

**"VICTOR BABES" UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY
FROM TIMISOARA**

FACULTY OF DENTAL MEDICINE

DEPARTMENT I

IULIA SAUCIUR

PhD THESIS

**EXPLORING THE THERAPEUTIC POTENTIAL OF
ADJUVANT TECHNIQUES AND MATERIALS IN IMPROVING
ORAL PATHOLOGIES**

– ABSTRACT–

Scientific coordinator

PROF. UNIV. DR. LAURA-CRISTINA RUSU

Timișoara

2026

INTRODUCTION

Oral pathologies are a heterogeneous group of diseases with a high prevalence worldwide, having a significant impact on the oral function, comfort, aesthetics, general health and quality of life of patients. Among these, periodontal and peri-implant diseases, inflammatory lesions of the oral mucosa, recurrent ulcers, mucosal changes associated with medication and poor postoperative healing occupy an important place in clinical dental practice, due to their frequency, recurrent nature and the therapeutic difficulties they involve. Although conventional treatments, such as mechanical biofilm control, pharmacological therapy and surgery, form the basis of the management of these conditions, many cases evolve with persistent inflammation, incomplete therapeutic response, limited tissue regeneration or frequent recurrences. In this context, the identification and validation of effective, safe and clinically applicable adjuvant methods is a current necessity of dentistry.

The motivation of this doctoral thesis derives from these daily clinical challenges and from the need to optimize the therapeutic approach to oral pathologies by integrating adjuvant techniques and materials with increased biological and regenerative potential. The paper aims to explore the therapeutic value of three major directions of contemporary interest: natural extracts and essential oils, platelet-rich fibrin (PRF) and microneedling systems, analyzing their role in reducing inflammation, stimulating healing and improving clinical outcomes. In the general part of the thesis, the main pathologies of the oral cavity are presented, with emphasis on the most frequently encountered pathological conditions, their epidemiological impact, the risk factors involved and conventional diagnostic and treatment strategies. The oral cavity is described as a complex biological environment, permanently subject to the action of microbial biofilm, mechanical, chemical and immunological factors, which explains the increased susceptibility of oral tissues to inflammatory and infectious processes. Dental caries, periodontitis and edentulous disease are highlighted as conditions of major importance for public health, due to their high prevalence and the functional and psychosocial consequences they cause.

The epidemiological data analyzed confirm that oral diseases continue to represent a considerable global burden. It underlines that in recent years, billions of people have been affected by oral conditions such as untreated caries, severe periodontitis and edentulousness, and their impact is reflected not only in prevalence, but also in decreased quality of life and significant costs for health systems. In this context, the management of oral pathologies can no longer be limited exclusively to curative interventions, but must also be oriented towards prevention, early diagnosis and the development of innovative complementary therapies.

The paper also analyzes the main risk factors involved in the onset and progression of oral pathologies, which are classified into modifiable and non-modifiable factors. The role of poor oral hygiene, tobacco use, diet, poor metabolic control, genetic predisposition, age and systemic diseases, as well as the synergistic interactions between these factors, are discussed. The importance of multifactorial risk assessment and individualization of therapeutic management is highlighted, especially in patients with increased susceptibility to persistent inflammation, delayed healing or extensive tissue damage.

Regarding the conventional management of oral diseases, the thesis emphasizes that, although current preventive and curative strategies remain indispensable, they do not always provide satisfactory clinical results. In periodontal disease, for example, mechanical removal of the biofilm reduces the bacterial load, but does not always sufficiently control the host's inflammatory response. In the case of chronic mucosal lesions, topical or systemic treatments may be limited by adverse reactions, reduced compliance, and recurrences. These limits justify the interest in adjuvant therapies capable of complementing standard treatments and favorably influencing the local biological environment.

An important chapter of the thesis is dedicated to natural extracts and essential oils, considered valuable sources of bioactive compounds with antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant properties. Data on the chemical composition of essential oils and their

mechanisms of action in oral health, including effects on oral biofilm, pathogenic microorganisms and tissue inflammatory response, are presented. The thesis highlights the increased interest in compounds such as curcumin, aloe vera, propolis, green tea, chamomile, eugenol, thymol or carvacrol, which have demonstrated, in various studies, beneficial effects in the control of gingivitis, bacterial plaque, mucosal lesions and symptoms associated with oral inflammation. At the same time, the limitations of the clinical use of these natural agents are critically analyzed, including the lack of standardization of formulations, compositional variability, difficulties in comparing between studies and differences between in vitro efficacy and in vivo applicability.

Another central element of the work is platelet-rich fibrin, a second-generation autologous biomaterial increasingly used in regenerative dentistry. The thesis follows the evolution of the concept of platelet concentrates, from the first forms of fibrin adhesives and platelet-rich plasma to the development of PRF as a simplified, safe and biologically active material.

The mechanisms by which PRF contributes to healing and regeneration are presented, by sustained release of growth factors, stimulation of angiogenesis, support cell proliferation and migration, regulation of inflammation and formation of a fibrin matrix favorable to tissue repair.

The clinical applications of PRF in oral surgery, periodontology, implantology and regenerative endodontics are discussed, highlighting the favorable effects on soft tissue healing, reduction of postoperative pain, bone regeneration and improvement of periodontal clinical parameters. At the same time, the current limits of this technology are analyzed, related to interindividual biological variability, the lack of universally standardized protocols and the heterogeneity of available studies.

The thesis pays special attention to microneedling systems, an emerging direction in oral medicine and regenerative dentistry. These systems, originally known from dermatology, are described as minimally invasive devices capable of creating controlled microchannels in tissues, thus stimulating local vascularization, collagen remodeling and tissue regeneration, but also facilitating the local penetration of therapeutic agents.

The types of microneedling systems, the materials used in their manufacture and the possibilities of loading with biologically active, anti-inflammatory or antimicrobial agents are analyzed. In the oral context, microneedling is presented as a promising method for improving the treatment of chronic mucosal lesions, for increasing the effectiveness of topical therapies and for supporting soft tissue regeneration in periodontology and implantology. However, the paper points out that while experimental data and early clinical results are encouraging, routine use of this technology is still limited by the lack of standardization of protocols and the absence of extensive long-term clinical trials.

A defining aspect of the thesis is the integrative approach of these techniques and adjuvant materials. The paper starts from the hypothesis that the association between natural extracts, PRF and microneedling systems can generate complementary therapeutic effects, by combining antimicrobial and anti-inflammatory properties with regenerative and tissue stimulation properties. In this sense, the use of microneedling to increase the penetration of natural extracts or to enhance the effect of growth factors derived from PRF opens up new therapeutic perspectives in the management of periodontal diseases. Such an approach can help reduce dependence on long-term classical drug therapies and develop more effective protocols that are better tolerated by patients.

