

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII, MUNCII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE AL
REPUBLICII MOLDOVA
IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 616.716.85-007.23-089.844+616.314-089.843(043.2)

PĂLĂRIE VICTOR

**AUGMENTAREA OSOASĂ ÎN ATROFIILE PROCESULUI
ALVEOLAR MANDIBULAR CU UTILIZAREA FACTORULUI DE
CREȘTERE PLACHETAR DERIVAT RECOMBINANT UMAN -
BB (STUDIU CLINICO-EXPERIMENTAL)**

341.01. – INGINERIE TISULARĂ ȘI CULTURI CELULARE

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

CHIȘINĂU, 2021

Teza a fost elaborată în Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare, a IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova

Conducător științific:

Nacu Viorel, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar

Conducător științific cotutelă:

Al Nawas Bilal, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

Consultant științific:

Topalo Valentin, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

Referenți oficiali:

Taran Anatolie, dr. hab. șt. med., conferențiar universitar, USMF „Nicolae Testemițanu”

Heckmann Siegfried, dr. hab. șt. med., profesor universitar, Universitatea Saarland, Germania

Componenta consiliului științific specializat:

Topor Boris, președinte, dr. hab. șt. med., profesor universitar

Turchin Radu, secretar științific, dr. șt. med., conferențiar universitar

Tagadiuc Olga, dr. hab. șt. med., conferențiar universitar

Mostovei Andrei, dr. șt. med., conferențiar universitar

Danilov Lucian, dr. hab. șt. med., conferențiar universitar

Susținerea tezei va avea loc la 14 Aprilie 2021, ora 14.00 în ședința Consiliului Științific Specializat D 341.01-21-3, din cadrul IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 165, Chișinău, MD-2004

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la biblioteca Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și pe pagina web a ANACEC (www.cnaa.md).

Rezumatul a fost expediat la _____ 2021.

Secretar științific al Consiliului Științific Specializat:

Turchin Radu, doctor în științe medicale, conf. univ. _____

Conducător științific:

Nacu Viorel, doctor habilitat în științe medicale, conf.univ. _____

Conducător științific cotutelă:

Al Nawas Bilal, doctor habilitat în științe medicale, prof. univ. _____

Autor:

Pălărie Victor _____

CUPRINS

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII.....	4
1.ASPECTE ALE INGINERIEI TISULARE ÎN AUGMENTAREA OSOASĂ.....	7
2. MATERIAL ȘI METODE.....	7
2.1 Modelul animal experimental și grupurile de studiu.....	7
2.2 Implanturile și biomaterialele utilizate pentru experimente	8
2.3 Procedurile chirurgicale	9
2.5 Evaluarea statistică experimentală.....	14
2.6Evaluarea retrospectivă clinică.....	14
3. CARACTERISTICILE EXPERIMENTELOR PE ANIMALE FOLOSIND BIOMATERIALE	15
3.1 Caracteristicile osteoconductive ale implanturilor de titan cu suprafețe acoperite cu calciu-fosfat	15
3.2. Reformarea osoasă precoce după aplicarea matricei osoase deproteinizate de bovina.....	16
3.3. Augmentarea osoasă cu implantare dentară simultană folosind biomatrice creștală.....	20
4. STUDIUL CLINIC RETROSPECTIV CU UTILIZAREA IMPLANTURILOR DENTARE ÎN AUGMENTAREA OSOASĂ ÎN ATROFIILE PROCESULUI ALEVOLAR AL MANDIBULEI	21
4.1. Caracteristica stabilității primare și secundare a implanturilor dentare.....	21
4.2. Caracteristica criteriilor care determină rata de supraviețuire și de succes a implanturilor dentare.....	22
CONCLUZII GENERALE.....	24
RECOMANDĂRI.....	25
BIBLIOGRAFIE.....	26
LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI.....	29
ADNOTAREA.....	31

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța temei

Edențiile dentare, prezintă o rată înaltă în rândul patologiilor stomatologice, iar reabilitarea acestora este influențată de factori locali și generali [1-3]. Oferta osoasă a procesului alveolar, ce adesea este limitată, datorată fenomenelor de distrucție și atrofie, a concentrat eforturile cercetătorilor în dezvoltarea unor tehnici chirurgicale care să permită reconstrucția osului cu scopul instalării implanturilor dentare [4-9]. Introducerea factorilor de creștere recombinanți pentru îmbunătățirea regenerării osoase a potențat posibilitățile de reconstrucție a defectelor osoase în scopul poziționării implantului. Acest proces depinde de prezența a 3 componente critice: semnale moleculare, celule respondente cu receptori asociați și matrice extracelulară [10, 11]. Unul dintre factorii biologici cruciali, responsabili de activitatea reparatorie osoasă, este factorul de creștere derivat din trombocite (PDGF). Efectele stimulative puternice ale PDGF ca agent chemotactic și mitogen, împreună cu capacitatea sa de a promova angiogeneza, completează acțiunea factorului de creștere endotelial vascular (VEGF) în formarea vaselor și se poziționează ca un mediator cheie în repararea țesuturilor [12-13]. Pentru crearea grefelor ce vor regenera osul de formă, structură și calitate necesară, culturile factorilor de creștere urmează să fie crescute pe o carcasă similară ca formă și structură cu regiunea destinată substituirii [14-16]. Matricea osoasă deproteinizată, care este utilizată în stomatologie și studiată minuțios în diverse situații clinice, este utilizată pe larg în chirurgia orală pentru recuperarea defectelor osoase. Această matrice în stomatologie este reprezentată de osul bovin deproteinizat (DBM) și a arătat o rezistență la resorbție în urma plasării acestuia în defecte osoase [17, 18]. Instalarea implanturilor dentare simultan cu augmentarea osoasă cu utilizarea matricei demineralizate îmbogățite cu factori de creștere poate fi o metodă sigură în ceea ce privește vindecarea timpurie a zonei reconstruite. Acest lucru se bazează doar pe rezultate experimentale preclinice [19]. Rămâne încă neelucidată eficiența acestei tehnici în situații clinice umane, deoarece încă nu se cunoaște dacă factorul de creștere nu are și o acțiune mitogenă nedorită, cum ar fi inițierea unor tumori sau a necrozelor osoase. Această metodă ar putea soluționa un șir de dezavantaje ale procedurilor care sunt disponibile actualmente în clinică, cum ar fi: resorbția grefei, inițierea timpurie a angiogenezei și menținerea suportului vascular, obținerea integrării tisulare, micșorarea numărului de intervenții și termenilor de regenerare a grefei osoase. Este de asemenea necesar de elucidat dacă aceste tehnici favorizează osteointegrarea implanturilor dentare în situații clinice.

Scopul studiului. Reconstrucția proceselor alveolare atrofiate la nivelul mandibulei prin utilizarea factorului de creștere plachetar derivat recombinant uman – BB (rhPDGF-BB).

Obiectivele cercetării:

1. Determinarea proprietăților osteoconductive ale implanturilor de titan cu suprafețe acoperite cu calciu-fosfat;
2. Aprecierea reformării osoase timpurii după aplicarea matricei osoase bovine deproteinizate;
3. Elaborarea metodei de augmentare osoasă cu implantare dentară simultană, folosind matrice din biomaterial creștal;
4. Determinarea influenței membranei de collagen și a factorului de creștere recombinant derivat din trombocite asupra augmentării osoase și asupra osului bovin deproteinizat fixat în implant;
5. Evaluarea retrospectivă clinică a implanturilor dentare inserate simultan cu augmentarea osoasă la nivelul mandibulei.

Inovația și originalitatea științifică a rezultatelor obținute

În premieră a fost demonstrată proprietatea implanturilor dentare bioactive acoperite cu CaP de a induce creșterea osoasă pe verticală. În urma evaluării comparative a datelor obținute prin efectuarea experimentelor preclinice și studierii morfologice au fost obținute rezultate noi privitor la: particularitățile regenerării osoase în utilizarea xenogrefei de os demineralizat; particularitățile osteointegrării implanturilor dentare în regiuni augmentate, folosind xenogrefa și factorul de creștere rhPDGF-BB; procesele biologice și biochimice ce au loc în perioada de remodelare osoasă după intervenții de augmentare; factorii ce influențează procesele de remodelare a osului la diverse intervale de timp.

În urma evaluării retrospective clinice au fost obținute rezultate noi privitor la: evoluția stabilității implanturilor dentare instalate concomitent cu procedurile de regenerare osoasă ghidată; rata de supraviețuire și succes a acestor implanturi.

Semnificația teoretică

În urma analizei rezultatelor obținute, s-au demonstrat următoarele: instalarea supracrestală în model experimental a implanturilor dentare endoosoase bioactive acoperite cu CaP conduce la o creștere osoasă pe întreaga suprafață a implantului, inclusiv și cea supracrestală; matricea osoasă demineralizată, îmbibată cu factorul de creștere rhPDGF-BB, este un bun suport pentru structurile vasculare, asigurând creșterea celulelor în interiorul matricei într-un anturaj apropiat de cel fiziologic pentru creșterea și dezvoltarea celulelor osteoblastice; augmentarea osoasă cu implantare dentară simultană folosind biomatrice creștală a favorizat creșterea osoasă în profunzime, cu cea mai mare mineralizare în zona marginală a osului, formând un triunghi de mineralizare către suprafața implantului; grefele osoase îmbibate cu factorul de creștere rhPDGF-BB stimulează celulele recipientului pentru diferențiere osteoblastică și se implică nemijlocit în procesul de osteogeneză, prin fenomene de proliferare și diferențiere în celule osteoprogenitoare. Conform studiului retrospectiv, 69% din totalul cazurilor de edentații, tratate prin intermediul implanturilor dentare, prezentau atrofii osoase la

mandibulă. Rata complicațiilor tehnicii de instalare a implanturilor dentare concomitent cu regenerarea osoasă ghidată este destul de mare, iar rata de supraviețuire de 1 an este net inferioară decât în cazul implanturilor instalate în zone ce nu necesită augmentări de os: 83,9% versus 99%.

