

ANALIZA MICRO-CT A PREZERVĂRII ALVEOLARE CU β -TCP ȘI PRF

Micro-CT analysis of socket preservation with β -TCP and PRF

Asist. Univ. Dr. Claudiu Călin¹, Prof. Dr. Gaël Rochefort², Șef Lucr. Dr. Bogdan Gălbinașu¹,
Șef Lucr. Dr. Lucian Ciocan¹, Prof. Dr. Ion Pătrașcu¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București

²Universitatea Paris Descartes, Paris, Franța

REZUMAT

Scop. Scopul acestui studiu preliminar a fost de a evalua prin micro-computer tomograf (micro-CT), cantitatea de țesut osos nou-format în defecte post-extracționale la nivelul maxilarului de iepure după aplicarea la nivelul acestora de beta-fosfat tricalcic (β -TCP) cu sau fără fibrină bogată în plachete (PRF).

Material și metodă. Pentru acest studiu au fost folosiți doi iepuri adulți New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*). După extracția premolarului 1 la nivelul hemi-maxilarului drept, alveolele dentare au fost tratate cu un amestec de β -TCP/PRF sau doar cu β -TCP. Consecutiv eutanasierii animalelor de laborator la 60 de zile, probele au fost pregătite în vederea analizei micro-CT.

Rezultate și concluzii. Amestecul β -TCP/PRF influențează în mod pozitiv vindecarea osoasă de la nivelul alveolelor post-extracționale prin sporirea cantității de țesut osos nou-format, cât și a arhitecturii trabeculare.

Cuvinte cheie: beta-fosfat tricalcic, fibrină, defect osos, micro-CT

ABSTRACT

Aim. The aim of this preliminary study was to evaluate by micro-CT analysis the quantity of newly-formed bone tissue in post-extractional sockets within the rabbit maxilla after the application of β -TCP/ PRF or β -TCP only.

Materials and methods. Two adult New Zealand Rabbits were used in this study (*Oryctolagus cuniculus*). After the extraction of the first premolar in the right hemi-maxilla, the sockets were treated with either β -TCP/ PRF or β -TCP only. After euthanising the laboratory animals at 60 days, the samples were prepared for micro-CT analysis.

Results and conclusions. The mixture consisting of β -TCP/ PRF positively influenced the osseous healing in the post-extractional sockets leading to a greater amount of newly-formed bone tissue and trabecular architectonic.

Keywords: beta-tricalcium phosphate, fibrin, osseous defect, micro-CT

INTRODUCERE

Resorbția osoasă apărută consecutiv extracției dentare reprezintă un fenomen progresiv care poate afecta aproape jumătate din înălțimea și lățimea alveolei, cu un maximum de efect la aproximativ 3 luni post-extracțional (1). De-a lungul timpului, numeroase biomateriale de adiție osoasă au fost folosite pentru a conserva dimensiunile alveolelor dentare și a combate efectele extracției dentare. Dintre acestea se numără aplicarea de os mineral bovin deproteinizat (DBBM) (2), alogrefă osoasă înghețată și uscată (FDDBA) (3), alogrefă osoasă demineralizată, înghețată și uscată (DFDBA) (4), materiale aloplastice ca fosfatul de calciu bifazic (BCS) (5),

hidroxiapatita (HA) (6), beta-fosfatul tricalcic (β -TCP) (7), cât și fibrină bogată în plachete (PRF) (8).

Printre avantajele β -TCP se numără: biocompatibilitatea excelentă având o stoechiometrie similară cu cea a țesutului uman, disponibilitatea sa continuă fiind un produs artificial de sinteză; posibilitatea de a acționa ca o structură de suport mecanic pentru componentele responsabile de geneză osoasă (osteoconducție). Dezavantajul major al folosirii β -TCP îl reprezintă incapacitatea acestuia de a stimula fenomenul de diferențiere a celulelor mezenchimale în celule formatoare de țesut osos (osteoinducție); cu toate acestea, poate fi

Autor corespondent:

Asist. Univ. Dr. Claudiu Călin, Catedra Tehnologia Protezelor și Materiale Dentare, Policlinica Eforie, Str. Eforiei nr. 4-6, Sector 5, București

E-mail: claudiu_m_calin@yahoo.co

folosit cu succes pentru a menține spațiul tridimensional al alveolei.