In conclusion, this doctoral thesis is part of a field of topicality and major interest for contemporary dentistry, proposing a complex analysis of the therapeutic potential of adjuvant techniques and materials in the improvement of oral pathologies. Through rigorous theoretical substantiation and orientation towards clinical relevance, the paper aims to contribute to strengthening the scientific basis on the use of natural extracts, PRF and microneedling, as well as to the development of modern, evidence-based therapeutic strategies aimed at predictable cure, reducing inflammation and improving patients' quality of life. The results of such a doctoral approach can have both scientific and practical value, facilitating the

integration of effective adjuvant methods into the current treatment protocols of oral pathologies.

Results

In the first study, the essential oil of *Thymus pulegioides* (TPEO) was obtained by distillation with water vapor, with an efficiency of 0.71% (v/w), and the GC-MS analysis highlighted 39 compounds (98.46% of the total), with a predominance of thymol, which confirms the inclusion in the thymol chemotype. The study evaluated the chemical composition, antibacterial and antioxidant activity of TPEO. The results demonstrated moderate to significant antimicrobial activity, especially against *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus*, with higher efficiency on Gram-positive bacteria.

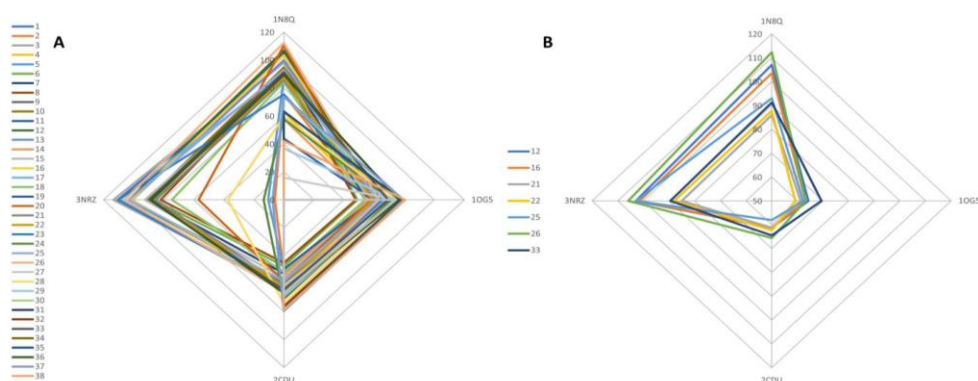
Bacterial and Yeast Strains	Disk Diffusion (mm)	MIC Value (mg/mL)	MBC Value (mg/mL)	MFC Value (mg/mL)
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	39.3(±0.58) ^{ab}	1.25	1.25	n.t.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	37.7(±1.53) ^b	1.25	1.25	n.t.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	26.3(±1.16) ^{cd}	5	10	n.t.
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	22.3(±0.58) ^c	10	10	n.t.
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	27(±1.73) ^d	10	10	n.t.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	15.3(±0.58) ^f	20	20	n.t.
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	43(±2.65) ^a	1.25	n.t.	1.25
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	45.7(±2.52) ^e	1.25	n.t.	1.25

* The diameter of the zone of inhibition is presented as means (n = 9) ± standard deviation, and the mean value for MIC, MBC and MFC; n.t. not tested; Values with different superscript are significantly different according to Tukey test, $p < 0.05$.

The antimicrobial activity of TPEO assessed by the disc diffusion method, as well as MIC, MBC and MFC values*[406].

The antioxidant activity has been confirmed by several methods, TPEO demonstrating the ability to inhibit the primary and secondary products of lipid oxidation, with efficiency comparable to or even superior to BHA under certain conditions ($p > 0.05$ and $p < 0.05$, respectively). In the DPPH and ABTS tests, the essential oil showed superior antioxidant properties compared to alpha- and delta-tocopherol ($p < 0.001$).

In silico analysis, performed by molecular docking, suggested that the antibacterial mechanism may be associated with the inhibition of the enzyme D-alanine:D-alanine ligase (DDI), and the antioxidant activity with the inhibition of enzymes involved in the generation of reactive oxygen species, such as lipoxygenase and xanthine oxidase. Overall, the results support the potential of TPEO as a natural source of bioactive compounds with applications in the food and pharmaceutical fields, due to its antimicrobial and antioxidant effects.



Graphical representation of docking scores associated with protein targets involved in antioxidant activity, corresponding to the 39 components of TPEO (A) and the 7 major constituents of TPEO (B) (which account for more than 75% of the essential oil) [406].

The second study evaluated the chemical composition, antimicrobial activity, and the relationship between structure and biological efficiency of eight essential oils on *Streptococcus mutans*. All the oils analyzed demonstrated antimicrobial activity, with areas of inhibition >20 mm, being classified as sensitive. The highest antibacterial efficacy was observed for spearmint oil, followed by eucalyptus, tea tree and lemongrass, while cinnamon, cloves, rosemary and cedar showed less effects. The MIC and MBC values confirmed these results, highlighting the superior efficiency of peppermint oil in inhibiting and eradicating *S. mutans*. Descriptive statistical analysis showed values of inhibition zones between 22 and 44 mm, with low standard deviations, indicating a good reproducibility of the results. Most of the data followed a normal distribution, except for clove and cedar oils. The confidence intervals and interquartile values confirmed the consistency of the measurements and the absence of extreme values.

Groups	Spearmint	Eucalyptus	Tea Tree	Lemon-grass	Cinnamon	Clove	Rosemary	Cedar-wood
N	9	9	9	9	9	9	9	9
Minimum	38	37	30	29	25	22	22	22
Maximum	44	42	35	33	29	26	28	25
Mean ($\bar{x}$)	41.33	39.33	32.11	31	26.33	24.88	24.77	23.55
Mean Confidence Interval (95% CI)	[39.94, 42.71]	[38.11, 40.54]	[30.81, 33.41]	[29.91, 32.08]	[25.31, 27.35]	[23.91, 25.86]	[23.40, 26.15]	[22.77, 24.33]
Standard Deviation (S)	1.8028	1.5811	1.6915	1.4142	1.3229	1.2693	1.7873	1.0138
SD Confidence Interval	[1.21, 3.45]	[1.06, 3.02]	[1.14, 3.24]	[0.95, 2.70]	[0.89, 2.53]	[0.85, 2.43]	[1.20, 3.42]	[0.68, 1.94]
Variance (S ²)	3.25	2.5	2.86	2	1.75	1.61	3.19	1.02
Standard Deviation (σ)	1.69	1.49	1.59	1.33	1.24	1.19	1.68	0.95
Variance (σ^2)	2.88	2.22	2.54	1.77	1.55	1.43	2.83	0.91
Q1	40	38	31	30	25	25	24	23
Median	42	39	32	31	26	25	25	24
Q3	42	40	33	32	27	26	26	24
Interquartile range	2	2	2	2	2	1	2	1
SW p-value (W)	0.86	0.95	0.62	0.34	0.13	0.02	0.98	0.05
KS p-value (D)	0.37	0.88	0.43	0.34	0.40	0.01	0.90	0.004

Descriptive statistics of the diameters of the inhibition zones (IZ) for each essential oil tested [407].

