

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „VICTOR
BABEȘ” TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ DENTARĂ
Departamentul I**

GABOR R. ALIN-GABRIEL



TEZĂ DE DOCTORAT

**CONTRIBUȚII LA METODELE DE REMODELARE
OSOASĂ**

REZUMAT

Conducători științifici:

**PROF. UNIV. DR. COSMIN SINESCU
PROF. UNIV. DR. VIRGIL DUMA**

**Timișoara
2019**

CUPRINS

Lista lucrărilor publicate	VI
Lista abrevierilor	VII
Indexul figurilor	IX
Indexul tabelelor	XV
Dedicatie	XVI
Mulțumiri	XVII
INTRODUCERE	XIX

PARTEA GENERALĂ

1. Tehnici și materiale utilizate în procedeul de augmentare osoasă în vederea tratamentului implantar dentar	1
1.1. Arhitectura structurală a oaselor maxilare	1
1.2. Atrofia osoasă a mandibulei / maxilarului	2
1.3. Clasificarea arcadelor edentate în implantologia orală	4
1.4. Tipuri de defecte osoase ale mandibulei / maxilarului și clasificarea acestora	5
1.5. Clasificarea biomaterialelor utilizate în procedura de augmentare a creștelor alveolare edentate	10
1.6. Materiale utilizate pentru augmentarea osoasă	10
1.7. Metode și tehnici chirurgicale de augmentare osoasă	20
1.9. Avantaje, dezavantaje, accidente și complicații ale tehnicilor și materialelor utilizate în procedeul de augmentare osoasă în vederea tratamentului implantar dentar	23
2. Tehnici și tehnologii de generare a structurilor de augmentare osoasă	26
2.1. Tehnologia aditivă de imprimare tridimensională	26
2.2. Materiale utilizate în tehnologia aditivă de imprimare tridimensională	28
2.3. Tehnici de generare a design-ului viitorului scaffold	31
2.4. Aplicații clinice ale tehnologiei aditive de imprimare tridimensională	32

PARTEA SPECIFICĂ

3. Studiu experimental <i>ex vivo</i> de imprimare tridimensională a unui defect osos mandibular	36
3.1. Introducere	36
3.2. Parte experimentală	39
3.3. Rezultate	48
3.4. Discuții	51
3.5. Concluzii	53
4. Studiu privind stabilizarea unui scaffold cu ajutorul implantelor dentare la nivelul unui defect osos mandibular. o analiză cu element finit	55
4.1. Introducere	55
4.2. Partea experimentală	56
4.3. Rezultate	60
4.4. Discuții	65

4.5. Concluzii.....	69
5. Studiu privind metoda de realizare a unui nou tip de material de augmentare osoasă.....	70
5.1. Introducere	70
5.2. Partea experimentală	78
5.2.1. Metode de caracterizare.....	82
5.2.1.1. Analiza prin Difracție de Raze X (XRD).....	82
5.2.1.2. Determinarea porozității aparente prin metoda de saturație a lichidului sub vid	82
5.2.1.3. Microscopia electronică de baleiaj (SEM)	83
5.2.1.4. Microscopie confocală cu scanare laser	83
5.2.1.5. Tomografia în coerență optică (OCT).....	84
5.3. Rezultate experimentale	85
5.3.1. Rezultate difracție de Raze X.....	86
5.3.2. Rezultate porozitate aparentă	88
5.3.3. Rezultate microscopie electronică de baleiaj (SEM)	90
5.3.4. Microscopie confocală cu scanare laser	93
5.3.5. Rezultate tomografie în coerență optică (OCT).....	100
5.4. Discuții.....	102
5.5. Concluzii.....	106
6. Evaluarea citotoxicității scaffold-urilor ceramice experimentale.....	108
6.1. Introducere	108
6.2. Partea experimentală	109
6.3. Rezultate	112
6.4. Discuții.....	113
6.5. Concluzii.....	115
CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE	116
BIBLIOGRAFIE	120
ANEXE	I

**CUVINTE CHEIE: SCAFFOLD, AUGMENTARE OSOASĂ, IMPRIMARE 3D,
CERAMICĂ, POLIMER**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Motivația alegerii temei de cercetare este reprezentată de necesitatea dezvoltării stadiului actual al tehnologiilor de obținerea a diverselor materiale de augmentare osoasă, și, de ce nu, implantarea unora noi împreună cu materialul și protocolul aferent, pentru a putea fi utilizate în domeniul de restaurare implanto-protetică a pacienților cu diverse defecte osoase.

