal.¹³

Terdapat dua kelompok *Human defensin*, yaitu *Alpha-defensin* dan *Beta-defensin*.¹⁴ Peptida *human alpha-defensin* dapat mengaktifkan jalur komplemen klasik¹⁵ dan berperan meregulasi produksi *IL-8* pada sel epitel. Peran *human beta-defensin* adalah untuk menarik sel dendritik yang *imature*, sel T (*memory*) *CD4/CD45RO* dan sel T *CD8* dengan mengikat reseptor *chemokine* yaitu *CCR6* yang akan memfasilitasi destruksi *Antigen (Ag)* dan membentuk kompleks *defensin-Ag*. Peptida antimikroba ini juga akan berperan saat alergi yaitu peningkatan pelepasan histamin dan produksi *PGE2* oleh sel mast.¹⁶ *Human Beta Defensin* juga berperan dalam penyembuhan luka dan supresi tumor, hal ini nantinya dapat dikembangkan dan diharapkan menjadi alat yang berguna untuk terapi dan merangsang penyembuhan luka.¹¹ *Human Beta Defensin* juga digunakan sebagai vaksin untuk virus HIV-1 dan biomarker pada terapi kanker.¹¹

Banyak silang pendapat yang mengatakan bahwa *HBD-1* terekspresikan pada gingiva yang terinflamasi dan *HBD-2* pada kondisi gingiva yang sehat. Akan tetapi Dale et al. menunjukkan bahwa *HBD-1* dan *HBD-2* secara imuno-histologi terdapat dalam jumlah banyak pada epitel sulkular dan marginal yang terinflamasi.¹⁵ Dimasa depan diharapkan *HBD-1* dapat digunakan dalam terapi kanker dan penyembuhan luka. Strategi yang mungkin digunakan adalah bahwa *HBD-1*

dalam bentuk topical akan mendestruksi membrane sel tumor dan dalam konsentrasi yang tinggi akan menurunkan proliferasi sel tumor.¹¹

Tujuan dari tinjauan pustaka ini adalah untuk mengetahui tentang adanya peptida antimikroba *Human Beta Defensin* khususnya Human Beta Defensin-1 dan pengaruhnya terhadap perkembangan terjadinya periodontitis baik kronis maupun agresif.

PEMBAHASAN

Periodontitis

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi yang menyerang periodonsium dan faktor utama penyebab kehilangan gigi di dunia.¹ Periodontitis adalah suatu kondisi inflamasi jaringan periodontal yang ditandai dengan adanya migrasi *junctional epithelium* ke arah apikal, kehilangan perlekatan dan resorpsi tulang alveolar. Periodontitis adalah suatu penyakit peradangan jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme yang mengakibatkan penghancuran progresif ligamentum periodontal dan tulang alveolar, dengan pembentukan poket, resesi atau keduanya.³ Infeksi periodontal dimulai oleh invasi *oral pathogen* spesifik yang berkolonisasi pada biofilm plak gigi dan permukaan akar gigi.³ Pada jaringan periodontal yang normal terdapat berbagai macam mikroorganisme subgingiva. Bakteri tersebut berfungsi untuk menjaga keseimbangan lingkungan antara mikroorganisme dengan jaringan periodontal dan sel-sel imun tubuh. Jika jaringan periodontal terinfeksi oleh bakteri patogen, maka jaringan tersebut akan mengalami inflamasi dan secara tidak langsung tubuh akan mengeluarkan sel-sel imunnya untuk melawan bakteri itu.³ Periodontitis terbagi menjadi periodontitis agresif dan periodontitis kronis. Periodontitis agresif jarang terjadi, sering berat, bentuk progresif cepat periodontitis yang ditandai dengan manifestasi klinis

terjadi pada onset yang muda dan kecenderungan khas untuk kasus-kasus agregat dalam keluarga atau diturunkan. Penyakit ini ditandai dengan hilangnya serat kolagen di ligamen periodontal dan resorpsi tulang yang luas, poket periodontal dalam, resesi gingiva dan mobilitas gigi dan akhirnya kehilangan gigi. Berbeda dengan periodontitis kronis, periodontitis agresif terjadi pada individu yang sehat, *OHIS* yang baik, namun menunjukkan kerusakan jaringan periodontal yang cepat.¹⁷

