



Śląski Uniwersytet Medyczny w
Katowicach

Medical University of Silesia

<https://ppm.sum.edu.pl>

Rodzaj dyplomu / Diploma type	Rozprawa doktorska / PhD thesis
Tytuł / Title	Regeneracja ubytków kostnych autogenną zębiną
Autor / Author	Dłucik Robert
Rok powstania / Year of creation	2024
Promotor / Supervisor	Orzechowska-Wylęgała Bogusława
Jednostka dyplomująca / Certifying unit	Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach / Medical University of Silesia
DOI wersji wydawcy / Published version DOI	https://doi.org/10.71804/k2st-mm87
Adres publikacji w Repozytorium URL / Publication address in Repository	https://ppm.sum.edu.pl/info/phd/SUM8b6daa53c07a4832870a95734bb57a2f/
Data opublikowania w Repozytorium / Deposited in Repository on	2024-07-10
Rodzaj licencji / Type of licence	Uznanie Autorstwa - Użycie Niekomercyjne - Bez utworów zależnych CC-BY-NC-ND / Attribution-NonCommercial-NoDerivatives CC-BY-NC-ND

lek. stom. Robert Dłucik

Regeneracja ubytków kostnych autogenną zębina

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: dr hab. n. med. Bogusława Orzechowska-Wylęgała

Klinika Otolaryngologii Dziecięcej, Chirurgii Głowy i Szyi,
Katedra Chirurgii Dziecięcej

Kierownik Katedry: dr hab. n. med. prof. SUM Tomasz Koszutski

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Katowice 2024

SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW (alfabetycznie)	6
WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD PRACY	7
WYKAZ TABEL	8
WYKAZ RYCIN.....	9
1. WSTĘP.....	11
2. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY	14
3. MATERIAŁ I METODY	16
3.1. Projekt badania	16
3.2. Grupa badanych pacjentów	17
3.2.1. Badanie in vivo.....	17
3.2.2. Przygotowanie materiału do przeszczepu	20
3.2.3. Biopsje kości	23
3.2.4. Badania in vitro – Publikacja I.....	24
3.2.5. Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)	25
3.2.6. Spektroskopia rentgenowska z dyspersją energii i analiza statystyczna	25
3.2.7. Spektroskopia Ramana	26
3.2.8. Przygotowanie tkanki do badań histologicznych – Publikacja II	26
4. WYNIKI.....	28
4.1. Dane kliniczne	28
4.2. Skaningowa mikroskopia elektronowa	32
4.3. Spektroskopia rentgenowska z dyspersją energii	34
4.4. Analiza spektroskopowa Ramana	35
4.5. Badania histologiczne	38
4.5.1. BonMaker – BM (Ryc. 13-15)	38
4.5.2. Tooth Transformer – TT (Ryc. 16-18).....	38
4.5.3. Smart Dentin Grinder – SDG (Ryc. 19-21).....	38
4.6. Ocena procesu gojenia	43
5. DYSKUSJA	45
6. WNIOSKI	50
7. PIŚMIENNICTWO.....	51
8. STRESZCZENIE/ABSTRACT	56
8.1. Streszczenie w języku polskim	56
8.2. Abstract	57
9. OŚWIADCZENIE O WKŁADZIE PRACY	58

10. ZAŁĄCZNIKI.....	60
---------------------	----

WYKAZ SKRÓTÓW (alfabetycznie)

ADDM – autogenna zdemineralizowana macierz zębinowa
BM – BonMaker
BMP – białka morfogenetyczne kości
C – tkanka łączna
CBCT – tomografia wiązki stożkowej
CDDM – całkowicie zdemineralizowana macierz zębinowa
CDF – skumulowana funkcja dystrybucji
CH₂ – grupa metylenowa
D – przeszczepiona zębina
DDC – Dłucik Dental Clinic
DDM – zdemineralizowana macierz zębinowa (demineralized dentin matrix)
DM – macierz zębinowa (dentin matrix)
EDTA – kwas wersenowy
FDI – Światowa Federacja Dentystyczna
FGF-2 – czynnik wzrostu fibroblastów-2
HCL – kwas solny (chlorowodór)
HE – barwienie hematoksyliną i eozyną
IARD – International Association for Dental Research
MB – kość w pełni zmineralizowana
MDM – zmineralizowana macierz zębinowa
NaOH – wodorotlenek sodu (soda kaustyczna)
NB – nowo utworzona kość
NH – grupy amidowe
PDDM – częściowo zdemineralizowana macierz zębinowa
PDGF – płytkopochodny czynnik wzrostu
SDG – Smart Dentin Grinder
SEM – skaningowa mikroskopia elektronowa
SEM – EDX - skaningowa mikroskopia elektronowa z dyspersją energii
TBD-1 – odczynnik demineralizujący na bazie kwasu solnego i kwasu wersenowego
TGF- β – transformujące czynniki wzrostu β
TT – Tooth Transformer
VEGF – czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego

WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD PRACY

I. Publikacja I

(praca oryginalna)

Robert Dłucik, Bogusława Orzechowska-Wylęgała, Daniel Dłucik, Domenico Puzzolo, Giuseppe Santoro, Antonio Micali, Barbara Testagrossa, Giuseppe Acri

Comparison of clinical efficacy of three different dentin matrix biomaterials obtained from different devices.

Expert Review of Medical Devices, Volume 20, 2023, Issue 4.

DOI: 10.1080/17434440.2023.2190512

Impact Factor: 3.439

Punktacja MNiSW: 70

II. Publikacja II

(praca oryginalna)

Robert Dłucik, Bogusława Orzechowska-Wylęgała, Daniel Dłucik, Katarzyna Bogus

Histological examination of tooth-derived biomaterials obtained from different devices.

Expert Review of Medical Devices, Volume 20, 2023, Issue 11.

DOI: 10.1080/17434440.2023.2251891

Impact Factor: 3.439

Punktacja MNiSW: 70

WYKAZ TABEL

Tabela I. Różnice pomiędzy urządzeniami służącymi do przetwarzania autogennej zębiny.	23
Tabela II. Dane kliniczne pacjentów, u których użyto urządzenia BonMaker.	29
Tabela III. Dane kliniczne pacjentów, u których użyto urządzenia Tooth Transformer.	30
Tabela IV. Dane kliniczne pacjentów, u których użyto urządzenia Smart Dentin Grinder.	31
Tabela V. Zakresy liczb falowych i ich względne przyporządkowanie, zgodnie z piśmiennictwem.	37
Tabela VI. Stopień mineralizacji wyrażony w procentach. Obliczenia uzyskano za pomocą wzoru opisanego w Materiałach i Metodach dla każdej próbkówki przy użyciu Spektroskopu Ramana.	37

WYKAZ RYCIN

Rycina 1. Maszyny do przetwarzania zębów. A – BonMaker, B – Tooth Transformer, C- Smart Dentin Grinder.....	13
Rycina 2. Schemat przedstawiający projekt badania z publikacji I i II.	16
Rycina 3. Przykładowe obrazy CBCT z wszystkich 3 urządzeń.	20
Rycina 4. Stanowisko do obróbki zębów w DDC	21
Rycina 5. Oczyszczone i osuszone zęby w moździerz chirurgicznym przed umieszczeniem w jednym z urządzeń rozdrabniających.	22
Rycina 6. Przykład pobrania trepanem Meisingera próbki do badania histologicznego z okolicy pierwszego zęba przedtrzonowego szczęki.	24
Rycina 7. Obraz SEM z próbki BonMaker.	32
Rycina 8. Obraz SEM z próbki Tooth Transformer.	33
Rycina 9. Obraz SEM z próbki Smart Dentin Grinder.	33
Rycina 10. Wyniki analizy rentgenowskiej z dyspersją energii. A: Analiza składu pierwiastkowego zębiny. B: Analiza składu pierwiastkowego pokruszonych cząstek z BM. C: Analiza składu pierwiastkowego cząstek z TT. D: Analiza składu pierwiastkowego cząstek z SDG.	34
Rycina 11. Stężenie procentowe i ocena statystyczna wykrytych pierwiastków w próbkach badanych metodą EDX-SEM.	35
Rycina 12. Średnie wartości widma zębiny kontrolnej (Ryc. 13A) i cząstek pochodzących z BM (Ryc. 13B), TT (Ryc. 13C) i SDG (Ryc.13D). Otrzymane widma obserwowano w zakresie liczb falowych pomiędzy 3200 a 200 cm ⁻¹	36
Rycina 13. Próbka barwiona trójskolem Massona – tkanka pobrana od pacjenta z grupy BM. (D) przeszczepiona zębina, (C) tkanka łączna, (NB) nowo utworzona kość, (MB) kość w pełni zmineralizowana (białe strzałki – osteocyty, czarne strzałki – osteoblasty). Powiększenie 10×.....	39
Rycina 14. Tkanka pobrana od pacjenta z grupy BM. Widoczne doskonałe zintegrowanie przeszczepionej zębiny (D) z nowo utworzoną kością (NB); (C) tkanka łączna, (MB) kość w pełni zmineralizowana (białe strzałki – osteocyty, czarne strzałki – osteoblasty). Powiększenie 20×.	39
Rycina 15. Próbka barwiona HE (BM). (D) przeszczepiona zębina, (C) tkanka łączna, (NB) nowo utworzona kość, (MB) kość w pełni zmineralizowana (białe strzałki – osteocyty, czarne strzałki – osteoblasty). Powiększenie 10×.....	40

- Rycina 16.** Tkanka pobrana od pacjenta z grupy TT, wybarwiona HE. Częstka zębiny (D) jest otoczona kością (MB) i tkanką łączną (C). Czarne strzałki – osteoblasty, białe strzałki – osteocyty. Powiększenie 10×.....40
- Rycina 17.** Próbkę przygotowaną za pomocą TT, barwienie trójkromianem Massona. Widoczne doskonale zintegrowanie przeszczepionej zębiny (D) z nowo utworzoną kością (NB); czarne strzałki – osteoblasty, białe strzałki – osteocyty, (C) tkanka łączna. Powiększenie 20×.41
- Rycina 18.** Próbkę przygotowaną za pomocą TT, barwienie HE. Przeszczepiona zębina (D) jest dobrze otoczona nowo utworzoną kością (NB). Dobrze widoczne osteocyty (białe strzałki) i osteoblasty (czarne strzałki). Powiększenie 20×.....41
- Rycina 19.** Próbkę przygotowaną za pomocą SDG, barwienie HE. Dobrze widoczna przeszczepiona zębina (D), nowo utworzona kość (NB) i osteocyty (białe strzałki). Powiększenie 20×.....42
- Rycina 20.** Próbkę przygotowaną za pomocą SDG, barwienie trójkromianem Massona. Widoczne liczne cząstki przeszczepionej zębiny (D). Niektóre z nich są już otoczone tkanką kostną (NB, MB), podczas gdy inne tkanką łączną (C). Obecne osteocyty (białe strzałki) i osteoblasty (czarne strzałki). Powiększenie 10×.....42
- Rycina 21.** Próbkę przygotowaną za pomocą SDG, barwienie trójkromianem Massona. Widoczne doskonale zintegrowanie przeszczepionej zębiny (D) z nowo utworzoną kością (NB); czarne strzałki – osteoblasty na powierzchni, białe strzałki – osteocyty, (C) tkanka łączna. Powiększenie 20×.....43

1. WSTĘP

Współczesna implantologia i chirurgia odtwórcza rutynowo wykorzystują procedury augmentacyjne w leczeniu pacjentów z ubytkami kości. Wyłuszczenie torbieli, choroby przyzębia, usunięcie zatrzymanych zębów czy urazowe ekstrakcje często wywołują dwuścienne lub trójścienne defekty kostne. W ich rehabilitacji oprócz powszechnie dostępnych materiałów kośćozastępczych można z powodzeniem zastosować autogeny przeszczep kostny, mający swoistą przewagę nad innymi substytutami kości ze względu na swoje właściwości osteogenne [1,2]. Autologiczny przeszczep kostny uważany jest za złoty standard w implantologii, jednak dostępność materiału jest ograniczona, a konieczność przeprowadzania dodatkowych wewnątrz- lub zewnątrzustnych procedur zwiększa ryzyko powikłań i wydłuża czas gojenia, sprawiając, że nie u wszystkich pacjentów można go z powodzeniem zastosować [3].

Naukowcy poszukujący idealnego materiału kośćozastępczego poddali ocenie wykorzystanie zmielonych zębów własnych, do niedawna uznawanych za materiał odpadowy. Od 1993 roku Kim i współpracownicy rozpoczęli badania doświadczalne z wykorzystaniem zębów jako materiału przeszczepowego [4]. Ludzkie zęby składają się z czterech tkanek – szkliwa, zębiny, cementu i miazgi. Ze względu na bardzo podobny skład chemiczny zębiny i kości wydaje się ona bardzo obiecującym materiałem do augmentacji. Zębina w około 70% składa się z nieorganicznych kryształów hydroksyapatytu, w około 20% z organicznej macierzy pozakomórkowej, głównie kolagenu typu I, oraz w około 10% z wody [5–7]. Ponadto zawiera białka morfogenetyczne kości (BMP) należące do nadrodziny transformujących czynników wzrostu beta (TGF- β), które, jak wykazał po raz pierwszy Urist w 1965 roku, są w stanie stymulować osteogenezę [8,9]. Liczni badacze podali, że demineralizacja zębiny jest niezbędna dla uwolnienia osteoindukcyjnych czynników wzrostu, uwięzionych w kanalikach zębinowych [10]. Istnieje kilka metod przygotowania zdemineralizowanej macierzy zębinowej (DDM). Ogólnie przyjmuje się, że po ekstrakcji ząb pacjenta musi zostać oczyszczony z pozostałości kamienia nazębnego, tkanek miękkich i wszelkich ciał obcych. W następnej kolejności ząb jest kruszony na drobne cząstki, mielony w specjalnym młynku i nasączany w odczynnikach demineralizujących. DDM stanowi doskonałe rusztowanie wspierające proces regeneracji kości [5].

Pierwszy przypadek kliniczny pacjenta, u którego przeprowadzono augmentację kości przy użyciu autogennej DDM, został przedstawiony przez profesora Masaru Murata w 2003 roku na 81. Międzynarodowej Konferencji Stomatologicznej (IARD) w Szwecji [11]. W 2009 roku w Korei Południowej został otwarty pierwszy na świecie bank zębów specjalizujący się w

przechowywaniu i przetwarzaniu ludzkich zębów w materiał do regeneracji kości (AutoBT, Korea Tooth Bank Co., Seoul, Korea) [12]. W dużym badaniu klinicznym, przeprowadzonym przez koreańskich naukowców w grupie 250 pacjentów z wykorzystaniem przeszczepu ze sproszkowanych zębów autogennych, stwierdzono, że materiał ten dobrze wspomaga tworzenie się nowej kości dzięki swoim zdolnościom osteoindukcyjnym i osteokonduktywnym [13]. Wobec skutecznego udowodnienia pozytywnej roli rozdrobnionej zębiny w zachowaniu wyrostka zębodołowego naukowcy z różnych części świata stworzyli specjalne urządzenia (Ryc. 1), które są w stanie w bezpieczny i powtarzalny sposób wytwarzać sterylny, zębopochodny materiał kościozastępczy [4,12,14].

BonMaker (BM) - Korea Dental Solution Co. Ltd., Busan, Korea, to pierwsze zautomatyzowane urządzenie stworzone przez koreańskich badaczy, posiadające certyfikat ISO oraz CE dla wyrobów medycznych, służące do przetwarzania zębów w sterylny granulat (Ryc.1A). Węgierski badacz w badaniu pilotażowym wykazał, że w miejscu przeszczepu po okresie 6 miesięcy, przyrost nowej kości wyniósł 56%, a urządzenie BM wydaje się bardzo obiecujące w leczeniu ubytków kostnych [15]. BM ma olbrzymią zaletę w porównaniu z innymi urządzeniami służącymi do przetwarzania zębów, ponieważ umożliwia wytwarzanie bloczków zębinowych, które z powodzeniem można zastosować w najbardziej wymagającym, estetycznym obszarze szczęki lub żuchwy, dając dodatkowe możliwości do wykorzystania podczas zabiegów rekonstrukcyjnych. W opublikowanym niedawno opisie przypadku, stosując częściowo zdemineralizowaną zębinę oraz blok zębinowy pozyskany z własnego zęba pacjenta, przygotowany za pomocą urządzenia BM, wykazano skuteczną regenerację w obszarze ubytku kości wyrostka zębodołowego [16].

Kolejnym urządzeniem dostępnym na rynku jest Tooth Transformer (TT) - Srl, Mediolan, Włochy, stworzony przez włoskiego naukowca Elio Minettiego. W opublikowanym niedawno badaniu wykazano tworzenie nowej żywej kości w obrębie ubytku kostnego po zastosowaniu leczenia regeneracyjnego z użyciem własnych zębów pacjentów, przetworzonych za pomocą TT (Ryc.1B). Badaniem objęto również zęby leczone endodontycznie, co nie miało wpływu na wyniki zabiegów augmentacji kości [17]. W wieloośrodkowym badaniu u 504 pacjentów w celu zachowania wyrostka zębodołowego zastosowano materiał przetworzony za pomocą TT, a po 4 miesiącach wszczepiono 483 implanty. Po 12 miesiącach całkowity odsetek powodzeń był wysoki (98,2%), a u wszystkich pacjentów kość wyrostka zębodołowego była w dużym stopniu zachowana [18].