Valoarea aplicativă a lucrării

Rezultatele obținute în urma studiului completează cunoștințele în medicina regenerativă, morfologie și stomatologie. Rezultatele studiului au fost implementate în cadrul Laboratorului de Inginerie Tisulară și Culturi Celulare al USMF „Nicolae Testemițanu”, Băncii de Țesuturi și Celule Umane, IMSP Spitalul Clinic de Traumatologie și Ortopedie și Clinicii de chirurgie maxilo-facială și chirurgie plastică a Universității din Mainz, Germania.

Aprobarea rezultatelor

Rezultatele cercetărilor au fost prezentate la următoarele forumuri științifice:

- Congresul *Regenerative Medicine: from basic research to orthopaedic applications and beyond* (Santander, Spania, 2011);
- Congresul Mondial de Osteologie (Cannes, Franța, 2011);
- Congresul Mondial *Astra Tech* (Frankfurt am Main, Germania, 2011 și Goetenburg, Suedia, 2012);
- Congresul European de Chirurgie Cranio-Maxilo-Facială – locul I pentru cea mai bună prezentare (Dubrovnik, Croația, 2012);
- Congresul Asociației Europene pentru Osteointegrare (EAO, Copenhaga, 2012 și Dublin, 2013);
- Conferința științifică anuală *Zilele Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”* – locul I pentru cea mai bună prezentare (2012);
- Conferințele și Congresele științifice naționale ale Asociației Medicilor Stomatologi din Republica Moldova (2013).

Publicații la tema tezei. Rezultatele cercetărilor efectuate au fost reflectate în 11 publicații științifice: 3 articole în reviste naționale (inclusiv 2 articole monoautor) și 8 articole în reviste internaționale cu Impact Factor.

Structura tezei. Lucrarea este expusă pe 147 pagini și cuprinde: introducere, 4 capitole, concluzii generale și recomandări, rezumate în limbile română, rusă, engleză și bibliografie cu 230 de referințe. Materialul ilustrativ include 7 tabele și 89 figuri.

Cuvinte-cheie: regenerare osoasă ghidată, factori de creștere, grefă osoasă, atrofie osoasă.

1. ASPECTE ALE INGINERIEI TISULARE ÎN AUGMENTAREA OSOASĂ

Capitolul 1 este constituit din 7 subcapitole care reflectă unele tendințe ale cercetărilor științifice și rezultatele obținute până la momentul actual în reconstrucția atrofiilor osoase la mandibulă, problemele și ipotezele contradictorii existente în chirurgia reconstructivă osoasă. Sunt expuse date generale despre influența diferitor tehnici de augmentare asupra fiziologiei și metabolismului osos. S-a realizat o analiză a grefelor utilizate în reconstrucțiile osoase. De asemenea s-a analizat tehnica de utilizare a matricei osoase deproteinizate și demineralizate, asociate cu aplicarea factorilor de creștere.

2. MATERIAL ȘI METODE

2.1. Modelul animal experimental și grupurile de studiu

Studiul a fost realizat în cadrul Laboratorului Științific de Inginerie Tisulară și Culturi Celulare al USMF „Nicolae Testemițanu” și Laboratorul de Morfologie al Universității din Mainz, Germania. Experimentele au fost planificate prospectiv, în conformitate cu protocoalele ARRIVE [147, 148]. Cercetarea a fost aprobată de Comitetul de Etică a Cercetării a USMF „Nicolae Testemițanu”, Universitatea Mainz, Germania (Nr 23 177-07/G 10-1-027 din 30.06.2010) și Guvernul Regiunii Rheinland - Pfalz; Germania (Nr G10-1-027 din 17.05.2010). Șaizeci de iepuri de rasa New Zealand, în vârstă de 9 luni, cu o greutate de $4,5 \pm 0,5$ kg, au fost selectați, operați și observați în incinta vivariului din Laboratorul Central Științific al USMF „Nicolae Testemițanu”. S-au obținut 120 de probe de os pentru examinare. Conform obiectivelor studiului experimental de cercetare, au fost formate 4 modele de testare, care au fost denumite grupuri:

Grupul I – în acest grup au fost studiate caracteristicile osteoconductive verticale ale implanturilor de titan cu suprafețe acoperite bioactive.

Grupul II – a fost studiată remodelarea osoasă precoce după aplicarea matricei osoase deproteinizate de origine bovină.

Grupul III – acestui grup i-a fost dedicată studierea augmentării osoase cu implantare dentară simultană, folosind biomatrice crestală formată din os bovin deproteinizat.

Grupul IV – experimentele au fost concepute pentru a evalua influența membranei de colagen și a factorului de creștere recombinant derivat uman BB, asupra augmentării osoase verticale, în osul bovin deproteinizat implantat.

2.2. Implanturile și biomaterialele utilizate pentru experimente

Implanturile dentare. Materialul din care e confecționat implantul constă dintr-un aliaj de titan de gradul 5, cu o microstructură sablată și corodată, un hexagon intern, cu un sistem

spiralat, conic, auto-tarodant, autofiletant, cu două capete, adânci și ascuțite, ce coboară spre apexul implantului, permițând auto-retenția implantului și asigurarea unei stabilități primare sporite. Bioactivitatea hidroxiapatitei se datorează unei coeziuni chimice, printr-un schimb de ioni, a învelișului apatitic cu țesutul osos înconjurător. Acest schimb în osteogeneză permite formarea bidirecțională a osului de ambele părți, în locul osos recipient și în locul acoperit cu CaP(Bioactiv) (Fig. 2.1).



Fig. 2.1. Implant acoperit cu calciu-fosfat (bioactiv), tip șurub, cu sistem spiralat, conic, auto-tarodant, autofiletant, cu două capete, adânci și ascuțite

Implanturile utilizate în experiment au fost identice după formă și structură: Alfa Gate Dental Implants (3,5 mm x 11,5 mm; MedNet - GmbH, Munster, Germania) și Nobel Active (3,5 x 11,5 mm, Nobel Biocare, Göteborg, Suedia). Conform grupurilor de studiu implanturile dentare au fost fie sablate, corodate cu acid și acoperite electrochimic cu CaP (CaP) sau doar sablate și corodate cu acid (SLA).

Substituenți osoși

Substituentul osos deproteinizat de bovină (DBM; Bio Oss, Geistlich Pharma, Wolhusen, Elveția) a fost utilizat pentru augmentare, având rolul unei matrice osoase deproteinizate rezistente la resorbție. Acest substituent reprezintă o apatită biologică cu o porozitate asemănătoare cu cea a osului uman [20] (Fig. 2.2). Matricea de 7.5 mm în diametru și 2.0 mm în înălțime au fost obținute prin frezare (Fig. 2.3).

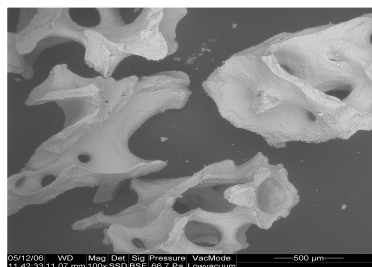


Fig. 2.2. Imagine de microscopie electronică a substituentului osos DBM cu porozitate asemănătoare cu cea a osului uman

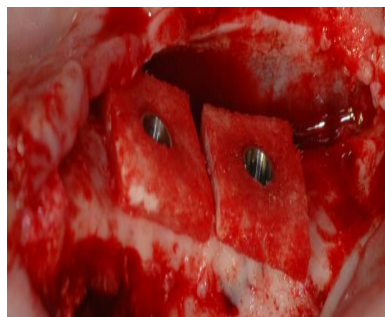


Fig. 2.3. Blocuri osoase de bovină deproteinizate, frezate în model experimental

Membranele de barieră

Membranele de collagen mențin o barieră temporară, având și funcția de păstrare a spațiului, cu asigurarea difuziei nutrienților necesari pentru proliferarea și diferențierea celulelor. Pentru a elucida ipoteza precum că există o diferență în formarea histologică a creșterii osului nou atunci când se utilizează o membrană de collagen, la o parte din animale, în procesul augmentării osoase, s-au folosit membrane resorbabile de collagen (Bio-Gide®; Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Elveția) (Fig. 2.4).

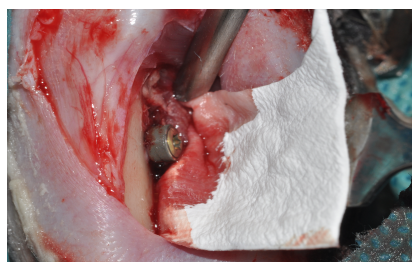


Fig. 2.4. Membrana de collagen aplicată în zona de interes experimental

Factorul de creștere. Pentru a clarifica influența factorilor de creștere asupra reorganizării DBM în os nou, în experimente s-a utilizat factorul de creștere recombinant uman derivat din trombocite de tip-BB (rhPDGF-BB, Sigma, St. Louis, MO, SUA). După plasarea soluției ce conține rhPDGF-BB în tuburi sterile de polipropilen, cu volumul de 50 ml, a fost aplicată grefa de matric edemineralizată în interiorul eprubetei (Fig. 2.5).



Fig. 2.5. Factorul de creștere recombinant uman derivat din trombocite, de tip-BB

2.3. Procedurile chirurgicale

Toate animalele au fost operate sub anestezie generală prin injecții intramusculare cu o combinație de soluție Ketamină și soluție Relanium, precum și prin bloc anestezic periferic la

nivelul nervului femural inferior, cu soluție Lidocaină de 2%. În toate grupurile experimentale s-a utilizat ca model osul tibia (Fig. 2.6).

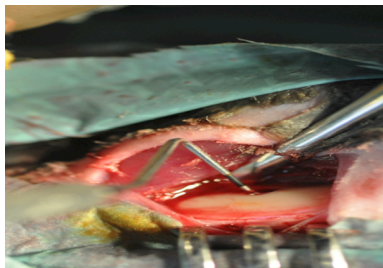


Fig. 2.6. Examinarea osului înainte de efectuarea experimentului

Grupul I. În tibia a 12 iepuri au fost inserate implanturi acoperite cu CaP sau implanturi sablate/corodate cu acid (SLA) lă – în total au fost studiate 24 probe. Implanturile au fost inserate 3 mm supracrestal (Fig. 2.7, 2.8). Animalele au fost sacrificate a 3 săptămâni.