The analysis of chemical diversity, carried out by the Shannon index (H'), highlighted important variations between oils. Oils with a simple composition, dominated by a major compound (eugenol, cinnamaldehyde, 1,8-cineole), showed a more pronounced antibacterial activity, while oils with greater chemical diversity had more moderate effects. A weak negative correlation between chemical diversity and antimicrobial activity has been identified, suggesting that efficacy is determined by dominant compounds rather than composition complexity.

EO	Dominant Constituent	RT (min)	Relative Abundance (%)	Shannon Index (H')
Clove	Eugenol	40.26	78.27	0.85
Cinnamon	<i>trans</i> -Cinnamaldehyde	31.70	52.91	0.95
Eucalyptus	1,8-Cineole	18.28	80.60	1.12
Spearmint	Carvone	33.75	59.13	1.45
Lemongrass	Geranial	35.33	42.56	1.38
Tea Tree	Terpinen-4-ol	28.26	42.04	1.50
Rosemary	Camphor	26.13	12.71	1.72
Cedarwood	Cedrol	56.47	15.36	1.61

Dominant compounds, retention times (RT), relative abundances (%) and Shannon index (H') for each essential oil [407].

Correlational analysis showed moderate positive associations between antibacterial activity and compounds such as carvone and 1,8-cineole, while eugenol showed a slightly negative

correlation. The PCA analysis highlighted three distinct chemical groups: oils rich in phenylpropanoids (cloves, cinnamon), oils rich in oxygenated monoterpenes (curly mint, eucalyptus, tea tree, lemongrass), and oils rich in sesquiterpenes (rosemary, cedar). The differences between these groups were statistically confirmed by the Kruskal–Wallis test.

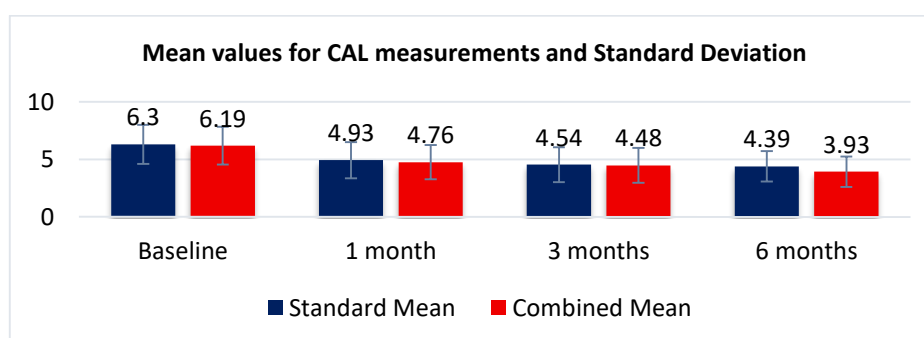
Variable	Description	ρ (Spearman)	p-Value	Interpretation
Shannon diversity index (H')	Chemical diversity across all detected constituents	-0.26	0.53	Weak negative; higher diversity → lower activity
Carvone (%)	Major constituent in Spearmint oil	+0.58	0.09	Moderate positive; higher content linked to stronger inhibition
1,8-Cineole (%)	Dominant constituent in Eucalyptus and Rosemary oils	+0.44	0.21	Mild positive trend
Eugenol (%)	Dominant constituent in Clove oil	-0.41	0.24	Mild inverse association
Trans-Cinnamaldehyde (%)	Major constituent in Cinnamon oil	+0.32	0.34	Weak positive, non-significant
Cedrol (%)	Key sesquiterpene in Cedarwood oil	-0.29	0.47	Weak negative trend

Spearman correlation coefficients (ρ) between the mean diameter of the inhibition zone (IZ) and the main compositional parameters of essential oils [407].

Overall, the results indicate that the antimicrobial activity of essential oils against *S. mutans* is mainly determined by the presence and predominance of specific bioactive compounds ('driver molecules'), and not by the overall complexity of the composition. Crimson and eucalyptus oils stand out as the most promising for applications in the prevention and management of tooth decay.

The third study analyzed the effectiveness of two therapeutic protocols in periodontal treatment: SRP + i-PRF (Standard) and SRP + i-PRF + microneedling (Combined), on a group of 54 patients, predominantly middle-aged and from urban areas. The balanced demographic distribution allowed for good comparability of the results.

The primary endpoint assessed, clinical attachment level (CAL), showed significant improvement over time for both groups. At 1 month, a significant reduction in CAL (~1.4-1.5 mm) was observed, followed by a progressive improvement up to 6 months. Although the differences between the two protocols were not significant in the early stages, at 6 months the combined protocol demonstrated a statistically significant improvement in CAL (≈ 0.46 mm), suggesting a possible additional benefit of microneedling in the late stages of healing.



Mean clinical attachment level (CAL) values at baseline at 1 month, 3 months, and 6 months for both treatment protocols. The error bars represent the standard deviation (mean $\pm$ SD).

Statistical significance between protocols at the same time point in time is indicated by asterisks (p < 0.01).**

The bleeding index on probing (BOP) decreased significantly from the first month (~50%), subsequently remaining at low values up to 6 months, which indicates an effective and stable control of gum inflammation. The evolution of the plaque index (PI) showed a marked reduction after treatment (~60% at 1 month), followed by the maintenance of low values in the medium term, reflecting good patient compliance and the effectiveness of therapeutic interventions.

Comparison	Z	p-value	Effect size (r)	Interpretation
Baseline vs 1 month	-5.88	<0.001	0.60	Significant reduction
Baseline vs 3 months	-6.02	<0.001	0.62	Significant reduction
Baseline vs 6 months	-5.90	<0.001	0.60	Sustained reduction
3 months vs 6 months	-0.89	0.374	0.09	No significant change

Friedman analysis and Wilcoxon post-hoc tests for longitudinal changes in BOP.

Longitudinal statistical analyses confirmed significant improvements over time for all parameters (CAL, BOP, PI) in both groups ($p < 0.001$). Correlations between these indicators were strong in the initial phase, reflecting the interdependence between inflammation, biofilm, and loss of attachment, but became weak or insignificant at 6 months, suggesting tissue stabilization and independence of regenerative mechanisms from local factors.

