

UNIVERZITET U BEOGRADU

STOMATOLOŠKI FAKULTET

KLINIKA ZA PARODONTOLOGIJU I ORALNU MEDICINU

Dr Tihana Divnić-Resnik

***OČUVANJE ALVEOLARNOG GREBENA NAKON
EKSTRAKCIJE ZUBA PRIMENOM KOŠTANOG
MORFOGENETSKOG PROTEINA***

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2011.

Iskreno se zahvaljujem svom mentoru doc. Dr Zoranu Aleksiću koji mi je pomogao ličnim savetima i angažovanjem pri izradi ove doktorske disertacije.

Naročito se zahvaljujem prof. Dr Draginji Perović-Kojović, doc. Dr Saši Jankovću i kolektivu Klinike za parodontologiju i oralnu medicinu.

Zahvaljujući njihovom kolegijalnom doprinosu, izrada ove doktorske disertacije je bila moguća.

Posebnu zahvalnost dugujem prof. Dr Vojislavu Lekoviću koji je svojim idejama i ličnim iskustvom olakšao izvođenje ovog kompleksnog ispitivanja i pružio nesebičnu podršku tokom celokupnog postupka izrade ove doktorske disertacije.

SADRŽAJ

| | |
|--|------------|
| 1. UVOD | 6 |
| 1.1. ALVEOLARNA KOST | 8 |
| 1.1.1. Anatomija alveolarne kosti | 8 |
| 1.1.2. Histologija alveolarne kosti | 9 |
| 1.1.3. Sastav alveolarne kosti..... | 9 |
| 1.1.4. Funkcija i fiziologija alveolarne kosti | 11 |
| 1.2. ZARASTANJE EKSTRAKCIONE RANE | 13 |
| 1.2.1. Unutrašnje (interne) promene..... | 13 |
| 1.2.2. Spoljašnje (eksterne) promene..... | 17 |
| 1.3. MORFOLOŠKE I HISTOLOŠKE PROMENE NA ALVEOLARNOM GREBENU NAKON EKSTRAKCIJE ZUBA..... | 19 |
| 1.4. KONCEPTI TERAPIJSKOG PRISTUPA U OČUVANJU ALVEOLARNOG GREBENA NAKON EKSTRAKCIJE ZUBA..... | 23 |
| 1.4.1. Imedijatna implantacija dentalnih implantata..... | 23 |
| 1.4.2. Koncept primene koštanih zamenika..... | 26 |
| 1.4.3. Koncept vođene koštane regeneracije - „osteopromocije“ | 34 |
| 1.4.4. Koncept primene kombinovane tehnike (koštani zamenik i membrana)..... | 38 |
| 1.4.5. Koncept tkivnog inženjeringa..... | 42 |
| 1.4.5.1. Uloga faktora rasta u konceptu tkivnog inženjeringa | 44 |
| 1.4.5.2. Autogena ćelijska terapija za koštanu regeneraciju | 48 |
| 1.4.5.3. Inovirane metode isporuke faktora rasta od strane genskih transfera | 48 |
| 1.4.6. Koštani morfogenetski proteini-BMP | 49 |
| 1.4.6.1. rhBMP-2 | 53 |
| (rekombinovani humani koštani morfogenetski protein)..... | 53 |
| Preklinička ispitivanja | 53 |
| Klinička ispitivanja | 57 |
| 2. RADNA HIPOTEZA | 61 |
| 3. OSNOVNI CILJEVI ISPITIVANJA..... | 62 |
| 4. MATERIJAL I METOD | 63 |
| 4.1. DIZAJN KLINIČKOG ISPITIVANJA | 63 |
| 4.2. ISPITANICI | 65 |
| 4.3. PREOPERATIVNA MERENJA..... | 67 |
| SLIKA 4.3.2. PROCENA ŠIRINE KERATINIZOVANE GINGIVE U REGIONU ZUBA 15 POMOĆU PARODONTALNE SONDE I INDIVIDUALNO IZRAĐENOG NAGRIZNOG BEDEMA | 69 |
| 4.4. INTRAOPERATIVNA MERENJA | 70 |
| 4.4.1. Merenja tokom prve hirurške intervencije..... | 70 |
| 4.4.2. Merenja tokom druge hirurške intervencije..... | 73 |
| 4.5. POSTUPAK PRAĆENJA | 74 |
| 4.6. POSTOPERATIVNA MERENJA | 74 |
| 4.7. HIRURŠKI PROTOKOL..... | 76 |
| 4.7.1. Prva hirurška intervencija | 76 |
| 4.7.1.1. Ispitivani preparati | 76 |
| 4.7.2. Druga hirurška intervencija..... | 85 |
| 5. RADIOGRAFSKE METODE..... | 87 |
| 6. HISTOLOŠKE METODE..... | 89 |
| 7. STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA | 90 |
| 8. REZULTATI | 100 |
| 8.1. REZULTATI KLINIČKIH ISPITIVANJA..... | 100 |
| 8.1.1. Rezultati poređenja karakteristika mekih tkiva između prve i druge grupe ispitanika pre ekstrakcije zuba | 102 |
| 8.1.2. Rezultati poređenja klasifikacije alveola nakon ekstrakcije zuba kod obe grupe ispitanika..... | 104 |
| 8.1.3. Rezultati kliničkih merenja u okviru prve grupe ispitanika | 105 |

| | | |
|------------|--|------------|
| 8.1.3.1. | Spoljašnja vertikalna dimenzija (EVM) | 105 |
| 8.1.3.2. | Unutrašnja vertikalna dimenzija (IVM) | 107 |
| 8.1.3.3. | Horizontalna dimenzija (HM) alveolarnog grebena | 109 |
| 8.1.4. | Rezultati kliničkih merenja u okviru druge grupe ispitanika | 112 |
| 8.1.4.1. | Spoljašnja vertikalna dimenzija (EVM) | 112 |
| 8.1.4.2. | Unutrašnja vertikalna dimenzija (IVM) | 114 |
| 8.1.4.3. | Horizontalna dimenzija (HM) alveolarnog grebena | 116 |
| 8.1.5. | Rezultati komparacije kliničkih merenja obe grupe ispitanika | 118 |
| 8.1.5.1. | Spoljašnja vertikalna dimenzija (EVM) | 118 |
| 8.1.5.2. | Unutrašnja vertikalna dimenzija (IVM) | 119 |
| 8.1.5.3. | Horizontalna dimenzija (HM) | 120 |
| 8.1.6. | Rezultati dinamike zarastanja ekstrakcionih rana u okviru prve grupe ispitanika | 121 |
| 8.1.7. | Rezultati dinamike zarastanja ekstrakcionih rana u okviru druge grupe ispitanika | 123 |
| 8.1.8. | Rezultati komparacije dinamike zarastanja ekstrakcionih rana u okviru obe grupe ispitanika | 124 |
| 8.2. | REZULTATI RADIOGRAFSKIH ISPITIVANJA | 126 |
| 8.2.1. | Rezultati radiografskih merenja u okviru prve grupe ispitanika | 127 |
| 8.2.1.1. | Vertikalna dimenzija alveolarne čašice (VD) | 127 |
| 8.2.1.2. | Horizontalna dimenzija alveolarne čašice (HD) | 130 |
| 8.2.2. | Rezultati radiografskih merenja u okviru druge grupe ispitanika | 133 |
| 8.2.2.1. | Vertikalna dimenzija alveolarne čašice (VD) | 133 |
| 8.2.2.2. | Horizontalna dimenzija alveolarne čašice (HD) | 135 |
| 8.2.3. | Rezultati komparacije radiografskih merenja obe grupe ispitanika | 139 |
| 8.2.3.1. | Vertikalna dimenzija (VD) | 139 |
| 8.2.3.2. | Horizontalna dimenzija (HM) | 140 |
| 8.2.1. | Rezultati korelacije kliničkih i radiografskih merenja | 141 |
| 8.3. | REZULTATI HISTOLOŠKIH ISPITIVANJA | 142 |
| 9. | DISKUSIJA | 184 |
| 10. | ZAKLJUČCI ISPITIVANJA | 206 |
| 11. | LITERATURA | 208 |

1. UVOD

Alveolarna kost se razvija tokom nicanja zuba i njena očuvanost direktno zavisi od prisustva zuba (Schroeder, 1986). Ekstrakcija zuba, trauma, kao i epizode inflamacije udružene sa parodontalnim oboljenjima, imaju za posledicu progresivnu redukciju alveolarnog grebena usled odsustva funkcionalne stimulacije. Stepem redukcije je različit kod različitih osoba. Resorptivni procesi, kao i procesi remodelacije alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba rezultiraju gubitkom horizontalne i vertikalne dimenzije alveolarnog grebena. Ovi procesi vode ka pojavi anatomskih deformiteta alveolarnog nastavka, što u mnogome otežava protetsku rehabilitaciju pacijenta. Postavljanje implantata u ovim slučajevima može biti dovedeno u pitanje ili čak nemoguće, usled nepovoljnih kontura čvrstih i mekih tkiva. Promene na mekotkivnim strukturama mogu da kompromituju finalni protetski rad, kako u funkcionalnom, tako i u estetskom pogledu.

Prevenција ili minimiziranje gubitka alveolarne kosti predstavlja jedan od glavnih ciljeva u savremenoj stomatološkoj kliničkoj praksi.

Kako bi se ispunili i funkcionalni i estetski zahtevi, nepohodno je isplanirati sprovođenje određenih terapijskih procedura u vidu ili povećanja (augmentacije) ili očuvanja (prezervacije) alveolarnog grebena odmah nakon ekstrakcije zuba. Ove procedure imaju za cilj očuvanje visine i širine alveolarnog grebena, ali i očuvanje povoljnih dimenzija i morfologije mekih tkiva.

Obim problema vezanog za ekstrakciju zuba kako sa socijalnog tako i zdravstvenog aspekta najbolje se može sagledati kroz rezultate epidemioloških studija. Tako studija sprovedena u SAD tokom 1977. godine pokazuje da je 11,4% populacije ove zemlje bezubo (Krajiček, 1977). Značajnost vezana za gubitak zuba se još snažnije ogleda u podatku da se u Sjedinjenim Američkim državama aproksimativno izvadi 20.000.000 zuba godišnje, a u nas nešto manje od milion. Slična studija sprovedena u Engleskoj 1983. takođe potvrđuje da je 29% odraslih starijih od 35 godina potpuno bezubo (Basker i dr, 1983). Potreba za protetskom rehabilitacijom u našoj zemlji je visoka i statistički podaci pokazuju da samo na teritoriji grada Beograda obuhvata 61% populacije starosne dobi između 35 i 44 godine.

Mnogobrojne epidemiološke studije sprovedene do sad su dale podatke o etiologiji gubitka zuba. Kao najznačajniji etiološki faktori navode se:

- oboljenje potpornog aparata zuba (parodontopatije)

- komplikacije karijesa zuba
- trauma zuba
- ortodontski razlozi

Velika epidemiološka studija sprovedena kod nas poznata kao “Beogradska studija” (1982-85) je pokazala da su karijes zuba i komplikacije na pulpi glavni uzroci ekstrakcije zuba do 49 godine života. Posle toga, u kasnijem periodu života, glavni uzrok ekstrakcije zuba predstavlja parodontopatija. Zanimljiv je i podatak da se u našoj populaciji prvi zubi zbog oboljenja parodonticijuma gube već u 11. godini života i to kao posledica agresivnih formi parodontopatije. Ovako velika prevalenca izgubljenih zuba kod humane populacije sama po sebi je značajan socio-ekonomski problem koji za savremenu stomatologiju još uvek predstavlja izazov s obzirom na funkcionalne i estetske deformitete do kojih dovodi u velikom broju slučajeva.

1.1. ALVEOLARNA KOST

1.1.1. Anatomija alveolarne kosti

Da bi bolje razumeli mehanizme zarastanja kao i koncepte prezervacije ekstrakcione rane potrebno je krenuti od osnovnih podataka koji se odnose na anatomsku građu, strukturu, funkciju i fiziologiju alveolarne kosti. Alveolarna kost koja predstavlja anatomske deo maksile i mandibule se formira paralelno sa razvojem i erupcijom zuba. Zajedno sa gingivom, cementom korena zuba i periodoncijumom ona predstavlja potporni aparat zuba čija je osnovna uloga prihvatanje, distribucija i amortizacija sila koje se stvaraju prilikom mastikacije ili drugih kontakata među zubima. Gubitkom zuba gubi se i funkcija alveolarne kosti usled čega se ona postepeno resorbuje i gubi.

Morfološki, alveolarnu kost sačinjavaju:

- spoljašnja kortikalna lamela
- unutrašnja kompakta - prava alveolarna kost (gradi zid alveole)
- kancelozna, trabekularna kost – potporna kost

Osnovu alveolarne kosti čini spongioza (sunderasta kost). Ona je pokrivena kompaktnom kosti. Na kompakti se uočavaju izbočenja prouzrokovana korenovima zuba (juga alveolaria). U spongiozi se nalaze alveolarne čašice (alveolae dentis). Zid alveola sačinjen je od tankog sloja kompaktne kosti. Ovaj deo alveolarne kosti se naziva «prava alveolarna kost». Na rendgenogramu se uočava kao tanka bela linija koja prati oblik korena zuba i označava se terminom lamina dura. Sunderasta kost se nalazi u interdentalnim i interradikularnim septumima višekorenih zuba između dva sloja kompakte. Spongioze ima sa bukalne i oralne strane, između korenova zuba i kompakte, osim u maksili sa palatalne strane. Kod odraslog čoveka sunderaste kosti ima više u maksili nego u mandibuli.

Alveolarna čašica na uzdužnom preseku često ima oblik peščanog sata. Njen najuži deo nalazi se u predelu tačke rotacije zuba (hipomokliona). U pravu alveolarnu kost usađeni su završeci kolagenih periodontalnih vlakana. Taj deo kolagenog periodontalnog vlakna se naziva Šarpejevo (Sharpey) vlakno. Ostali deo alveolarne kosti (spongioza i spoljna kompakta, tj. ona kompaktna kost koja oblaže vilice na površinama prema usnoj duplji kao i vestibulumu) naziva se potporna alveolarna kost.

1.1.2. Histologija alveolarne kosti

Alveolarna kost je visokospecijalizovani tip mineralizovanog vezivnog tkiva i pripada grupi potpornih tkiva. Sastavljena je od koštanih gredica, odnosno trabekula i koštane srži koja popunjava prostore između trabekula. U embriona i novorođenčadi koštanosržni prostori su ispunjeni crvenom koštanom srži koja poseduje visok hematopoetični potencijal. Koštana srž odraslih osoba vremenom postaje žuta, a u starosti se prožima vezivnim tkivom i dobija sivkastu boju te kao takva gubi hematopoetične osobine. U kosti se nalazi veliki broj Haversovih kanala. Jedan kvadratni milimetar kosti ima od 3 do 15 kanala. Oko njih su, u koncentricnim krugovima, poredane lakune (osteoplasti) u kojima se nalaze osnovne ćelije kosti – osteociti. Lakune su, preko razgranatog kanalikularnog sistema međusobno višestruko povezane. Na taj način je omogućena ishrana osteocita i eliminacija produkata razmene materija. Koštanosržni prostori, šupljine i lakune kosti obložene su endosteumom. Endosteum sačinjava jedan sloj osteoprogenitornih ćelija sa malo vezivnog tkiva.

Koštani rast se zasniva na osteoblasticnoj apoziciji organskog matriksa poznatog kao osteoid. Osteoid predstavlja mrežu kolagenih vlakana koja ima ulogu potke za depoziciju minerala apatita i za akumulaciju nekolagenih i plazma proteina i proteoglikana.

Na površinama prema usnoj duplji i vestibulumu usta alveolarna kost je prekrivena periostom. Periost je predstavljen slojem visoko diferencianog osteogenog vezivnog tkiva, koji se sastoji od unutrašnjeg sloja koga sačinjavaju ćelije sa visokim potencijalom za diferencijaciju u osteoblaste i od spoljašnjeg sloja bogatog fibroblastima i krvnim sudovima. Periost alveolarne kosti prekriva tkivo gingive. Krzno pripojne gingive je slabo izraženo pa je sluzokoža preko periosta čvrsto vezana za kost.

1.1.3. Sastav alveolarne kosti

Neorganske materije čine oko 70% mase vilične kosti. To su prvenstveno minerali: kalcijum, fosfor, magnezijum, natrijum i fluoridi. Mineralne soli su uglavnom u formi kristala hidroksiapatita ultramikroskopskih dimenzija i oni predstavljaju 65% do 70% ukupne strukture vilične kosti. Apatitni kristali su postavljeni tako da je njihova duža osovina paralelna sa dužom osovinom kolagenih vlakana, što ukazuje na činjenicu da kolagena vlakna

unutar osteoida diktiraju osificirajući šablon. Ovakvom konfiguracijom koštani matriks obezbeđuje visok stepen izdržljivosti osealnog tkiva na mehanički stres za vreme funkcije.

Organskom matriksu pripada oko 30% mase alveolarne kosti. Sastavljen je prvenstveno od kolagena (90%), a u manjoj meri od nekolagenih proteina, osteoformativnih ćelija (osteoblasta, osteocita i osteoklasta) i međućelijske osnovne supstance.

U alveolarnoj kosti, pored kolagena tipa I (više od 95%) i V, prisutni su i kolagen tipa III i XII. Tip III kolagen zajedno sa kolagenom tipa I ulazi u sastav Šarpejevih vlakana koja obezbeđuju stabilnu vezu zuba i alveolarne kosti.

Glavni nekolageni proteini, uvek prisutni u alveolarnoj kosti, su *osteokalcin* i *koštani sijaloprotein* (jedinstveni za mineralizovana tkiva), kao i *osteopontin* i *osteonektin*. Količina ovih proteina u kostima zavisi od starosne dobi. Oslobadaju se iz kosti demineralizacijom. Ostali proteini-proteoglikani (primarno hondroitin-sulfat) su prisutni u kosti u specifičnim, modifikovanim formama. Pored ovih proteina, u alveolarnoj kosti se mogu naći i proteini koji su dospeli cirkulacijom, kao i tkivni proteini. Među ovim proteinima treba navesti albumin, α 2HS-glikoprotein i imunoglobulini koji se koncentrišu u kosti usled velikog afiniteta za kristale hidroksiapatita.

Osteokalcin je prvi opisani nekolageni koštani protein i čini manje od 15% svih nekolagenih proteina. Njegovo prisustvo u alveolarnoj kosti je dokazano imunohistohemijskim analizama. Uprkos brojnim studijama, uloga osteokalcina u formiranju i remodelovanju kosti nije u potpunosti razjašnjena. Neka istraživanja su pokazala da osteokalcin reguliše maturaciju kristala mineralnih materija alveolarne kosti i ima važnu ulogu u procesu resorpcije alveolarne kosti.

Osteopontin i *koštani sijaloprotein*, originalno opisani kao koštani sijaloproteini I i II, su dokazani u alveolarnoj kosti imunohistohemijskim metodama. Iako strukturalno veoma slični, ova dva proteina imaju jasno različite funkcionalne uloge. Koštani sijaloprotein se nalazi isključivo u mineralizovanim tkivima, za razliku od osteopontina koji ima više generalizovanu distribuciju što ukazuje na njegovu širu biološku ulogu. Slično krvnim faktorima koagulacije, osteopontin je osetljiv na trombin, što dovodi do zaključka da je poreklom iz krvi ili ga sintetišu hematopoezni organi. Neki autori su u svojim istraživanjima došli do saznanja da se koštani sijaloprotein eksprimira istovremeno sa pojavom kristala mineralnih materija u cementu i kosti, kao i da ima sposobnost formiranja jezgra kristala hidroksiapatita u in vitro uslovima (citirano prema Lindheu i dr, 2003). Ova saznanja navode na zaključak da ovaj protein igra važnu ulogu u inicijaciji formiranja kristalne rešetke i u in vivo uslovima. Za razliku od koštanog silajoproteina, osteopontin je potentni inhibitor rasta

kristala hidroksiapatita. Slično osteokalcinu, sinteza osteopontina je snažno regulisana koncentracijom vitamina D₃ u cirkulaciji.

Osteonektin je glikoprotein, predominantno vezan za kristale hidroksiapatita i jedan od prvih proteina koji je izolovan iz kosti demineralizacijom. Iako funkcija osteonektina još uvek nije determinisana, njegova prisutnost u brzo remodelirajućim tkivima ukazuje na fundamentalnu biološku ulogu ovog proteina.

Koštane ćelije *osteoblasti* su odgovorne za sintezu kosti. Osteoblasti su potpuno diferencirane ćelije i nemaju sposobnost migracije i proliferacije. Prema tome, da bi na određenom mestu došlo do sinteze kosti, osteoprekursorne ćelije moraju migrirati u to područje i diferencirati se u osteoblaste. Diferencijacija i razvoj osteoblasta iz osteoprogenitornih ćelija ovise o otpuštanju koštanih morfogenetskih proteina (engl. bone morphogenetic protein, BMP) i ostalih faktora rasta kao što su faktor rasta sličan insulinu (engl. insulin-like growth factor, IGF), trombocitni faktor rasta (engl. platelet-derived growth factor) i faktor rasta iz fibroblasta (engl. fibroblast growth factor, FGF). Formiranje kosti je dinamičan proces i stalno je praćen resorpcijom koja se odvija pod dejstvom *osteoklasta*.

1.1.4. Funkcija i fiziologija alveolarne kosti

Alveolarna kost ima značajnu ulogu u fiksaciji zuba i amortizaciji pritiska koji se formira pod uticajem okluzalnih sila. Sile koje deluju na zub prenose se preko vlakana na zid alveolarne čašice, a preko zida na koštane gredice spongioze, koje podupiru alveolu. Podupiranje je pojačano spoljnom kompaktnom pločom, koja služi kao oslonac koštanim gredicama. Značajno je istaći da očuvanje anatomskog integriteta alveolarne kosti zavisi od tzv. funkcionalne stimulacije.

Fenomen funkcionalne stimulacije označava potrebu nekog tkiva da ostvaruje fiziološke funkcije kao preduslov očuvanja njegovih bioloških funkcija. Kada je u pitanju alveolarna kost onda je to prihvatanje i amortizacija okluzalnih sila. Samo pod ovim okolnostima alveolarna kost sa svojom specifičnom histološkom strukturom (odgovarajuća debljina lamine corticalis interne, broj, debljina i raspored koštanih gredica u spongiozi i dr.) ostvaruje biološke funkcije u fiziološkim okvirima (ishrana, reorganizacija, regeneracija). Kao što je već naglašeno osealno tkivo alveolarnog nastavka je podložno konstatnim

promenama u unutrašnjoj strukturi i organizaciji. Koštana depozicija bazirana na osteoblastičnoj aktivnosti praćena je balansiranom oseoklastičnom resorpcijom za vreme tkivne remodelacije i obnove.

Sa fiziološkog aspekta koštana resorpcija je kompleksan proces, morfološki vezan za erodovane koštane površine i aktivnost multinuklearnih ćelija osteoklasta. Aktivnost osteoklasta je praćena njihovim morfološkim promenama i sekrecijom hidrolitičkih enzima. Ovi enzimi su odgovorni za razlaganje organskog matriksa kosti. Osteoklastična aktivnost može biti modifikovana i regulisana endokrinim produktima kao što su parathormon i kalcitonin. Drugi opisani mehanizam koštane resorpcije bazira se na formiranju uslova pojačane kiselosti na osealnoj površini koja vodi ka razlaganju mineralne komponente kosti. Zbog kompleksnosti svoje fiziologije, kao i značaja u funkciji parodontalnog tkiva, alveolarna kost predstavlja najosetljiviju kariku u lancu koga sačinjavaju tkiva potpornog aparata zuba.

Opšte je prihvaćeno stanovište da je funkcionisanje koštanog tkiva u organizmu zasnovano na karakterističnoj ravnoteži između osealne geneze i resorpcije. Ovi procesi su pod stalnim sistemskim i lokalnim koordinirajućim uticajima

1.2. ZARASTANJE EKSTRAKCIONE RANE

Izvestan stepen gubitka tkiva, kako mekog tako i koštanog, može nastati pre same ekstrakcije zuba zbog parodontopatije, periapikalne infekcije ili traume zuba i kosti. Zahvati tokom ekstrakcije zuba mogu uzrokovati gubitak mekog i koštanog tkiva. Međutim samo zarastanje ekstrakcione rane kao i procesi koji se odvijaju nakon toga dovode do značajnih dimenzionih promena alveolarne kosti i samim time predstavljaju poseban fenomen koji je proučavan u brojnim studijama. Proces spontanog zarastanja ekstrakcione rane najviše su proučavani u histološkim studijama na animalnom modelu (Kuboki i dr, 1988; Lin i dr, 1994; Lekić i dr, 2001; Cardaropoli i dr, 2003; Cardaropoli i dr, 2005; Sato i Takeda, 2007), ali i na uzorcima humanog porekla (Amler i dr, 1960; Amler i dr, 1964; Amler i dr, 1969; Boyne, 1966; Trombelli i dr, 2008). Zarastanje ekstrakcione rane je praćeno dvema vrstama promena koje zahvataju deo alveolarne kosti i mekotkivne strukture na mestu gde je izvršena ekstrakcija zuba, to su:

- *unutrašnje (interne) promene* – koje dovode do stvaranja kosti u alveolarnoj čašici
- *spoljašnje (eksterne) promene* – koje dovode do gubitka visine i širine alveolarne kosti (remodelovanje) (Schropp i dr, 2003)

1.2.1. Unutrašnje (interne) promene

Koagulum: neposredno nakon ekstrakcije zuba formira se krvni koagulum koji u potpunosti ispunjava alveolu. Formiranje koaguluma je praćeno inflamatornom reakcijom koja mobilise ćelije i u roku od 48 do 72 sata nakon ekstrakcije uslovljava prožimanje koaguluma granulacionim tkivom naročito u predelu dna alveole. Koagulum deluje kao fizički matriks koji usmerava ćelijska kretanja i sadrži sastojke koji su važni za nastavak procesa zarastanja. Prema tome, koagulum sadrži sastojke koji (1) utiču na mezenhimalne ćelije (tj. faktore rasta) i (2) deluju na inflamatorne ćelije. Ovi će sastojci u koagulumu izazvati i pojačati migraciju različitih vrsta ćelija, kao i njihovu proliferaciju, diferencijaciju i aktivnost sinteze.

Iako je u početnoj fazi zarastanja rane krvni koagulum presudan, on se mora odstraniti kako bi se omogućilo stvaranje novog tkiva. Prema tome, tokom nekoliko dana nakon ekstrakcije zuba krvni se koagulum raspada "fibrinoliza" tako da nedelju dana nakon ekstrakcije koagulum u potpunosti zamenjuje granulaciono tkivo. U ovoj fazi, u predelu baze alveole formira se osteoid, čija mineralizacija počinje 3-4 nedelje nakon ekstrakcije.

Istovremeno sa ivica ekstrakcione rane proliferiše epitel koji u šestoj nedelji posle ekstrakcije kompletno prekriva alveolu. Epitelizacija rane je važna faza njenog zarastanja i odvija se u toku prve dve nedelje od vađenja zuba. Epitelni pokrivač sprečava mogućnost infekcije rane. U prvoj nedelji se odigrava proliferacija epitela od rubova desni. Epitel ne raste samo preko organizovane površine rane da bi zatvorio defekt u mekom tkivu, nego prerasta u alveolu duž njenih zidova. Posle prekrivanja rane epitelom postoji malo ulegnuće u sredini alveole, koje se i kasnije primećuje kao mesto defekta. Brzina epitelizacije zavisi od veličine rane.

Čišćenje rane: neutrofilni i makrofagi migriraju u ranu, fagocituju bakterije i oštećeno tkivo te čiste područje rane pre nego što počne stvaranje tkiva. Makrofagi nisu uključeni samo u čišćenje rane nego i otpuštaju nekoliko faktora rasta i citokine koji dalje podstiču migraciju, proliferaciju i diferencijaciju mezenhimalnih ćelija. Jednom kada se detritus odstrani i rana postane "sterilna" neutrofilni programirano umiru (tj. nastaje *apoptoza*) te ih iz područja rane zatim odstranjuju makrofagi. Na kraju se i makrofagi povlače iz rane. U alveoli, takođe i deo oštećene kosti na mestu ekstrakcije koja je okrenuta prema rani nekrotizuje da bi je kasnije odstranili osteoklasti.

Stvaranje tkiva: mezenhimalne ćelije slične fibroblastu koje migriraju u ranu iz koštane srži, počinju proliferisati i u međućelijskom prostoru odlažu sastojke matriksa. Na ovaj se način krvni ugrušak postepeno zamenjuje novim tkivom, tj. *granulacionim tkivom*. Iz didaktičkih razloga granulaciono tkivo se može podeliti u: (1) rano granulaciono tkivo i (2) kasno granulaciono tkivo. Rano granulaciono tkivo čini veliki broj makrofaga, nekoliko mezenhimalnih ćelija, mala količina kolagenih vlakana i delovi krvnih sudova. Kasno granulaciono tkivo sadrži nešto makrofaga, ali je zato u vezivnom matriksu prisutan veliki broj ćelija sličnih fibroblastu i novostvorenih krvnih sudova. Interesantno je zapažanje do koga su u svojoj histomorfometrijskoj studiji došli Cardaropoli i dr. 2003. godine. Proučavajući zarastanje ekstrakcionih rana kod psa odvojeno su pratili promene koje se dešavaju u koronarnoj, srednjoj i apikalnoj trećini ekstrakcione rane. Zapanili su da je mlado

granulaciono tkivo uglavnom bilo prisutno u koronarnoj trećini alveole dok je srednju trećinu i sam apeks ispunjavalo kasno granulaciono tkivo tzv. provizorni matriks bogat mezenhimalnim ćelijama. Takva pojava navela je autore da pretpostave da se rano granulaciono tkivo pojavljuje kao odgovor na oralne mikroorganizme sa osnovnim ciljem da deluje kao barijera i zaštiti unutrašnje delove alveole od moguće infekcije. Ova pretpostavka je podržana činjenicom da čim keratinizovana sluzokoža prekrije alveolu nestaje i ovo rano granulaciono tkivo. Do sličnog zaključka došli su u svojim studijama sa furkacionim defektima Araújo i dr. 1997. godine. Ćelije slične fibroblastu nastavljaju (1) otpuštati faktore rasta, (2) proliferisati i (3) odlagati novi međućeliski matriks koji usmjerava urastanje novih ćelija i daljnju diferencijaciju tkiva. Novostvoreni krvni sudovi (*angiogeneza*) osiguravaju kiseonik i ishranu za povećan broj ćelija u novom tkivu. Intenzivna sinteza sastojaka matriksa od strane ovih mezenhimalnih ćelija označava se kao *fibroplazija*. Kombinacijom fibroplazije i angiogeneze uspostavlja se *privremeno vezivno tkivo*. Prelaz privremenog vezivnog tkiva u koštano tkivo nastaje uzduž vaskularnih struktura. Prema tome, osteoprogenitorne stanice (npr. periciti) migriraju i nakupljaju se u blizini krvnih sudova. Oni se diferenciraju u osteoblaste što stvaraju matriks kolagenih vlakana koji poprima vlaknast izgled. Time se stvara osteoid i proces mineralizacije počinje u središnjem delu. Cardaropoli i dr. 2003. godine su u svojoj studiji potvrdili još jedan bitan fenomen koji su zapazili Lin i dr. 1994. proučavajući ekstrakcione rane kod pacova, a to je da i ćelije periodontalnog ligamenta doprinose procesu zarastanja. Zapaženo je da ćelije periodontalnog ligamenta migriraju u centar ekstrakcione rane, da se dele i diferentuju u osteoblaste koji učestvuju u formiranju nove kosti. Osteoblasti nastavljaju odlagati osteoid, a ćelije se povremeno zarobe u matriksu i postaju osteociti. Novostvorena kost se naziva *trabekularna kost*. Sinteza koštanog tkiva u rani počinje u trećoj nedelji zarastanja. Prvo se zapaža aktivnost osteoblasta u spongiozi okolne kosti. Formiranje koštanog tkiva u alveoli započinje na zidovima i dnu alveole. Novostvorena kost ima izgled ostrvaca, ali je pripojena za zidove alveole. Značajno je spomenuti da su u skorašnjoj studiji, pored histomorfometrijskih parametara tokom zarastanja ekstrakcione rane, autori pratili i rezultate imunohistohemijske analize koštanog tkiva u alveoli (Trombelli i dr, 2008). Rezultati njihovih analiza su pokazali da je produkcija koštanog morfogenetskog proteina (engl. bone morphogenetic protein, BMP-7), koji se inače detektuje u velikoj meri kod koštane reparacije nakon ekstrakcije zuba, bila izražena u periodu od 2-8 nedelje nakon ekstrakcije zuba i da je progresivno opadala u intervalu od 12-24 nedelje (Spector i dr, 2001, Kloen i dr, 2003). Iz ovog su autori izveli zaključak da je ovaj faktor rasta zapravo povezan sa ranom i intermedijalnom fazom koštane reparacije, tj.

mineralizacijom provizornog koštanog matriksa i sintezom trabekularne kosti. Nasuprot ovom, pojavom lamelarne kosti i napredovanjem koštane remodelacije količine BMP-7 su bile smanjene dok je akumulacija osteokalcina u maturirajućem koštanom matriksu bila povećana. Ovaj rezultat je bio u skladu sa rezultatima drugih studija koje su takođe detektovale veće prisustvo osteokalcina u zreom koštanom matriksu (Ivanovski i dr, 2000, Reinhardt i dr, 2005). U toku okoštavanja može se videti u alveoli kost u različitim stepenima razvitka. Na dnu i zidovima alveole trabekule su dobro razvijene, dok su prema središtu alveole one manje kalcifikovane. Ovako slabo kalcifikovano, mlado koštano tkivo, ne zapaža se na radiogramu. Posle šest do osam nedelja od ekstrakcije zuba, na radiogramu se vide znaci stvaranja koštanog tkiva.

Trabekularna kost je prva vrsta kosti koja se stvara i nastaje brzim odlaganjem minerala uzduž krvnih sudova, a karakteriše je: (1) slabo organizovan kolageni matriks (2) veliki broj osteoblasta zarobljenih u mineralizovanom matriksu i (3) loša sposobnost u podnošenju opterećenja. Uzduž novostvorenih krvnih sudova stvara se trabekularna kost kao prstoliki produžeci. Oblikuju se trabekule ove kosti te okružuju krvne sudove. Zbog daljnjeg odlaganja trabekularne kosti trabekule postaju deblje, osteociti bivaju zarobljeni te se organizuje prvi set osteona, *primarni osteoni*.

Modelovanje i remodelovanje tkiva: Najbrži proces je početno stvaranje tkiva. Tokom nekoliko nedelja cela alveola će se ispuniti trabekularnom kosti odnosno, *primarnom spongioznom kosti*. Ova vrsta kosti obezbeđuje (1) stabilnost, (2) čvrstu površinu, (3) izvor je osteoprogenitornih ćelija i krvi sa mineralima potrebnim za mineralizaciju matriksa. Trabekularna kost sa svojim primarnim osteonima polagano se procesima modeliranja i remodeliranja zamenjuje lamelarnom kosti i koštanom srži. U procesu remodelovanja se primarni osteoni zamjenjuju sekundarnim osteonima. Osteoklastičnom aktivnosti prvo se, do određenog nivoa, resorbuje trabekularna kost. Ovo je neophodno da bi se nakon određenog vremena formirao tzv. sekundarni osteon. Iako modeliranje i remodeliranje može rano početi, trebaće nekoliko meseci dok se sva trabekularna kost ne zameni koštanom srži i lamelarnom kosti. Uporedo sa stvaranjem koštanog tkiva odigravaju se i resorptivni procesi na ivicama i kompakti alveole. Zato što se ivice alveole osteoklastičnom resorpcijom smanjuje, zarasla rana je niža od koštanih ivica oko susednih zuba.

1.2.2. Spoljašnje (eksterne) promene

Ispitivanje Araúja i Lindhea 2005. je pokazalo da se kod psa, tokom prvih osam nedelja od ekstrakcije zuba, dešava pojačana osteoklastična aktivnost koja dovodi do resorpcije bukalnog i lingvalnog zida alveole. Isto tako su primetili da je redukcija visine bila izraženija kod bukalnog zida alveole i da je bila praćena gubitkom širine alveolarnog grebena na mestu ekstrakcije zuba. Da je resorpcija tokom zarastanja ekstrakcione rane izraženija na bukalnom zidu potvrdile su brojne studije (Pietrokokovski, 1967, Schrop i dr, 2003). Leković i dr. 1997. godine su zaključili da je gubitak širine alveolarnog grebena veći od gubitka visine. Najbrže dimenzione promene se dešavaju u ranom post-ekstrakcionom periodu, od 6 meseci do 2 godine i četiri puta su izraženije u mandibuli nego u maksili. U svojoj studiji na humanom materijalu, drugi autori potvrđuju da se najveći gubitak kako horizontalne tako i vertikalne dimenzije alveolarnog grebena dešava u prva tri meseca nakon ekstrakcije zuba (Atwood i Coy, 1971, Schropp i dr, 2003). Gubitak širine grebena u tom periodu iznosi oko 5-7mm. U prva 3 meseca >30%, a nakon 12 meseci >50% u proseku dolazi do redukcije širine grebena nakon ekstrakcije zuba.

Interesantno je navesti zapažanja i objašnjenja koja su u svojoj histološkoj studiji na psima izneli Araúja i Lindhe, 2005. Načelno, zub je ukotvljen u pravu alveolarnu kost pomoću periodontalnog ligamenta. Bukalni zid alveole u koronarnom delu (ivica alveolarne kosti, engl. alveolar crest) gradi samo prava alveolarna kost, dok lingvalni zid u istom sačinjava kombinacija prave alveolarne kosti i lamelarna kost. Ekstrakcijom zuba, prava alveolarna kost gubi svoju primarnu ulogu zbog čega dolazi do njene resorpcije u predelu ivice alveolarnog grebena i u celoj alveoli, tako da se posle 4-8 nedelja više ne zapaža na histološkim preparatima ekstrakcione rane. Ova rana resorpcija prave alveolarne kosti može donekle razjasniti zapažanje da se najveći gubitak visine bukalne lamele dešava u periodu od 1. do 4 nedelje zarastanja. U drugom mesecu zarastanja ekstrakcione rane nastavljaju se promene kako u ekstrakcionoj rani tako i na spoljašnjoj površini bukalne i lingvalne lamele. Ceo ovaj proces se prema studiji Araúja i Lindhea, 2005. može podeliti u dve faze: (1) gubitak prave alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba i značajan gubitak vertikalne dimenzije bukalnog zida alveole, (2) resorpcija koja zahvata spoljšnju površinu bukalnog i lingvalnog zida alveole. Razlozi za ovu spoljašnju resorpciju mogu se protumačiti na dva načina. Prvo, odizanje režnja tokom ekstrakcije zuba može kompromitovati ishranu bukalnog zida zbog čega može doći do nekroze dela koštanog zida. Tokom druge faze zarastanja nekrotični deo

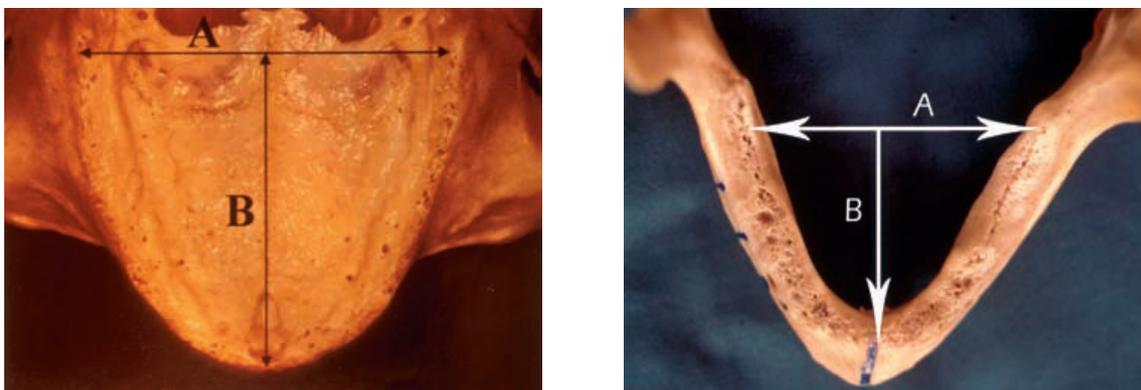
bukalnog zida biva resorbovan od strane osteoklasta. Oba ova procesa dovode kako do gubitka vertikalne tako i horizontalne dimenzije alveolarne kosti. Drugo, budući da je zapaženo da se iste dimenzione promene dešavaju i kad nije odizan režanj tokom ekstrakcije, može se zaključiti da i drugi faktori mogu doprineti tome, a to su (1) adaptacija na prestanak funkcionalne stimulacije, (2) genetski determinisane promene alveolarnog grebena nakon gubitka zuba.

1.3. MORFOLOŠKE I HISTOLOŠKE PROMENE NA ALVEOLARNOM GREBENU NAKON EKSTRAKCIJE ZUBA

Cefalometrijske studije i merenja na modelima vilica mnogih autora su pokazale da prosečan stepen postekstrakcionog gubitka koštanog tkiva grebena veoma precizno odgovara konstantnom šablonu blisko povezanim sa vremenom proteklim od ekstrakcije zuba (Carlsson i Atwood, 1971). Većina autora koji su se bavili ovim problemom ukazuje da je gubitak koštanog tkiva najintezivniji tokom prvih šest meseci od ekstrakcije. Nakon ovog perioda intenzitet redukcije rezidualnog alveolarnog grebena je znatno niži.

Dugo vremena je ovaj problem bio simplificiran tvrdnjom da su mehanički faktori vezani za fizičko dejstvo mobilnih protetskih nadoknada na rezidualni alveolarni greben osnovni pokretač redukcije dimenzija grebena. Međutim, činjenica da se resorpcija alveolarne kosti nakon gubitka zuba odigrava i kod osoba koje nisu protetski zbrinute, direktno ugrožava ovu tvrdnju. Sveobuhvatnijim sagledavanjem došlo se do stava da je resorpcija rezidualnog alveolarnog grebena hroničan kumulativan patološki proces koji se zasniva na koštanoj resorpciji i remodelaciji. U osnovi je to multikauzalni proces koji zavisi od aktivnosti biološkog kapaciteta osteogeno potentnih osteoblasta, ali i osteoklastične aktivnosti, lokalnih i sistemskih biohemijskih faktora koji imaju uticaj na osealne ćelije, i dejstva fizičkih sila na kost sa odgovarajućim osealnim odgovorom.

Slika 1.3.1. Izgled i merenje širine (A) i dužine (B) atrofičnih bezubih lukova gornje i donje vilice.



Petrokovski J, Starinsky R, Arensburg B, Kaffe I. Morphologic Characteristics of Bony Edentulous Jaws. *J Prosthodont* 2007;16:141-7.

Merenja i analiza potpuno bezubih osušenih vilica (24 maksile i 99 mandibula) potvrdila je rezultate ranijih ispitivanja, što je prikazano na slici 1.3.1. (Pietrokovski i dr, 2007). Širina rezidualnog alveolarnog grebena kod maksile se kretala od 1-7 mm, pri čemu je najtanja alveolarna kost zapažena u frontalnom regionu gde je kost u 22% slučajeva bila tanka kao oštrica noža. Kada je u pitanju donja vilica širina rezidualnog alveolarnog grebena je iznosila 1-18 mm, a tanka alveolarna kosti nije samo bila prisutna u frontalnom regionu 75% već i u regionu premolara 38% i molara 15%. Kao jedan od rezultata studije istaknut je i podatak da usled kontinuirane resorpcije i remodelovanja rezidualni alveolarni nastavak menja i nagib u odnosu na bazu lobanje, tako da kod maksile iznosi 65-84%, dok u odnosu na telo mandibule zauzima ugao od 99-120%. Osim studija koje su se bavile proučavanjem morfoloških i dimenzionih promena na potpuno bezubim vilicama (Ulm i dr, 1992; Pietrokovski i dr, 2007), postoje ispitivanja koja su proučavala ovu problematiku u slučajevima ekstrakcije jednog zuba kod ljudi (Pietrokovski i Massler, 1967; Schropp i dr. 2003). Rezultati ovih ispitivanja bilo da su merenja vršena na modelu, kliničkim ili radiološkim metodama bila su u korelaciji sa prethodnim studijama. Takođe je najizraženija resorpcija bila prisutna na bukalnom zidu alveole, a najveće dimenzione i morfološke promene alveolarne kosti bile su prisutne u regionu molara kod obe vilice (Pietrokovski i Massler, 1967). Ipak, upoređujući maksilu i mandibulu, uopšte izraženija resorpcija koštanog tkiva je bila prisutna u mandibuli.

