

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“VICTOR BABEȘ” DIN TIMISOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ DENTARĂ
DEPARTAMENTUL III MD**

ANDREI MIHAI GAVRILOVICI



TEZĂ DE DOCTORAT

**ABORDĂRI MODERNE ÎN REMODELAREA TISULARĂ ÎN
MEDICINA DENTARĂ**

R E Z U M A T

Conducător de doctorat:

PROF.UNIV.DR. MEDA-LAVINIA NEGRUȚIU

Conducător de doctorat cotutelă

CONF.UNIV.DR. ANDREI MOSTOVEI

Timișoara

2023

REZUMAT

CUPRINS

Lista lucrărilor științifice publicate	VI
Lista cu abrevieri și simboluri	VII
Lista figurilor	VIII
Lista tabelor	X
Dedicatie.....	XI
Mulțumiri	XII
INTRODUCERE	1
PARTEA GENERALĂ.....	5
1. Generalități privin regenerarea tisulară dirijată.....	5
1.1. Aplicații clinice ale regenerării tisulare dirijate.....	7
2. Materiale utilizate în regenerarea tisulară dirijată.....	13
2.1. Materiale menținătoare de spațiu.....	14
2.1.1. Membrane de collagen consolidate	15
2.1.2. Membrane din metale biocompatibile	17
2.1.3. Membrane din alte materiale biocompatibile naturale sau sintetizate ..	18
2.2. Materiale care facilitează aderarea, migrarea și proliferarea osteoblastelor..	19
2.2.1. Materiale macromoleculare naturale	20
2.2.2. Compuși fosfați încărcăți cu nanoparticule de calciu	22
2.2.3. Materiale încărcate cu substanțe medicamentoase și/sau factori de creștere	22
2.2.4. Materiale condiționate mecanic pentru regenerarea ghidată a osteoblastelor	24
2.3. Materiale care facilitează migrarea și diferențierea celulelor progenitoare	25
2.4. Materiale care induc mineralizarea	31
2.5. Materiale care favorizează vascularizația	32

2.6. Materiale imunoreglatoare și materiale pentru suprimarea infecției	33
2.7. Perspective	35
PARTEA SPECIALĂ.....	37
3. Evaluarea radiografică a statusului bolii parodontale	39
3.1. Ipoteza de studiu.....	39
3.2. Material și metodă.....	40
3.3. Analiza statistică	44
3.4. Rezultate	46
3.4.1. Prevalența bolii parodontale	48
3.4.2. Caracterizarea pacienților în funcție de statusul parodontal	49
3.4.3. Statusul parodontal asociat cu vârsta, numărul de dinți și istoricul familial.....	52
3.5. Discuții.....	54
3.6. Concluzii.....	56
4. Studiu asupra regenerării tisulare dirijate, utilizând o membrană individuală printată 3D	57
4.1. Ipoteza de studiu.....	57
4.2. Material și metodă.....	58
4.3. Rezultate	62
4.4. Discuții.....	64
4.5. Concluzii.....	66
5. Experiment de realizare a unor membrane biomagnetice active, cu potențial de utilizare în procedurile de regenerare tisulară dirijată.....	67
5.1. Ipoteza de studiu.....	67
5.2. Material și metodă.....	69
5.3. Rezultate și discuții	73
5.4. Concluzii.....	77
6. Studiu de citotoxicitate a membranelor magnetizabile asupra celulelor sănătoase umane.....	79
6.1. Ipoteza de studiu.....	79
6.2. Material și metodă.....	80
6.3. Rezultate și discuții	83
6.4. Concluzii.....	92

7. Studiu asupra vindecării osoase în cazul unor pacienți cu diabet zaharat de tip II	93
7.1. Ipoteza de studiu.....	93
7.2. Material și metodă.....	94
7.3. Rezultate	97
7.4. Discuții.....	99
7.5. Concluzii.....	100
8. Utilizarea laser-ilor în reorganizarea țesuturilor moi după intervenții de regenerare osoasă dirijată	101
8.1. Ipoteza de studiu.....	101
8.2. Material și metodă.....	102
8.3. Rezultate și discuții	103
8.4. Concluzii.....	104
9. CONCLUZII FINALE.....	105
BIBLIOGRAFIE.....	107
ANEXA I. (OPȚIONALĂ)	I
ARTICOLELE PUBLICATE IN EXTENSO	II