Overall, both therapeutic protocols have demonstrated significant clinical efficacy in improving periodontal health. i-PRF was found to be the primary factor in tissue regeneration, while microneedling provided a modest but statistically significant additional benefit at 6 months, suggesting a potential role in optimizing periodontal attachment maturation and stability in the medium term.

CONCLUSIONS AND CONCLUDING CONSIDERATIONS

The present research had three main directions of investigation. The first aimed at the analysis of the essential oil of *Thymus pulegioides* (TPEO), aiming at determining the chemical composition by the GC-MS method, evaluating the antimicrobial and antioxidant properties, as well as identifying possible mechanisms of action at the molecular level, in order to highlight its potential as a source of natural preservatives and antioxidants for the food and pharmaceutical industry.

The second direction aimed to evaluate the antimicrobial efficacy of eight essential oils on strains of *Streptococcus mutans* isolated from saliva, by determining the diameter of the inhibition zone (IZ), the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC).

A treia direcție a avut ca scop evaluarea eficienței clinice a terapiei parodontale prin combinarea detartrajului și planării radiculare (SRP) cu microneedling (MN) și fibrină bogată în plachete injectabilă (i-PRF), comparativ cu protocolul standard SRP + i-PRF. Studiul a urmărit analizarea beneficiilor adăugării microneedlingului și eficiența unui protocol terapeutic combinat în tratamentul pacienților cu parodontită stadiile II și III, conform clasificării EFP/AAP.

1. All eight essential oils analyzed demonstrated antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* and were classified as sensitive. The most effective were curly mint and eucalyptus oils, while cinnamon, cloves, rosemary and cedar showed less effects.
2. The MIC and MBC results confirmed the superiority of curly peppermint oil, followed by eucalyptus, tea tree and lemongrass, highlighting a clear hierarchy of antimicrobial effectiveness.
3. The biological activity of essential oils is mainly determined by the majority compounds ("dominant molecules") and not by the total complexity of the composition. Oils with a

- simpler chemical structure (rich in carvone or 1,8-cineole) showed stronger antimicrobial effects.
4. Statistical analyses and PCA confirmed that the identity and concentration of the main compounds are determinants of efficiency, while high chemical diversity does not guarantee superior biological activity, although it may contribute to synergistic effects.
 5. *Thymus pulegioides essential oil* (TPEO) has been characterized as belonging to the thymol chemotype and has demonstrated significant antimicrobial activity against *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus*.
 6. TPEO showed important antioxidant properties, comparable to or superior to standard antioxidants (BHA, alpha- and delta-tocopherol), confirmed by DPPH and ABTS tests.
 7. In silico analyses suggested mechanisms of action based on inhibition of the enzyme D-alanine:D-alanine ligase (antibacterial effect) and enzymes involved in oxidative stress (lipoxygenase and xanthine oxidase), supporting the potential of TPEO as a natural source of bioactive agents for food and pharmaceutical applications.
 8. In the clinical trial, both therapeutic protocols (SRP + i-PRF and SRP + i-PRF + microneedling) resulted in significant improvements in periodontal parameters (CAL, BOP, PI), confirming the central role of i-PRF in tissue regeneration.
 9. The combination of microneedling brought a moderate additional benefit, more evident in the late stages of healing, suggesting a potential role in accelerating vascularization and optimizing tissue remodeling.
 10. Although the differences between the protocols have been reduced in the short term, the trend indicates a possible advantage of combination therapy in the long-term stability of periodontal attachment.
 11. The study has limitations related to the sample size, relatively short follow-up duration and lack of histological evaluation, requiring further long-term research.
In perspective, the optimization of minimally invasive techniques and the deepening of the biological mechanisms involved can contribute to the development of innovative and effective therapeutic strategies in the treatment of periodontal disease.

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE “VICTOR BABEȘ”
DIN TIMIȘOARA**

FACULTATEA DE MEDICINĂ DENTARĂ

DEPARTAMENT I

IULIA SAUCIUR

TEZĂ DE DOCTORAT

**EXPLORAREA POTENȚIALULUI TERAPEUTIC AL
TEHNICILOR ȘI MATERIALELOR ADJUVANTE ÎN
ÎMBUNĂTĂȚIREA PATOLOGILOR ORALE**

– R E Z U M A T –

Coordonator științific:

PROF. UNIV. DR. LAURA-CRISTINA RUSU

Timișoara

2026

INTRODUCERE

Patologiile orale reprezintă un grup heterogen de afecțiuni cu prevalență ridicată la nivel mondial, având un impact semnificativ asupra funcției orale, confortului, esteticii, stării generale de sănătate și calității vieții pacienților. Dintre acestea, bolile parodontale și periimplantare, leziunile inflamatorii ale mucoasei orale, ulcerațiile recurente, modificările mucozale asociate medicației și vindecarea postoperatorie deficitară ocupă un loc important în practica clinică stomatologică, prin frecvența lor, caracterul recurent și dificultățile terapeutice pe care le implică. Deși tratamentele convenționale, precum controlul mecanic al biofilmului, terapia farmacologică și intervențiile chirurgicale, constituie baza managementului acestor afecțiuni, numeroase cazuri evoluează cu inflamație persistentă, răspuns terapeutic incomplet, regenerare tisulară limitată sau recurențe frecvente. În acest context, identificarea și validarea unor metode adjuvante eficiente, sigure și aplicabile clinic reprezintă o necesitate actuală a medicinei dentare.

Motivația prezentei teze de doctorat derivă din provocările clinice cotidiene și din nevoia de a optimiza abordarea terapeutică a patologiilor orale prin integrarea unor tehnici și materiale adjuvante cu potențial biologic și regenerativ crescut. Lucrarea își propune să exploreze valoarea terapeutică a trei direcții majore de interes contemporan: extractele naturale și uleiurile esențiale, fibrina bogată în plachete (platelet-rich fibrin - PRF) și sistemele de microneedling, analizând rolul acestora în reducerea inflamației, stimularea vindecării și îmbunătățirea rezultatelor clinice.

În partea generală a tezei sunt prezentate principalele patologii ale cavității orale, cu accent pe cele mai frecvent întâlnite condiții patologice, pe impactul lor epidemiologic, pe factorii de risc implicați și pe strategiile convenționale de diagnostic și tratament. Cavitățile orale sunt descrise ca un mediu biologic complex, supus permanent acțiunii biofilmului microbial, factorilor mecanici, chimici și imunologici, ceea ce explică susceptibilitatea crescută a țesuturilor orale la procese inflamatorii și infecțioase. Sunt evidențiate cariile dentare, parodontita și edentația ca afecțiuni de importanță majoră pentru sănătatea publică, prin prevalența ridicată și consecințele funcționale și psihosociale pe care le determină.