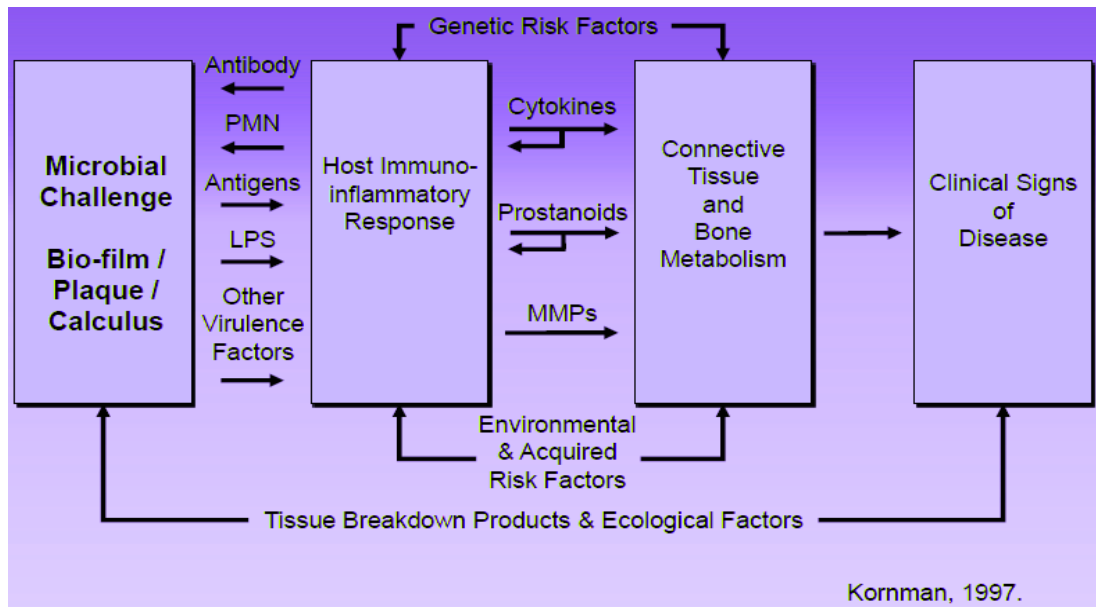
Kelainan periodontal yang umum terjadi adalah periodontitis kronis. Periodontitis kronis merupakan hasil dari respon pejamu pada agregasi bakteri di permukaan gigi. Penyakit ini mengakibatkan kerusakan yang bersifat *irreversible* pada jaringan perlekatan sehingga menghasilkan pembentukan poket periodontal dan kehilangan tulang alveolar. Periodontitis kronis dapat terjadi pada pasien dewasa, anak-anak dan juga remaja. Jenis periodontitis kronis merupakan kondisi penyakit periodontal tipe progresif lambat. Faktor sistemik, seperti diabetes, perokok, dan stres, maka kerusakan penyakit akan lebih cepat karena faktor tersebut dapat mengubah respon pejamu terhadap akumulasi plak.³ Epitelium gingiva merupakan pertahanan utama terhadap invasi mikroba, memulai terjadinya respon inflamasi dan menunjukkan keparahan penyakit periodontal. Faktor sistemik seperti diabetes, stres dan penyakit sistemik lainnya akan mempercepat terjadinya periodontitis karena dapat merubah respon host terhadap akumulasi plak.¹⁵

Patogenesis Penyakit Periodontal

Kecepatan penyakit periodontal ditentukan paling tidak oleh karena faktor bakteri, faktor host, dan faktor lingkungan. Patogenesis penyakit periodontal sangat kompleks, diperlukan penyederhanaan konsep agar mudah dimengerti (Gambar

1). Plak bakteri pada daerah subgingiva tidak dipengaruhi oleh lingkungan mulut namun terbatas oleh ruang yang sangat terbatas dan sistem pertahanan alami (*innate*) pejamu. Ruangan subgingiva sangat terbatas pada individu sehat periodontal. Namun, bila akumulasi plak terjadi terus-menerus, akan terjadi pengurangan perlekatan lapisan epitel gingiva pada permukaan gigi dan berakibat peningkatan kedalaman poket gingiva. Sebaliknya, pejamu akan membatasi perkembangan plak dengan memelihara keutuhan lapisan epitel. *Gingival crevicular fluid* mengandung pula komponen antibakteri seperti lisosim,

komplemen dan beberapa faktor pendorong peningkatan permeabilitas pembuluh darah, diantaranya bradikinin, thrombin, dan fibrinogen. Sel polimorfonuklear dan monosit yang keluar dari pembuluh darah dapat pula menghancurkan bakteri. Sel ini memerlukan signal atau faktor yang disebut khemoatraktan (disebut pula khemokin) agar dapat keluar dari pembuluh darah dan berjalan menuju ke plak gigi. Khemokin ini diantaranya *interleukin-8 (IL-8)* dan *MCP-1 (Monocyte Chemotaxis Protein-1)*. Semakin mendekati lokasi gigi, kadar protein ini pada gingiva akan semakin meningkat.¹⁸