Histološki i histometrijski nalaz ćelija i njihove aktivnosti unutar rezidualnog alveolarnog grebena samo donekle pomaže u rasvetljavanju etiopatogeneze resorpcije alveolarnog grebena nakon gubitka zuba:

- Pojačana kapilarna mreža u bliskom kontaktu sa koštanom površinom u regionu osealne resorpcije grebena
- Aktivnost ATP-aze u regionima osteogeneze i pojačana aktivnost kisele fosfataze u regionima resorpcije
- Nepostojanje dokaza o koštanoj resorpciji u oblastima gde nema inflamatornih ćelija
- Nedostatak periostalne lamelarne kosti na površinskoj strukturi kosti
- Endosealna koštana depozicija sa površinskom resorpcijom
- Mikroradiografski dokazi osteoporoze sa povećanim brojem inkompletno zatvorenih osteona i povećana endosealna poroznost

Do skoro se uticaju fizičkog opterećenja na rezidualni alveolarni greben pridavala najveća pažnja u pokušaju rasvetljavanja geneze gubitka alveolarne kosti nakon gubitka zuba.

U osoba sa prirodnom denticijom alveolarna kost prima fiziološko opterećenje od sila koje deluju na zube preko periodontalnog ligamenta, preko koga se sile prenosi na laminu kortikalis i potpornu trabekularnu kost. U slučaju gubitka jednog ili više zuba, rezidualni alveolarni greben trpi malo ili nikakvo opterećenje, što dovodi do različitog stepena atrofije zbog inaktiviteta. Atrofične promene u alveolarnoj kosti, koje se manifestuju smanjenjem debljine trabekula i proširenjem koštano sržnih prostora i redukcijom debljine spoljašnje kortikalne lamele, same po sebi otvaraju uslove za buduću resorpciju alveolarnog grebena.

Sa druge strane, u protetski zbrinutih pacijenata fizičko opterećenje se na alveolarnu kost prenosi sa arteficialnih zuba i baze proteze na mukoperiost koji intimno naleže na osealno tkivo. Ovakav način prenošenja sila na rezidualni greben je sam po sebi nefiziološki. Činjenica da je prosečna resorpcija alveolarnog grebena protetski zbrinutih pacijenata u mandibuli 3 do 4 puta veća nego u maksili, upućuje nas na zaključak da intezivnije sile izazivaju obimniji gubitak koštanog tkiva. Ovaj stav je podržan poznatom činjenicom da je prosečna projektovana površina baze proteze u donjoj vilici 1,8 puta manja nego u gornjoj, te da je zbog toga i srednje opterećenje po jedinici površine u mandibuli toliko puta veće. Patofiziološki aspekt bi se mogao objasniti stavom da pojačano opterećenje dovodi do pojačane vaskularizacije, pritisak dovodi do venske staze i stimulacije osteoklastičnih ćelija preko receptora aktiviranih dejstvom fizičke sile.

Svi ovi faktori potvrđeno imaju uticaja na obiman gubitak alveolarne kosti, ali i dalje je ostala nerazjašnjena činjenica vezana za daleko najznačajniju resorpciju koštanog tkiva grebena u okviru prvih 6 meseci od ekstrakcije zuba.

Danas, na osnovu mnogobrojnih studija možemo sa sigurnošću tvrditi da postoje dva osnovna etiopatogenetska faktora u nastanku obimne postekstrakcione resorpcije alveolarnog grebena i to:

- atrofija usled izostanka funkcionalne stimulacije i
- nepovoljni redosled tkivnih interakcija koja učestvuju u spontanom zarastanju ekstrakcione rane.

Činjenica je da oboljenje potpornog aparata zuba kao najnepovoljniju posledicu svog delovanja ima upravo obimnu resorpciju alveolarne kosti. Terminalno razaranje paradoncijuma (alveolarne kosti) dovodi do gubitka zuba, pri čemu buduća postekstrakciona resorpcija grebena biva multiplicirana već prisutnim defektom koštanog tkiva izazvanog paradontopatijom. Do sada, su ispitivanja kaskadnog mehanizma zarastanja ekstrakcione rane kao i dimenzionih promena rezidualnog alveolarnog grebena bez obzira da li se radi o

multiplim ili pojedinačnim ekstrakcijama, bila usmerena ka alveolama gde su zubi ekstrahirani zbog frakture, neuspele endodontske terapije ili nekog drugog razloga. Međutim zarastanje ekstrakcionih rana nakon ekstrakcije zuba usled uznapredovalih oblika parodontopatije je stavljeno u drugi plan zbog čega u literaturi ima jako malo podataka koji se odnose na ovaj problem. Ispitivanja Ahn i Shin, 2009. su iznela neka važna zapažanja i pravila kada je reč o zarastanju ekstrakcione rane kod zuba zahvaćenim uznapredovalom parodontopatijom. Prvo, ekstrakcione rane parodontopatičnih zuba su imale veći stepen oštećenja koštanih zidova kao i periodontalnog ligamenta nakon ekstrakcije. Upoređujući ih sa ekstrakcionim ranama gde su zubi bili ekstrahirani zbog nekog drugog razloga, rezultati su pokazali da je u alveolama parodontopatičnih zuba proces zarastanja bio sporiji i da je tek u 16 nedelji zarastanja alveola bila ispunjena sa više od 50% koštanog tkiva. Kod ostalih ekstrakcionih rana već je u 8 nedelji bilo prisutno više od 50 % novoformiranog koštanog tkiva i proces kortikalizacije je bio kraći (Cardaropoli i dr, 2003). Zbog toga je sasvim razumljivo da su saznanja kao i tehnike vezane za terapiju parodontopatije uspešno iskorišćene u pokušaju prevažilazenja problema vezanih za formiranje postekstrakcionih deformiteta alveolarnog grebena, pri čemu su regenerativni koncepti u žiži aktuelnih istraživanja imajući u vidu terapijske potencijale ovih procedura (slika 1.3.2.).

Slika 1.3.2. Izgled adekvatnog i resorbovanog grebena nakon zarastanja za postavljanje dentalnog implantata



1.4. KONCEPTI TERAPIJSKOG PRISTUPA U OČUVANJU ALVEOLARNOG GREBENA NAKON EKSTRAKCIJE ZUBA

Podaci iz literature

Različiti biološki mehanizmi koji se odvijaju u regiji ekstrakcione rane uslovljavaju manji ili veći gubitak koštanog tkiva uz pojavu karakterističnih deformiteta rezidualnog alveolarnog grebena. Ovo je značajan problem na čijem prevazilaženju su radili brojni autori. Veliki broj hirurških procedura sa ciljem da se postigne dimenziona i morfološka stabilnost ekstrakcione rane i prevenira formiranje postekstrakcionih deformiteta alveolarnog grebena je prezentovan do sada. Nekada je ove procedure potrebno odložiti zbog prisutne infekcije ili drugih kontraindikacija. U ovim slučajevima, prema tvrdnjama autora, je indikovano proceduru očuvanja alveolarnog grebena potrebno odložiti za 6-8 nedelja, kada su spoljašnje promene alveolarnog grebena tokom zarastanja ekstrakcione rane još uvek na inicijalnom stadijumu (Chen i dr, 2004). Primena minimalno invazivne tehnike tokom ekstrakcije zuba, kao i uklanjanje stranog materijala i inflamiranog tkiva iz rane su imperativ za nesmetano spontano zarastanje. Očuvanje periodontalnog ligamenta, sa druge strane, samo može imati pozitivan uticaj na zarastanje ekstrakcione rane (Cardaropoli i dr, 2003).

1.4.1. Imedijatna implantacija dentalnih implantata

Na trećoj ITI konferenciji doneta je klasifikacija koja se odnosi na vreme od ekstrakcije do mogućeg postavljanja implantata na mestu gde je izvršena ekstrakcija. Prema Hämmeler-u i saradnicima, ova klasifikacija ima četiri stepena, prema čemu se implantat može postaviti na mestu gde je prethodno izvršena ekstrakcija:

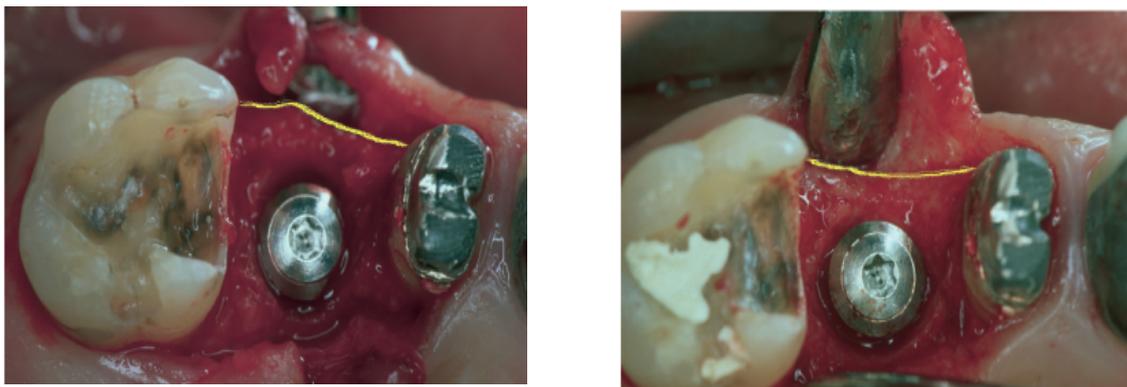
- 1) Istovremeno u okviru tekuće hirurške procedure
- 2) Nakon 4-8 nedelja, tj. kad zarastu mekotiivne strukture u predelu rane
- 3) Nakon 12-16 nedelja, kad se klinički i/ili radiološki uoči koštano tkivo u alveoli
- 4) Nakon više od 16 nedelja nakon ekstrakcije, tj. kad ekstrakciona rana zaceli (Hämerle i dr, 2004).

Otkad je prvi put u literaturi izašao podatak o postavljanju implantata u svežu ekstrakcionu ranu (Schultze i sar, 1978), mnogi autori su na osnovu vlastitih zapažanja izneli

prednosti ove metode što se pre svega odnosilo na 1) redukovan broj hirurških intervencija (Lazzara, 1989), 2) skraćen interval od implantacije do protetske rehabilitacije (Schultz, 1993), 3) povoljan estetski ishod i 4) prezervaciju alveolarnog grebena na mestu ekstrakcije (Watzek i dr, 1995). Iako je izveštaj treće ITI pokazao da je istovremena implantacija dentalnog implantata u ekstrakcionu ranu uspešan vid terapije i iako su mnoge studije pokazale da je terapijski ishod imedijatno implantiranih implantata podjednak uspehu kod odloženog tipa implantacije (Paolantonio i dr, 2001) , ipak ovakav terapijski modalitet nije pokazao znatniji uspeh kod očuvanja alveolarnog grebena kako kod eksperimentalnih životinja (Araújo i dr, 2005; Araújo i dr, 2006; Blanco i dr, 2008) tako i kod ljudi (Covani i dr, 2003; Boticelli i dr, 2004). Histološka ispitivanja Araúja i saradnika su jako dobro dokumentovala procese koji se dešavaju odmah nakon postavljanja implantata u ekstrakcionu ranu, 4 i 12 nedelja posle (Araújo i dr, 2006). Neposredno nakon implantacije implantata (Straumann® Standard, Waldenburg, Switzerland) širine 4,1 mm i dužine 6 ili 8 mm kada je žrtvovana prva grupa eksperimentalnih životinja zapaženo je prisustvo prave alveolarne kompakte u predelu ivice alveolarne kosti. Implantati su postavljeni tako da je granica SLA površine bila ispod ivice bukalne i lingvalne lamele kosti. Zjap između bukalne i lingvalne lamele i koronarnog dela implantata bio je ispunjen koagulumom. Nakon 4 nedelje peri-implantna sluzokoža je bila keratinizovana, a pripojno vezivno tkivo je zauzimalo prostor između pripajajućeg epitela i bukalne odnosno lingvalne koronarne ivice alveolarne kosti. Zjap između kosti i implantata koje je pre ispunjavao koagulum sada je bio ispunjen vezivnim matriksom, trabekularnom kosti i lamelarnom kosti. Ivica lingvalne kosti je još uvek bila u nivou SLA granice, međutim bukalna lamela se uvek nalazila u apikalnoj poziciji. Nakon 12 nedelja peri-implantna sluzokoža se nalazila nešto apikalnije u odnosu na rame implantata, pripojno vezivo je bilo značajno duže na bukalnoj površini jer je bukalna lamela bila značajno resorbovana i nalazila se 2,5 mm apikalnije u odnosu na ivicu lingvalne lamele. Autori su mogli da pretpostave da se proces remodelovanja nastavio i da izmereni gubitak koštanog tkiva svakako nije bio i konačan. Isti autori su u drugoj studiji, takođe sprovedenoj na psima, posmatrali i debljinu bukalne i lingvalne lamele alveolarne kosti na udaljenosti od 1 mm, 2 mm i 3 mm od SLA granice. Primetili su da je resorpcija bila opet izraženija na bukalnoj lameli i to više u molarnoj, nego premolarnoj regiji u periodu od 4-12 nedelje od ekstrakcije i imedijatne implantacije. Čak je u premolarom regionu došlo do apozicije lingvalne lamele, što je vjerovatno bila kompenzatorna reakcija na izražen gubitak kosti bukalno. Kada su na istom modelu uporedili dimenzione promene između eksperimentalnih ekstrakcionih rana gde su imedijatno postavljeni implantati i kontrolnih rana koje su

ostavljene da spontano zarastaju, primetili su da nije postojala značajna razlika. Takođe je zapaženo i da je periodoncijum susednih zuba pretrpeo izvesne promene u smislu gubitka pripoja i dela alveolarne kosti, kako zbog traumatizacije tokom ekstrakcije tako i zbog odizanja režnja. Ove promene su opet bile manje izražene na lingvalnoj lameli (Araújo i dr, 2005).

Slika 1.4.1.1. Žuta linija predstavlja konturu bukalne lamele nakon imedijatne implantacije i 4 meseca posle



Boticelli D, Berglundh T, Lindhe J. Hard-tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *J Clin Periodontol* 2004;31:820-8.

Ispitivanja Boticellia i saradnika, potvrđuju rezultate ispitivanja na psima (slika 1.4.1.1.). Nakon četiri meseca od imedijatne implantacije došlo je do redukcije debljine bukalne lamale za 56%, dok je redukcija debljine lingvalne lamele bila nešto manja i iznosila je 30%. Važno je primetiti da se koštani defekt koji je postojao između kosti ekstrakcione rane i implantata u momentu implantacije nakon četiri meseca ispunio koštanim tkivom (Boticellia i dr, 2004). Ovo je zapaženo i u drugim studijama, a može se protumačiti time da depozicija kosti u rani i spoljašnja resorpcija bukalne i lingvalne koštane lamele daju predvidiv rezultat u vidu iščezavanja ovog defekta što daje pozitivan terapijski rezultat. Iako su implantati bili postavljeni u sveže ekstrakcione rane u ovim studijama, ipak je došlo do gubitka kako vertikalne tako i horizontalne dimenzije alveolarne kosti. Neki autori su smatrali da je ovome moglo pridoneti samo odizanje mukoperiostalnog režnja tokom hirurškog zahvata kao što se dešava nakon hirurške intervencije na obolelom parodontijumu (Wood i dr, 1972).

Zbog toga su, ispitivanja drugih autora bila usmerena u pravcu rasvetljenja ovog problema (Blanko i dr, 2008). Na kontrolnoj strani vilice psa nakon odizanja mukoperiostalnog režnja izvršena je ekstrakcija i postavljen implantat dok je na

eksperimentalnoj strani sve izvedeno na identičan način, ali bez odizanja mukoperiostalnog reznja. Rezultati dobijeni nakon 3 meseca su pokazali da je tzv. flapless hirurški zahvat dao bolje rezultate u smislu redukcije biološke širine bukalno (udaljenost između peri-implantne mukoze i ivice alveolarne kosti). Redukcija resorpcije bukalne lamele iako je histomorfometrijski postojala, nije ipak bila statistički značajna u odnosu na kontrolnu grupu. Da bi potvrdili navedene rezultate, poslednja ispitivanja koja su sprovedena na psima, upravo su se odnosila na uticaj odizanja mukoperiostalnog reznja tokom ekstrakcije zuba na dinamiku resorptivnih procesa tokom zarastanja ekstrakcione rane (Araújo i Lindhe, 2009). Rezultati dobijeni histološkim analizama su pokazali da je 6 meseci nakon ekstrakcije došlo do značajnih promena u smislu alteracije dimenzija alveolarnog grebena bez obzira na primenjenu hiruršku proceduru tokom ekstrakcije zuba. Iz svega navedenog se može reći da na osnovu dosadašnjih ispitivanja imedijatna implantacija dentalnih implantata u sveže ekstrakcione rane bez odizanja mukoperiostalnog reznja ne može u potpunosti anulirati dimenzione i morfološke promene alveolarnog grebena koje slede u periodu zarastanja. Kao rezultat svega ovog mogu nastati estetski defekti u vidu dehiscencije implantata i recesije mekih tkiva koji samo mogu biti tretirani primenom koncepta vođene regeneracije tkiva.

1.4.2. Koncept primene koštanih zamenika

Prema Uristu, Brunsvoldu i Melloningu, osnovna biološka koncepcija pri upotrebi koštanih transplantata ili aloplastičnih zamenika je pretpostavka da materijali mogu delovati (Urist, 1980).

- **Osteogenetski** – materijal može sadržati ćelije odgovorne za sintezu kosti (osteoblasti)
- **Osteoinduktivno** – sposobnost indukovanja diferencijacije pluripotentnih stem ćelija u fenotip osteoblasta koji će dovesti do sinteze nove kosti
- **Osteokonduktivno** – sposobnost da podstakne rast kosti preko svoje površine (služi kao matrica za rast nove kosti, a ujedno i depo mineralanih materija).

Prema postojećoj literaturi postoji nekoliko osnovnih razloga koji opravdavaju primenu koštanih zamenika u cilju očuvanja povoljnih kontura i dimenzija alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba uz obezbeđivanje dovoljne količine kvalitetne kosti za implantaciju dentalnih implantata i zadovoljavajući ishod po pitanju protetske rehabilitacije.

Jedan od razloga je taj što postavljen zamenik za kost u ekstrakcionu ranu može stabilizovati koagulum, što je bitan preduslov za povoljan ishod zarastanja. Takođe, postavljen u ekstrakcionu ranu zamenik za kost obezbeđuje matricu odnosno osnovu za urastanje ćelijskih komponenti i krvnih sudova za formiranje nove kosti, u čemu se ogleda osteokonduktivno svojstvo koje poseduje većina sintetskih zamenika za kost koji se danas uveliko primenjuju u kliničkoj praksi (Cardaropoli i dr, 2005). Do sada upotrebljavani koštani transplantati i zamenici u cilju očuvanja alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba za kost se mogu svrstati u četiri kategorije:

1. Autogeni koštani transplantati

Autogeni koštani transplantati (autotransplantati) obuhvataju kortikalnu kost ili spongiozu koja se kod pacijenta sa jednog mesta prenosi na drugo. Mogu sadržati žive ćelije i faktore rasta pa mogu delovati osteogenetski i osteoinduktivno. Postepeno se resorbuju i zamenjuju novom kosti. Danas se opet sve veća pažnja posvećuje izučavanju primene autotransplantata u regenerativnoj parodontalnoj hirurgiji i implantologiji (tabela 1.4.2.1.). Autotransplantati mogu biti *intraoralni* ili *ekstraoralni* ovisno o mestu sa kojeg se uzimaju.

Tabela 1.4.2.1. Podaci iz literature o primeni autotransplantata i koštanih zamenika u cilju očuvanja ekstrakcione rane

| Metod | Autori | Materijal |
|------------------------|---------------------------|-------------------------------------|
| Koštani zamenik | Becker i dr, 1994 | Autotransplantat vs. DFDBA |
| | Nemcovski i Serfaty, 1996 | HA |
| | Artzi i dr, 2000 | Bio-Oss |
| | Camargo i dr, 2000 | Bioaktivno staklo i Kalcijum sulfat |
| | Froum i dr, 2002 | Bioaktivno staklo vs. DFDBA |
| | Guarnieri i dr, 2004 | Kacijum sulfat |
| | Nevins i dr, 2006 | Bio-Oss |
| | Brković i dr, 2008 | β TCP sa kolagenom |
| | Araújo i Lindhe, 2009 | Bio-Oss sa kolagenom |

Autogeni koštani transplantati se smatraju zlatnim standardom kada je reč o regenerativnim hirurškim procedurama. Becker i saradnici su poredili efikasnost autogenog koštanog transplantata u očuvanju alveolarnog grebena sa demineralizovanim suvo smrznutim alograftom (engl. demineralized freeze-dried bone allograft, DFDBA) kod sedam

parnih ekstrakcionih rana (Becker i dr, 1994). Nakon tri meseca došlo je do formiranja kosti u eksperimentalnim regionima dok je regeneracija kosti kod ekstrakcionih rana gde je primenjen DFDBA bila nekompletna.

2. Alogeni koštani transplantati

Budući da primena autogenih transplantata implicira formiranje još jedne hirurške rane i dodatnu hiruršku intervenciju počelo se sa primenom alogenih transplantata (alotransplantata). To su transplantati koji se prenose između genetski nejednakih pripadnika iste vrste. Suvo-smrznuti mineralizovani koštani alograft i demineralizovani suvo-smrznuti koštani alograft (engl. **FDBA** - freeze-dried bone allograft i **DFDBA** - decalcified freeze-dried bone allograft) su vrste alotransplantata koji se najčešće koriste u parodontalnoj regenerativnoj terapiji (Borghetti i dr, 1993). Američka Asocijacija za Banke Tkiva je postavila pravila i standarde za dobijanje i preradu alogenih koštanih transplantata (citirano prema Lindheu, 2003). Proces dobijanja DFDBA je takav da dovodi do demineralizacije suvo smrznutog koštanog grafta čime bivaju izloženi koštani morfogenetski proteini (engl. bone morphogenetics proteins-BMP) što ovom zameniku za kost daje izvestan osteogenetski/osteoinduktivni potencijal (Fucini i dr, 1993; Francis i dr, 1995).

Becker, a kasnije Froum i saradnici nisu uspeali dokazati da DFDBA ima pozitivan uticaj na koštanu regeneraciju tokom zarastanja ekstrakcione rane (Becker i dr, 1994; Froum i dr, 2002). Tokom studije je tretirano 30 ekstrakcionih rana sa tri terapijska modaliteta (bioaktivno staklo vs. DFDBA vs. prazna alveola). Šest do osam meseci posle ekstrakcije, najbolji rezultati su postignuti sa bioaktivnim staklom gde je procenat vitalne kosti iznosio 59,5% u poređenju sa DFDBA i praznom ekstrakcionom ranom gde je bilo prisutno u proseku manje od 35% vitalne kosti.

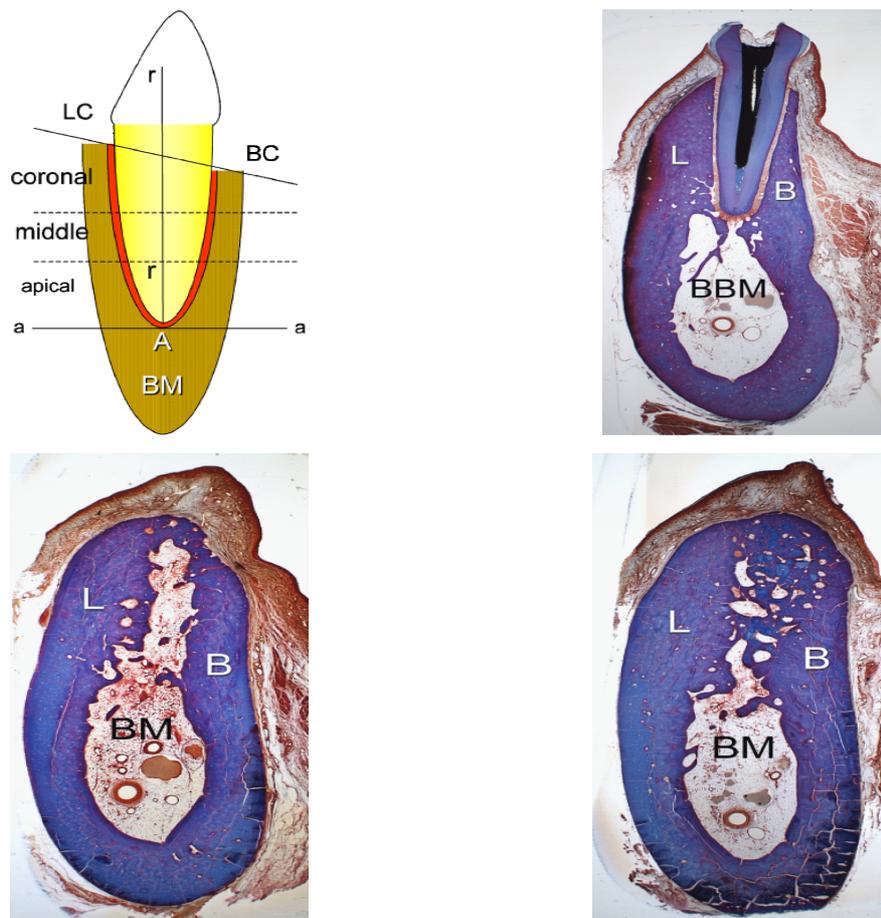
Upoređujući korist i rizik (prenos bolesti, antigenost) kod primene DFDBA, ovakvi rezultati doveli su u pitanje njenu upotrebu tako da komercijalni preparat DFDBA nije dobio CE-certifikat kojim se dopušta distribucija materijala unutar EU (citirano prema Lindheu, 2003).

3. Ksenogeni koštani transplantati

Ksenotransplantati ili heterotransplantati su transplantati poreklom od davaoca neke druge vrste. Do sad najviše primenjivan preparat ove vrste je koštani ksenotransplantat koji se dobija od kosti bovinog porekla, najčešće poznat pod komercijalnim nazivom Bio-Oss®.

Dobija se zagrevanjem kosti na 300°C i hemijskim procesima koji iz bovine kosti eliminišu sve organske materije da bi na kraju ostale neorganske komponente sa očuvanom arhitekturom kosti koja je kompatibilna sa građom humane kosti (Gross, 1997). U stomatologiji se Bio-Oss® koristi za augmentaciju alveolarnog grebena (Nentwig i dr, 1993), elevaciju poda sinusa (Wetzel i dr, 1995) u terapiji furkacija i infrakoštanih parodontalnih defekata (Brion, 1990). Histološki nalazi na humanim uzorcima govore u prilog pozitivnog efekta na regeneraciju kosti kod koštanih defekata tretiranih bovinom kosti (Bio-Oss®) (Camelo i dr, 1998). Artzi i saradnici, su u svojim ispitivanjima, 15 ekstrakcionih rana ispunili Bio-Ossom i prekrili mukoperiostalnim režnjem (Artzi i dr, 2000). Devet meseci kasnije u ekstrakcionim ranama je bilo prisutno u proseku 82% novostvorenog tkiva od čega je 23% bilo vezivo, 30% čestice zamenika, dok je oko 64% predstavljalo pravo koštano tkivo.

Slika 1.4.2.1. Izgled bukalne i lingvalne lamele alveolarne kosti pre ekstrakcije, 6 meseci nakon spontanog zarastanja (slika dole levo) odnosno nakon prezervacije koštanim zamenikom (Bio-Oss®)(slika dole desno)



Araújo M, Lindhe J. ridge preservation with the use of Bio-Oss® collagen: A 6-month study in the dog. *Clin Oral Impl Res* 2009;20:433-40.

Nevins i saradnici su u svojoj studiji, takođe primenili Bio-Oss[®] koji je imao ulogu koštanog punoca u devetnaest eksperimentalnih ekstrakcionih rana dok su kontrolne alveole ostavljene da spontano zarastu (Nevins i dr, 2006). Rezultati ove studije su dokumentovani radiološki koristeći metod kompjuterizovane tomografije i histološki tri meseca nakon ekstrakcije zuba.

Radiološki rezultati su pokazali da je kod kontrolnih ekstrakcionih rana došlo do značajnog gubitka vertikalne dimenzije što je u proseku iznosilo 5,24 mm, dok je kod eksperimentalnih alveola gubitak visine u proseku iznosio samo 2,42 mm. Histološki, iako je došlo do značajne regeneracije kosti, kod svih eksperimentalnih rana još su uvek u znatnoj meri bile prisutne čestice koštanog zamenika. Upravo ovo je bilo polazna ideja za ispitivanja koja su zatim usledila (Carmangola i dr, 2003; Araújo i dr, 2009). Proučavajući histomorfometrijski sastav kosti koju su dobili nakon 4 meseca od ekstrakcija zuba kod ljudi, Carmangola i saradnici su zaključili da je kod grupe defekata gde su primenili Bio-Oss[®] bilo prisutno 26% lamelarne kosti, 8% trabekularne kosti, 26% koštane srži, 18% vezivnog tkiva i 21% čestica zamenika koje su bile u kontaktu sa trabekularnom kosti. Mesta gde su ekstrakcione rane bile prekrivene resorptivnom kolagenom membranom imala su drugačiju strukturu novoformiranog koštanog tkiva koje se uglavnom sastojalo iz lamelarne kosti (40%) i koštane srži (46%) (Carmangola i dr, 2003).

Cilj ispitivanja Araújo i saradnika, koja su usledila je bio da ispituju kako zamenik za kost (Bio-Oss[®]) utiče na ranu fazu formiranja kosti, tj. nakon 2 nedelje od ekstrakcije zuba kod pasa (Araújo i dr, 2009). Histološki rezultati su pokazali da su u ranoj fazi zarastanja čestice ksenografta bile okružene multinuklearnim ćelijama za koje se smatra da su osteoklasti, i koje su iščezle do trećeg meseca od ekstrakcije. Isto tako najveća zastupljenost zaostalog koštanog zamenika pronađena je u koronarnim partijama alveole gde je formiranje koštanog tkiva bilo usporeno, dok je trabekularna kost već ispunjavala apikalnu trećinu. Za ovakvu distribuciju smatrala se odgovornim krv koja izlazeći iz koštanosržnih prostora potiskuje zamenik ka koronarno i zauzima apikalne delove alveolarne kosti, a prisustvo multinuklearnih ćelija se smatralo odgovornim za usporeno i odloženo formiranje kosti u ovoj fazi zarastanja (slika 1.4.2.1.)

4. Aloplastični koštani zamenici

Aloplastični materijali su sintetski, neorganski, biokompatibilni i/ili bioaktivni zamenici za kost koji poseduju osteokonduktivni potencijal. Ovi materijali se mogu podeliti u dve grupe prema njihovoj resorptivnosti. Resorptivnim materijalima pripadaju: beta-trikalcijum-fosfat (β -TCP), hidroksiapatit (HA), kalcijum sulfat (CS) i kalcijum karbonat, dok su neresorptivni materijali: porozni i neporozni hidroksiapatit (HA), bioaktivna stakla (biostakla) i polimeri.

Hidroksiapatit (HA)

Hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ je preparat na bazi kalcijum fosfata. U parodontologiji se ovaj materijal upotrebljava u dva oblika: u obliku čestica neresorptivne keramike (npr. Periograf[®], Miter Inc., Warsaw, IN, SAD; Calcitite[®], Calcitek Inc., San Diego, SAD) i u obliku resorptivnih čestica (npr. OsteoGraf/LD[®], CeraMed Dental, Lakewood, CO, SAD) (citirano prema Lindheu, 2003). U kontrolisanim kliničkim istraživanjima primena HA u terapiji infrakoštanih parodontalnih defekata dovela je do stvaranja kosti i dobitka nivoa pripojnog epitela od 1.1 do 3.3mm za razliku od parodontalnih koštanih defekata tretiranih samo režanj operacijom (Galgut i dr, 1982). Ipak, histološka istraživanja na životinjskim i humanim uzorcima su pokazala da je regeneracija alveolarne kosti ograničena, da je većina čestica HA bila okružena vezivnim tkivom i da dugačka epitelna insercija prekriva veći deo korena zuba (Carranca i dr, 1987, Lekovic i dr, 1990).

Kada je ovaj materijal primenjen u cilju očuvanja dimenzija alveolarnog grebena nakon ekstrakcije, rezultati postignuti nakon godinu dana bili su zadovoljavajući (Nemcovsky i Serfaty, 1996.).

Bioaktivna stakla (biostakla)

Biostakla mogu biti resorptivna ili neresorptivna zavisno od veličine granula. U sastav ovih materijala ulaze SiO_2 , Na_2O , P_2O_5 . Komercijalno dostupna biostakla u obliku granula koja se upotrebljavaju u parodontalnoj hirurgiji su: PerioGlass[®], US Biomaterials Corp., Alachua, FL, SAD; BioGran[®], Orthovita, Malvern, PA, SAD. Pod uticajem tkivnih tečnosti na površini ovih materijala stvara se dvostruki sloj silicijumskog gela i kalcijum-fosfata. Kroz ovaj sloj, materijal podstiče adsorpciju i koncentraciju proteina koje luče osteoblasti kako bi stvorili ekstracelularni koštani matriks (citirano prema Lindhe, 2003).

U kontrolisanim kliničkim istraživanjima lečenje parodontalnih koštanih defekata materijalima na bazi biostakla je dalo bolje kliničke rezultate, nego sama režanj operacija (Froum i dr, 1998).

Osim Frouma, bioaktivna stakla u kombinaciji sa kalcijum sulfatom u cilju očuvanja ekstrakcione rane, su primenjivali Camargo i saradnici kada su pokazali da ovaj zamenik za kost deluje pozitivno na formiranje novog koštanog tkiva u ekstrakcionoj rani i umereno doprinosi očuvanju postojećih dimenzija alveolarnog grebena (Camargo i dr, 2000; Froum i dr, 2002).

Kalcijum sulfat

Kalcijum sulfat (engl. Calcium Sulphate) (CS) je preparat na bazi gipsa od davnina poznat kao „pariski gips“. Primena kalcijum sulfata u terapijske svrhe započela je još krajem devetnaestog veka kada je Dreesman 1892. godine uspešno primenio kalcijum sulfat u terapiji TBC osteomijelitisa dugih kostiju kod ljudi (Thomas i dr, 2005). Lillo i Peltier, u studijama koje su sprovodili na psima, su zapazili da je kod defekata ispunjenih kalcijum sulfatom i prekrivenih periostom došlo do kompletne regeneracije kosti u periodu od 3 meseca: radiološki je konstatovano da se kalcijum sulfat kompletno resorbovao u periodu od 45-72 dana (Lilo i Peltier, 1956).

U kasnijim ispitivanjima na ljudima, drugi autori, su proučavali regenerativni i osteokonduktivni potencijal ovog materijala nakon njegove primene u cilju očuvanja dimenzija ekstrakcione rane (Guranieri i dr, 2004). Koštani uzorci uzeti biopsijom nakon tri meseca pokazali su da se materijal u potpunosti resorbovao i da je prisutno tkivo bilo sastavljeno većinom od novoformirane kosti.

Beta-trikalcijum-fosfat (β -TCP)

Primena β -TCP ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) (npr. Synthograft[®], Johnson and Johnson, New Brunswick, NJ, SAD) u seriji kontrolisanih kliničkih istraživanja je dala ograničene pozitivne rezultate u smislu parodontalne regeneracije (Baldock i dr, 1985). Histološki rezultati istraživanja na životinjama (citirano prema Lindhe, 2003) i ljudima (Dragoo i Kaldahl, 1983) pokazali su da se β -TCP vrlo brzo resorbuje ili da se inkapsulira vezivom, uz minimalnu regeneraciju kosti i nekompletnu regeneraciju ostalih delova parodonticijuma (Galgut i dr, 1982). Ispitivanja, gde je β -TCP upotrebljavan kao koštani graft u cilju augmentacije poda maksilarnog sinusa i tokom terapije mandibularnih cista, su pokazala da je ovaj materijal biokompatibilan i da ima dobro osteokonduktivno svojstvo (Zerbo i dr, 2001). Skorašnja ispitivanja Brkovića i saradnika gde je β -TCP primenjen u obliku konusa pomešan sa kolagenom tipa I (RTR Cone[®], Septodont, France) u cilju prezervacije ekstrakcione rane bez odizanja režnja, su dala sledeće rezultate: (1) sedmog dana je alveola kompletno bila prekrivena gingivom, (2) tokom opservacionog perioda u narednih 9 meseci nije primećen gubitak materijala, infekcija niti bilo koja druga komplikacija, (3) gubitak

vertikalne i horizontalne dimenzije ekstrakcione rane je bio minimiziran, (4) histomorfometrijske analize su pokazale da je u uzorku koštanog tkiva uzetog 9 meseci nakon ekstrakcije bilo prisutno čak 62,6% mineralizovane novoformirane kosti, 21,1% koštane srži i 16,3% čestica koštanog zamenika inkorporiranog u ostatak kosti (Brkovića i dr, 2008). Ispitivanje je pokazalo da ovaj koštani graft dao zadovoljavajuće rezultate u cilju prezervacije alveolarnog grebena bez komplikacija, iako je tokom rane faze zarastanja bio eksponiran, tj. nije bio prekriven membranom niti mukoperiostalnim režnjem.

Ostali sintetski zamenici za kost koji su se primenjivali u studijama u cilju očuvanja dimenzija rezidualnog alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba kao što su BioPlant HTR (mikroporozni metakrilat sa kalcijum hidroksidom) (Haris i dr, 1998), MHA-magnezijumom obogaćen hidroksiapatit (Crespi i dr, 2009), dali su zadovoljavajuće rezultate u smislu očuvanja povoljnih dimenzija i strukture alveole za postavljanje implantata. Ipak, čestice svih navedenih sintetskih zamenika, osim kalcijum sulfata, su pronađene u izvesnoj količini neresorbovane i nakon dužeg vremenskog perioda. Pitanje koje iz ovog proizilazi je to, u kojoj meri neresorbovane čestice kasnije mogu kompromitovati implantaciju ili dovesti do neuspeha i gubitka dentalnog implantata. Budući da su rezidue koštanog grafta identifikovane većinom u koronarnoj trećini i centralnim partijama alveole koji se ionako odstranjuju tokom implantacije smatra se da zbog toga ne mogu kompromitovati oseointegraciju. Međutim, studija Carmangole i saradnika predlaže da je nakon primene nekog od koštanih graftova u cilju prezervacije alveolarnog grebena, ipak racionalnije sačekati sa postavljanjem dentalnog implantata najmanje 6-8 meseci, kako bi bili sigurni da je u alveoli prisutno dovoljno novoformirane kosti za predvidiv i uspešan ishod oseointegracije (Carmangola i dr, 2000).

1.4.3. Koncept vodene koštane regeneracije - „osteopromocije“

Osnovni biološki princip ove terapijske procedure utemeljen je na naučno potvrđenoj činjenici da jedino periodontalno i koštano tkivo poseduju nediferencirane osteoprogenitorne ćelije koje su u stanju da se diferenciraju u ćelije koje imaju sposobnost da stvaraju koštano tkivo, cement i dovedu do formiranja novog funkcionalnog pripoja (Nyman i dr, 1982; Gottlow i dr, 1986). Po Melcher-u, konačan rezultat parodontalne terapije direktno zavisi od redosleda događanja u toku faze zarastanja u parodontacijumu odnosno od porekla tkiva koja prva izvrše repopulaciju parodontalne rane i obrađene površine korena zuba (Melcher, 1976). Naime, ukoliko gingivalni epitel koji ima najveći regenerativni potencijal ili vezivno tkivo gingive proliferišu prvi neće doći do formiranja koštanog tkiva, tj. neće doći do formiranja novog pripoja. Ukoliko bi prostor parodontalne rane repopularizovale samo osteoprogenitorne ćelije krajnji rezultat bi mogla biti ankiloza korena zuba. Stoga koncept specifično vodene regeneracije je zahtevao da se ćelijama periodoncijuma i koštanog tkiva omogući da prvi zauzmu prostor parodontalne rane. To se može postići samo ako se spreči repopulacija tog prostora ćelijama drugih delova parodontacijuma, naročito gingive (Karring i dr, 1985). Ovaj osnovni uslov koji se zasniva na selektivnom potenciranju periodontalnog i koštanog tkiva u odnosu na druga parodontalna tkiva tokom zarastanja je postignut postavljanjem odgovarajućih membrana između režnja i koštanog defekta (Caton i dr, 1994). U okviru ovog postupka membrana predstavlja fizičku barijeru koja mehanizmom kontaktne inhibicije sprečava apikalnu migraciju epitela i veziva gingive u region rane, dok sa druge strane obezbeđuje prostor za invaziju tkiva periodontalnog i koštanog porekla. Barijere koje se upotrebljavaju kao promotori ovog regenerativnog koncepta su različiti tipovi resorptivnih (npr. polilaktična kiselina, kolagen i dr.) i neresorptivnih membrana (npr. e-PTFE, politetrafluoretilenska membrana). Usmerena regeneracija parodontalnih tkiva (engl. guided tissue regeneration, GTR) i njen biološki koncept bio je osnov za uspostavljanje nove terapijske procedure koja je za razliku od GTR imala za cilj isključivo koštanu regeneraciju. Usmerenu koštanu regeneraciju (engl. guided bone regeneration, GBR) su kao zaseban koncept promovisali Quinones i Caffesse, 1995. Prema ovom konceptu alveolarnu čašicu, smo prema anatomo-histološkim i morfološkim karakteristikama tkiva posmatrali kao infrakoštani defekt sa četiri koštana zida. Međutim zbog specifičnosti problema veliki je broj autora smatrao da je „osteopromocija“ prihvatljiviji i sveobuhvatniji termin za primenjenu

terapijsku proceduru. Najjednostavnije objašnjenje ovakvog stava je vezano za činjenicu da se u stvari kao pozitivan terapijski efekat očekuje što obimnija osealna neogeneza u tretiranim ekstrakcionim ranama dok je koštana regeneracija sekundarna i mnogo manje izražena pojava.

Aplikativna suština osteopromotivnog principa se zasniva na što boljoj adaptaciji membrane preko prisutne koštane površine uz blokiranje susednih osteogeno insuficijentnih tkiva sa ciljem: (a) kompletne koštane restitucije i (b) koštane neogeneze. Ovim konceptom se postiže modulacija dinamike i redosleda tkivnih aktivnosti pri osealnoj regeneraciji ili neogenezi koji se odvijaju tokom zarastanja ekstrakcione rane. Primenjena membrana deluje kao barijera prodoru oseoinsuficijentnog tkiva u predeo ekstrakcione rane ostavljajući dovoljno vremena i čuvajući prostor za prodor osteoprogenitornih ćelija. Ovaj koncept je opsežno prikazan u mnogobrojnim eksperimentalnim studijama (tabela 1.4.3.1.).

Tabela 1.4.3.1. Podaci iz literature o primeni membrana u cilju očuvanja ekstrakcione rane

| Metod | Autori | Materijal |
|-----------------|---------------------|------------------|
| Membrana | Leković i dr, 1997 | e-PTFE |
| | Leković i dr, 1998 | Resolut |
| | Hoffmann i dr, 2008 | e-PTFE |

Dahlin i Lindhe prezentuju studiju na eksperimentalnim životinjama gde su arteficialne defekte sa jedne strane tretirali e-PTFE membranom dok su kontrolne kontralateralne defekte ostavili da spontano zarastaju (Dahlin i Lindhe, 1993). Nakon 3 nedelje zapazili su da je u eksperimentalnoj grupi skoro više 50% defekata bilo ispunjeno novoformiranom kosti. Posle 6 nedelja su svi eksperimentalni defekti bili u celini ispunjeni novim koštanim tkivom dok su kontrolni defekti tek nakon 22 meseca bili samo delimično ispunjeni koštanim tkivom.