Fibrina bogată în plachete reprezintă un biomaterial autolog obținut prin centrifugarea unei mostre de sânge a pacientului în urma unui protocol standard, rezultând o matrice în care se găsesc dispersate leucocite, trombocite și factori de creștere, precum factorul de transformare a creșterii $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), factorul de creștere derivat din plachete (PDGF-AB), factorul de creștere vasculo-endotelial (VEGF) și glicoproteine ca trombospondinele (9). PRF-ul este considerat a avea un efect benefic asupra regenerării defectelor osoase prin stimularea proliferării și diferențierii osteoblastelor (10).

Având în vedere cele ante-menționate, scopul acestui studiu a fost de a evalua printr-o analiză de micro-computer tomograf (micro-CT), cantitatea de țesut osos nou-format în defecte post-extracționale la nivelul maxilarului de iepure după aplicarea la nivelul acestora de β -TCP cu sau fără PRF.

MATERIAL ȘI METODĂ

Pentru acest studiu au fost folosiți doi iepuri adulți New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*). Fiecare iepure a avut în momentul începerii studiului aproximativ 3.000 g. Studiul a fost realizat în conformitate cu directivele române și europene privind experimentele pe animale, fiind aprobat de Comisia de Etică (CE) din cadrul Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie „Cantacuzino”.

Procedura chirurgicală

Anterior efectuării intervenției chirurgicale, animalele au fost anesteziate cu un cocktail de ketamină și xylazină; consecutiv, s-au recoltat aproximativ 10 ml de sânge în vacutainere fără anticoagulant în vederea realizării fibrinei bogate în plachete. Protocolul de centrifugare a fost prestabilit la 3.000 rpm, timp de 10 minute. Fibrina rezultată a fost secționată de masa eritocitară și aplicată pe o plăcuță prevăzută cu perforații pentru a permite eliberarea unei cantități de ser în exces.

La nivelul hemi-maxilarului drept s-a efectuat o incizie în festonul gingival al premolarului 1 până la nivelul crestei osoase; incizia a fost extinsă anterior la nivelul crestei edentate aproximativ 5 mm. Cu ajutorul unui elevator drept și al cleștelui de extracție, a fost luxat și extras premolarul 1. Alveola post-extracțională a fost chiuretată de țesutul parodontal restant și irigată abundant cu soluție de ser fiziologic.

Particulele de beta-fosfat tricalcic aplicate fie ca atare la nivelul alveolelor post-extracționale, fie în combinație cu PRF, reprezintă un produs comercial (*Cerasorb*[®], *Curasan*[™]) cu granulație între 500-1.000 μm ; s-a evitat aplicarea produselor sub presiune, iar gingia acoperitoare a fost suturată margino-marginal cu fire neresorbabile de mătase 4-0; postoperator, fiecărui animal i-a fost administrat timp de 3 zile o soluție antiinflamatoare pe bază de Ketofen 10%.

După 60 de zile, animalele au fost eutanasiate cu o soluție T61 (amestec de Embutramidă 200 mg, Mebezonium iodid 50 mg, Tetracaină clorhidrică 5 mg) intravenos. S-a recoltat zona de interes a maxilarului drept împreună cu țesutul osos și gingival adiacent; dinții limitrofi zonei de interes au fost păstrați pentru a orienta specimenul în microtomograf. Analizele de micro-CT au fost realizate în laboratorul *EA2496 Orofacial Pathologies, Imaging and Biotherapies* din cadrul Facultății de Chirurgie Dentară a Universității Paris Descartes, Montrouge, Franța.

Micro-tomografia cu raze X

Dispozitivul de micro-tomografie cu raze X folosit pentru acest studiu este reprezentat de „Quantum FX Caliper, Life Sciences, Perkin Elmer, Waltham, MA”. Sursa de raze X a fost setată la 90 V și 160 μA . Moștra imagistică a fost obținută în urma calibrării tridimensionale a voxelului la 40 μm . Datele tridimensionale au fost obținute rotind atât conul de raze, cât și panoul plat detector cu 360° în jurul specimenului, cu o înclinare de 0,1° (timp de scanare estimat: 3 minute). Cele 3.600 de proiecții imagistice au fost reconstruite automat într-un software de procesare DICOM, obținând o colecție de 512 fișiere (timp de reconstrucție estimat: mai puțin de 1 minut).