Gambar 1. Skema terjadinya Penyakit Periodontal¹⁹

Human β -Defensin

Human Beta-Defensin (HBD) merupakan peptida antimikroba kationik berukuran kecil yang diproduksi oleh sel epitel pada kulit dan jaringan di bawah mukosa (contoh: saluran cerna, saluran pernapasan dan jaringan mulut).^{20,21} Peptida antimikroba merupakan komponen mekanisme pertahanan awal tubuh terhadap infeksi di jaringan epitel. *Human Defensin* diklasifikasikan menjadi

dua subkelas yaitu α -*defensin* dan β -*defensin*. α -*defensin* juga dikenal sebagai peptida neutrofil manusia dan ditemukan di neutrofil sebagai butiran azurophilic; defensin ini melawan mikroorganisme yang telah di fagositosis oleh neutrofil dan makrofag.²² Enam jenis α -*defensin*⁹ dan empat jenis β -*defensin* telah diidentifikasi.²³ Defensin menarik secara kimiawi monosit dan makrofag, serta T-limfosit, sel mast, dan sel dendritik belum

matang, dan memicu produksi sitokin proinflamasi. *Human β -defensin (HBDs)* menekan produksi sitokin proinflamasi dalam menanggapi antigen mikroba tertentu, mengaktifkan dan mendegradasi sel mast, mengatur sistem komplemen, menghambat produksi glukokortikoid, dan meningkatkan respon imun spesifik antigen.²⁴ Epitel gingiva dianggap baris pertama pertahanan terhadap mikroba karena fungsi penghalang yang mencegah invasi mikroba dan sifat antimikroba yang melawan putatif patogen.²⁵ Penyakit periodontal disebabkan oleh gangguan dalam keseimbangan bakteri di dalam rongga mulut yang mengakibatkan kerusakan jaringan pendukung gigi.⁹ *HBDs* telah terdeteksi dalam epitel gingiva, kelenjar ludah dan air liur, *gingival crevicular fluid (GCF)*.²⁶ *HBD-1* dan *HBD-2* yang aktif terhadap bakteri Gram negatif dan aksi terbatas terhadap bakteri gram positif.²⁷ Kebanyakan penelitian telah menemukan *HBD-1* yang akan diregulasi dalam berbagai epitel. Pada beberapa studi dikatakan bahwa terdapat ekspresi *HBD-2* yang banyak di jaringan terinflamasi. Sekurang-kurangnya 3-5 hari untuk terjadinya respon imun adaptif, sebelumnya terjadi respon imun *innate*, dimana respon imun *innate* merupakan pertahanan pertama saat awal terjadinya infeksi.¹⁵ Namun, penelitian lain telah menunjukkan peningkatan regulasi *HBD-1* dalam menanggapi peradangan²⁸, dan Zhao *et al.*²⁹ melaporkan penurunan ekspresi *HBD-2* pada jaringan yang meradang, refleksi dari kompleksitas penyakit inflamasi. *HBD-3* banyak diekspresikan dalam jaringan manusia. Namun, ada sedikit informasi tentang pola ekspresi dalam jaringan gingiva atau cairan sulkus.²¹ *HBD-3* memiliki aktivitas antimikroba yang kuat terhadap kedua bakteri Gram positif dan Gram negatif bila dibandingkan dengan *HBD-1* dan *HBD-2*, bahkan pada konsentrasi rendah.²⁹ Sinyal

mikroba, sinyal perkembangan, sitokin, dan dalam beberapa kasus, sinyal neuroendokrin mengatur sintesis defensin dan pelepasannya.³⁰ Ekspresi *HBD-1* sebagian besar tidak terpengaruh oleh sitokin, dan ekspresi *HBD-2* hanya disebabkan oleh *IL-1 β* , ekspresi *HBD-3* diatur oleh *IFN- γ* , *IL-1 β* , dan *IL-10*. Rangsangan dari tumor necrosis factor (*TNF*)- α dan *IFN- γ* menyebabkan peningkatan ekspresi gen *HBD-3*, sedangkan *IL-13* dan *IL-4* menghambat ekspresi.³¹