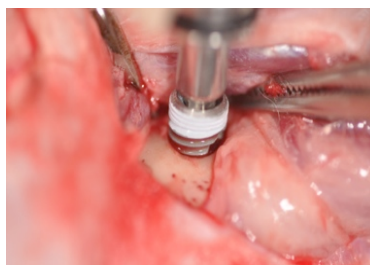


Fig. 2.7. Imagine clinică implant dentar SLA-CaP inserat supracrestal

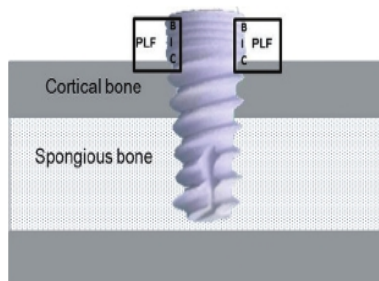


Fig. 2.8. Schema implantului amplasat supracrestal cu parametrii ce necesită documentare

Grupul II. În acest studiu unui grup experimental de 12 iepuri i-a fost aplicată o matrice osoasă demineralizată (Bio-Oss Block, Geistlich Pharma, Wolhusen, Elveția) cu utilizarea factorului de creștere rhPDGF-BB (test) și fără utilizarea factorului de creștere (control), utilizând ca model tibia, bilateral. Probele pentru analizele histologice au fost prelevate după 3 săptămâni. Pentru a documenta regenerarea osoasă continuă la aceste animale, a fost colectat sângele periferic. Serul sangvin obținut prin centrifugarea sângelui periferic a fost utilizat pentru detectarea în el a markerilor remodelării osoase: fosfataza acidă totală (TAcPh), fosfataza acidă osoasă (BAcPh), fosfataza alcalină totală (TA1Ph) și fosfataza alcalină osoasă (BA1Ph) s-a determinat din sângele periferic al animalelor, folosind chiturile biochimice standard (Elitech, Franta). Probele de sânge periferic s-au prelevat din vena superficială auriculară (Fig. 2.9) la

următoarele etape: înainte de intervenție, o oră postoperator, 24 ore postoperator, 72 ore, 7 zile, 2 săptămâni, 3 săptămâni după intervenție.



Fig. 2.9. Prelevarea sângelui din vena auriculară superficială

Grupul III. Implantul bifazic constă din două părți care au fost asamblate în condiții sterile în hota cu flux laminar de aer (Fig. 2.10). Implanturile bifazice au fost plasate în ambele oase tibiale, medial la 12 animale. În primele zile după intervenție animalelor li s-a administrat, în mod regulat, tetraciclină, pentru examinarea fluorescență a speciimenelor de os. După 30 de zile de la intervenție, iepurii au fost sacrificați.



Fig. 2.10. Implantul bifazic constând din matrice osoasă demineralizată și implant propriu

Grupul IV.

24 de animale au fost distribuite în 4 subgrupuri, vindecarea fiind urmărită la două intervale distincte de timp, în funcție de procedurile de tratament și timpul de observare – în total 48 probe osoase (Tab. 2.1). DBM a fost îmbogățit cu 0,5 ml rhPDGF-BB (concentrație 1 mg/ml). Pentru a evalua diferențele, atunci când se utilizează membrana de collagen, a fost folosit un model statistic: într-o tibie periostul a fost suturat deasupra blocului, iar în cealaltă tibie - sub periost a fost utilizată suplimentar membrana de collagen (Fig. 2.11).

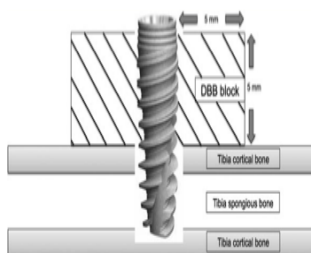


Fig. 2.11. Schema blocului DBM împreună cu implantul inserat bicortical

Tabelul 2.1. Proiectarea schematică a experimentelor pe animale (total n = 24)

Grupul	Proceduri	3 Săptămâni Grupul n=12	6 Săptămâni Grupul n=12
Control	DBM	3 (1a)	3 (3a)
Test 1	DBM + membrană	3 (1b)	3 (3b)
Test 2	DBM + <i>rhPDGF-BB</i>	3 (2a)	3 (4a)
Test 3	DBM + <i>rhPDGF-BB</i> + membrană	3 (2b)	3 (4b)

2.4. Biopsiile și procedurile histologice și biochimice

Animalele au fost conform protocolului experimental printr-o supradoză de pentobarbitonă la 100 mg/kg. S-a documentat gradul de atașare a țesuturilor moi, consistența, atașamentul lor față de regiunea osoasă experimentală, vascularizarea zonei augmentate. Regiunea osoasă a fost prelevată în bloc (macropreparat). Preparatele au fost păstrate în soluție de formalină tamponată cu concentrația de 10% (Fig. 2.12).

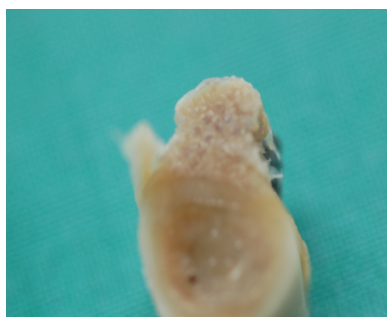


Fig. 2.12. Proba de os – imagine macroscopică.

După fixarea prin imersie și decalcifiere timp de 4 săptămâni, probele osoase au fost tăiate în bucăți corespunzătoare și pregătite pentru examinarea histologică. Toate probele au fost tăiate la o grosime de 5 mm, perpendicular pe axa implanturilor dentare plasate sau biomaterialelor, cu un ferăstrău comercial prin irigare intensă (sistem de răcire cu apă, Exakt, Hamburg, Germania). Bucățile de os au fost șlefuite până la grosimea de 30-50 microni (Fig. 2.22 și 2.23). Toate probele au fost deshidratate cu alcool de 70-100% și apoi colorate cu sol. Technovit 7200 (Heraeus Kulzer GmbH & Co., Wehrheim, Germania) (fig. 2.13). Materialele histologice au fost examinate prin microscopie optică și fluorescență cu ajutorul microscopului Leica DM8000 M (Leica Microsystems, Heidelberg, Germania). Pentru calculele

histomorfometrice, toate diapozitivele au fost digitizate. Datele au fost analizate ca medii și deviații standard. Pentru analiză a fost utilizat programul "Prism" versiunea 5.0d (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, SUA).



Fig. 2.13. Piesă morfologică șlefuită la 50 micrometri după colorare cu albastru de toluidină.

Examinările histomorfometrice. Măsurătorile histometrice au fost efectuate integral computerizat, utilizând un sistem de analiză automată a imaginii (VisioMorph - Visiopharm Integrator System®, Visiopharm, Hørsholm, Danemarca), cuplat cu o cameră video (Nikon digital Sight DS-5Mc), montată pe un microscop optic (Nikon Eclipse 90I). Parametrii de studiu au fost evaluați de doi evaluatori, care nu cunoșteau modalitatea utilizată pentru augmentarea osoasă (examinare oarbă):

(1). Zona de os nou format la locul augmentării (NBA). Relația dintre suprafața totală a augmentării primare și zona osoasă nou formată a fost evaluată pe partea stângă și partea dreaptă a implantului (%) (fig. 2.14).

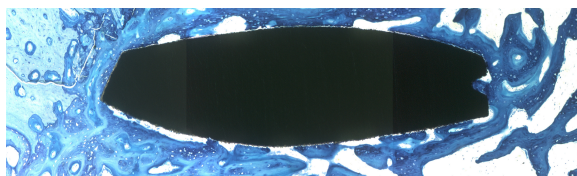


Fig. 2.14. Aprecierea zonei de os nou format la locul augmentării.

(2). Osul nou mineralizat, ca un marker pentru înălțimea osoasă verticală marginală (VBH, în mm), a fost măsurată în zona augmentată, în 5 puncte arbitrare pe stânga și pe dreapta fiecărei probe.

(3). Procentul umplerii osoase liniare (PLF). A fost determinat PLF la stânga și la dreapta de corpul implantului. A fost evaluată relația dintre volumul osos total și al osului nou format, într-o regiune de interes de 1,5 mm x 1,5 mm (Fig. 2.15).

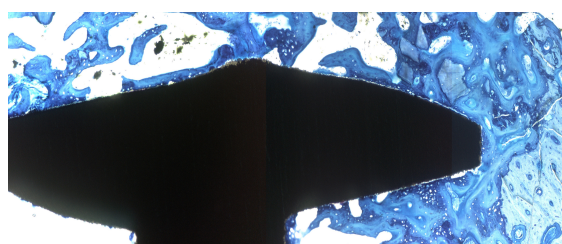


Fig. 2.15. Imagine de calcul a PLF în zona spirelor implantului.

(4). Procentul contactului osos cu implantul (BIC). A fost calculat raportul lungimii suprafeței implantului în contact cu osul, la suprafața totală a implantului. (Fig. 2.16).

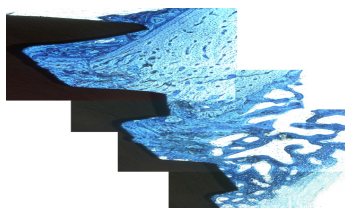


Fig. 2.16. Imagine de calcul a raportului lungimii suprafeței implantului în contact direct cu suprafața osoasă.

2.5. Evaluarea statistică experimentală. Datorită naturii explorative a acestui experiment, au fost efectuate următoarele analize: au fost examinați toți parametrii, inclusiv valorile osoase totale (NBA, VBH) partea stângă și dreaptă a implantului. Datorită caracterului pilot al studiului și dimensiunilor eșantionului pentru fiecare grup, toate valorile au fost raportate descriptiv. Rezultatele la diferite intervale de timp au fost comparate numai în interiorul grupurilor. Sunt raportate valorile descriptive p ale testelor. Analizele au fost efectuate folosind versiunea SPSS 20.0 pentru Mac (IBM, Armonk, NY, SUA).