Ostatnim z badanych urządzeń jest Smart Dentin Grinder (SDG) - KometaBio, Fort Lee, USA (Ryc.1C). Do tej pory wielu autorów potwierdziło skuteczność tego urządzenia w

badaniach klinicznych zarówno na zwierzętach, jak i na ludziach [7,19,20,21]. W grupie 100 osób, u których przeprowadzono zabiegi regeneracyjne w obrębie ubytków kostnych z wykorzystaniem materiału z własnych zębów pacjenta, rozdrobnionych za pomocą SDG, nie wykazano powikłań ani niepowodzeń przez okres 2 lat, a u wielu osób po okresie 2–3 miesięcy wykonano wszczepienie implantów [22]. Skład chemiczny i strukturę materiału przetworzonego w SDG badano za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej, wykazując jego znaczący potencjał w leczeniu ubytków kostnych [23].



Rycina 1. Maszyny do przetwarzania zębów. A – BonMaker, B – Tooth Transformer, C – Smart Dentin Grinder.

Niniejsza praca powstała z cyklu dwóch publikacji, w których kolejno przedstawiono:

Praca 1 – porównanie różnych preparatów macierzy zębinowej (DM) uzyskanych za pomocą trzech urządzeń BM, TT, SDG oraz określenie ich właściwości morfologicznych, fizycznych i biochemicznych za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii (EDX) i spektroskopii ramanowskiej.

Praca 2 – porównanie skuteczności klinicznej różnych preparatów przetworzonej macierzy zębinowej na podstawie badań histologicznych.

2. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY

W pracy przyjęto następującą tezę:

Różne właściwości fizyczne, chemiczne i morfologiczne preparatów zębinowych przetworzonych przez różne urządzenia nie mają wpływu na ich bezpieczne i przewidywalne zastosowanie kliniczne.

Celami niniejszego badania były:

1. Zademonstrowanie skuteczności klinicznej różnych preparatów macierzy zębiny (DM) uzyskanych za pomocą trzech urządzeń (BonMaker, Tooth Transformer i Smart Dentin Grinder) oraz określenie ich właściwości morfologicznych, fizycznych i biochemicznych za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii (EDX) i spektroskopii ramanowskiej.
2. Ocena gojenia za pomocą badań histologicznych.

Szczegółowe cele pracy zdefiniowano jako próbę odpowiedzi na następujące pytania:

1. Czy można z powodzeniem zastosować bloki zębinowe w estetycznym obszarze szczęki lub żuchwy?
2. Jaka jest różnica w morfologii (kształt i wielkość) pomiędzy różnymi cząsteczkami przetworzonej DM?
3. Jaka jest różnica w składzie chemicznym przetworzonej przez różne urządzenia macierzy zębinowej?
4. Czy stopień demineralizacji macierzy zębinowej wpływa na ilość materii organicznej w próbkach po sterylizacji chemicznej?
5. Czy urządzenia BonMaker, Tooth Transformer i Smart Dentin Grinder są bezpieczne w użyciu i zastosowaniu klinicznym?
6. Jakie są różnice pomiędzy urządzeniami ujętymi w badaniu?
7. Czy czas oraz rodzaj odczynnika demineralizującego zębinę znacząco wpływają na rezultaty kliniczne?
8. Czy są różnice w obrazie histologicznym pomiędzy różnymi preparatami pochodzącymi od pacjentów ujętych w badaniu?
9. Czy na podstawie analizy tomografii stożkowej (CBCT) zauważono różnice w obrazie radiologicznym pomiędzy pacjentami włączonymi do badania?
10. Czy każdy ząb nadaje się do zmielenia i przeszczepu?
11. Czy uzyskanie materiału pochodzącego z własnego zęba jest kosztowne?

Zakres pracy obejmował:

- a. Badanie podmiotowe celem oceny spełnienia kryteriów włączenia do badania oraz wykrycia czynników, będących kryteriami wyłączenia. Szczegółowa diagnostyka obrazowa (zdjęcia pantomograficzne i CBCT) celem oceny warunków anatomicznych w jamie ustnej oraz ewentualnych ognisk zębopochodnych.
- b. Badanie przedmiotowe (zewnątrzustne i wewnątrzustne) u pacjentów zakwalifikowanych do badania.
- c. Wykonanie procedury terapeutycznej, jaką jest ekstrakcja zęba/ów (spełniających kryteria włączenia).
- d. Oczyszczenie zęba/ów z tkanek miękkich, kamienia nazębnego, próchnicy i wszelkich ciał obcych.
- e. Przygotowanie zęba/ów do sterylizacji chemicznej w jednym z trzech urządzeń (BonMaker, Tooth Transformer, Smart Dentin Grinder). Wstępna dekontaminacja w 3% wodzie utlenionej, mielenie zębów.
- f. Sterylizacja chemiczna w jednym z trzech urządzeń.
- g. Wykonanie zabiegów augmentacji kości przy użyciu autogennej zdemineralizowanej lub zmineralizowanej zębiny u pacjentów zakwalifikowanych do badania oraz wszczepienie implantów zębowych.
- h. Wykonanie biopsji kości do badań histologicznych.
- i. U części pacjentów nie wykonano procedur regeneracji kości, jednak ich zębów użyto do badań *in vitro*, opisanych w podpunkcie „j”.
- j. Badania *in vitro*: określenie właściwości morfologicznych, fizycznych i biochemicznych autogennej zębiny za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii (EDX) i spektroskopii ramanowskiej.
- k. Ocena histologiczna preparatów biopsyjnych ujętych w badaniu.
- l. Ocena kliniczna w okresie kontrolnym na podstawie badań fizykalnych, histologicznych oraz radiologicznych.

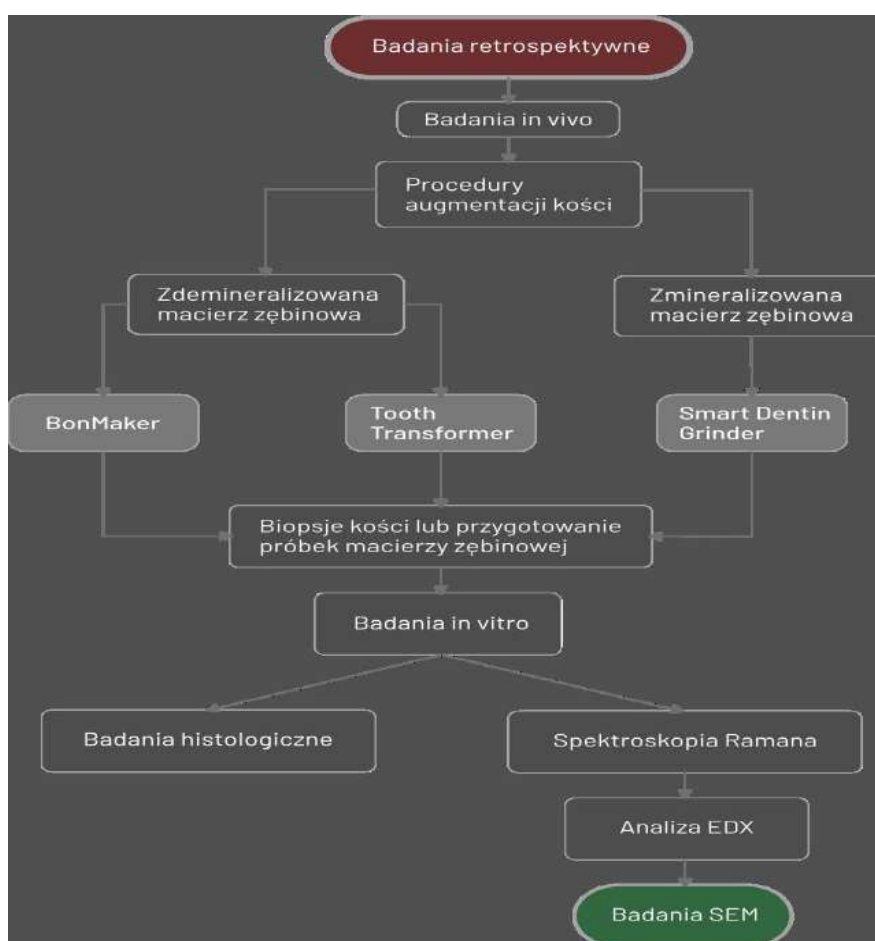
3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Projekt badania

Badanie zostało zatwierdzone przez Komisję Bioetyczną Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, nr KNW/0022/KBI/18/18 SUM i przeprowadzone zgodnie z Deklaracją Helsińską Światowego Stowarzyszenia Medycznego. Wszystkim uczestnikom dokładnie objaśniono charakter badania, potencjalne ryzyko, możliwe powikłania i korzyści z proponowanego leczenia. Następnie poproszono o podpisanie świadomej pisemnej zgody przed włączeniem do badania. W badaniu brano pod uwagę wyłącznie pełnoletnich pacjentów (powyżej 18. roku życia). Badanie zostało przeprowadzone przez trzy ośrodki:

- 1) Dłucik Dental Clinic (DDC), Katowice, Polska (Publikacja I,II),
- 2) Wydział Nauk Biomedycznych i Stomatologicznych oraz Obrazowania Morfofunkcjonalnego, Uniwersytet w Mesynie, Mesyna, Włochy (publikacja I)
- 3) Zakład Histologii i Embriologii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach (publikacja II).

Projekt badania przedstawiono na Ryc. 2.



Rycina 2. Schemat przedstawiający projekt badania z publikacji I i II.

3.2. Grupa badanych pacjentów

3.2.1. Badanie in vivo

Niniejsze badanie retrospektywne przeprowadzono między wrześniem 2018 a listopadem 2022 w prywatnym gabinecie stomatologicznym Dłucik Dental Clinic w Katowicach. W badaniu u wszystkich pacjentów wykonano regeneracje ubytków kostnych autogenną, zmieloną i przetworzoną przez różne urządzenia macierzą zębinową, którą zastosowano w szczęcie lub żuchwie.

Do badania włączono 109 pacjentów podzielonych na dwie grupy. Pierwsza grupa obejmowała 70 pacjentów [43 kobiety i 27 mężczyzn w wieku 22–77 lat; średni wiek i odchylenie standardowe wynosiły (SD): $49,8 \pm 14,3$ lat]. Do drugiej grupy włączono 39 pacjentów, w tym 25 kobiet i 14 mężczyzn, w wieku od 18 do 77 lat (średni wiek i odchylenie standardowe: $50,589 \pm 14,862$ lat). Czas obserwacji wynosił od 4 do 36 miesięcy.

1 grupa badanych pacjentów została opisana w publikacji I, 2 grupa badanych pacjentów w publikacji II.

Kryteria włączenia:

- ubytki kości po wyłuszczeniu torbieli (w większości przypadków obejmujące dwie powierzchnie, jeśli obejmowały trzy powierzchnie – pacjenci kwalifikowali się do zastosowania blozków zębinowych);
- zanik wyrostka zębodołowego w wyniku zapalenia przyzębia;
- próchnica korzeni;
- złamania koron zębów;
- ekstrakcje wykonane przed dłuższym czasem, skutkujące znacznym zanikiem wyrostka zębodołowego;
- wyłuszczenie zębów zatrzymanych;
- zabiegi podniesienia dna zatoki szczękowej.

Kryteria wyłączenia:

- choroby ogólnoustrojowe lub zaburzenia metaboliczne kości, mogące mieć wpływ na proces gojenia (np. niekontrolowana cukrzyca, nadczynność tarczycy);
- leczenie bisfosfonianami lub kortykosteroidami;
- palenie papierosów;
- chemioterapia, radioterapia;
- ciąża;

- ostry lub przewlekły zębopochodny stan zapalny w okolicy miejsca planowanego zabiegu;
- zaburzenia psychiczne;
- brak zgody pacjenta na proponowany zabieg.

Przed zabiegami regeneracyjnymi wszyscy pacjenci zostali poddani profesjonalnej higienizacji jamy ustnej oraz otrzymali doustnie 0,6 g klindamycyny (w przypadku uczulenia na klindamycynę podawano amoksycylinę z kwasem klawulanowym w dawce 1 g). Łączna liczba usuniętych zębów wykorzystanych jako biomateriał do odbudowy kości wyniosła 285 (w pierwszej grupie 180 zębów, a w drugiej 105). Usunięte zęby zostały poddane obróbce za pomocą trzech różnych urządzeń i użyte w zabiegach augmentacji kości.

1) Grupa badanych pacjentów z publikacji I

Zmieloną macierz zębinową zastosowano w grupie 70 pacjentów. U wszystkich pacjentów zęby przetworzono przez jedno z trzech urządzeń (Ryc.1).

Szczegółowo: BM zastosowano u 38 pacjentów, TT u 11 pacjentów i SDG u 21 pacjentów. Rozbieżność w liczbie pacjentów pomiędzy urządzeniami wynika z faktu, że urządzenia zostały zakupione w różnej kolejności (najpierw został zakupiony BM, później TT, a na końcu SDG). U 37 spośród 70 pacjentów w kość zregenerowaną przy użyciu DM wszczepiono implanty tytanowe (DIO UF II). U pozostałych 33 wykonano same zabiegi augmentacji z użyciem DM. Całkowita liczba implantów wszczepionych ze średnią siłą momentu obrotowego 35 Ncm wyniosła 84, w tym: 51 implantów u pacjentów, u których zastosowano BM (w tym 15 natychmiastowych), u 22 użyto TT (w tym 4 implanty natychmiastowe), u 11 wykorzystano SDG (w tym 1 implant natychmiastowy).

Ponadto u pacjentów, u których zastosowano BM, przeprowadzono 3 zabiegi natychmiastowego wszczepienia implantu wraz z odbudową jednościennego defektu kostnego w strefie estetycznej blokiem zębinowym z usuniętego zęba. Jeden z tych przypadków został przedstawiony i szczegółowo opisany w publikacji nie wchodzącej w skład tej pracy [16]. U pacjentów, których zęby były przetworzone przez SDG, wykonano trzy zabiegi podniesienia dna zatoki szczękowej, w tym u jednego pacjenta połączono ten zabieg z natychmiastowym wprowadzeniem implantu w obręb kości regenerowanej zmineralizowaną macierzą zębinową (MDM).

W celu oceny wyników u wszystkich pacjentów wykonywano pomiary za pomocą tomografii komputerowej wiązki stożkowej (CBCT) urządzeniem Carestream CS 8200 3D.

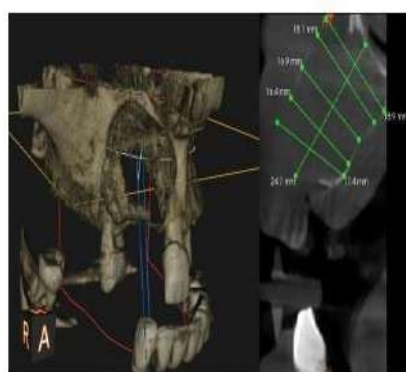
Badania wykonywano przed ekstrakcją zębów, bezpośrednio po zabiegu i 3-4 miesiące później (Ryc.3).

Ponadto od czterech losowo wybranych pacjentów pozyskano cztery zatrzymane trzecie zęby trzonowe szczęki (jeden ząb od każdego pacjenta). Sporządzono trzy próbki, po jednej dla każdego urządzenia, zgodnie z instrukcją producenta dotyczącą przygotowania zębów do przetworzenia. Czwarty ząb służył jako próbka kontrolna. Ząb ten oczyszczono z tkanek miękkich, umieszczono go w roztworze 3% wody utlenionej celem wstępnej dezynfekcji, po czym został położony do pojemnika ze sterylnym roztworem soli fizjologicznej. Wszystkie cztery próbki wysłano do Uniwersytetu w Mesynie we Włoszech celem przeprowadzenia badań.

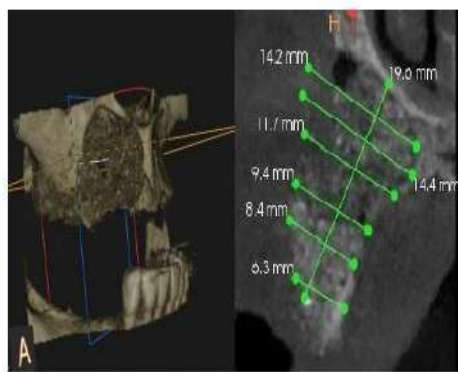
2) Grupa badanych pacjentów z publikacji II

U wszystkich 39 pacjentów z tej grupy wykonano augmentacje przy użyciu zmielonej macierzy zębinowej (zarówno DDM, jak i MDM) wyłącznie w obrębie szczęki. Główną metodą obiektywnej oceny wyników leczenia w tej grupie były badania histologiczne. U wszystkich pacjentów zarówno przed leczeniem, jak i podczas zabiegu wszczepiania implantu oraz po leczeniu wykonywano tomografię komputerową wiązki stożkowej (CBCT) za pomocą urządzenia Carestream CS 8200 3D (Ryc. 3). Badanie wykazało następujące ograniczenia: nie był możliwy kontrolowany dobór przypadków pod względem niektórych zmiennych klinicznych, takich jak stan miejsca przeszczepienia materiału kostnego oraz rodzaj zastosowanego preparatu macierzy zębinowej.

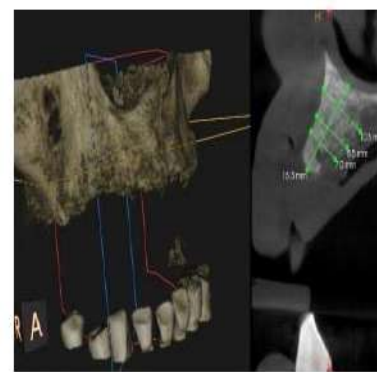
Powyższe mankamenty mogły stanowić czynnik zakłócający obiektywną ocenę wyników klinicznych. Obrazy CBCT uznano za drugorzędny parametr oceny klinicznej, który nie mógł być odpowiednio przeanalizowany statystycznie ze względu na zbyt wiele zmiennych składających się na obiektywną ocenę regenerowanego obszaru (takich jak np. kształt i rozmiar ubytku, liczba obecnych ścian, rodzaj użytego granulatu).