Procesarea de imagine

Regiunea de interes localizată sub-cortical și constând în os spongios a fost desenată trasând poligoane interactive pe secțiunile bidimensionale. Poligoanele desenate au fost realizate cu un software de mână „CT analyzer” (Skyscan, release 1.13.5.1, Kontich, Belgium). Volumul de interes, compus din os spongios și localizat la periferia osului cortical, a fost compus din suficient țesut osos, astfel încât să asigure măsurători precise și reproductibile ale morfologiei analizate.

Măsurători ale parametrilor

Volumul tisular (mm^3) reprezintă numărul total de voxelii din volumul de interes înmulțit cu dimensiunea voxelilor.

Volumul osos (mm^3) reprezintă numărul voxelilor de obiecte solide binare din volumul de interes înmulțit cu volumul voxelilor.

Proporția volumului țesutului osos (%) este raportul dintre volumul osos binar și volumul total al zonei de interes.

Suprafața osoasă (mm^2) reprezintă suprafața obiectului tridimensional binarizat dinăuntru volumului de interes.

Densitatea osoasă (mm^{-1}) reprezintă raportul dintre suprafața osoasă binară și volumul de interes.

Grosimea trabeculară (mm) reprezintă un model independent determinat ca media grosimii locale pentru fiecare voxel.

Numărul trabeculelor (mm^{-1}) cuprinde numărul de traverse situate de-a lungul unei structuri trabeculare măsurate pe o unitate liniară printr-o regiune osoasă trabeculară.

Separația trabeculară (mm) reprezintă grosimea spațiilor definite prin binarizare în interiorul volumului de interes.

Factorul „model osos trabecular“ (mm^{-1}) reprezintă convexitatea relativă sau concavitatea suprafeței osoase totale, astfel încât concavitatea repre-

zintă conectivitatea (noduri), în timp ce convexitatea indică structurile izolate deconectate.

Indexul modelului structural indică prevalența relativă a unei structuri tridimensionale ca osul trabecular organizat sub formă de plăci și cilindri.

Gradul de anisotropie reprezintă prezența sau absența alinierii preferențiale a structurilor volumului de interes de-a lungul unei axe particulare de direcție.

REZULTATE

Animalele incluse în studiu nu au înregistrat semne și simptome adverse și nu au fost observate leziuni la nivelul zonei premolarului 1 sau în țesuturile din imediata vecinătate, pe toată durata celor 60 de zile.

Rezultatele analizei micro-CT pentru ambele specimene sunt prezentate în Tabelul 1 și 2.

DISCUȚII

În acest studiu preliminar este demonstrat că adăugarea β -TCP împreună cu PRF în defecte osoase post-extracționale îmbunătățește cantitatea de țesut osos nou-format total și volumul osos procentual cu aproximativ 10% și respectiv 5% față de specimenul tratat doar cu β -TCP. De asemenea, în cazul alveolei tratate cu amestecul β -TCP/PRF, nu-

TABELUL 1. Sumarul analizei micro-CT pentru specimenul β -TCP

Țesut		Total	Os	β -TCP
Volumul osos procentual	%	37,34252	34,21765	3,00227
Suprafața osoasă	1/mm	14,13022	19,19549	42,65716
Densitatea osoasă	1/mm	5,27658	6,56825	1,28068
Modelul osos trabecular	1/mm	-0,9711	-5,96643	16,10434
Indexul modelului structural	–	1,21946	-0,19854	2,72998
Grosimea trabeculară	mm	0,27564	0,18952	0,108
Numărul trabeculelor	1/mm	1,35477	1,80551	0,278
Separația trabeculară	mm	0,45825	0,44054	0,87289
Gradul de anisotropie	–	1,20117	1,17098	1,16752

TABELUL 2. Sumarul analizei micro-CT pentru specimenul β -TCP/ PRF

Țesut		Total	Os	β -TCP
Volumul osos procentual	%	46,29833	39,53214	6,49093
Suprafața osoasă	1/mm	13,73012	21,80754	32,39456
Densitatea osoasă	1/mm	6,35682	8,62099	2,10271
Modelul osos trabecular	1/mm	-0,54861	-6,34464	11,61836
Indexul modelului structural	–	1,10146	-0,11806	2,60385
Grosimea trabeculară	mm	0,27652	0,17441	0,13481
Numărul trabeculelor	1/mm	1,67432	2,26659	0,48148
Separația trabeculară	mm	0,29239	0,27445	0,63303
Gradul de anisotropie	–	1,16291	1,13257	1,20573

mărul trabeculelor organizate este de aproximativ două ori mai mare comparativ cu alveola tratată doar cu β -TCP.