Implementarea implantologiei în stomatologie a fost un prag în evoluția medicinei dentare, fiind un domeniu unde termenii, materialele și concepțiile sunt într-o continuă dezvoltare. Anual, mii de implanturi dentare sunt inserate cu scopul de a reface integritatea morfo-funcțională a sistemului stomatognat și a reintegra pacienții în societate, în condiții optime. Implantele dentare au adus beneficii semnificative medicinei dentare, astfel, prin utilizarea lor în tratamentul pacienților cu diverse edentații, în special cele terminale, se pot realiza restaurări protetice fixe cu sprijin implantar, protezele mobile și mobilizabile devenind din ce în ce mai rare ca tratament de elecție. Pentru a beneficia de acest tip de tratament este obligatorie prezența unor condiții locale, și anume țesutul osos care stabilizează restaurarea implanto-protetică, iar acesta trebuie să fie corespunzător din punct de vedere cantitativ și calitativ.

Importanța și actualitatea temei alese sunt oferite de condițiile primordiale pentru inserarea de implanturi dentare, și anume, prezența unei oferte osoase optime din punct de vedere dimensional și structural. Ba mai mult, de o importanță majoră în alegerea acestei teme, se regăsește dorința de a oferi o tehnică de augmentare osoasă, alternativă tehnicilor clasice consacrate.

Tema aleasă prezintă un interes internațional covârșitor, colectivele de cercetare oferind o importanță semnificativă domeniului de augmentare osoasă, în special noilor materiale care pot deveni soluții viabile în tratamentul augmentărilor osoase. De asemenea, tehnologiile digitale utilizate în această ramură a medicinei dentare se află în atenția cercetătorilor din întreaga lume. Acest curent presupune un nou punct de pornire în domeniul implantologiei orale, oferind o altă viziune și o altă abordare a cazurilor de edentație, cu defecte osoase mari, cu diversificarea posibilităților de restaurare implanto-protetică. Acest curent vine și în urma problemelor înregistrate la nivel mondial pe care defectele osoase le cauzează tratamentelor protetice.

Din păcate, în cele mai multe situații clinice, cu diferite clase de edentație, osul nu corespunde și nu poate asigura o stabilitate primară implanturilor dentare, existând diverse grade de atrofie osoasă la nivelul oaselor maxilare. Atrofia și defectele osoase au o etiologie variată și vastă. Pentru a putea reda funcționalitatea și estetica, în astfel de cazuri, augmentarea osoasă este esențială și obligatorie în vederea realizării tratamentului implanto-protetic.

Această teză a fost abordată interdisciplinar din mai multe perspective care includ domenii precum imagistică medicală, imprimare tridimensională, mecanică, optic, statistică și chimie.

Teza este structurată în două părți principale – 1. Partea generală – cu 2 capitole, 2. Partea specifică – cu 4 capitole, și 3. Concluziile și contribuțiile personale. În partea generală a tezei sunt descrise generalități privind resorbțiile osoase și clasificarea acestora, precum și tehnicile actuale și materialele utilizate în procedura de îmbunătățire a ofertei osoase. În plus în partea generală sunt descrise și generalități referitoare la tehnologia de imprimare tridimensională, materialele utilizate și diverse aplicații medicale.

Din aceste motive, alegerea temei are ca bază, direcții specifice de cercetare ce pot completa sau pot aduce clarificări studiilor realizate anterior, oferind o viziune nouă asupra unor posibile tehnici și tehnologii utile în domeniul de augmentare osoasă în defectele de mari dimensiuni.

În cadrul acestei teme de cercetare au fost luate în considerare diverse aspecte ce pot fi inovatoare în procedeele de îmbunătățire a ofertei osoase restante. Astfel, a fost propus un tip de scaffold dintr-un material ceramic care a fost descris din punct de vedere morfo-structural, biomecanic, imunotoxicologic.

Partea generală a tezei este formată din două capitole, bazate pe o bibliografie bogată, atent selectată, și face o trecere în revistă a cunoștințele actuale referitoare la domeniul abordat, atât în plan național cât și internațional. Astfel, sunt descrise aspecte legate de apariția defectelor osoase, soluțiile terapeutice existente la ora actuală, materialele utilizate cu diverse avantaje și dezavantaje. Mai mult decât atât este descris impactul imprimării tridimensionale la nivelul medicinei dentare.