Osteopromotivni koncept je izazvao revoluciju u savremenoj oralnoj implantologiji. Zarastanje alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba je praćeno dimenzionim promenama koje negativno utiču na indikacije za rehabilitaciju dentalnim implantatima. U nekim slučajevima promene koje zahvataju alveolarnu kost mogu biti izražene u toj meri da mogu ugroziti i same anatomske strukture kao što su mandibularni kanal i maksilarni sinus kada je uopšte primena dentalnih implantata onemogućena. Lindhe i Dahlin su 1991. godine, ovim

postupkom tretirali 10 titanijumskih implantata kod 6 pacijenata sa prisutnim dehiscencijama alveolarne kosti nakon implantacije (Lindhe i Dahlin, 1991). Svi defekti su tretirani e-PTFE membranom i rezultati kod svih slučajeva osim jednog su pokazali da je došlo do restitucije alveolarne kosti oko implantata. U maksili je bila prisutna kompletna koštana regeneracija dok su rezultati u mandibuli bili nešto slabiji. Isti autori su testirali ovaj koncept ponovo, i to njegovu efikasnost u indukciji nove kosti kod bukalnih fenestracija u maksili. Ovaj je problem prisutan kod slučajeva sa izraženim bukalnim konkavitom alveolarnog grebena te pri implantaciji često biva eksponiran centralni deo implantata. Sedam pacijenata sa bukalnim fenestracijama je bilo uključeno u studiju pri čemu su eksperimentalni implantati prekriveni e-PTFE membranom. Nakon perioda od 6 meseci tretirane fenestracije su bile kompletno prekrivene novoformiranim koštanim tkivom.

Leković i saradnici su upotrebili neresorptivnu e-PTFE membranu u cilju prezervacije alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba (Leković i dr, 1997). Kod deset pacijenata nakon ekstrakcije dva zuba jedna alveola je bila određena kao eksperimentalna i prekrivena je bila e-PTFE membranom dok je druga ostavljena da spontano zarasta. Sve ekstrakcione rane su prethodno bile iskiretirane i ekstrakcione alveole su zatim prekrivene režnjem pune debljine. Ispitivanja sprovedena nakon 6 meseci su pokazala da je kod eksperimentalne grupe alveola došlo do manjeg gubitka vertikalne i horizontalne dimenzije u odnosu na kontrolne alveole. U eksperimentalnim alveolama se razvilo više novoformiranog koštanog tkiva u poređenju sa kontrolnim. Ipak, 30% membrana je tokom zarastanja postalo otkriveno i izloženo uticaju oralne sredine i mikroorganizama u njoj te su zbog toga rezultati u ovim slučajevima bili lošiji.

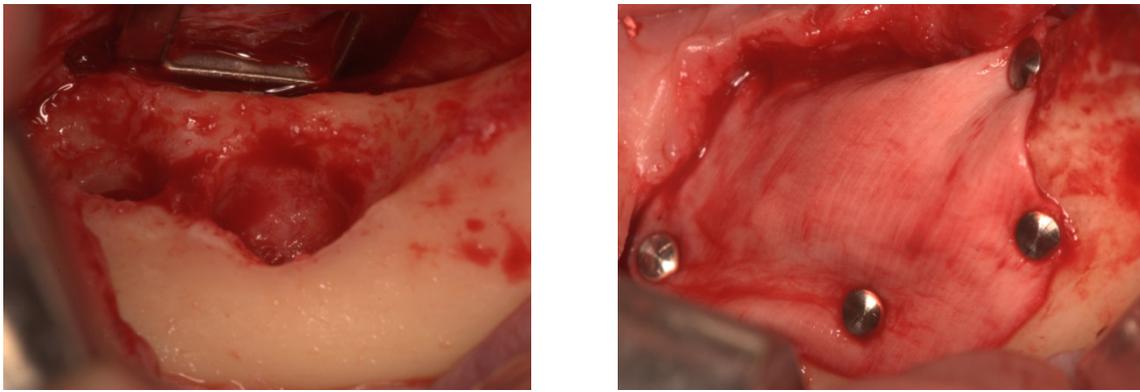
Kasnije, ispitivanje istih autora u koje je bilo uključeno 16 pacijenata odnosilo se na primenu resorptivne membrani na bazi poliglikolične kiseline (Resolute® WL Gore i Associates) u očuvanju postekstrakcionih rana. Rezultati ovog ispitivanja su pokazali da je membrana imala pozitivan uticaj, kako na očuvanje dimenzione stabilnosti alveolarnog grebena, tako i na genezu koštanog tkiva u alveolarnoj čašici. Sve ekstrakcione rane su zarasle bez znakova eksponiranosti membrane (Leković i dr, 1998).

Ispitivanja sprovedena 10 godina kasnije (Hoffman i dr, 2008) na uzorku od 276 ekstrakcione rane kod ljudi testirala su primenu dPTFE membrane (politetrafluoretilenska membrana visoke gustine) koja je dizajnirana upravo za prezervaciju ekstrakcione rane i ne zahteva primarno zatvaranje režnja. Godinu dana nakon hirurškog zahvata histološke analize uzoraka kosti uzetih iz zaraslih ekstrakcionih rana su pokazale da je kost koja je ispunjavala alveole imala regularnu trabekularnu strukturu sa prisutnom koštanom srži i da je svojom

građom u potpunosti odgovarala novoformiranoj kosti koja se formira u alveolama nakon spontanog zarastanja ekstrakcione rane.

Istovremeno, autori su zapazili da je na mestima gde su ekstrakcione rane bile jedna do druge i prekrivene membranama, došlo do redukovane produkcije kosti naročito u centralnim delovima ekstrakcione rane. Smatralo se da je ovo direktna posledica kolapsa membrane u centralni deo ekstrakcione rane zbog slabe potpore. Način da se ovo prevaziđe je bila primena titanijumom ojačanih membrana ili aplikacija koštanog zamenika koji će pored svog primarno osteokonduktivnog dejstva služiti i kao potpora membrani.

Slika 1.4.1. Kolagena membrana postavljena preko ekstrakcionih rana i fiksirana titanijumskim kočičima



Zahvaljujući izuzetno pozitivnim rezultatima dobijenim u eksperimentalnim ispitivanjima osteopromocija se danas često koristi u oralnoj implantologiji i to: (1) u terapiji koštanih dehiscencija i fenestracija kod postavljenih implantata, (2) augmentaciji volumena alveolarne kosti pre implantacije i (3) imedijatne implantacije dentalnog implantata u ekstrakcionu ranu.

1.4.4. Koncept primene kombinovane tehnike (koštani zamenik i membrana)

Do sad su dokumentovane brojne studije koje su predlagale različite metode za prekrivanje i samim time zaštitu koštanog zamenika postavljenog u ekstrakcionu ranu kao što su Bio-Col tehnika (Sclar, 2003), koronarno i lateralno pozicioniranje režnja, rotirani režanj, transplantat vezivnog tkiva, slobodni gingivalni autotransplantat, socket-seal tehnika i dr. (Carmangola i dr, 2002; Misch i dr, 1999; Landsberg i dr, 1994). Neke od ovih tehnika pokazale su izvestan uspeh u prezervaciji mekotkivnih struktura u predelu ekstrakcione rane, međutim ostalo je otvoreno pitanje koliko one mogu doprineti u očuvanju dimenzija koštanih zidova alveole nakon ekstrakcije zuba.

Budući da ni jedna prethodno pomenuta tehnika očuvanja alveolarnog grebena, bilo da se radio o primeni samo koštanog zamenika ili primeni membrane, nije dala savršene rezultate, pokušalo se kombinacijom ovih tehnika iskoristiti potencijal koje pružaju (tabela 1.4.4.1.).

Tabela 1.4.4.1. Podaci iz literature o primeni kombinovane tehnike u cilju očuvanja ekstrakcione rane

| Metod | Autori | Materijal |
|-----------------------------------|----------------------|--|
| Koštani zamenik i membrana | Simion i dr, 2000 | DFDBA i resorptivna membrana |
| | Fowler i dr, 2000 | DFDBA i acelularni dermalni matriks (ADM) |
| | Iasella i dr, 2003 | FDBA i Bio-Mend |
| | Zubillaga i dr, 2003 | DFDBA i Resolut |
| | Barone i dr, 2008 | Ksenograft svinjskog porekla i kolagena membrana |
| | Fotek i dr, 2009 | Mineralizovani alograft sa PTFE vs. ADM (AlloDerm) membranom |

Alberius je 1992. godine u svojoj studiji pokušao da osteopromotivnom tehnikom unapredi rezultate terapije uz primenu koštanih graftova (Alberius i dr, 1992). Ispitivanje je imalo za cilj da proceni opstanak i biološku interakciju intramembranoznih i enhondralnih koštanih inleja u mandibularnim defektima kod eksperimentalnih životinja. Fibularni i mandibularni inleji koštani graftovi su bili postavljeni u veštački formirane defekte u regionu

ugla mandibule. Membrane su bile fiksarne i postavljene preko graftova. Nakon 12 nedelja intramembranozni koštani inleju su pokazali kompletnu osealnu inkorporaciju dok su enhondralni inleji bili prekriveni tankom vezivnom kapsulom, te je inkorporacija izostala.

Druga grupa autora je u cilju očuvanja alveolarnog grebena nakon ekstrakcije kod 24 ispitanika primenili tetraciklinom natopljen FDDB kao graft kojim su popunili eksperimentalne alveole, a zatim ga prekrili resorptivnom kolagenom membranom (Iasella i dr, 2003). Kontrolne alveole su ostavljene da spontano zarastu. Osim praćenja dimenzionih promena kod eksperimentalnih i kontrolnih ekstrakcionih rana, ciljevi ove studije su se odnosili na histološku evaluaciju novoformirane kosti u periodu od 4-6 meseci nakon ekstrakcije. Takođe je detektovan i kvalitet kosti kao i uspešnost postavljanja implantata u tretirane regije, kao i uticaj membrane na debljinu mekih tkiva koje pokrivaju rezidualni alveolarni greben. Gubitak horizontalne dimenzije alveolarnog grebena je bio prisutan u obe grupe defekata osim što je kod kontrolne grupe bio statistički značajno veći nego kod eksperimentalne. Visina grebena je bila redukovana kod kontrolne grupe dok je kod eksperimentalne došlo do povećanja visine rezidualnog grebena za 1,3 mm. Na osnovu ovih zapažanja autori predlažu dve tehnike za prezervaciju ekstrakcionih rana u bočnom regionu i regionu prednjih zuba. Za bočni region je dovoljno da se koštani zamenik postavi u alveolu i pokrije membranom, dok u regionima prednjih zuba, da bi očuvali jüge alveolarie i konture grebena, je potrebno staviti dodatne količine koštanog zamenika i van ekstrakcione rane. Kada je bilo u pitanju meko tkivo iznad rezidualnog alveolarnog grebena autori su primetili da je došlo do diskretnog gubitka mekog tkiva kod eksperimentalne grupe dok je kod kontrolne debljina mekog tkiva bila veća za 0.5 mm nakon perioda zarastanja. Ovo je bilo u skladu sa studijom Kirklanda i dr, 2000, koji su primetili da je na svim mestima gde je membrana upotrebljena u cilju augmentacije grebena došlo do smanjenja debljine mekog tkiva. Autori su ovakav rezultat objasnili time što se nakon primene koštanog zamenika i membrane, mukoperisotalni se režanj ishranjuje samo preko krvnih sudova baze režnja, dok snabdevanje krvlju direktno iz ekstrakcione rane u ovom slučaju izostaje. Što se tiče histoloških zapažanja obe grupe ekstrakcionih rana imale su podjednaku količinu novoformirane kosti osim što su kod eksperimentalnih alveola uz vitalnu kost bile prisutne i rezidue koštanog zamenika koji je bio okružen novostvorenom kosti ili pak inkapsuliran vezivnim tkivom. Novoformirana kost je odavala utisak veće gustine kod eksperimentalnih alveola, ali su, ipak, svi postavljeni implantati bili bez komplikacija u prva dva meseca praćenja.

Simion i saradnici su nakon augmentacije grebena primenom koštanog zamenika i resorptivne membrane došli do prilično loših rezultata u smislu gubitka velike količine augmentirane kosti koji se kretao od 39%-67% širine grebena i 60%-76% visine (Simion i dr, 2000). Za ovako loš rezultat smatralo se da je odgovoran jednim delom koštani graft, tj. DFDBA, koja je bila u ovom slučaju primenjena i njen nestabilan osteoinduktivni potencijal. Drugi faktor koji je smatran uzrokom gubitka augmentirane kosti su mikropokreti membrane tokom zarastanja.

Upravo zbog ovog poslednjeg, Zubillaga i saradnici, su u svojim ispitivanjima koristili membranu koju su prethodno fiksirali za zidove ekstrakcione rane (Zubillaga i dr, 2003). Jedanaest ekstrakcionih rana kod deset ispitanika su tretirali osteoinduktivnim koštanim zamenikom na bazi DFDBA i resorptivnom (laktid/glikolid-Resolut®) membranom. Membrana na kontrolnoj strani nije bila stabilizovana dok je na eksperimentalnoj strani pomoću resorptivnih kočica bila postavljena u pravilnu poziciju i u potpunosti stabilizovana. Mesta gde su nakon ekstrakcije bila očuvana sva četiri alveolarna zida su bila ispunjena koštanim zamenikom do koštanih ivica dok su mesta gde je neki od zidova bio oštećen blago augmentirana materijalom i prekrivena membranom. Mesta kod kojih su svi zidovi bili očuvani su označena kao graftovana mesta, dok su ona sa oštećenim zidovima bila označena kao augmentirana. Kod graftovanih mesta merene su promene vertikalne i horizontalne dimenzije neposredno nakon ekstrakcije i posle 4 meseca zarastanja, dok je kod mesta koja su označena kao augmentirana, meren nivo augmentacije (merenja nakon ekstrakcije i merenja nakon postavljanja materijala, njihova razlika daje nivo augmentacije (engl. amount of augmentation (AUG) odmah nakon postavljanja grafta i membrane odnosno 4 meseca posle. Razlika između ova dva parametra 4 meseca nakon ekstrakcije se označavala kao gubitak. Tokom studije autori su izneli sledeća zapažanja: (1) DFDBA i resorptivna membrana nisu uspeli da očuvaju niti da augmentiraju alveolarni greben nakon ekstrakcije zuba. Sav materijal dodat u procesu augmentacije je izgubljen nakon zarastanja za šta se smatralo da je u najvećoj meri bio odgovoran nosač koštanog zamenika tj. želatin glutaraldehyda i njegove fizičke osobine (brzina stvrdnjavanja i brzina resorpcije), (2) pored augmentovane kosti čak je u izvesnim ekstrakcionim ranama došlo i do gubitka originalnih dimenzija koštanih zidova, međutim što je nivo augmentacije na početku ispitivanja bio veći, manji je bio gubitak originalnih dimenzija ekstrakcione rane izmerenih neposredno nakon ekstrakcije zuba, (3) sva graftovana mesta su izgubila originalnu visinu i širinu pri čemu je gubitak širine grebena bio izraženiji, (4) augmentirana mesta na kojima je membrana bila stabilizovana su izgubila manje augmentirane kosti po širini, dok su ona gde membrana nije bila stabilizovana izgubila

manje augmentirane visine. Ovo je tumačeno time što bukalno stabilizovana membrana sprečava interponiranje tkiva gingive u prostor bukalne dehiscencije koja je najčešće posledica ekstrakcije zuba, čime se omogućava bolja apozicija kosti u ovom regionu. Takođe, imobilizacijom membrane sprečava se nastanak mikropokertanja membrane i njihov štetan uticaj na koagulum u periodu ranog zarastanja čime se sprečava produkcija fibroznog tkiva i povećava kvalitet novoformirane kosti tokom kasnije faze zarastanja (Jovanovic i dr, 1995). Interesantan je podatak dobijen u ovoj studiji i taj da je u grupi ekstrakcionih rana, gde membrana nije bila stabilizovana, manje izražen bio gubitak vertikalno augmentovane kosti. Tumačenje za ovo može se naći u pretpostavci da tokom rane faze zarastanja, usled inflamatornog procesa dolazi do blage ekspanzije tkiva. Upravo nestabilizovana membrana dozvoljava ovu ekspanziju. Ovaj fenomen je zapažen i u ispitivanjima Schenka i saradnika, ali njegova povezanost sa eventualnim uticajema na očuvanje ili pak povećanje vertikalne dimenzije ekstrakcione rane nije naučno potvrđena (Schenka i dr, 1994).

Fowler, a zatim i Fotek i saradnici su upotreбили acelularni dermalni matriks (ADM) kao membranu koju su plasirali preko zamenika za kost (Fowler i dr, 2000; Fotek i dr, 2009). Rezultati postignuti tokom ovih ispitivanja su pokazali da se ADM membrana može uspešno primeniti u kombinovanoj tehnici za očuvanje dimenzija alveolarnog grebena i da se može očekivati da se inkorporacijom membrane u tkivo gingive poveća debljina tkiva u regionu ekstrakcione rane.

1.4.5. Koncept tkivnog inženjeringa

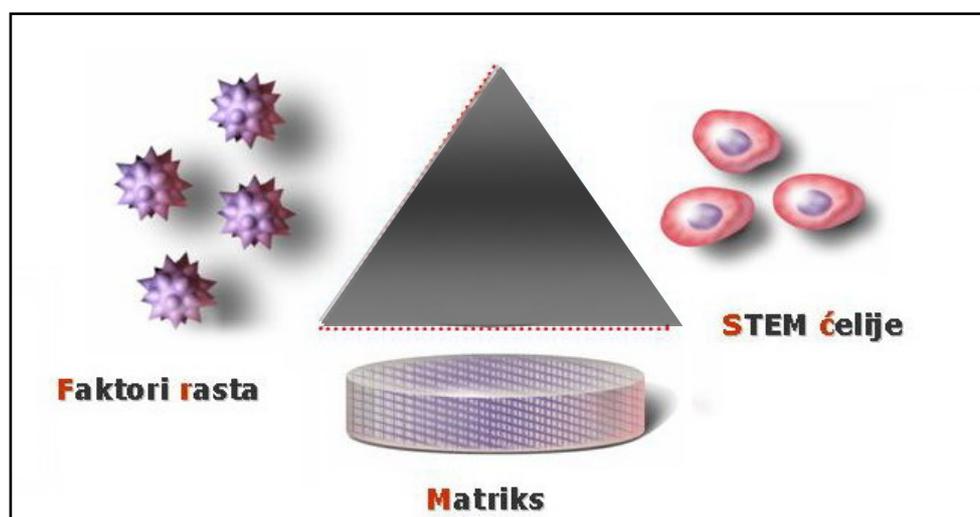
Prethodno navedeni koncepti (primena koštanog zamenika, membrane „osteopromocije“ i kombinovana tehnika) uglavnom se odnose na **pasivnu regeneraciju** i **pasivnu neogenezu** koštanog tkiva u ekstrakcionoj rani, gde zamenik za kost, ispunjavajući koštani defekt nakon ekstrakcije zuba, deluje kao čuvar prostora i depo mineralnih materija za regeneraciju kosti (**osteokonduktivno**), takođe stabilizuje membranu i sprečava njen kolaps u prostor ekstrakcione rane. Uloga membrane je takođe pasivna, ona sprečava prodor tkiva gingive u predeo ekstrakcione rane i tako ga osigurava za migraciju osteoprogenitornih i ostalih ćelija odgovornih za regeneraciju kosti. Ova dva koncepta su do sada dobro dokumentaovana bilo da se radi samo o primeni zamenika za kost i/ili primeni membrana u prezervaciji alveolarne čašice nakon ekstrakcije zuba, međutim nova saznanja o mehanizmima zarastanja rane dala su novi koncept u regenerativnoj terapiji.

Utemeljivači ovog koncepta su:

1. **Marschall Urist (1965)**, otkrio koštani morfogenetSKI protein BMP
2. **Thomas Hunt (1982)**, opisao biološki koncept zarastanja rane
3. **Robert Knighton (1988)**, laboratorijski razvio trombocitni faktor rasta PDGF (citirano prema Aleksiću, 2005).

Osnovni princip ovog koncepta je korišćenje: tkiva-matriksa, progenitornih ćelija i faktora rasta, a cela strategija ovog koncepta, označava se „Trijadom“ Tkivnog Inženjeringa (slika 1.4.5.1.).

Slika 1.4.5.1. „Trijada“ Tkivnog Inženjeringa



Primena tkivnog inženjeringa u aktivnoj regeneraciji tkiva odnosi se na primenu živih ćelija i bioloških posrednika u odgovarajućem matriksu *in vivo* ili *in vitro* uslovima u cilju regeneracije izgubljenih tkiva. Smatra se da je ovaj termin nastao na godišnjem skupu Američke Akademije za Bioinženjering, održanom u Vašingtonu, 1987. godine (citirano prema Alksiću, 2005). Prema navodima Lee-a , pionirski eksperimentalni radovi, Lacroix (1945) i Urista (1965,1967) koji su se odnosili na proučavanje razvoja kosti i faktora koji podstiču ove procese, kao i kasniji radovi Reddi i Huggins-a (2001) utvrđuju da postoji direktna veza između procesa koji se odvijaju tokom razvoja kosti i regeneracije u postnatalnom životu (Lee, 1997). Reparacija kosti nakon njenog oštećenja ili frakture odvija se po istom principu i sledi sekvence događaja koji se odvijaju tokom formiranja kosti u embrionalnoj fazi razvoja.

Istraživanja koja su sledila Melcherov koncept utvrdila su da se u periodoncijumu nalaze stem pluripotentne ćelije koje se tokom oštećenja tkiva aktiviraju i diferenciraju u cementoblaste, osteoblaste i fibroblaste periodontalnog ligamenta koji zatim učestvuju u reparativnim i regenerativnim procesima (Lee, 1997).

Isolacija mezenhimalnih pluripotentnih ćelija, razumevanje biologije i funkcije faktora rasta kao i mogućnost sinteze i primene različitih vrsta matriksa omogućilo je primenu tkivnog inženjeringa u regenerativnoj terapiji.

Nosioci koncepta **aktivne regeneracije** tkiva primenom tkivnog inženjeringa su:

- a) Plazma Bogata Trombocitima (engl. platelet rich plasma, PRP),
- b) **Koštani morfogenetski protein** (engl. bone morphogenetic proteins, BMP) ,
- c) Trombocitni faktor rasta- (engl. platelet derived growth factors, PDGF),
- d) Osteogenetski protein – (osteogenetic protein, OP-1(BMP 7)),
- e) Kultura tkiva i transplantacija autogenih stem ćelija,
- f) Genska terapija

1.4.5.1. Uloga faktora rasta u konceptu tkivnog inženjeringa

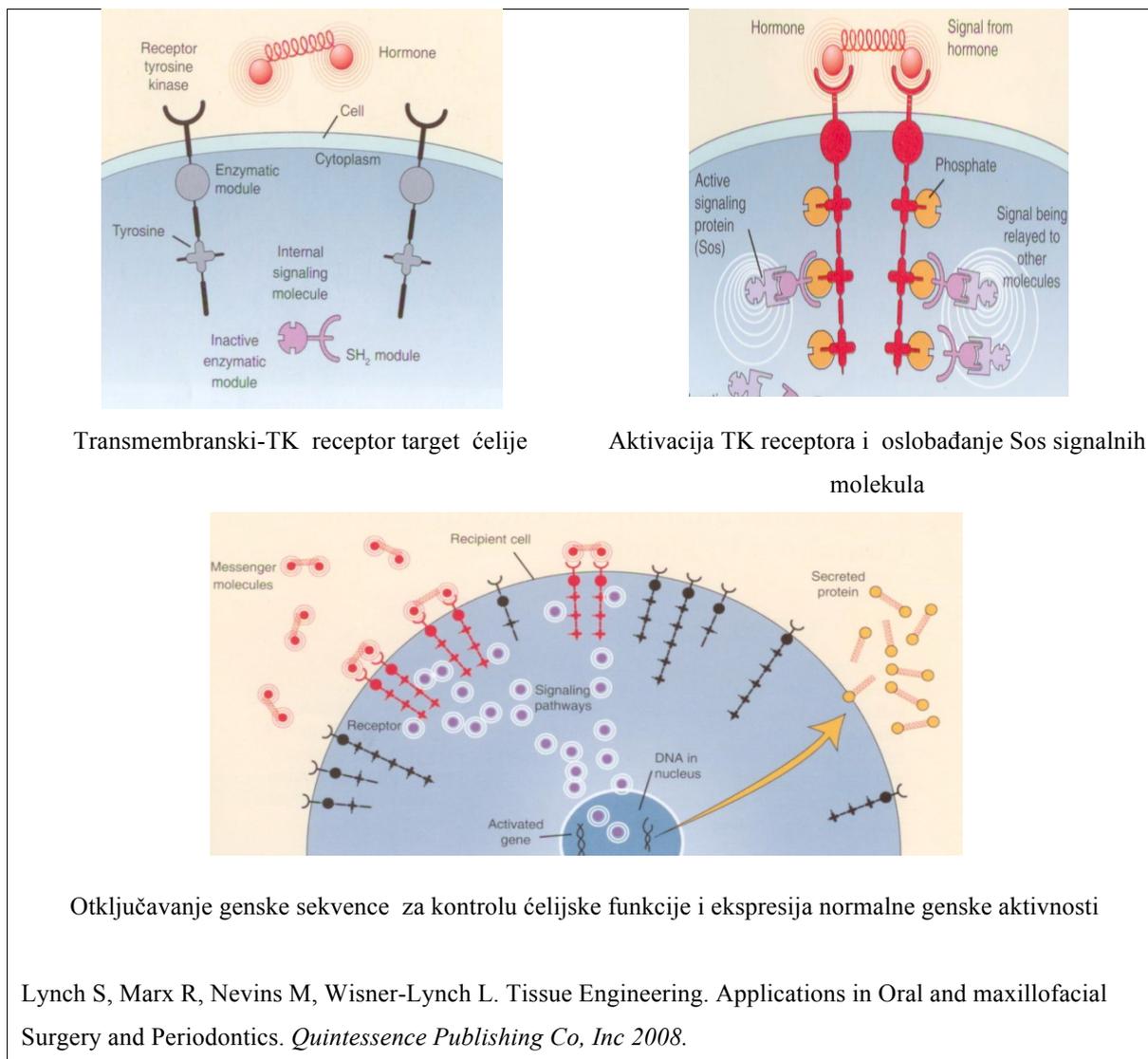
Polipeptidni faktori rasta (engl. growth factors, GF) su prirodni biološki posrednici koji regulišu ključne ćelijske procese uključene u regeneraciju tkiva, kao što su sinteza DNA, metabolička aktivnost, migracija, hemotaksa, proliferacija, diferencijacija i sinteza matriksa. Faktori rasta vrše svoje uticaje preko vezivanja za specifične receptore na ćelijskim površinama koje prenose signale do ćelijskog nukleusa preko strukturalnih formula transdukcije signala. Do sada je iz tkiva izolovano nekoliko vrsta faktora rasta i proučene su neke od njihovih karakteristika, a najznačajniji faktori rasta koji učestvuju u regeneraciji tkiva su:

1. *Trombocitni faktor rasta-PDGF*
2. *Transformacioni faktor rasta- (engl. transforming growth factor, TGF β 1 i TGF β 2)*
3. *Faktor rasta sličan insulinu- (engl. insulin-like growth factor, IGF)*
4. *Fibroblastni faktor rasta- (engl. fibroblast growth factor, FGF)*
5. *Epidermoidni faktor rasta- (engl. epidermal growth factor, EGF)*
6. *Osteogeni protein 1- BMP-7*
7. *Koštani morfogogenetski protein - BMP-2, BMP-3*
8. *Angiogenetski faktori rasta*

Biološki mehanizam dejstva

Većina ovih faktora se oslobađa na mestu povrede ili u hirurškoj rani i imaju vrlo važnu ulogu u zarastanju rane. Faktori rasta su ćelijski specifični, što znači da svaki faktor deluje na određenu vrstu ćelija. Polipeptidni faktori rasta ispoljavaju svoje dejstvo vezujući se za ciljne ćelije preko svojih aktivnih krajeva "dimera", za tirozin-kinazu transmembranski receptor na površini ćelijske membrane (slika 1.4.5.1.1.). Aktivirani T-K transmembranski receptor, pokreće energetske aktivnost podizanjem intracelularne koncentracije CAMP-a i dovodi do oslobađanja intracitoplazmatičnih prenosnih signalnih proteina (Sos). Oslobođeni od tirozin-kinaznih transmembranskih receptora, prenosni signalni proteini odlaze do jedra gde otključavaju specifičnu gensku sekvencu za kontrolu ćelijske funkcije i indukuju ekspresiju normalne genske aktivnosti (Lynch i dr, 2008).

Slika 1.4.5.1.1. Šematski prikaz aktivacije ciljnih ćelija od strane faktora rasta



Transformacioni faktor rasta (TGF- β)

Transformacioni faktor rasta- β pripada velikoj superfamiliji proteina koja uključuje koštane morfogenetske proteine (BMPs), faktore rasta i diferencijacije, aktivine, inhibitine i anti- Mullerianov hormon. Postoji pet izolovanih izoformnih oblika transformacionog faktora rasta- β (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, TGF- β 4, TGF- β 5) (Lee, 1997). Najveći udeo u regenerativnim procesima vezivnog i koštanog tkiva imaju TGF- β 1 i TGF- β 2 koji indukuju hemotaksu i mitogenezu osteoprogenitornih ćelija, koje će zatim odlaganjem vezivnog matriksa i mineralizacijom dovesti do regeneracije kosti (Janssens, 2005). Pored ovog TGF- β inhibiraju osteoklaste i resorpciju kosti čime indirektno potenciraju osteregenerativne procese u koštanoj mikrosredini (Janssens, 2005).

Trombocitni faktor rasta- PDGF

Trombocitni faktor rasta-PDGF je glikoprotein koji se prvenstveno oslobađa degranulacijom trombocita posle povrede tkiva (Lynch i dr, 2008). Najverovatnije je to prvi faktor rasta prisutan u rani koji započinje zaceljenje vezivnog tkiva, uključujući regeneraciju oštećenog koštanog tkiva. Osim trombocita, dokazano je da ga izlučuju i druge ćelije, kao što su makrofagi i endotelne ćelije. PDGF predstavlja hemotaktički faktor za osteoblaste, fibroblaste i mezenhimalne ćelije. Izuzetan je mitogen za ćelije vezivnog tkiva, ali nema tako izražen uticaj na indukciju koštane sinteze. Utiče na angiogenezu i aktivnost makrofaga u cilju reparacije i regeneracije tkiva te stoga zauzima značajno mesto u kaskadnom sistemu događaja tokom zarastanja. Ovaj faktor rasta je izolovan i danas se primenjuje kao visoko prečišćeni rekombinovani humani rh (PDGF)-BB (Sarment i dr, 2006).

Faktor rasta sličan insulinu- IGF-I i IGF-II

Hormon rasta i faktori rasta slični insulinu su ključni faktori tokom koštanog razvoja. Do sada su identifikovana dva faktora rasta slična insulinu; IGF-I i IGF-II koji svoju aktivnost ispoljavaju vezujući se za receptore na površini ciljnih ćelija. Koštani matriks je bogat izvor IGF-I i IGF-II, a ove faktore rasta proizvode proosteoblasti. IGF-I i IGF-II stimulišu koštane ćelije na autokrin ili parakrin način, od čega je IGF-I mnogo potentniji. IGF-I ima mnoštvo efekata koji mogu da regulišu zbivanja kosti i aktivnost ćelija periodontalnog ligamenta (Lynch i dr, 2008).

Osteogenetski protein- OPI (BMP7)

BMP-7 ili Osteogenetski protein zajedno sa BMP-2 spada u grupu morfogenetskih proteina za koje se zna da su jaki induktori enhondralne koštane diferencijacije tokom embrionalnog razvoja (Lynch i dr, 2008). Dokazano je i to da su BMPs/OPs uključeni i u različite stadijume morfogeneze zuba i parodontijuma, od kojih je indukcija; cementogeneze, razvoja periodontalnog ligamenta i diferencijacije alveolarne kosti rezultat koordinirane aktivnosti više članova ove familije morfogenetskih proteina. Budući da regenerativni procesi slede sekvence događanja tokom embrionalnog razvoja parodontijuma aplikacija egzogenih visoko-prečišćenih, prirodnih ili rekombinovanih BMPs/Ops, može dovesti do pokretanja ovih sekvenci i regeneracije (Hughes i dr, 2006).

Faktori rasta fibroblasta-FGF

Faktori rasta fibroblasta su familija strukturalno sličnih polipeptida za koje se zna da igraju ključnu ulogu u mitogenezi mezenhimalnih ćelija i angiogenezi. Mnoge studije *in vitro* su pokazale da FGF-1 i FGF-2 stimulišu proliferaciju osteoblasta i to naročito nezrelih osteoblasta stvarajući na taj način rezervoar ovih ćelija (ćelija kalvarije ROS 17/2.8 i MC3T3-E1). Isto tako FGFs deluju kao izuzetno jaki mitogeni na ćelije koštane srži i na taj način održavaju i obnavljaju kulturu ovih ćelija (Kotev i dr, 2002).

Angiogenetski faktori rasta

Tokom zarastanja i regeneracije ishemičnog tkiva endotel i njegovi prekurzori aktivno učestvuju u uspostavljanju adekvatne cirkulacije. Najsnažniji faktori angiogeneze su faktor rasta fibroblasta (FGF), faktor rasta izolovan iz trombocita (PDGF) i vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) (citirano prema Aleksiću, 2005). VEGF autokrino stimulišu migraciju, proliferaciju i diferencijaciju osteoblasta (citirano prema Aleksiću, 2005). Osim ovog direktnog efekta na osteoblaste, VEGF ima i indirektan uticaj preko ćelija endotela tako što ih stimuliše na lučenje faktora rasta kosti. Nadalje poznato je da osteoblasti i ćelije endotela međusobno komuniciraju direktno putem ćelija-ćelija kontakta (Lynch i dr, 2008.) i tako povezuju dva važna procesa tokom faze zarastanja, regeneracije tkiva i kosti: *osteogenezu i angiogenezu* (Lynch i dr, 2008).

Epidermalni faktor rasta-EGF

Mnogi faktori rasta mogu da interreaguju sa različitim ćelijskim linijama odgovornim za procese zarastanja i regeneracije. Tako je poznato da EGF reguliše neke od odgovora tkiva na inflamaciju i tokom zarastanja rane kao što je stimulacija proliferacije fibroblasta i sinteze nekih od njihovih proteolitičkih enzima MMP-1, MMP-3 i MMP-13 (Kaigler i dr, 2005). Isto tako epidermalni faktor rasta (EGF) može stimulisati proliferaciju osteoprogenitornih ćelija što je zapaženo u *in vitro* studijama (Hsiong i dr, 2006).

Koštani morfo-genetski proteini-BMP

Koštani morfo-genetski proteini (BMPs) su jedini *morfogeni* proteini koji imaju značajnu ulogu u embrionalnom i postfetalnom razvoju i regeneraciji kosti. Prema navodima Lee-a, iako Urist nije bio prvi koji je imao ideju o postojanju supstanci koje imaju osteoinduktivni potencijal, ipak smatra se utemeljivačem osteoindukcije, fundamentalnog

principa koštane regeneracije koji regulišu koštani morfogenetski proteini (Lee, 1997). Osnovna uloga koštanog morfogenetskog proteina je regulacija zarastanja koštanog tkiva. Embriološki događaji tokom razvoja skeleta i događaji tokom zaceljenja rane sadrže elemente i sekvence događanja koji se mogu primenjeni na regeneraciju kosti. Istraživači su proučavali lečenje fraktura da bi identifikovali ćelije i faktore potrebne za terapijsku intervenciju (Ripamonti i Renton, 2006). Tako je izdvojen rhBMP-2 koji se klinički primenjuje. Uspešna primena rhBMP-2 u terapiji preloma i oštećenja kosti navodi na mogućnost potencijalne kliničke primene ovog proteina u oranoj i maksilofacijalnoj hirurgiji kao i parodontologiji i implantologiji (Ripamonti i Renton, 2006).

1.4.5.2. Autogena ćelijska terapija za koštanu regeneraciju

Najveći doprinos potvrdi ovog koncepta dali su McCulloch i saradnici svojim *in vivo* i histološkim studijama (citirano prema Mark Bartoldu i dr, 2006). Koristeći tehnike kloniranja iz periodontalnog ligamenta i regenerisanog tkiva je izolovan veliki broj ćelija sa različitim fenotipom. Sposobnost za širenje kultura stem ćelija koje će moći da obezbede terapijski efekat stvarajući linije ćelija potrebnih za regenerativne procese je strategijska osnova na kojoj je zasnovana terapija autogenih ćelija (Mark Bartold i dr, 2006).

1.4.5.3. Inovirane metode isporuke faktora rasta od strane genskih transfera

Osnovni problem terapijske primene faktora rasta u regenerativnoj terapiji predstavlja ekstremno kratko poluvreme delovanja u rani, verovatno zbog proteolitičkog dejstva, endocitoze posredovane receptorima i resorpcije medijuma za isporuku matriksa (Ripamonti i Renton, 2006). Jedna od bitnih faza genske terapije jeste transdukcija odgovarajućih gena u ciljne ćelije tako da je u poslednje vreme dosta pažnje posvećeno razvoju metoda genskih transfera pogodnih za različite oblike terapija. Zajednički cilj ovih metoda je efikasna isporuka gena u ćelije. Do sada su poznate dve metode isporuke gena u ćelije u okviru geneske terapije: *in vivo transdukcija (direktno ubacivanje genskog materijala u DNA plazmida ćelije i tkiva pacijenta)* i *ex vivo transdukcija (ubacivanje gena pomoću virusnih vektora u biopsijom izolovane ćelije ili uzorak tkiva u in vitro uslovima)* (Nussenbaum i dr, 2003).

1.4.6. Koštani morfogenetski proteini-BMP

Jedan od najvažnih faktora rasta u konceptu regeneracije koštanog tkiva, koji skoro jedan vek predstavlja predmet mnogobrojnih istraživanja su i koštani morfogenetski proteini-BMP. Maršal Urist otkriva BMP 1965. godine, i utemeljuje koncept osteoindukcije 1971. godine, bazični princip koštane regeneracije koga reguliše koštani morfogenetski protein (citirano prema Lynch i dr, 2008). Trebalo je još 17 godina da se označeni događaj desi: Wozney i saradnici su prvi klonirali gene koštanog morfogenetskog proteina (Wozney i dr, 1988).

Mnogobrojni istraživači su proveli mnogo godina pokušavajući da objasne ulogu BMP-a (Lynch i dr, 2008). Postaje jasno da su koštani morfogenetski proteini skup morfogena koji usmerava embriološki razvoj ćelija, tkiva i organa, pored obavljanja ključnih uloga u post-fetusnoj fiziologiji. Detalje oko identifikacije i molekularnog kloniranja faktora sa BMP, predstavili su Wang i saradnici (Wang i dr, 1988). Modifikovanjem biohemijskih procedura koje su razvili u laboratoriji Urist i Reddi, a nakon toga Wang i saradnici, izolovali su nekoliko polipeptida iz goveđe kosti, približno 16 do 18 kd, rastvorili ih sa tripsinom, odredili sekvence amino kiselina, i sproveli oligonukleotidna ispitivanja (Wang i dr, 1988). Ispitivanja su korišćena da snime goveđe genomične biblioteke ili cDNA biblioteke, i rekombinuju klonove šifrovane u ljudskom BMP. Molekuli BMP-1 i BMP-9 su dobijeni ovom strategijom, i sekvence njihovih amino kiselina su otkrile da su BMP-2 do BMP-9 članovi TGF- β porodice. Štaviše, BMP-2 do BMP-9 mogu biti podeljeni u nekoliko podporodica zasnovanih na stepenu konzervacije sekvenci amino kiselina:

- BMP-2 i BMP-4
- BMP-3 (javlja se kao *osteogenin*)
- BMP-5 do BMP-8 (BMP-7 i BMP-8 se odnose na osteogenični protein-1 i osteogenični protein-2, ponaosob)
- BMP-8B (osteogenični protein-3)
- i BMP-9.

Osteoindukcija *in vivo*

Osnovna uloga koštanog morfogenetskog proteina je regulacija zarastanja koštanog tkiva. Ćelije i signalni molekuli koji se oslobađaju nakon povrede koštanog tkiva izgleda da su isti kao oni koji su prisutni u embriološkom formiranju kosti. Iste ćelije i signalni

molekuli udruženi sa zarastanjem frakture mogu biti racionalno primenjeni kao egzogena terapija. Istraživači su proučavali lečenje fraktura da bi identifikovali ćelije i faktore potrebne za terapijsku primenu. Utvrđeno je da postoji određena kaskada događaja koja se dešavaju tokom povrede koštanog tkiva u cilju saniranja povrede.

Inicijalna povreda

Povreda počinje kao inflamatorni odgovor tkiva, aktiviranjem komplementa, i oštećenjem krvnih sudova što uzrokuje krvarenje. Usled proteolize ekstracelularnog matriksa oslobađaju se proinflamatorne supstance koje deluju hemostatski, privlačeći monocite i makrofage na mesto povrede čijom se aktivacijom oslobađaju faktori rasta fibroblasta koji stimulišu endotelne ćelije. Na mesto povrede dolaze trombociti čijom se degranulacijom oslobađaju faktori rasta značajni za zarastanje rane PDGF, TGF- β i FGF. Makrofagi i polimorfonuklearni leukociti, eliminacijom oštećenih delova tkiva obezbeđuju mesto za odvijanje regenerativnih i reparativnih procesa.

Proliferacija

Tokom 3 do 5 dana po nastanku frakture, razvija se granulaciono tkivo koje ispunjava defekt i sastoji se od novih krvnih sudova, kolagena, i ćelija (većinom fibroblasta i makrofaga). Kolagena vlakna granulacionog tkiva deluju kao provizorni matriks na koji se vezuju nediferentovane osteoprogenitorne ćelije koje će se pod dejstvom faktora rasta, prvenstveno BMP diferencirati u hondroците i osteoblaste. Sa postepenom diferencijacijom ćelija, akumulacijom i sazrevanjem van-ćelijskog matriksa u toku nekoliko nedelja, doći će do formiranja kalusa. Prvo se formira nezrela kost trabekularne građe koja vremenom sazreva u lamelarnu kost, koja je kompaktnija i sadrži manje ćelijskih elemenata. Fiziološke uloge BMP i kalusa u kaskadi zarastanja frakture nisu u potpunosti objašnjene. Ovi faktori, kaskadnom reakcijom, zajedno sa drugim faktorima rasta (TGF- β , FGF, vaskularni endoteliarni faktor rasta /VEGF/ i PDGF) utiču na diferencijaciju progenitornih ćelija i dovode do zarastanja frakture u roku od 6 do 8 nedelja nakon povrede. Paralelno sa regeneracijom kosti, regenerišu se i druge okolne strukture mekog tkiva, nervni i vaskularni elementi, tako da se novo-nastalo tkivo, nakon određenog vremena ne razlikuje od onog pre nastanka povrede.

Remodelovanje

Zbir procesa udruženih sa homeostatičkim remodelovanjem poznati su kao aktivacija–resorpcija, formiranje. U ovim procesima učestvuju osteoblasti i osteoklasti na koje deluju odgovarajuće signalne molekule. Kod ljudi, ovaj proces zarastanja koštanog tkiva i njenog remodelovanja traje između 3 i 6 meseci. Kod psa je ovaj period kraći i traje oko 3 meseca, a

za kunića samo 6 nedelja. Rekombinovani BMP, je moćan ćeliski modulator sposoban da vodi koštanu regeneraciju. Međutim, njegovo dejstvo ovisi i o prisustvu ćelija koje će se pod uticajem ovog faktora diferencirati i sintetisati koštani matriks, koji će vremenom tokom sazrevanja i remodelovanja kako u anatomskom tako i morfološkom i funkcionalnom smislu zameniti oštećeno koštano tkivo.

Nosači faktora rasta

Da bi faktori rasta, naročito rekombinovani koštani morfogenetski protein rhBMP-2, ispoljili optimalno osteoinduktivno terapijsko dejstvo potrebno je da zajedno sa nosačem ili matriksom budu uneti na mesto koštanog defekta. Osobine koje nosač poseduje su od velikog značaja za dejstvo rhBMP-2 (Li i Wozney, 2001).