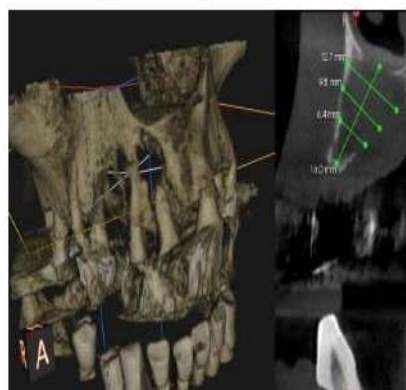
BonMaker przed zabiegiem



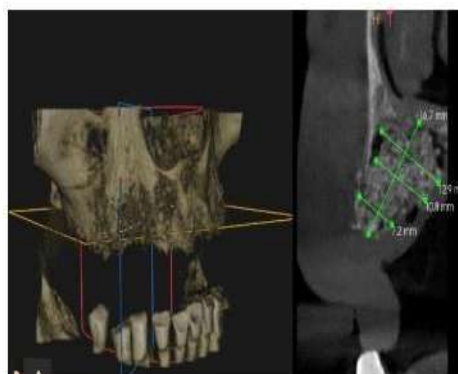
BonMaker po zabiegu



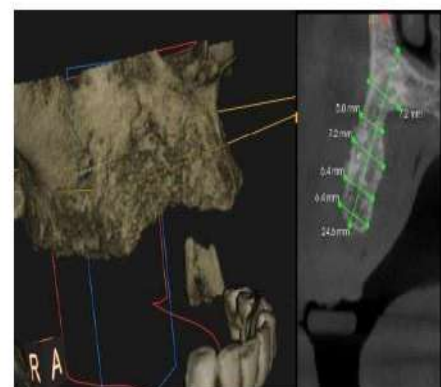
BonMaker ~ 5 miesięcy od zabiegu



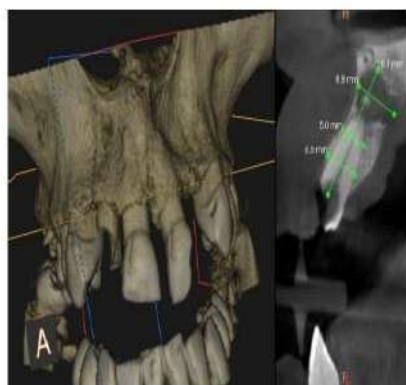
Tooth Transformer przed zabiegiem



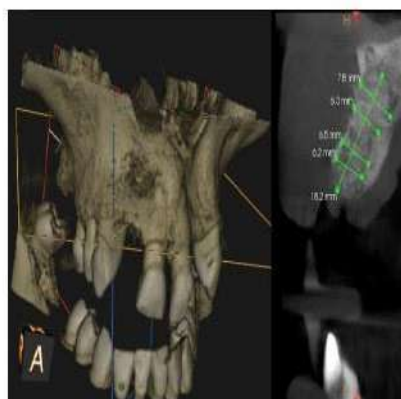
Tooth Transformer po zabiegu



Tooth Transformer ~ 5 miesięcy od zabiegu



Smart Dentin Grinder przed zabiegiem



Smart Dentin Grinder po zabiegu



Smart Dentin Grinder ~ 5 miesięcy od zabiegu

Rycina 3. Przykładowe obrazy CBCT z wszystkich 3 urządzeń.

3.2.2. Przygotowanie materiału do przeszczepu

Przygotowanie zębów do przeszczepów przeprowadzano w DDC zgodnie z zaleceniami producenta dla każdego urządzenia u wszystkich 109 pacjentów [15,23,24]. Zasadnicza procedura preparacji zębów obejmowała wiele etapów.

Najpierw usunięty ząb zanurzano na 2-3 minuty w 3% roztworze nadtlenu wodoru w celu zainicjowania dekontaminacji. Następnie ząb dokładnie oczyszczano wiertłem

diamentowym (np. Edenta 848L) na specjalnej, izolowanej stacji roboczej (Ryc. 4), usuwając tkanki miękkie i złoże kamienia nazębnego. Po oczyszczeniu usuwano wszelkie wypełnienia oraz przebarwienia zębiny i cementu korzeniowego. Szkliwo usuwano z zębów tylko w przypadku rozległej próchnicy lub dużych wypełnień. Tak przygotowany ząb ponownie umieszczano na kilka minut w 3% roztworze wody utlenionej, po czym dokładnie go osuszano i przenoszono do sterylnego moździerza (Ryc. 5), gdzie rozkruszano go na mniejsze kawałki. Pokruszone zęby wprowadzano następnie do jednego z urządzeń do rozdrabniania zębów, uzyskując w zależności od urządzenia granulki o rozmiarach 300–1200 μm , co jest wielkością optymalną do regeneracji ubytków kostnych [25].

W ostatnim etapie uzyskane granulki sterylizowano chemicznie za pomocą jednego z trzech powyższych urządzeń. W przypadku BM i TT, z których uzyskiwano DDM, jako główny odczynnik stosowano kwas solny (HCL) w stężeniach od 3,5 do 50%, wykazujący działanie demineralizujące, a w przypadku SDG postępowano zgodnie z protokołem dla zębiny zmineralizowanej (MDM), stosując 0,5 M roztwór wodorotlenku sodu (Tab. I).



Rycina 4. Stanowisko do obróbki zębów w DDC.



Rycina 5. Oczyszczone i osuszone zęby w moździerz chirurgicznym przed umieszczeniem w jednym z urządzeń rozdrabniających.

Szczegółowy skład odczynników w urządzeniach:

- A) BM – kwas solny (HCL 3,5–5%), 70% alkohol etylowy, 5% woda utleniona.
- B) TT – kwas solny (HCL 25-50%), 10% woda utleniona, woda demineralizowana.
- C) SDG – wodorotlenek sodu (NaOH), 20% alkohol etylowy, sól fizjologiczna buforowana fosforanami.

Dobór urządzenia do przygotowania materiału dla poszczególnych pacjentów był losowy na podstawie decyzji lekarza prowadzącego, w oparciu o wynik badania fizykalnego i radiologicznego.

Urządzenie	Wielkość cząsteczek	Główny odczynnik	Czas przetwarzania	Automatyzacja procedury
BonMaker	Od 500 do 1000 μm	Kwas solny (HCL) o stężeniu 3,5-5%	~20 minut (blok zębinowy 35 minut, 50 sekund)	półautomatyczne
Tooth Transformer	Od bardzo małych (20-40 μm) do większych (1,0-1,2 mm)	Kwas solny (HCL) o stężeniu 25-50%	~30 minut	automatyczne
Smart Dentin Grinder	od 300 μm do 1,3 mm	Wodorotlenek sodu (NaOH)	15 - 20 minut	półautomatyczne

Tabela I. Różnice pomiędzy urządzeniami służącymi do przetwarzania autogennej zębiny.

3.2.3. Biopsje kości

Wszystkie biopsje wykonane w niniejszym badaniu zostały przeprowadzone przez doświadczonych lekarzy z DDC po około 4-5 miesiącach od dokonania przeszczepu macierzy zębinowej w obrębie kości szczęki, w momencie wszczepienia implantów. Próbki do badania histologicznego pobierano trepanem Meisinger 4,0 (Ryc. 6), a następnie umieszczano je w pojemniku wypełnionym roztworem formaldehydu w celu przetransportowania do Zakładu Histologii i Embriologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.



Rycina 6. Przykład pobrania trepanem Meisinger próbki do badania histologicznego z okolicy pierwszego zęba przedtrzonowego szczęki.

3.2.4. Badania in vitro – Publikacja I

Ta część badania została przeprowadzona przez naukowców z Uniwersytetu w Mesynie we Włoszech we współpracy z lekarzami z DDC. Do badania SEM, analizy EDX i spektroskopii ramanowskiej użyto czterech próbek przetworzonych w każdym urządzeniu i czterech nieprzetworzonych zębów jako kontrole. Każdy z nich przecięto na dwie połowy. Analiza SEM oceniała strukturę materiału ziarnistego otrzymanego za pomocą każdego urządzenia. Została ona połączona z mikroanalizą spektroskopową EDX w celu określenia składu pierwiastkowego powierzchni próbki.

Ponadto przeprowadzono spektroskopię Ramana, należącą do rodziny spektroskopii oscylacyjnej. Jest to szybka i niedestrukcyjna metoda analityczna, oparta na procesie nieelastycznego rozpraszania światła monochromatycznego do wykrywania zmian biochemicznych na poziomie molekularnym i nie wymaga żadnego przygotowania przed pomiarem [26,27]. Przydatna jest w różnych dziedzinach badawczych, takich jak fizyka, medycyna, weterynaria, chemia i materiałoznawstwo [28-30]. Powyższe metody mają wiele zastosowań w różnych dziedzinach przemysłowych, handlowych i badawczych [31,32].

3.2.5. Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)

Rozdrobniony materiał z urządzeń BM, TT i SDG utrwalano w 2,5% aldehydzie glutarowym z 0,2 M buforem fosforanowym (pH 7,4) w +4°C, przemywano 0,2 M buforem fosforanowym (pH 7,4), odwadniano we wzrastających stężeniach etanolu, suszono w punkcie krytycznym w ciekłym CO₂, osadzano na aluminiowych stolikach na próbki, pokrywano złotem, a następnie oglądano i fotografowano w skaningowym mikroskopie elektronowym JEOL JCM 6000 (JEOL, Tokio, Japonia) ustawionym na 15 kV.

3.2.6. Spektroskopia rentgenowska z dyspersją energii i analiza statystyczna

Połowę każdego zęba kontrolnego i materiał ziarnisty uzyskany z urządzeń BM, TT i SDG poddano obróbce w sposób wskazany powyżej dla SEM, a następnie osuszano powietrzem, osadzano na aluminiowych stolikach na próbki i badano pod kątem składu pierwiastkowego za pomocą analizatora rentgenowskiego z dyspersją energii (EDX) Jeol DX200s (JEOL, Tokio, Japonia).

W uzyskanym widmie rentgenowskim każdej próbki zidentyfikowano pierwiastki, przypisując je do poszczególnych pików energii i dokonano oceny ilościowej na podstawie ich intensywności. Wyniki odniesiono do widm energii kalibracji zawartych w bibliotece urządzenia. Analizę jakościową i ilościową zawartości pierwiastków przeprowadzono w różnych punktach powierzchni każdej próbki, a otrzymane wyniki wyrażono w postaci wartości średniej z pomiarów.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu oprogramowania MATLAB (wersja R2018b; MathWorks Inc., Natick, MA). Różne grupy pomiarów porównano za pomocą testu Z, który pozwala określić, czy dwie grupy pomiarów mają taki sam rozkład.

Statystykę z wyliczono przy użyciu wzoru:

$$Z_{ij} = \frac{\bar{x}_i - \bar{x}_j}{\sqrt{\sigma_i^2 + \sigma_j^2}}$$

gdzie $\bar{x}_i$ i $\bar{x}_j$ są wartościami średnimi i-tego i j-tego zbioru danych, a σ_i i σ_j ich błędami standardowymi. Odpowiednią wartość p wyliczono przy użyciu skumulowanej funkcji dystrybucji (CDF, funkcja MATLAB „cdf”) standardowego rozkładu normalnego. Za znamienne statystycznie uznano wartość $P \leq 0,05$. Nie prowadzono porównań w grupach, w których nie można było uzyskać wartości pomiaru ze względu na zbyt niskie stężenie pierwiastków.

3.2.7. Spektroskopia Ramana

Pomiary spektroskopii ramanowskiej przeprowadzono na osuszonej powietrzem drugiej części zębiny kontrolnej oraz na cząstkach zębiny rozdrobnionych w BM, TT i SDG za pomocą spektrometru DXR SmartRaman (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) przy użyciu lasera diodowego o długości fali wzbudzenia 785 nm.

Zmieloną zębinę badano w uchwycie na peletki. Zawiera on wyjmowany metalowy dysk, w którym sproszkowane próbki mogą zostać sprasowane w celu utworzenia peletek. Sproszkowane próbki umieszczano w powyższym uchwycie, a do pomiarów stosowano Sampler 180 Degree Sampling Accessory. W celu uzyskania widm o wysokim stosunku sygnału do szumu (S/R) każde widmo Ramana uzyskano z 32 ekspozycji próbek; długość każdej ekspozycji podczas zbierania danych ustalono na 60 s. Całkowity czas akwizycji wynosił zatem 32 minuty dla każdego widma. Wszystkie widma Ramana zapisano w formacie SPA, a analizę końcową przeprowadzono przy użyciu oprogramowania Omnic for dispersive Raman 9.0.

Po zebraniu danych jako wzorzec wewnętrzny do normalizacji widm wykorzystano pasmo ześrodkowane na ok. 957 cm^{-1} . Stopień mineralizacji próbki (DM) wyliczano za pomocą następującego wzoru:

$$DM (\%) = \left(1 - \frac{I_{2900}}{I_{957}}\right) \times 100$$

gdzie I_{957} to szczyt intensywności pasma wyśrodkowanego na 957 cm^{-1} , a I_{2900} to intensywność pasma zlokalizowanego wokół 2900 cm^{-1} .

3.2.8. Przygotowanie tkanki do badań histologicznych – Publikacja II

Po otrzymaniu próbek pobrany materiał utrwalano w 10% formaldehydzie i odwapniano poprzez zanurzenie na tydzień w odczynniku TBD-1 Rapid Decalcifier, zawierającym kwas wersenowy (EDTA) i rozcieńczony kwas solny.

Odwapnione próbki poddano następnie typowej procedurze histologicznej odwadniania tkanek w automatycznym systemie Chandon Citadela 2000 przy użyciu frakcjonowanych stężeń etanolu (w zakresie od 70 do 100%). Odwodnione próbki zatapiano w bloczkach parafinowych za pomocą stacji TEC-2800 Embedding Center, cięto na pięćmikrometrowe skrawki za pomocą Microm HM 350S i osadzano na szkiełkach. Preparaty poddawano odparafinowaniu i ponownemu uwodnieniu, a następnie rutynowo barwiono hematoksyliną i eozyną (HE) lub tróchromianem Massona [33].

Dokumentację fotograficzną wykonano przy użyciu mikroskopu Olympus BX43ZE i oprogramowania Olympus Cell Sense. Średnia wielkość próbki otrzymanej z DDC wynosiła ~2 mm. Do badania używano fragmentu ze środkowej części każdej próbki.

4. WYNIKI

Publikacja I

4.1. Dane kliniczne

Zebrane dane kliniczne przedstawiono w Tab. II (BM), Tab. III (TT) i Tab. IV (SDG). Oznakowanie zębów podano zgodnie z powszechnie znanym dwucyfrowym systemem numeracji FDI. U wszystkich 70 pacjentów uzyskano skuteczną regenerację kości wyrostków zębodołowych i prawidłową osteointegrację wszystkich 84 implantów. W żadnym z badanych przypadków nie wystąpiły w okresie rekonwalescencji istotne powikłania, które mogłyby wpłynąć na ocenę gojenia u danego pacjenta.

Opierając się na wynikach badania radiologicznego (CBCT), w większości przypadków wszczepienie implantu można było dokonać po okresie ~3 miesięcy. W okresie obserwacji nie zaobserwowano ubytków brzeżnych kości wokół implantów, które zostały wprowadzone do kości augmentowanej za pomocą DDM i DM. W przypadkach pacjentów, u których wykonano jedynie zabiegi augmentacji, nie odnotowano istotnej resorpcji kości w trakcie obserwacji, niezależnie od zastosowanej metody. Wymiary wyrostka zębodołowego w wymiarze pionowym i poziomym zostały zachowane lub nawet uległy zwiększeniu po 3-4 miesiącach od regeneracji kości i pozostały stabilne po co najmniej 6 miesiącach od wszczepienia implantu.

Wszyscy pacjenci, u których wykonano wyłącznie augmentacje przy użyciu DM po okresie od 3-6 miesięcy, zostali zakwalifikowani do wszczepienia implantu. U pacjentów, u których wszczepiono implanty, w większości przypadków część protetyczną prac można było rozpocząć po 3 miesiącach w obrębie żuchwy i po około 4 miesiącach w obrębie szczęki.

W niniejszej pracy potwierdzono skuteczność wszystkich trzech urządzeń w przygotowaniu materiału do zabiegów augmentacji kości i wszczepienia implantów, ponieważ nie odnotowano żadnych niepowodzeń.