Datele epidemiologice analizate confirmă faptul că bolile orale continuă să reprezinte o povară globală considerabilă. Se subliniază faptul că, în ultimii ani, miliarde de persoane au fost afectate de afecțiuni orale precum cariile netratate, parodontita severă și edentația, iar impactul acestora se reflectă nu doar în prevalență, ci și în scăderea calității vieții și în costurile semnificative pentru sistemele de sănătate. În acest context, managementul patologiilor orale nu mai poate fi limitat exclusiv la intervenții curative, ci trebuie orientat și spre prevenție, diagnostic precoce și dezvoltarea unor terapii complementare inovatoare.

Teza analizează, de asemenea, principalii factori de risc implicați în apariția și progresia patologiilor orale, aceștia fiind clasificați în factori modificabili și nemodificabili. Sunt discutate rolul igienei orale deficitare, al consumului de tutun, al dietei, al controlului metabolic precar, al predispoziției genetice, al vârstei și al bolilor sistemice, precum și interacțiunile sinergice dintre acești factori. Se evidențiază importanța evaluării multifactoriale a riscului și a individualizării conduitei terapeutice, mai ales în cazul pacienților cu susceptibilitate crescută la inflamație persistentă, vindecare întârziată sau afectare tisulară extinsă.

În ceea ce privește managementul convențional al bolilor orale, teza subliniază faptul că, deși strategiile preventive și curative actuale rămân indispensabile, ele nu oferă întotdeauna rezultate clinice satisfăcătoare. În boala parodontală, de exemplu, îndepărtarea mecanică a biofilmului reduce încărcătura bacteriană, dar nu controlează întotdeauna în mod suficient răspunsul inflamator al gazdei. În cazul leziunilor mucozale cronice, tratamentele

topice sau sistemice pot fi limitate de reacții adverse, complianță redusă și recurențe. Aceste limite justifică interesul pentru terapii adjuvante capabile să completeze tratamentele standard și să influențeze favorabil mediul biologic local.

Un capitol important al tezei este dedicat extractelor naturale și uleiurilor esențiale, considerate surse valoroase de compuși bioactivi cu proprietăți antimicrobiene, antiinflamatoare și antioxidante. Sunt prezentate date privind compoziția chimică a uleiurilor esențiale și mecanismele lor de acțiune în sănătatea orală, inclusiv efectele asupra biofilmului oral, asupra microorganismelor patogene și asupra răspunsului inflamator tisular. Teza evidențiază interesul crescut pentru compuși precum curcumina, aloe vera, propolisul, ceaiul verde, mușețelul, eugenolul, thymolul sau carvacrolul, care au demonstrat, în diferite studii, efecte benefice în controlul gingivitei, al plăcii bacteriene, al leziunilor mucozale și al simptomatologiei asociate inflamației orale. În același timp, sunt analizate critic limitele utilizării clinice ale acestor agenți naturali, inclusiv lipsa standardizării formulărilor, variabilitatea compozițională, dificultățile de comparare între studii și diferențele dintre eficacitatea in vitro și aplicabilitatea in vivo.

Un alt element central al lucrării este reprezentat de fibrina bogată în plachete, un biomaterial autolog de generația a doua, tot mai utilizat în stomatologia regenerativă. Teza urmărește evoluția conceptului de concentrate plachetare, de la primele forme de adezivi de fibrină și plasmă bogată în plachete până la dezvoltarea PRF ca material simplificat, sigur și biologic activ. Sunt prezentate mecanismele prin care PRF contribuie la vindecare și regenerare, prin eliberarea susținută de factori de creștere, stimularea angiogenezei, susținerea proliferării și migrării celulare, reglarea inflamației și formarea unei matrici de fibrină favorabile reparării tisulare. Sunt discutate aplicațiile clinice ale PRF în chirurgie orală, parodontologie, implantologie și endodonție regenerativă, fiind evidențiate efectele favorabile asupra vindecării țesuturilor moi, reducerii durerii postoperatorii, regenerării osoase și îmbunătățirii parametrilor clinici parodontali. Totodată, sunt analizate limitele actuale ale acestei tehnologii, legate de variabilitatea biologică interindividuală, lipsa unor protocoale universal standardizate și heterogenitatea studiilor disponibile.

Teza acordă o atenție specială sistemelor de microneedling, o direcție emergentă în medicina orală și stomatologia regenerativă. Aceste sisteme, cunoscute inițial din dermatologie, sunt descrise ca dispozitive minim invazive capabile să creeze microcanale controlate în țesuturi, stimulând astfel vascularizația locală, remodelarea colagenului și regenerarea tisulară, dar și facilitând penetrarea locală a agenților terapeutici. Sunt analizate tipurile de sisteme de microneedling, materialele utilizate în fabricarea acestora și posibilitățile de încărcare cu agenți biologic activi, antiinflamatori sau antimicrobieni. În contextul oral, microneedlingul este prezentat ca o metodă promițătoare pentru îmbunătățirea tratamentului leziunilor mucozale cronice, pentru creșterea eficienței terapiilor topice și pentru susținerea regenerării țesuturilor moi în parodontologie și implantologie. Lucrarea subliniază însă că, deși datele experimentale și primele rezultate clinice sunt încurajatoare, utilizarea de rutină a acestei tehnologii este încă limitată de lipsa standardizării protocoalelor și de absența unor studii clinice extinse pe termen lung.

Un aspect definitoriu al tezei îl reprezintă abordarea integrativă a acestor tehnici și materiale adjuvante. Lucrarea pornește de la ipoteza că asocierea între extractele naturale, PRF și sistemele de microneedling poate genera efecte terapeutice complementare, prin combinarea proprietăților antimicrobiene și antiinflamatoare cu cele regenerative și de stimulare tisulară. În acest sens, utilizarea microneedlingului pentru a crește penetrarea extractelor naturale sau pentru a potența efectul factorilor de creștere derivați din PRF deschide noi perspective terapeutice în managementul bolilor parodontale. Astfel de abordare

poate contribui la reducerea dependenței de terapiile medicamentoase clasice de lungă durată și la dezvoltarea unor protocoale mai eficiente și mai bine tolerate de pacienți.