2.6 Evaluarea retrospectivă clinică. Scopul acestui studiu retrospectiv este de a caracteriza atrofiile la maxilarul inferior. Studiul retrospectiv a cuprins evaluarea fișelor a 124 pacienți, cărora li s-au instalat 311 implanturi în cazuri de edentații parțiale ale procesului alveolar inferior pe perioada anului 2008. Au fost selectate 86 cazuri (69%), ce prezentau 126 implantări dentare și proceduri de regenerare osoasă ghidată la mandibulă. Criteriile primare de evaluare a rezultatelor au fost rata de supraviețuire și rata de succes a implanturilor, în conformitate cu criteriile elaborate de Albrektsson și colaboratorii [21]. Rezultatele au fost înregistrate în conformitate cu: rata de supraviețuire sau pierdere a implantului dentar, translučența radiologică peri-implantară, atrofia osoasă, semne de inflamație și lezare a formațiunilor anatomice. De asemenea, rata de succes a fost evaluată în conformitate cu criteriile propuse de Buser și colaboratorii [22]. În studiul dat s-au utilizat și alte criterii secundare de evaluare a rezultatelor, precum: aprecierea indicelui gingival modificat, după Loe și Silness [23]; indicele de placă, după Mombelli [24]; scorul de sângerare, după Mühlemann [25]. Următoarele analize paraclinice [26, 25] au fost utilizate pentru a documenta stabilitatea primară și secundară (analiza frecvenței rezonanței (ISQ; Osstell Mentor®, Osstell AB, Göteborg, Suedia)) și Periotest® (Medizin Gulden, Bensheim Germany), precum și analiza radiologică.

2.7. Evaluarea statistică clinică. Analiza unidirecțională a testului post hoc Tukey a fost realizată pentru a compara stabilitatea implanturilor (ISQ, Periotest), precum și în ceea ce privește pierderea osoasă peri-implantară. S-au determinat valorile p descriptive ale testelor. Valorile <0.05 au fost apreciate ca o diferență statistic semnificativă. Funcția de supraviețuire

Kaplan-Meier a fost utilizată pentru descrierea ratelor de supraviețuire și succes. Analizele statistice au fost efectuate folosind programul computerizat SPSS15,0 (SPSS, Chicago, IL., Statele Unite ale Americii).

3. CARACTERISTICILE EXPERIMENTELOR PE ANIMALE FOLOSIND BIOMATERIALE

3.1. Caracteristicile osteoconductive ale implanturilor de titan cu suprafețe acoperite cu calciu-fosfat

Analiza histomorfometrică

Analiza descriptive. Noul os supracrestal a fost observat după 3 săptămâni în 75% implanturi SLA-CaP (75%) și în 50% implanturi SLA (75%). În toate cazurile osul a crescut de forma unui triunghi, cu baza pe osul cortical subiacent, spre implant (Fig. 3.1).

PLF. După 3 săptămâni, la examenul histologic, osul spongios nou format a putut fi găsit în jurul umărului implantului, la cele mai multe dintre implanturi. Implanturile SLA-PAC au provocat un PLF de 46,5 %. Pentru implanturile SLA, a fost măsurat un PLF de 11,2% (Fig. 3.2).

BIC. Analiza histomorfometrică a indicat că BIC în zona umărului a fost de 71,4% pentru implanturile SLA-Cap și de numai 13,0% pentru implanturile SLA. BIC a implanturilor acoperite cu CaP, a fost semnificativ mai mare comparativ cu implanturile neacoperite (Fig. 3.3).

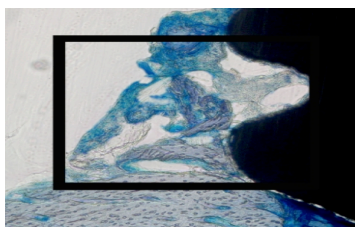


Fig. 3.1. Măsurarea PLF și BIC digitalizată pe o probă histologică.

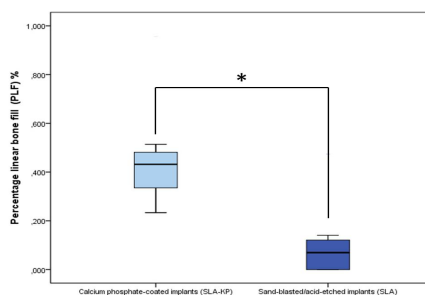


Fig. 3.2. Procentul liniar de umplere osoasă (PFL) după 3 săptămâni

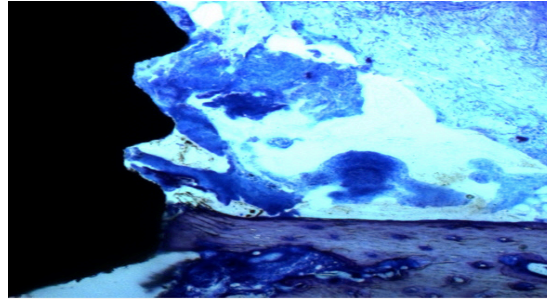


Fig. 3.3. Osul nou format la umărul unui implant după 3 săptămâni.

În acest studiu am folosit analiza histomorfometrică bidimensională. Până în prezent, histomorfometria bidimensională este standardul de aur pentru evaluarea probelor, iar noi am comparat datele noastre cu datele altor studii care au utilizat aceleași tehnici. Pentru cercetările viitoare, evaluarea tridimensională prin microtomografie computerizată ar putea fi o abordare interesantă pentru a analiza implantul și țesutul din jurul său. Interacțiunea dintre biomaterial și os, după implantare, are loc inițial la suprafață. Rezultatele au arătat o osteointegrare precoce îmbunătățită a suprafețelor acoperite cu CaP, în comparație cu suprafețele de titan.

3.2. Reformarea osoasă precoce după aplicarea matricei osoase deproteinizate de bovina.

DBM este una dintre cele mai studiate materiale pentru augmentarea osoasă în cercetările preclinice și clinice, pentru tratamentul defectelor mici și mijlocii. Cu excepția câtorva studii raportate, DBM demonstrează un bun potențial osteoconductiv ca o grefă osoasă inlay și onlay în bloc și forme macroparticulate. În acest studiu a fost investigată eficacitatea precoce a DBM, ca o grefă combinată, într-un model experimental. Rezultatele arată că DBM îmbibat cu factorul de creștere rhPDGF-BB are un bun potențial osteoconductiv, aceleași rezultate fiind prezentate și în alte studii experimentale și studii clinice, publicate de mai mulți autori [28-29]. În acest studiu, procentul de os nou regenerat în fazele timpurii de vindecare, calculat prin histomorfometrie, este egal cu 19%. În studiul de față, osul nou format a avut o înălțime semnificativă în grupul DBM precoce, cu o medie de 1,9 mm. Astfel, rezultatele preclinice actuale practic denotă că utilizarea tehnicii descrise în acest studiu este eficientă când implantul dentar, plasat într-o creastă atrofică, are nevoie de aproximativ 2 mm de augmentare osoasă pentru ca viitorul implant să fie înconjurat din toate părțile de țesut osos suficient. Examinarea secțiunilor histologice a relevat că, în lotul control, pe marginea osului rezecat se determină fragmente osoase minuscule în distrucție; lacune osteocitare goale, caracteristice necrozei aseptice osoase. Zona defectului este invadată de elemente caracteristice formării unui cheag sangvin, cu celule polimorfe asemănătoare fibroblastelor. Totodată, de la marginile defectului osos se formează trabecule osoase care-și au originea în lamelele native

adiacente defectului creat, fapt care se datorează osteogenezei din partea periostului. Țesutul nou-format acoperă în totalitate marginile defectului osos. De asemenea se evidențiază particule neresorbite de matricea osoasă demineralizată utilizată în calitate de greță pentru augmentare. Printre aceste particule se evidențiază vase sangvine tinere de calibru mic. Pentru lotul test, drept surse pentru regenerarea osoasă sunt celulele osoase marginale după efectuarea defectului, elementele periostale și endostale ale marginii osoase. Se poate menționa faptul că de la baza defectului osos nu se observă o activitate proliferativă evidentă. O activitate majoră o are osteogeneza din partea greții osoase demineralizate îmbibate cu factorul de creștere rhPDGF-BB. Țesutul osos nou înconjoară, ca un manșon, marginea osoasă. În mijlocul zonei augmentate, se determină un țesut bogat în vase sangvine, care sunt înconjurate de celule sangvine polinucleate. Trebuie de menționat o neoangiogeneză intensivă în loturile experimentale test și o invazie extensivă celulară în defectul osos de la marginile defectului înspre particulele greții îmbibate cu factor de creștere. Pe marginea osului lezat s-a format un strat de țesut lamelar, care micșorează dimensiunile defectului; în zona defectului osos. Drept surse pentru dezvoltarea acestei plăci au fost marginile defectului cu elemente ale endostului și periostul. În celelalte loturi procesul de regenerare decurge mai lent, comparativ cu termenul precedent, dar este în ascensiune. În unele locuri se mai determină fragmente mici de os spongios, care sunt înconjurate de trabecule osoase – proces de remodelare osoasă. Totodată, pe perimetrul defectului, țesutul neformat este mai opac comparativ cu centrul zonei de augmentare. Pe piesele histologice se determină elemente caracteristice matricei extracelulare – un produs al elementelor celulare osteoblastice. În lotul unde s-a utilizat numai greță formată din os deproteinizat procesul reparator decurge mai puțin activ decât în lotul unde s-a utilizat și ca factor de creștere celulară moleculele de rhPDGF-BB, dar la finele termenului de supraveghere în regiunea de mijloc se determină o depresiune, care reprezintă o persistență a unui defect de os. În toate lamelele histologice analizate nu s-a observat nicio urmă de țesut moale în interfață osoasă nou formată. După examinarea tuturor probelor morfologice, s-a ajuns la concluzia că noul os a fost în contact direct cu particulele de DBM, confirmând potențialul osteoconductiv al acesteia (Fig. 3.4).

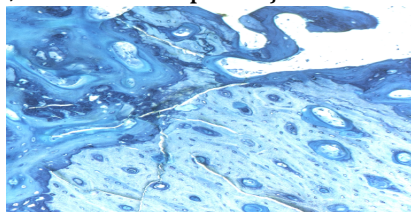


Fig. 3.4. Interacțiunea dintre DBM și osul nativ.