Numer pacjenta	Wiek	Płeć [M/K]	Diagnoza	Miejsce augmentacji/implantacji	Źródło macierzy zębinowej	Szerokość implantu [mm]	Długość implantu [mm]
1	43	K	Złamanie korzenia	21	21	3,8	13
2	44	M	Złamanie korony	24	24	3,8	11,5
3	29	M	Zmiany osteolityczne	11	11,28	4,5	13
4	66	K	Złamanie korony	26	roots of 26	4,5	8,5
5	51	K	Zgorzel miazgi	16	16	4,5	10
6	36	K	Złamanie korzenia	15	15	4,5	7
7	64	M	Zmiany osteolityczne	16	16	5	11,5
8	47	K	Zmiany OKW	11,21	11,21,28	11,3,8,21,3,8	11,13;21,13
9	56	K	Zmiany OKW	11,21,23,25	11,21,23,25,27	11-4,5,21-4,5,23-4,5,25-3,8	11-11,5,21-11,5,23-11,5,25-10
10	65	K	Choroba przyzębia	13-21	13,12,11	13-4,5,12-4,0,21-4,0	13-11,5,12-13;21-13
11	72	M	Choroba przyzębia	16, 14,21,22,23,25,26	14,21,22,23,25,26	16- 5,0; 14-4,5,21-3,8,22-3,8,23-4,0,25-4,5,26-4,1	16-13,14-13,21-11,5,22-13;23-13,25-13,26-8
12	59	K	Choroba przyzębia	16,17, 21,23,25	17, 16, 21,27	23-3,8; 25- 4,0	23 - 11,5; 25-10
13	43	K	Zgorzel miazgi	23,25	17	23-3,3,25-3,3	23-13;25-10
14	51	K	Choroba przyzębia	25,26	25,26	25-4,5,26,5,0	25-11,5;26,8,5
15	51	K	Zmiany OKW	43, 46,47	36,37	4,3-3,8,46-4,0,47-4,0	43-13,46-10,47-10
16	38	M	Choroba przyzębia	43, 45,32,34,37	34,35,37,43	43-4,0,45-4,5,32-4,0,34-5,0,3,7-5,0	43-11,5,4,5,8,5,32-11,5,34-11,5,37-8,5
17	43	K	Periimplantitis	44, 47	18,35	44 - 3,8 47 - 4,5	44 - 8,5; 47-7,5
18	31	M	Zanik kości w wyniku ekstrakcji	46-36	48,46	46,36 - 4,5	46,36-13
19	47	K	Choroba przyzębia	46,44,41,31,34,36	45,44,43,41,42,31,32,33,34,35	46-4,0,44-4,5,41-4,0,31-4,5,34-4,5,36-4,0	46-10; 44-13,41-13,31-11,34-11,5,36-10
20	57	K	Choroba przyzębia	45,37	45,37	45-4,5,37-4,0	45-4,5,37-8,5
21	72	M	Torbiel przy zatrzymanym zębie	38	38		
22	67	K	Zatrzymany ząb	28	28		
23	37	M	Choroba przyzębia	17,15,14,13,22,25,27	17,15,14,13,22,25,27		
24	69	K	Zanik kości w wyniku ekstrakcji	36	28		
25	33	K	Torbiel korzeniowa	35,36	35,36		
26	38	M	Zmiany OKW	15,27,47	15,27,47		
27	64	K	Choroba przyzębia	14,25,27	14,25,27		
28	47	M	Periimplantitis	46	38		
29	27	K	Zatrzymany ząb w podniebieniu	15	15		
30	77	M	Duża torbiel korzeniowa	14,11	14,13,12,11		
31	54	K	Zmiany OKW	16	17		
32	64	M	Torbiel korzeniowa	14-11	16,14,12,11,21,24,25,27		
33	66	K	Choroba przyzębia	47-44	48,46		
34	31	M	Zgorzel miazgi	14,15,24	16, 14,24		
35	69	K	Duża torbiel korzeniowa	13-22	16,13,21		
36	40	K	Zatrzymany ząb w podniebieniu	25	25		
37	39	M	Duża torbiel korzeniowa	16	18,16		
38	56	M	Choroba przyzębia	11,21	11,21		

Tabela II. Dane kliniczne pacjentów, u których użyto urządzenia BonMaker.

Numer pacjenta	Wiek	Płeć [M/K]	Diagnoza	Miejsce augmentacji/implantacji	Źródło macierzy zębinowej	Szerokość implantu [mm]	Długość implantu [mm]
1	39	M	Radix relicta	12	12	4	13
2	35	K	Złamanie korzenia	12	18 48	4,5	14
3	47	K	Zgorzel miazgi	16	16 28	4,5	8,5
4	69	K	Choroba przyzębia	12, 14	12, 14	12-3,8;14-3,8	12-11,5;14-11,5
5	58	K	Choroba przyzębia	13,12,11,21,22,23,28	13,12,11,21,22,23,28	13-3,8;11-3,8;21-4,0;23-3,8	13-11,5;11-13;21-12,5;23-11,5
6	62	M	Choroba przyzębia	44,41,31,34	44,41,31,34	41,3,8;31-3,8;44-3,8;34-3,8	41-13;31-13;44-11,5;34-11,5
7	63	M	Choroba przyzębia	23,25	23 24,37	25-4,5;23-4,0	25-8,5;23-10
8	72	M	Choroba przyzębia	16,17	16,17	16-4,5;17-5,0	16-8,5;17-8,5
9	64	M	Zmiany OKW	23,25	17	23-3,3;25-3,3	23-13;25-10
10	50	K	Choroba przyzębia	17-23	17,16,14,11,21,22,23,		
11	36	K	Torbiel Korzeniowa	14	18,14		

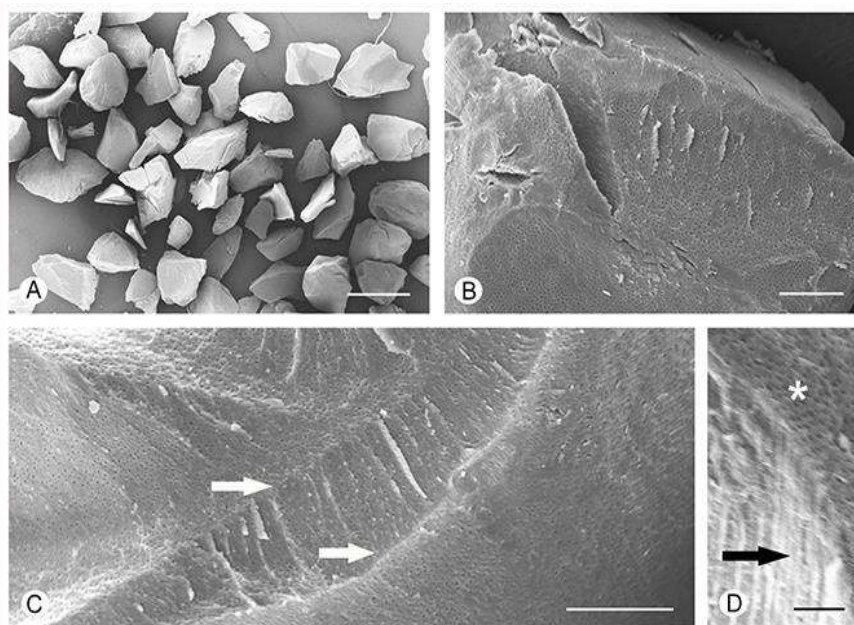
Tabela III. Dane kliniczne pacjentów, u których użyto urządzenia Tooth Transformer.

Numer pacjenta	Wiek	Płeć [M/K]	Diagnoza	Miejsce augmentacji/implantacji	Źródło maderzy zębinowej	Szerokość implantu [mm]	Długość implantu [mm]
1	55	K	Torbiel korzeniowa	35	35	4,5	11,5
2	41	K	Torbiel korzeniowa	16	16	5	7
3	67	K	Torbiel korzeniowa	17,16,25,26	16,17,27	17;5,0;16;5,0;25;3,8;26;3,8	17;10;16;11,5;25;11,5;26;11,5
4	30	K	Zatrzymany kieł	13	13, 53	3,8	13
5	65	K	Choroba przyzębia	17	47,37	5	10
6	29	K	Złamanie korony	21	21,38	3,8	13
7	42	M	Zmiany OKW	14-15	18,16	14;4,0;15;4,5	14;8,5;15;7
8	30	M	Zatrzymany ząb mądrości	38	38		
9	25	K	Torbiel korzeniowa	16	16		
10	58	K	Choroba przyzębia	24-26	42,41,31,32		
11	50	K	Radix relicta	23-26	23,26		
12	37	M	Torbiel korzeniowa	12	18,17,16,12,47		
13	63	K	Radix relicta	14	14		
14	65	K	Radix relicta	25	38,25		
15	47	K	Zmiany OKW	36,37	18,36,37		
16	35	M	Zmiany OKW	14	18,14		
17	66	M	Torbiel korzeniowa	12	12,22,24		
18	35	M	Zgorzel miazgi	16	16		
19	30	K	Zatrzymany kieł w żuchwie	43	43		
20	57	K	Choroba przyzębia	24-27	41,42,47,24		
21	22	M	Torbiel korzeniowa	11,21	11,21, mesiodens		

Tabela IV. Dane kliniczne pacjentów, u których użyto urządzenia Smart Dentin Grinder

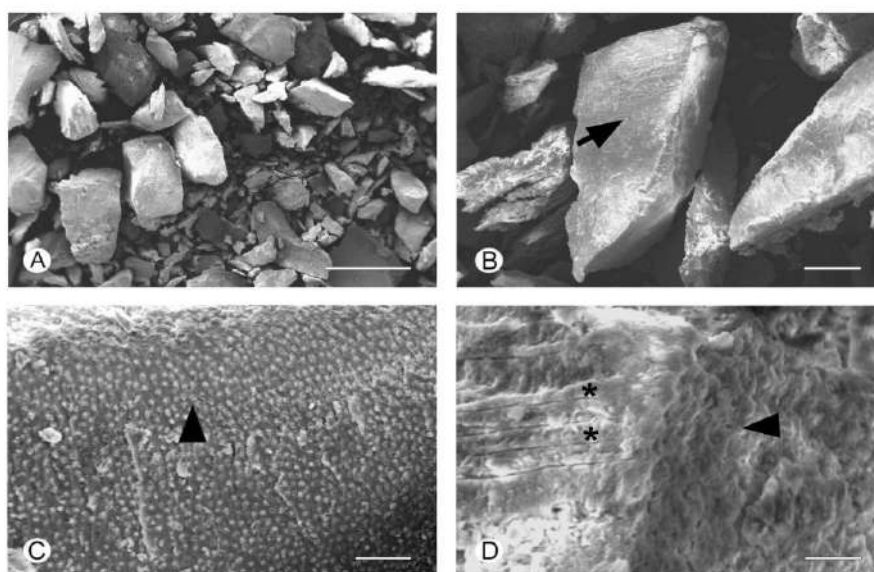
4.2. Skaningowa mikroskopia elektronowa

Gdy obserwowano w SEM próbki otrzymane za pomocą BM, w mniejszym powiększeniu (Ryc. 7A) cząstki wykazywały raczej jednorodną wielkość, wahającą się od 500 do 1000 μm . W większym powiększeniu (Ryc. 7B) niektóre cząstki wykazywały nieregularne brzegi, na których widoczne były ujścia kanalików zębinowych. Inne cząstki wykazywały schodkowy kształt brzegów (Ryc. 7C). W większym powiększeniu (Ryc. 7D) widoczne były ujścia kanalików zębinowych i/lub same kanaliki, zgodnie z płaszczyzną rozdrabniania.



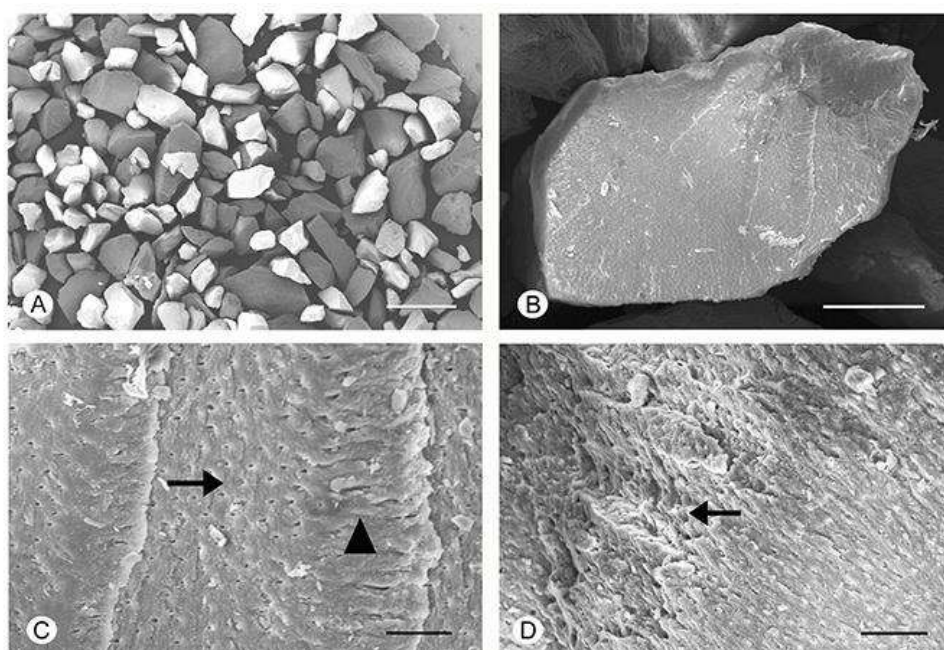
Rycina 7. Obraz SEM z próbki BonMaker.

W próbkach uzyskanych za pomocą TT obserwacja w SEM wykazała w mniejszym powiększeniu (Ryc. 8A) cząstki o różnych rozmiarach, od bardzo małych wielkości około 20-40 μm do większych –1000-1200 μm . Wszystkie cząstki wykazywały gładką powierzchnię (Ryc. 8B); w większym powiększeniu widoczne były ujścia kanalików zębinowych (Ryc. 8C). Obecne były okrągłe krawędzie kanalików zębinowych i kanalików podłużnych, zgodnie z płaszczyzną rozdrabniania (Ryc. 8D).



Rycina 8. Obraz SEM z próbki Tooth Transformer.

W próbkach uzyskanych za pomocą SDG obserwacja w SEM wykazała, że w mniejszym powiększeniu (Ryc. 9A) cząstki miały ostre krawędzie i rozmiary w zakresie od 300 μm do 1300 μm . Powierzchnia każdej cząstki była na ogół płaska, z okazjonalnymi linijnymi wypukłościami (Ryc. 9B), które w większym powiększeniu (Ryc. 9C) miały kształt blaszkowaty z widocznymi kanalikami zębiny i ich ujściami. Inne cząstki wykazywały głębsze i regularne bruzdy, szczególnie na bocznych powierzchniach (Ryc. 9D).



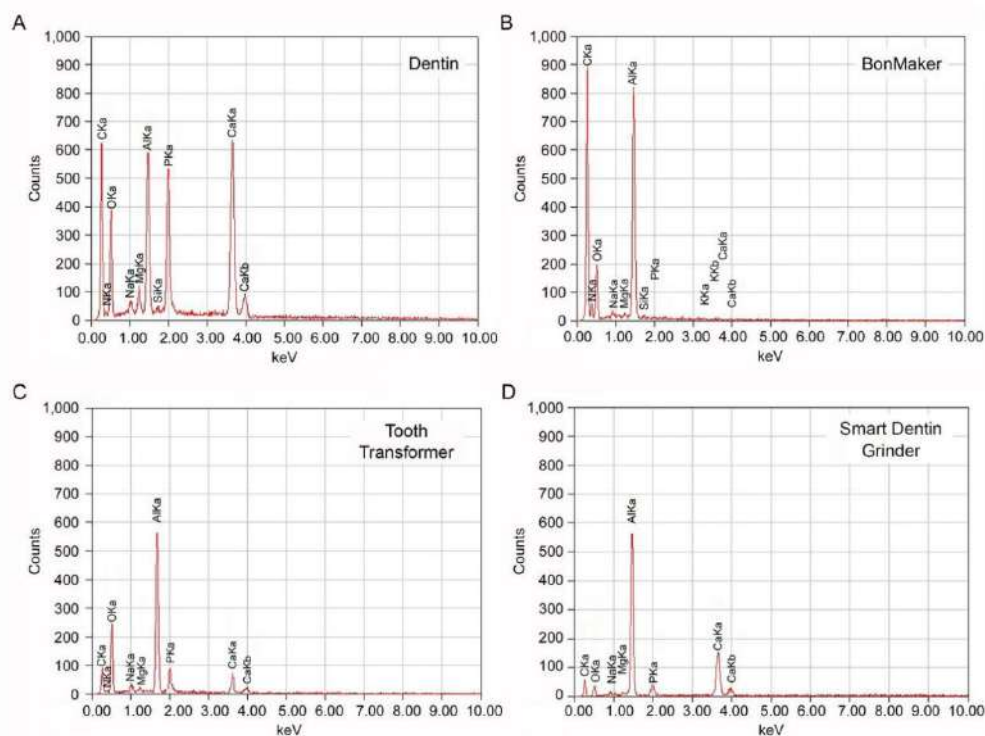
Rycina 9. Obraz SEM z próbki Smart Dentin Grinder.

4.3. Spektroskopia rentgenowska z dyspersją energii

Analizę za pomocą EDX zastosowano w celu oceny składu pierwiastkowego cząstek rozdrobnionych w urządzeniach BM, TT, SDG i porównania z zębina kontrolną. Uzyskane wyniki przedstawiono na Ryc.10. Zawartości Al ($K\alpha$) nie uwzględniano, ponieważ pierwiastek ten występował w stolikach, na których osadzano próbki.