Rezultate

În primul studiu uleiul esențial de *Thymus pulegioides* (TPEO) a fost obținut prin distilare cu vapori de apă, cu un randament de 0,71% (v/w), iar analiza GC-MS a evidențiat 39 de compuși (98,46% din total), cu predominanța timolului, ceea ce confirmă încadrarea în chemotipul timol. Studiul a evaluat compoziția chimică, activitatea antibacteriană și antioxidantă a TPEO. Rezultatele au demonstrat o activitate antimicrobiană moderată până la semnificativă, în special împotriva *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Streptococcus pyogenes* și *Staphylococcus aureus*, cu o eficiență mai mare asupra bacteriilor Gram-pozitive.

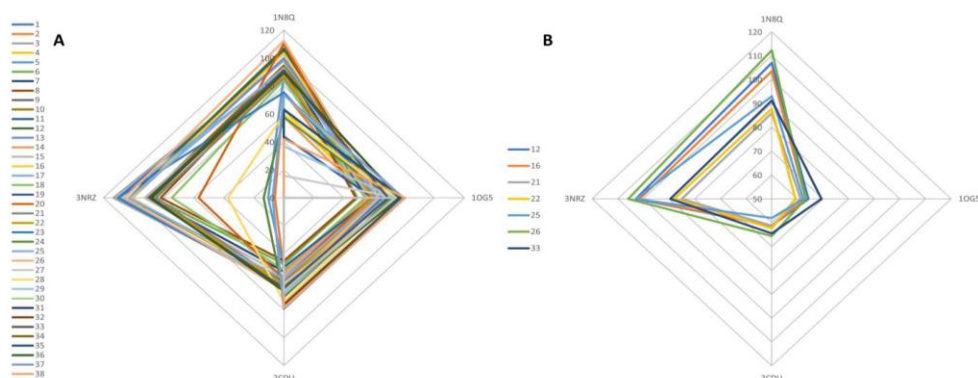
Bacterial and Yeast Strains	Disk Diffusion (mm)	MIC Value (mg/mL)	MBC Value (mg/mL)	MFC Value (mg/mL)
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	39.3(±0.58) ^{ab}	1.25	1.25	n.t.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	37.7(±1.53) ^b	1.25	1.25	n.t.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	26.3(±1.16) ^{cd}	5	10	n.t.
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	22.3(±0.58) ^c	10	10	n.t.
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	27(±1.73) ^d	10	10	n.t.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	15.3(±0.58) ^f	20	20	n.t.
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	43(±2.65) ^a	1.25	n.t.	1.25
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	45.7(±2.52) ^e	1.25	n.t.	1.25

* The diameter of the zone of inhibition is presented as means (n = 9) ± standard deviation, and the mean value for MIC, MBC and MFC; n.t. not tested; Values with different superscript are significantly different according to Tukey test, $p < 0.05$.

Activitatea antimicrobiană a TPEO evaluată prin metoda difuziei pe disc, precum și valorile MIC, MBC și MFC*[406].

Activitatea antioxidantă a fost confirmată prin mai multe metode, TPEO demonstrând capacitatea de a inhiba producții primari și secundari ai oxidării lipidice, cu eficiență comparabilă sau chiar superioară față de BHA în anumite condiții ($p > 0,05$, respectiv $p < 0,05$). În testele DPPH și ABTS, uleiul esențial a prezentat proprietăți antioxidante superioare comparativ cu alfa- și delta-tocoferol ($p < 0,001$).

Analiza in silico, realizată prin docking molecular, a sugerat că mecanismul antibacterian poate fi asociat cu inhibarea enzimei D-alanină:D-alanină ligază (DDI), iar activitatea antioxidantă cu inhibarea enzimelor implicate în generarea speciilor reactive de oxigen, precum lipoxigenaza și xantin-oxidaza. În ansamblu, rezultatele susțin potențialul TPEO ca sursă naturală de compuși bioactivi cu aplicații în domeniul alimentar și farmaceutic, datorită efectelor sale antimicrobiene și antioxidante.



Reprezentarea grafică a scorurilor de docking asociate țințelor proteice implicate în activitatea antioxidantă, corespunzătoare celor 39 de componente ale TPEO (A) și celor 7 constituenți majori ai TPEO (B) (care reprezintă peste 75% din uleiul esențial).

Cel de al doilea studiu a evaluat compoziția chimică, activitatea antimicrobiană și relația dintre structură și eficiența biologică a opt uleiuri esențiale asupra *Streptococcus mutans*. Toate uleiurile analizate au demonstrat activitate antimicrobiană, cu zone de inhibiție >20 mm, fiind încadrate ca sensibile. Cea mai ridicată eficiență antibacteriană a fost observată pentru uleiul de mentă creată (Spearmint), urmat de eucalipt, tea tree și lemongrass, în timp ce scorșoara, cuișoarele, rozmarinul și cedrul au prezentat efecte mai reduse. Valorile MIC și MBC au confirmat aceste rezultate, evidențiind eficiența superioară a uleiului de mentă creată în inhibarea și eradicarea *S. mutans*.

Analiza statistică descriptivă a arătat valori ale zonelor de inhibiție cuprinse între 22 și 44 mm, cu deviații standard reduse, indicând o bună reproductibilitate a rezultatelor. Majoritatea datelor au urmat o distribuție normală, cu excepția uleiurilor de cuișoare și cedru. Intervalele de încredere și valorile interquartile au confirmat consistența măsurătorilor și absența valorilor extreme.

Groups	Spearmint	Eucalyptus	Tea Tree	Lemon-grass	Cinnamon	Clove	Rosemary	Cedarwood
N	9	9	9	9	9	9	9	9
Minimum	38	37	30	29	25	22	22	22
Maximum	44	42	35	33	29	26	28	25
Mean ($\bar{x}$)	41.33	39.33	32.11	31	26.33	24.88	24.77	23.55
Mean Confidence Interval (95% CI)	[39.94, 42.71]	[38.11, 40.54]	[30.81, 33.41]	[29.91, 32.08]	[25.31, 27.35]	[23.91, 25.86]	[23.40, 26.15]	[22.77, 24.33]
Standard Deviation (S)	1.8028	1.5811	1.6915	1.4142	1.3229	1.2693	1.7873	1.0138
SD Confidence Interval	[1.21, 3.45]	[1.06, 3.02]	[1.14, 3.24]	[0.95, 2.70]	[0.89, 2.53]	[0.85, 2.43]	[1.20, 3.42]	[0.68, 1.94]
Variance (S ²)	3.25	2.5	2.86	2	1.75	1.61	3.19	1.02
Standard Deviation (σ)	1.69	1.49	1.59	1.33	1.24	1.19	1.68	0.95
Variance (σ^2)	2.88	2.22	2.54	1.77	1.55	1.43	2.83	0.91
Q1	40	38	31	30	25	25	24	23
Median	42	39	32	31	26	25	25	24
Q3	42	40	33	32	27	26	26	24
Interquartile range	2	2	2	2	2	1	2	1
SW p-value (W)	0.86	0.95	0.62	0.34	0.13	0.02	0.98	0.05
KS p-value (D)	0.37	0.88	0.43	0.34	0.40	0.01	0.90	0.004

Statistici descriptive ale diametrelor zonelor de inhibiție (IZ) pentru fiecare ulei esențial testat.