Osnovna uloga nosača je da održi optimalnu terapijsku koncentraciju koštanog morfogenetskog proteina tokom perioda potrebnog za migraciju, proliferaciju i diferencijaciju osteoprogenitornih ćelija kao i sintezu novog koštanog tkiva. Pored toga, nosač bi trebao da dozvoli kolonizaciju prekurzornih ćelija i vaskularnih elemenata (osteokonduktivnost). Sa napredovanjem osteogeneze, nosač bi trebao da se resorbuje u potpunosti ne ostavljajući za sobom nikakav trag u novoformiranom koštanom tkivu. Nosač ne bi trebao da bude alergogen i ne bi smeo biti potencijalni prenosnik infekcije.

Izbor nosača u većini slučajeva diktira klinička indikacija za terapijsku primenu koštanog morfogenetskog proteina tako da se danas u kliničkoj praksi kao nosači rhBMP-2 koriste; prirodni ili sintetički polimeri, nosači na bazi kalcijum fosfata ili njihova kombinacija (citirano prema Lynch i dr, 2008).

Prirodni polimeri kao prečišćeni derivati tkiva se najčešće primenjuju kao nosači faktora rasta. Ovoj grupi polimera pripadaju hijaluronska kiselina, fibrin, polisaharidi (kitosan i alginat), i kolagen tip I, s tim što se zahvaljujući svojoj biokompatibilnosti, sposobnosti da vezuje i zadrži rhBMP-2 na mestu aplikacije kao i to da ga kontinuirano otpušta (bolus doza) u datom periodu, kolagen u vidu resorptivnog sušera (engl. absorbable collagen sponge - ACS) pokazao kao najpogodniji nosač rhBMP-2. Sigurdson i saradnici su prvi pokazali da rhBMP-2 na kolagenom nosaču primenjen onlejšnom tehnikom ima potencijal da indukuje značajnu koštanu augmentaciju i oseintegraciju (Sigurdson i dr, 1996; Sigurdson i dr, 1997).

Brojne kliničke studije koje su testirale terapijsku primenu rhBMP-2 na kolagenom nosaču potvrdile su njegovu efikasnost, tako da je primena preparata hBMP-2/ACS odobrena za kliničku primenu u obliku preparata InFuse[®] Bone Graft (Medtronic Sofamor Danek) u SAD-u i InductOs[®] (Medtronic Sofamor Danek) u Evropi (Boyne i dr, 1997).

Sintetski polimeri su proučavani kao nosači faktora rasta najvećim delom u prekliničkim studijama. U tu svrhu kao nosači su uglavnom korišćeni kopolimeri polilaktične i glikolične kiseline (PLGA) (Kenley i dr, 1994). Njihova primarna prednost se ogledala u kontrolisanom stepenu degradacije ovisnom o njihovoj hemijskoj strukturi kao i eliminaciji rizika od prenosa infektivnih agenasa. Pored dobrih osobina, PLGA kao nosači faktora rasta se nisu našli u širokoj kliničkoj primeni zbog neželjenih efekata i štetnih supstanci koje se oslobađaju prilikom njihove hidrolitičke degradacije, a mogu imati negativan uticaj na osteoinduktivnu aktivnost rhBMP-2 (Kokubo i dr, 2004).

Nosači na bazi kalcijum fosfata su uglavnom primenjeni u obliku trikalcijum fosfata (TCP) ili hidroksiapatita (HA). Ovisno o svojoj hemiskoj građi i kristalnoj strukturi mogu biti manje ili više resorptivni. Najveća prednost ovih materijala kao nosača faktora rasta se ogleda u njihovoj sintetičkoj građi, sposobnosti da vezuju rhBMP-2 i osteokonduktivnom svojstvu, naročito kada su u pitanju veći koštani defekti. Usporena resorpcija ovih materijala kao i zaostajanje njihovih granula u novoformiranom tkivu ograničava njihovu upotrebu kao nosača u pojedinim indikacijama (Barboza i dr, 2000).

Kombinovani nosači i alternativne tehnologije za dostavu rhBMP-2 su danas u fazi ispitivanja. Kombinovani nosači nastali sintezom polimera i nosača na bazi kalcijum fosfata, kao i alternativne tehnologije za dostavu rhBMP-2 (demineralizovani suvo smrznuti alograft-DFDBA sa fibrinom i kalcijum fosfatni cement (α -BSM)) su se pokazali uspešnim tehnologijama kada su u pitanju veliki koštani defekti i kada postoji potreba za augmentacijom kosti (Li i dr, 2003). Zahvaljujući svojoj osteokonduktivnosti i sposobnosti oblikovanja kao i mogućnosti da se aplikuju minimalno invazivnim tehnikama (α -BSM injekciono) u cilju augmentacije poda maksilarnog sinusa, predstavljaju nosače koji se sve više proučavaju u prekliničkim studijama dajući obećavajuće rezultate za uvođenje u kliničku upotrebu.

1.4.6.1. rhBMP-2

(rekombinovani humani koštani morfogenetski protein)

Razvojem rekombinantne biotehnologije omogućena je proizvodnja više vrsta prečišćenih rekombinovanih koštanih morfogenetskih proteina za terapijsku primenu (Groenveld i dr, 1999). Među njima, rekombinovani humani koštani morfogenetski protein (rhBMP-2) je pokazao visoku osteoinduktivnu aktivnost već tokom ranih eksperimentalnih (Hanisch i dr, 1997; Sigurdsson i dr, 1997; Cochran i dr, 1999) i kliničkih studija (Boyne i dr, 1997; Howell i dr, 1997). U tabeli 1.4.6.1.1. su prikazani mehanizmi mogućeg terapijskog dejstva rhBMP-2 na kolagenom nosaču nakon primene u orofacijalnoj regiji.

Tabela 1.4.6.1.1. Meahnizmi dejstva preparata na bazi rhBMP-2/ACS u orofacijalnoj regiji

| Mehanizmi dejstva rhBMP-2/ACS | | |
|--------------------------------------|----------------------------------|---|
| 1 | Implantacija | Implantacija rhBMP-2/ACS |
| 2 | Hemotaksa | Migracija mezehimalnih stem ćelija i ostalih osteoprogenitornih ćelija |
| 3 | Proliferacija | rhBMP-2/ACS obezbeđuje matriks za razmnožavanje ćelija koji prethodi njihovoj diferencijaciji |
| 4 | Diferencijacija | rhBMP-2/ACS se vezuje za receptore na stem ćelijama indukujući njihovu diferencijaciju u osteoblaste |
| 5 | Osteogeneza i angiogeneza | Osteoblasti, kao odgovor na lokalnu mehaničku silu, proizvode mineralizovano tkivo u kolagenom nosaču faktora rasta |
| 6 | Remodelovanje | Organizam nastavlja remodelovanje kosti kao odgovora na lokalne faktore indukcije i mehaničko opterećenje |

Preklinička ispitivanja

Prve studije na animalnim modelima (psima i majmunima) su bile usmerene na ispitivanje bezbednosti i efikasnosti primene rhBMP-2 u terapiji koštanih i postekstrakcionih defekata, kao i u augmentacionim procedurama maksilarnog sinusa.

Tabela 1.4.6.1.2. Preliničke studije vezane za primenu rhBMP-2 u orofacijalnoj regiji

| | | | |
|---|-------------------|--------------------|--------------|
| Peri-implantni defekti | Sigurdsson et al. | Clin Oral Impl Res | 1997 |
| Peri-implantni defekti | Wikesjö et al. | Clin Oral Impl Res | 2003 2004 |
| Prezervacija koštanih defekata Funkcionalno opterećenje (rhBMP-2) indukovane kosti | Jovanovic et al. | Clin Oral Impl Res | 2003 2007 |

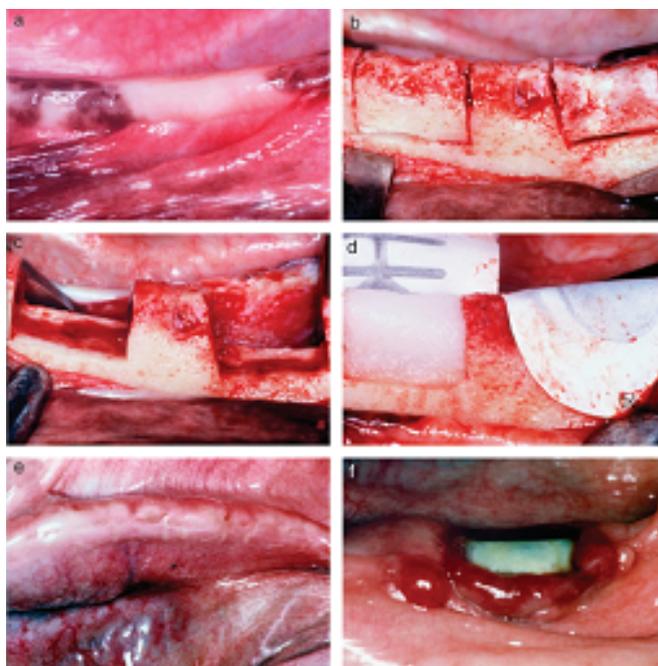
Sigurdsson i saradnici su u psećoj vilici izvršili implantaciju endosealnih implantata dužine 10mm, u hirurški redukovanu kost mandibule, u dubinu od 5mm kako bi formirali supra-alveolarne peri-implantne defekte dubine do 5mm (Sigurdsson i dr, 1997). Eksperimentalne peri-implantne defekte su tretirali sa rhBMP-2, a kontralateralne, kontrolne samo kolagenim nosačem (ACS). Nakon 16 nedelja zarastanja *per primam intentionem* izvršena je histomorfometrijska analiza uzetih peri-implantnih koštanih uzoraka. Peri-implantni defekti koji su bili tretirani sa rhBMP-2 imali su više novoformirane kosti duž izložene površine implantata sa značajnim stepenom oseointegracije od kontrolnih. Sam kolageni nosač se pokazao i kao neuspešan u očuvanju prostora peri-implantnog defekta za urastanje osteoformativnog tkiva i formiranje nove kosti.

Da bi se obezbedio prostor za regeneraciju koštanog tkiva, ispitivanja koja su zatim usledila su bila usmerena ka primeni koncepta osteopomocije u kombinaciji sa aktivnim regenerativnim konceptom (rhBMP-2) (Wikesjo i dr, 2001). Bilateralni peri-implantni, supra-alveolarni defekti kritične veličine (5mm) kod pasa, su tretirani neresorptivnom ekspaniranom politetrafluoretilenskom membranom (ePTFE) u kombinaciji sa rhBMP-2/ACS i upoređivani sa kontrolnim defektima koji su bili tretirani samo ePTFE membranom, samo sa ACS ili samo sa rhBMP-2/ACS. Nakon 8 nedelja uzorci novoformiranog koštanog tkiva su prosleđeni na histomorfometrijsku analizu. Rezultati ispitivanja su pokazali da je tehnika kombinovanja osteopromotivnog koncepta (ePTFE) i koncepta aktivne regeneracije rhBMP-2/ACS, pokazala najbolje rezultate po pitanju značajnog formiranja novog koštanog tkiva u prostoru koji je bio izolovan od pritiska i urastanja oseoinsuficijentnog tkiva pomoću membrane. Pored ovog, ista studija, je dala značajan uvid u principe tkivnog inženjeringa

vezane za upotrebu rhBMP-2, koji ističe princip da se oblik (geometrija) novoformirane kosti nakon primene rhBMP-2, podudara sa oblikom i dizajnom nosača odnosno matriksa koji je implantiran u koštani defekt zajedno sa koštanim morfogenetskim proteinom.

Iste terapijske modalitete primene rhBMP-2, je ispitivao Jovanović sa saradnicima, na veštački formiranim defektima donje vilice pasa, u vidu sedla (Jovanović i dr, 2007). Slika 1.4.6.1. prikazuje defekte, primenjene terapijske modalitete i histološke rezultate nakon 12 nedelja zarastanja. Kod 44% ispitivanih defekata gde je postavljena membrana (ePTFE) sa ili bez rhBMP-2, došlo je do ekspozicije membrane i sledstvenih komplikacija, što je prikazano na poslednjoj kliničkoj fotografiji u okviru slike 1.4.6.1. Histološka analiza eksperimentalnih defekata tretiranih samo rhBMP-2/ACS ili u kombinaciji sa ePTFE membranom je pokazala značajnu ispunjenost novoformiranim koštanim tkivom koja se kretala i do 100%. Defekti tretirani samo sa ePTFE, tj. osteopromotivnim konceptom su bili ispunjeni do 92%, dok je kod kontrolnih (praznih defekata) ispunjenost novoformiranim koštanim tkivom jedva dostizala 60%.

Slika 1.4.6.1. Dizajn i rezultati ispitivanja primene različitih modaliteta rhBMP-2/ACS u koštanim defektima kod psa

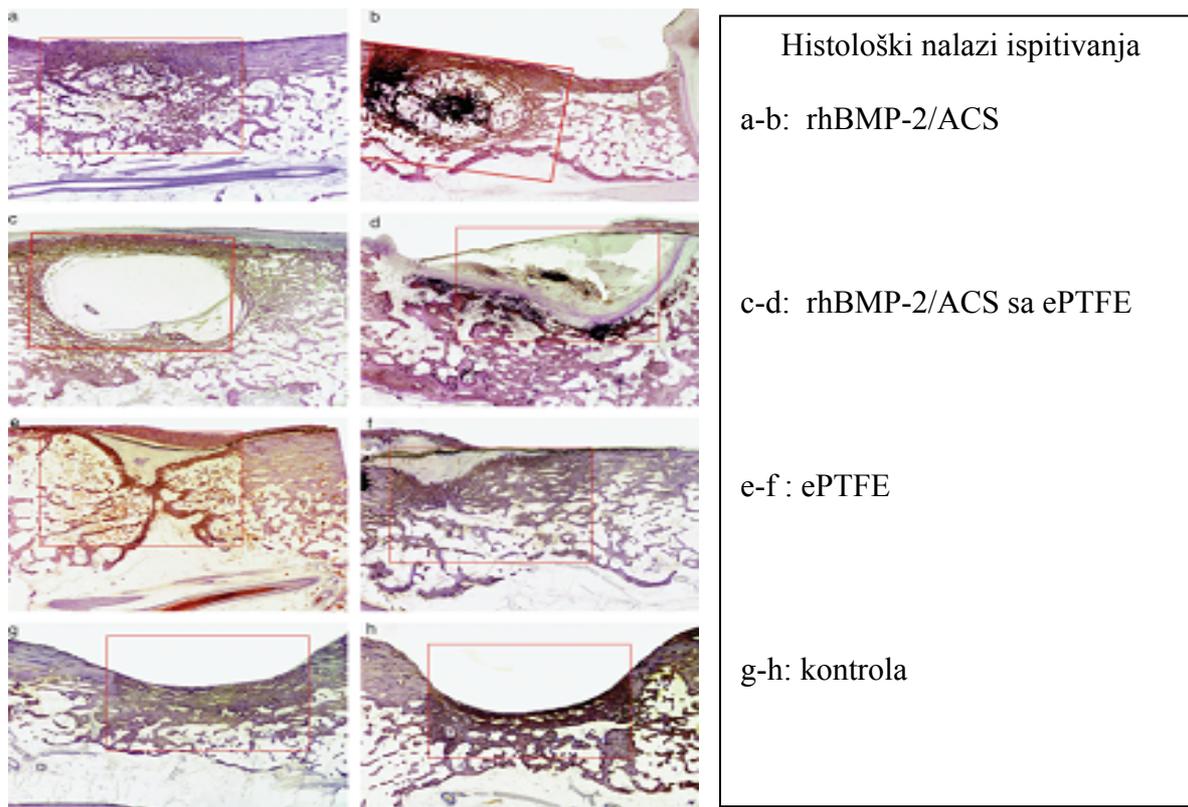


Kliničke fotografije

a-b: formiranje defekta 10x15mm

c-d: primena terapijskih koncepta
rhBMP-2/ACS i ePTFE

e-f: Otok mekog tkiva i
ekspozicija membrane



Jovanovic SA, Hunt DR, Bernard GW, Spiekermann H, Wozney JM, Wikesjö UME. Bone reconstruction following implantation of rhBMP-2 and guided bone regeneration in canine alveolar ridge defects. *Clin Oral Implants Res* 2007;8:224-230.

Ispitivanja koja su prethodila gore navedenim, bila su usmerena ka proučavanju fiziologije koštanog tkiva koje je indukovano primenom rhBMP-2, kao i oseointegracije i stabilnosti tokom funkcionalnog opterećenja endosealnih implantata implantiranim na mestima gde je vršena prezervacija i augmentacija alveolarnog grebena (Jovanovic i dr, 2003). Koristeći isti tip koštanih defekata kao u prethodnoj studiji, prezervacija istih je bila izvršena primenom rhBMP-2/ACS. Zarastanje je trajalo 12 nedelja kada su u prezervirane delove kosti kao i u susednu nativnu kost mandibula implantirani endosealni implantati. Implantati su ostavljeni da zarastaju tokom narednih 16 nedelja kad su funkcionalno opterećeni tokom narednih 12 meseci. Histološki nalaz kosti u predelu endosealnih implantata je pokazao da je prezervirana kost bila normalne građe, svi implantati su bili optimalno oseointegrirani, kako u predelima nativne kosti, tako i u regionima prezerviranim rhBMP-2/ACS. Opterećeni implantati su se ponašali jednako bilo da su bili implantirani u nativnu kost ili novoformiranu, nakon primene rhBMP-2 (Jovanovic i dr, 2003).

Klinička ispitivanja

Neke od kliničkih studija vezanih za primenu rhBMP-2 u orofacijalnoj regiji, koje su usledile, prikazane su u tabeli 1.4.6.3. i objašnjene u sledećem tekstu.

Tabela 1.4.6.3. Kliničke studije vezane za primenu rhBMP-2 u orofacijalnoj regiji

| | | | |
|----------------------|-------------------|---|--------------|
| Prezervacija alveole | Howell et al. | Int J Periodontics Restorative Dent | 1997 |
| Augmentacija sinusa | Boyne et al. | J Periodontics Restorative Dent J Oral Maxillofac Surg | 1997 2005 |
| Augmentacija grebena | Jung et al. | Clin Oral Impl Res | 2002 |
| Prezervacija alveole | Fiorellini et al. | J Periodontol | 2005 |

Prva klinička ispitivanja koja su usledila nakon ispitivanja faktora rasta na animalnim modelima, bila su usmerena ka proučavanju najefikasnije koncentracije i tehnike primene rhBMP-2 u terapiji defekata orofacijalne regije. Tako je Howell sa saradnicima tokom prve faze ispitivanja kod grupe od 12 ispitanika primenio dozu od 0.43mg/ml rhBMP-2 na kolagenom nosaču (Howell i dr, 1997). Kod prvih 6 ispitanika je ovaj preparat bio primenjen u cilju prezervacije alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba dok je kod ostalih 6 ispitanika bio primenjen za augmentaciju poda maksilarnog sinusa. Klinički rezultati Howelove studije su prvenstveno pokazali da je primenjeni preparat bio dobro tolerisan od strane tkiva domaćina, da nije uzrokovao neželjena dejstva i da se pokazao uspešan u indukciji osteogeneze kod ispitivanih ekstrakcionih rana, odnosno maksilarnih sinusa (Howell i dr, 1997)..

U ispitivanju koje je zatim usledilo, kod 12 pacijenata sa insuficijentnim alveolarnim grebenom u gornjoj vilici, preparat na bazi rhBMP-2/ACS je u istoj dozi (0.43 mg/ml) kao u prethodnom ispitivanju primenjen u cilju podizanja poda maksilarnog sinusa radi kasnije implantacije dentalnih implantata (Boyne i dr, 1997). Celokupna doza implantiranog preparata se kretala od 1.77 do 3.40 mg. Kao i u ispitivanju koje je prethodilo ovom, primenjeni preparat nije dao neželjene lokalne i sistemske manifestacije. Prosečna vrednost visine alveolarnog grebena dobijenog nakon podizanja poda maksilarnog sinusa, registrovana CT radiogramima je iznosila 8.91mm. Rezultati ovog ispitivanja su pokazali da se preparat na bazi rhBMP-2/ACS može koristiti kao alternativan vid aktivne regenerativne terapije u

augmentaciji poda maksilarnog sinusa, u odnosu na koncept pasivne regeneracije uz primenu koštanih zamenika (Boyne i dr, 1997).

Nakon ovih saznanja pristupilo se izvođenju druge studije gde je rhBMP-2 primenjen u koncentraciji od 1.5mg/ml u cilju augmentacije poda maksilarnog sinusa i upoređen sa autogenim koštanim transplantatom koji je aplikovan sam ili u kombinaciji sa alogenim graftom (Boyne i dr, 2005). Rezultati studije 6 meseci kasnije su pokazali da su prosečne promene visine kosti poda sinusa za eksperimentalnu grupu iznosile 7.83mm, a kontrolnu 9.46mm. Histološki nalaz je pokazao da je kod pacijenata bila podjednako prisutna kost trabekularne građe, koja je po biološkom sastavu i strukturi bila slična kosti pacijenta. Implantati koji su postavljeni 6 meseci nakon hirurškog zahvata su ostavljeni da se oseointegrišu 12 meseci pa su nakon tog funkcionalno opterećeni. Rezultati su pokazali sličan stepen uspešnosti terapijskih procedura primenjenih u obe ispitivane grupe ($p>0.05$). Nadalje, klinički značajni neželjeni efekti nakon primenjene terapije nisu registrovani ni kod jednog pacijenta. Stoga je ova studija pokazala da se rhBMP-2/ACS može primeniti kao alternativa autogenom koštanom graftu.

Do sličnih saznanja je došao i drugi autor, koji je ispitivao efikasnost dve koncentracije rhBMP-2/ACS (0.75mg/ml vs. 1.5mg/ml) u prezervaciji ekstrakcione rane (Fiorellini i dr, 2005). Rezultati ove studije su pokazali da je rhBMP-2/ACS primenjen u koncentraciji od 1.5mg/ml bio efikasniji u očuvanju dimenzija alveolarne kosti. Histološki nalazi u ovoj studiji dobijeni 4 meseca nakon ekstrakcije zuba su pokazali da je novoformirana kost trabekularne strukture, da je proces remodelovanja u lamelarnu kost bio u toku i da je novoformirana kost adekvatne gustine, te da se na to mesto može implantirati dentalni implantat. Neželjena dejstva nisu registrovana. Zaključci ovih studija doveli su do saznanja da se rhBMP-2/ACS u koncentraciji od 1.5mg/ml može bezbedno primeniti u terapiji, te da primenjen na propisan način predstavlja alternativnu zamenu za autogeni koštani graft, što predstavlja prednost kako za hirurga tako i za pacijenta (Boyne i dr, 2005; Fiorellini i dr, 2005).

Ostala zapažanja do kojih su autori došli u ovoj studiji, koja su od izuzetne važnosti za kliničku primenu rhBMP-2 su sledeća:

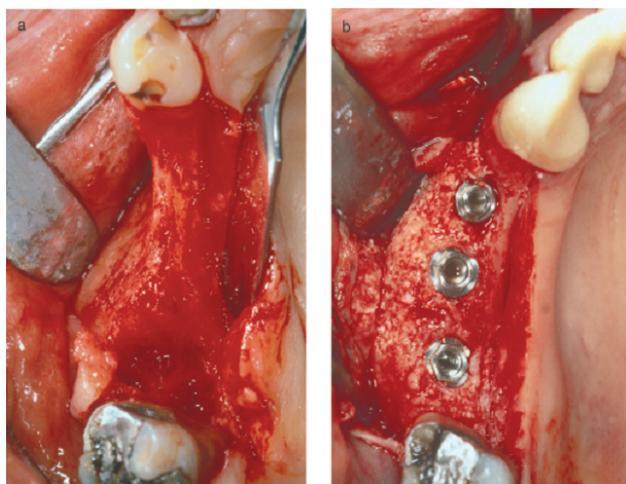
- Primenom rh-BMP-2 u prezervaciji alveolarne čašice nakon ekstrakcije zuba, dobija se sem volumena i očuvanja dimenzija, i značajna koštana regeneracija na vrhu alveolarnog grebena
- Takođe je u tom slučaju moguće postaviti implantat u poziciju koju je zauzimao zub pre ekstrakcije, čime se olakšava protetska rehabilitacija

- Isključuje se potreba za augmentacijom alveolarne kosti, što zahteva dodatna hirurška znanja i veštine
- Nema bojazni od eksponiranja membrane tokom zarastanja, što nije redak slučaj kad se u prezervaciji koristi tehnika vodene koštane regeneracije
- Odsustvo ovakvih komplikacija redukuje broj poseta
- Predupređuje se potreba za uzimanjem autogene kosti sa drugog mesta, a samim time i otvaranja nove hirurške rane
- Bezbednost primene rhBMP-2 je slična bezbednosti zahvata tokom ekstrakcije zuba.

Iako su brojna klinička ispitivanja pokazala da se kolageni matriks, do sada, pokazao kao najbolji nosač rhBMP-2, ipak ispitivanja Barboze i saradnika, istakla su njegove insuficijentne mehaničke osobine i neznatan osteokonduktivni poencijal (Barboza i dr, 2002). Da bi se ovo nadoknadilo preparat rhBMP-2/ACS se kombinovao sa osteopromotivnim konceptom, kako je napomenuto ranije, ali se u novije vreme kolageni matriks pokušao zameniti nekim od zamenika za kost koji poseduje osteokonduktivna svojstva (Jung i dr, 2003).

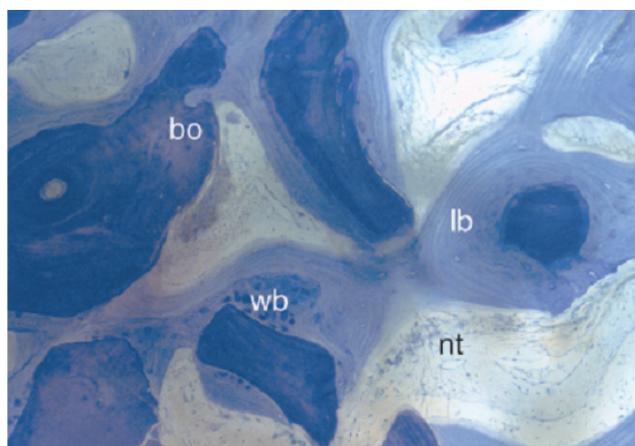
Jedna od studija Junga i saradnika se upravo bavila ovom problematikom, tako da je u cilju terapije koštanih defekata (tipa dehiscencije) nastalih nakon implantacije dentalnih implantata, u eksperimentalne defekte bio implantiran rhBMP-2 adheriran na površinu ksenogenog zamenika za kost procesom liofilizacije (Jung i dr, 2003). Defekti su zatim bili prekriveni resorptivnom kolagenom membranom i ostavljeni da zarastaju tokom 6 meseci, nakon čega su uzeti uzorci tkiva i prosleđeni na histološku i histomorfometrijsku analizu. Upoređujući kontrolne uzorke koji su bili tretirani samo zamenikom za kost i membranom bez rhBMP-2, vidi se da je sinteza kosti i oseontegracija granula grafta sa novoformiranim koštanim tkvom bila izraženija kod eksperimentalnih defekata. Kod eksperimentalnih defekata zastupljenost mineralizovanog koštanog tkiva u uzorcima je bila iznad 60% (gustine 37%), dok je kod kontrolnih iznosila jedva 47% (sa gustinom od 30%). Granule zaostalog grafta su bile prisutne u eksperimentalnim i kontrolnim alveolama i nakon 6 meseci opservacije (Jung i dr, 2003).

Slika 1.4.6.2. Rezultati kliničke primene rhBMP-2 na ksenograftu u th koštanih dehiscencija



Kliničke fotografije

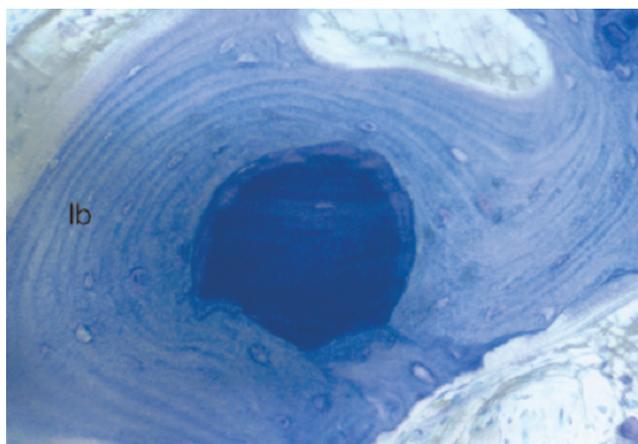
- a: greben neadekvatne širine
- b: primena terapijskog koncepta rhBMP-2/ksenograft i kolagene resorptivne membrana u terapiji dehiscencije kosti nastale nakon implantacije dentalnih implantata



Histološki nalaz nakon 6 meseci

- bo: granula ksenografta
lb: lamelarna kost
wb: trabekularna kost
nt: nemineralizovano tkivo

uvelčanje x 100



uveličanje x 160

Jung RE, Glauser R, Scharrer P, Hammerle CHF, Sailer HF, Weber FE. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. *Clin Oral Impl Res* 2003; 14: 556–68.

Na osnovu svega navedenog, imajući u vidu do sada primenjivane terapijske koncepte u cilju prezervacije ekstrakcione rane, postavili smo radnu hipotezu i ciljeve našeg ispitivanja.

2. RADNA HIPOTEZA

Analizirajući podatke iz literature i na osnovu kliničkog iskustva vezanog za probleme postekstrakcione resorpcije grebena i formiranje različitih deformiteta, nameće se hipoteza o mogućim pravcima istraživanja.

Sumirajući dosadašnja saznanja o reparatorno-regenerativnim potencijalima tkiva koji učestvuju u zarastanju alveole nakon ekstrakcije zuba, postavljena je radna hipoteza o etiopatogenezi resorpcionih procesa alveolarnog grebena.

U okviru ove studije biće proveren stav da su nepovoljni odnosi kao i neodgovarajući redosled tkivnih interakcija koje učestvuju u spontanom zarastanju ekstrakcione rane primarni faktor u nastanku postekstrakcionih deformiteta alveolarnog grebena.

Primena koštanog morfogenetskog proteina verovatno doprinosi modulaciji tkivnih interakcija pri kontrolisanom zarastanju ekstrakcione rane. Primarno zatvaranje ekstrakcione obezbeđuje maksimalnu redukciju urastanja osteoinsuficijentnog vezivnog tkiva u željeni region, pri čemu se može efikasno, a uz to i selektivno stimulisati osealni tip zarastanja alveole.

Rekapitulirajući predhodno navedene stavove nakon primenjenog terapijskog koncepta se očekuje značajna redukcija koštane resorpcije rezidualnog alveolarnog grebena u okviru opservacionog perioda od četiri meseca.

Ispravnost radne hipoteze o valjanosti navedenog terapijskog koncepta unutar nevedenog problema može biti potvrđena isključivo rezultatima kompleksnog ispitivanja.

3. OSNOVNI CILJEVI ISPITIVANJA

Cilj primene različitih terapijskih procedura nakon ekstrakcije zuba, u kliničkoj praksi, prvenstveno jeste očuvanje povoljnih dimenzija alveolarnog grebena za što bolju rehabilitaciju pacijenta primenom implantata i protetskih nadoknada. Da bi ustanovili u kojoj meri regenerativni terapijski zahvati utemeljeni na svremenom konceptu aktivne regeneracije ispunjavaju ove zateve, u ovom ispitivanju, postavili smo sledeće ciljeve:

- Proceniti vrednosti i efikasnost primene rhBMP-2/ACS preparata u cilju očuvanja što povoljnije arhitekture alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba.
- Direktno, klinički proceniti dinamiku procesa zarastanja rane i precizno verifikovati dimenzione promene alveolarnog grebena u zoni ekstrahovanih zuba, u periodu od četiri meseca.
- Proceniti efikasnost i pouzdanost primene kompjuterizovane tomografije u proceni linearnih veličina postekstrakcionih defekata u alveolarnom grebenu, kao i u praćenju dinamike promena horizontalne i vertikalne dimenzije alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba, u odnosu na direktna klinička merenja.
- Histološki verifikovati modulaciju procesa regeneracije i osifikacije koštanog defekta ekstrakcione rane, nakon primene rhBMP-2/ACS preparata, u periodu od četiri meseca.

Razradom ciljeva koji su postavljeni u ovom ispitivanju, omogućićemo pravilno usmeravanje budućih ispitivanja sa ciljem što šire terapijske primene koncepta aktivne regeneracije radi prevencije posledica vezanih za obimnu postekstrakcionu resorpciju koštanog tkiva alveolarnog grebena koja nastaje tokom prirodnog procesa zarastanja.

4. MATERIJAL I METOD

U cilju dobijanja što verodostojnijih podataka o efektima primene rhBMP-2/ACS u cilju očuvanja što povoljnijih dimenzionih odnosa alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba formiran je metodološki koncept koji je obuhvatalo ovo kliničko ispitivanje. Klinička ispitivanja na humanom materijalu podrazumevala su preciznu, kliničku verifikaciju dimenzionih promena koštanog tkiva rezidualnog grebena pre i posle primenjene procedure. Procena efikasnosti primene rhBMP-2/ACS u cilju očuvanja što povoljnijih dimenzija alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba, osim kliničkih merenja podrazumevala je linearna merenja odgovarajućih preseka CT radiograma pomoću posebno dizajniranog softvera. Isto tako je primena rhBMP-2/ACS u cilju očuvanja što povoljnijih dimenzija alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba, posmatrana kroz različite terapijske koncepte koji su primenjeni tokom ispitivanja.

Osim navedenih metoda, uzorci humanog materijala uzeti biopsijom nakon eksperimentalnog perioda obrađeni su histološki.

4.1. DIZAJN KLINIČKOG ISPITIVANJA

Kliničko ispitivanje je sprovedeno na Klinici za parodontologiju i oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta u Beogradu u periodu od aprila 2008. godine do jula 2009. godine. Protokol kliničkog ispitivanja kao i primena terapijskih procedura i metoda je odobrena od strane Etičkog odbora Stomatološkog fakulteta u Beogradu. Svi pacijenti koji su bili uključeni u kliničko ispitivanje su bili u potpunosti upoznati sa protokolom ispitivanja i ispitivanjem preparatima i dali su pismeni pristanaka za učestvovanje u ispitivanju. U ispitivanje je bilo uključeno ukupno 26 ispitanika oba pola, starosti 18-55 godina, kod kojih je postojala indikacija za ekstrakciju najmanje tri zuba u premolarnoj ili molarnij regiji u istoj vilici. Pacijenti su nakon uključivanja u ispitivanje bili nasumice podeljeni u dve eksperimentalne grupe koje su se sastojale od po 13 ispitanika. Ovo prospektivno, kontrolisano kliničko ispitivanje je imalo za osnovni cilj da utvrdi efikasnost primene koštanog morfogenetskog proteina u očuvanju ekstrahirane rane. Ekstrahirane rane su po principu randomizacije, kod obe grupe pacijenata, bile podeljene u dve eksperimentalne i

kontrolnu grupu. Eksperimentalne alveole su, nakon ekstrakcije indikovanih zuba, bile ispunjene ispitivanim materijalom prema strogo određenim principima koncepta prezervacije alveolarne kosti koji je naveden kasnije, dok kod kontrolne nije bio primenjen koncept prezervacije, odnosno kontrolna alveola je nakon ekstrakcije zuba ostala prazna, ostavljena da spontano zaraste. Pacijenti su bili praćeni u periodu od četiri meseca nakon čega su u prezervirane alveole, prema indikaciji, bili postavljeni odgovarajući implantati koji su zatim adekvatno protetski zbrinuti. Zarastanje ekstrakcionih rana kao i moguća neželjena dejstva su bila pažljivo praćena i registrovana tokom čitavog perioda ispitivanja. Eventualni neuspeh primenjene terapijske procedure je pažljivo registrovan i isključivanje iz istraživanja je bilo sprovedeno prema odgovarajućim obrascima za registrovanje slučajeva.

4.2. ISPITANICI

Koristeći kriterijume za uključivanje u kliničko ispitivanje i kriterijume za isključivanje izabran je uzorak od 26 ispitanika (14 ženskog i 12 muškog pola, prosečne starosti $46 \pm 5,1$ godina, 7 pušača i 19 nepušača). U ispitivanje su mogli biti uključeni ispitanici koji su zadovoljavali sledeće kriterijume.

Kriterijumi za uključivanje u ispitivanje

- Pacijenti 18-55 godina
- Sposbni da razumeju informacije o protokolu studije u kojoj će učestvovati i da svojevolejno potpišu pristanak na učestvovanje u ispitivanju
- Sposobni i voljni da prihvate i poštuju sve navedene zahteve ispitivanja
- Da istovremeno nisu uključeni u drugo ispitivanje
- Da kod pacijenata postoji adekvatna oralna higijena (indeks krvarenja sulkusa gingive $\leq 1,5$ i plak indeks $\leq 1,5$), zdrav preostali parodontcijum ili sanirana parodontopatija
- Kod pacijentkinja u fertilnom dobu je potrebno uraditi test na trudnoću pre početka ispitivanja

Kriterijumi za isključivanje iz ispitivanja

- Pušenje više od 10 cigareta dnevno
- Upotreba alkohola i droge u poslednjih 5 godina
- Pacijenti rizika za hiruršku intervenciju
- Medicinska istorija klinički značajnih gastrointestinalnih, bubrežnih, hepatičnih, neuroloških, hematoloških, endokrinih, onkoloških, plućnih, imunoloških, metaboličkih, psihijatrijskih ili kardiovaskularnih oboljenja, kao i bilo kog drugog stanja, koje bi, prema mišljenju istraživača, moglo ugroziti bezbednost pacijenta ili uticati na ishod rezultata studije
- Infarkt miokarda u poslednjih godinu dana
Istorija sledećih medicinskih stanja:
- Insulin zavisni dijabetes (tip I i tip II)

- Poremećaji vezivnog tkiva poput skorbuta, kvašiokora, hipofosfatemije, osteogenesis imperfecta, osteomalacije, rahitisa, Marfanovog sindroma, Ehlers-Danlosovog sindroma, kao i drugih poremećaja metabolizma minerala.
- Imunokompromitovani pacijenti
- Pacijenti na terapiji kortikosteroidima, hemoterapiji, antikoagulantnoj terapiji
- Medicinska istorija o postojanju tumora glave i vrata i lečenju radioterapijom
- Prisutna aktivna infekcija, inflamacija ili drugo oboljenje oralne sluzokože
- Bilo koji poremećaji u eksperimentalnoj regiji kao što su prethodno postojeći tumori, hronična koštana oboljenja i dr. kao i pacijenti u terminalnom stadijumu parodontopatije
- Dentalne i koštane maloformacije, koje, prema mišljenju istraživača, ove ispitanike čine neodgovarajućim za hiruršku intervenciju i za studijska merenja.

4.3. PREOPERATIVNA MERENJA

Budući da su svi uključeni ispitanici istovremeno bili i pacijenti koji se leče na Klinici za parodontologiju i oralnu medicinu, nakon sprovedene kauzalne terapije i detaljne analize ortopantomografskih radiograma, kod svih ispitanika su izvršena preoperativna merenja i registrovani sledeći parametri u cilju procene nivoa oralne higijene i stanja parodontalnih tkiva, kao i stanja mekih tkiva u regionu zuba indikovanih za ekstrakciju:

- indeks dentalnog plaka (PI) (Silness i Løe, 1964)
- indeks krvarenja sulkusa gingive (SBI) (Mühlemann i Sohn, 1971)
- pokazatelji stanja mekih tkiva u predelu zuba za ekstrakciju (izvršena je klasifikacija ekstrakcionih rana prema parametrima Juodzbalya i dr, 2008)

Indeks dentalnog plaka (PI) (Silness-Løe)

Rezultati oralnih hirurških intervencija delom zavise i od mogućnosti kontrole dentalnog plaka nakon intervencije, kao i u kasnijem postoperativnom periodu. U ovom kliničkom ispitivanju, za određivanje prisustva i količine dentalnog plaka, primenjen je indeks dentalnog plaka (Silness i Løe, 1964). Pomoću plak indeksa bile su ispitane sve površine (bukodistalna, bukomezijalna, bukalna i oralna) na svim prisutnim zubima. Prisustvo dentalnog plaka je bilo verifikovano na gingivalnoj trećini krunice zuba vrhom stomatološke sonde i bodovano prema odgovarajućim kriterijumima od 0 do 3. Sabiranjem svih vrednosti i deleći ih sa brojem pregledanih površina zuba (4), zatim sa brojem pregledanih prisutnih zuba dobijene su vrednosti za plak indeks osobe.

Indeks krvarenja sulkusa gingive (SBI) (Mühlemann-Sohn)

Indeks krvarenja iz sulkusa po Mühlemann-Sohnu (engl. sulcus bleeding index-SBI) utvrđuje klinički stepen inflamacije gingive ispitanika. Indeks krvarenja gingive se određuje tupom parodontalnom sondom tako što se pod uglom od 45° vrši sondiranje sulkusa od mezijalnog do distalnog kraja bukalno i oralno. Krvarenje iz sulkusa verifikovano je na četiri površine zuba (bukomezijalnoj, bukalnoj, bukodistalnoj i oralnoj) i bodovano od 0 do 5, prema odgovarajućim kriterijumima (Mühlemann i Sohn, 1971).

Klinička procena stanja mekih tkiva oko zuba indikovanih za ekstrakciju

Klinička procena stanja mekih tkiva u regionima zuba indikovanih za ekstrakciju izvršena je prema parametrima klasifikacije Juodzbalya, Sukaviciusa i Wanga iz 2008. godine što je prikazano u tabeli 4.3.1, sa minimalnom modifikacijom, tako da je kvantitet i kvalitet mekih tkiva procenjivan pre ekstrakcije zuba, budući da su zubi ekstrahirani nakon odizanja mukoperiostalnog režnja (slika 4.3.1.i 4.3.2.).