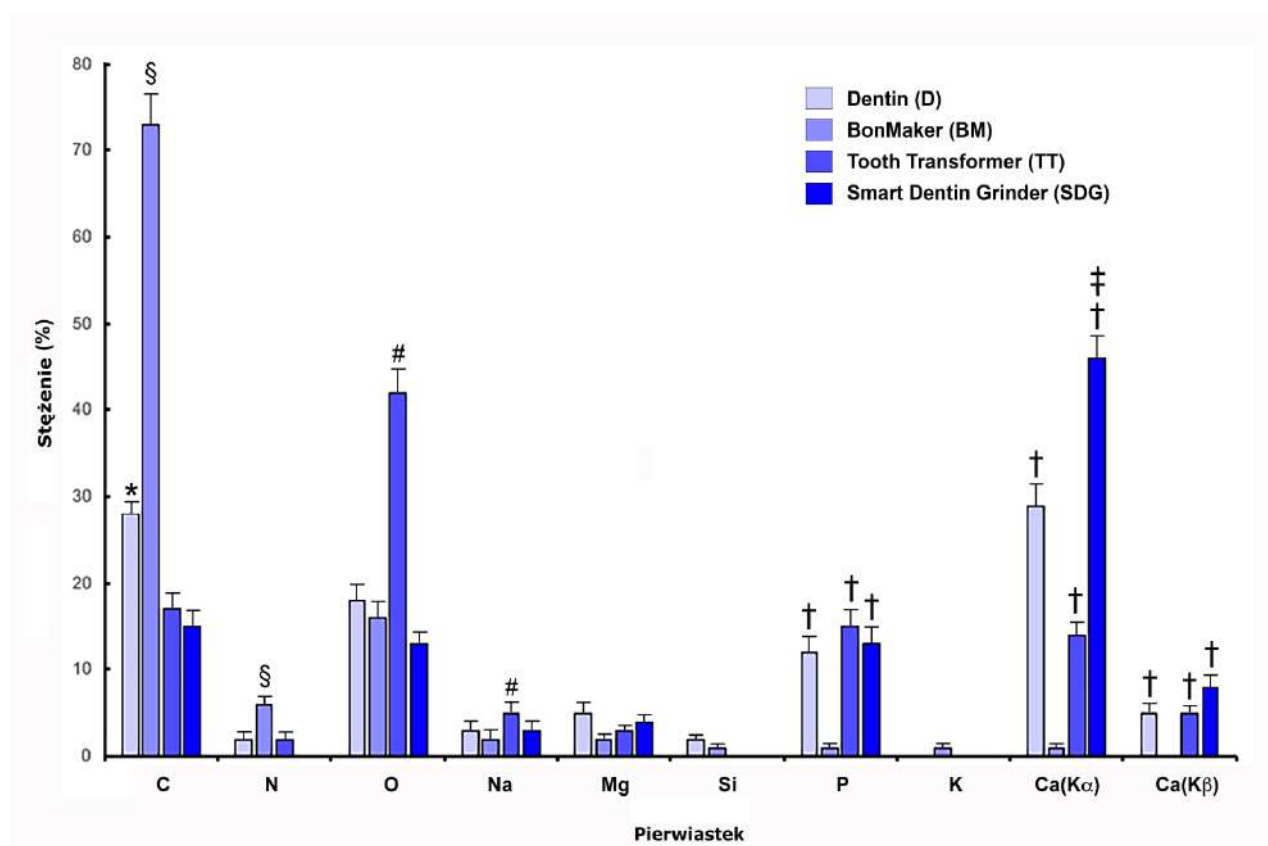
W próbce zębiny naturalnej (Ryc. 10A) głównymi składnikami były: C, O, P i Ca. Wysokie stężenie Ca i P odzwierciedlało zawartość składników mineralnych w próbce. Natomiast w próbkach pochodzących z BM (Ryc. 10B) głównymi pierwiastkami były C i O z jedynie niewielkimi śladami N, Mg i Si, co wskazuje na głęboką demineralizację badanej próbki. *De facto* nie wykryto w nich Ca i znaleziono tylko śladowe ilości P.

Również próbki pochodzące z TT wykazały demineralizację, choć nie tak skuteczną, jak w BM (Ryc. 10C), zawartość Ca ($K\alpha$) była o połowę mniejsza w porównaniu z próbkami zębiny naturalnej, a zawartość P i Ca ($K K\alpha$) była odsetkowo porównywalna. W próbkach pochodzących z SDG (Ryc. 10D) pierwiastkiem zawartym w najwyższych ilościach był Ca, którego zawartość procentowa była wyższa niż 50%. Wykryto również C, O i P, przy czym wartości procentowe były bliższe zawartości tych pierwiastków w zębinie naturalnej.



Rycina 10. Wyniki analizy rentgenowskiej z dyspersją energii. A: Analiza składu pierwiastkowego zębiny. B: Analiza składu pierwiastkowego pokruszonych cząstek z BM. C: Analiza składu pierwiastkowego cząstek z TT. D: Analiza składu pierwiastkowego cząstek z SDG.

Analiza statystyczna (Ryc. 11) wykazała, że stężenie C wykazywało znamienne różnice ($P < 0,05$) dla wszystkich porównań, z wyjątkiem TT i SDG ($P = 0,02$). W przypadku N statystycznie znamienne różnice zaobserwowano tylko dla BM w porównaniu z pozostałymi grupami, podczas gdy w przypadku O i Na – tylko w próbkach z TT w porównaniu z innymi grupami. Nie stwierdzono istotnych różnic między grupami dla Mg, Si i K ($P > 0,05$). Jeśli chodzi o P i Ca ($K\beta$), statystycznie znamienne były tylko różnice ich wartości pomiędzy próbkami zębiny naturalnej, materiału z TT, SDG i materiału z BM. Wreszcie dla Ca ($K\alpha$) zaobserwowano istotne różnice między wszystkimi grupami.

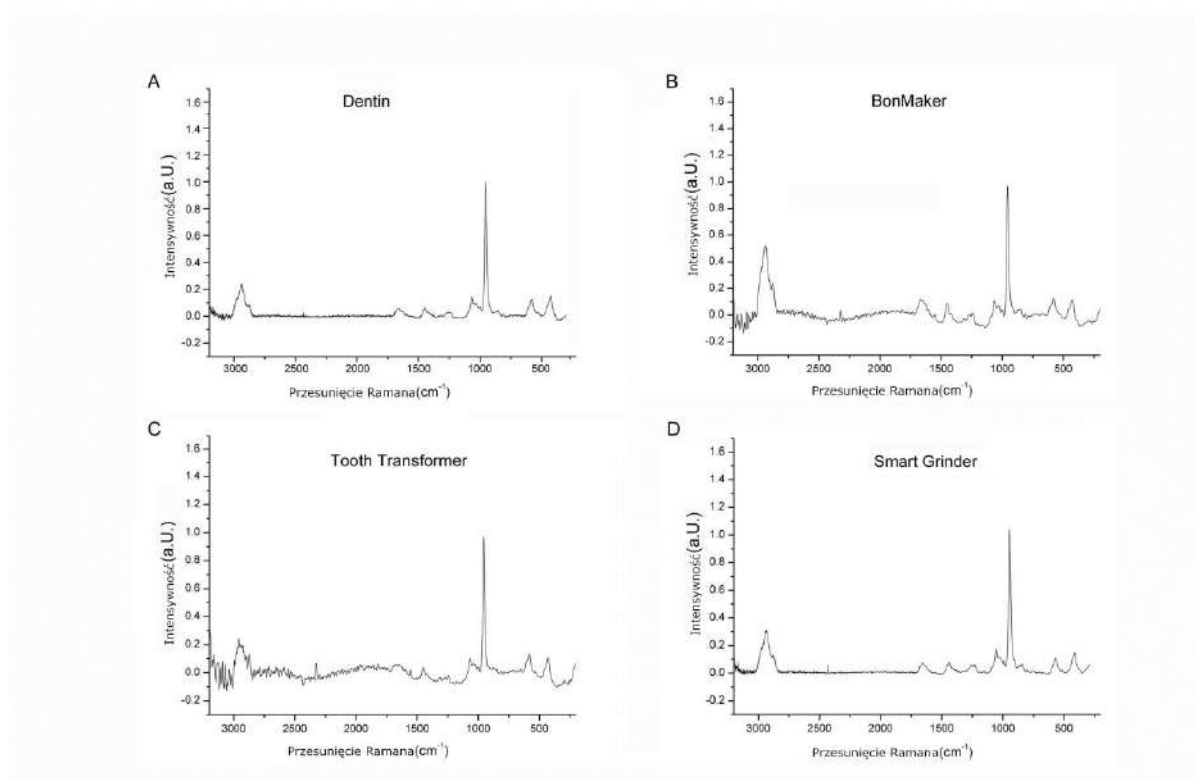


Rycina 11. Stężenie procentowe i ocena statystyczna wykrytych pierwiastków w próbkach badanych metodą EDX-SEM.

4.4. Analiza spektroskopowa Ramana

Średnie wartości widma zębiny kontrolnej (Ryc. 12A) i cząstek pochodzących z BM (Ryc. 12B), TT (Ryc. 12C) i SDG (Ryc. 12D) określono za pomocą oprogramowania OMNIC for dispersive Raman 9.0 i otrzymane widma obserwowano w zakresie liczb falowych pomiędzy 3200 a 200 cm^{-1} . Zakresy liczb falowych i ich względne przyporządkowanie zgodnie z piśmiennictwem podano w Tabeli V.

Najbardziej intensywnym pasmem był silny obszar ześrodkowany na 957 cm^{-1} ze względu na składnik nieorganiczny, odpowiadający fosforanowi $\nu_1(\text{PO}_4)^{3-}$, którego użyto do normalizacji wszystkich widm. Dominujące przejście fosforanu $\nu_1(\text{PO}_4)^{3-}$ wynika z całkowicie symetrycznych (niezdegenerowanych) odcinków wiązań P-O. Inne tryby oscylacji fosforanu związane z nieorganicznym składnikiem mineralnym to przejście fosforanu $\nu_2(\text{PO}_4)^{3-}$ z powodu podwójnie zdegenerowanych wiązań O-P-O oraz przejście fosforanu $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$ z powodu potrójnie zdegenerowanych wiązań O-P-O. Kolejny silny sygnał Ramana wykryto w obszarze liczby falowej $2843\text{--}3005\text{ cm}^{-1}$. Regionowi temu przypisano drgania rozciągające CH_2 , charakterystyczne dla składnika organicznego, wraz z pikami związanymi ze składnikiem organicznym zębiny, które były związane z drganiami grup NH pasma amidowego III (zakres liczby falowej $1213\text{--}1298\text{ cm}^{-1}$), drganiami kołyszącymi CH_2 (zakres liczby falowej $1432\text{--}1468\text{ cm}^{-1}$) i rozciąganiem wiązań C=O pasma amidowego I (zakres liczby falowej $1583\text{--}1717\text{ cm}^{-1}$).



Rycina 12. Średnie wartości widma zębiny kontrolnej (Ryc. 12A) i cząstek pochodzących z BM (Ryc. 12B), TT (Ryc. 12C) i SDG (Ryc.12D). Otrzymane widma obserwowano w zakresie liczb falowych pomiędzy 3200 a 200 cm^{-1} .

Zakresy liczb falowych(cm^{-1})	Przyporządkowanie	Piśmiennictwo
400–474	$(\text{PO}_4)^{3-}$ ν_2 fosforan	[34]
555–625	$(\text{PO}_4)^{3-}$ ν_4 fosforan	[35]
942–970	$(\text{PO}_4)^{3-}$ ν_1 fosforan	[34]
1049–1083	$(\text{CO}_3)^{2-}$ ν_1 węglan	[36]
1213–1298	Amide III (grupa amidowa)	[37]
1432–1468	CH_2 drgania kołyszące	[35,36]
1583–1717	Amide I ($\text{C}=\text{O}$) (grupa amidowa)	[34, 35]
2843–3005	CH_2 drgania rozciągające	[34-37]

Tabela V. Zakresy liczb falowych i ich względne przyporządkowanie, zgodnie z piśmiennictwem.

Kolejny silny sygnał Ramana wykryto w obszarze liczby falowej 2843–3005 cm^{-1} . Regionowi temu przypisano drgania rozciągające CH_2 , charakterystyczne dla składnika organicznego, wraz z pikami związanymi ze składnikiem organicznym zębiny, które były związane z drganiami grup NH pasma amidowego III (zakres liczby falowej 1213–1298 cm^{-1}), drganiami kołyszącymi CH_2 (zakres liczby falowej 1432–1468 cm^{-1}) i rozciąganiem wiązań $\text{C}=\text{O}$ pasma amidowego I (zakres liczby falowej 1583–1717 cm^{-1}).

W Tabeli VI podano odsetkowo stopień mineralizacji obliczony za pomocą równania opisanego w rozdziale „Materiał i Metody” dla każdej próbki analizowanej za pomocą spektrometru ramanowskiego, co potwierdziło skład fazy mineralnej naturalnej zębiny w porównaniu z próbkami otrzymanymi z badanych urządzeń [38].

Próbka	Mineralizacja(%)
Zębina	72 ± 4
BonMaker	45 ± 2.7
Tooth Transformer	60 ± 3.8
Smart Dentin Grinder	69 ± 4.2

Tabela VI. Stopień mineralizacji wyrażony w procentach. Obliczenia uzyskano za pomocą wzoru opisanego w Materiałach i Metodach dla każdej próbki przy użyciu spektroskopu Ramana.

Publikacja II

4.5. Badania histologiczne

4.5.1. BonMaker – BM (Ryc. 13-15)

Preparaty wybarwione metodą standardową (H-E) oraz trójkromianem Massona wykazały, że większość zębiny (D) została otoczona kością, na powierzchni której obserwowano osteoblasty (czarne strzałki). Wewnątrz kości widoczne były pojedyncze osteocyty (białe strzałki) otoczone jamkami kostnymi. Część zmielonej zębiny otoczona była tkanką łączną (C).

Ponadto w preparatach wybarwionych trójkromianem Massona można wyraźnie określić granice między nowo utworzoną kością (niebieski NB), a kością już zmineralizowaną (czerwony MB). Nie stwierdzono stanu zapalnego ani innych zmian patologicznych.

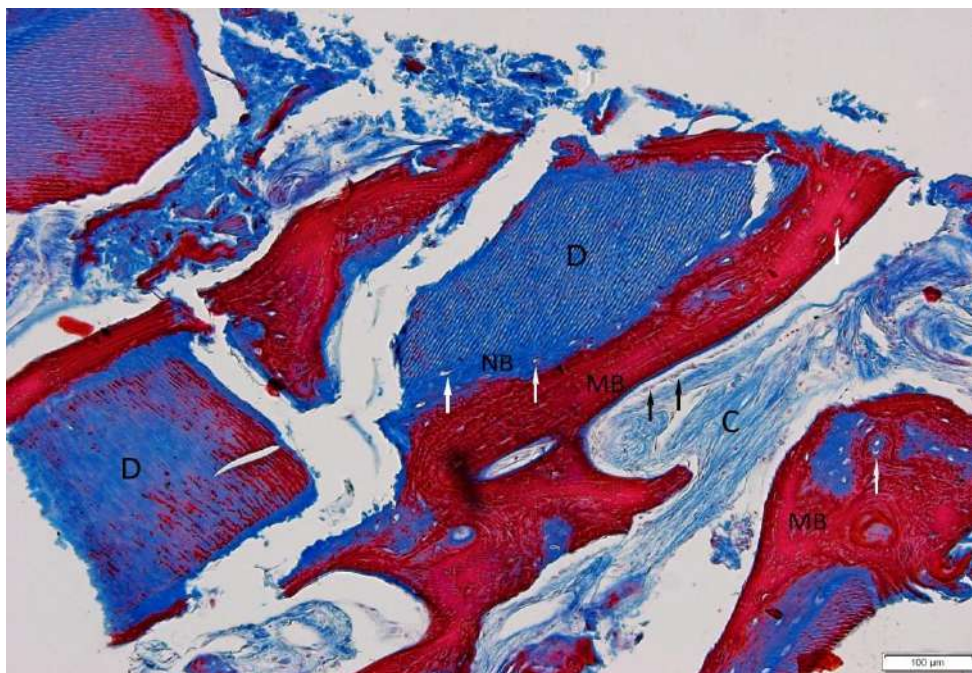
4.5.2. Tooth Transformer – TT (Ryc. 16-18)

Zarówno preparaty barwione H-E, jak i trójkromianem Massona wykazały, że fragmenty zmielonej zębiny (D) zostały skutecznie zintegrowane ze strukturą kości szczęki, przy czym jedynie niektóre były otoczone tkanką łączną (C), a większość nowo tworzącą się kością (NB). Było to szczególnie widoczne na preparatach wybarwionych trójkromianem Massona, w których ciemnoniebieski kolor nowych blaszek kostnych sąsiadował bezpośrednio z fragmentami zębiny (D).

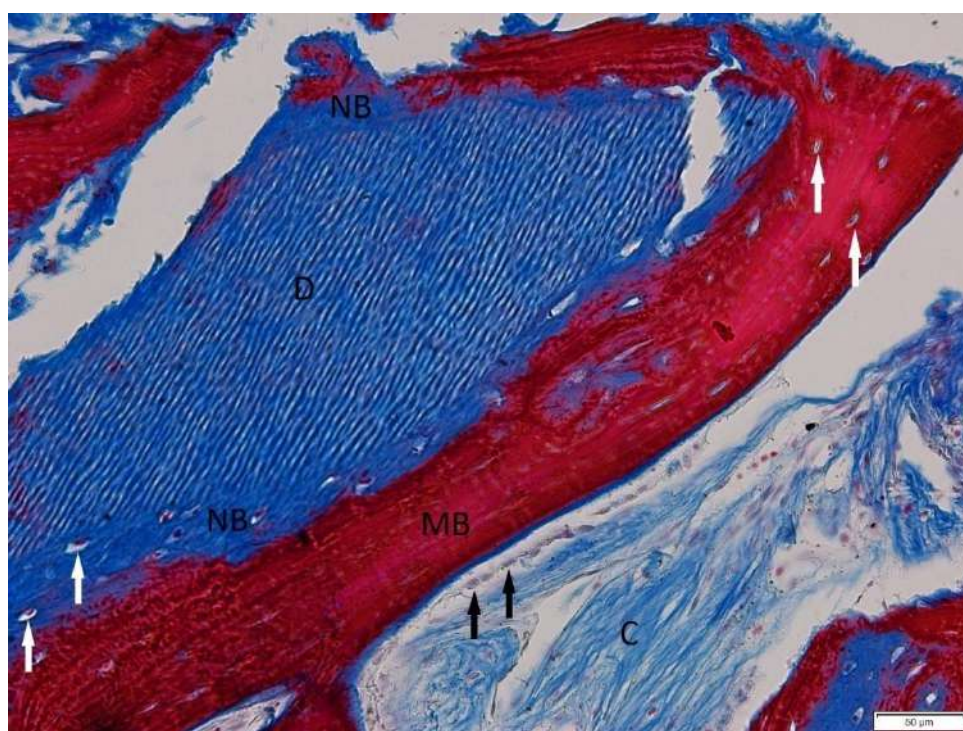
W strukturze nowo powstałej kości wyraźnie widoczne były osteocyty i osteoblasty. Żadna z tkanek nie wykazywała obecności stanu zapalnego ani innych zmian patologicznych.