În primul capitol din partea generală numit **Tehnici și materiale utilizate în procedeul de remodelare osoasă în vederea tramentului implantar dentar**, autorul tratează date despre cauzele ce determină apariția unor defecte la nivelul oaselor maxilare, care împiedică un tratament protetic pe baza implanturilor dentare fără o metodă suplimentară de marire a ofertei osoase. În plus, sunt menționate soluțiile terapeutice chirurgicale utilizate în prezent, fiecare cu materialul utilizat, tehnica propriu-zisă și avantajele și dezavantajele fiecareia.

Capitolul al doilea intitulat **Tehnici și tehnologii de generare a structurilor de remodelare osoasă** ne introduce într-o zonă de interes actuală, și anume concepte noi de generare a unor scaffold-uri cu ajutorul imprimării tridimensionale (3D), în vederea augmentărilor osoase. Cu date bibliografice de actualitate și relevante pentru acest capitol, candidatul descrie sistemele de imprimare 3D actuale și materialele utilizate de acestea în aplicațiile din domeniul medicinei dentare.

Obiectivele științifice principale ale acestei cercetări sunt:

1. Evaluarea imagistică realizată cu ajutorul microscopului optic și softwarelor de măsurare a gradului de adaptare a scaffold-urilor obținute

prin imprimarea 3D la nivelul unui defect osos mandibular de mari dimensiuni. Compararea valorilor obținute în cadrul acestor măsurători pentru fiecare tip de scaffold obținut cu ajutorul unor metode de realizare a design-ului diferite.

2. Evaluarea prin simulare numerică a comportamentului unui scaffold imprimat 3D din material polimeric și solidarizat la nivelul unui defect mandibular de mari dimensiuni cu ajutorul implanturilor dentare, în urma aplicării unor forțe la nivelul structurilor menționate în studiu.
3. Caracterizarea și evaluarea morfo-structurală a unui tip de scaffold ceramic obținut prin metoda replicării pe suport de burete, precum și compararea valorilor obținute cu cele prezente în literatura de specialitate.
4. Evaluarea imunitoxicității și stabilirea gradului de biocompatibilitate, *in vitro*, pe culturi de celule, a probelor ceramice obținute.

Partea specifică este împărțită în patru capitole, urmărind tema aleasă în trei direcții de cercetare diferite, cel de-al patrulea capitol fiind un studiu complementar celui de-al treilea:

1. Studiu experimental *ex vivo* de imprimare tridimensională a unui defect osos mandibular
2. Studiu privind stabilizarea unui scaffold cu ajutorul implantelor dentare la nivelul unui defect osos mandibular. O analiză cu elemente finite
3. Studiu privind metoda de realizare a unui nou tip de material de remodelare osoasă
4. Evaluarea citotoxicității materialului ceramic propus

În primul capitol al părții specifice (al 3-lea din total), intitulat „Studiu experimental *ex vivo* de imprimare tridimensională a unui defect osos mandibular”, s-au efectuat măsurători la nivelul interfeței dintre scaffold-uri obținute prin imprimare tridimensională și un defect osos mandibular de mari dimensiuni.

Utilizând un os mandibular ce prezenta un defect osos de mari dimensiuni, s-au realizat trei tipuri de design-uri ale viitorului scaffold imprimat tridimensional din material polimeric. Design-urile au fost realizate atât cu ajutorul unui scanner optic (MAESTRO DENTAL SCANNER MDS400), cât și cu ajutorul imagisticii radiologice de tip CBCT (CRANEX 3DX CBCT) dar și cu ajutorul unui software dedicat (CATIA V5 - Computer Aided Three Dimensional Interactive Application).

Ulterior, au fost realizate două tipuri de scaffold-uri polimerice imprimate tridimensional cu ajutorul imprimantei D20 Digital Wax System 3D Printer. Ele au fost realizate din două materiale polimerice de culori diferite pentru a le putea deosebi din punct de vedere al tipului de design utilizat ca precursor pentru imprimare.

După obținerea probelor, acestea au fost analizate în raport cu defectul osos mandibular, cu ajutorul microscopului optic realizat tehnologic în disciplina de Propedeutică și Materiale Dentare, Facultatea de Stomatologie,

din cadrul U.M.F. „Victor Babeș”, din Timișoara. Rezultate au fost analizate statistic, valorile adaptării marginale a scaffold-ului la nivelul defectului osos se situează ca medie între 0,200 mm și 0,500 mm.