Examinările biochimice. Preoperator (0) nu s-au documentat diferențe în rezultatele biochimice între animalele de studiu. O oră postoperator (1), datorită traumei osoase chirurgicale, toți parametri erau crescuți considerabil în animalele test față de animalele control (TAcPh, BAcPh, TAlPh, BAIPh). 24 ore postoperator (2) numai TAlPh a crescut considerabil în grupul de animale test. 72 ore după intervenției (3) toți parametri au crescut considerabil în grupul test. După 7 zile (4), diferențe statistice nu au putut fi documentate. După 2 săptămâni TAcPh, BAcPh și BAIPh au fost găsite mai mari în animalele din grupul control. O diferență statistică considerabilă în favoarea animalelor din grupul control a fost documentată la 3 săptămâni postoperator (fig. 3.5). În loturile test dinamica creșterii fosfotazelor alcaline este comparabilă, pe când în lotul control curba creșterii acestor fosfotaze este mai lentă. Odată cu mărirea regeneratului se atestă o creștere a fosfotazelor alcaline și o scădere a fosfotazelor acide, ceea ce indică asupra creșterii activității și numărului de osteoblaste și micșorării activității și numărului de osteoclaste. Acest fapt corelează și cu datele histologice care indică o masă osoasă mai mică comparativ cu loturile unde au fost transplantate grefe demineralizate îmbibate cu factori de creștere. Rezumând, se poate afirma că matricea osoasă deproteinizată cu adaos de factor de creștere rhPDGF-BB stimulează formarea țesutului osos.

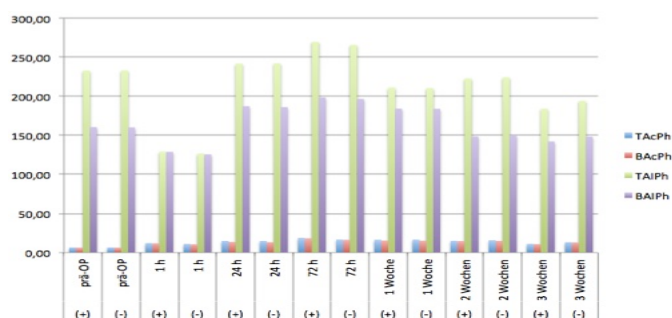


Fig.3.5. Graficul statistic al rezultatelor biochimice

Totodată, folosirea matricei osoase demineralizate are un efect regenerativ mai slab, care arată o dezvoltare mai pasivă a țesutului osteogen în defectul critic al osului tibial. Reprezentând o structură tridimensională, osul bovin demineralizat îmbibat cu factorul de creștere rhPDGF-BB este un bun suport pentru grefele celulare, asigurând creșterea celulelor în interiorul matricei.

3.3. Augmentarea osoasă cu implantare dentară simultană folosind biomatrice crestală.

Datorită structurii poroase a DBM, mineralizarea și creșterea osoasă în profunzime au fost rapide, demonstrând biocompatibilitatea grefei xenogene.

Examinarea histologică. S-a determinat o osteointegrare a implantului de titan în toate probele (Fig. 3.6). Examinarea inelelor de biomaterial a arătat o creștere a țesutului osos în profunzime, cu cea mai mare mineralizare în zona marginală a osului, formând un triunghi de

mineralizare de la suprafața osoasă locală către suprafața implantului supracrestal. Structura matricei a fost complet înlocuită cu os nou format.

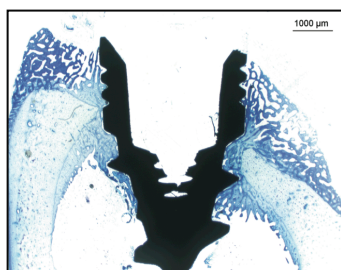


Fig. 3.6. Vindecarea osoasă avansată și mineralizarea zonei triunghiului marginal

Examinarea prin microscopie fluorescentă. S-a documentat prezența țesutului osos nou mineralizat în zona descrisă, precum și la interfața implantului (Fig. 3.7). A fost măsurată creșterea verticală a osului nou mineralizat, marginal. Înălțimea osului mineralizat nou format a fost cuprinsă între 5,1 și 10,4 mm (în medie 6,8 mm), acoperind în totalitate suprafața implantului.

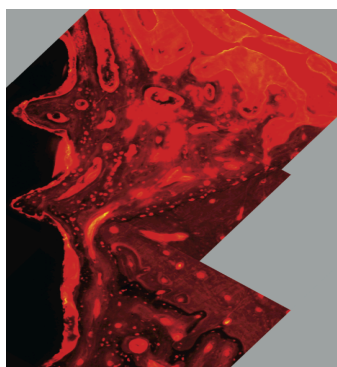


Fig. 3.7. Microscopia fluorescentă evidențiază osul marginal nou format

3.4. Influența membranei de collagen și a factorului de creștere recombinant derivat din trombocite asupra augmentării osoase cu os bovin deproteinizat fixat cu implant.

Zona de os nou format (NBA) la locul augmentării. După 3 săptămâni, în grupul 1a, s-a observat o NBA totală medie de 20%. NBA în grupul 1b a fost de 16,3%, în grupul 2a - de 35,28%, iar în grupul 2b - de 15,4%. După 6 săptămâni, în grupul 3a a fost observată o NBA de doar 2,47%. În grupul 3b, media NBA calculată a fost de 28,5%, în grupul 4a - de 5,3% și în grupul 4b - de 35,54%. Toate valorile sunt expuse în tabelul 3.1. Ambele grupuri în care s-au folosit membrane (3b și 4b) au arătat o valoare a NBA mai mare decât grupurile non-membranare.

Efectul membranei. După 3 săptămâni, membrana a avut un efect negativ asupra zonei osului nou format (grupul 1a vs. 1b: valoarea medie 3.7%; grupul 2a vs. 2b: valoarea medie 19.84%). A existat și un efect negativ asupra VBH (grupul 1a vs. 1b: valoarea medie 0.27 mm;

grupul 2a vs. 2b: valoarea medie 0.18 mm). După 6 săptămâni, a existat o zonă suplimentară de os nou format, în grupul cu membrane (grupul 3a vs. 3b: valoarea medie + 26.02, grupul 4a vs. 4b: valoarea medie + 30.23).

Tabelul 3.1. Valorile absolute ale ariei medii de os nou format (%) după 3 și 6 săptămâni

Termeni	Grupul	Zona de os nou format (%)
3 săptămâni	DBM	20
	DBM+membrană	16.3
	DBM+rhPDGF-BB	35.27
	DBM+rhPDGF-BB+membrană	15.43
6 săptămâni	DBM	2.47
	DBM+membrană	28.49
	DBM+rhPDGF-BB	5.31
	DBM+rhPDGF-BB+membrană	35.544

După 3 săptămâni (stânga), nu au fost observate diferențe semnificative statistice, după 6 săptămâni (dreapta), grupurile cu membrană au avut o NBA semnificativ mai mare decât grupurile non-membranare. Analiza histomorfometrică (3 săptămâni) a dezvăluit că rhPDGF-BB tinde să crească suprafața totală de os nou la locul augmentat. Comparativ cu grupul DBM (NBA medie: 20%), adăuga de PDGF-BB aproape a dublat această valoare (medie NBA: 35,27%). Membrana, probabil, a oprit acest efect pozitiv (NBA medie: 15,4%). Apogeul în procesul de regenerare este atins în perioada de 6 săptămâni, fiind posibile două căi de acțiune a factorilor de creștere, utilizați în procesul de regenerare: a) grefa cu rhPDGF-BB stimulează celulele recipientului pentru diferențiere osteoblastică; b) grefa cu rhPDGF-BB se implică nemijlocit în procesul de osteogeneză, prin proliferație și prin diferențiere în celule osteoprogenitoare care, la rândul lor, se pot diferenția în osteoblaste.

4. STUDIUL CLINIC RETROSPECTIV CU UTILIZAREA IMPLANTURILOR DENTARE ÎN AUGMENTAREA OSOASĂ ÎN ATROFIILE PROCESULUI ALEVOLAR AL MANDIBULEI

4.1. Caracteristica stabilității primare și secundare a implanturilor dentare.

În acest studiu retrospectiv s-au evaluat parametrii clinici și paraclinici ai implanturilor dentare bioactive CaP, instalate concomitent cu augmentarea ghidată în sectoarele edentate și atrofiate de mandibulă. Pentru a evalua clinic interferența între implant și os sunt folosite metode invazive (invers torque) și non-invazive (Osstell – ISQ și analiza Periotest) [28, 29, 30, 31]. Perioada de observare clinică a fost divizată în trei etape: postoperator, la 6 și 12 luni după instalarea implanturilor dentare. Stabilitatea primară și secundară a fost documentată cu ajutorul dispozitivelor Osstell Mentor și Periotest. Datele aparatului Osstell (ISQ) au fost colectate imediat după inserția implanturilor dentare și după 6 luni, la etapa de protezare. Datele examinării cu aparatul Periotest s-au obținut, în toate cazurile, imediat după o intervenție chirurgicală, după 6 și 12 luni. Au fost documentate valori mai mari de ISQ după 6 luni de vindecare, comparativ cu valori după intervenția chirurgicală. Datele numerice pentru Periotest au crescut în perioada primelor 6 luni și au rămas constante după 12 luni de examinare. Aceste valori indică o vindecare timpurie benefică în raport cu remodelarea osoasă față de implant. Procedurile de testare a stabilităților primare și secundare cu aparatele Periotest și Osstell nu au indus erori, dificultăți în documentarea și evaluarea statistică, nu au impus complicații ce ar putea influența negativ osteointegrarea implanturilor și procesul de vindecare. Valorile medii Osstell ale implanturilor dentare la 6 luni postoperator, înainte de încărcarea protetică, au constituit 59,1 ISQ (41-72), comparativ cu valoarea medie de 63,1 imediat după inserarea implanturilor. Valorile medii de analiză, cu ajutorul aparatului Periotest, imediat după inserarea implanturilor au constituit: -3.64. După 6 luni de vindecare, la faza de inserare a abutmentului de vindecare gingivală valoarea medie Periotest a fost -4.74. Valoarea medie pentru Periotest după 12 luni postoperator a fost -4.75. Diferența observată între stabilitatea implanturilor dentare se poate explica prin faptul că procesul alveolar inferior atrofiat poate avea o densitate osoasă diferită de la caz la caz. Rezultatele studiului arată un cuplu de inserție cu valori între 10 - 50 Ncm. În osul de calitate clinică densă (D1) s-a documentat cea mai mare forță de inserare a implanturilor, având în medie un cuplu cu 47,7 Ncm. O diferență statistică semnificativă (Fig. 4.1) s-a observat între forță de inserție și calitatea osoasă: os D1- forța medie de inserție de 47,7 Ncm, 5,5 % din cazuri; os D2 – forța medie de inserție de 37,6 Ncm, 39,2% din cazuri; os D3- valoarea medie a cuplului de inserție de 30 Ncm, 40,2% din cazuri; os de densitate moale D4 – cuplu mediu de inserție 21 Ncm, 15,1% din cazuri.