4.5.3. Smart Dentin Grinder – SDG (Ryc. 19-21)

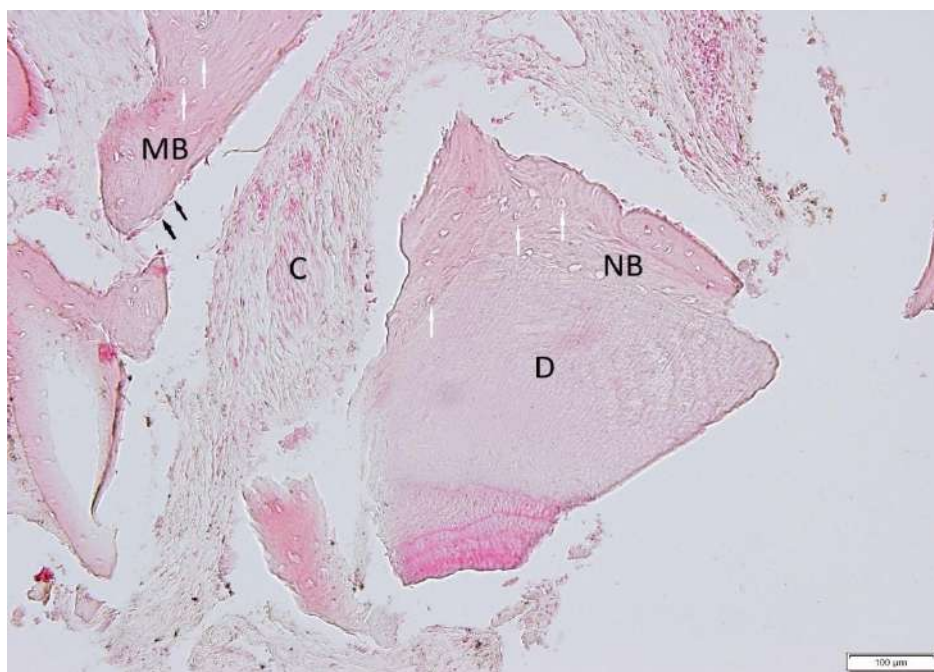
Większość fragmentów zębiny (D) otoczona była nowo utworzoną kością. Pojedyncze fragmenty były otoczone tkanką łączną (C). Zarówno w preparatach barwionych standardowo (H-E), jak i w barwionych trójkromianem Massona, wyraźnie widoczne były osteocyty (białe strzałki) wewnątrz tkanki kostnej i osteoblasty (czarne strzałki) na jej powierzchni. Ponadto obrazy preparatów wybarwionych trójkromianem Massona podkreślały różnicę między nowo utworzoną kością (NB, kolor niebieski) a kością w pełni zmineralizowaną (MB, kolor czerwony). Nie stwierdzono stanu zapalnego ani innych zmian patologicznych.



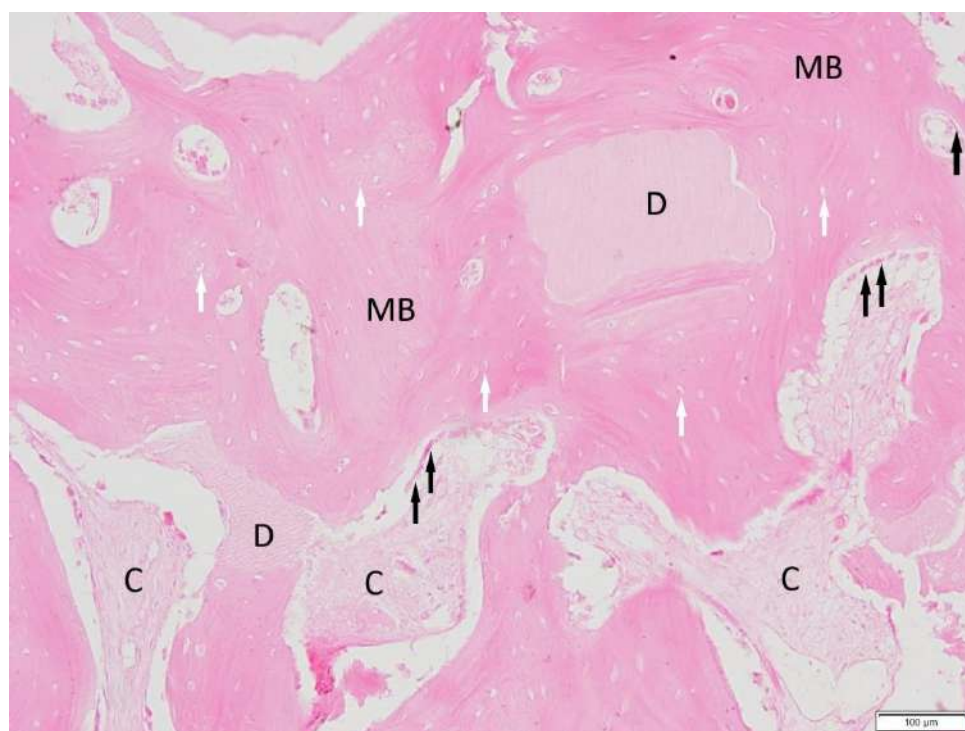
Rycina 13. Próbkę barwioną trójkromianem Massona – tkanka pobrana od pacjenta z grupy BM. (D) przeszczepiona zębina, (C) tkanka łączna, (NB) nowo utworzona kość, (MB) kość w pełni zmineralizowana (białe strzałki – osteocyty, czarne strzałki – osteoblasty). Powiększenie 10×.



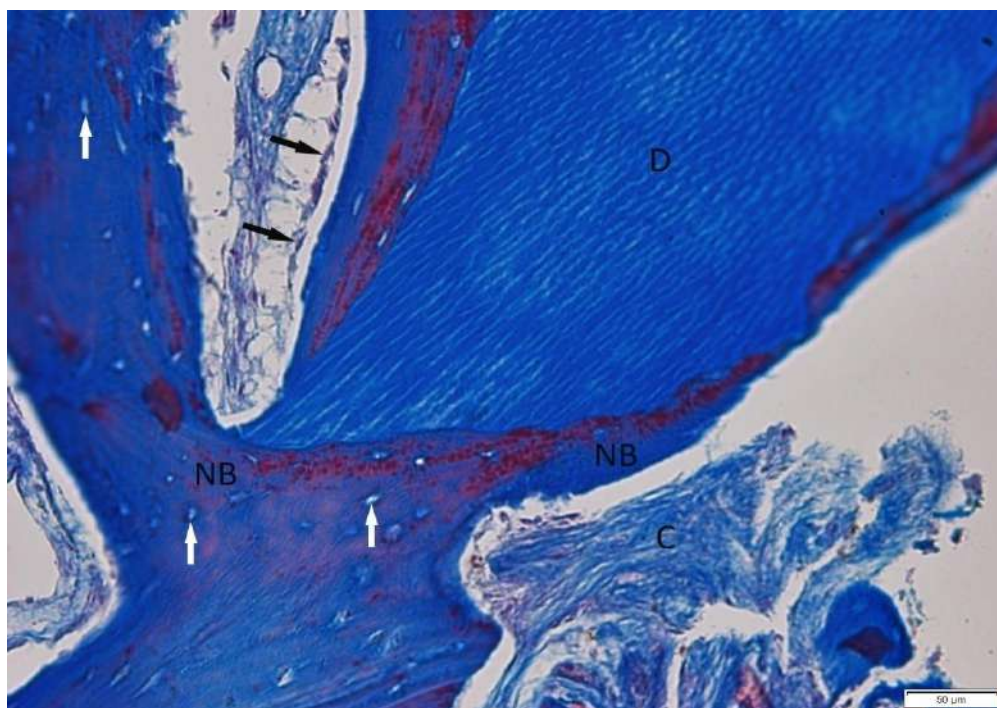
Rycina 14. Tkanka pobrana od pacjenta z grupy BM. Widoczne doskonałe zintegrowanie przeszczepionej zębiny (D) z nowo utworzoną kością (NB); (C) tkanka łączna, (MB) kość w pełni zmineralizowana (białe strzałki – osteocyty, czarne strzałki – osteoblasty). Powiększenie 20×.



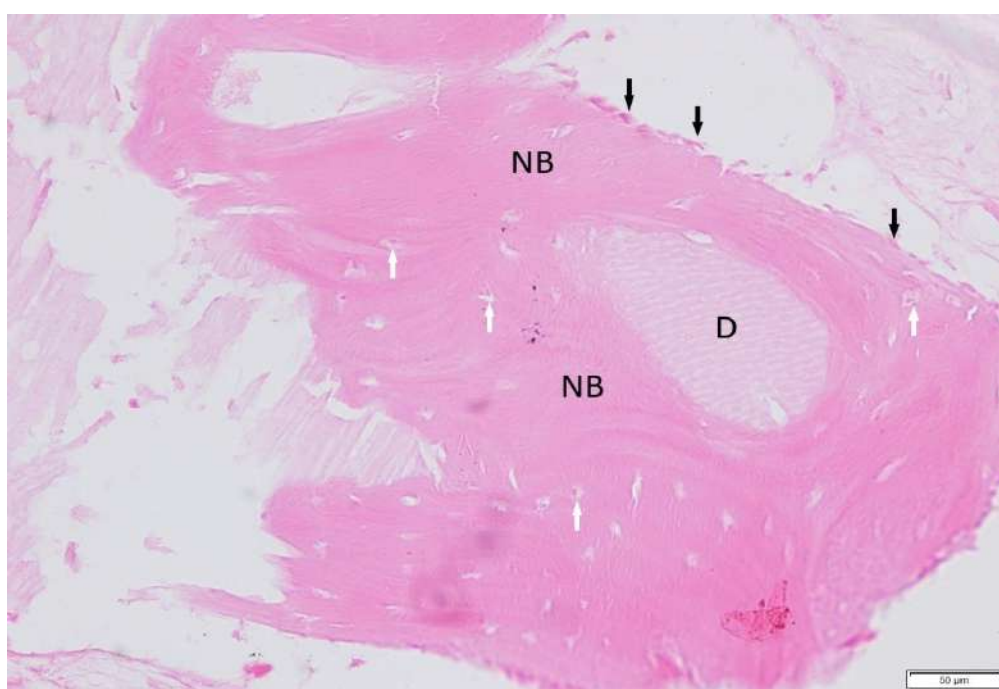
Rycina 15. Próbkę barwioną HE (BM). (D) przeszczepiona zębina, (C) tkanka łączna, (NB) nowo utworzona kość, (MB) kość w pełni zmineralizowana (białe strzałki – osteocyty, czarne strzałki – osteoblasty). Powiększenie 10×.



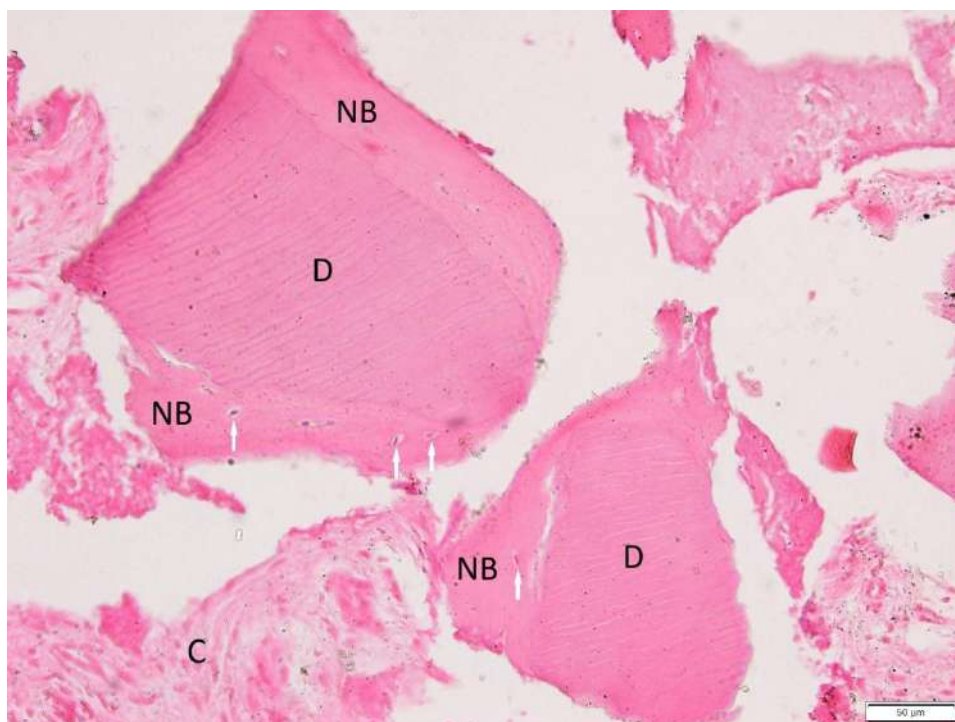
Rycina 16. Tkanka pobrana od pacjenta z grupy TT, wybarwiona HE. Część zębiny (D) jest otoczona kością (MB) i tkanką łączną (C). Czarne strzałki – osteoblasty, białe strzałki – osteocyty. Powiększenie 10×.



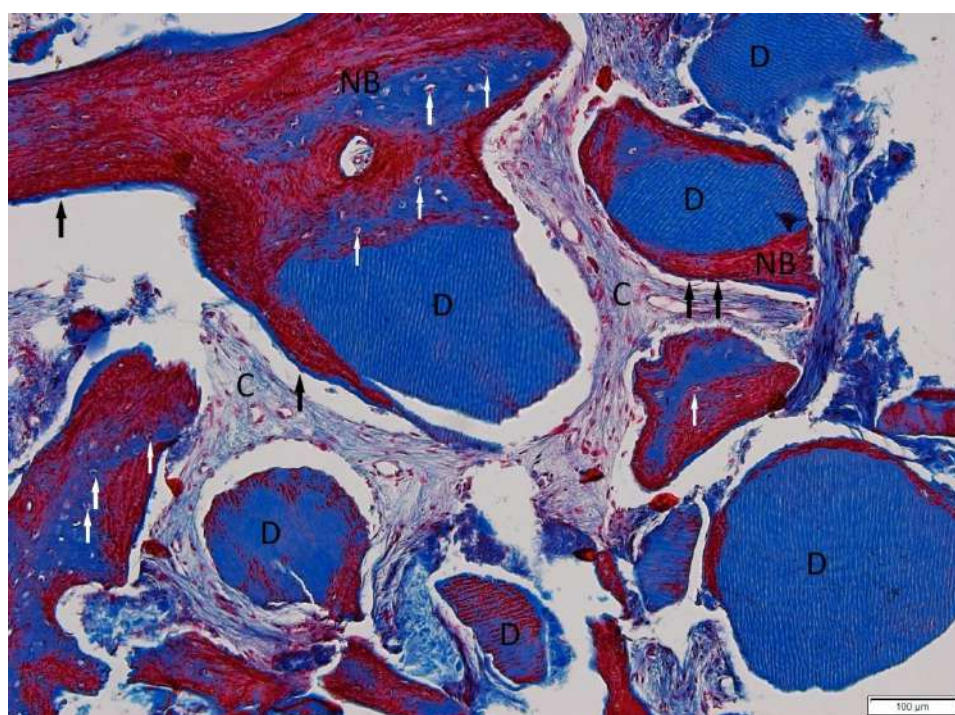
Rycina 17. Próbkę przygotowaną za pomocą TT, barwienie trójdymianem Massona. Widoczne doskonałe zintegrowanie przeszczepionej zębiny (D) z nowo utworzoną kością (NB); czarne strzałki – osteoblasty, białe strzałki – osteocyty, (C) tkanka łączna. Powiększenie 20×.



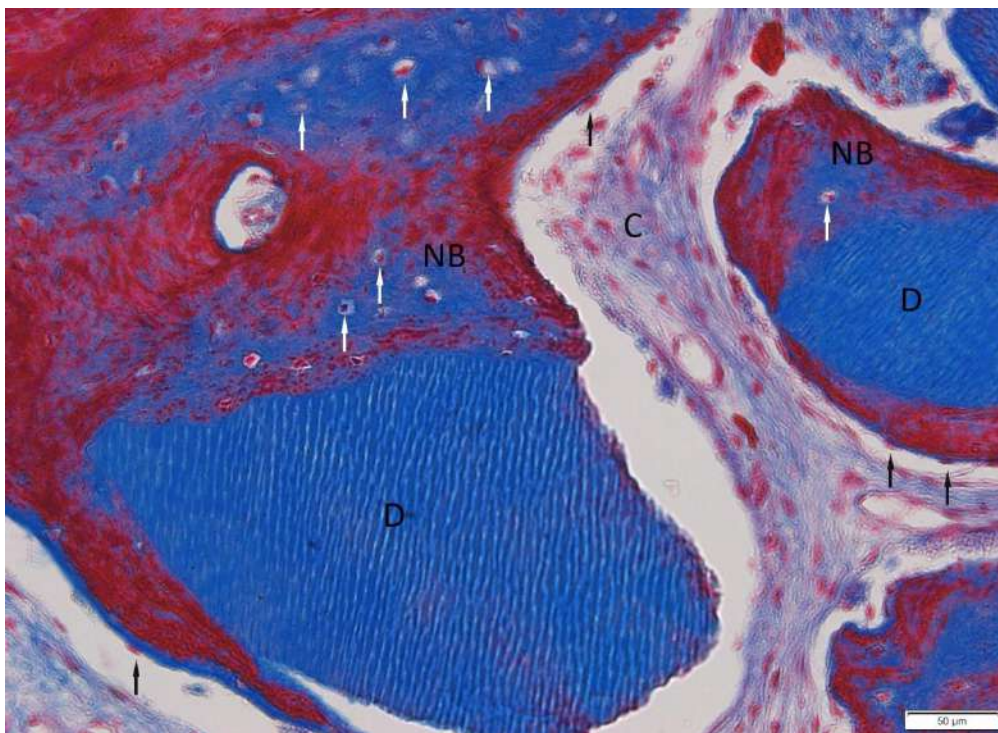
Rycina 18. Próbkę przygotowaną za pomocą TT, barwienie HE. Przeszczepiona zębina (D) jest dobrze otoczona nowo utworzoną kością (NB). Dobrze widoczne osteocyty (białe strzałki) i osteoblasty (czarne strzałki). Powiększenie 20×.