În cel de-al doilea capitol al părții specifice (al 4-lea din total), intitulat „Studiu privind stabilizarea unui scaffold cu ajutorul implantelor dentare la nivelul unui defect osos mandibular. O analiză cu elemente finite” s-a urmărit analiza comportamentului unui scaffold imprimat 3D din material polimeric care este solidarizat la nivelul unui defect osos mandibular cu unu, două și trei implanturi dentare. În acest studiu am folosit *ex-vivo* un os mandibular cu un defect osos semnificativ care împiedică un tratament chirurgical cu implanturi dentare inserate în mod corespunzător.

Prin scanarea mandibulei cu MicroScribe 3G (Revaware Systems) și apoi folosirea unei analize cu elemente finite (FEA) cu Pro Engineer (PTC) și ANSYS 15 (Ansys Inc.), în cadrul studiului se efectuează o simulare numerică și, astfel, se evaluează efectele unei forțe aplicate pe scaffold, pe implanturi și pe mandibulă.

Acest scaffold va fi stabilizat pe corpul mandibulei prin implanturi dentare obișnuite. Având în vedere amploarea defectului, este posibil să fie folosite unul, două sau trei implanturi pentru a consolida acest complex.

Ținând cont de cele de mai sus, scopul acestui studiu este de a evalua, utilizând simulări numerice, aderența unei grefe de tip scaffold din material polimeric la un os mandibular care are un defect osos mare, și care împiedică clinicianul să folosească implanturi dentare ca plan de tratament. Al doilea aspect care trebuie luat în considerare în acest studiu este numărul de implanturi care este necesar pentru a asigura o rezistență adecvată a construcției la nivelul obișnuit de forțe care acționează asupra mandibulei.

Prin urmare, în acest studiu s-a arătat că un număr de două implanturi este cea mai bună opțiune de tratament, oferind o bună stabilitate a scaffold-ului, distribuind uniform forțele și îmbunătățind în același timp rezistența. De asemenea, costul tratamentului este mai ușor acceptat de către pacient.

În cel de-al treilea capitol al părții specifice (al 5-lea din total), intitulat „Studiu privind metoda de realizare a unui nou tip de material de remodelare osoasă”, s-a realizat caracterizarea morfo structurală a unor scaffold-uri obținute dintr-un tip de material ceramic prin metoda replicării pe suport de burete poliuretanic.

În acest studiu au fost luate în considerare două tipuri de mase ceramice comerciale care au fost utilizate pentru a face probele. Primul tip de masă ceramică este Ceramco iC Natural Dentine (Dentsply Sirona), care se utilizează în mod uzual cu scopul de a realiza lucrări protetice fixe. Al doilea produs provine de la aceeași firmă și se numește Dentsply Sirona Ceramco iC Natural Enamel.

În paralel, a fost studiat și cel de-al treilea tip de ceramică având ca și compoziție chimică caolin 47%, feldspat 28,5% și nisip 24,5%.

Scaffold-urile pe bază de masă ceramică din toate cele trei tipuri au fost realizate prin metoda de replicare a spumei, care implică producerea de

spume ceramice prin acoperirea unui burete poliuretanic cu o suspensie de masă ceramică. Rezultatul este o structură ceramică solidă, cu o replică precisă a caracteristicilor geometrice ale buretelui poliuretanic. Scaffold-ul format este de natură poroasă, cu o interconectivitate ridicată a porilor. Buretele acționează ca un șablon pentru scaffold-ul poros. Datorită stabilității termice și chimice și a durității ridicate, metoda de bureți polimerici a câștigat o popularitate largă printre toate celelalte procedee de generare de scaffold-uri din mase ceramice. Pentru a introduce un material nou care ar putea avea o valoare medicală importantă, în primul rând este necesar să se caracterizeze cât mai corect posibil din punct de vedere micro și macro-structural. Mijloacele de caracterizare utilizate în literatură pentru a descrie micro și macro-structural un nou tip de material sunt următoarele: analiza de difracție de raze X (XRD), analiza porozității aparente, microscopie electronică de baleiaj (SEM), microscopie optică 3D. Am luat decizia de a utiliza aceleași metode de caracterizare furnizate în literatura de specialitate și am adăugat și o metodă inovatoare pentru a descrie noul material propus, Tomografia în Coerență Optică (OCT).