Analiza diversității chimice, realizată prin indicele Shannon (H'), a evidențiat variații importante între uleiuri. Uleiurile cu compoziție simplă, dominate de un compus major (eugenol, cinnamaldehydă, 1,8-cineol), au prezentat o activitate antibacteriană mai pronunțată, în timp ce uleiurile cu diversitate chimică mai mare au avut efecte mai moderate. A fost identificată o corelație negativă slabă între diversitatea chimică și activitatea antimicrobiană, sugerând că eficiența este determinată mai degrabă de compuși dominanți decât de complexitatea compoziției.

EO	Dominant Constituent	RT (min)	Relative Abundance (%)	Shannon Index (H')
Clove	Eugenol	40.26	78.27	0.85
Cinnamon	<i>trans</i> -Cinnamaldehyde	31.70	52.91	0.95
Eucalyptus	1,8-Cineole	18.28	80.60	1.12
Spearmint	Carvone	33.75	59.13	1.45
Lemongrass	Geranial	35.33	42.56	1.38
Tea Tree	Terpinen-4-ol	28.26	42.04	1.50
Rosemary	Camphor	26.13	12.71	1.72
Cedarwood	Cedrol	56.47	15.36	1.61

Compuși dominanți, timpii de retenție (RT), abundențele relative (%) și indicele Shannon (H') pentru fiecare ulei esențial.

Analiza corelațională a arătat asocieri pozitive moderate între activitatea antibacteriană și compuși precum carvona și 1,8-cineolul, în timp ce eugenolul a prezentat o corelație ușor negativă. Analiza PCA a evidențiat trei grupuri chimice distincte: uleiuri bogate în fenilpropanoide (cuișoare, scorțișoară), uleiuri bogate în monoterpene oxigenate (mentă crească, eucalipt, tea tree, lemongrass) și uleiuri bogate în sesquiterpene (rozmarin, cedru). Diferențele între aceste grupuri au fost confirmate statistic prin testul Kruskal–Wallis.

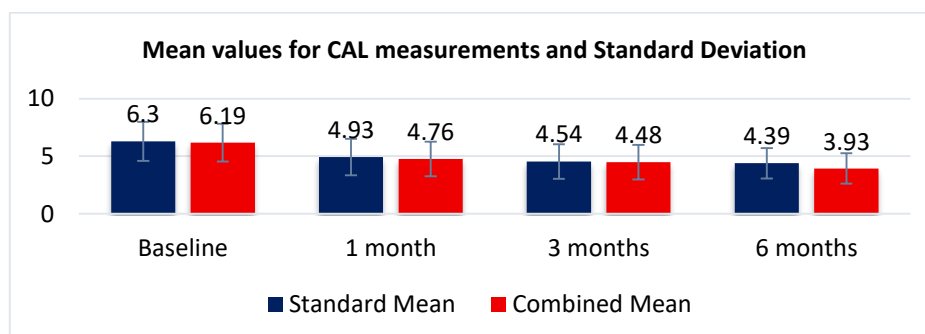
Variable	Description	ρ (Spearman)	p-Value	Interpretation
Shannon diversity index (H')	Chemical diversity across all detected constituents	-0.26	0.53	Weak negative; higher diversity → lower activity
Carvone (%)	Major constituent in Spearmint oil	+0.58	0.09	Moderate positive; higher content linked to stronger inhibition
1,8-Cineole (%)	Dominant constituent in Eucalyptus and Rosemary oils	+0.44	0.21	Mild positive trend
Eugenol (%)	Dominant constituent in Clove oil	-0.41	0.24	Mild inverse association
Trans-Cinnamaldehyde (%)	Major constituent in Cinnamon oil	+0.32	0.34	Weak positive, non-significant
Cedrol (%)	Key sesquiterpene in Cedarwood oil	-0.29	0.47	Weak negative trend

Coeficienții de corelație Spearman (ρ) între diametrul mediu al zonei de inhibiție (IZ) și principalii parametri compoziționali ai uleiurilor esențiale.

În ansamblu, rezultatele indică faptul că activitatea antimicrobiană a uleiurilor esențiale împotriva *S. mutans* este determinată în principal de prezența și predominanța unor compuși bioactivi specifici („driver molecules”), și nu de complexitatea globală a compoziției. Uleiurile de mentă crească și eucalipt se remarcă drept cele mai promițătoare pentru aplicații în prevenția și managementul cariilor dentare.

Cel de al treilea studiu a analizat eficiența a două protocoale terapeutice în tratamentul parodontal: SRP + i-PRF (Standard) și SRP + i-PRF + microneedling (Combined), pe un lot de 54 de pacienți, predominant de vârstă medie și proveniți din mediul urban. Distribuția demografică echilibrată a permis o bună comparabilitate a rezultatelor.

Parametrul principal evaluat, nivelul de atașament clinic (CAL), a înregistrat o îmbunătățire semnificativă în timp pentru ambele grupuri. La 1 lună s-a observat o reducere importantă a CAL (~1,4-1,5 mm), urmată de o îmbunătățire progresivă până la 6 luni. Deși diferențele între cele două protocoale nu au fost semnificative în primele etape, la 6 luni protocolul combinat a demonstrat o îmbunătățire statistic semnificativă a CAL ($\approx 0,46$ mm), sugerând un posibil beneficiu suplimentar al microneedlingului în fazele tardive ale vindecării.



Valorile medii ale nivelului de atașament clinic (CAL) la momentul inițial, la 1 lună, 3 luni și 6 luni pentru ambele protocoale de tratament. Barele de eroare reprezintă deviația standard (media $\pm$ SD). Semnificația statistică între protocoale la același moment de timp este indicată prin asteriscuri ($p < 0,01$).**

Indicele de sângerare la sondare (BOP) a scăzut semnificativ încă din prima lună (~50%), menținându-se ulterior la valori reduse până la 6 luni, ceea ce indică un control eficient și stabil al inflamației gingivale. Evoluția indicelui de placă (PI) a arătat o reducere marcată după tratament (~60% la 1 lună), urmată de menținerea unor valori scăzute pe termen mediu, reflectând o bună complianță a pacienților și eficiența intervențiilor terapeutice.