Rycina 19. Próbkę przygotowaną za pomocą SDG, barwienie HE. Dobrze widoczna przeszczepiona zębina (D), nowo utworzona kość (NB) i osteocyty (białe strzałki). Powiększenie 20×.



Rycina 20. Próbkę przygotowaną za pomocą SDG, barwienie trójkromianem Massona. Widoczne liczne cząstki przeszczepionej zębiny (D). Niektóre z nich są już otoczone tkanką kostną (NB, MB), podczas gdy inne tkanką łączną (C). Obecne osteocyty (białe strzałki) i osteoblasty (czarne strzałki). Powiększenie 10×.



Rycina 21. Próbkę przygotowaną za pomocą SDG, barwienie trójkolorowym Massona. Widoczne doskonale zintegrowanie przeszczepionej zębiny (D) z nowo utworzoną kością (NB); czarne strzałki - osteoblasty na powierzchni, białe strzałki - osteocyty, (C) tkanka łączna. Powiększenie 20×.

4.6. Ocena procesu gojenia

U wszystkich 39 pacjentów kość wyrostka zębodołowego została skutecznie zregenerowana zmieloną macierzą zębinową. W większości przypadków w okresie rekonwalescencji nie wystąpiły istotne powikłania, które mogłyby wpłynąć na ocenę gojenia pacjenta. W dwóch przypadkach utworzył się krwiak po ekstrakcji zatrzymanego trzeciego zęba trzonowego żuchwy, użytego jako materiał do augmentacji, ale nie wpłynęło to na proces gojenia. Pomijając te zdarzenia, żaden z pacjentów nie zgłaszał innych dolegliwości bólowych ani dyskomfortu.

Opierając się na wynikach badań radiologicznych (CBCT), w większości przypadków wszczepienie implantu można było przeprowadzić po okresie ok. 4 miesięcy. W przypadku natychmiastowego wszczepienia implantów obciążenie protetyczne było możliwe po 8-12 tygodniach. W okresie obserwacji nie zaobserwowano ubytków brzeżnych kości wokół implantów wprowadzonych do kości augmentowanej za pomocą DDM i DM.

W przypadku pacjentów, u których wykonano jedynie zabiegi augmentacji, w trakcie obserwacji nie zaobserwowano znaczącej resorpcji kości w obrębie miejsca regenerowanego, niezależnie od zastosowanej metody.

5. DYSKUSJA

Idealny substytut kości powinien spełniać kilka warunków, w tym mieć właściwości osteoindukcyjne, osteokondukcyjne i osteogenne. Powinien być biokompatybilny i łatwo dostępny [39]. Ponadto powinien w miarę upływu czasu w jak największym stopniu zachowywać swój kształt. W ostatnich latach przetworzona DM wytwarzana ze zmielonych zębów naturalnych okazała się wysoce skutecznym biomateriałem, który spełnia prawie wszystkie powyższe kryteria (z wyjątkiem właściwości osteogennych) oraz stanowi dobrą alternatywę dla szeroko opisanych materiałów kośćcizastępczych [40,41].

Badania Kima i wsp., którzy opracowali nowatorską metodę leczenia ubytków kostnych z wykorzystaniem zębiny autogennej, zachęciły innych naukowców z różnych części świata do opracowania urządzeń do sporządzania sterylnego materiału kostnego pochodzącego z własnych zębów pacjenta, co stało się obiecującą alternatywą dla tradycyjnego przeszczepu autogenego ze względu na łatwość i szybkość przygotowania oraz brak potrzeby wykonania dodatkowego zabiegu w celu pobrania kości [12,14].

Urządzenia do przygotowywania autogennej zębiny są dostępne na światowym rynku od dłuższego czasu, jednak w piśmiennictwie brakuje prac porównujących wszystkie z nich. Posiadanie wszystkich trzech urządzeń pozwoliło na wykonanie doświadczeń oraz umożliwiło ich porównanie w zastosowaniu klinicznym.

Publikacja I:

Badając cechy ultrastruktury cząstek uzyskanych za pomocą różnych urządzeń, SEM wykazała, że różnią się one kształtem i rozmiarem. W próbkach uzyskanych z BM większość cząstek wykazywała kształt geometryczny i raczej jednorodne rozmiary w zakresie od 500 do 1000 μm . W próbkach uzyskanych z TT cząstki były pryzmatyczne lub blaszkowate, a ich wielkość wahała się od bardzo małych (20–40 μm) do większych (1000–1200 μm). W próbkach ze SDG cząstki miały kształt geometryczny i mieściły się w zakresie wielkości od 300 do 1300 μm .

Odpowiednia forma i wielkość materiałów kośćcizastępczych oraz DM do zastosowania w leczeniu defektów kostnych była przedmiotem kilku badań. W rzeczywistości, choć opisywano znaczącą rolę cząstek kości bydlęcej o wielkości około 300 μm w tworzeniu kości w silnie zmineralizowanych tkankach, to optymalną regenerację kości z DM lub kości autogennej zaobserwowano przy użyciu cząstek większych, około 1000 μm , uzyskanych z kości królika lub z ludzkich zębów [25,42–44]. Dlatego rozmiar cząstek otrzymanych za pomocą trzech różnych

urządzeń ocenianych w badaniu można uznać za odpowiedni, by można je wykorzystać jako materiał na przeszczep pobudzający regenerację kości.

Badając w SEM cząstki uzyskane za pomocą trzech urządzeń, w większym powiększeniu stwierdzono dobrze widoczne kanaliki zębinowe. Struktury te biegną odśrodkowo od miazgi do granicy szkliwa i zębiny. Zawierają wyrostki odontoblastyczne oraz płyny tkankowe, które tworzą i utrzymują zębinę w należyтым stanie. Wokół każdego wyrostka dochodzi do mineralizacji macierzy zębiny i w ten sposób tworzą się kanaliki zębinowe [45].

Ważną cechą była obecność dobrze zachowanych kanalików zębinowych we wszystkich badanych preparatach. Wykazano bowiem, że w kontakcie zdemineralizowanego materiału zębinowego z obszarem ubytku kostnego, komórki mezenchymalne różnicują się w osteoblasty wydzielające macierz, w krótkim czasie ulegającą mineralizacji, a następnie przekształcają się w osteocyty. Wyrostki osteocytów tworzą sieć na powierzchni zębiny. Niektóre z nich sięgają do kanalików zębinowych i łączą się ze sobą, sięgając na około 5 μm od płaszczyzny styku [46]. Pod tym względem wszystkie próbki z badanych urządzeń wykazywały cechy morfologiczne wskazujące na obecność podłoża strukturalnego dla odpowiedniego wiązania zębiny z kością.

Innym aspektem godnym oceny jest znaczenie stopnia demineralizacji macierzy zębiny, związanego z czasem i zastosowanymi odczynnikami, które różnią się dla każdego badanego urządzenia, co przedstawiono w Tabeli VI. Analiza EDX i ocena stopnia mineralizacji za pomocą spektrometru ramanowskiego wykazały, że spośród trzech testowanych urządzeń materiał uzyskany za pomocą SDG wykazywał największe podobieństwo zawartości pierwiastków do zębiny naturalnej, w szczególności pod względem stężenia Ca ($K\alpha$). Natomiast próbki uzyskane z TT i BM wykazywały znaczne różnice zawartości odsetkowej pierwiastków w porównaniu z zębiną.

Zgodnie z wcześniejszymi odkryciami stopień demineralizacji DM wpływa na powstawanie nowej kości [11]. W rzeczywistości stwierdzono, że częściowo zdemineralizowana macierz zębiny (PDDM) zapewnia lepsze wyniki niż zmineralizowana macierz zębiny (MDM), ponieważ po częściowej demineralizacji uwalniane są czynniki wzrostu zębiny uwięzione w jej niezdeminerlizowanej macierzy [25]. Spośród nich istotną rolę w stymulowaniu regeneracji tkanek odgrywają: transformujący czynnik wzrostu (TGF)- β 1, białka morfogenetyczne kości (BMP), czynnik wzrostu śródbłónki naczyń (VEGF), czynnik wzrostu fibroblastów-2 (FGF-2), płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF) i insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1) [47]. Inne badanie wykazało, że PDDM dawała lepsze wyniki niż całkowicie zdemineralizowana macierz zębiny (CDDM), ponieważ podczas tego procesu czynniki wzrostu nie ulegały inaktywacji [10].

Porównując dane kliniczne z wynikami badań w SEM-EDX, można było wysnuć wniosek, że nawet materiał o bezwzględnej zawartości Ca (nieco niższej, niż w normalnej zębiny), jest zdolny do indukowania regeneracji kości. W przypadku SDG postępowano zgodnie z protokołem dla zębiny zmineralizowanej (według producenta) [48]. Zaobserwowano jednak, że procedura ta również skutkuje częściową demineralizacją (choć w mniejszym stopniu niż w pozostałych dwóch urządzeniach) po działaniu na próbki wodorotlenkiem sodu, który jest silną zasadą. Na Ryc. 9 widoczne są wyraźnie otwarte kanaliki zębinowe. Wyniki analizy składu pierwiastkowego podane na Ryc. 10 oraz stopień demineralizacji ukazany w Tab. VI skłaniają do takich rozważań.

Spektroskopia Ramana oprócz obecności krystalicznych minerałów na bazie fosforanów potwierdziła obecność wielu cząsteczek organicznych we wszystkich próbkach uzyskanych z różnych urządzeń [49]. Stwierdzone drgania grup NH pasma amidowego III (zakres liczby falowej 1213–1298 cm^{-1}), drgania kołyszące grup CH_2 -metylenowych (zakres liczby falowej 1432–1468 cm^{-1}) i drgania rozciągające wiązań $\text{C}=\text{O}$ pasma amidowego I (zakres liczby falowej 1583–1717 cm^{-1}) oraz drgania rozciągające grup CH_2 (zakres liczby falowej 2843–3005 cm^{-1}) można uznać za charakterystyczne dla organicznej części zębiny [50,51]. Kolagen typu I stanowi 90% frakcji białek zębiny, zapewniając wraz z fosforyną rusztowanie dla minerałów. Jego obecność we wszystkich badanych preparatach wskazywała na zachowanie dobrze widocznego materiału organicznego, pomimo różnych procedur przygotowania próbek i różnego czasu ekspozycji zębów na różne odczynniki demineralizujące [6,52]. Jednak pod względem składu materii organicznej próbki z BM i TT wykazały wyższą intensywność w spektroskopii niż próbki z SDG, które były znacznie mniej zdemineralizowane niż te z BM i TT, jak ukazano na Ryc. 12 [53].

Niezależnie od zastosowanej procedury uzyskano zadowalający wynik. Augmentacje z wykorzystaniem własnych zmielonych zębów pacjenta nie wymagają stosowania membran biokolagenowych, co znacznie obniża koszt zabiegu [54]. Nie bez znaczenia jest miejsce regeneracji kości. W bocznych odcinkach szczęki i żuchwy materiał uzyskany za pomocą wszystkich trzech urządzeń jest porównywalnie skuteczny. Jednak w obszarze estetycznym zanik przedsionkowej (wargowej) blaszki kostnej przedniego odcinka wyrostka zębodołowego szczęki, a zwłaszcza ubytki trójścienne, sprawiają, że BonMaker jest w tym przypadku najlepszym urządzeniem ze względu na możliwość wytworzenia bloczka zębinowego z własnego zęba. Zastosowanie bloczków zębinowych skutkuje znacznie lepszym efektem estetycznym ostatecznej odbudowy protetycznej na implantach wszczepianych w tym obszarze, co wykazano w publikowanej pracy [16]. Ponadto eliminuje to konieczność wykonywania

dodatkowych zabiegów lub zamawiania kosztownych alloprzeszczepów czy fleksów korykalnych. DM jest biokompatybilna i powoli ulega resorpcji objętościowej [55].

Kolejną, wartą omówienia kwestią, jest automatyzacja przygotowania DM w przypadku każdego urządzenia. TT jest w pełni zautomatyzowany, podczas gdy BM i SDG to urządzenia półautomatyczne. Półautomatyzacja procedury powoduje wydłużenie czasu poświęconego przez chirurga na przygotowanie DM, co przedstawiono w Tabeli I. Analizując dostępne piśmiennictwo na temat zastosowania zmielonej macierzy zębinowej w odbudowie ubytków kostnych, wybrano najistotniejsze doniesienia, poruszające zagadnienie urządzeń użytych do jej przygotowania. Pozytywne wyniki kliniczne z zastosowaniem zmielonych zębów będących materiałem kośćcozastępczym zachęcają do prowadzenia dalszych badań w tym zakresie.

Publikacja II:

Skuteczność wykorzystania zmielonych zębów jako materiału kośćcozastępczego w leczeniu ubytków kostnych została potwierdzona w ostatnich badaniach histologicznych – zarówno na zwierzętach, jak i u ludzi. W 2018 roku dr Calvo-Guirado i wsp. przeprowadzili analizę histologiczną i histomorfometryczną autogennych przeszczepów materiału zębopochodnego u psów, wykazując, że można go uznać za odpowiedni materiał do przeszczepów kostnych [56].

W 2021 r. dr Radoczy-Drajko wykazał na podstawie wyników badań histologicznych, że zębina autogenna uzyskana z urządzenia BonMaker może być bezpiecznie i z powodzeniem stosowana jako materiał do augmentacji kości wyrostka zębodołowego [15]. W tym samym roku dr Cervera-Maillo i wsp. zasugerowali, że rozdrobnioną zębinę należy rozważyć jako alternatywny materiał stosowany w celu zachowania zębodołów [7]. W niedawnym badaniu histologicznym przeprowadzonym w 2022 roku dr Minetti i wsp. udowodnili, że naturalne zęby mogą być brane pod uwagę jako źródło materiału kośćcozastępczego [57].

Stosowano różne metody przygotowania granulatu zębiny autogennej, osiągając sukces kliniczny bez reakcji zapalnych i powikłań związanych z samymi zabiegami augmentacji. Badacze wykazali, że macierz zębiny jest materiałem biokompatybilnym, pełniącym funkcję nośnika BMP-2, co znacznie spowalnia zanik wyrostka zębodołowego [58]. Przetwarzanie DM w sterylne granulki trwa w zależności od urządzenia do 30 minut, co daje wiele możliwości klinicznych w zabiegach z zakresu implantologii stomatologicznej [53].

Uzyskane wyniki badań histologicznych pozostają w zgodzie z wynikami badań innych autorów, wskazując na skuteczność stosowania zmielonych zębów w leczeniu ubytków kostnych [59-62]. Ponadto nie obserwuje się istotnych różnic pomiędzy preparatami próbek pobranych od

pacjentów, u których augmentacji dokonano przy użyciu zębiny rozdrobnionej różnymi urządzeniami.

6. WNIOSKI

- 1) Bloki zębinowe można wykorzystać w estetycznym obszarze szczęki lub żuchwy.
- 2) Skaningowa mikroskopia elektronowa pozwoliła na szczegółowe porównanie morfologii różnych preparatów zębinowych. Różnice w kształcie i wielkościach cząsteczek nie miały wpływu na ostateczny rezultat kliniczny.
- 3) Spektroskopia rentgenowska z dyspersją energii wykazała szczegółowy skład chemiczny różnych preparatów zmielonej macierzy zębinowej. Różny skład nie miał wpływu na rezultaty kliniczne w grupie badanych pacjentów.
- 4) Badania z wykorzystaniem spektroskopii ramanowskiej wykazały, że próbki uzyskane za pomocą BM i TT, o wyższym stopniu demineralizacji, wykazywały znacznie większą obecność cząsteczek organicznych niż próbki z SDG, co również nie miało zauważalnego wpływu na ostateczne efekty leczenia.
- 5) Analiza różnych metod wytwarzania macierzy zębinowej wykazała, że wszystkie trzy systemy są porównywalne, bezpieczne i wysoce skuteczne w leczeniu regeneracyjnym kości.
- 6) DDM, jak i MDM dają tak samo dobre wyniki odbudowy kości wyrostka zębodołowego.
- 7) Różne odczynniki oraz czas demineralizacji nie wpłynęły zauważalnie na rezultaty kliniczne.
- 8) Badania histologiczne nie wykazały istotnych różnic w odbudowie kostnej pomiędzy różnymi preparatami.
- 9) Badania CBCT nie wykazały istotnych różnic w ilości nowoutworzonej kości po augmentacji materiałem pochodzącym z różnych urządzeń.
- 10) Po odpowiednim przygotowaniu większości zębów można użyć do przetworzenia, jednak należy wystrzegać się zębów leczonych endodontycznie.
- 11) Zastosowanie mielonych zębów jest korzystne ze względów ekonomicznych.