Tabela 4.3.1. Procena stanja mekih tkiva u regionu zuba indikovanih za ekstrakciju

| Meko tkivo | Tip ekstrakcione rane | | |
|--|---------------------------------|---|--|
| | Adekvatan | Kompromitovan | Deficijentan |
| Kvantitet | | | |
| Promena konture mekog tkiva | Nema | <2mm | ≥2mm |
| Nedostatak visine mekog tkiva | Nema | 1-2mm | >2mm |
| Širina keratinizovane gingive | >2mm | 1-2mm | <1mm |
| Prisustvo mezijalne i distalne papile (Nordland i Tarnow 1998.) | I | II | III |
| Kvalitet | | | |
| Boja, konzistencija i oblik | Ružičasta, čvrsta, glatka | Crvena i meka, sunderasta, nepravilne konture | Crvena i edematozna ili sa kraterima |
| Biotip | | | |
| Biotip tkiva gingive (mm) | Debeo (≥2.0) | Umeren (≥1.0 do <2) | Tanak (<1.0) |
| Juodzbaly G, Sukaviciusa D,Wang H. Classification of extraction sockets based upon soft and hard tissue components. <i>J Periodontol</i> 2008;79:413-24. | | | |

Tabela 4.3.2. Procena stanja ID papila u regionu zuba indikovanih za ekstrakciju pema klasifikaciji Nordlanda i Tarnova, 1998.

| Klasifikacija ID papila | |
|--|---|
| I klasa | Vrh ID papile se nalazi između kontaktne tačke i najkoronarnijeg dela gleđno-cementne granice aproksimalno, tako da ona nije vidljiva |
| II klasa | Vrh ID papile se nalazi na ili apikalno od aproksimalnog dela gleđno cementne granice, ali koronarnije od bukalnog dela gleđno-cementne granice |
| III klasa | Vrh ID papile se nalazi apikalno od bukalnog dela gleđno-cementne granice tako da je ona vidljiva čitavom cirkumferencijom |
| Nordland PW, Tarnow DP. A classification system for loss of papillary height. <i>J Periodontol</i> 1998;69:1124-6. | |

Slika 4.3.1. Procena stanja mekih tkiva u regionu zuba indikovanih za ekstrakciju



Slika 4.3.2. Procena širine keratinizovane gingive u regionu zuba 15 pomoću parodontalne sonde i individualno izrađenog nagriznog bedema



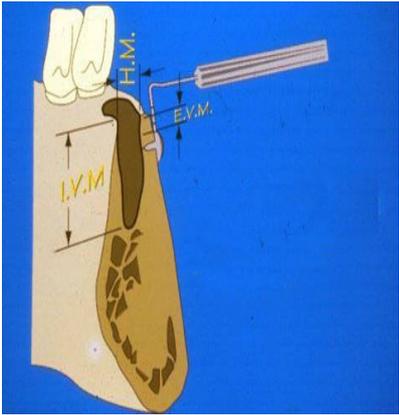
4.4. INTRAOPERATIVNA MERENJA

4.4.1. Merenja tokom prve hirurške intervencije

Koristeći titanijumske kočice kao referentne tačke i individualno izrađene nagrizne bedeme za precizno pozicioniranje graduisane sonde pri merenju, neposredno nakon ekstrakcije zuba, sprovedena su klinička merenja (slike 4.3.1.1, 4.3.1.2. i 4.3.1.3.). Graduisanom parodontalnom sondom su izmereni sledeći parametri:

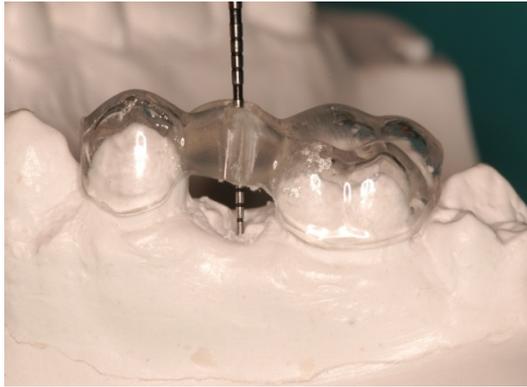
- udaljenost kočića do vestibularne ivice očuvane kosti alveole (EVM)
- udaljenost vestibularne koštane ivice do dna alveole – dubina (IVM)
- udaljenost vestibularne koštane ivice alveole do oralne ivice – širina (HM),

Slika 4.3.1.1. Intraoperativna merenja

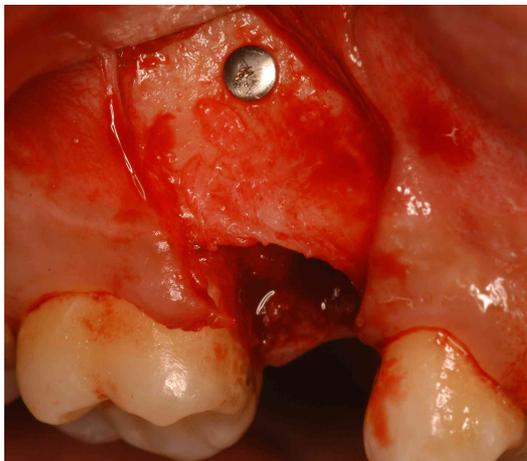
| | | |
|--|--|--|
| <i>Spoljašnja vertikalna dimenzija (EVM)</i> | Udaljenost kočića do vestibularne ivice očuvane kosti alveole |  |
| <i>Unutrašnja vertikalna dimenzija (IVM)</i> | Udaljenost vestibularne koštane ivice do dna alveole – dubina. | |
| <i>Širina alveolarnog grebena (HM)</i> | Udaljenost vestibularne koštane ivice alveole do oralne ivice | |

Slika 4.3.1.2. Individualno izrađeni nagrizni bedemi koji su obezbedili preciznu verifikaciju parametara tokom intraoperativnih merenja

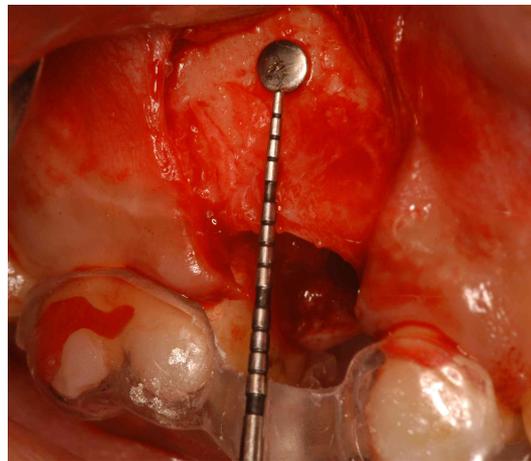




Slika 4.3.1.3. *Intraoperativna klinička merenja*



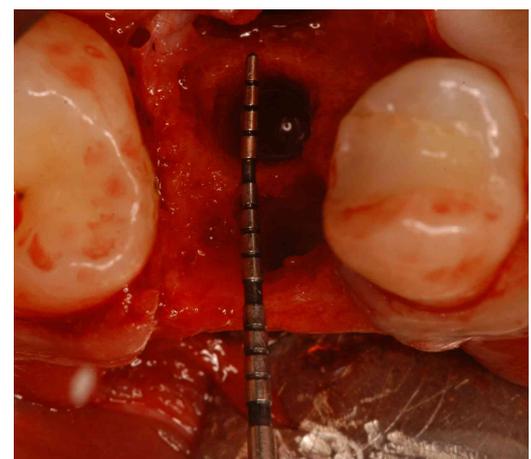
Postavljen titanijumski kočić



Određivanje spoljašnje vertikalne dimenzije (EVM)



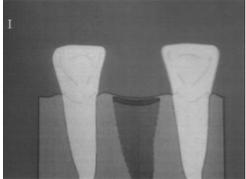
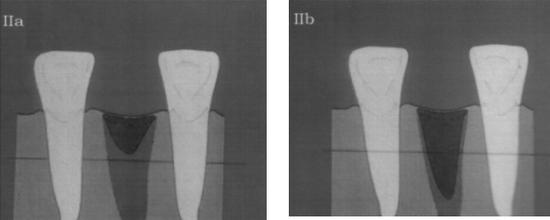
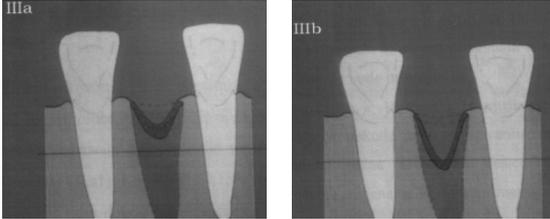
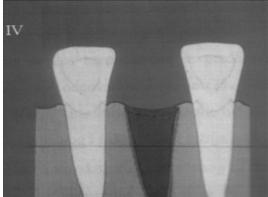
Određivanje unutrašnje vertikalne dimenzije (IVM)



Određivanje širine alveolarnog grebena (HM)

Alveole su zatim, klasifikovane na osnovu originalne klasifikacije sa odgovarajućom verifikacijom vrednosti svih opserviranih parametara koji su se odnosili na stanje koštanih zidova ekstrakcione rane nakon ekstrakcije zuba (EVM, IVM, HM).

Tabela 4.3.1.1. Klasifikacija ekstrakcione rane (Leković i dr, 1997)

| | | |
|-------------------------|---|---|
| <p>Klasa I</p> | <p><u>intaktna alveola</u> gde su u potpunosti očuvani svi koštani zidovi</p> |  |
| <p>Klasa II</p> | <p><u>alveola sa tri intaktna koštana zida</u> II a klasa - kod koje se nivo ostećenog zida nalazi u koronarnoj polovini alveole II b klasa - kod koje se nivo oštećenog zida nalazi u apikalnoj polovini alveole.</p> |  |
| <p>Klasa III</p> | <p><u>alveola sa dva intaktna koštana zida</u> III a klasa – oba oštećena koštana zida alveole se pružaju do koronarne polovine alveole (sl.3a) III b klasa - jedan ili oba oštećena koštana zida alveole se pružaju do apikalne polovine alveole (sl. 3b)</p> |  |
| <p>Klasa IV</p> | <p><u>alveola sa jednim intaktnim koštanim zidom</u></p> |  |

U predelu svih ispitivanih alveola je izvršena ciljana dekortikacija (četiri do osam perforacija na zidu alveolarne čašice okruglim borerom $\frac{1}{2}$). Upotrebom odgovarajućih randomizacionih tabela ekstrakcione rane su podeljene na eksperimentalne i kontrolne. Kod obe grupe ispitanika dve alveole (eksperimentalne) su tretirane ispitivanim preparatima dok je treća alveola ostavljena prazna (kontrolna). Nakon aplikacije preparata, ekstrakcione rane su kompletno zatvorene i ušivene.

4.4.2. Merenja tokom druge hirurške intervencije

Nakon perioda od 120 dana, pristupilo se izvođenju druge hirurške intervencije sa ciljem postavljanja dentalnih implantata. Pošto je odignut mukoperiostalni režanj i pažljivo uklonjeno granulaciono tkivo, koristeći titanijumske kočice kao referentne tačke koji su ostali u poziciji čitav period praćenja kao i individualno izrađene nagrizne bedeme, graduisanom parodontalnom sondom su ponovo izmereni sledeći parametri:

- udaljenost kočica do vestibularne ivice očuvane kosti alveole (EVM)
- udaljenost vestibularne koštane ivice do dna alveole – dubina (IVM)
- udaljenost vestibularne koštane ivice alveole do oralne ivice- širina (HM).

Nakon odizanja režnja i eksponiranja kosti kao i nakon uzimanja uzorka novoformiranog koštanog tkiva vršena je klinička procena kvaliteta i kvantiteta koštanog tkiva na mestu gde je izvršena prezervacija prema parametrima navedenim u tabelama 4.4.2.1. i 4.4.2.2.

Tabela 4.4.2.1. Parametri za kliničku procenu kvaliteta kosti u predelu prezerviranih ekstrakcionih rana

| | |
|-----------------------|--|
| Kvalitet kosti | 1, 2, 3 ili 4 prema Lekholmu i Zarbu, 1985. |
| | |
| 1 | gotovo čitava vilica se sastoji od homogene kompaktne kosti |
| 2 | debeo sloj kompaktne kosti okružuje jezgro guste, trabekularne kosti |
| 3 | tanak sloj kortikalne kosti okružuje jezgro guste trabekularne kosti povoljne jačine |
| 4 | tanak sloj kortikalne kosti koji okružuje jezgro trabekularne kosti niske gustine |

Tabela 4.4.2.2. Parametri za kliničku procenu kvantiteta kosti u predelu prezerviranih ekstrakcionih rana

| | |
|------------------------|---|
| Kvantitet kosti | A-E prema Lekholmu i Zarbu, 1985. |
| | |
| A | prisutan najveći deo alveolarnog grebena |
| B | umerena resorpcija rezidualnog grebena |
| C | uznapredovala resorpcija rezidualnog grebena, postoji samo bazalna kost |
| D | početak resorpcije bazalne kosti |
| E | ekstremna resorpcija bazalne kosti |

4.5. POSTUPAK PRAĆENJA

Kontrolni pregledi ekstrakcionih rana bili su zakazani drugog, sedmog, četrnaestog, dvadeset i prvog dana nakon prvog hirurškog zahvata, zatim mesec dana i četiri meseca postoperativno. U okviru ovih kliničkih pregleda prvenstveno je bilo praćeno zarastanje rane i registrovana eventualna pojava neželjenih manifestacija. Četri meseca nakon prvog hirurškog zahvata se pristupilo izvođenju sekundarnog hirurškog zahvata u okviru kojeg su, nakon odizanja mukoperiostalnog reznja, graduisanom parodontalnom sondom verifikovane dimenzione promene koštanog tkiva alveolarnog nastavka naspram titanijumskih kočića, koji su zatim uklonjeni. Iz regiona tretiranih alveola, kao što je već rećeno, uzet je bioptički materijal radi histološke analize novoformiranog koštanog tkiva. Neposredno nakon toga - u okviru istog hirurškog zahvata su implantirani endoosealni dentalni implantati prema prethodno isplaniranom protokolu.

Kliničke fotografije

Kliničke fotografije su napravljene na standardan naćin za intraoralno fotografisanje. Uvek je korišćen isti tip digitalnog fotografskog aparata, Nikon DX 100 i isti parametri uneseni u radni meni fotoaparata. Fotografisanje je izvršeno:

- pre hirurškog zahvata
- u toku prvog hirurškog zahvata
- 14, 21, 30 i 120 dana postoperativno
- u toku drugog hirurškog zahvata

4.6. POSTOPERATIVNA MERENJA

U postoperativnom periodu, tj. u periodu praćenja efikasnosti primenjene terapijske procedure koji je trajao ukupno 120 dana, u odgovarajućim vremenskim intervalima, registrovani su ponovo parametri nivoa oralne higijene i stanja parodontalnih tkiva, dok je u predelu ekstrakcione rane praćena dinamika zarastanja. Sve prethodno navedeno je verifikovano sledećim parametrima:

- indeksom zarastanja rane (HI) - 2, 7, 14, 21, 30. i 120. dana
- indeksom dentalnog plaka (PI) (Silness-Löe)- 30. i 120. dana
- indeksom krvarenja sulkusa gingive (SBI) (Mühlemann-Sohn)- 30. i 120. dana

Indeks zarastanja rane (HI)

U cilju procene kvaliteta i dinamike zarastanja regiona ekstrakcionih rana nakon hirurške intervencije u ispitivanju smo koristili indeks zarastanja rane (HI) (engl. healing index) prema Landry i dr, 1988. Ovaj parametar je registrovan u toku šest kontrolnih perioda u intervalu od 120 dana. Analizu vrednosti indeksa zarastanja rane, određivali smo ocenama od 1 do 5, koristeći sledeće parametre kao što je prikazano u tabeli 4.4.1.

Tabela 4.4.1. Parametri za procenu indeksa zarastanja rane (HI)

| Indeks zarastanja (HI) | | | | | |
|------------------------|------------|-------------------|----------------------|--------------------|---|
| HI | Stanje | % Boja gingive | Odgovor na palpaciju | Granulaciono tkivo | Ivice incizije |
| 1 | Veoma loše | 50% crvena | Krvvari, supurira | Prisutno | Nisu epitelizirale, postoji gubitak epitela ispod linije incizije |
| 2 | Loše | 50% crvena | Krvvari | Prisutno | Nisu epitelizirale sa eksponiranim vezivnim tkivom |
| 3 | Dobro | 15% do 50% crvena | Ne krvvari | Nije prisutno | Nema eksponiranog vezivnog tkiva |
| 4 | Vrlo dobro | 25% crvena | Ne krvvari | Nije prisutno | Nema eksponiranog vezivnog tkiva |
| 5 | Odlično | 100% roze | Ne krvvari | Nije prisutno | Nema eksponiranog vezivnog tkiva |

Landry RG, Turnbull RS, Howley T. Effectiveness of benzydamine HCL in the treatment of periodontal post-surgical patients. *Research in Clinic Forums* 1988;10:105-118.

4.7. HIRURŠKI PROTOKOL

4.7.1. Prva hirurška intervencija

Površinska anestezija sa 2% benzokainom je predhodila lokalnoj infiltrativnoj anesteziji odgovarajuće regije (2% lidokainom sa adrenalinom, 1:100000). Nakon anestezije, izvedene su tri odvojene incizije u cilju odizanja labijalnog i palatinalnog režnja pune debljine (slika 4.3.1.):

- prva incizija – sulkularna oko svakog zuba određenog za ekstrakciju uz maksimalno vođenje računa o očuvanju mekih tkiva,
- druga incizija – kroz interdentalne papile u cilju separacije labijalnog od palatinalnog režnja,
- treća incizija – dve vertikalne relaksacione incizije na labijalnoj strani alveolarnog nastavka u regiji zuba indikovanih za ekstrakciju. Posebna pažnja je posvećena očuvanju tkiva interdentalne gingive u regiji tretiranih zuba.

Režanj pune debljine je bio odignut sa vestibularne strane zuba određenih za ekstrakciju, nakon čega se pristupilo ekstrakciji zuba uz minimalnu traumatizaciju koštanog tkiva alveolarne čašice. Alveolarne čašice su zatim pažljivo kiretirane uz kompletno uklanjanje granulacionog tkiva i ekspaniranje koštanih zidova alveola. Nakon ove faze, titanijumski kočici su bili postavljeni u nivou dna alveola sa vestibularne strane alveolarnog grebena (fiksne referentne tačke za preciznu verifikaciju dimenzionih promena koštanog tkiva u zoni ekstrahovanog zuba) .

4.7.1.1. Ispitivani preparati

- **rhBMP-2/ACS INFUSE® BONE GRAFT** (*Medtronic Spinal and Biologics, Memphis, TN*)
(William i dr, 2007)

rhBMP-2 Informacije o proizvodu

rhBMP-2 je humani protein dobijen genetskim inženjeringom iz ćelijske linije ovarijuma kineskog hrčka. rhBMP-2, je dostupan na tržištu u obliku komercijalnih preparata.

Prekliničke studije

Prekliničke studije su pokazale da je formiranje kosti indukovano BMP-2 kontrolisano negativnom povratnom spregom, što dovodi do sinteze strogo definisane

količine kosti. Tome još doprinosi i gubitak BMP-2 sa mesta gde je implantiran kao i prisustvo BMP-inhibitora. Nadalje, prekliničke studije su pokazale da se kost koja je stvorena nakon preloma, i indukovana BMP-2, ne može razlikovati od nativne kosti.

Preklinička farmakodinamika

BMP-2 je osteoinduktivni protein koji izaziva formiranje novog koštanog tkiva na mestu gde je implantiran. BMP-2 se vezuje za receptore na mezenhimalnim ćelijama i dovodi do njihove diferencijacije u hondroblaste i osteoblaste. Diferentovane ćelije formiraju trabekularnu kost dok se matriks istovremeno degradira sa invazijom krvnih sudova u isto vreme. Formiranje kosti se razvija od periferije implantiranog materijala prema centru, dok ceo BMP-2 implant ne bude zamenjen trabekularnom kosti. Remodelovanje trabekularne kosti je u skladu sa biomehaničkim silama kojima je kost izložena. Postavljanje BMP-2 u trabekularnu kost dovodi do prolazne resorpcije okolne kosti koje je praćeno formiranjem gušće kosti. Sposobnost BMP-2 da izazove remodelovanje kosti može biti odgovorna za biološku i biomehaničku integraciju nove kosti, indukovane BMP-2, sa okolnom kosti. Radiografska, biomehanička i histološka ispitivanja kosti indukovane BMP-2 govore u prilog tome da ona biološki i biomehanički odgovara prirodnoj kosti.

Preklinička toksikologija

Karcinogeni potencijal BMP-2 još uvek nije testiran in vivo. BMP-2 je pokazao različite efekte na humane tumorske ćelijske linije in vitro. Iako rezultati in vitro istraživanja govore u prilog niskog potencijala za pospešivanje rasta tumorskih ćelija, upotreba BMP-2 je kontraindikovana kod pacijenata koji boluju od maligne bolesti ili se leče od maligniteta.

Farmakokinetika i farmakodinamika

BMP-2 je aktivan na mestu gde se implantira. U dve studije, kod pacijenata sa frakturom dugih kostiju, u serumu uzetom pre i posle hirurškog zahvata, BMP-2 nisu pronađeni. U studiji na pacovima, gde je korišćen radioaktivan BMP-2, utvrđeno je da je prosečno zadržavanje ovog proteina na mestu implantacije bilo 4-8 dana. Najveća količina cirkulišućeg BMP-2 (0.1% od implantirane doze) je primećena 6 sati nakon implantacije. Nakon intravenske injekcije BMP-2 poluživot ovog proteina je iznosio 16 minuta kod pacova i 6.7 minuta kod cynomolgus majmuna. Iz toga je zaključeno da se BMP-2 polako oslobađa iz matriksa na mestu implantacije i brzo gubi kad dođe u sistemsku cirkulaciju.

Kliničko iskustvo

Preko 1000 pacijenata je učestvovalo u kliničkim studijama, od kojih je više od 650 bilo tretirano BMP-2. U studijama u kojima su proučavane frakture dugih kostiju, preko 410 pacijenata je lečeno BMP-2. Neželjeni efekti primećenih kod pacijenata koji su učestvovali u

ovim studijama poticali su uglavnom od same traume ili primenjene terapijske hirurške procedure. Pojavljivanje čestih (>10%) neželjenih efekata je bilo podjednako u kontrolnoj i eksperimentalnoj grupi, sa dva izuzetka: bol i infekcija su se javljali češće u kontrolnoj grupi. Uobičajeni neželjeni efekti (1%-10%) pojavljivali su se podjednako u kontrolnoj i eksperimentalnoj grupi, sa 4 izuzetka: povećana amilazemija (bez znakova pankreatita kod pacijenata tretiranih sa BMP-2), glavobolja, tahikardija i hipomagnezija su bile značajno učestalije kod pacijenata tretiranih sa BMP-2. Nije poznat nijedan slučaj predoziranja. Prilikom lečenja kostiju koje nisu duge, pacijenti su primili ukupnu dozu od 48mg BMP-2 u koncentraciji od 1.5 mg/ml. Kod ovih pacijenata nije bilo neželjenih efekata.

Oblik ispitivanog preparata

Preparat sadrži rhBMP-2 u liofilizovanom obliku u viali, sterilnu vodu koja služi kao rastvarač i kolageni matriks ACS (kolagen tip I) koji služi kao nosač rhBMP-2 kao i sve ostale potrebne elemente uz uputstvo proizvođača za pripremu i primenu preparata . U našem ispitivanju je korišćen najmanji komplet i koncentracija rhBMP-2 od 1.5mg/ml, koji je odobren od strane FDA- za upotrebu u maksilofacijalnog regiji (slika 4.7.1.1.1.).

Tabela 4.7.1.1.1. Ispitivani preparat

| | |
|------------------------------------|---|
| <i>INFUSE® BONE GRAFT</i> |  |
| Sterilan resorptivni kolagen tip I | ACS 1x2 (2,54cm x 5,08cm) |
| mg rhBMP-2 | 4,2 mg |
| koncentracija rhBMP-2 | 1,5 mg/ml |

Indikacije za primenu preparata u stomatologiji

Upotreba preparata koji sadrži rhBMP-2 je indikovana u slučaju gde je potrebno izvršiti augmentaciju poda maksilarnog sinusa kako bi se dobila adekvatna visina alveolarne kosti za postavljanje implantata. Zatim za popunjavanje ekstrakcione rane u cilju prezervacije visine alveolarnog grebena da bi se mogla izvršiti korektna implantacija dentalnog implantata u pomenutoj regiji.

Kontraindikacije za primenu preparata

- registrovana preosetljivost na rhBMP-2, kolagen tip I volovskog porekla ili druge sastojke rastvora
- pacijenti koji boluju od malignih bolesti, koji su bili lečeni od malignih bolesti i koji su trenutno na terapiji od maligniteta
- trudnice, takođe ga ne bi trebalo primenjivati kod dojilja
- pacijenti sa aktivnim infektivnim procesom na mestu gde je potrebno izvršiti prezervaciju alveole
- pacijenti sa patološkim frakturama, kao što su one kod Padžetove bolesti (ali ne samo te) ili metastaze na kostima
- kod osoba sa nezrelim skeletnim sistemom

Uputstvo za upotrebu

Preparat je potrebno pripremiti prema uputstvu proizvođača i ostaviti da odstoji određeno vreme (ne više od 15 min), a zatim aplikovati u ekstrakcionu ranu i adaptirati instrumentom. Ceo postupak pripreme i primene preparata je prikazan na slici 4.7.1.1.1.

Slika 4.7.1.1.1. Priprema i aplikacija ispitivanog preparata



Viala sa tečnošću za rastvaranje rhBMP-2



Tečnost se iz viala aspirira u čpric



Zatim se ubrizga u vialu sa liofilizovanim prahom rhBMP-2 i promućka



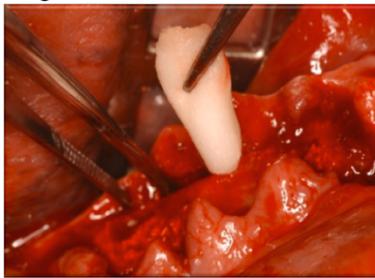
Rastvor om 1,5mg/ml rhBMP-2 se lagano vijugavim pokretima natapa kolagen



Nakon 15 min kolageni nosač sa rhBMP-2 se oblikuje prema obliku alveole



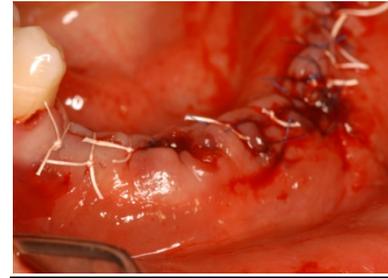
Višak materijala se može odstraniti sterilinim makazama



Aplikovanje rhBMP-2 sa kolagenim nosačem u alveolu



Nakon adaptacije, materijal se brzo natapa krvlju iz ekstrakcione rane



Hirurški šavovi i primarno zatvaranje hirurške regije

- **preparat na bazi kalcijum fosfata FRIOS[®] ALGIPORE[®]** (Schopper i dr, 2003)

Kalcijum fosfat visoke poroznosti

Kalcijum fosfat (sintetski zamenik za kost) pripada grupi keramičkih materijala koji su korišćeni u poslednjih 15 godina kao kalcifikovani koštani zamenici u ortopediji i stomatologiji. Mineralni sastav ovih biomaterijala čini ih u potpunosti biokompatibilnim. Većinom, kalcijum fosfatnim keramičkim materijalima pripadaju HA (hidroskiapatit) i β -TCP i od nedavno bifazni kalcijum fosfat (BCP). Bioaktivnost BCP je kontrolisana vezom HA i β -TCP u adekvatnim proporcijama (Bahat i dr, 1987).

Preparat na bazi kalcijum fosfata

Visoko porozni kalcijum fosfat je identičan kalcijum fosfatu u čovečjem organizmu, stoga je alergijska reakcija nemoguća. Ovaj materijal se zagreva na 700 stepeni ili više, da bi se eliminisali proteini. Reparacija defekata sa tri koštana zida može biti potpomognuta primenom kalcijum fosfata i tehnike vođene koštane regeneracije. Ovaj materijal je dostupan u granulama sa tri različite veličine. Odgovarajuća veličina granula se bira u zavisnosti od koštanog defekta. Specifičnost površinske strukture i poroznost granula omogućava brzu vaskularizaciju ovog materijala, nakon čega se on resorbuje i zamenjuje novoformiranom kosti.

Opis proizvoda

Preparat na bazi kalcijum fosfata u obliku fluorohidroksiapatita (FHA) je koštani zamenik koji se koristi u stomatologiji za ispunjavanje koštanih defekata i procedurama augmentacije. To je neorganski biokompatibilan materijal na bazi kalcijum fosfata, koji se dobija od morskih algi obavijenih kalcijumom. Alge su prerađene sa ciljem da se dobije apatit, materijal koji je sličan koštanom apatitu. Ovaj materijal se nalazi u sterilnim bočicama sa granulama veličine od 300-2000 mikrona.

Strukturna podudarnost

Sličan je Interporu 200 (hidroskiapatit koralnog porekla) u smislu sastava, hemijske strukture, funkcionalnosti i namene. Takođe je sličan CeraMed Dental OsteoGraf33 1N-700 u smislu sastava, hemijske strukture, funkcionalnosti i namene.

Indikacije

Preparat na bazi kalcijum fosfata je indikovano za:

- terapiju infrakoštanih defekata
- augmentaciju koštanih defekata alveolarnog grebena

- prezervaciju ekstrakcione rane
- podizanje poda sinusa
- **dvoslojna resorptivna membrana *Bio-gide*[®] Geistlich AG, Wolhusen, Switzerland**

Resorptivne membrana na bazi kolagena

Ova membrana je proizvod na bazi visoko prečišćenog prirodnog kolagena životinjskog porekla (svinjskog). Visoko je biokompatibilna što se ogleda i u njenom doprinosu procesu zarastanja rane. Prirodna kolagena struktura joj obezbeđuje pripajanje za mekotkivne strukture. Služi kao barijera urastanju mekog tkiva u koštani defekt. Nije propustljiva za ćelijske elemente, ali propušta nutritivne faktore. U potpunosti se razlaže pod uticajem tkivnih enzima. Zahvaljujući svojoj dvoslojnoj vlaknastoj strukturi ova resorptivna kolagena membrane služi kao smernica tokom zarastanja mekog tkiva. Preko kompaktnog dela membrane koji se postavlja prema mekom tkivu raste granulaciono tkivo i krvni sudovi. Porozni deo membrane, okrenut ka kosti, formira trodimenzionalni matriks za koštanu integraciju.

Indikacije

Resorptivne membrana na bazi kolagena se može primentiti u okviru koncepta vođene regeneracije za:

- terapiju infrakoštanih defekata
- augmentaciju koštanih defekata alveolarnog grebena
- prezervaciju ekstrakcione rane
- terapiji dehiscencija i periimplantnih koštanih defekata i dr.

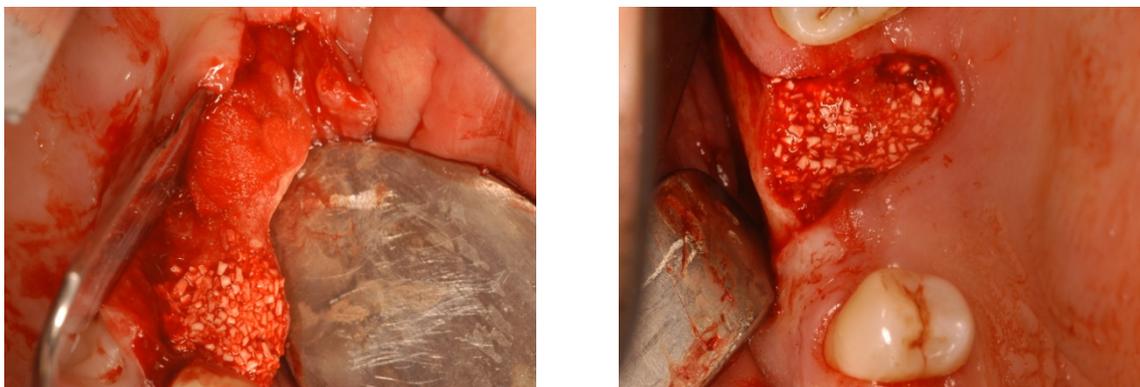
Nakon ekstrakcije zuba i ukljanjanja interradikularnog septuma kod svih alveola je izvršena dekortikacija, kako je pre navedeno, sa ciljem da se obezbedi dovoljna količina osteoprogenitornih ćelija za proces regeneracije kosti.

Prva grupa ispitanika

Kod prve grupe ispitanika je ***prva eksperimentalna alveola*** u potpunosti ispunjena 1.5mg/ml rhBMP-2/ACS. ***Druga eksperimentalna alveola*** je ispunjena preparatom na bazi

kalcijum fosfata i 1.5mg/ml rhBMP-2/ACS (slika 4.7.1.1.2.). Dok je **treća kontrolna alveola** ostala prazna.

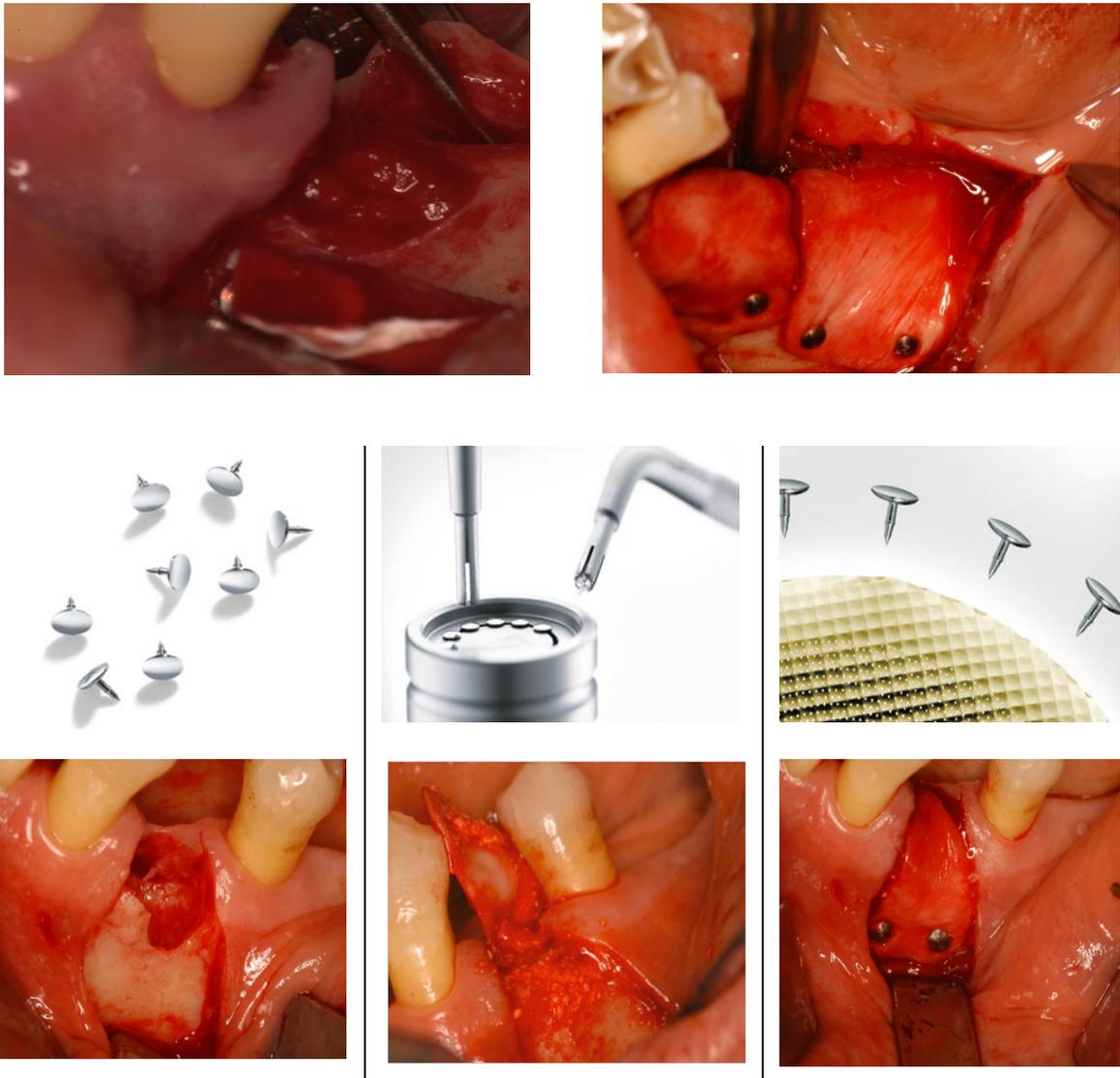
Slika 4.7.1.1.2. Eksperimentalne alveole kod prve grupe ispitanika ispunjene ispitivanim preparatima



Druga grupa ispitanika

Kod druge grupe ispitanika je **prva eksperimentalna alveola** u potpunosti ispunjena 1.5mg/ml rhBMP-2/ACS i prekrivena kolagenom dvoslojnom resorptivnom membranom. **Druga eksperimentalna alveola** je ispunjena preparatom na bazi kalcijum fosfata i 1.5mg/ml rhBMP-2/ACS i prekrivena kolagenom dvoslojnom resorptivnom membranom. Membrane su bile prilagođena dimenzijama koštanog defekta ekstrakcione rane tako da prekrivaju ivice koštanog defekta bukalno, oralno, mezijalno i distalno i prelaze preko njih minimalno 2mm. Stabilizovane su titanijumskim kočićima na bukalnoj lameli alveolarne kosti u predelu ekstrakcione rane (slika 4.4.1.2.3.). I kod ove grupe pacijenata je **treća (kontrolna) alveola** ostala prazna i ostavljena da spontano zarasta.

Slika 4.7.1.1.3. Eksperimentalne alveole kod druge grupe ispitanika ispunjene ispitivanim preparatima i prekrivene resorptivnim membranama koje su stabilizovane titanijumskim kočnicama



Nakon hirurškog zahvata, režanj je nakon repozicije, ušiven tako da u potpunosti zatvara ulaz u ekstrakcionu ranu (madrac šavovi i pojedinačni šavovi), resorptivnim šavovima 4-0 (Chromic Gut®).

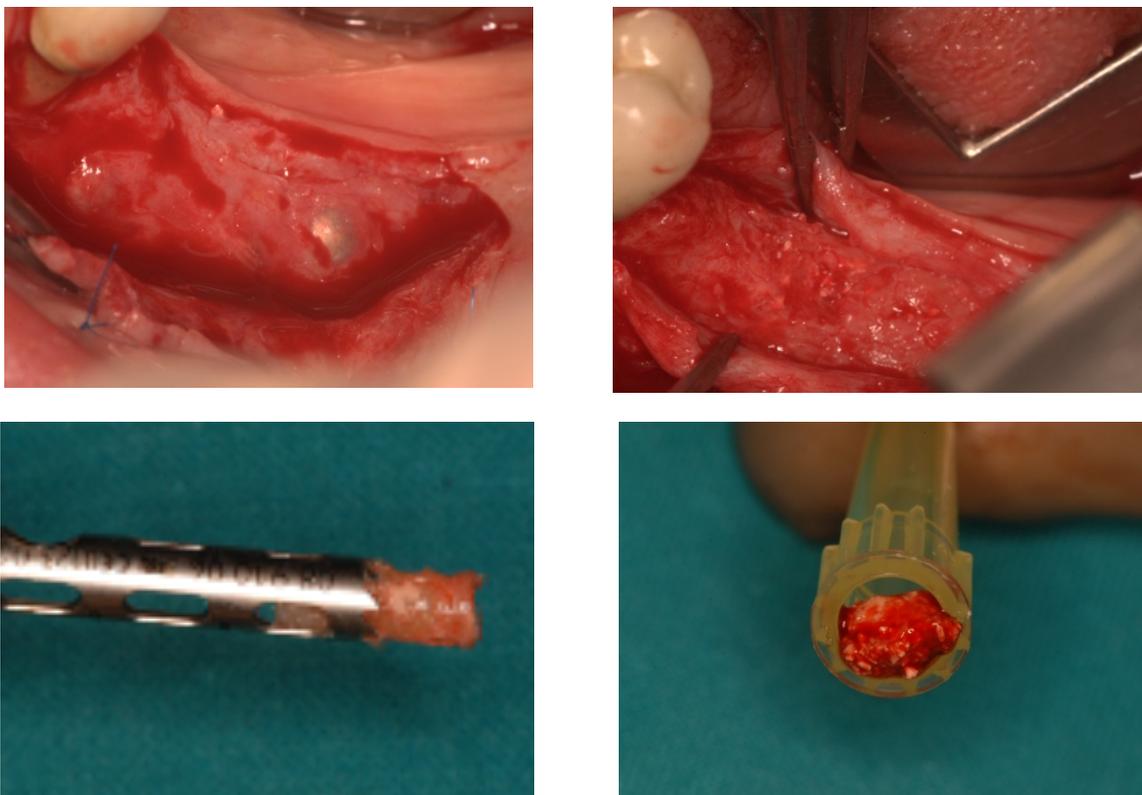
U postoperativnom periodu ispitanici su koristili antibiotike (Amoxicillin caps. 0,5, 4x1 ili Erythromycin kod ispitanika alergičnih na penicilin) u trajanju od 7 dana; analgetike po potrebi (paracetamol ili NSAID). Radi prevencije postoperativnog otoka nakon hirurške intervencije, ispitanici su dobili intramuskularno Dexason amp. 4mg/ml. Za ispiranje usta su koristili lokalni antiseptik 0, 12% rastvor hlorheksidina (Curasept ASD® 212), dva puta u toku dana u naredne dve nedelje. Uputstva o adekvatnom higijensko-dijetetskom režimu sa svom prepisanom terapijom su dobili kao pisani dokument. Prvi kontrolni pregled im je

zakazan 2. dana posle intervencije, a konci su uklonjeni sedmog do desetog dana nakon hirurške intervencije.

4.7.2. Druga hirurška intervencija

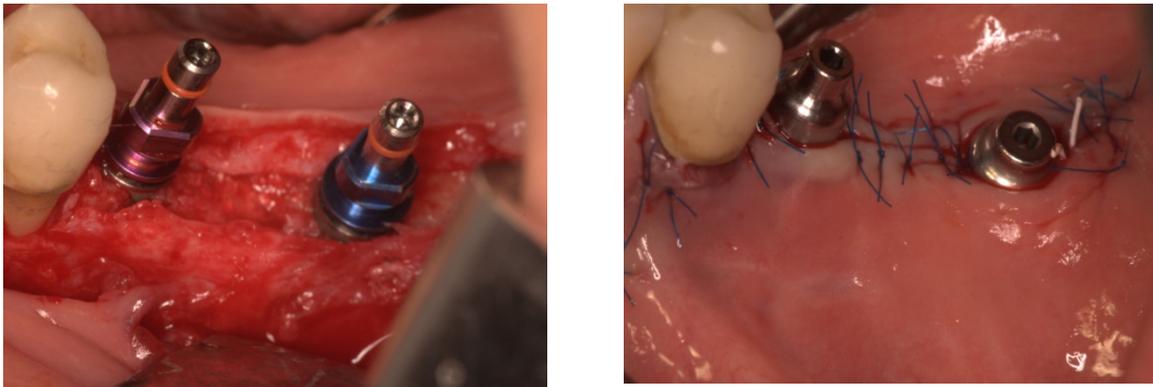
Nakon perioda praćenja u trajanju od 120 dana, pristupilo se izvođenju druge hirurške intervencije sa ciljem da se na prethodno isplanirana mesta postave dentalni implantati u cilju definitivne protetske rehabilitacije ispitanika. Nakon površinske anestezije sa 2% benzokainom aplikovana je lokalna infiltrativna anestezija u odgovarajućoj regiji (2% lidokain sa adrenalinom, 1:100000). Nakon anestezije, izvedene su tri odvojene incizije u cilju odizanja labijalnog i palatinalnog režnja pune debljine, kao i kod prvog hirurškog zahvata. Zatim su sprovedena klinička merenja prema prethodno navedenom protokolu i uklonjeni titanijumski kočici. Koristeći individualno izrađene nagrizne bedeme sa tunelom na mestu gde je izvršena prezervacija grebena promera 5mm, trepanom za kost promera 3x 10 mm, po longitudinalnoj osi je uzet uzorak koštanog tkiva za histološka ispitivanja (slika 4.7.2.1.).

Slika 4.7.2.1. Uzimanje uzorka koštanog tkiva sa mesta gde je izvršena prezervacija pre implantacije dentalnih implantata



Prema unapred određenom planu za svakog pacijenta ponaosob, nakon uzimanja uzoraka novoformirane kosti, procene njene količine i kvaliteteta , implantirani su dentalni implantati (slika 4.7.2.2.).

Slika 4.7.2.2. *Implantacija dentalnih implantata*



5. RADIOGRAFSKE METODE

U cilju vizualizacije stanja alveolarnog grebena, tokom ispitivanja, koristili smo sledeće radiološke procedure:

- Ortopantomografski metod - OPT
- Kompjuterizovanu tomografiju - CT

Ortopantomografski metod-OPT

Ortopantomografski (OPT) metod je široko primenjivana metoda prikazivanja alveolarnog grebena i pripadajućih struktura (zuba, anatomskih struktura u vilicama). Ovaj metod radiografisanja smo koristili za procenu visine alveolarnog grebena kao i pomoćni metod u postupku utvrđivanja indikacija na osnovu kojih smo odlučivali o ekstakciji zuba. Zbog velike magnifikacije (22-45%), kao i zbog varijacije oblika prikazanih struktura, OPT metod nije pogodan za procenu linearnih veličina postekstrakcionih defekata u alveolarnom grebenu (Sukovic, 2003; Scarfe i dr, 2006).