Cu accent puternic pe tehnologie, în această eră digitală a stomatologiei, am fost motivat să găsesc noi abordări pentru rezultatul estetic pe termen lung al unei restaurări protetice și să-mi aprofundez cunoștințele în găsirea celui mai bun mod de a concepe un plan de tratament personalizat. Parcursul meu profesional, mai întâi ca rezident în specialitatea chirurgie dento-alveolară și ulterior, ca medic specialist, apoi ca asistent universitar la Disciplina de Protetică Dentară, din cadrul Facultății de Medicină Dentară a Universității de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" din Timișoara, România, mi-a permis observarea și colaborarea cu alți colegi și studenți, dar de asemenea să și lucrez cu pacienți cu vârste și patologii diferite.

Regenerarea tisulară ghidată (GTR) este frecvent utilizată în reabilitările orale complexe, în combinație cu inserarea de implantate și/sau în remodelarea defectelor osoase apărute în urma afecțiunilor parodontale. Aplicarea unei membrane cu scop de barieră, pentru a exclude contaminarea cu țesuturi non-osteogenice în zona de regenerare osoasă este un principiu cheie al GTR. Materialele membranare posedă o serie de proprietăți care pot fi modificate. Un număr mare de membrane au fost introduse pentru verificarea experimentală și clinică. Acest lucru determină necesitatea unei actualizări a proprietăților membranei și a rezultatelor biologice, precum și o evaluare critică a mecanismelor biologice care guvernează regenerarea osoasă în defectele acoperite de membrane. Datele experimentale sugerează că diferite modificări ale proprietăților fizico-chimice și mecanice ale membranelor pot promova regenerarea osoasă.

Optimizarea materialelor membranare prin abordarea sistematică atât a barierei, cât și a proprietăților bioactive este o strategie importantă în acest domeniu de cercetare.

Diferiți factori sistemici, generali și locali au un impact major asupra sănătății orale. În aceste circumstanțe distinctive, boala parodontală (BP) reprezintă atât o afecțiune disbiotică, cât și un răspuns inflamator la acești factori declanșatori.

Odată cu creșterea ratei BP, a fost captivant să explorăm dacă există o prevalență ridicată în rândul subiecților tineri care solicită tratament în Clinica de Protetică Dentară, din cadrul Facultății de Medicină Dentară a Universității de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" din Timișoara. Astfel, **primul studiu** a vizat direct **explorarea apariției parodontitei agresive (AgP), care posibil ar necesita**

intervenții de regenerare tisulară ghidată, prin screeningul unui lot convențional de pacienți tineri, pe baza examinării radiografiilor panoramice, asocierea acestora cu factorii orali de mediu și caracterizarea prevalenței acestor pacienți în regiunea de vest a României, Europa.

Anatomia regiunii oro-maxilo-faciale este complexă, iar defectele osoase cauzate de traume, tumori și inflamații în această zonă sunt extrem de dificil de gestionat, apelându-se deseori la tehnici de regenerare tisulară dirijată.

A **doua direcție de cercetare** descrisă în prezenta teză de doctorat presupune **implicarea tehnologiei de imprimare tridimensională (3D)**, care reprezintă un nou prag în evoluția medicinei dentare moderne. În domeniul de interes al tezei de față, imprimarea 3D este la început, fiind încă limitată atât din punct de vedere al tehnologiei, cât și în ceea ce privește materialele utilizate pentru imprimare, astfel încât să fie posibilă utilizarea acestora în remodelarea tisulară în stomatologie, respectiv la nivelul întregului organism.