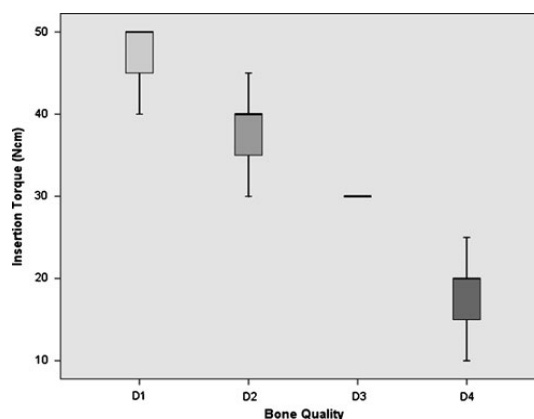


Fig. 4.1. Relația între forța de inserare a implanturilor dentare și densitatea osoasă

Cel mai mare cuplu a fost obținut în regiunea anterioară a mandibulei cu valoarea medie de peste 40 Ncm. Valori medii clinic favorabile 33 și 34 Ncm au fost documentate în sectoarele posterioare ale mandibulei. O diferență statistică semnificativă a fost estimată în ceea ce privește diametrul implantului și forța de inserție: cele mai mari valori au fost notate pentru implanturile cu diametrul de 3,3 mm, (40-50 Ncm), 3,75 mm (30-35 Ncm), 4,2 mm (25- 35 Ncm) și respectiv 4,7 mm (30-40 Ncm). Lungimea implantului nu a influențat valorile statistice.

4.2. Caracteristica criteriilor care determină rata de supraviețuire și de succes a implanturilor dentare. Bazându-se pe disponibilitatea imaginilor bidimensionale, numai zonele meziale și distale ale implanturilor au putut fi interpretate. În total, după 6 luni de la instalarea implanturilor dentare, valoarea medie documentată pentru pierderea de masă osoasă în regiunea corticală alveolară a fost de 0,051 mm. După 12 luni, o apoziție cu valoarea medie de 0.016 mm a fost observată. Se poate observa o diferență statistică esențială între valorile resorbțiilor și apozițiilor osoase atestate la implanturile instalate concomitent cu regenerarea osoasă ghidată (Fig. 4.2). Remodelarea osoasă de asemenea ar putea fi influențată în cazurile în care, la etapa a doua chirurgicală, platforma implanturilor este acoperită de os. În aceste cazuri, crearea lambourilor mucoperiostale pentru înlăturarea substratului osos ce acoperă platforma implantară ar putea conduce la dereglarea aportului sangvin, iar raclajul osos impune inițierea unui proces de remodelare posttraumatică ce se poate răsfărânge negativ asupra nivelului osos peri-implantar. Astfel, apozițiile osoase ce conduc la acoperirea parțială sau totală a platformei implantare nu pot fi considerate drept avantaj sau succes obținut pe parcursul perioadei de vindecare.

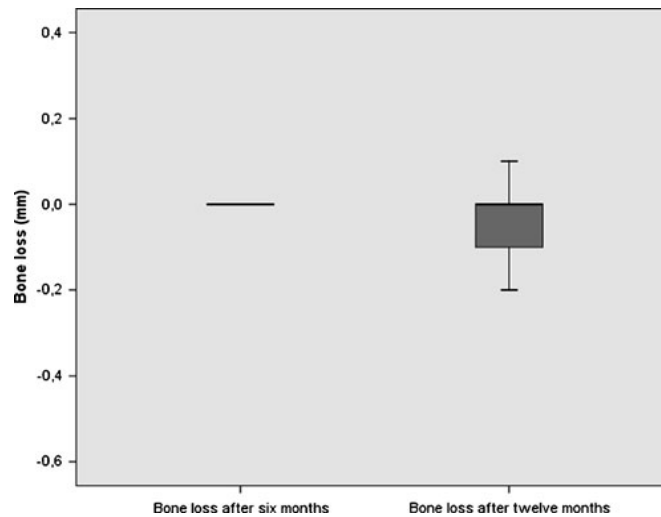


Fig. 4.2. Remodelarea osoasă peri-implantară

Pe unele imagini de asemenea se vizualizează particule de os demineralizat folosit în procedurile de augmentare, ce denotă faptul că materialul DBM nu era resorbat complet la a doua etapă chirurgicală. În cele mai multe cazuri (73.9%) s-a documentat țesut gingival normal. În 23.9% cazuri s-a depistat o inflamație avansată. Scorul moderat de inflamație a putut fi calculat în 8.4% cazuri. Rezultatele au arătat că numai în 11.3% cazuri s-a putut provoca o ușoară sângerare peri-implantară (gradul 1). Procesele de sângerare sunt considerate ca simptome de mucozită peri-implantară care sunt raportate în general la 50% din toate implanturile instalate. 20 de implanturi dentare (15.8% din cazuri) au fost înlăturate din cauza inflamației severe în primele patru săptămâni postoperator. Toate implanturile au fost inserate în regiunea molarilor inferiori. Diametrul implanturilor a variat între 3,3 și 4.2 mm, iar lungimile între 6 și 10 mm.

CONCLUZII ȘI RECOMANDARI

Concluzii generale

1. Rezultatele histomorfometrice indică faptul că procesele chimice de pe suprafața bioactivă a implanturilor dentare acoperite cu CaP asigură efecte sinergice pentru formarea țesutului osos nou în regiunea peri-implantară.

2. Matrice osoasă demineralizată este un material osteoconductiv atunci când este folosit pentru a regenera defecte mici, ale mandibulei de până la 2 mm. Această tehnică ar putea fi aplicată clinic pentru regenerarea postextractională, înainte de implantare.

3. Augmentarea osoasă complexă, în modelul experimental, folosind ca matrice biologică osul deproteinizat cu sistem poros interconectat și structură spongioasă, combinată cu plasarea simultană a implantului dentar, arată o regenerare b, cu formare de țesut osos nou și care are un atașament sigur la suprafața implant-os.

4. Adăugarea de rhPDGF-BB la blocurile osoase demineralizate a arătat că există potențial de a spori formarea osoasă precoce pentru augmentarea complex, totodată utilizarea unei membrane de collagen în această fază timpurie nu are nici un beneficiu sau chiar micșorează formarea osoasă, probabil prin reducerea vasculogenezei necesare.

5. La instalarea implanturilor concomitent cu augmentarea osoasă, într-o ședință chirurgicală, evaluarea dinamică a indicat că stabilitatea primară a implanturilor se micșorează postoperator, dar crește treptat după 6 luni de la implantare.

6. Studiile clinic efectuate arată că procesul de remodelare osoasă după augmentare se poate manifesta nu doar prin resorbție, dar și prin apozitie de os în jurul implanturilor dentare.

Recomandări practice

1. Modelarea pe iepuri a leziunilor osoase poate fi obținută experimental prin crearea defectelor osoase, reproducând o reacție similară cu atrofiile procesului alveolar la mandibulă.

2. Utilizarea iepurilor pentru cercetarea ca model experimental animal este recomandată pentru a testa caracteristicile a diverse biomateriale, utilizând analiza histomorfometrică bidimensională pentru a studia evoluția modelului experimental de atrofie osoasă a procesului alveolar al mandibulei.

3. Acest model experimental pe iepuri de crearea a atrofiilor osoase poate fi folosit în domeniul medicinei regenerative și stomatologiei experimentale pentru studierea tehnicilor de regenerare osoasă ghidate și testarea noilor metode de tratament.

4. Pentru evaluarea procesului de patologic reprodus pe modelul animal experimental se recomandă de apreciat corelația dintre substituentul osos utilizat și factorii de creștere în remodelarea osoasă.

5. Pentru obținerea substituentului osos în vederea reocnstrucției atrofiei, soluția ce conține factorul de creștere rhPDGF-BB este aplicată pe grefa de matrice bovină demineralizată, iar ca rezultat se obține o matrice osteoconductivă.

6. Se recomandă ca extractul biologic utilizat pentru determinarea markerilor biochimici ai metabolismului osos să se efectueze colorimetric, conform următorului principiu: fosfataza alcalină scindează în mediu alcalin cu eliberarea fenolului, care la oxidare în prezența 4-aminofenozoniei formează un compus complex de culoare roșie.

7. Pentru a preveni degradarea pieselor anatomice se determină gradul de atașare a țesuturilor moi, consistența, atașamentul lor față de regiunea osoasă experimentală, vascularizarea zonei augmentate. După înlăturarea țesuturilor moi adiacente, regiunea osoasă se înlătură în bloc (macropreparat) cu marcarea ulterioară. Preparatele se păstrează în soluție de formalină tamponată cu concentrația de 10%

8. În cazul dacă macropreparatul nu se utilizează complet, se recomandă că acesta să fie stocat în frigider la -70 C. Această condiție ne permite să evităm formarea cristalelor de gheață care lezează membranele celulare în material.

10. Având în vedere fragilitatea sporită a macropreparatului ce conține implant dentare din titan este important de a procesa blocul morfologic cu ajutorul unui microtom performant și șlefuire ulterioară până la grosimea de 30-50 micrometri.