Kompjuterizovana tomografija –CT

Metod radiografisanja vilica na osnovu čijih radiograma je bilo moguće procenjivati linearne dimenzije defekta u alveolarnoj kosti se obavljao aparatom Accuitomo Morita. Morita CT aparat (3D Accuitomo XYZ Slice View Tomograph) pruža tehnološke mogućnosti za radiografisanje čvrstih tkiva i dobijanje trodimenzionalnih snimaka visoke rezolucije u maksilofacijalnoj regiji. Aparat je konstruisan na Odeljeljenju za radiologiju Nihon Univerziteta Stomatološkog fakulteta u Tokiju, Japan. Radi se o radiografskom metodu koji omogućava prikazivanje odabranih delova alveolarnog grebena u tri projekcije (frontalnoj, sagitalnoj i aksijalnoj). Na ovaj način prikazani detalji su u tomografskom sloju koji je od interesa, lišeni neizbežnih artefakta koji su prisutni kod standardnih tomografskih procedura. Softverska podrška kompjuterskog sistema omogućava dobijanje numeričkih vrednosti defekata u sve tri projekcije (dimenzije). S druge strane, radi se o metodi radiografisanja koja ima kolimirani snop koji time striktno definiše volumen ozračenog tkiva na najmanje moguće dimenzije. Isto tako pomoću preseka u sve tri ravni (XYZ) bilo je omogućeno izmeriti tačnu širinu i visinu rezidualnog alveolarnog grebena u regionu

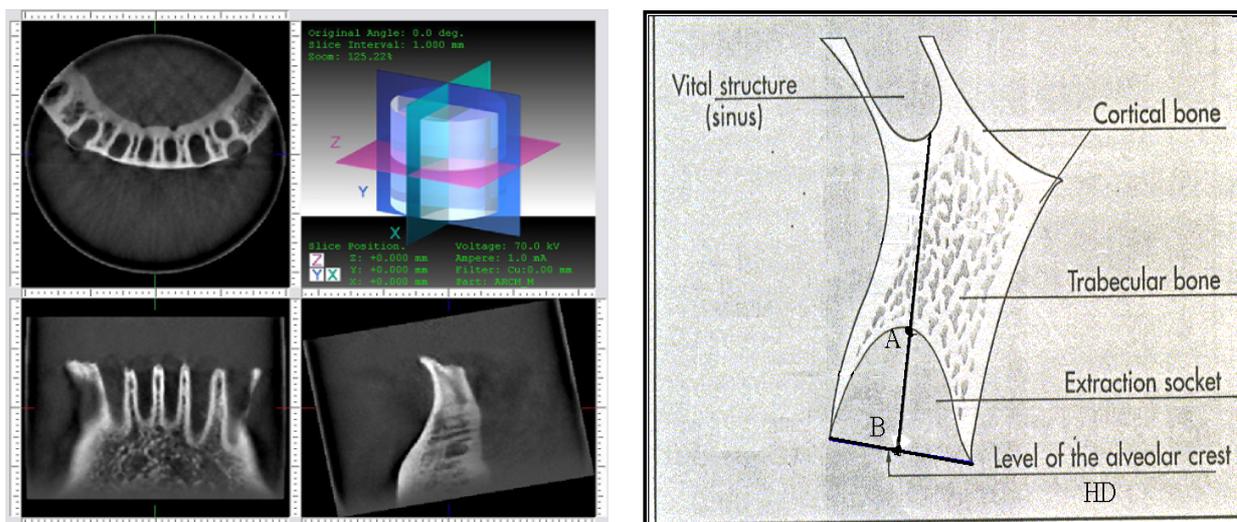
ekstrahovanih zuba i odrediti stepen resorpcije labijalne odnosno lingvalne koštane lamele. Stanje labijalne i lingvalne koštane lamele je dodatno bilo registrovano tokom same hirurške intervencije. Nakon analize ortopantomograma određeni su zubi koji su indikovani za ekstrakciju. Dalja radiografisanja su bila sprovedena gore navedenim metodom. CT radiografisanja su sprovedena u sledećim intervalima:

- neposredno nakon ekstrakcije zuba (u cilju definisanja dimenzija postekstrakcionog defekta kosti),
- mesec dana i četiri meseca posle ekstrakcije radi procene i preciznog definisanja dimenzionih promena alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba.

Radi što lakšeg pozicioniranja i što preciznijeg definisanja regiona od interesa na preliminarnom sken-radiogramu (scout snimak), koristili smo individualno izrađene nagrizne bedeme sa olovnim markerima na mestima gde će biti izvršene ekstrakcije.

Četri meseca nakon hirurškog zahvata, rezultati dobijeni kliničkim merenjima i analizom radiografija dobijenih cross section metodom za eksperimentalne i kontrolne defekte su statistički obrađeni i međusobno upoređeni. Korišćenjem i-Dixel softvera bilo je moguće izmeriti linearne veličine postekstrakcionih defekata kao i promenu vrednosti horizontalne i vertikalne dimenzije rezidualnog alveolarnog grebena u toku opservacionog perioda (slika 5.1.)

Slika 5.1. Izgled ekstrakcionih defekata u frontalnoj, aksijalnoj i transferzalnoj ravni i šematizovan prikaz linearnih merenja (Howell i Cochran, 1997. god.)



6. HISTOLOŠKE METODE

Četiri meseca nakon ekstrakcije zuba i prezervacije alveolarnog grebena, tokom sekundarnog hirurškog zahvata, izvršena je klinička procena kvaliteta koštanog tkiva i verifikacija dimenzionih promena nastalih u postekstrakcionom periodu. Nakon toga pristupilo se uzimanju uzoraka novoformiranog koštanog tkiva u regionima ekstrakcionih rana gde je izvršena prezervacija.

Uzorci novoformiranog koštanog tkiva su uzeti trepanom za kost promera 3x10 mm, po longitudinalnoj osi na mestu ekstrakcionih rana. Zatim su uzorci fiksirani u 10% rastvoru formalina u periodu od 4-7dana. Tako pripremljeni uzorci su dehidrirani pomoću rastvora alkohola i ksilola rastuće koncentracije i uloženi u plastičnu masu metil-metakrilata (MMA, Technovit[®] 7200 VLC, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany) prema metodu Schöfelda i Bössmanna, 1980. Nakon 18 do 24 sata uzorci su bili u potpunosti polimerizovani.

Koristeći Säge-Schliffovu tehniku izvršena je mehanička obrada i priprema histoloških uzoraka za bojenje (Donatah i Breuner, 1982; Donath, 1993).

Celokupna priprema i analiza preparata izvršena je u Beču pod nadzorom prof. Dr Rolfa Ewersa.

Polimerizovani uzorci tkiva koje se ispituje su prvo isečeni u blokove debljine 250-500 µm (Exakt[®], Apparatebau, Norderstedt, Hamburg, Germany). Daljim sečenjem uzoraka dobijeni su tanki preparati debljine nešto veće od 100µm koji su zatim usitnjavani šmirglama različite finoće zrna (500, 800 i 1200) do konačne debljine od 20-30 µm. U ovoj fazi pripreme histoloških uzoraka korišćena je automatska mašina DPU-3[®] PdM Force; Struers Scientific Instruments, Copenhagen).

Dodatno poliranje ovako dobijenih histoloških preparata nije bilo potrebno. Tokom usitnjavanja voda je služila za hlađenje i čišćenje uzoraka od opiljaka nastalih tokom ovih procesa, koji nisu trajali duže od 5 min.

Preparati novoformiranog koštanog tkiva, uzeti iz eksperimentalnih ekstrakcionih rana, su zatim obojeni koristeći tehnike Morgenrotha i Movata te prosleđeni na analizu mikroskopom Leitz[®]DM-RBE (Leica, Wetzlar, Germany) opremljenog sistemom za fotografisanje (Q-500MC[®]; Leica) (Movat, 1961; Morgenrotha i dr, 1970). Koristeći uveličanje do x 100 izvršena je analiza i histološka procena preparata.

7. STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA

Četiri meseca nakon ekstrakcije zuba, rezultati dobijeni kliničkim merenjima i analizom radiografija dobijenih „cross section“ metodom za eksperimentalne i kontrolne alveole su statistički obrađeni. Klinički (EVM; IVM i HM) i radiološki parametri (VD i HD) korišćeni za procenu dimenzionih promena alveolarnog grebena u zoni ispitivanih ekstrakcionih rana su praćeni tokom odgovarajućih vremenskih intervala (klinička merenja - 0.dana i 120. dana, radiografska merenja - 0. dana, 30. dana i 120. dana) i statistički upoređivani. Parametri koji se odnose na dinamiku zarastanja ekstrakcionih rana (HI) kao i uticaja kvaliteta mekih i koštanih tkiva na dinamiku zarastanja, su takođe vremenski praćeni (2,7, 14, 21, 30. i 120.dana) i statistički upoređivani.

Navedeni parametri su prvo poređeni među grupama ispitivanih alveola kod prve i druge grupe ispitanika, a zatim su rezultati dobijeni primenom različitih terapijskih modaliteta poređeni i među grupama ispitanika.

U analizi dobijenih numeričkih rezultata korišćene su mere centralne tendencije (srednja vrednost, medijana), mere varijabiliteta (standardna devijacija (SD), minimalna i maksimalna vrednost i 95% interval poverenja). Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

U zavisnosti od prirode podataka koristili smo parametrijske i neparametrijske statističke testove. Priroda podataka je, pre svega, bila testirana primenom Kolmogorov-Smirnovog testa. U slučajevima kada su se numerička obeležja posmatranja ponašala po tipu normalne raspodele, za praćenje promene vrednosti tog obeležja između posmatranih grupa tokom posmatranog perioda praćenja, koristili smo dvofaktorsku analizu varijanse sa ponovljenim merenjima i jednofaktorsku analizu varijanse (ANOVA) za poređenje vrednosti između grupa kada imamo jedno vreme posmatranja.

Neparametrijski testovi su bili korišćeni za poređenje atributivnih obeležja posmatranja predstavljenih u vidu distribucije frekvencija (n[%]). Kada smo poredili atributivna obeležja posmatranja između analiziranih grupa, koristili smo (χ^2 test ili Fischerov test).

Kod numeričkih obeležja posmatranja koji su se ponašali po tipu raspodele različitom od normalne (neparametrijski podaci) koristili smo Fridmanov test (za poređenje vrednosti vremena posmatranja u jednoj grupi ispitanika između posmatranih vremena merenja) i

Kruskal Wallisov test za poređenje parametara između posmatranih grupa u jednom od vremena opservacije.

Pearsonovu korelaciju smo koristili da pokažemo postoji li i u kom stepenu povezanost između kliničkih (IVM i HM) i radiografskih merenja (VD i HD), u posmatranim vremenima merenja (0.dan, 120. dan). Da bi se pokazala statistička značajnost dobijenih rezultata koristili smo odgovarajući stepen značajnosti, $p \leq 0.05$.

Svi podaci su statistički obrađeni pomoću statističkog paketa **SPSS 11.5**.

Klinički slučaj 1



Zubi u regionu 45 i 47 indikovani za ekstrakciju



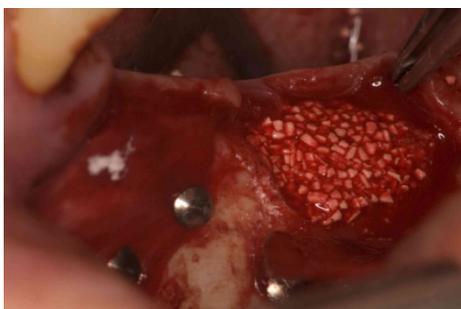
Nakon ekstrakcije izvršena su merenja: EVM, IVM, HD



Prva eksperimentalna alveola ispunjena preparatom na bazi rhBMP-2/ACS



Druga eksperimentalna alveola ispunjena preparatom na bazi rhBMP-2/ACS i trikalcijum fosfatom



Prva eksperimentalna alveola prekrivena resorptivnom kolagenom membranom



Druga eksperimentalna alveola prekrivena resorptivnom kolagenom



Postavljeni hirurški šavovi



Druga hirurška intervencija

Zarastanje ekstrakcione rane u regionu 45, 47



14 dana nakon ekstrakcije i prezervacije alveola



21 dan nakon ekstrakcije i prezervacije alveola



30 dana nakon ekstrakcije i prezervacije alveola



120 dana nakon ekstrakcije i prezervacije alveola

Klinički slučaj 2



Zub indikovovan za ekstrakciju in regio 15



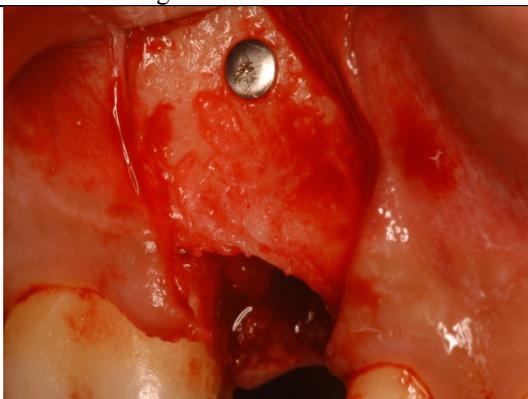
Odignut mukoperiostalni režanj



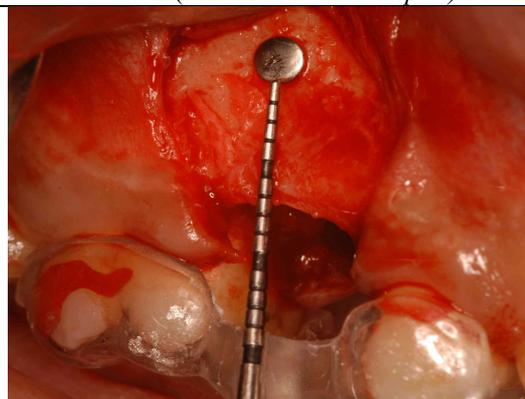
Izgled ekstrakcione rane



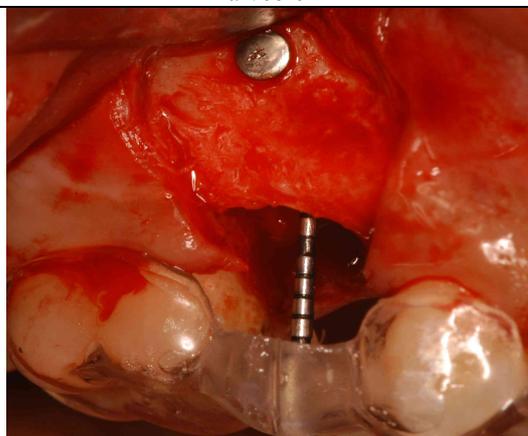
Ti kočiči (3mm *Slavin® Dent. Spec.*)



Ti kočič postavljen na bukalnu lamelu što bliže dnu alveole



Merenje spoljašnje vertikalne dimenzije (EVM) dan 0



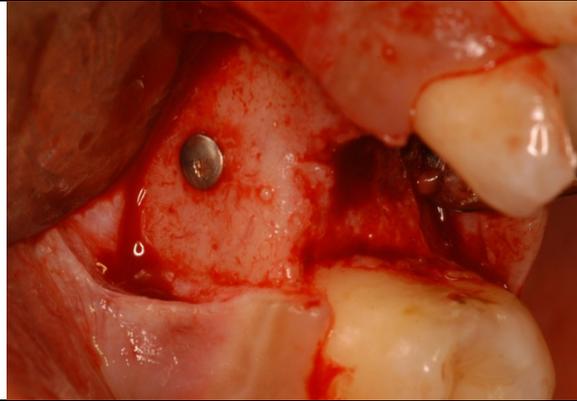
Merenje dubine alveole (IVM) dan 0



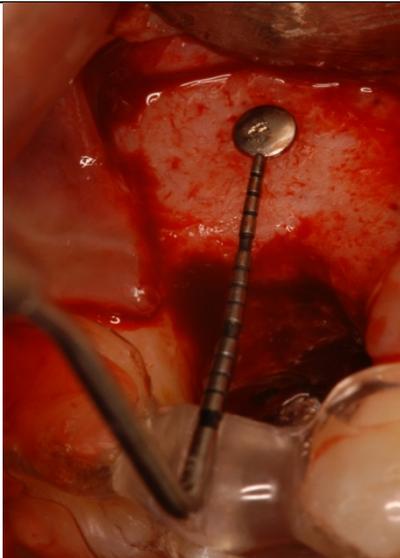
Merenje širine alveole (HM) dan 0



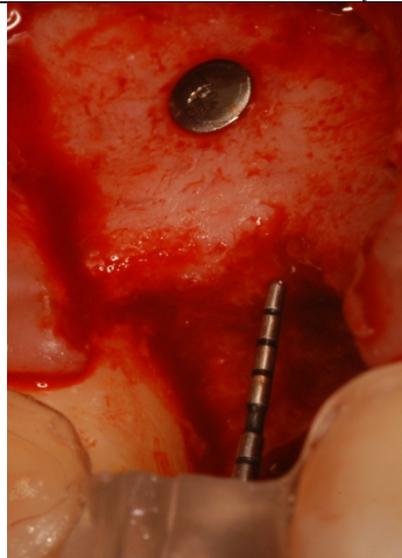
Izgled mekih tkiva ekstrakcione rane 120. dana



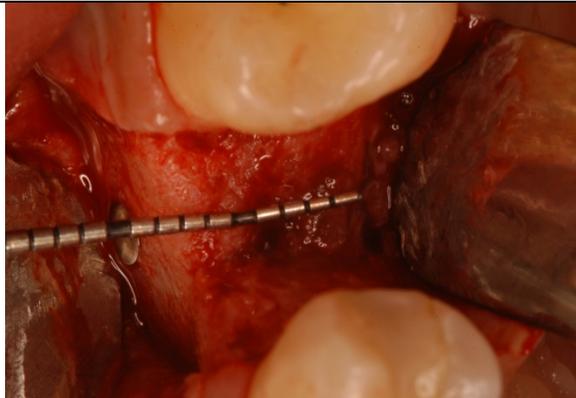
Sekundarna hirurška intervencija



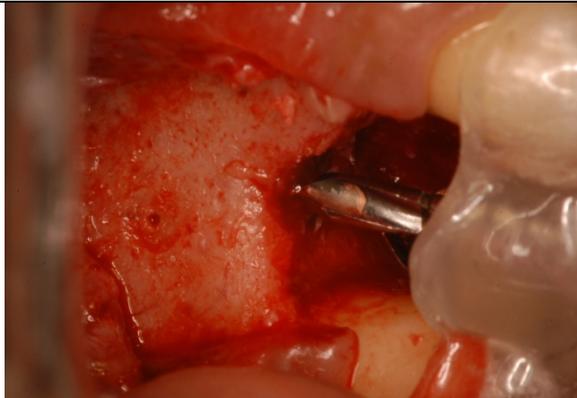
Merenje spoljašnje vertikalne dimenzije (EVM)
dan 120



Merenje dubine alveole (IVM)
dan 120

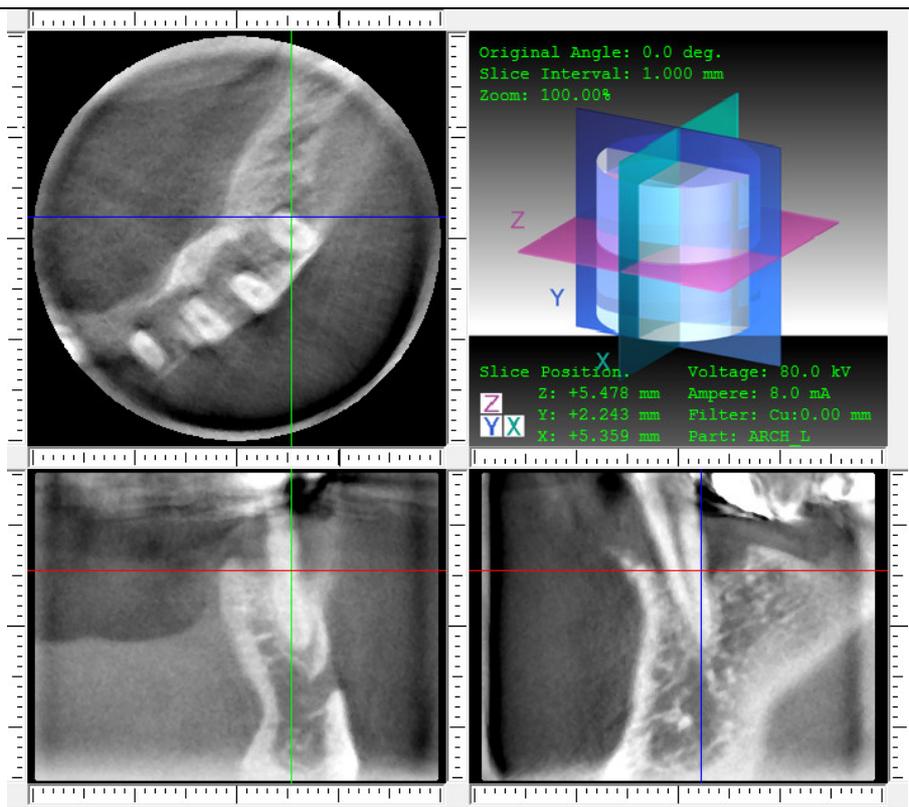


Merenje širine alveole (HM) dan 120

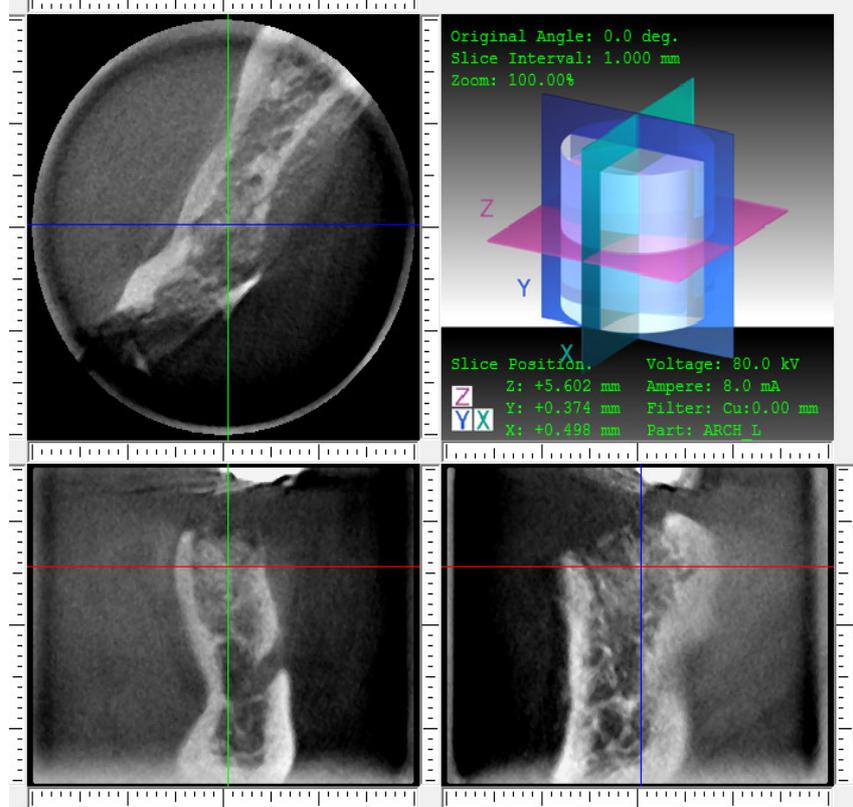


Uklonjen Ti kočić, određivanje mesta za biopsiju i
implantaciju dentalnog implantata

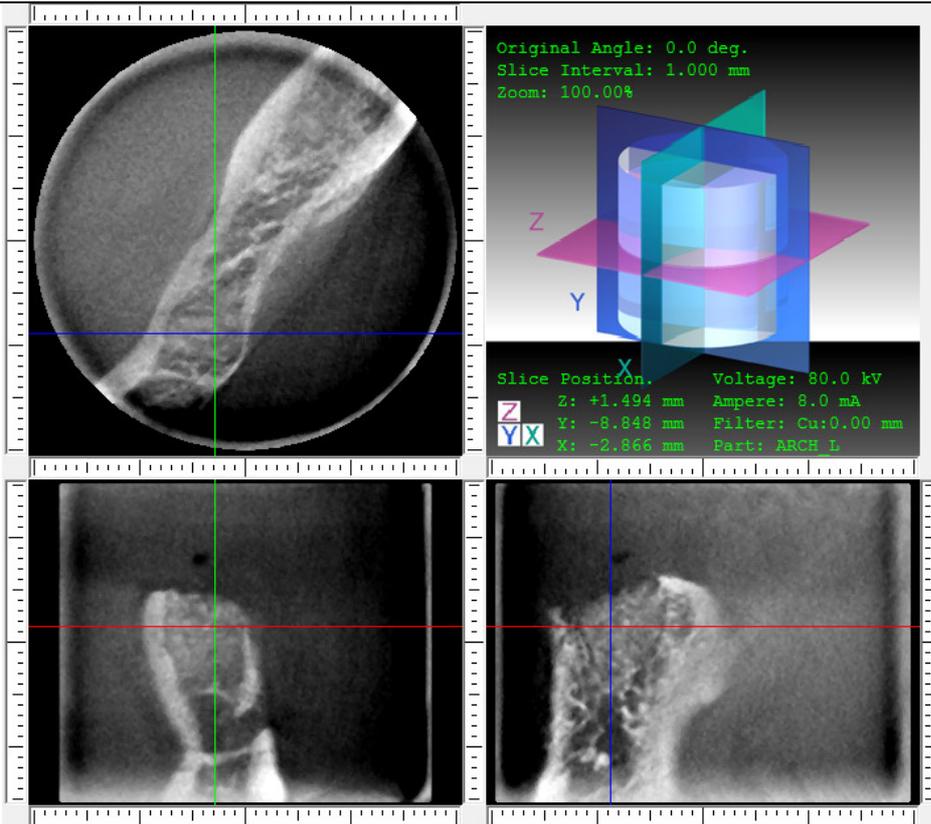
Radiogrami ekstrakcionih rana



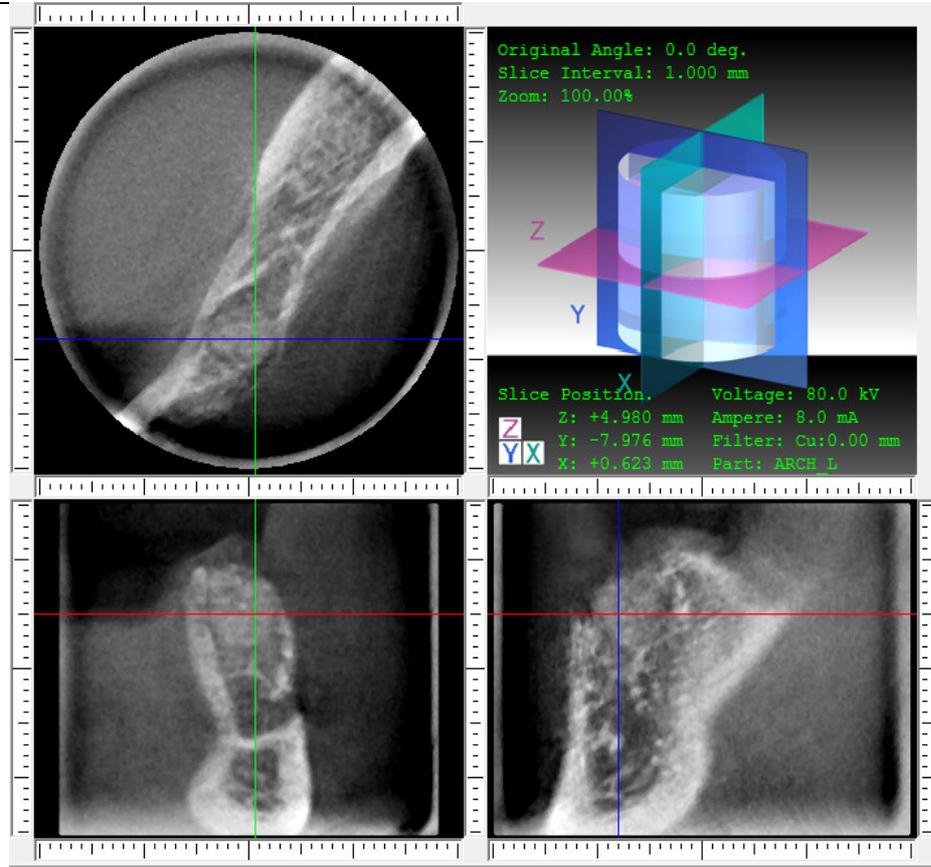
Radiografski izgled zuba, okolne kosti i anatomskih struktura in regio 35 pre ekstrakcije



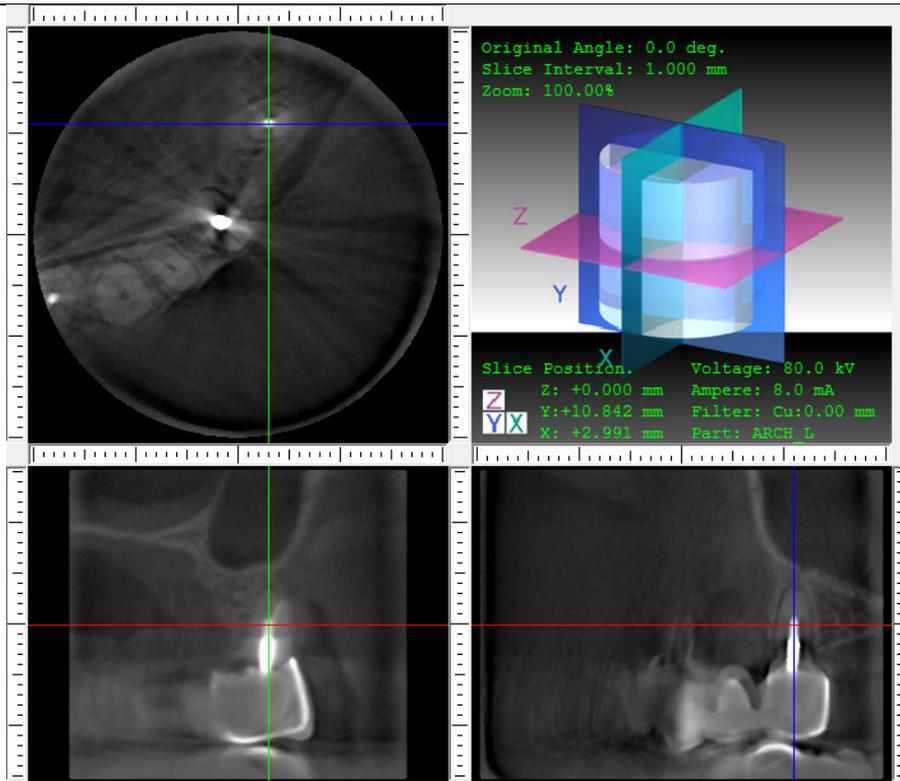
Radiografski izgled ekstrakcione rane prezervirane rhBMP-2/ACS+TCP (Dan 0)



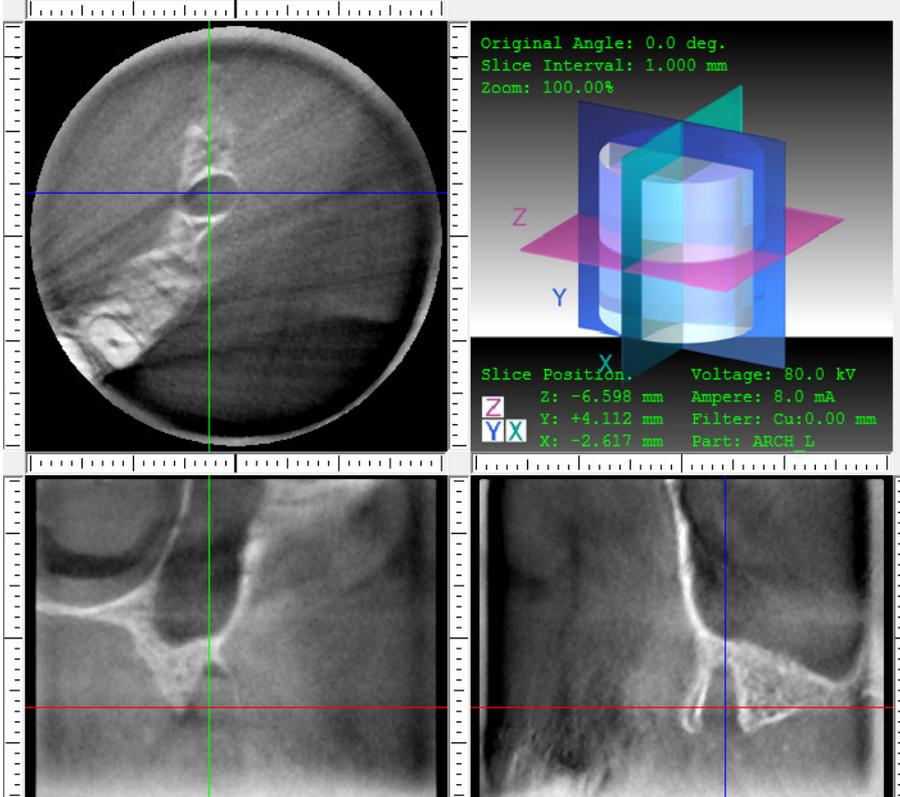
Radiografski izgled ekstrakcione rane prezervirane rhBMP-2/ACS+TCP (Dan 30)



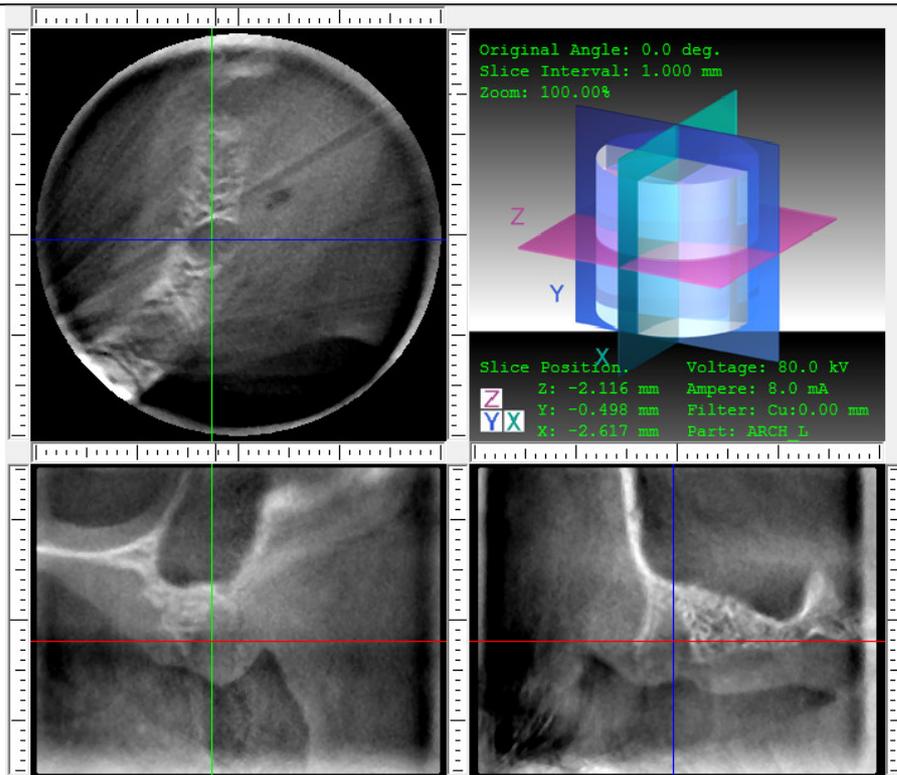
Radiografski izgled ekstrakcione rane prezervirane rhBMP-2/ACS+TCP (Dan 120)



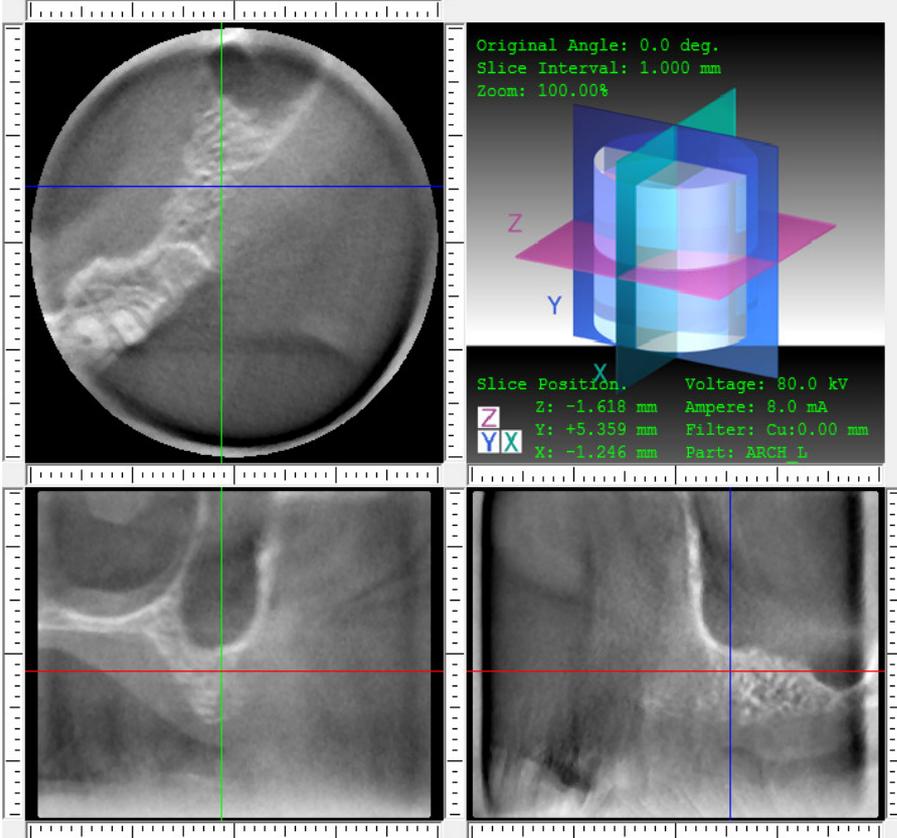
Radiografski izgled zuba, okolne kosti i anatomskih struktura in regio 24 pre ekstrakcije



Radiografski izgled ekstrakcione rane prezervirane rhBMP-2/ACS (Dan 0)



Radiografski izgled ekstrakcione rane prezervirane rhBMP-2/ACS (Dan 30)



Radiografski izgled ekstrakcione rane prezervirane rhBMP-2/ACS (Dan 120)

8. REZULTATI

8.1. REZULTATI KLINIČKIH ISPITIVANJA

U ovo kliničko ispitivanje je bilo uključeno 26 ispitanika (12 muškaraca i 14 žena), prosečne starosti 46,23 godine (grafikon 8.1.). Ekstrahovano je ukupno 78 zuba; od toga 15 gornjih premolara, 14 gornjih molara, 22 donja premolara i 27 donjih molara (grafikon 8.2.). Trideset i dva zuba je bilo ekstrahovano usled razaranja parodontalnih tkiva, 24 usled obimnih karijesnih lezija. U slučaju 12 zuba je neuspeh endodontskog lečenja i evidentna periapikalna infekcija bio indikacija za ekstrakciju, dok je trauma i uzdužna fraktura krunice ili korena dovela do ekstrakcije 6 zuba, svega 4 zuba je ekstrahovano zbog izražene inklinacije, protetske indikacije ili recesije gingive lokalizovane palatinalno (grafikon 8.3.). Maksimalno je ispoštovan kriterijum da stepen razaranja koštanog tkiva oko zuba indikovanih za ekstrakciju bude približno isti.

Ispitanici su nasumice bili podeljeni u dve eksperimentalne grupe od po 13 ispitanika. Kod svakog ispitanika je nakon ekstrakcije indikovanih zuba bilo po tri alveole od kojih su dve bile eksperimentalne, a jedna kontrolna. Kod prve grupe ispitanika je, nakon ekstrakcije zuba, *prva eksperimentalna alveola* u potpunosti bila ispunjena 1.5mg/ml rhBMP-2/ACS. *Druga eksperimentalna alveola* je bila ispunjena preparatom na bazi kalcijum fosfata i 1.5mg/ml rhBMP-2/ACS. Dok je *treća kontrolna alveola* ostala prazna. Kod druge grupe ispitanika je *prva eksperimentalna alveola* u potpunosti bila ispunjena 1.5mg/ml rhBMP-2/ACS i prekrivena kolagenom dvoslojnom resorptivnom membranom. *Druga eksperimentalna alveola* je bila ispunjena preparatom na bazi kalcijum fosfata i 1.5mg/ml rhBMP-2/ACS i prekrivena kolagenom dvoslojnom resorptivnom membranom. I kod ove grupe pacijenata je *treća (kontrolna) alveola* ostala prazna.

Rezultati kliničkih merenja upoređivani su unutar svake od ispitivanih grupa, gde su rezultati eksperimentalnih alveola upoređivani sa kontrolnom kao i međusobno, a zatim su primenjeni terapijski modaliteti (bez membrane i sa membranom) upoređivani i među grupama. Zbog nemogućnosti preciznog aplikovanja titanijumskog kočića u istoj poziciji u odnosu na ivicu alveolarne kosti kod svih tretiranih alveola, prilikom komparacije rezultata su korišćene prosečne promene vrednosti.

Pre ekstrakcije zuba izvršena je klasifikacija alveola prema kvalitativnim i kvantitativnim pokazateljima stanja mekih tkiva, oko zuba za ekstrakciju, prema klasifikaciji Juodzbalyša, Sukaviciusa i Wanga iz 2008. godine (grafikon 8.1.1.1. i 8.1.1.2.)

Sedamdeset i osam alveola je klasifikovano na osnovu originalne klasifikacije koju je 1997. godine prezentovao Leković sa saradnicima, tako da je najveći broj alveola u obe ispitivane grupe pripadao IIa, IIb i IIIa klasi što je prikazano u grafikonu 8.1.1.3.

Parametri koji su korišćeni radi verifikacije rezultata kliničkih merenja alveolarnih čašica su:

- udaljenost titanijumskog kočića do vestibularne ivice očuvane kosti alveole (EVM)
- udaljenost vestibularne koštane ivice do dna alveole – dubina (IVM)
- udaljenost vestibularne koštane ivice alveole do oralne ivice (HM).

Pre i posle ekstrakcije zuba registrovane su vrednosti pokazatelja nivoa oralne higijene kao i stanja parodontijum koje su izražene frekvencijom pojavljivanja pojedinih obeležja. Dinamika zarastanja ekstrakcionih rana je posmatrana u pojedinim intervalima u periodu od 120 dana.

8.1.1. Rezultati poređenja karakteristika mekih tkiva između prve i druge grupe ispitanika pre ekstrakcije zuba

Karakteristike mekih tkiva oko zuba indikovanih za ekstrakciju u ovom ispitivanju, su registrovane pomoću parametara klasifikacije Juodzbalzsa i sar. 2008. sa tom modifikacijom da je većina parametara registrovana neposredno pre, a ne posle ekstrakcije zuba kako se navodi u originalnoj klasifikaciji. Tabela 8.1.1.1. prikazuje mere deskripcije rezultata dobijenih nakon registrovanja konture mekih tkiva, nedostatka njegove visine kao i širine keratinizovane gingive u predelu zuba indikovanih za ekstrakciju kod obe grupe ispitanika.

Upoređujući rezultate ispitivanja karakteristika mekih tkiva između dve ispitivane grupe, vidi se da nije bilo značajne razlike ($p>0.05$). Promena konture mekih tkiva u predelu zuba indikovanih za ekstrakciju kod većine ispitanika prve (46%) i druge grupe (54%) nije bila izražena, samo kod (13%) ispitanika obe grupe je bila $<2\text{mm}$, dok je kod (41%) ispitanika prve i (33%) ispitanika druge grupe iznosila $\geq 2\text{mm}$. Visina mekih tkiva je kod većine zuba indikovanih za ekstrakciju bila u potpunosti očuvana i to kod obe grupe ispitanika. U manjem procentu (46%) kod prve, odnosno (38%) kod druge grupe ispitanika, je gubitak visine mekih tkiva iznosio 1-2mm. Širina keratinizovane gingive je kod većine zuba indikovanih za ekstrakciju kod obe grupe ispitanika u proseku bila veća od 3mm (grafikon 8.1.1.1.).