7. PIŚMIENNICTWO

1. Sheikh Z., Hamdan N., Ikeda Y. et al., *Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications: a review*, Biomater Res. 2017;21:9.
2. Wang W., Yeung K.W.K., *Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: a review*, Bioact Mater. 2017;2:224–247.
3. Sakkas A., Wilde F., Heufelder M. et al., *Autogenous bone grafts in oral implantology-is it still a “gold standard”? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures*, Int J Implant Dent. 2017;3:23.
4. Kim Y.K., Yeo H.H., Ryu C.H. et al., *An experimental study on the tissue reaction of tooth ash implanted in mandible body of the mature dog*, J Korean Maxillofac Plast Reconstr Surg. 1993;15:129–136.
5. Um I.W., *Demineralized Dentin Matrix (DDM) as a carrier for recombinant human bone morphogenetic proteins (rhBMP-2)*, Adv Exp Med Biol. 2018;1077:487–499.
6. Kim J., Lee G., Chang W.S. et al., *Comparison and contrast of bone and dentin in genetic disorder, morphology and regeneration: a review*, J Bone Metab. 2021;28:1–10.
7. Cervera-Maillo J.M., Morales-Schwarz D., Morales-Melendez H. et al., *Autologous tooth dentin graft: a retrospective study in humans*, Medicina (Kaunas). 2021 Dec 30;58(1):56. PMID: 35056364; PMCID: PMC8778028.
8. Bessho K., Tanaka N., Matsumoto J. et al., *Human dentin-matrixderived bone morphogenetic protein*, J Dent Res. 1991;70:171–175.
9. Grgurevic L., Pecina M., Vukicevic S. et al., *Urist and the discovery of bone morphogenetic proteins*, Int Orthop. 2017;41:1065–1069.
10. Um I.W., Lee J.K., Kim J.Y. et al., *Allogeneic dentin graft: a review on its osteoinductivity and antigenicity*. Materials (Basel), 2021 Mar 31;14 (7):1713. PMID: 33807291; PMCID: PMC8036611.
11. Murata M., Akazawa T., Mitsugi M. et al., *Human Dentin as Novel Biomaterial for Bone Regeneration*. In: Biomaterials – Physics and Chemistry, InTech, 2011;11: 127-140.
12. Kim Y.K., Kim S.G., Byeon J.H. et al., *Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth*, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;109:496–503.
13. Park S.M., Um I.W., Kim Y.K. et al., *Clinical application of auto-tooth bone graft material*, J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg. 2012;38:2–8.

14. Kim Y.K., Kim S.G., Bae J.H. et al., *Guided bone regeneration using autogenous tooth bone graft in implant therapy: case series*, *Implant Dent.* 2014;23:138–143.
15. Radoczy-Drajko Z., Windisch P., Svidro E. et al., *Clinical, radiographical and histological evaluation of alveolar ridge preservation with an autogenous tooth derived particulate graft in EDS class 3–4 defects*, *BMC Oral Health.* 2021;21:63.
16. Dłucik R., Orzechowska-Wylęgała B., Dłucik D. et al., *Socket preservation or guided bone regeneration – a case report*, *Pol Merkur Lekarski.* 2021;49:153–157.
17. Minetti E., Giacometti E., Gambardella U. et al., *Alveolar socket preservation with different autologous graft materials: preliminary results of a multicenter pilot study in human*, *Materials (Basel).* 2020;13:1153.
18. Minetti E., Celko M., Contessi M. et al., *Implants survival rate in regenerated sites with innovative graft biomaterials: 1 year follow-up.* *Materials (Basel)* 2021;14:5292.
19. Calvo-Guirado J.L., Carlos-Villafranca F., Garcés-Villalá M. et al., *X-ray micro-computed tomography characterization of autologous teeth particle used in post extraction sites for bone regeneration. An experimental study in dogs*, *Indian J Dent Sci.* 2022;14:58–67.
20. Calvo-Guirado J.L., *Temporary implants and particulate dentin graft protecting traditional implants in severe periodontal patient: a case report*, *Indian J Dent Sci.* 2021;13:201–204.
21. Sánchez-Labrador L., Martín-Ares M., Ortega-Aranegui R. et al., *Autogenous dentin graft in bone defects after lower third molar extraction: a split-mouth clinical trial.* *Materials (Basel).* 2020;13:3090.
22. Binderman I., Hallel G., Nardy C. et al., *Procedure to process extracted teeth for immediate grafting of autogenous dentin*, *J Interdiscipl Med Dent Sci.* 2014;2:154.
23. Calvo-Guirado J.L., Ballester-Montilla A., N De Aza P. et al., *Particulated, extracted human teeth characterization by SEM-EDX evaluation as a biomaterial for socket preservation: an in vitro study.* *Materials (Basel).* 2019;12:380.
24. Minetti E., Gianfreda F., Palermo A. et al., *Autogenous Dentin Particulate Graft for Alveolar Ridge Augmentation with and without Use of Collagen Membrane.*
25. Koga T., Minamizato T., Kawai Y. et al., *Bone regeneration using dentin matrix depends on the degree of demineralization and particle size*, *PLoS One.* 2016;11:e0147235.
26. Acri G., Sansotta C., Salmeri F.M. et al., *Use of raman spectroscopy, scanning electron microscopy and energy dispersive x-ray spectroscopy in a multi-technique approach for physical characterization of purple urine bag syndrome*, *Appl Sci.* 2022;12:4034.
27. Leal L.B., Nogueira M.S., Canevari R.A. et al., *Vibration spectroscopy and body biofluids: literature review for clinical applications*, *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;24:237–244.

28. Giannetto C., Acri G., Giudice E. et al., *Quantifying serum total lipids and tryptophan concentrations by Raman spectroscopy during standardized obstacle course in horses*, J Equine Vet Sci. 2021;108:103820.
29. Wang Y., Chen D., Zhang J. et al., *Charge relays via dual carbonactions on nanostructured BiVO 4 for high performance photoelectrochemical water splitting*, Adv Funct Mater. 2022;32:2112738.
30. Acri G., Micali A., D'Angelo R. et al., *Raman spectroscopic study of amyloid deposits in gelatinous drop-like corneal dystrophy*, J Clin Med. 2022;11:1403.
31. Acri G., Testagrossa B., Faenza P. et al., *Spectroscopic analysis of pigments of the Antonello Gagini annunciation's sculptural marble group, Church of St. Theodore Martyr (Bagaladi, Reggio Calabria, Italy): case study*, Mediterr Archaeol Archaeom. 2020;20:1–5.
32. Meduri A., Severo A.A., De Maria A. et al., *PMMA intraocular lenses changes after treatment with Nd:Yag laser: a scanning electron microscopy and X-ray spectrometry study*, Appl Sci. 2020;10:6321
33. Van De Vlekkert D., Machado E., d'Azzo A., *Analysis of generalized fibrosis in mouse tissue sections with Masson's trichrome staining*, Bio Protoc. 2020 May 20;10(10):e3629. PMID: 33659302; PMCID: PMC7842772. doi: 1.21769/BioProtoc.3629.
34. Wang Y., Spencer P., *Quantifying adhesive penetration in adhesive/ dentin interface using confocal Raman microspectroscopy*, J Biomed Mater Res. 2002;59:46–55.
35. Alturki M., Koller G., Warburton F. et al., *Biochemical characterisation of carious dentine zones using Raman spectroscopy*, J Dent. 2021;105(2021):103558.
36. Alturki M., Koller G., Almhojd U. et al., *Chemo-mechanical characterization of carious dentine using Raman microscopy and Knoop microhardness*, R Soc Open Sci. 2020;7:200404.
37. Toledano M., Osorio E., Aguilera F.S. et al., *Ex vivo detection and characterization of remineralized carious dentin, by nanoindentation and single point Raman spectroscopy, after amalgam restoration*, J. J Raman Spectrosc. 2017;48:384–392.
38. Goldberg M., Kulkarni A.B., Young M. et al., *Dentin: structure, composition and mineralization*. Front Biosci (Elite Ed). 2011;3:711–735.
39. Andrew H.S., *Autologous bone graft: Is it still the gold standard?*, ISSN 0020-1383 Injury. 2021;52(2):S18–S22. Doi: 10.1016/j. injury. 2021.01.043.
40. Stricker A., Jacobs R., Maes F. et al., *Resorption of retromolar bone grafts after alveolar ridge augmentation – volumetric changes after 12 months assessed by CBCT analysis*, Int J Implant Dent. 2021;7(7). Doi: 10.1186/s40729-020-00285-9.

41. Zhao R., Yang R., Cooper P.R. et al., *Bone grafts and substitutes in dentistry: a review of current trends and developments*. *Molecules*. 2021 May 18;26(10):3007. PMID: 34070157; PMCID: PMC8158510. doi: 10.3390/molecules26103007.
42. Xu H., Shimizu Y., Asai S. et al., *Experimental sinus grafting with the use of deproteinized bone particles of different sizes*, *Clin Oral Implants Res*. 2003;14:548–555.
43. Kon K., Shiota M., Ozeki M. et al., *Bone augmentation ability of autogenous bone graft particles with different sizes: a histological and micro-computed tomography study*, *Clin Oral Implants Res*. 2009;20:1240–1246.
44. Klüppel L.E., Antonini F., Olate S. et al., *Bone repair is influenced by different particle sizes of anorganic bovine bone matrix: a histologic and radiographic study in vivo*, *J Craniofac Surg*. 2013;24:1074–1077.
45. Arana-Chavez V.E., Massa L.F., *Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine*, *Int J Biochem Cell Biol*. 2004;36:1367– 1373.
46. Tanoue R., Ohta K., Miyazono Y. et al., *Three-dimensional ultrastructural analysis of the interface between an implanted demineralised dentin matrix and the surrounding newly formed bone*, *Sci Rep*. 2018;8:2858.
47. Gao X., Qin W., Wang P. et al., *Nano-structured demineralized human dentin matrix to enhance bone and dental repair and regeneration*, *Appl Sci*. 2019;9:1013.
48. Santos A., Botelho J., Machado V. et al., *Autogenous mineralized dentin versus xenograft granules in ridge preservation for delayed implantation in post-extraction sites: a randomized controlled clinical trial with an 18 months follow-up*, *Clin Oral Implants Res*. 2021 Aug;32(8):905–915. Epub 2021 Jun 17. PMID: 33982320.
49. Ramakrishnaiah R., Ur Rehman G., Basavarajappa S. et al., *Applications of raman spectroscopy in dentistry: analysis of tooth structure*, *Appl Spectrosc Rev*. 2015;50:332–350.
50. Coello B., López-Álvarez M., Rodríguez-Domínguez M. et al., *Quantitative evaluation of the mineralization level of dental tissues by Raman spectroscopy*, *Biomed Phys Eng Express*. 2015;1:045204.
51. Yang S., *High-Wavenumber Raman Analysis*. In: Pathak C.S., Kumar S. (editors), *Recent developments in atomic force microscopy and Raman spectroscopy for materials characterization [Internet]*, London: IntechOpen; 2021.
52. Rico-Llanos G.A., Borrego-González S., Moncayo-Donoso M. et al., *Biomaterials as scaffolds for bone tissue engineering*, *Polymers (Basel)*. 2021;13:599.

53. Dłucik R., Orzechowska-Wylęgała B., Dłucik D. et al., *Comparison of clinical efficacy of three different dentin matrix biomaterials obtained from different devices*, Expert Review of Medical Devices (2023), DOI: 10.1080/17434440.2023.2190512.
54. Lee J.-Y., Lee J., Kim Y.-K., *Comparative analysis of guided bone regeneration using autogenous tooth bone graft material with and without resorbable membrane*, J Dental Sci. 2013;8:281–286.
55. Andrade C., Camino J., Nally M. et al., *Combining autologous particulate dentin, L-PRF, and fibrinogen to create a matrix for predictable ridge preservation: a pilot clinical study*, Clin Oral Investig. 2020 Mar;24(3):1151–1160. Epub 2019 Jul 10. PMID: 31292776. doi: 10.1007/s00784-019-02922-z.
56. Calvo-Guirado J.L., Maté-Sánchez de Val J.E., Ramos-Oltra M.L. et al., *The Use of Tooth Particles as a Biomaterial in Post-Extraction Sockets. Experimental Study in Dogs*, Dentistry Journal 2018; 6(2):12. <https://doi.org/10.3390/dj6020012>.
57. Minetti E., Corbella S., Taschieri S. et al., *Tooth as graft material: Histologic study*, Clin Implant Dent Relat Res. 2022;24:488–496.
58. Bono N., Tarsini P., Candiani G., *Demineralized dentin and enamel matrices as suitable substrates for bone regeneration*, J Appl Biomater Funct Mater. 2017;15:e236–e243.
59. Moraes G.F., Caetano R.D.O., Prochnow F.H.O. et al., *Demineralized human dentin matrix for alveolar ridge preservation using a volumetric and histologic analyses in rats*, Braz Dent J. 2022 May;33(3):82–91. PMID: 35766721; PMCID: PMC9645199. doi: 10.1590/0103-6440202204648
60. Um I.W., Ku J.K., Kim Y.K. et al., *Histological review of demineralized dentin matrix as a carrier of rhBMP-2*, Tissue Eng Part B Rev. 2020 Jun;26(3):284–293. Epub 2020 Feb 24. PMID: 31928139; PMCID: PMC7310192. doi: 10.1089/ten.TEB.2019.0291
61. Oguić M., Čandrlić M., Tomas M. et al., *Osteogenic potential of autologous dentin graft compared with bovine xenograft mixed with autologous bone in the esthetic zone: radiographic, histologic and immunohistochemical evaluation*, Int J Mol Sci. 2023;24 (7):6440. doi: 10.3390/ijms24076440
62. Dłucik R., Orzechowska-Wylęgała B., Dłucik D., Bogus K., *Histological examination of tooth-derived biomaterials obtained from different devices*, Expert Rev Med Devices. 2023 Aug 28:1-10. doi: 10.1080/17434440.2023.2251891. Epub ahead of print. PMID: 37639725.

8. STRESZCZENIE/ABSTRACT

8.1. Streszczenie w języku polskim

Cel: Celem pracy była ocena skuteczności klinicznej różnych matryc zębinowych uzyskanych za pomocą trzech urządzeń (BonMaker, Tooth Transformer i Smart Dentin Grinder) oraz porównanie ich cech morfologicznych, fizycznych i biochemicznych za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii (EDX) i spektroskopii Ramana. Ponadto oceniono różnice histologiczne gojenia się kości po zastosowaniu augmentatów pochodzących z BM, TT i SDG.

Materiał i metody: W badaniu wzięło udział 109 pacjentów podzielonych na dwie grupy. Pierwsza grupa liczyła 70, druga 39 pacjentów. W pierwszej grupie pacjentów przeprowadzono zabiegi augmentacji kości przy użyciu urządzeń BonMaker, Tooth Transformer i Smart Dentin Grinder. Pacjentom z tej grupy wszczepiono 84 implanty. Trzy próbki pochodzące z każdego urządzenia i jedną niezdemineralizowaną próbkę kontrolną, poddano analizie za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), analizy rentgenowskiej z dyspersją energii i spektroskopii Ramana. Drugą grupę stanowiło 39 pacjentów z ubytkami dwu- i trójściennymi, u których wykonano zabiegi augmentacji kości w szczęcie przy użyciu przeszczepów matrycy zębinowej z urządzeń BonMaker, Tooth Transformer i Smart Dentin Grinder. Po okresie gojenia wynoszącym ok. 4 miesiące przeprowadzono badanie histologiczne bioptatów z odbudowanej kości. Łączna liczba usuniętych zębów wykorzystanych jako biomateriał do odbudowy kości wyniosła 285.

Wyniki: U wszystkich pacjentów augmentacja ubytków kostnych matrycą zębinową zakończyła się powodzeniem, a wszystkie 84 implanty prawidłowo zintegrowały się z kością. W obrazach histologicznych nie stwierdzono stanu zapalnego i wykazano dobre połączenie kości z macierzą zębinową. Klinicznie wszyscy pacjenci zostali zakwalifikowani do wszczepienia implantów.

Wnioski: Opierając się na obserwacjach klinicznych, można stwierdzić, że wszystkie trzy urządzenia są bardzo przydatne w leczeniu regeneracyjnym kości. Urządzenia BonMaker, Tooth Transformer i Smart Dentin Grinder, mają porównywalny potencjał w zakresie pozyskiwania bezpiecznego materiału regeneracyjnego z własnych zębów pacjenta.

Słowa kluczowe: zdemineralizowana macierz zębiny, przeszczep zębiny autogennej, urządzenia do rozdrabniania zębów, zabiegi augmentacji kości, badanie histologiczne, skaningowa mikroskopia elektronowa, analiza rentgenowska z dyspersją energii, Spektroskopia Ramana.

8.2. Abstract

Objective: The aim of the study was to evaluate the clinical effectiveness of various dentin matrices obtained using three devices (BonMaker, Tooth Transformer and Smart Dentin Grinder) and to compare their morphological, physical and biochemical features using scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX) and Raman spectroscopy. Moreover, histological differences in bone healing after the use of augments derived from BM, TT and SDG were assessed.

Material and methods: The study involved 109 patients divided into two groups. The first group consisted of 70, the second 39 patients. In the first group of patients, bone augmentation procedures were performed using BonMaker, Tooth Transformer and Smart Dentin Grinder devices. 84 implants were implanted in patients from this group. Three samples from each device, and one non-demineralized control sample, were analyzed by scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive X-ray analysis, and Raman spectroscopy. The second group consisted of 39 patients with double- and three-wall defects who underwent bone augmentation procedures in the maxilla using dentin matrix grafts from BonMaker, Tooth Transformer and Smart Dentin Grinder devices. After a healing period of approximately 4 months, histological examination of biopsies from the regenerated bone was performed. The total number of extracted teeth used as biomaterial for bone reconstruction was 285.

Results: In all patients, the augmentation of bone defects with dentin matrix was successful, and all 84 implants integrated properly with the bone. Histological images showed no inflammation and good connection between the bone and the dentin matrix. Clinically, all patients were qualified for implantation.

Conclusions: Based on clinical observations, it can be concluded that all three devices are very useful in bone regenerative treatment. BonMaker, Tooth Transformer and Smart Dentin Grinder devices have comparable potential for obtaining safe regenerative material from the patient's teeth.

Keywords: demineralized dentin matrix, autogenous dentin graft, tooth grinding devices, bone augmentation procedures, histological examination, scanning electron microscopy, energy dispersive X-ray analysis, Raman spectroscopy.