Inisiasi dan perkembangan penyakit periodontal berhubungan dengan kolonisasi *crevice* gingiva oleh mikroorganisme tertentu, dan proliferasi subgingiva mereka berikutnya. Organisme yang terlibat termasuk *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan anggota yang disebut 'kompleks merah' bakteri *periodontopathogenic* (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, dan *Treponema denticola*), yang sebagian besar secara umum terisolasi pada periodontitis agresif.³² Respon pejamu yang efektif untuk tantangan bakteri ini terutama dimediasi oleh neutrofil dan ditandai dengan masuknya neutrofil ke dalam *crevice* gingiva, diikuti oleh ekspresi dan pelepasan α - dan β -defensin.³³

Gingival Crevicular Fluid

GCF merupakan eksudat yang dikeluarkan oleh gusi yang dapat ditemukan di celah-celah pada titik di mana garis gusi memenuhi gigi. Konsentrasi cairan ini biasanya rendah, tetapi dapat meningkat ketika proses inflamasi terjadi pada rongga mulut.^{34,35} Volume cairan yang keluar dari poket meningkat bersama dengan meningkatnya permeabilitas dinding pembuluh darah yang disebabkan oleh aksi mediator inflamasi. Komposisinya berubah selama perkembangan peradangan.³⁵ Menurut peneliti, tingkat

protein *GCF* diperoleh dari sulkus dengan gejala klinis peradangan jauh lebih tinggi dan memiliki konsentrasi yang sama dengan konsentrasi protein dalam serum darah. Dengan demikian, cairan yang diproduksi dalam poket yang tidak ada tanda klinis inflamasi gingiva adalah bahan infiltratif fisiologis dilakukan untuk menguji aktivitas neutrofil sekretori, dengan mempertimbangkan tingkat enzim dalam *GCF* seperti *metalloproteinases*, *elastase*, *β-glucuronidase*, *myeloperoxidase*, *cathepsin B, D, G* dan sebagai penghambat *elastase* dan *cathepsin*.^{10,34,35}

ELISA

Enzyme-linked immunosorbent assay atau *ELISA* merupakan metode yang umum digunakan untuk mengukur keberadaan enzim-enzim dalam *GCF*. Ada dua variasi tujuan dalam metode *ELISA* yaitu untuk menentukan jumlah antibodi yang terdapat dalam suatu sampel atau untuk menentukan jenis dan jumlah protein yang terikat oleh suatu antibodi. *ELISA* dilakukan dalam *96-wellplates*. Pada dasar setiap tabung dilapisi protein yang akan mengikat antibodi yang diteliti. Dengan metode ini, beberapa penanda dapat diuji sekaligus beserta kadarnya.³⁶

KESIMPULAN

Terdapat peptida antimikroba dengan nama *Human Beta Defensin* yang merupakan mekanisme pertahanan tubuh awal terhadap infeksi, dimana fungsi dan pengaruhnya masih banyak diperdebatkan oleh para peneliti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Berezow AB, Darveau RP. Microbial Shift and Periodontitis. *Periodontol.* 2000. 2011; 55(1): 36–47.
2. Wahyukundari MA. Perbedaan kadar matriks metalloproteinase-8 setelah skeling dan pemberian tetrasiklin pada penderita periodontitis kronis.

- PDGI. 2009;
3. Newman M, Takei H, Carranza F. Carranza's Clinical Periodontology. Novak M, Novak K, editors. St Louis, Missouri: Elsevier Mosby; 2012: 160.
 4. Fermin A Carranza, Jane L Forrest, E Barrie Kenney et al. Carranza's Clinical Periodontology. 11th ed. Riverport Lane St. Louis, editor. Missouri: Elsevier Saunders; 2012; 257-70.
 5. Phillstrom B, Michakowiz B, Johnson N. Periodontal Diseases. *Lancet.* 2005; 366: 1809–20.
 6. Mahanonda R, N.Sa-Ard-Lam ME. Cigarette smoke extract modulates human B defensin-2 and interleukin-8 expression in human gingival epithelial cells. *J Periodont Res.* 2009; 44: 557–64.
 7. Gaffen SL, Hajishengallis G. A New Inflammatory Cytokine on the block: re-thinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17. *J Dent Res.* 2008; 87: 817–28.
 8. Chung W, Dommisch H, Yin L, Dale B. Expression of Defensins in gingiva and their role in periodontal health and disease. *Curr Pharm Des.* 2007; 13: 3073–83.
 9. Diamond D, Kimbal J, Krisanaprakornkit S, Gantz T, Dale B. Detection of beta-defensins secreted by human oral epithelial cells. *J Immunol Methods.* 2001; 256: 65–76.
 10. Bontanci N, Ilgenli T, Emingil G, Dkk. Gingival Crevicular Fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol.* 2007; 34: 370–6.
 11. Jochen W, Wenghoefer M. Human Defensins: potential tools for clinical application. *Polymers (Basel).* 2012; 4: 691–709.
 12. Kurland A, Schreiner H, Diamond G. In vivo BD gene expression in rat