În cadrul prezentului studiu, pe baza unei scanări CT, s-a dezvoltat un model digital al osului pacientului. Pe acest model virtual s-a proiectat o membrană virtuală care a fost imprimată cu ajutorul unei imprimante 3D. Această membrană este foarte bine adaptată pe osul pacientului. Membrana solidă, resorbabilă, este fabricată dintr-un tip special de polimer: Resorb X®, un poli D 100% amorf, necristalin, acid L-lactic (PDLLA). S-a încercat dezvoltarea unei membrane solide ușor de utilizat, tridimensională, capabilă să protejeze osul augmentat de țesutul conjunctiv și, de asemenea, să mențină spațiul, mai ales atunci când este vorba despre o augmentare verticală.

O caracteristică foarte importantă a membranelor utilizate în procedeele GTR este **gradul de permeabilitate**. Unul din aspectele pe care am dorit să le analizăm și prezentăm în această teză de doctorat este și capacitatea unui material cu potențiale întrebuințări în domeniul medical de a fi influențat în ceea ce privește permeabilitatea sa, atunci când este conectat la un flux magnetic. Modificând densitatea acestui flux magnetic se dorește a se influența gradul de permeabilitate al materialului analizat.

Permeabilitatea membranelor s-a încercat a fi influențată prin înglobarea de diferite nanoparticule, gradul de permeabilitate al membranelor devenind un aspect foarte important de studiat, deoarece în funcție de proprietățile materialului din care sunt realizate aceste membrane, pot fi dirijate celulele care vor avea acces în zona în care se dorește a se obține regenerarea osoasă. S-a realizat elastomerul

magnetoreologic hybrid (hMRE), ce are în componență o structură din microfibre cu doi electrozi din cupru, îmbibată cu un amestec realizat dintr-o suspensie magnetoreologică. Permitivitatea dielectrică relativă a elastomerului magnetoreologic hybrid poate fi modificată în câmp magnetic. Astfel, se obțin permitivități dielectrice relative, cu până la două ordine de mărime mai mari, prin alegerea valorii densității fluxului de câmp magnetic. Rezultatele obținute pot fi utilizate ca un ghid în scopul realizării de membrane bio-magnetic active utilizabile în regenerarea tisulară dirijată.

În continuare **s-a evaluat citotoxicitatea membranelor** magnetizabile pe bază de microfibre de bumbac, impregnate cu miere de albine, propolis, nanoparticule de grafen, pulbere de fier carbonil și/sau nanoparticule de argint. Biocompatibilitatea a fost determinată prin studii *in vitro* pe linia celulară de fibroblaste umane HDFa, având în vedere că acestea sunt componente ale matricei extracelulare și au rolul în sinteza componentelor matriciale, inclusiv a fibrelor de colagen, stimulând astfel diferențierea celulelor conjunctivale și regenerarea tisulară. Conform rezultatelor obținute în acest studiu, se poate afirma că produsele testate nu produc nici o reacție de citotoxicitate organismului uman, putând deveni o soluție viabilă pentru realizarea membranelor utilizate în regenerarea tisulară dirijată.

Indiferent de materialele utilizate pentru regenerarea tisulară dirijată, procesul de vindecare osoasă poate fi întotdeauna influențat de starea de sănătate generală a pacientului.

Prevalența și severitatea parodontitei sunt crescute în continuare la persoanele cu diabet zaharat, în special dacă este slab monitorizat. De asemenea, riscul și gradul de pierdere osoasă alveolară sunt corelate cu lipsa controlului metabolic. Modificările care apar în metabolismul osos sunt considerate a fi una dintre complicațiile importante pe termen lung asociate cu diabetul zaharat. Pierderea osoasă alveolară este unul dintre principalele rezultate ale parodontitei, iar diabetul este printre principalii factori de risc pentru boala parodontală.