La nivelul probelor rezultate, pot fi observate două regiuni distincte. Regiunea mediană are o distribuție relativ uniformă a porilor cu împrăștiere dimensională mare. Regiunea periferică are o porozitate mai mică, fiind mai densă și mai compactă, simulând structura osului natural. Morfologia structurii poroase obținute este ilustrată prin imagini SEM, imagini de microscopie 3D și imagini OCT. Studiul microscopic a fost realizat pe două zone distincte care imită osul natural, și anume cortical și spongios.

Studiul de față a avut ca scop obținerea unor noi tipuri de mase ceramice, poroase, cu structuri și proprietăți similare osului natural. Se poate concluziona că probele obținute îndeplinesc caracteristicile morfo structurale menționate în literatura de specialitate ca fiind esențiale în procedeul chirurgical de remodelare osoasă pe bază de scaffold-uri.

În ultimul capitol al părții specifice (al 6-lea din total), intitulat „Evaluarea citotoxicității materialului ceramic propus” s-a realizat testarea *in vitro* a probelor ceramice obținute în studiul precedent pe linii de culturi celulare pentru a evalua gradul de toxicitate și biocompatibilitatea materialului.

Pentru realizarea experimentului s-au folosit următorii reactivi: mediu specific culturii - Fibroblast Basal Medium (ATCC PCS-201-030) și Fibroblast kit de creștere - ser scăzut (ATCC PCS-201-041) achiziționat de la ATCC, în timp ce ceilalți reactivi: trypsin - Soluția EDTA, PBS (soluție salină fosfat), albastru Trypan, albastru Alamar (sare de sodiu resazurin) au fost cumpărate de la Sigma Aldrich (Germania) și Thermo Fisher Scientific (SUA). Fibroblastele gingivale primare umane - HGF au fost cultivate în medii specifice. Pentru a evalua biocompatibilitatea / citotoxicitatea compuşilor de testat pe fibroblastele gingivale primare umane - HGF s-a efectuat analiza Blue Alamar. Protocolul testului de citotoxicitate a respectat recomandările oferite de ISO-10993-5.

În studiul de față a fost evaluat impactul a șase tipuri de ceramică diferite (AC, AD, AE, VC, VD și VE) asupra fibroblastelor gingivale primare umane - viabilitatea HGF. Materialele au fost primite sub formă de articole solide și au fost solubilizate în PBS, un mediu care este biocompatibil, prin supunere la mediul cu ultrasunete.

Evaluarea viabilității celulare efectuată cu ajutorul testului BlueAlamar a arătat că cele mai mici concentrații testate (50 și 100 pg / ml) pentru toți compușii supus testării în acest studiu nu au avut efect citotoxic, procentul de celule viabile fiind în intervalul 95-105%, în comparație cu celulele de control (celule nestimulate).

Ceramica testată în cadrul studiului de față, poate fi considerată biocompatibilă (conform ISO-10993-5, un compus care induce o viabilitate <70% din control, are potențial citotoxic), chiar dacă profilul lor citotoxic a fost diferit .

Concluziile generale ale tezei de doctorat, descrise pe larg în ultimul capitol – "Concluzii și contribuții proprii" au fost:

- metoda de imprimare tridimensională poate conduce la obținerea de scaffold-uri cu o adaptare marginală optimă
- utilizarea CBCT-ului în obținerea design-ului necesar imprimării tridimensionale de scaffold-uri este imperios necesară
- un număr de două implanturi dentare reprezintă un raport optim între costurile tratamentului și funcționalitatea, din punct de vedere al stabilizării scaffold-ului cu ajutorul implanturilor
- utilizand metoda simulărilor numerice, că forțele sunt distribuite uniform la nivelul osului și scaffold-ului, dacă se utilizează un număr de două implanturi și oferă o bună stabilitate primară acestuia
- Scaffold-urile ceramice obținute îndeplinesc, conform literaturii de specialitate, toate criteriile morfologice și structurale pentru a fi o alternativă viabilă în procedele de remodelare osoasă.
- Compoziția chimică a probelor este stabilă și după arderea ceramicilor
- Probele au o structură unică, dedicată, similară cu cea a osului natural, probele având două zone distincte, una externă ce seamănă cu corticala osului natural și una internă, poroasă, similară osului spongios
- Ceramica utilizată în studiul precedent, a fost supusă testelor de biocompatibilitate și am concluzionat că toate tipurile de ceramică luate în considerare în studiu sunt biocompatibile conform ISO-10993-5