11. Pentru determinarea zonei de os nou format la locul augmentării, înălțimeii osoase verticale marginale, procentul umplerii osoase și procentului contactului osos cu implantul, examinările pieselor histologice trebuie efectuate computerizat, utilizând un sistem de analiză automată a imaginii, cuplat cu o cameră digitală video.

BIBLIOGRAFIE

1. KOKA, S., ZARB, G. On osseointegration: the healing adaptation principle in the context of osseosufficiency, osseoseparation, and dental implant failure. In: *Int J Prosthodont*. 2012, vol. 25, no. 1, pp. 48-52.
2. KARAIAN, A.S., NAZARIAN D.N., SENIUK, A.N., KRAVCHENKO, D.V., SNEGIREV, L.A., SARATOVTSSEV, D.V. Reconstruction techniques preparing jaws for fixed dentures placement. In: *Stomatologia*. 2011, vol. 90, no. 5, pp. 27-35.
3. TAGADIUC, O. *Biochimia țesutului osos – aspecte metabolice în normă și patologii*. Chișinău, 2011. 180 p.
4. HENRIKSEN, K., KARSDAL, M.A., TAYLOR, A., TOSH, D., COXON, F.P. Generation of human osteoclasts from peripheral blood. In: *Meth Mol Biol*. 2012, vol. 816, pp.159-75.
5. CHIAPASCO, M., CASENTINI, P., ZANIBONI, M. Bone augmentation procedures in implant dentistry. In: *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009, vol. 24, suppl., pp. 237-59.
6. TOPALO, V., DOBROVOLSCHI, O. Resorbția osului cortical periimplantar în perioada osteointegrării implantelor dentare endoosoase. In: *Medicina stomatologică (Chișinău)*. 2009, nr. 4(13), pp. 41-46.
7. ARAÚJO, M.G., LINDHE, J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*. 2005, vol. 32, pp. 212-218
8. ESPOSITO, M., GRUSOVIN, M.G., POLYZOS, I.P., FELICE, P., WORTHINGTON, H.V. Timing of implant placement after tooth extraction: immediate, immediate-delayed or delayed implants? A Cochrane systematic review. In: *Eur J Oral Impl*. 2010, vol. 3, no. 3, pp. 189-205.
9. AL-NAWAS, B., KÄMMERER, P.W., MORBACH, T., LADWEIN, C., WEGENER, J., WAGNER, W. Ten-year retrospective follow-up study of the TiOblast dental implant. In: *Clin Implant Dent Relat Res*. 2012, vol. 14, no. 1, pp. 127-34.
10. NOR, J.E., PETERS, M.C., CHRISTENSEN, J.B., SUTORIK, M.M., LINN, S., KHAN, M.K., MOONEY, D.J., POLVERINI, P.J. Engineering and characterization of functional human microvessels in immunodeficient mice. In: *Lab Inv*. 2001, vol. 81, pp. 453-463.
11. CANCEDDA, R., MASTROGIACOMO, M., BIANCHI, G., DERUBEIS, A., MURAGLIA, A., QUARTO, R. Bone marrow stromal cells and their use in regenerating bone. In: *Novartis Found Symp*. 2003, vol. 249, pp. 133-143.
12. RHODIN, J.A. Ultrastructure of mammalian venous capillaries, venules, and small collecting veins. In: *J Ultrastruct Res*. 1968, vol. 25, pp. 452-500.

13. BRIGHTON, C.T., LORICH, D.G., KUPCHA, R., REILLY, T.M., JONES, A.R., WOODBURY, R.A. The pericyte as a possible osteoblast progenitor cell. In: *Clin Orthop*. 1992, vol. 275, pp. 287-299.
14. CARMELIET, P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. In: *Nat Med*. 2000, vol. 6, no. 4, pp. 389-395.
15. KÄMMERER, P.W., **PALARIE, V.**, SCHIEGNITZ, E., NACU, V., DRAENERT, F.G., AL-NAWAS, B. Influence of a collagen membrane and recombinant platelet-derived growth factor on vertical bone augmentation in implant-fixed deproteinized bovine bone--animal pilot study. In: *Clin Oral Implants Res*. 2013, vol. 24, no. 11, pp. 1222-30.
16. SCHIEGNITZ, E., **PALARIE, V.**, NACU, V., AL-NAWAS, B., KÄMMERER, P.W. Vertical osteoconductive characteristics of titanium implants with calcium-phosphate-coated surfaces - a pilot study in rabbits. In: *Clin Implant Dent Relat Res*. 2014, vol. 16, no. 2, pp. 194-201.
17. EGNITZ, E., **PALARIE, V.**, NACU, V., AL-NAWAS, B., KÄMMERER, P.W. Vertical osteoconductive characteristics of titanium implants with calcium-phosphate-coated surfaces - a pilot study in rabbits. In: *Clin Implant Dent Relat Res*. 2014, vol. 16, no. 2, pp. 194-201
18. DRAENERT, F.G., HUETZEN, D., KAMMERER, P., WAGNER, W. Bone augmentation in dental implantology using press-fit bone cylinders and twin-principle diamond hollow drills: a case series. In: *Clin Implant Dent Relat Res*. 2011, vol. 13, no. 3, pp. 238-243.
19. DRAENERT, F.G., KÄMMERER, P.W., **PALARIE V.**, WAGNER W. Vertical bone augmentation with simultaneous dental implantation using crestal biomaterial rings: a rabbit animal study. In: *Clin Implant Dent Relat Res*. 2012, vol. 14, suppl. 1, pp. e169-74.
20. NACU, V. *Optimizarea regenerării osoase posttraumatice dereglate*. Chişinău, 2010. 188 p.
21. ALBREKTSSON, T., ZARB, G., WORTHINGTON, P., ERIKSSON, A.R. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. In: *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1986, vol. 1, no. 1, pp. 11-25.
22. BUSER, D., BRAGGER, U., LANG, N.P., NYMAN, S. Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration. In: *Clin Oral Implants Res*. 1990., vol. 1, pp. 22-32.
23. LOE, H., SILNESS, J.J. Periodontal disease in pregnancy. Prevalence and severity. In: *Acta Odontol Scand*. 1963, vol. 21, pp. 533-551.
24. MOMBELLI, A., VAN OOSTEN, M.A., SCHURCH, E. Jr., LAND, N.P. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. In: *Oral Microbiol Immunol*. 1987, vol. 2, pp. 145-151.

25. MUHLEMANN, H.R. Psychological and chemical mediators of gingival health. In: *J Prev Dent*. 1977, vol. 4, pp. 6-17.
26. MOSTOVEI, A. *Evaluarea integrării implantelor dentare endoosoase de stadiul doi instalate într-o ședință prin chirurgia fără lambou: teză de doctor în șt. med.* Chișinău, 2014. 141 p.
27. PALARIE, V., BICER, C., LEHMANN, K.M., ZAHALKA, M., DRAENERT, F.G., KAMMERER, P.W. Early outcome of an implant system with a resorbable adhesive calcium-phosphate coating – a prospective clinical study in partially dentate patients. In: *Clin Oral Investig*. 2012, vol. 16, no. 4, pp. 1039-1048.
28. FONTANA, F., ROCCHIETTA I., ADDIS A., SCHUPBACH P., ZANOTTI G., SIMION M. Effects of a calcium phosphate coating on the osseointegration of endosseous implants in a rabbit model. In: *Clin Oral Implants Res*. 2010, vol. 22, pp. 760-766.
29. CORDARO, L., BOSSHARDT, D.D., PALATTELLA, P., RAO, W., SERINO, G., CHIAPASCO, M. Maxillary sinus grafting with Bio-Oss or Straumann Bone Ceramic: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. In: *Clin Oral Implants Res*. 2008, vol. 19, no. 8, pp. 796-803.
30. PĂLĂRIE, V., SÎRBU, D., TOPALO, V. Biomaterials and tissue engineering techniques in oral implantology. *Medicina stomatologică*. 2013, nr. 3(28), 63-58. ISSN 1857-1328.
31. KÄMMERER, T.A., PALARIE, V., SCHIEGNITZ, E., TOPALO, V., SCHRÖTER, A., AL-NAWAS, B., KÄMMERER, P.W. A biphasic calcium-phosphate coating for potential drug delivery affects early osseointegration of titanium implants. In: *J Oral Pathol Med*. 2017, vol. 46, no. 1, pp. 61-66.

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE, ȘTIINȚIFICO-METODICE, DIDACTICE

Articole științifice cu impact factor, din bazele de date Web of Science și SCOPUS

1. **PALARIE, V.**, BICER, C., LEHMANN, K.M., ZAHALKA, M., DRAENERT, F.G., KAMMERER, P.W. Early outcome of an implant system with a resorbable adhesive calcium-phosphate coating – a prospective clinical study in partially dentate patients. In: *Clin Oral Investig.* 2012, vol. 16, no. 4, pp. 1039-1048.
2. DRAENERT, F.G., KÄMMERER, P.W., **PALARIE V.**, WAGNER W. Vertical bone augmentation with simultaneous dental implantation using crestal biomaterial rings: a rabbit animal study. In: *Clin Implant Dent Relat Res.* 2012, vol. 14, suppl. 1, pp. e169-74.
3. DRAENERT, G.F., HUETZEN, D.O., KÄMMERER, P.W., **PALARIE, V.**, NACU, V., WAGNER, W. Dexrazoxane shows cytoprotective effects in zoledronic acid-treated human cells in vitro and in the rabbit tibia model in vivo. In: *J Craniomaxillofac Surg.* 2012, vol. 40, no. 8, pp. e369-74.
4. KÄMMERER, P.W., **PALARIE, V.**, SCHIEGNITZ, E., NACU, V., DRAENERT, F.G., AL-NAWAS, B. Influence of a collagen membrane and recombinant platelet-derived growth factor on vertical bone augmentation in implant-fixed deproteinized bovine bone--animal pilot study. In: *Clin Oral Implants Res.* 2013, vol. 24, no. 11, pp. 1222-30.
5. SCHIEGNITZ, E., **PALARIE, V.**, NACU, V., AL-NAWAS, B., KÄMMERER, P.W. Vertical osteoconductive characteristics of titanium implants with calcium-phosphate-coated surfaces - a pilot study in rabbits. In: *Clin Implant Dent Relat Res.* 2014, vol. 16, no. 2, pp. 194-201.
6. KÄMMERER, P.W., **PALARIE, V.**, SCHIEGNITZ, E., HAGMANN, S., ALSHIHRI, A., AL-NAWAS, B. Vertical osteoconductivity and early bone formation of titanium-zirconium and titanium implants in a subperiosteal rabbit animal model. In: *Clin Oral Implants Res.* 2014 Jul, vol. 25, no. 7, pp. 774-80.
7. KÄMMERER, T.A., **PALARIE, V.**, SCHIEGNITZ, E., TOPALO, V., SCHRÖTER, A., AL-NAWAS, B., KÄMMERER, P.W. A biphasic calcium-phosphate coating for potential drug delivery affects early osseointegration of titanium implants. In: *J Oral Pathol Med.* 2017, vol. 46, no. 1, pp. 61-66.
8. KÄMMERER, P.W., SCHIEGNITZ, E., **PALARIE, V.**, DAU, M., FRERICH, B., AL-NAWAS, B. Influence of platelet-derived growth factor on osseous remodeling properties of a variable-thread tapered dental implant in vivo. In: *Clin Oral Implants Res.* 2017, vol. 28, no. 2, pp. 201-206.