U tabeli 8.1.1.3. prikazana je distribucija frekvencija atributivnih obeležja koja se odnose na stanje mezijalne i distalne papile zuba indikovanih za ekstrakciju, zatim na kvalitet i biotip mekog tkiva u pomenutim regionima kod obe grupe ispitanika. Poređenjem ovih atributivnih obeležja posmatranja se uočava da nije postojala statistički značajna razlika između analiziranih grupa ispitanika ($p>0.05$). Kod većine zuba indikovanih za ekstrakciju, kod obe grupe ispitanika, očuvanost mezijalne i distalne papile je klasifikovana kao I i II klasa prema klasifikaciji Nordlanda i Tarnova iz 1998. (grafikon 8.1.1.2). Kada je u pitanju kvalitet mekog tkiva u regionima zuba indikovanih za ekstrakciju, kod obe grupe ispitanika se može konstatovati da je većinom bio klasifikovan kao deficijentan ili kompromitovan, a samo u (28%) slučajeva kod prve odnosno (21%) slučajeva kod druge grupe ispitanika, kao adekvatan, što je prikazano u grafikonu 8.1.1.2. Biotip mekog tkiva u predelu zuba indikovanih za ekstrakciju je delom opserviran pre samih ekstrakcija, a delom nakon odizanja mukoperiostalnog režnja radi preciznije verifikacije njegove debljine. Kao krajnji ishod ispitivanja registrovano je da je kod većine ispitivanih alveola kod prve grupe ispitanika

(51%) bilo prisutno meko tkivo gingive debljine $\geq 2\text{mm}$, što je klasifikovano kao „debeo biotip” dok je kod druge grupe ovakav biotip bio zastupljen samo kod (28%) ispitivanih ekstrakcionih rana. Što se tiče ostalih ekstrakcionih rana kod prve grupe ispitanika jasno se uočava da je kod (23%), odnosno (26%) ispitivanih alveola biotip bio “umeren”, tj. debljine od 1mm do 2 mm, odnosno “tanak”, tj. debljine manje od 1mm. Kod druge grupe ispitanika je “umeren” biotip bio detekovan kod (39%), a “tanak” kod (33%) ispitivanih ekstrakcionih rana, što je jasno prikazano u grafikonu 8.1.1.2.

Kada se se kategorizuju i sumiraju svi pomenuti parametri klasifikacije Juodzbalzsa i sar. 2008. dobija se konačna klasifikacija mekih tkiva u predelu ekstrakcionih rana uključenih u ispitivanje. Dakle prema grafikonu 8.1.1.3. se može reći da je meko tkivo kod obe grupe ispitanika bilo klasifikovano u sve tri klase, s tim što su II i III klasa bile više zastupljene od I, ali ipak nije postojala statistički značajna razlika u klasifikaciji mekog tkiva između dve ispitivane grupe ($p > 0.05$).

8.1.2. Rezultati poređenja klasifikacije alveola nakon ekstrakcije zuba kod obe grupe ispitanika

Nakon odizanja mukoperiostalnog režnja pune debljine i pažljive ekstrakcije indikovanih zuba izvršena je klasifikacija alveola prema klasifikaciji Lekovića i sar. iz 1997. godine i poređenje između dve ispitivane grupe. Kao što se vidi u tabeli 8.1.2.1. i grafikonu 8.1.2.1. kod obe grupe ispitanika su većinom bile zastupljene alveole IIa, IIb i IIIa klase, što je pomenuto ranije. Poređenjem učestalosti pojedinih klasa između dve grupe ispitanika se uočava da ni ovde nije postojala statistički značajna razlika ($p > 0.05$).

Dodajući ovom i poređenja parametara vezanih za kvalitet mekih tkiva može se reći da su ispitivane ekstrakcione rane po pitanju kvaliteta mekih tkiva i alveolarnih čašica kod obe grupe ispitanika bile homogene, što je bio preduslov za adekvatnu i preciznu statističku obradu podataka dobijenih kliničkim i radiografskim merenjima nakon primene različitih terapijskih modaliteta, njihove međusobne komparacije i komparacije sa kontrolama.

8.1.3. Rezultati kliničkih merenja u okviru prve grupe ispitanika

8.1.3.1. Spoljašnja vertikalna dimenzija (EVM)

Rezultati prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS)

Spoljašnja vertikalna dimenzija (EVM) alveolarne kosti u zoni ekstrahovanog zuba ili visina grebena, predstavlja merenu udaljenost od ivice alveole do titanijumskog kočića aplikovanog na vestibularnoj koštanoj lameli alveolarne kosti. U okviru primarne hirurške procedure nakon ekstrakcije zuba, a pre aplikacije preparata na bazi rhBMP-2/ACS, izmeren su sva tri parametra. Prosečna vrednost spoljašnje vertikalne dimenzije, kod prve grupe eksperimentalnih alveola, iznosila je 8.23 ± 2.20 mm (tabela 8.1.3.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca u okviru druge (sekundarne) hirurške procedure zabeležena je prosečna vrednost spoljašnje vertikalne dimenzije od 6.54 ± 1.66 mm (tabela 8.1.3.1.).

Upoređujući početne vrednosti spoljašnje vertikalne dimenzije sa rezultatima dobijenim nakon 4 meseca za prvu eksperimentalnu grupu alveola, potvrđeno je postojanje statistički značajnog gubitka u vertikalnoj dimenziji grebena ($p=0.000$) (tabela 8.1.3.2.). Nominalno ova grupa eksperimentalnih alveola prosečno je gubila 1.69 ± 0.75 mm u spoljašnjoj vertikalnoj dimenziji alveolarnog grebena (tabela 8.1.3.2.).

Rezultati druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP)

Kod druge grupe ispitivanih alveola nakon ekstrakcije zuba, a pre aplikacije preparata na bazi rhBMP-2/ACS i preparata na bazi kalcijum fosfata, takođe su izmerena sva tri parametra. Prosečna vrednost spoljašnjih vertikalnih merenja (EVM), kod druge grupe eksperimentalnih alveola, iznosila je 9.08 ± 2.72 mm (tabela 8.1.3.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca u okviru druge (sekundarne) hirurške procedure zabeležena je prosečna vrednost spoljašnje vertikalne dimenzije od 7.92 ± 2.32 mm (tabela 8.1.3.1.).

Upoređujući početne vrednosti spoljašnje vertikalne dimenzije sa rezultatima dobijenim nakon 4 meseca za drugu eksperimentalnu grupu alveola, potvrđeno je postojanje statistički značajnog gubitka u vertikalnoj dimenziji grebena ($p=0.000$) (tabela 8.1.3.2.). Nominalno ova grupa eksperimentalnih alveola prosečno je gubila $1.16\pm 0.55\text{mm}$ u spoljašnjoj vertikalnoj dimenziji alveolarnog grebena (tabela 8.1.3.2.).

Rezultati kontrolne grupe1

U okviru kontrolne grupe alveola, u toku primarne hirurške procedure, nakon ekstrakcije zuba zabeležena je prosečna vrednost EVM od $8.92\pm 2.02\text{ mm}$ (tabela 8.1.3.1.). Nakon perioda od 4 meseca, spoljašnja vertikalna dimenzija alveolarnog grebena je iznosila $6.23\pm 1.48\text{mm}$ (tabela 8.1.3.1.).

Upoređivanjem dobijenih prosečnih vrednosti EVM kontrolne grupe u okviru primarne i sekundarne hirurške procedure potvrđeno je statistički značajno smanjenje spoljašnje vertikalne dimenzije alveolarnog grebena nakon opservacionog perioda ($p=0.000$) (tabela 8.1.3.2.). Kontrolne alveole su nakon 4 meseca nakon ekstrakcije zuba prosečno gubile $2.69\pm 1.31\text{mm}$ koštanog tkiva alveolarnog grebena (tabela 8.1.3.2.).

Komparacija rezultata EVM dobijenih unutar eksperimentalnih (rhBMP-2/ACS; rhBMP-2/ACS+TCP) i kontrolne grupe1 alveola

Komparirajući i statistički evaluirajući prosečne promene vrednosti EVM dobijene u okviru obe eksperimentalne grupe i kontrolne grupe alveola nakon četiri meseca dobili smo statistički značajan gubitak vertikalne dimenzije grebena u zoni ekstrahovanih zuba, kako u prvoj eksperimentalnoj grupi rhBMP-2/ACS $1.69\pm 0.75\text{mm}$ i drugoj eksperimentalnoj grupi rhBMP-2/ACS+TCP $1.16\pm 0.55\text{mm}$, tako i u kontrolnoj grupi alveola $2.69\pm 1.31\text{mm}$, samo što je u kontrolnoj grupi alveola ovaj gubitak bio daleko značajniji tokom vremena posmatranja u poređenju sa prvom grupom ($p=0.026$), odnosno drugom grupom eksperimentalnih alveola ($p=0.001$) (tabela 8.1.3.2. i 8.1.3.3.).

Upoređujući dinamiku gubitka EVM između dve eksperimentalne grupe alveola, u tabeli 1.8.3.5, se vidi da je ona bila značajnija u prvoj eksperimentalnoj grupi (rhBMP-2/ACS) ($p=0.048$).

Poređenjem prosečnog gubitka EVM između ove dve posmatrane grupe nije dobijena statistički značajna razlika ($p=0.101$) što je prikazano u tabela 8.1.3.3. Značajna razlika prosečnih vrednosti EVM 0. kao i 120. dana ispitivanja među eksperimentalnim grupama alveola nije postojala (tabela 8.1.3.4.).

Prosečne promene EVM kod sve tri ispitivane grupe prikazane su u grafikonu 8.1.3.1.

8.1.3.2. Unutrašnja vertikalna dimenzija (IVM)

Rezultati prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS)

Unutrašnja vertikalna dimenzija ili dubina alveole (IVM) predstavlja merenu vrednost rastojanja dna alveole od alveolarnog limbusa.

U okviru primarne hirurške procedure, pre aplikovanja preparata na bazi rhBMP-2/ACS u prvu grupu eksperimentalnih alveola, izvršena su unutrašnja vertikalna merenja alveolarnih čašica. Zabeležena prosečna vrednost dubine alveola (IVM) iznosila je 10.00 ± 2.71 mm (tabela 8.1.3.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca u okviru druge hirurške procedure, zabeležena je prosečna vrednost dubine prve grupe eksperimentalnih alveola od 3.38 ± 1.75 mm (tabela 8.1.3.1.).

Komparirajući prosečne promene vrednosti unutrašnje vertikalne dimenzije eksperimentalnih alveola u okviru primarne hirurške procedure, i rezultata IVM nakon opservacionog perioda od 4 meseca, zabeleženo je statistički značajno smanjenje dubine alveola ($p=0.000$) kao posledica formiranja novog koštanog tkiva u alveolarnim čašicama (tabela 8.1.3.2.). Osteoneogenezom formirana novo koštano tkivo unutar tretiranih eksperimentalnih alveola preparatom na bazi rhBMP-2/ACS je prosečno redukovala dubinu alveola za 6.62 ± 1.50 mm (tabela 8.1.3.2.).

Rezultati druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP)

Kod druge grupe ispitivanih alveola nakon ekstrakcije zuba, a pre aplikacije preparata na bazi rhBMP-2/ACS i preparata na bazi kalcijum fosfata, prosečna vrednost IVM je iznosila 10.38 ± 2.75 mm (tabela 8.1.3.1.).

Nakon perioda posmatranja, u okviru sekundarne hirurške procedure, a pre uzimanja uzoraka novoformirane kosti i implantacije dentalnih implantata, ponovo su izvršena unutrašnja vertikalna merenja i registrovana dubina druge grupe eksperimentalnih alveola koja je u proseku iznosila 1.77 ± 0.72 mm (tabela 8.1.3.1.).

Upoređujući prosečne promene vrednosti dubine druge grupe eksperimentalnih alveola u okviru primarne hirurške procedure i rezultate IVM nakon perioda praćenja od 4 meseca, zabeleženo je statistički značajno smanjenje dubine alveola ($p=0.000$) (tabela 8.1.3.2.).

Novoformirano koštano tkivo je u ovoj grupi eksperimentalnih alveola smanjilo dubinu u proseku za 8.61 ± 2.14 mm (tabela 8.1.3.2.).

Rezultati kontrolne grupe1

U kontrolnoj grupi alveola koje nisu tretirane aktivnim regenerativnim konceptom, za vreme primarne hirurške procedure zabeležena je prosečna vrednost IVM od 10.31 ± 2.09 mm (tabela 8.1.3.1.).

Nakon observacionog perioda od 4 meseca rezultati unutrašnjih vertikalnih merenja kontrolnih alveola u proseku su iznosili 5.31 ± 1.44 mm (tabela 8.1.3.1.).

Upoređujući rezultate IVM izmerene u toku primarne i sekundarne hirurške procedure zabeležena je statistički značajna redukcija dubine kontrolnih alveola ($p=0.000$) (tabela 8.1.3.2.). Prosečna redukcija dubine kontrolnih alveola nakon opservacionog perioda od 4 meseca je iznosila 5.00 ± 1.22 mm (tabela 8.1.3.2.).

Komparacija rezultata IVM dobijenih unutar eksperimentalnih (rhBMP-2/ACS; rhBMP-2/ACS+TCP) i kontrolne grupe1 alveola

Upoređujući prosečne promene vrednosti koje označavaju ispunjenost alveola kod obe eksperimentalne (rhBMP-2/ACS; rhBMP-2/ACS+TCP) i kontrolne grupe, četiri meseca

nakon ekstrakcije zuba, primećeno je da je popunjenost alveola novoformiranim koštanim tkivom prve esperimentalne grupe ($6.62 \pm 1.50 \text{ mm}$) i druge eksperimentalne grupe ($8.61 \pm 2.14 \text{ mm}$) bila statistički značajnija ($p=0.006$; $p=0.000$) u odnosu na vrednosti kontrolne grupe ($5.00 \pm 1.22 \text{ mm}$) (tabela 8.1.3.2. i 8.1.3.3.).

Upoređujući prosečnu promenu i dinamiku promene IVM između dve eksperimentalne grupe alveola se vidi da je ona bila značajnija u drugoj eksperimentalnoj grupi alveola (rhBMP-2/ACS+TCP) ($p=0.011$), što znači da je ova grupa alveola bila u najvećoj meri ispunjena novoformiranim koštanim tkivom u okviru prve grupe ispitanika (Tabela 8.1.3.3. i 8.1.3.5.).

Razlika prosečnih vrednosti IVM 0. dana među ispitivanim grupama nije bila statistički značajna, međutim 120. dana ispitivanja je postojala statistički značajna razlika prosečnih vrednosti ovog parametra (tabela 8.1.3.4.).

Prosečne promene IVM kod sve tri ispitivane grupe prikazane su u grafikonu 8.1.3.2.

8.1.3.3. Horizontalna dimenzija (HM) alveolarnog grebena

Rezultati prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS)

Horizontalna merenja alveolarne kosti ili merenje širine grebena u zoni ekstrahovanog zuba predstavlja merenu vrednost udaljenosti vestibularnog od oralnog limbusa alveole.

Unutar primarne hirurške procedure nakon ekstrakcije zuba, kod eksperimentalnih alveola zabeležena je prosečna vrednost širine grebena od $8.85 \pm 1.72 \text{ mm}$ (tabela 8.1.3.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca, u toku sekundarne hirurške procedure, izvedeno je merenje širine rezidualnog grebena u cilju verifikacije rezultata. Kod ove grupe alveola zabeležena je prosečna vrednost širine grebena od $6.77 \pm 1.54 \text{ mm}$ (tabela 8.1.3.1.).

Komparacijom rezultata horizontalne dimenzije grebena prve grupe eksperimentalnih alveola dobijenih u okviru primarne i sekundarne hirurške procedure, zabeležena je statistički značajna redukcija širine rezidualnog alveolarnog grebena ($p=0.000$) (tabela 8.1.3.2.). U okviru ove grupe eksperimentalnih alveola prosečna redukcija širine grebena je iznosila $2.08 \pm 0.64 \text{ mm}$ (tabela 1.8.3.2.).

Rezultati druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP)

Kod ove grupe eksperimentalnih alveola, gde je uz preparat na bazi koštanog morfogenetskog proteina dodat i preparat na bazi kalcijum fosfata (punioc), zabeležena je prosečna vrednost širine grebena od 8.23 ± 1.59 mm (tabela 8.1.3.1.) .

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca, u toku sekundarne hirurške procedure, izvedeno je merenje širine rezidualnog grebena u cilju verifikacije postignutih terapijskih rezultata. Kod ove grupe alveola zabeležena je prosečna vrednost širine grebena od 6.92 ± 1.32 mm (tabela 8.1.3.1.).

Komparacijom rezultata horizontalne dimenzije grebena druge grupe eksperimentalnih alveola dobijenih u okviru primarne i sekundarne hirurške procedure, zabeležena je, takođe, statistički značajna redukcija širine rezidualnog alveolarnog grebena ($p=0.000$) (tabela 8.1.3.2.). U okviru ove grupe eksperimentalnih alveola prosečna redukcija širine grebena je iznosila 1.31 ± 0.48 mm (tabela 1.8.3.2.).

Rezultati kontrolne grupe1

Prosečna vrednost horizontalne dimenzije alveolarnog grebena u zoni kontrolnih alveola nakon ekstrakcije zuba je iznosila 9.00 ± 1.68 mm (tabela 8.1.3.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca u okviru sekundarne hirurške procedure, prosečna širina regiona rezidualnog alveolarnog grebena je iznosila 5.23 ± 1.66 mm (tabela 8.1.3.1.).

Komparacijom vrednosti širine grebena kontrolne grupe, dobijenih merenjem u primarnoj i sekundarnoj hirurškoj proceduri, zapažena je statistički značajna redukcija širine alveolarnog grebena nakon opservacionog perioda od 4 meseca ($p=0.000$) (tabela 8.1.3.2.). grupi kontrolnih alveola prosečan gubitak horizontalne dimenzije grebena u periodu od 4 meseca je iznosio 3.77 ± 0.72 mm (tabela 8.1.3.2.).

Komparacija rezultata HM dobijenih u okviru eksperimentalnih (rhBMP-2/ACS; rhBMP-2/ACS+TCP) i kontrolne grupe1 alveola

Posebna važnost u analizi rezultata se pridaje komparaciji prosečnih promena vrednosti horizontalne dimenzije grebena eksperimentalnih i kontrolne grupe. Ova analiza

najverodostojnije izražava efikasnost primenjenog regenerativnog koncepta. Komparacijom prosečnih promena vrednosti dobijenih u prvoj ($2.08 \pm 0.64 \text{mm}$), drugoj eksperimentalnoj ($1.31 \pm 0.48 \text{mm}$) i kontrolnoj ($3.77 \pm 0.72 \text{mm}$) grupi nakon opservacionog perioda od 4 meseca se zapaža statistički značajniji gubitak koštanog tkiva, i sa tim i širine alveolarnog grebena, u regiji kontrolne grupe alveola u odnosu na obe grupe eksperimentalnih ($p=0.000$; $p=0.000$), (tabela 8.1.3.2. i 8.1.3.3.).

Upoređujući dinamiku gubitka širine grebena između dve eksperimentalne grupe alveola se vidi da je ona bila značajnija u prvoj eksperimentalnoj grupi (rhBMP-2/ACS) ($p=0.002$) u odnosu na dugu eksperimentalnu grupu alveola, kao i da je prosečan gubitak širine bio značajniji u prvoj eksperimentalnoj grupi ($p=0.007$) što je prikazano u tabelama 8.1.3.3.i 8.1.3.5. Razlika prosečnih vrednosti širine grebena 0. dana među ispitivanim grupama nije bila statistički značajna, međutim 120. dana ispitivanja je postojala statistički značajna razlika prosečnih vrednosti ovog parametra tokom poređenja eksperimentalnih sa kontrolnom grupom alveola (tabela 8.1.3.4.).

Prosečne promene HM kod sve tri ispitivane grupe prikazane su u grafikonu 8.1.3.3.

8.1.4. Rezultati kliničkih merenja u okviru druge grupe ispitanika

8.1.4.1. Spoljašnja vertikalna dimenzija (EVM)

Rezultati prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+M)

U okviru primarne hirurške procedure nakon ekstrakcije zuba, a pre aplikacije preparata na bazi rhBMP-2/ACS i membrane, izmerena je EVM. Prosečna vrednost spoljašnje vertikalne dimenzije, kod prve grupe eksperimentalnih alveola, iznosila je 9.46 ± 1.80 mm (tabela 8.1.4.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca u okviru druge hirurške procedure zabeležena je prosečna vrednost spoljašnje vertikalne dimenzije od 8.15 ± 1.81 mm (tabela 8.1.4.1.).

Upoređujući početne vrednosti spoljašnje vertikalne dimenzije sa rezultatima dobijenim nakon 4 meseca za prvu eksperimentalnu grupu alveola, potvrđeno je postojanje statistički značajnog gubitka u vertikalnoj dimenziji grebena ($p=0.000$) (tabela 8.1.4.2.). Nominalno ova grupa eksperimentalnih alveola je prosečno gubila 1.31 ± 0.48 mm u spoljašnjoj vertikalnoj dimenziji alveolarnog grebena (tabela 8.1.4.2.).

Rezultati druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M)

Kod druge grupe ispitivanih alveola nakon ekstrakcije zuba, a pre aplikacije preparata na bazi rhBMP-2/ACS i preparata na bazi kalcijum fosfata te prekrivanja resorptivnom membranom, takođe je izmerena EVM. Prosečna vrednost spoljašnje vertikalne dimenzije, kod druge grupe eksperimentalnih alveola, je iznosila 7.92 ± 2.25 mm (tabela 8.1.4.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca u okviru druge hirurške procedure zabeležena je prosečna vrednost spoljašnje vertikalne dimenzije od 7.62 ± 2.10 mm (tabela 8.1.4.1.).

Upoređujući početne vrednosti spoljašnje vertikalne dimenzije sa rezultatima dobijenim nakon 4 meseca za drugu eksperimentalnu grupu alveola, potvrđeno je postojanje statistički značajnog gubitka u vertikalnoj dimenziji grebena ($p=0.000$) (tabela 8.1.4.2.).

Nominalno ova grupa eksperimentalnih alveola prosečno je gubila $0.30\pm 0.48\text{mm}$ spoljašnje visine grebena (tabela 8.1.4.2.).

Rezultati kontrolne grupe2

U okviru kontrolne grupe alveola, nakon ekstrakcije zuba, zabeležena je prosečna vrednost EVM od $8.08\pm 2.10\text{ mm}$ (tabela 8.1.4.1.). Nakon perioda od 4 meseca, rezultati ove kontrolne grupe alveola su pokazali srednju vrednost spoljašnje vertikalne dimenzije alveolarnog grebena od $5.62\pm 1.71\text{mm}$ (tabela 8.1.4.1.).

Upoređivanjem dobijenih prosečnih vrednosti EVM kontrolne grupe u okviru primarne i sekundarne hirurške procedure, potvrđeno je statistički značajno smanjenje spoljašnje vertikalne dimenzije alveolarnog grebena nakon opservacionog perioda ($p=0.000$) (tabela 8.1.4.2.). Kontrolne alveole su nakon 4 meseca od ekstrakcije zuba prosečno gubile $2.46\pm 1.05\text{mm}$ koštanog tkiva alveolarnog grebena (tabela 8.1.4.2.).

Komparacija rezultata EVM dobijenih unutar eksperimentalnih (rhBMP-2/ACS+M; rhBMP-2/ACS+TCP+M) i kontrolne grupe2 alveola

Komparirajući i statistički evaluirajući prosečne promene vrednosti EVM dobijene u okviru obe eksperimentalne grupe i kontrolne grupe alveola, nakon četiri meseca, dobili smo statistički značajan gubitak vertikalne dimenzije grebena u zoni ekstrahovanih zuba, kako u prvoj ($1.30\pm 0.48\text{mm}$) i drugoj eksperimentalnoj grupi ($0.30\pm 0.48\text{mm}$), tako i u kontrolnoj grupi alveola ($2.46\pm 1.05\text{mm}$), samo što je u kontrolnoj grupi alveola ovaj gubitak bio daleko značajniji tokom vremena posmatranja u poređenju sa prvom ($p=0.001$), odnosno drugom grupom eksperimentalnih alveola ($p=0.000$) (tabela 8.1.4.2. i 8.1.4.3.).

Upoređujući dinamiku gubitka EVM između dve eksperimentalne grupe alveola se vidi da je ona bila značajnija u prvoj eksperimentalnoj grupi (rhBMP-2/ACS+M) ($p=0.000$).

Poređenjem prosečnog gubitka EVM između ove dve posmatrane grupe takođe je dobijena statistički značajna razlika ($p=0.000$) što je prikazano u tabelama 8.1.4.3. i 1.8.4.5.

Značajna razlika prosečnih vrednosti EVM 0. dana između tri ispitivane grupe alveola nije postojala, dok je 120. dana ova razlika bila statistički značajna kada smo uporedili eksperimentalne grupe sa kontrolnom grupom alveola (Tabela 8.1.3.4.).

Prosečne promene EVM kod sve tri ispitivane grupe prikazane su u grafikonu 8.1.4.1.

8.1.4.2. Unutrašnja vertikalna dimenzija (IVM)

Rezultati prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+M)

U okviru primarne hirurške procedure, pre aplikovanja preparata na bazi rhBMP-2/ACS i membrane u prvu grupu eksperimentalnih alveola, izvršena su unutrašnja vertikalna merenja alveolarnih čašica. Zabeležena prosečna vrednost dubine alveola iznosila je 10.54 ± 2.25 mm (tabela 8.1.4.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca u okviru druge hirurške procedure, zabeležena je prosečna vrednost dubine prve grupe eksperimentalnih alveola od 2.77 ± 0.59 mm (tabela 8.1.4.1.).

Komparirajući prosečne promene vrednosti unutrašnje vertikalne dimenzije eksperimentalnih alveola u okviru primarne hirurške procedure i rezultate nakon opservacionog perioda od 4 meseca, zabeleženo je statistički značajno smanjenje dubine alveola ($p=0.000$) kao posledica formiranja novog koštanog tkiva u alveolarnim čašicama (tabela 8.1.4.2.). Osteoneogenezom formirana nova kost unutar tretiranih eksperimentalnih alveola preparatom na bazi rhBMP-2/ACS je prosečno redukovala dubinu alveola za 7.77 ± 2.04 mm (Tabela 8.1.4.2.).

Rezultati druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M)

Kod druge grupe ispitivanih alveola nakon ekstrakcije zuba, a pre aplikacije preparata na bazi rhBMP-2/ACS i preparata na bazi kalcijum fosfata kao i resorptivne membrane, prosečna vrednost IVM je iznosila 9.54 ± 2.78 mm (tabela 8.1.4.1.).

Nakon perioda posmatranja u okviru sekundarne hirurške procedure, a pre uzimanja uzoraka novoformirane kosti i implantacije dentalnih implantata, ponovo su izvršena unutrašnja vertikalna merenja i registrovana dubina druge grupe eksperimentalnih alveola koja je u proseku iznosila 0.62 ± 0.50 mm (tabela 8.1.4.1.).

Upoređujući prosečne promene vrednosti dubine druge grupe eksperimentalnih alveola u okviru primarne hirurške procedure i rezultata IVM nakon perioda praćenja od 4

meseca, zabeleženo je statistički značajno smanjenje dubine alveola ($p=0.000$) (tabela 8.1.4.2.).

Novoformirano koštano tkivo je u ovoj grupi eksperimentalnih alveola smanjilo dubinu u proseku za $8.92\pm 2.36\text{mm}$ (tabela 8.1.4.2.).

Rezultati kontrolne grupe2

U kontrolnoj grupi alveola koje nisu tretirane aktivnim regenerativnim konceptom, za vreme primarne hirurške procedure zabeležena je prosečna vrednost dubine od $9.54\pm 2.14\text{mm}$ (tabela 8.1.4.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca, rezultati unutrašnjih vertikalnih merenja kontrolnih alveola u proseku su iznosili $4.46\pm 0.96\text{mm}$ (tabela 8.1.4.1.).

Upoređujući rezultate IVM izmerene u toku primarne i sekundarne hirurške procedure zabeležena je statistički značajna redukcija dubine kontrolnih alveola ($p=0.000$) (tabela 8.1.4.2.). Prosečna redukcija dubine kontrolnih alveola nakon opservacionog perioda od 4 meseca je iznosila $5.07\pm 1.38\text{mm}$ (tabela 8.1.4.2.).

Komparacija rezultata IVM dobijenih unutar eksperimentalnih (rhBMP-2/ACS+M; rhBMP-2/ACS+TCP+M) i kontrolne grupe2 alveola

Upoređujući prosečne promene vrednosti koje označavaju ispunjenost alveola kod obe eksperimentalne (rhBMP-2/ACS+M; rhBMP-2/ACS+TCP+M) i kontrolne grupe četiri meseca nakon ekstrakcije zuba, primećeno je da je popunjenost alveola novoformiranim koštanim tkivom prve ($7.77\pm 2.04\text{mm}$) i druge eksperimentalne grupe ($8.92\pm 2.36\text{mm}$) bila statistički značajnija ($p=0.001$; $p=0.000$) u odnosu na vrednosti kontrolne grupe ($5.07\pm 1.38\text{mm}$) (tabela 1.4.2. i 8.1.4.3.).

Upoređujući prosečnu promenu i dinamiku promene dubine, između dve eksperimentalne grupe alveola, se vidi da nije bilo statistički značajne razlike ($p=0.196$), što znači da su obe grupa alveola bile podjednako ispunjene novoformiranim koštanim tkivom u okviru duge grupe ispitanika (tabela 8.1.4.3. i 8.1.4.5.).

Razlika prosečnih vrednosti IVM 0. dana među ispitivanim grupama nije bila statistički značajna, međutim 120. dana ispitivanja kada su upoređene razlike prosečnih

vrednosti, među grupama je postojala statistički značajna razlika prosečnih vrednosti ovog parametra (tabela 8.1.4.4.).

Prosečne promene IVM kod sve tri ispitivane grupe prikazane su u grafikonu 8.1.4.1.

8.1.4.3. Horizontalna dimenzija (HM) alveolarnog grebena

Rezultati prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+M)

Unutar primarne hirurške procedure nakon ekstrakcije zuba, kod eksperimentalnih alveola zabeležena je prosečna vrednost širine grebena od 8.77 ± 1.48 mm (tabela 8.1.4.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca, u toku sekundarne hirurške procedure, izvedeno je merenje širine rezidualnog grebena u cilju verifikacije rezultata. Kod ove grupe alveola zabeležena je prosečna vrednost širine grebena od 7.08 ± 1.49 mm (tabela 8.1.4.1.).

Komparacijom rezultata širine grebena prve grupe eksperimentalnih alveola dobijenih u okviru primarne i sekundarne hirurške procedure, zabeležena je statistički značajna redukcija širine rezidualnog alveolarnog grebena ($p=0.000$) (tabela 8.1.4.2.). U okviru ove grupe eksperimentalnih alveola prosečna redukcija širine grebena je iznosila 1.69 ± 0.48 mm (tabela 1.8.4.2.).

Rezultati druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M)

Kod ove grupe eksperimentalnih alveola gde je uz preparat na bazi koštanog morfogenetskog proteina dodat preparat na bazi kalcijum fosfata (punioc) i alveole pokrivena resorptivnom membranom, zabeležena je prosečna vrednost širine grebena od 9.54 ± 1.71 mm (tabela 8.1.4.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca, u toku sekundarne hirurške procedure, izvedeno je merenje širine rezidualnog grebena u cilju verifikacije postignutih terapijskih rezultata. Kod ove grupe alveola zabeležena je prosečna vrednost širine grebena od 8.62 ± 2.10 mm (tabela 8.1.4.1.).

Komparacijom rezultata horizontalne dimenzije grebena druge grupe eksperimentalnih alveola dobijenih u okviru primarne i sekundarne hirurške procedure, zabeležena je, takođe, statistički značajna redukcija širine rezidualnog alveolarnog

grebena($p=0.000$) (tabela 8.1.4.2.). U okviru ove grupe eksperimentalnih alveola prosečna redukcija širine grebena je iznosila $0.92\pm 0.52\text{mm}$ (tabela 1.8.4.2.).

Rezultati kontrolne grupe2

Prosečna vrednost horizontalne dimenzije alveolarnog grebena u zoni kontrolnih alveola nakon ekstrakcije zuba je iznosila $8.96\pm 1.88\text{mm}$ (tabela 8.1.4.1.).

Nakon opservacionog perioda od 4 meseca u okviru sekundarne hirurške procedure, prosečna širina regiona rezidualnog alveolarnog grebena je iznosila $5.62\pm 1.71\text{mm}$ (tabela 8.1.4.1.).

Komparacijom vrednosti širine grebena kontrolne grupe, dobijenih merenjem u primarnoj i sekundarnoj hirurškoj proceduri zapažena je statistički značajna redukcija širine alveolarnog grebena nakon opservacionog perioda od 4 meseca ($p=0.000$) (tabela 8.1.4.2.). U grupi kontrolnih alveola prosečan gubitak širine grebena u periodu od 4 meseca je iznosio $3.34\pm 0.68\text{mm}$ (tabela 8.1.4.2.).

Komparacija rezultata HM dobijenih u okviru eksperimentalnih (rhBMP-2/ACS+M; rhBMP-2/ACS+TCP+M) i kontrolne grupe2 alveola

Komparacijom prosečnih promena vrednosti dobijenih u prvoj eksperimentalnoj ($1.69\pm 0.48\text{mm}$), drugoj eksperimentalnoj ($0.92\pm 0.52\text{mm}$) i kontrolnoj ($3.34\pm 0.68\text{mm}$) grupi nakon opservacionog perioda od 4 meseca, zapaža se statistički značajan gubitak koštanog tkiva, odnosno širine alveolarnog grebena, u regiji kontrolne grupe alveola u odnosu na obe grupe eksperimentalnih ($p=0.000$; $p=0.000$) (tabela 8.1.4.2. i 8.1.4.3.).

Upoređujući dinamiku gubitka širine grebena između dve eksperimentalne grupe alveola se vidi da je ona bila značajnija u prvoj eksperimentalnoj grupi (rhBMP-2/ACS+M)($p=0.000$) u odnosu na dugu eksperimentalnu grupu alveola, kao i da je prosečan gubitak širine bio značajniji u prvoj eksperimentalnoj grupi ($p=0.002$), što je prikazano u tabelama 8.1.4.3. i 8.1.4.5.

Razlika prosečnih vrednosti HM 0. dana među ispitivanim grupama nije bila statistički značajna, međutim 120. dana ispitivanja je postojala statistički značajna razlika prosečnih vrednosti ovog parametra tokom poređenja eksperimentalnih sa kontrolnom grupom alveola. (tabela 8.1.4.4.).

Prosečne promene HM kod sve tri ispitivane grupe prikazane su u grafikonu 8.1.3.1.

8.1.5. Rezultati komparacije kliničkih merenja obe grupe ispitanika

U okviru prve grupe ispitanika izvedena su poređenja kliničkih parametara nakon primene preparata na bazi faktora rasta (rhBMP-2/ACS) u cilju očuvanja alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba, sa kliničkim parametrima kontrolnih alveola. Isto tako su izvedena poređenja kliničkih parametara nakon primene preparata na bazi faktora rasta i preparata na bazi kalcijum fosfata (rhBMP-2/ACS+TCP) sa kliničkim parametrima kontrolnih alveola i alveola gde je bio primenjen samo preparat na bazi faktora rasta (rhBMP-2/ACS).

U okviru druge grupe ispitanika izvedena su identična poređenja među ispitivanim grupama alveola, tako da su poređena klinička merenja između eksperimentalnih (rhBMP-2/ACS+M, rhBMP-2/ACS+TCP+M) i kontrolnih grupa alveola kao i poređenja samih eksperimentalnih grupa alveola međusobno.

Posmatrajući eksperimentalne alveole obe grupe ispitanika može se uočiti da su one bile tretirane aktivnim principom regeneracije, ali primenom različitih terapijskih modaliteta u smislu osteopromocije. Dakle kod druge grupe ispitanika je kod eksperimentalnih alveola bio primenjen koncept vođene regeneracije kosti postavljanjem resorptivnih membrana koje su bile fiksirane kočićima.

8.1.5.1. Spoljašnja vertikalna dimenzija (EVM)

Rezultati poređenja prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS) prve grupe ispitanika sa prvom grupom eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+M) druge grupe ispitanika

Upoređujući rezultate merenja EVM eksperimentalnih alveola nakon primene različitih terapijskih modaliteta (bez membrane i sa membranom) se uočava da je kod rhBMP-2/ACS grupe prosečan gubitak EVM iznosio 1.69 ± 0.75 mm, a kod rhBMP-2/ACS+M grupe alveola 1.31 ± 0.48 mm, što nije bilo statistički značajno ($p=0.243$) (tabela 8.1.5.1.).

Rezultati poređenja druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP) prve grupe ispitanika sa drugom grupom eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M) kod druge grupe ispitanika

Upoređujući prosečan gubitak EVM rhBMP-2/ACS+TCP grupe alveola ($1.16 \pm 0.55 \text{mm}$) sa rhBMP-2/ACS+TCP+M grupom ($0.03 \pm 0.48 \text{mm}$) se vidi da je prosečan gubitak EVM bio značajniji u rhBMP-2/ACS+TCP grupi alveola ($p=0.002$) (tabela 8.1.5.1.).

8.1.5.2. Unutrašnja vertikalna dimenzija (IVM)

Rezultati poređenja prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS) prve grupe ispitanika sa prvom grupom eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+M) kod druge grupe ispitanika

Upoređujući rezultate dubine eksperimentalnih alveola nakon primene različitih terapijskih modaliteta (bez membrane i sa membranom) se uočava da je kod rhBMP-2/ACS grupe prosečna redukcija dubine alveola iznosila $6.62 \pm 1.50 \text{mm}$, a kod rhBMP-2/ACS+M grupe alveola $7.77 \pm 2.04 \text{mm}$, što nije bilo statistički značajno ($p=0.114$) (tabela 8.1.5.1.).

Rezultati poređenja druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP) prve grupe ispitanika sa drugom grupom eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M) kod druge grupe ispitanika

Prosečna redukcija dubine kod rhBMP-2/ACS+TCP grupe alveola je iznosila $8.61 \pm 2.14 \text{mm}$, dok je kod rhBMP-2/ACS+TCP+M grupe alveola bila $8.92 \pm 2.36 \text{mm}$, što je nakon međusobnog poređenja primenom odgovarajućih statističkih testova, pokazalo da ne postoji statistički značajna razlika ($p=0.731$) (Tabela 8.1.5.1.).

8.1.5.3. Horizontalna dimenzija (HM)

Rezultati poređenja prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS) prve grupe ispitanika sa prvom grupom eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+M) kod druge grupe ispitanika

Komparacijom prosečnog gubitka HM koji je kod prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS) u okviru prve grupe ispitanika iznosio 1.69 ± 0.48 mm i 2.08 ± 0.64 mm kod druge grupe eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+M) u okviru druge grupe ispitanika, nije dobijena statistički značajna razlika ($p=0.186$) (tabela 8.1.5.1.).

Rezultati poređenja druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP) prve grupe ispitanika sa drugom grupom eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M) kod druge grupe ispitanika

Komparacijom prosečnog gubitka HM koji je kod druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP) u okviru prve grupe ispitanika iznosio 1.31 ± 0.48 mm i 0.92 ± 0.52 mm kod druge grupe eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M) u okviru druge grupe ispitanika, nije dobijena statistički značajna razlika ($p=0.186$) (tabela 8.1.5.1.).

Prosečne promene izmerenih kliničkih parametara EVM, IVM i HM kod svih ispitivanih alveola prikazane su i grafički (grafikon 8.1.5.1.).

8.1.6. Rezultati dinamike zarastanja ekstrakcionih rana u okviru prve grupe ispitanika

Nakon ekstrakcije indikovanih zuba i registrovanja kliničkih parametara (EVM, IVM i HM) te hirurške obrade alveolarnih čašica, ekstrakcione rane su opservirane u periodu od 2, 7, 14, 21, 30 i 120 dana u cilju kliničke verifikacije dinamike njihovog zarastanja. Kao pokazatelj dinamike zarastanja koristili smo parametre indeksa zarastanja rane (HI) kako je ranije precizno navedeno u metodologiji ispitivanja. Ova atributivna obeležja su prikazana kao distribucija frekvencija (n[%]) u tabeli 1.8.6.1. Primenom neparametrijskih testova (χ^2 i Fischerovog testa) izvršena su poređenja ovih atributivnih obeležja među posmatranim grupama alveola (rhBMP-2/ACS; rhBMP-2/ACS+TCP; kontrola1) u jednom vremenu merenja kao i tokom celokupnog opservacionog perioda od 120 dana.

Nakon četiri meseca zarastanja ekstrakcionih rana i njihovog kliničkog praćenja nisu primećeni lokalni, niti sistemski neželjeni efekti. Ni jedan od ispitanika nije primetio, niti prijavio neželjene efekte od strane ispitivanih materijala. Postoperativni ekstraoralni otok, hematomi, bol kao i otežano otvaranje usta bili su čest postoperativni nalaz, ali su se gubili bez posledica, nakon 10-14 dana zarastanja. Intraoralno, sem otoka i znakova postoperativne inflamatorne reakcije, nismo imali značajne komplikacije. Kod jednog ispitanika se na kontrolnoj strani u predelu mekih tkiva baze ekstrakcione rane pojavila herpetična ospa koja je zarasla nakon dve nedelje bez ozbiljnih komplikacija.

Analizom tabele 8.1.6.1. se može zapaziti da je kod sve tri ispitivane grupe alveola, u okviru prve grupe ispitanika, došlo do značajnog poboljšanja izgleda rane i postepenog zarastanja tokom opservacionog perioda i da su sve ekstrakcione rane 120. dana opservacije bile u potpunosti zarasle ($p=0.000$). Poređenjem sve tri ispitivane grupe alveola istovremeno, u posmatranim vremenima opservacije, se vidi da je među grupama postojala značajna razlika u dinamici zarastanja 2, 7, 14. i 21. dana zarastanja.

Komparacijom dinamike zarastanja prve grupe eksperimentalnih ekstrakcionih rana sa kontrolnim se uočava da je zarastanje kod eksperimentalne grupe bilo značajnije, a samim tim i brže, u odnosu na kontrolnu tokom prvih mesec dana posmatranja (tabela 8.1.6.3.).

Kada je u pitanju poređenje druge grupe eksperimentalnih alveola sa kontrolnim situacija je nešto drugačija. Značajnije zarastanje u korist eksperimentalne grupe je

zabeleženo samo tokom prve nedelje dok je u kasnijem periodu bilo slično zarastanju kontrolnih alveola (tabela 8.1.6.4.).

Poređenjem dinamike zarastaja prve i druge grupe eksperimentalnih alveola u okviru prve grupe ispitanika se vidi da proces zarastanja nije bio samo klinički značajniji kod prve grupe eksperimentalnih alveola, nego i statistički, naročito neposredno nakon hirurškog zahvata i 21 dan posle ($p=0.038$; $p=0.033$) (tabela 8.1.6.2.).

Dinamika zarastanja svih ispitivanih ekstrakcionih rana tokom opservacionog perioda u okviru prve grupe ispitanika je prikazana u grafikonu 8.1.6.1.

8.1.7. Rezultati dinamike zarastanja ekstrakcionih rana u okviru druge grupe ispitanika

Primenom neparametrijskih testova (χ^2 i Fischerovog testa) takođe su izvršena poređenja dinamike zarastanja ekstrakcionih rana među ispitivanim grupama alveola (rhBMP-2/ACS+M; rhBMP-2/ACS+TCP+M; kontrola2) u jednom vremenu merenja kao i tokom celokupnog opservacionog perioda od 120 dana, u okviru druge grupe ispitanika. Analizom tabele 8.1.7.1. se može zapaziti da je kod sve tri ispitivane grupe alveola, u okviru prve grupe ispitanika došlo do značajnog poboljšanja izgleda rane i postepenog zarastanja tokom opservacionog perioda i da su sve ekstrakcione rane 120. dana opservacije bile u potpunosti zarasle ($p=0.000$). Poređenjem sve tri ispitivane grupe alveola istovremeno u posmatranim vremenima opservacije se vidi da je među grupama postojala značajna razlika u dinamici zarastanja 2, 7, 14, 21. i 30. dana zarastanja.

Komparacijom dinamike zarastanja prve grupe eksperimentalnih ekstrakcionih rana sa kontrolnim se uočava da je zarastanje kod eksperimentalne grupe bilo značajnije, a samim tim i brže, u odnosu na kontrolnu tokom prvih mesec dana praćenja (tabela 8.1.7.3.).

Kada je u pitanju poređenje druge grupe eksperimentalnih alveola sa kontrolnim, značajnije zarastanje u korist eksperimentalne grupe je zabeleženo samo tokom prve tri nedelje dok je u kasnijem periodu bilo slično zarastanju eksperimentalnih alveola (tabela 8.1.7.3.).