Astfel, în cercetările efectuate am urmărit și **evaluarea modului de vindecare în urma procedurilor de regenerare tisulară dirijată, la pacienți cu diabet zaharat de tip II.**

Indiferent de tehnica și materialele de regenerare tisulară dirijată utilizate, la ora actuală se încearcă influențarea pozitivă a rezultatului final prin diferite metode. **Utilizarea laserilor** în stomatologie poate influența pozitiv tratamentul prin realizarea acestuia fără infiltrare de anestezic, se pot face proceduri mai conservatoare,

producând mai puține traume pentru pacienți și îmbunătățind perioada de vindecare. Modelarea cu laser a țesuturilor moi are avantaje față de procedurile chirurgicale clasice, în ceea ce privește procesul de sângerare și vindecare. Eficiența în timp a acestei tehnici constă în reducerea perioadei de vindecare. În tratarea tesuturilor moi, laserul este un instrument foarte eficient, care își dovedește utilitatea în diferite proceduri din cabinetul stomatologic.

Teza de doctorat este structurată în două părți: **partea generală**, ce prezintă aspecte din literatura de specialitate cu relevanță ridicată pentru subiectul tezei și **partea specială**, a contribuțiilor personale, care se încheie cu concluziile finale, urmate de referințele bibliografice și de anexe.

Partea generală cuprinde două capitole ce prezintă stadiul actual al cunoașterii în domeniu și încadrează temele de cercetare alese în partea experimentală a tezei în contextul actual al cercetării în domeniul regenerării tisulare dirijate.

Primul capitol prezintă generalități privind regenerarea tisulară dirijată și aplicațiile clinice ale acesteia.

Succesul terapiei de regenerare tisulară dirijată depinde de proprietățile membranei utilizate și răspunsurile biologice ale gazde. În acest sens, multe dintre strategiile viitoare implică modificări ale membranei pentru a promova răspunsuri adecvate (de exemplu, o regenerare previzibilă a osului, reacții adecvate ale țesuturilor moi și manipularea eficientă, împiedicând aderența microbiană și colonizarea în timpul tratamentului GBR).

În **capitolul al doilea sunt** trecute în revistă materialele din care se realizează diferitele tipuri de membrane utilizate în regenerarea tisulară dirijată, insistând pe proprietățile acestora, avantaje și dezavantaje, particularități clinice, în final fiind prezentate perspectivele existente la ora actuală.

Partea specială, de cercetări personale, este structurată în 6 capitole, prezentând studiile efectuate, ce cuprind ipoteza de lucru, scopul și obiectivele urmărite, materialul și metodele utilizate în cadrul cercetărilor efectuate, rezultatele obținute, discuții, concluzii și concluziile generale, cu sublinierea contribuțiilor personale, la care se adaugă bibliografia.

Pentru realizarea studiilor descrise în prezenta teză de doctorat a fost obținut avizul Comisie de Etică a Cercetării Științifice din cadrul UMF „Victor Babeș” Timișoara, Aviz Nr.07/17.02.2016 (ANEXA 1).

Capitolul 3 prezintă un studiu de **evaluare radiografică a statusului bolii parodontale**, prin screeningul și monitorizarea unui lot de pacienți care au solicitat tratament restaurativ în Clinica de Protetică Dentară a Facultății de Medicină Dentară, din cadrul UMF „Victor Babeș” Timișoara, cu vârste cuprinse între 18-45 de ani. Studiul s-a realizat pentru a distinge disbioza orală ca un posibil factor preclinic care poate duce ulterior la condiții locale care necesită proceduri de regenerare tisulară dirijată.

S-a constatat că pacienții care se adresează Clinicii de Protetică Dentară din cadrul Facultății de Medicină Dentară a UMF „Victor Babeș” Timișoara în vederea reabilitării orale au o prevalență ridicată a bolii parodontale. Probabilitatea ca aceștia să necesite proceduri de regenerare osoasă dirijată, în vederea recuperării în scop protetic a dinților afectați este foarte mare.

Scopul studiului prezentat în **capitolul 4 - Studiu asupra regenerării tisulare dirijate, utilizând o membrană individuală printată 3D** a fost de a dezvolta o membrană solidă, individualizată, tridimensională, ușor de utilizat, capabilă să protejeze osul augmentat de celulele conjunctivei și, de asemenea, să mențină spațiul, mai ales atunci când vorbim despre o augmentare verticală. Astfel, pe baza unei scanări CBCT a maxilarului pacientului, folosind programul imagistic 3D cu fascicul conic al dispozitivului digital Soredex Cranex 3D (Soredex, Tuusula, Finlanda) s-a dezvoltat un model digital al osului și s-a proiectat un model virtual al viitoare membrane, care a fost printată cu ajutorul unei imprimante 3D.