**Articole științifice în reviste din Registrul Național
al revistelor de profil: Categoria B**

1. **PĂLĂRIE, V., SÎRBU, D., TOPALO, V.** Biomaterials and tissue engineering techniques in oral implantology. *Medicina stomatologică*. 2013, nr. 3(28), 63-58. ISSN 1857-1328.
2. **PALARIE V.** Proceduri de augmentare cu factorul de creștere recombinant plachetar bb în reconstrucțiile orizontale și verticale ale procesului alveolar - reviu literaturii. *Medicina stomatologica*. Nr. 4 (21) / 2011. pp. 19-24.
3. **PALARIE V.** The late effects of the deprotenized bovine bone blocks in combination with recombinant human platelet-derived growth factor-bb and guided bone regeneration for vertical augmentation. *Medicina stomatologica*. Nr 2 (23) / 2012 pp. 18 - 24

ADNOTARE

Pălărie Victor *Augmentarea osoasă în atrofiile procesului alveolar mandibular cu utilizarea factorului de creștere plachetar derivat recombinant uman - BB (studiu clinico-experimental)*

Teză de doctor în științe medicale. Chișinău, 2021

Structura tezei. Teza de doctor în științe medicale are 152 de pagini și conține: adnotare în limbile română, rusă și engleză, introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări practice, bibliografie cu 230 surse bibliografice. Materialul ilustrativ include 7 tabele și 89 figuri. Rezultatele cercetărilor efectuate au fost reflectate în 11 publicații științifice: 3 articole în reviste naționale (inclusiv 2 articole monoautor) și 8 articole în reviste internaționale cu impact factor.

Cuvinte-cheie: regenerare osoasă ghidată, factori de creștere, grefă osoasă, atrofie osoasă.

Domeniul de studiu: se referă la medicina regenerativă, inginerie tisulară, stomatologie.

Scopul lucrării: reconstrucția proceselor alveolare atrofiate la nivelul mandibulei prin utilizarea factorului de creștere plachetar derivat recombinant uman - BB.

Obiectivele cercetării. Determinarea proprietăților osteoconductive ale implanturilor de titan acoperite cu calciu-fosfat; aprecierea reformării osoase după aplicarea matricei osoase deproteinizate; elaborarea metodei de augmentare osoasă cu implantare dentară simultană, folosind matrice din biomaterial crestal; determinarea influenței membranei de colagen și a factorului de creștere recombinant derivat din trombocite asupra augmentării; evaluarea retrospectivă clinică a implanturilor dentare inserate simultan cu augmentarea osoasă la nivelul mandibulei.

Noutatea și originalitatea științifică. A fost demonstrată proprietatea implanturilor bioactive de a induce creșterea osoasă. Au fost obținute rezultate privitor la: regenerarea osoasă cu utilizarea xenogrefei; procesele biochimice ce au loc în perioada de remodelare osoasă; factorii ce influențează procesele de remodelare ale osului la diverse intervale de timp, evoluția stabilității implanturilor dentare instalate concomitent cu procedurile de regenerare osoasă ghidată; rata de supraviețuire a acestor implanturi.

Semnificația teoretică. Constă în crearea unui concept de reconstrucție osoasă utilizând principii moderne de inginerie tisulară cu posibilitatea de utilizare în diverse domenii ale medicinei.

Valoarea aplicativă. Datele experimentale și clinice obținute sunt utilizate pentru optimizarea regenerării osoase dereglate și au potențial de utilizare în tratamentul implantologic.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele obținute au fost implementate în procesul didactic al cursului de Medicina regenerativă și în procesul de cercetare științific al laboratorului de Inginerie tisulară și culturi celulare.

АННОТАЦИЯ

Пэлэрие Виктор *Увеличение костной массы при атрофии альвеолярного отростка нижней челюсти с использованием рекомбинантного фактора роста тромбоцитов человека - ВВ (клинико-экспериментальное исследование)*

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук. Кишинэу, 2021

Структура диссертации. Докторская диссертация имеет 152 страниц и содержит: аннотацию на румынском, русском и английском языках, введение, четыре главы, общие выводы и практические рекомендации, библиографию с 230 источниками. Иллюстративный материал включает 7 таблиц и 89 рисунков. Результаты исследования были отражены в 11 научных публикациях: 3 статьи в национальных журналах (включая 2 статьи одного автора) и 8 статей в международных журналах с импакт-фактором.

Ключевые слова: управляемая регенерация кости, факторы роста, костный трансплантат, атрофия кости.

Область исследования: относится к регенеративной медицине, тканевой инженерии, стоматологии.

Цель исследования: реконструкция атрофированных альвеолярных отростков нижней челюсти с использованием рекомбинантного фактора роста тромбоцитов человека - ВВ.

Задачи исследования: Определение osteoconductive свойств титановых имплантатов с кальцием-фосфатом; оценка реформации кости после применения депротенинизированного костного матрикса; разработка метода увеличения костной ткани с одновременной денальной имплантацией; определение влияния коллагеновой мембраны и рекомбинантного фактора роста, происходящего из тромбоцитов; ретроспективная клиническая оценка зубных имплантатов, вставленных одновременно с увеличением кости.

Научная новизна и оригинальность исследования: продемонстрировано свойство биоактивных имплантатов вызывать рост кости. Результаты были получены в отношении: регенерации с использованием ксенотрансплантата; с биохимическими процессами; факторами, влияющие на процессы ремоделирования кости в различные промежутки времени, эволюция стабильности денальных имплантатов, установленных одновременно с процедурами направленной регенерации кости; выживаемость этих имплантатов.

Теоретическая значимость исследования: заключается в создании концепции реконструкции костей с использованием современных принципов тканевой инженерии с возможностью использования в различных областях медицины.

Практическая значимость исследования. Экспериментальные и клинические данные, используются для оптимизации регенерации кости и имеют потенциал для использования в имплантологии.

Внедрение научных результатов. Полученные результаты были внедрены в учебный процесс курса регенеративной медицины и в научный процесс лаборатории Тканевой инженерии и клеточных культур.

SUMMARY

Palarie Victor. *Bone augmentation in atrophies of the mandibular alveolar process with the use of recombinant human platelet-derived growth factor - BB (clinical-experimental study).*

PhD thesis in medical sciences. Chisinau, 2021

Thesis structure. The doctoral thesis has 152 pages and contains: annotation in Romanian, Russian and English, introduction, four chapters, general conclusions and practical recommendations, bibliography with 230 sources. Illustrative material includes 7 tables and 89 figures. The results of the research were reflected in 11 scientific publications: 3 articles in national journals (including 2 single-author articles) and 8 articles in international journals with impact factor.

Keywords: guided bone regeneration, growth factors, bone graft, bone atrophy.

Field of study: refers to regenerative medicine, tissue engineering, dentistry.

The aim of study: reconstruction of atrophied alveolar jaws using the recombinant human platelet-derived growth factor - BB.

Objectives. Determination of osteoconductive properties of titanium implants with calcium-phosphate surface; assessment of bone reformation after application of deproteinized bone matrix; elaboration of the bone augmentation method with simultaneous dental implantation, using matrix from crestal biomaterial; determination of the influence of collagen membrane and platelet-derived recombinant growth factor on augmentation; clinical retrospective evaluation of dental implants.

Scientific novelty. The property of bioactive implants to induce bone growth has been demonstrated. Results were obtained regarding: bone regeneration with the use of xenograft; biochemical processes during remodeling; factors that influence bone remodeling processes at various intervals, the evolution of the stability of the dental implants installed simultaneously with guided bone regeneration procedures; the survival rate of these implants.

Theoretical significance. It consists in creating a concept of bone reconstruction using modern principles of tissue engineering with the possibility of use in various fields of medicine.

Application value. Experimental and clinical data obtained are used to optimize bone regeneration and have the potential for use in implantology.

Implementation of scientific results. The results obtained were implemented in the teaching process of the regenerative medicine course and in the scientific process of the Laboratory of Tissue Engineering and Cell Cultures.

PĂLĂRIE VICTOR

**AUGMENTAREA OSOASĂ ÎN ATROFIELE PROCESULUI ALVEOLAR MANDIBULAR
CU UTILIZAREA FACTORULUI DE CREȘTERE PLACHETAR DERIVAT
RECOMBINANT UMAN – BB
(STUDIU CLINICO-EXPERIMENTAL)**

341.01. – INGINERIE TISULARĂ ȘI CULTURI CELULARE

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

Aprobat spre tipar: 11.03.2021

Formatul hârtiei : 60×84 1/16

Hârtie ofset. Tipar digital.

Tiraj: 100 ex.

Coli de tipar: 2,0

Comanda nr. 219

Tipografia Sirius

Adresa: mun. Chișinău, str. Alexandru Lăpușneanu 2