Efectul benefic al complexului β -TCP/ PRF demonstrat în acest studiu preliminar este în corelație cu rezultatele unui studiu similar din literatură, unde aplicarea de fosfat de calciu bifazic (β -TCP/ HA) împreună cu PRF a crescut semnificativ formarea țesutului osos (11).

CONCLUZII

Țesutul osos total nou-format la nivelul defectului post-extracțional tratat cu β -TCP/PRF a fost cu 10% mai abundent comparativ cu alveola tratată doar cu β -TCP.

Volumul osos procentual este mai mare cu 5% în cazul alveolei tratate cu β -TCP/PRF comparativ cu cea tratată doar cu β -TCP.

Trabeculele osoase sunt mai numeroase și mai bine organizate pentru specimenul tratat cu β -TCP/PRF decât pentru cel tratat doar cu β -TCP.

Această lucrare a beneficiat de suport financiar prin proiectul „CERO – PROFIL DE CARIERĂ: CERCETĂTOR ROMÂN”, contract nr. POSDRU/159/1.5/S/135760, proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013.

BIBLIOGRAFIE

1. **Baniasadi B., Evrard L.** Alveolar Ridge Preservation After Tooth Extraction with DFDBA and Platelet Concentrates: A Radiographic Retrospective Study. *Open Dent J.* 2017; 11:99-108
2. **Fickl S., Fischer K., Petersen N., Happe A., Schlee M., Schlagenhauf U., Kebschull M.** Dimensional Evaluation of Different Ridge Preservation Techniques: A Randomized Clinical Study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2017; 37(3):403-410
3. **Walker C.J., Prihoda T.J., Mealey B.L., Lasho D. J., Noujeim M, Huynh-Ba G.** Evaluation of Healing at Molar Extraction Sites With and Without Ridge Preservation: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Periodontol.* 2017; 88(3):241-249
4. **Scheyer E.T., Heard R., Janakievski J., Mandelaris G., Nevins M.L., Pickering S.R., Richardson C.R., Pope B., Toback G., Velásquez D., Nagursky H.** A randomized, controlled, multicentre clinical trial of post-extraction alveolar ridge preservation. *J Clin Periodontol.* 2016; 43(12):1188-1199
5. **Mayer Y., Zigdon-Giladi H., Machtei E.E.** Ridge Preservation Using Composite Alloplastic Materials: A Randomized Control Clinical and Histological Study in Humans. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2016; 18(6):1163-1170
6. **Canullo L., Wiel Marin G., Tallarico M., Canciani E., Musto F., Dellavia C.** Histological and Histomorphometrical Evaluation of Postextractive Sites Grafted with Mg-Enriched Nano-Hydroxyapatite: A Randomized Controlled Trial Comparing 4 Versus 12 Months of Healing. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2016; 18(5):973-983
7. **Horowitz R.A., Mazor Z., Miller R.J., Krauser J., Prasad H.S., Rohrer M.D.** Clinical evaluation alveolar ridge preservation with a beta-tricalcium phosphate socket graft. *Compend Contin Educ Dent.* 2009; 30(9):588-90
8. **Temmerman A., Vandessel J., Castro A., Jacobs R., Teughels W., Pinto N., Quirynen M.** The use of leucocyte and platelet-rich fibrin in socket management and ridge preservation: a split-mouth, randomized, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2016; 43(11):990-999
9. **Del Corso M., Toffler M., Dohan D.M.E.** Use of autologous leucocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) membrane in post-avulsion sites: An overview of Choukroun's PRF, *The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry*, 2010; 1(9): 27-35
10. **Kim J., Ha Y., Kang N.H.** Effects of Growth Factors From Platelet-Rich Fibrin on the Bone Regeneration. *J Craniofac Surg.* 2017 May 9 doi: 10.1097/SCS.0000000000003396
11. **Acar A.H., Yolcu Ü., Gül M., Keleş A., Erdem N.F., Altundag Kahraman S.** Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of the effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in the rabbit calvarium. *Arch Oral Biol.* 2015; 60(4): 606 -614