Zonele deficitare au fost augmentate cu un amestec de os autogen, os bovin și PRF fragmentat. Amestecul a fost introdus în membrana individualizată, imprimată tridimensional, care se adaptează foarte bine la zona care urmează să fie augmentată.

Acest studiu a permis conturarea următoarelor concluzii:

- Membrana individualizată printată 3D a îndeplinit foarte bine rolul de barieră, împiedicând eficient invaginarea de țesut conjunctiv în zona de regenerare tisulară.

- În zona augmentată începe să se formeze os din osul natural spre amestecul de material de adiție.
- Din punct de vedere histologic, calitatea osului de neoformație este foarte bună.
- Membrana tridimensională imprimată ofera numeroase avantaje, reducând costurile și durata intervenției chirurgicale.
- Riscul de perforare a lamboului chirurgical de acoperire este semnificativ mai mic.

În **capitolul 5** este descris un **experiment de realizare a unor membrane biomagnetic active, cu potențial de utilizare în procedurile de regenerare tisulară dirijată**, plecând de la faptul că o caracteristică foarte importantă a membranelor GTR este gradul de permeabilitate al acestora.

Studiul reprezintă o abordare cu costuri reduse pentru fabricarea unui elastomer magnetoreologic hibrid (hMRE), cu proprietăți electrice stabile în câmp magnetic. Se prezintă procesul de fabricație, cu descrierea configurației experimentale utilizată pentru a dezvălui efectele magnetodielectrice.

Se arată că funcția dielectrică a elastomerului magnetoreologic hibrid este stabilă în timp, în prezența unui câmp magnetic extern. De asemenea, am arătat că permitivitatea dielectrică relativă a acestuia poate fi controlată într-un câmp magnetic. Astfel, se pot obține permitivități dielectrice relative, cu până la două ordine de mărime mai mari, prin alegerea valorii densității fluxului de câmp magnetic (de exemplu, creșteri de la 0 mT la 340 mT). Rezultatele obținute pot fi utilizate ca un ghid în scopul realizării de membrane bio-magnetic active cu aplicabilitate biomedicală, care deschide posibilități către noi tendințe în regenerarea tisulară dirijată.

Studiul de citotoxicitate a membranelor magnetizabile asupra celulelor sănătoase umane, descris în **capitolul 6**, a fost efectuat pe linia celulară de fibroblaste umane HDFa (Human dermal fibroblasts)(Gibco).

Scopul acestui studiu a fost de a evalua biocompatibilitatea produselor de impregnare a membranelor biomagnetic active asupra fibroblastelor umane, având în vedere că acestea sunt componente ale matricei extracelulare și au rolul în sinteza

componentelor matriciale, inclusiv a fibrelor de colagen, stimulând astfel diferențierea celulelor conjunctivale și regenerarea tisulară.

Practic, au fost testate comparativ extractele alcoolice din următoarele produse:

- E1 – extract din produsul compus din 75% miere de albine și 25% propolis
- E2 - extract din produsul compus din 75% miere de albine și 25% nanoparticule de Fe₂O₃
- E3 - extract din produsul compus din 75% miere de albine și 25% nanoplăcuțe (nanoplatelets) de grafen
- E4 - extract din produsul compus din 75% miere de albine și 25% nanoparticule de argint
- E5 - extract din produsul compus din 75% miere de albine și 25% pulbere de fier carbonil

Analiza microscopică a fibroblastelor incubate cu produsele de testat a arătat că celulele nu și-au schimbat aspectul fuziform tipic.

S-a demonstrat că membranele active biomagnetice, impregnate cu produse apiterapeutice, nanoplăcuțe de grafen, nanoparticule de fier carbonil și nanoparticule de argint nu prezintă citotoxicitate, permițând proliferarea celulară, putând servi astfel la fabricarea de dispozitive utile pentru aplicații biomedicale.