- gingival epithelium in respon to Aggrigattibacter actinomyetemcomitan infection. *J Periodont Res.* 2006; 41: 567–72.
13. Wohlfuhr J, Wu T, Hodges J, Hinrich J, Michalowicz B. No association between selected candidate gene polymorphisms and severe chronic periodontitis. *J Periodont Res.* 2006; 77: 426–36.
 14. Aaron W, Ge J, Sieg S. The Yin and Yang of Human Beta Defensins in health and disease. *Front Immunol.* 2012; 3: 294.
 15. Qian L, Lilian J, Richard. Expression of human beta defensin-1 and-2 peptides in unresolved chronic periodontitis. *J Periodont Res.* 2004; 39: 221–7.
 16. Dijk A Van, Veldhuizen, A EJ, Hagsman H. Avian defensins. Elsevier B V. Elsevier B. V; 2008; 124: 1–18.
 17. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol.* 2008; 79(suppl 8): 1569–76.
 18. Kao DWK, Fiorellini JP. Regenerative periodontal therapy. *Front Oral Biol.* 2012; 15(3): 149–59.
 19. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998; 25: 134–44.
 20. Vardar S, Demirci T, Sen B. Expression of human beta defensin-1 and -2 expression in the gingiva of patient with spesific periodontal disease. *J Periodont Res.* 2007; 42: 429–37.
 21. Qian L, Samaranayake, Richard P, Darveau RP. Expression of human beta defensin-3 in gingival epithelial. *J Periodont Res.* 2005; 40: 474–81.
 22. Ganz T, Lehrer R. Defensins. *pharmacol ther.* 1995; 66: 191–205.
 23. Matthew M, Jia H, Guthmiller J, Losh G, Graham S, Johnson G. Production of beta defensin anti microbial peptides by the oral mucosa and salivary glands. *Infect Immun.* 1999; 67: 2740–5.
 24. Henrik D. Human beta-defensin(hBD-1, -2) expression in dental pulp. *Oral microbiol immunol.* 2005; 20(3): 163–6.
 25. Ramasundara M, Leach S, Lemberg D. Defensins and Inflammation: The Role of Defensins in Inflammatory Bowel Disease. *J gastroenterol hepatol.* 2009; 24: 202–8.
 26. Garcia J, Krause A, Schulz S. Human beta defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity. *FASEB J.* 2001; 15: 1819–21.
 27. Jenke A, Zilbauer M, Postberg J, Wirth S. Human beta defensin 2 expression in elbow infant with severe necrotizing enterocolitis. *Pediat Res.* 2012; 72: 513–20.
 28. JA Aas, BJ Paster, LN Stokes, I Olsen FD. Defining the normalbacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2005; 43: 5721–32.
 29. Zhao C, Wang I, Lehrer R. Wide spread expression of beta defensin-1 in human secretory glands and epithelial cells. *FEBS Lett.* 1996; 396: 319–22.
 30. Fiorini T, Vianna P, Weidlich P, Dkk. Relationship between cytokine levels in serum and gingival crevicular fluid (GCF) in pregnant women. *Cytokine.* 2012; 58(1): 34–9.
 31. Pingel L, Kohlgraf K, Hansen C. Human beta defensin-3 bind to hemagglutinin B, a non fimbrial adhesin from *Porphyromonas gingivalis* and attenuates a proinflammatory cytokine response. *Immunol Cell Biol.* 2008; 86: 643–9.
 32. Marta G, Nora S, Leyla G, Ruben L, Beatric P, Adolfo C, et al. Prevalence of periodontopathic bacteria in

- aggressive periodontitis patient in a children population. *J Periodontol.* 2005; 76: 289–94.
33. Puklo M, Guentsch A, Hiemstra P., Eick S, Potempa J. Analysis of neutrophil derived antimicrobial peptides in gingival crevicular fluid suggest importance of cathelicidin LL-37 in the innate immune response against periodontogenic bacteria. *Oral microbiol immunol.* 2008; 23(4): 328–35.
 34. Ganowicz E. Salivary Diagnostics- Diseases of the Oral Cavity. *Dent Med Probl.* 2011; 48(3): 421–30.
 35. Miller CS, Foley JD, Bailey AL, Dkk. Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med.* 2010; 4: 171–89.
 36. ELISA.
<http://www.bio.davidson.edu/courses/genomics/method/elisa.html>.