Comparison	Z	p-value	Effect size (r)	Interpretation
Baseline vs 1 month	-5.88	<0.001	0.60	Significant reduction
Baseline vs 3 months	-6.02	<0.001	0.62	Significant reduction
Baseline vs 6 months	-5.90	<0.001	0.60	Sustained reduction
3 months vs 6 months	-0.89	0.374	0.09	No significant change

Tabelul 24. Analiza Friedman și testele post-hoc Wilcoxon pentru modificările longitudinale ale BOP.

Analizele statistice longitudinale au confirmat îmbunătățiri semnificative în timp pentru toți parametrii (CAL, BOP, PI) în ambele grupuri ($p < 0.001$). Corelațiile dintre acești indicatori au fost puternice în faza inițială, reflectând interdependența dintre inflamație, biofilm și pierderea de atașament, dar au devenit slabe sau nesemnificative la 6 luni, sugerând stabilizarea țesuturilor și independența mecanismelor regenerative față de factorii locali.

În ansamblu, ambele protocoale terapeutice au demonstrat eficiență clinică semnificativă în îmbunătățirea sănătății parodontale. i-PRF s-a dovedit a fi factorul principal în regenerarea tisulară, în timp ce microneedlingul a oferit un beneficiu suplimentar modest, dar statistic semnificativ la 6 luni, sugerând un potențial rol în optimizarea maturării și stabilității atașamentului parodontal pe termen mediu.

CONCLUZII ȘI CONSIDERAȚII FINALE

Prezenta cercetare a avut trei direcții principale de investigare. Prima a vizat analiza uleiului esențial de *Thymus pulegioides* (TPEO), urmărind determinarea compoziției chimice prin metoda GC-MS, evaluarea proprietăților antimicrobiene și antioxidante, precum și identificarea unor posibile mecanisme de acțiune la nivel molecular, cu scopul de a evidenția potențialul acestuia ca sursă de conservanți naturali și antioxidanți pentru industria alimentară și farmaceutică.

A doua direcție a urmărit evaluarea eficienței antimicrobiene a opt uleiuri esențiale asupra tulpinilor de *Streptococcus mutans* izolate din salivă, prin determinarea diametrului zonei de inhibiție (IZ), a concentrației minime inhibitorii (MIC) și a concentrației minime bactericide (MBC).

A treia direcție a avut ca scop evaluarea eficienței clinice a terapiei parodontale prin combinarea detartrajului și planării radiculare (SRP) cu microneedling (MN) și fibrină bogată în plachete injectabilă (i-PRF), comparativ cu protocolul standard SRP + i-PRF. Studiul a urmărit analizarea beneficiilor adăugării microneedlingului și eficiența unui protocol terapeutic combinat în tratamentul pacienților cu parodontită stadiile II și III, conform clasificării EFP/AAP.

1. Toate cele opt uleiuri esențiale analizate au demonstrat activitate antimicrobiană împotriva *Streptococcus mutans*, fiind clasificate ca sensibile. Cele mai eficiente au fost uleiurile de mentă creată și eucalipt, în timp ce scorțișoara, cuișoarele, rozmarinul și cedrul au prezentat efecte mai reduse.

2. Rezultatele MIC și MBC au confirmat superioritatea uleiului de mentă creță, urmat de eucalipt, tea tree și lemongrass, evidențiind o ierarhie clară a eficienței antimicrobiene.
3. Activitatea biologică a uleiurilor esențiale este determinată în principal de compușii majoritari („molecule dominante”), iar nu de complexitatea totală a compoziției. Uleiurile cu structură chimică mai simplă (bogate în carvona sau 1,8-cineol) au prezentat efecte antimicrobiene mai puternice.
4. Analizele statistice și PCA au confirmat că identitatea și concentrația compușilor principali sunt factori determinanți ai eficienței, în timp ce diversitatea chimică ridicată nu garantează o activitate biologică superioară, deși poate contribui la efecte sinergice.
5. Uleiul esențial de *Thymus pulegioides* (TPEO) a fost caracterizat ca aparținând chemotipului timol și a demonstrat activitate antimicrobiană semnificativă împotriva *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *Streptococcus pyogenes* și *Staphylococcus aureus*.
6. TPEO a prezentat proprietăți antioxidante importante, comparabile sau superioare unor antioxidanți standard (BHA, alfa- și delta-tocoferol), confirmate prin testele DPPH și ABTS.
7. Analizele in silico au sugerat mecanisme de acțiune bazate pe inhibarea enzimei D-alanină:D-alanină ligază (efect antibacterian) și a enzimelor implicate în stresul oxidativ (lipoxigenaza și xantin-oxidaza), susținând potențialul TPEO ca sursă naturală de agenți bioactivi pentru aplicații alimentare și farmaceutice.
8. În studiul clinic, ambele protocoale terapeutice (SRP + i-PRF și SRP + i-PRF + microneedling) au determinat îmbunătățiri semnificative ale parametrilor parodontali (CAL, BOP, PI), confirmând rolul central al i-PRF în regenerarea tisulară.
9. Asocierea microneedlingului a adus un beneficiu suplimentar moderat, mai evident în fazele tardive ale vindecării, sugerând un potențial rol în accelerarea vascularizației și optimizarea remodelării tisulare.
10. Deși diferențele între protocoale au fost reduse pe termen scurt, tendința indică un posibil avantaj al terapiei combinate în stabilitatea pe termen lung a atașamentului parodontal.
11. Studiul prezintă limitări legate de dimensiunea eșantionului, durata relativ scurtă de urmărire și lipsa evaluării histologice, fiind necesare cercetări suplimentare pe termen lung.
 În perspectivă, optimizarea tehnicilor minim invazive și aprofundarea mecanismelor biologice implicate pot contribui la dezvoltarea unor strategii terapeutice inovatoare și eficiente în tratamentul bolii parodontale.

În concluzie, prezenta teză de doctorat se înscrie într-un domeniu de actualitate și interes major pentru medicina dentară contemporană, propunând o analiză complexă a potențialului terapeutic al tehnicilor și materialelor adjuvante în ameliorarea patologiilor orale. Prin fundamentarea teoretică riguroasă și prin orientarea către relevanța clinică, lucrarea urmărește să contribuie la consolidarea bazei științifice privind utilizarea extractelor naturale, a PRF și a microneedlingului, precum și la dezvoltarea unor strategii terapeutice moderne, bazate pe dovezi, orientate spre vindecare predictibilă, reducerea inflamației și îmbunătățirea calității vieții pacienților. Rezultatele unui astfel de demers doctoral pot avea valoare atât științifică, cât și practică, facilitând integrarea unor metode adjuvante eficiente în protocoalele curente de tratament ale patologiilor orale.