Alegerea compoziției membranelor și/sau valoarea inducției magnetice, permite ca valoarea intensității curentului electric prin dispozitivul electric să poată fi fixată. În acest fel, este posibil să se obțină un câmp magnetic pentru a facilita pătrunderea substanțelor utile din membrane în zona de tratament, după cum este necesar în procedurile de regenerare tisulară dirijată.

Luând în considerare că diabetul zaharat de tip II este o condiție patologică din ce în ce mai frecventă în rândul pacienților, în studiul prezentat în **capitolul 7** am evaluat **modul de vindecare osoasă și regenerare tisulară dirijată, obținut în cazul unor pacienți cu diabet zaharat de tip II**. Astfel, pentru a crește șansele de vindecare fără evenimente neprevăzute am folosit membrane PRF în două moduri: o parte din membranele obținute au fost mărunțite și amestecate cu preparatul osos

format din os autogen și os artificial, iar celelalte membrane PRF au fost adăugate peste membrana artificială, cu rolul de a facilita o vindecare rapidă. Membranele PRF au avut rolul de a facilita formarea de vase sanguine noi, care să asigure aportul sanguin la nivelul zonei de regenerare osoasă. Rezultatele clinice obținute au fost mai mult decât mulțumitoare, recuperarea pacienților făcându-se fără evenimente nedorite.

Studiul de față a demonstrat că procedurile de regenerare osoasă dirijată pot fi efectuate cu succes și la pacienții cu diabet zaharat de tip II, corect monitorizate, atât timp cât cazul este gestionat cu responsabilitate – de la realizarea anamnezei și a examenului clinic obiectiv, stabilirea diagnosticului, a indicației terapeutice, la respectarea protocolului chirurgical și monitorizarea vindecării postchirurgicale.

Utilizarea produselor PRF, în asociere cu tehnicile de regenerare tisulară dirijată, respectiv cu membranele GBR, poate îmbunătăți procesul de vindecare, cu asimilarea materialelor de adiție osoasă.

În stomatologie suntem mereu într-o cursă cu timpul. Vindecarea necesită timp și acest timp este uneori inaccesibil pentru noi. Când vorbim despre țesuturile moi, acest proces de vindecare poate fi influențat de dispozitivele utilizate în modelarea lor. Dispozitivele laser s-au dovedit a fi o metodă mai eficientă de reorganizare a țesuturilor moi, comparativ cu tehnicile chirurgicale clasice. În acest sens, în **capitolul 8** am prezentat posibilitatea **utilizării laserelor în reorganizarea țesuturilor moi, după intervenții de regenerare osoasă dirijată.**

Posibilitatea de a utiliza lasere cu diode în procedurile chirurgicale pe țesuturile moi orale se datorează absorbției fasciculului laser de către pigmentul tisular și hemoglobină, în timp ce acesta este slab absorbit de hidroxiapatită și apă. Studiul a reconfirmat că modelarea țesuturilor moi cu laser are mari avantaje în ceea ce privește sângerarea și vindecarea. Chiar dacă secționarea țesutului moale necesită mai mult timp cu laserul în comparație cu tehnicile care implică lama, acest timp este recâștigat în timpul procesului de vindecare.

Atunci când este vorba de țesuturi moi, laserul este un instrument foarte eficient și își dovedește utilitatea în proceduri zilnice din cabinetul stomatologic.

Concluziile finale, prezentate în **capitolul 9**, sintetizează problemele esențiale ale tematicii abordate în teză, ele reflectând întocmai rezultatele cercetărilor efectuate, și răspund fidel obiectivelor propuse în cercetare.

Rezultatele studiilor efectuate permit deschiderea unor viitoare direcții și teme de cercetare, oferind posibilități pentru cercetari ulterioare.

Concluziile, elementele de originalitate și perspectivele desprinse în urma contribuțiilor personale din aceasta teza de doctorat prezintă aplicabilitate clinică directă, fiind în beneficiul practicianului, dar mai ales al pacientului, oferind posibilitatea îmbunătățirii calității tratamentelor de care beneficiază acesta.