Poređenjem dinamike zarastaja prve i druge grupe eksperimentalnih alveola u okviru druge grupe ispitanika se vidi da je proces zarastanja tokom prve nedelje praćenja bio sličan kod obe grupe ekstrakcionih rana. Tokom druge, treće i četvrte nedelje operacije zapaža se statistički značajna razlika u dinamici zarastanja u korist prve grupe eksperimentalnih alveola ($p=0.044$; $p=0.011$; $p=0.022$) (tabela 8.1.7.2.).

Dinamika zarastanja svih ispitivanih ekstrakcionih rana tokom opservacionog perioda u okviru druge grupe ispitanika je prikazana u grafikonu 8.1.7.1.

8.1.8. Rezultati komparacije dinamike zarastanja ekstrakcionih rana u okviru obe grupe ispitanika

Kao što smo poredili prosečne promene kliničkih parametara (EVM; IVM i HM) među ispitivanim terapijskim modalitetima, interesovalo nas je da li terapijski modaliteti (ispitivani preparati sa i bez membrane) imaju uticaj na dinamiku zarastanja ekstrakcionih rana. U tabelama 8.1.8.1. i 8.1.8.2. su prikazani rezultati poređenja eksperimentalnih alveola rhBMP-2/ACS i rhBMP-2/ACS+M, odnosno rhBMP-2/ACS+TCP i rhBMP-2/ACS+TCP+M u okviru obe grupe ispitanika.

Analizirajući ove tabele može se reći da primena membrane u okviru terapijskog koncepta vođene koštane regeneracije u cilju očuvanja alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba u konkretnom ispitivanju, nije pokazala da ima značajan uticaj na dinamiku zarastanja ekstrakcione rane u poređenju sa aktivnim konceptom regeneracije koji je ispitivan u ovoj studiji.

Rezultati ispitivanja uticaja stanja i kvaliteta mekih i koštanih tkiva ekstrakcione rane na dinamiku zarastanja kod obe grupe ispitanika

Opsežna statistička analiza sprovedena je i u cilju ispitivanja uticaja stanja mekih tkiva, koja su registrovana odgovarajućim parametrima klasifikacije Juodzbalzsa i dr, 2008. u regionima zuba indikovanim za ekstrakciju, na dinamiku zarastanja ispitivanih ekstrakcionih rana kod obe grupe ispitanika.

Isto tako, statističkom analizom je obuhvaćeno ispitivanje uticaja stanja alveolarnih čašica (klasifikacija Lekovića i dr, 1997) na dinamiku zarastanja ekstrakcionih rana.

Primenom odgovarajućih statističkih testova u ovom ispitivanju je utvrđeno da stanje mekih i koštanih tkiva ekstrakcionih rana načelno nije imalo uticaja na brzinu i stepen zarastanja ekstrakcionih rana ($p > 0.05$), što je prikazano u tabeli 8.1.8.3.

Rezultati praćenja nivoa oralne higijene i stanja gingive tokom perioda opservacije kod obe grupe ispitanika

Nivo oralne higijene i stanje gingive ispitanika su registrovani plak indeksom (PI) i indeksom krvarenja sulkusa gingive (SBI) tokom tri vremena ispitivanja: pre ekstrakcije zuba, mesec dana i četiri meseca nakon ekstrakcije.

U tabelama 8.1.8.4. i 8.1.8.6. su prikazane srednje vrednosti ovih parametara u posmatranim vremenima registrovanja gde se vidi da je među ispitivanim grupama bilo statistički značajne razlike u pojedinim vremenima registrovanja (PI: 0. dan ($p = 0.013$), 30. dan ($p = 0.014$), SBI: 30. dan ($p = 0.011$)).

Analizom promena ovih parametara tokom ispitivanja je utvrđeno da je došlo do njihove značajne promene ($p = 0.000$) tokom prvih 30 dana nakon ekstrakcije kod obe grupe ispitanika što je prikazano u tabelama 8.1.8.5. i 8.1.8.7. Daljom analizom ovih parametara se vidi da je tokom narednog perioda zarastanja, do 120. dana, došlo opet do statistički značajne promene ($p = 0.000$) oba ispitivana parametra PI i SBI, tako da su njihove prosečne vrednosti 120. dana bile skoro slične vrednostima neposredno pre same ekstrakcije zuba (tabele 8.1.8.5. i 8.1.8.7.).

Dinamika promene ispitivanih pokazatelja nivoa oralne higijene (PI) i stanja gingive (SBI) je prikazana grafikonima 8.1.8.1. i 8.1.8.2.

8.2. REZULTATI RADIOGRAFSKIH ISPITIVANJA

U evaluaciji postignutih terapijskih rezultata, kao i rezultata dobijenih u kontrolnim grupama, analizirali smo radiograme visoke rezolucije dobijene *cross section* metodom. Ovim radiografskim metodom prikazane su ispitivane alveole u tri projekcije (frontalnoj, sagitalnoj i aksijalnoj).

Softverska podrška kompjuterskog sistema (i-Dixel softver) omogućila je merenje linearnih veličina postekstrakcionih defekata, kao utvrđivanje promene vrednosti horizontalne i vertikalne dimenzije rezidualnog alveolarnog grbena u toku opservacionog perioda. Prilikom poređenja rezultata korišćene su prosečne promene vrednosti datih parametara.

Analizirani su selektovani preseki u regijama eksperimentalnih i kontrolnih alveola na radiografijama dobijenih odmah nakon ekstrakcije zuba, kao i 30 i 120 dana od primarne hirurške intervencije. Selektovani su preseki na kojima se pored postekstrakcionih defekata uočava i neki od anatomskih detalja gornje (šupljina maksilarnog sinusa, nosna duplja, spina nasalis anterior) ili donje vilice (mandibularni kanal, foramen mentale). Preciznosti merenja i registraciji što tačnijeg i što približnijeg preseka ekstrakcione rane kliničkom mestu merenja, doprineli su i olovni markeri na radiografskim nagriznim bedemima. Na ovaj način je obezbeđena konzistentnost snimaka koji su bili analizirani u toku perioda posmatranja. Ovakav način merenja linearnih veličina opisali su Howell i Cochran, 1997. god. čiji je šematizovan prikaz neveden u metodologiji ovog ispitivanja.

- Vertikalna dimenzija alveolarne čašice (VD)

Merenje vertikalne dimenzije alveolarne čašice omogućeno je povlačenjem linije koja je prolazila kroz aksijalnu osovinu alveole i neki od izabranih anatomskih detalja, na selektovanim presecima ispitivanih alveola.

Pre merenja vertikalne dimezije alveole bilo je neophodno definisati dve referentne tačke: tačku A (koju čini dno alveole) i tačku B (tačka koja se nalazi na preseku linije koja prolazi kroz aksijalnu osovinu alveole i linije koja spaja vestibularnu i oralnu lamelu očuvane alveolarne kosti, a koja je povučena okomito na aksijalnu osu alveole).

Vertikalna dimenzija predstavlja mereno rastojanje od tačke A do tačke B na selektovanim presecima, što je prikazano u poglavlju metodologije ovog ispitivanja.

- Horizontalna dimenzija alveolarne čašice (VD)

Horizontalna dimenzija alveolarne čašice predstavlja mereno rastojanje od vestibularne do oralne koštane lamele na liniji koja seče aksijalnu osovinu alveole na selektovanom preseku. Bira se onaj presek u aksijalnoj ravni na kojem se jasno uočavala kompaktna kost i sa vestibularne i sa oralne strane alveolarne čašice.

8.2.1. Rezultati radiografskih merenja u okviru prve grupe ispitanika

8.2.1.1. Vertikalna dimenzija alveolarne čašice (VD)

Rezultati prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS)

Nakon primarne hirurške procedure, odnosno nakon ekstrakcije zuba, kod eksperimentalnih alveola zabeležena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od 8.21 ± 2.68 mm (tabela 8.2.1.1.).

Nakon opservacionog perioda od 30 dana, izmerena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od 6.60 ± 2.00 mm, dok je prosečna vrednost vertikalne dimenzije dobijena merenjem 120. dana iznosila 6.07 ± 1.84 mm (tabela 8.2.1.1.).

U ovoj grupi eksperimentalnih alveola vrednost vertikalne dimenzije u periodu prvih trideset dana nakon ekstrakcije zuba se statistički značajno smanjila ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosti iznosila 1.61 ± 1.03 mm. U periodu od 30. do 120. dana od ekstrakcije je takođe došlo do statistički značajnog smanjenja vertikalne dimenzije ($p=0.000$), a promena prosečnih vrednosti je u ovom vremenskom intervalu iznosila 0.53 ± 0.35 mm (tabela 8.2.1.2.).

Rezultati druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP)

Kod druge grupe eksperimentalnih alveola je nakon ekstrakcije zuba, zabeležena prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od 9.20 ± 2.91 mm (tabela 8.2.1.1.).

Nakon opservacionog perioda od 30 dana, izmerena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od 8.15 ± 2.55 mm, dok je prosečna vrednost vertikalne dimenzije dobijena merenjem 120. dana iznosila 7.76 ± 2.50 mm (tabela 8.2.1.1.).

U ovoj grupi eksperimentalnih alveola vrednost vertikalne dimenzije u periodu prvih trideset dana nakon ekstrakcije zuba se statistički značajno smanjila ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosti iznosila 1.05 ± 0.78 mm. U periodu od 30. Do 120. dana od ekstrakcije je takođe došlo do statistički značajnog smanjenja vertikalne dimenzije ($p=0.000$), a promena prosečnih vrednosti iznosila 0.39 ± 0.27 mm u ovom vremenskom intervalu (tabela 8.2.1.2.)

Rezultati kontrolne grupe1

Na selektovanim presecima snimaka kontrolnih alveola koji su načinjeni nakon ekstrakcije zuba zabeležena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od 8.92 ± 2.37 mm (tabela 8.2.1.1.).

Nakon 30 dana od primarne hirurške procedure, izmerena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od 6.89 ± 1.67 mm (tabela 8.2.1.1.). Četiri meseca nakon ekstrakcije zuba zabeležena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od 5.89 ± 1.66 mm (tabela 8.2.1.1.).

Posmatrajući promenu vrednosti vertikalne dimenzije kod kontrolnih alveola dobijeno je da je tokom prvih trideset dana došlo do statistički značajnog smanjenja ovog parametra ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosti iznosila 2.03 ± 1.39 mm (tabela 8.2.1.2.).

Četiri meseca nakon ekstrakcije zuba prosečna promena vrednosti ovog parametra u odnosu na mesec dana je iznosila 1.00 ± 0.54 mm, što je takođe bilo statistički značajno ($p=0.000$) (tabela 8.2.1.2.).

Komparacija rezultata VD dobijenih unutar eksperimentalnih i kontrolne grupe alveola

Komparirajući i statistički evaluirajući prosečne promene vrednosti VD dobijene u okviru kontrolne i eksperimentalnih grupa alveola u okviru prve grupe ispitanika nakon četiri meseca, dobili smo statistički značajan gubitak vertikalne dimenzije grebena u sve tri posmatrane grupe. Dinamika promena vrednosti vertikalne dimenzije tokom posmatranog

četvoromesečnog perioda se statistički značajno razlikovala između kontrolnih i eksperimentalnih alveola (Dvofaktorska analiza varijanse, faktor vreme*rekonstrukcija alveole; $p=0.000$). Upoređujući prosečan gubitak vertikalne dimenzije alveola prve eksperimentalne grupe sa kontrolnom grupom alveola, tokom prvih 30 dana vidi se da je postojala značajna razlika ($p=0.008$) (tabela 8.2.1.3.) . Isto tako je zabeležena značajna razlika u gubitku vertikalne dimenzije prve grupe eksperimentalnih alveola u odnosu na kontrolne u periodu od 30. do 120. dana posmatranja ($p=0.006$) (tabela 8.2.1.3.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (VD) između prve eksperimentalne i kontrolne grupe nije pronađena u nultom-nakon ekstrakcije zuba ($p=1.000$) i stodvadesetom danu ($p=0.057$). Dok je u tridesetom danu ova razlika bila značajna ($p=0.004$) (tabela 8.2.1.4.).

Upoređujući prosečan gubitak vertikalne dimenzije alveola druge eksperimentalne grupe sa kontrolnom grupom alveola, tokom prvih 30 dana vidi se da je postojala značajna razlika ($p=0.000$) (tabela 8.2.1.3.). Isto tako je zabeležena značajna razlika u gubitku vertikalne dimenzije kontrolne grupe alveola u odnosu na eksperimentalne u periodu od 30. do 120. dana posmatranja, gde je značajno veći gubitak zabeležen opet kod kontrolne grupe alveola ($p=0.000$) (tabela 8.2.1.3.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (VD) između prve eksperimentalne i kontrolne grupe sem u nultom-nakon ekstrakcije zuba ($p=1.000$), nađena je u svakom posmatranom vremenu merenja; tridesetom ($p=0.000$) i stodvadesetom danu ($p=0.037$) (tabela 8.2.1.4.).

Poređenjem ovog parametra između prve i druge eksperimentalne grupe alveola, u okviru prve grupe ispitanika, se može videti da je takođe postojala značajna razlika u prosečnom gubitku vertikalne dimenzije alveola 30. dana merenja ($p=0.016$) (tabela 8.2.1.3.). Takođe je zabeležen značajan gubitak vertikalne dimenzije prve grupe eksperimentalnih alveola u odnosu na drugu grupu u periodu od 30. do 120. dana posmatranja ($p=0.018$) (tabela 8.2.1.3.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (VD) između prve i druge eksperimentalne grupe alveola sem u nultom-nakon ekstrakcije zuba ($p=1.000$), nađena je u svakom posmatranom vremenu merenja; tridesetom ($p=0.000$) i stodvadesetom danu ($p=0.014$) (tabela 8.2.1.4.).

Grafikon 8.2.1.1. prikazuje dinamiku promena VD kod eksperimentalnih i kontrolne grupe alveola u okviru prve grupe ispitanika.

8.2.1.2. Horizontalna dimenzija alveolarne čašice (HD)

Rezultati prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS)

Nakon primarne hirurške procedure kod prve grupe eksperimentalnih alveola zabeležena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije od 8.80 ± 1.78 mm (tabela 8.2.1.1.).

30. dana od ekstrakcije, izmerena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije alveola od 6.97 ± 1.46 mm, dok je prosečna vrednost horizontalne dimenzije dobijena merenjem 120. dana iznosila 6.83 ± 1.44 mm (tabela 8.2.1.1.).

Vrednost horizontalne dimenzije u prvoj grupi eksperimentalnih alveola u periodu prvih trideset dana nakon ekstarakcije zuba se statistički značajno smanjila ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosi iznosila 1.82 ± 0.44 mm (tabela 8.2.1.2.). U periodu od 30. do 120. dana od ekstrakcije takođe je došlo do statistički značajnog smanjenja horizontalne dimenzije ($p=0.000$), a promena prosečnih vrednosi iznosila 0.14 ± 0.03 mm (tabela 8.2.1.2.).

Rezultati druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP)

Nakon primarne hirurške procedure kod druge grupe eksperimentalnih alveola zabeležena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije od 8.38 ± 1.48 mm (tabela 8.2.1.1.).

30 dana nakon ekstrakcije, izmerena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije alveola od 7.00 ± 1.21 mm, dok je prosečna vrednost horizontalne dimenzije dobijena merenjem 120. dana iznosila 6.89 ± 1.19 mm (tabela 8.2.1.1.).

Vrednost horizontalne dimenzije u prvoj grupi eksperimentalnih alveola u periodu prvih trideset dana nakon ekstarkcije zuba se statistički značajno smanjila ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosi iznosila 1.37 ± 0.28 mm (tabela 8.2.1.2.). U periodu od 30. do 120. dana od ekstrakcije takođe je došlo do statistički značajnog gubitka horizontalne dimenzije ($p=0.000$), a promena prosečnih vrednosi je iznosila 0.11 ± 0.02 mm (tabela 8.2.1.2.).

Rezultati kontrolne grupe1

Prosečna vrednost horizontalne dimenzije na selektovanim presecima snimaka kontrolnih alveola koji su načinjeni nakon ekstrakcije zuba je iznosila 8.76 ± 1.74 mm (tabela 8.2.1.1.). Trideset dana od ekstrakcije zuba, izmerena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije alveola od 5.95 ± 1.17 mm (tabela 8.2.1.1.). Četiri meseca nakon primarne hirurške procedure zabeležena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije alveola od 5.34 ± 1.13 mm (tabela 8.2.1.1.).

Rezultati merenja vrednosti horizontalne dimenzije kod kontrolnih alveola nakon trideset dana od ekstrakcije pokazuju da je došlo do statistički značajnog smanjenja ovog parametra ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosti iznosila 3.16 ± 0.64 mm (tabela 8.2.1.2.).

U periodu od 30. do 120. dana od ekstrakcije došlo je takođe do statistički značajnog smanjenja HD kontrolnih alveola ($p=0.000$), a promena prosečnih vrednosti iznosila 0.25 ± 0.51 mm u ovom vremenskom intervalu (tabela 8.2.1.2.).

Komparacija rezultata HD dobijenih unutar eksperimentalnih i kontrolne grupe alveola

Komparirajući i statistički evaluirajući prosečne promene vrednosti HD dobijene u okviru kontrolne i eksperimentalnih grupa alveola u okviru prve grupe ispitanika nakon četiri meseca, dobili smo statistički značajan gubitak horizontalne dimenzije grebena u sve tri posmatrane grupe. Dinamika promena vrednosti horizontalne dimenzije tokom posmatranog četvoromesečnog perioda se statistički značajno razlikovala između kontrolnih i eksperimentalnih alveola (Dvofaktorska analiza varijanse, faktor vreme* rekonstrukcija alveole; $p=0.000$). Upoređujući prosečnu redukciju horizontalne dimenzije alveola prve eksperimentalne grupe sa kontrolnom grupom alveola tokom prvih 30 dana vidi se da je kod kontrolne grupe alveola ova redukcija bila značajna u poređenju sa prvom eksperimentalnom grupom ($p=0.000$) (tabela 8.2.1.5.). Isto tako je zabeležena značajan gubitak HD kontrolne u odnosu na prvu grupu eksperimentalnih alveola u periodu od 30. do 120 dana posmatranja ($p=0.000$) (tabela 8.2.1.5.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (HD) između prve eksperimentalne i kontrolne grupe sem u nultom-nakon ekstrakcije zuba

($p=1.000$), nađena je u svakom posmatranom vremenu merenja; tridesetom ($p=0.029$) i stodvadesetom danu ($p=0.014$) (tabela 8.2.1.6.).

Upoređujući prosečnu redukciju širine alveola druge eksperimentalne grupe sa kontrolnom grupom alveola tokom prvih 30 dana vidi se da je postojala značajna redukcija ovog parametra u kontrolnoj grupi alveola ($p=0.000$) (tabela 8.2.1.5.). Isto tako je zabeležena značajna razlika redukcije HD kontrolnih u odnosu na drugu eksperimentalnu grupu alveola u periodu od 30. do 120 dana posmatranja ($p=0.000$) (tabela 8.2.1.5.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (HD) između druge eksperimentalne i kontrolne grupe sem u nultom-nakon ekstrakcije zuba ($p=1.000$), nađena je u svakom posmatranom vremenu merenja; tridesetom ($p=0.026$) i stodvadesetom danu ($p=0.010$) (tabela 8.2.1.6.).

Poređenjem ovog parametra između prve i druge eksperimentalne grupe alveola, u okviru prve grupe ispitanika se može videti da je takođe postojala značajna razlika prosečnog gubitka HD alveola 30. dana merenja kod prve grupe eksperimentalnih alveola u odnosu na drugu ($p=0.005$) (tabela 8.2.1.5.). Takođe je zabeležen veći gubitak HD kod prve grupe eksperimentalnih alveola u odnosu na drugu grupu u periodu od 30. do 120. dana posmatranja, ali taj gubitak nije bio statistički značajan ($p=0.056$) (tabela 8.2.1.5.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (HD) između prve i druge eksperimentalne grupe alveola u okviru prve grupe ispitanika, nije postojala ni u jednom od vremena posmatranja ($p=1.000$) (tabela 8.2.1.6.).

Dinamika prosečnih promena HD 0, 30. i 120.dana kod obe grupe eksperimentalnih i kontrolnih alveola je prikazana u grafikonu 8.2.1.2.

8.2.2. Rezultati radiografskih merenja u okviru druge grupe ispitanika

8.2.2.1. Vertikalna dimenzija alveolarne čašice (VD)

Rezultati prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+M)

Nakon primarne hirurške procedure, odnosno nakon ekstrakcije zuba, kod eksperimentalnih alveola zabeležena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od 9.58 ± 2.13 mm (tabela 8.2.2.1.).

Nakon opservacionog perioda od 30 dana, izmerena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od 8.45 ± 1.77 mm, dok je prosečna vrednost vertikalne dimenzije dobijena merenjem 120. dana iznosila 7.97 ± 1.73 mm (tabela 8.2.2.1.).

U ovoj grupi eksperimentalnih alveola vrednost vertikalne dimenzije u periodu prvih trideset dana nakon ekstrakcije zuba se statistički značajno smanjila ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosti iznosila 1.14 ± 0.81 mm (tabela 8.2.2.2.). U periodu od 30. do 120. dana od ekstrakcije je takođe došlo do statistički značajnog smanjenja vertikalne dimenzije ($p=0.000$), a promena prosečnih vrednosti je u ovom vremenskom intervalu iznosila 0.47 ± 0.31 mm (tabela 8.2.2.2.).

Rezultati druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M)

Kod druge grupe eksperimentalnih alveola je nakon ekstrakcije zuba, zabeležena prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od 7.36 ± 1.99 mm (tabela 8.2.2.1.).

Nakon opservacionog perioda od 30 dana, izmerena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od 6.62 ± 2.23 mm, dok je prosečna vrednost vertikalne dimenzije dobijena merenjem 120. dana iznosila 6.32 ± 2.33 mm (tabela 8.2.2.1.).

U ovoj grupi eksperimentalnih alveola vrednost vertikalne dimenzije u periodu prvih trideset dana nakon ekstrakcije zuba se statistički značajno smanjila ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosti iznosila 0.74 ± 0.41 mm (tabela 8.2.2.2.). U periodu od 30. do 120. dana od ekstrakcije je takođe došlo do statistički značajnog smanjenja vertikalne

dimenzije ($p=0.000$), a promena prosečnih vrednosti je u ovom vremenskom intervalu iznosila $0.30\pm 0.16\text{mm}$ (tabela 8.2.2.2.)

Rezultati kontrolne grupe2

Na selektovanim presecima snimaka kontrolnih alveola koji su načinjeni nakon ekstrakcije zuba zabeležena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od $7.92\pm 2.09\text{mm}$ (tabela 8.2.2.1.).

Nakon 30 dana od primarne hirurške procedure, izmerena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od $5.98\pm 1.79\text{mm}$ (tabela 8.2.2.1.). Četiri meseca nakon ekstrakcije zuba zabeležena je prosečna vrednost vertikalne dimenzije alveola od $5.23\pm 0.84\text{mm}$ (tabela 8.2.2.1.).

Posmatrajući promenu vrednosti vertikalne dimenzije kod kontrolnih alveola se vidi da je tokom prvih trideset dana došlo do statistički značajne redukcije ovog parametra ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosti iznosila $1.94\pm 1.14\text{mm}$ (tabela 8.2.2.2.).

Četiri meseca nakon ekstrakcije zuba prosečna promena vrednosti ovog parametra u odnosu na mesec dana je iznosila $0.75\pm 0.39\text{mm}$, što je takođe bilo statistički značajno ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.2.).

Komparacija rezultata VD dobijenih unutar eksperimentalnih i kontrolne grupe alveola

Komparirajući i statistički evaluirajući prosečne promene vrednosti VD dobijene u okviru kontrolne i eksperimentalnih grupa alveola, u okviru druge grupe ispitanika nakon četiri meseca, dobili smo statistički značajan gubitak vertikalne dimenzije grebena u sve tri posmatrane grupe. Dinamika promena vrednosti vertikalne dimenzije tokom posmatranog četvoromesečnog perioda se statistički značajno razlikovala između kontrolnih i eksperimentalnih alveola (Dvofaktorska analiza varijanse, faktor vreme* rekonstrukcija alveole; $p=0.000$). Upoređujući prosečan gubitak vertikalne dimenzije alveola prve eksperimentalne grupe sa kontrolnom grupom alveola tokom prvih 30 dana vidi se da je postojala značajna razlika, odnosno gubitak je bio veći kod kontrolne grupe alveola ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.3.). Isto tako je zabeležen značajan gubitak vertikalne dimenzije kontrolne grupe alveola u odnosu na prvu grupu eksperimentalnih alveola u periodu od 30. do

120 dana posmatranja ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.3.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (VD) između prve eksperimentalne i kontrolne grupe sem u nultom-nakon ekstrakcije zuba ($p=0.796$), nađena je u svakom posmatranom vremenu merenja, tridesetom ($p=0.000$) i stodvadesetom danu ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.4.).

Upoređujući prosečan gubitak vertikalne dimenzije alveola druge eksperimentalne grupe sa kontrolnom grupom alveola, tokom prvih 30 dana vidi se da je postojala značajna razlika ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.3.). Isto tako je zabeležen značajan gubitak vertikalne dimenzije kontrolnih u odnosu na drugu grupu eksperimentalnih alveola, u periodu od 30. do 120 dana posmatranja ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.3.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (VD) između druge eksperimentalne i kontrolne grupe sem u nultom-nakon ekstrakcije zuba ($p=1.000$), nađena je u svakom posmatranom vremenu merenja; tridesetom ($p=0.000$) i stodvadesetom danu ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.4.).

Poređenjem ovog parametra između prve i druge eksperimentalne grupe alveola u okviru druge grupe ispitanika se može videti da je postojala značajna razlika u prosečnom gubitku vertikalne dimenzije alveola 30. dana merenja ($p=0.014$) (tabela 8.2.2.3.). Takođe je zabeležena značajna razlika prosečnih promena ovog parametra eksperimentalnih alveola u periodu od 30. do 120. dana posmatranja ($p=0.037$) (tabela 8.2.2.3.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (VD) između prve i druge eksperimentalne grupe alveola sem u nultom-nakon ekstrakcije zuba ($p=0.718$), nađena je u svakom posmatranom vremenu merenja; tridesetom ($p=0.000$) i stodvadesetom danu ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.4.).

Grafikon 8.2.2.1. prikazuje dinamiku promena VD kod eksperimentalnih i kontrolne grupe alveola u okviru druge grupe ispitanika.

8.2.2.2. Horizontalna dimenzija alveolarne čašice (HD)

Rezultati prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+M)

Nakon primarne hirurške procedure kod prve grupe eksperimentalnih alveola zabeležena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije od $8.76\pm 1.52\text{mm}$ (tabela 8.2.2.1.).

30 dana nakon ekstrakcije, izmerena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije alveola od $7.25\pm 1.40\text{mm}$, dok je prosečna vrednost horizontalne dimenzije dobijena merenjem 120. dana iznosila $7.13\pm 1.39\text{mm}$ (tabela 8.2.2.1.).

Vrednost horizontalne dimenzije u prvoj grupi eksperimentalnih alveola u periodu prvih trideset dana nakon ekstrahiranja zuba se statistički značajno smanjila ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosti iznosila $1.51\pm 0.34\text{mm}$ (tabela 8.2.2.2.). U periodu od 30. do 120. dana od ekstrakcije takođe je došlo do statistički značajnog smanjenja horizontalne dimenzije ($p=0.000$), a promena prosečnih vrednosti je iznosila $0.12\pm 0.02\text{mm}$ (tabela 8.2.2.2.).

Rezultati druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M)

Nakon primarne hirurške procedure kod druge grupe eksperimentalnih alveola zabeležena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije od $9.49\pm 1.84\text{mm}$ (tabela 8.2.2.1.).

30 dana nakon ekstrakcije, izmerena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije alveola od $8.75\pm 1.21\text{mm}$, dok je prosečna vrednost horizontalne dimenzije dobijena merenjem 120. dana iznosila $8.69\pm 1.68\text{mm}$ (tabela 8.2.2.1.).

Vrednost horizontalne dimenzije u prvoj grupi eksperimentalnih alveola u periodu prvih trideset dana nakon ekstrahiranja zuba se značajno smanjila statistički značajno smanjila ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosti iznosila $0.73\pm 0.16\text{mm}$ (tabela 8.2.2.2.). U periodu od 30. do 120. dana od ekstrakcije nije došlo do klinički i radiografski značajne redukcije širine grebena koja je iznosila $0.05\pm 0.01\text{mm}$, ali je ta redukcija ipak konstatovana kao statistički značajna ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.2.).

Rezultati kontrolne grupe2

Prosečna vrednost horizontalne dimenzije na selektovanim presecima snimaka kontrolnih alveola koji su načinjeni nakon ekstrakcije zuba iznosili su $8.67\pm 1.73\text{mm}$ (tabela 8.2.2.1.). Trideset dana nakon ekstrakcije zuba, izmerena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije alveola od $5.65\pm 1.29\text{mm}$ (tabela 8.2.2.1.). Četiri meseca nakon primarne hirurške procedure zabeležena je prosečna vrednost horizontalne dimenzije alveola od $5.41\pm 1.25\text{mm}$ (tabela 8.2.2.1.).

Rezultati merenja vrednosti horizontalne dimenzije kod kontrolnih alveola nakon trideset dana od ekstrakcije pokazuju da je došlo do statistički značajnog smanjenja ovog

parametra ($p=0.000$), pri čemu je promena prosečnih vrednosti iznosila $3.02\pm 0.48\text{mm}$ (tabela 8.2.2.2.).

U periodu od 30. do 120. dana od ekstrakcije došlo je takođe do statistički značajnog smanjenja HD kontrolnih alveola ($p=0.000$), a promena prosečnih vrednosti u ovom vremenskom intervalu je iznosila $0.24\pm 0.04\text{mm}$ (tabela 8.2.2.2.).

Komparacija rezultata HD dobijenih unutar eksperimentalnih i kontrolne grupe alveola

Komparirajući i statistički evaluirajući prosečne promene vrednosti HD dobijene u okviru kontrolne i eksperimentalnih grupa alveola u okviru prve grupe ispitanika, nakon četiri meseca, dobili smo statistički značajan gubitak horizontalne dimenzije grebena u sve tri posmatrane grupe, iako je gubitak bio minimalan u drugoj eksperimentalnoj grupi alveola. Dinamika promena vrednosti horizontalne dimenzije tokom posmatranog četvoromesečnog perioda se statistički značajno razlikovala između kontrolnih i eksperimentalnih alveola (Dvofaktorska analiza varijanse, faktor vreme* rekonstrukcija alveole; $p=0.000$).

Upoređujući prosečnu redukciju horizontalne dimenzije alveola prve eksperimentalne grupe sa kontrolnom grupom alveola tokom prvih 30 dana vidi se da je kod kontrolne grupe alveola ova redukcija bila značajna u poređenju sa prvom eksperimentalnom grupom ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.5.). Isto tako je zabeležena značajan gubitak HD kontrolne u odnosu na prvu grupu eksperimentalnih alveola u periodu od 30. do 120 dana posmatranja ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.5.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (HD) između prve eksperimentalne i kontrolne grupe sem u nultom-nakon ekstrakcije zuba ($p=1.000$), nađena je u svakom posmatranom vremenu merenja; tridesetom ($p=0.026$) i stodvadesetom danu ($p=0.014$) (tabela 8.2.2.6.).

Upoređujući prosečnu redukciju širine alveola druge eksperimentalne grupe sa kontrolnom grupom alveola tokom prvih 30 dana vidi se da je postojala značajna redukcija ovog parametra u kontrolnoj grupi alveola ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.5.). Isto tako je zabeležena značajna razlika redukcije HD kontrolnih u odnosu na prvu eksperimentalnu grupu alveola u periodu od 30. do 120 dana posmatranja ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.5.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (HD) između prve eksperimentalne i kontrolne grupe sem u nultom-nakon ekstrakcije zuba ($p=0.700$), nađena je u svakom posmatranom vremenu merenja; tridesetom ($p=0.000$) i stodvadesetom danu ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.6.).

Poređenjem ovog parametra između prve i druge eksperimentalne grupe alveola u okviru prve grupe ispitanika se može videti da je takođe postojala značajna razlika prosečnog gubitka HD alveola 30. dana merenja kod prve grupe eksperimentalnih alveola u odnosu na drugu ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.5.). Takođe je zabeležena značajan gubitak HD kod prve grupe eksperimentalnih alveola u odnosu na drugu grupu u periodu od 30. do 120. dana posmatranja ($p=0.000$) (tabela 8.2.2.5.). Statistički značajna razlika u prosečnoj vrednosti ovog parametra (HD) između prve i druge eksperimentalne grupe alveola u okviru druge grupe ispitanika nije postojala neposredno nakon ekstrakcije ($p=0.800$), ali je registrovana tridesetog ($p=0.042$) i stodvadesetog dana ispitivanja ($p=0.030$) (tabela 8.2.2.6.).

Grafikon 8.2.2.2. prikazuje dinamiku promena HD kod eksperimentalnih i kontrolne grupe alveola u okviru druge grupe ispitanika.

8.2.3. Rezultati komparacije radiografskih merenja obe grupe ispitanika

8.2.3.1. Vertikalna dimenzija (VD)

Rezultati poređenja prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS) prve grupe ispitanika sa prvom grupom eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+M) kod druge grupe ispitanika

Upoređujući radiografska merenja dubine eksperimentalnih alveola nakon primene različitih terapijskih modaliteta (bez membrane i sa membranom) se uočava da je u prvih trideset dana kod rhBMP-2/ACS grupe prosečna redukcija vertikalne dimenzije alveola iznosila 1.61 ± 1.03 mm, a kod rhBMP-2/ACS+M grupe alveola 1.14 ± 1.81 mm, što nije bilo statistički značajno ($p=0.085$) (tabela 8.2.3.1.). U periodu od 30. do 120. dana došlo je do dodatne redukcije VD što je kod rhBMP-2/ACS grupe u proseku iznosilo 0.53 ± 0.35 mm, a kod rhBMP-2/ACS+M grupe 0.47 ± 0.31 mm, ali ni ta redukcija se, poređenjem ovih terapijskih modaliteta, nije pokazala kao statistički značajna ($p=0.091$) (tabela 8.2.3.1.).

Rezultati poređenja druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP) prve grupe ispitanika sa drugom grupom eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M) kod druge grupe ispitanika

Prosečna redukcija vertikalne dimenzije kod rhBMP-2/ACS+TCP grupe alveola je iznosila 1.05 ± 0.78 mm, dok je kod rhBMP-2/ACS+TCP+M grupe alveola bila 0.74 ± 0.41 mm, što je nakon međusobnog poređenja primenom odgovarajućih statističkih testova pokazalo da ne postoji statistički značajna razlika ($p=0.684$) (tabela 8.2.3.1.). U periodu od 30. do 120. dana došlo je do dodatne redukcije VD što je kod rhBMP-2/ACS+TCP grupe u proseku iznosilo 0.39 ± 0.27 mm, a kod rhBMP-2/ACS+TCP+M grupe 0.30 ± 0.16 mm, što se nije pokazalo kao statistički značajna razlika ($p=0.690$) (tabela 8.2.3.1.).

8.2.3.2. Horizontalna dimenzija (HD)

Rezultati poređenja prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS) prve grupe ispitanika sa prvom grupom eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+M) kod druge grupe ispitanika

Komparacijom prosečnog gubitka HD tokom prvih 30 dana nakon ekstrakcije, koji je kod prve eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS) u okviru prve grupe ispitanika iznosio 1.82 ± 0.44 i 1.51 ± 0.34 kod druge grupe eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+M) u okviru druge grupe ispitanika, nije dobijena statistički značajna razlika ($p=0.056$) (tabela 8.2.3.1.). Upoređujući prosečan gubitak HD tokom narednog perioda (od 30. do 120. dana), koji je kod rhBMP-2/ACS grupe alveola iznosio 0.14 ± 0.03 i rhBMP-2/ACS grupe alveola 0.12 ± 0.02 mm, nije se pokazao kao statistički značajano različit ($p=0.067$) (tabela 8.2.3.1.).

Rezultati poređenja druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP) prve grupe ispitanika sa drugom grupom eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M) kod druge grupe ispitanika

Komparacijom prosečnog gubitka HD tokom 30 dana nakon ekstrakcije, koji je kod druge eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP) u okviru prve grupe ispitanika iznosio 1.37 ± 0.28 mm i 0.73 ± 0.16 mm kod druge grupe eksperimentalnih alveola (rhBMP-2/ACS+TCP+M) u okviru druge grupe ispitanika dobijena je statistički značajna razlika ($p=0.000$) (tabela 8.2.3.1.). Upoređujući prosečan gubitak HD tokom narednog perioda (od 30. do 120. dana), koji je kod rhBMP-2/ACS grupe alveola iznosio 0.11 ± 0.02 m i rhBMP-2/ACS grupe alveola 0.05 ± 0.01 mm, se pokazao kao statistički značajan ($p=0.000$) (tabela 8.2.3.1.).

8.2.1. Rezultati korelacije kliničkih i radiografskih merenja

Koristeći odgovarajući softver određeni su stepen i oblik zavisnosti (Pearsonova korelacija) između radiografskih i direktnih kliničkih merenja.

Tabela 8.2.4.1. prikazuje stepen korelacije između radiografskih i direktnih kliničkih merenja i njenu statističku značajnost. Analiza tabele pokazuje da je stepen korelacije radiografskih i direktnih kliničkih merenja, koja se odnose na visinu i širinu alveolarnog gebena 0. i 120. dana merenja, vrlo visoka ($0.9 < r \leq 1$) i statistički značajna ($p=0.000$). Oblik zavisnosti radiografskih i direktnih kliničkih merenja je linearnog tipa i prikazan je grafički (grafikoni 8.2.1.1. 8.2.1.2, 8.2.1.3. i 8.2.1.4.).

8.3. REZULTATI HISTOLOŠKIH ISPITIVANJA

Nakon perioda posmatranja ekstrakcionih rana, tokom sekundarne hirurške procedure, uzeti su uzorci novoformiranog koštanog tkiva svih eksperimentalnih ekstrakcionih rana i prosleđeni na histološku analizu. Kliničkom opservacijom (makroskopski) rezidualnog grebena na mestu eksperimentalnih ekstrakcionih rana, nakon 120 dana posmatranja, primećeno je da je veći deo grebena dimenziono očuvan ili da je minimalno resorbovan (klasa A i B prema klasifikaciji Lekholma i Zarba) (Lekholm i Zarb, 1985). Novoformirano koštano tkivo kod većine eksperimentalnih ekstrakcionih rana koje su bile prekrivene membranom bilo je prekriveno tankim korteksom ispod koga se nalazilo nezrelo koštano tkivo (klasa 3 i 4. prema klasifikaciji Lekholma i Zarba). Ekstrakcione rane gde je preparat na bazi faktora rasta bio primenjen sa aloplastičnim materijalom bez membrane, kortikalni deo je nedostajao ili je bio izuzetno tanak sa inkorporiranim granulana materijala koštanog zamenika koji se delom nalazio i u vezivnom tkivu gingive.

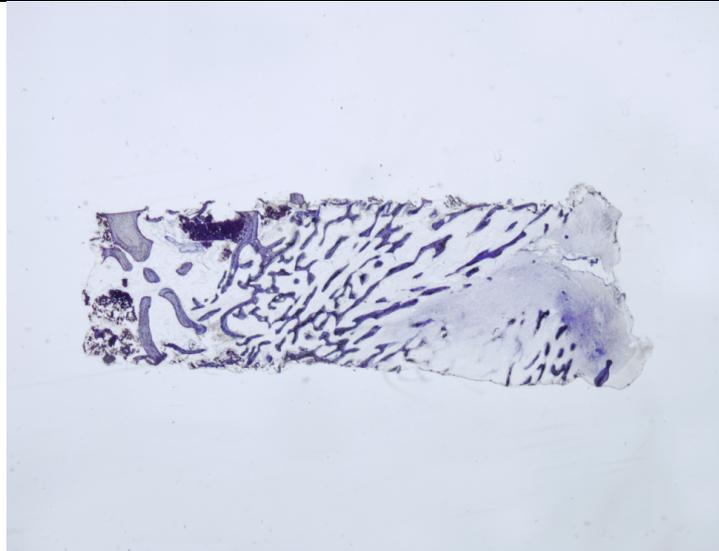
Analiza koštanih uzoraka prezerviranih alveola

Histološki nalazi novoformiranog koštanog tkiva nisu se razlikovali kod terapijskih modaliteta (rhBMP-2/ACS i rhBMP-2/ACS+M). Pregledom histoloških preparata pod mikroskopom (od najmanjeg x 1 do najvećeg x 100 uveličanja) se zapaža prisustvo mnoštvo tankih novoformiranih koštaih gređica koje se kontinuirano nastavljaju na preostale delove alveolarne kosti na dnu alveole. Na većem uveličanju je bilo evidentno da su koštane gređice sastavljene većim delom od trabekularne kosti dok se lamelarna, zrela kost, kontinuirano nastavljala na gređice nezrele kosti. Koštano sržni prostori sa dosta krvnih sudova su bili ravnomerno raspoređeni između koštanih gređica celom dužinom koštanog uzorka. Delovi rezidualnog kolagenog nosača nisu bili identifikovani na ni jednom od uzetih uzoraka. Znakova inflamacije, i infiltracije inflamatornim ćelijama, takođe nije bilo. Slike 8.3.1, 8.3.2, 8.3.3. i 8.3.4. prikazuju uzorak novoformiranog koštanog tkiva alveole koja je prezervirana preparatom na bazi rhBMP-2/ACS, uzorci su slikani pod uveličanjem x 1, x 2 i x 4.

Kod alveola koje su bile prezervirane preparatom na bazi rhBMP-2/ACS u kombinaciji sa preparatom na bazi kalcijum fosfata postojala je razlika histološkog nalaza u koronarnom delu uzetog uzorka koštanog tkiva. U koronarnom delu kod uzoraka gde je preko

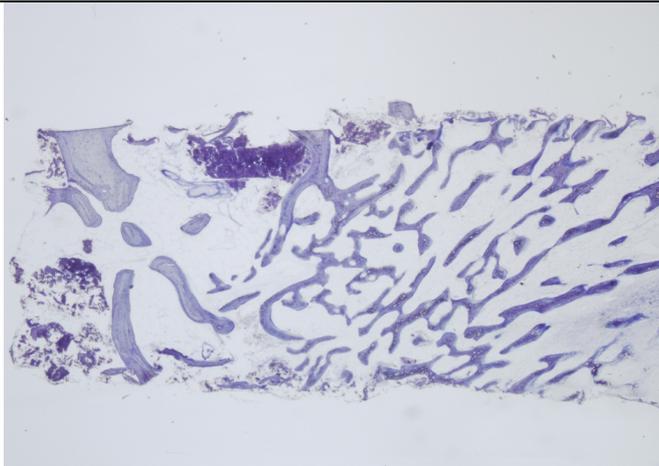
alveole postavljena resorptivna kolagena membrana, zapaženo je prisustvo tankog sloja kosti koji je premošćavao alveolu nastavljajući se na mezijalnu i distalnu granicu alveolarne čašice. Taj sloj se sastojao od trabekularne kosti za znakovima remodelovanja. Kod uzoraka novoformiranog koštanog tkiva alveola koje su prezervirane istom kombinacijom materijala preko kojih nije postavljena membrana nakon prezervacije, novoformirana kost nije bila premoštena tankim slojem kosti, a zaostali neresorbovani delovi sintetskog koštanog grafta su se nastavljali na vezivno tkivo gingive koje ga je mestimično inkapsuliralo. Ostali delovi uzorka bili su po svom histološkom nalazu slični. Koštane gredice, izgrađene od trabekularne kosti i mestimično lamelarne kosti, su bile široke i i mestimično su formirale lakune nepravilnog oblika gde su se nalazile granule grafta u različitim fazama resorpcije. Koštanosržni prostori su se nalazili između gredica novoformirane kosti. U njima nisu registrovani inflamatorni ćelijski infiltrati. Slike 8.3.5 i 8.3.6. prikazuju uzorak novoformiranog koštanog tkiva alveole koja je prezervirana preparatom na bazi rhBMP-2/ACS i sintetskim zamenikom za kost na bazi kalcijum fosfata, uzorci su slikani pod uveličanjem x 1 i x 2.

Slika 8.3.1.



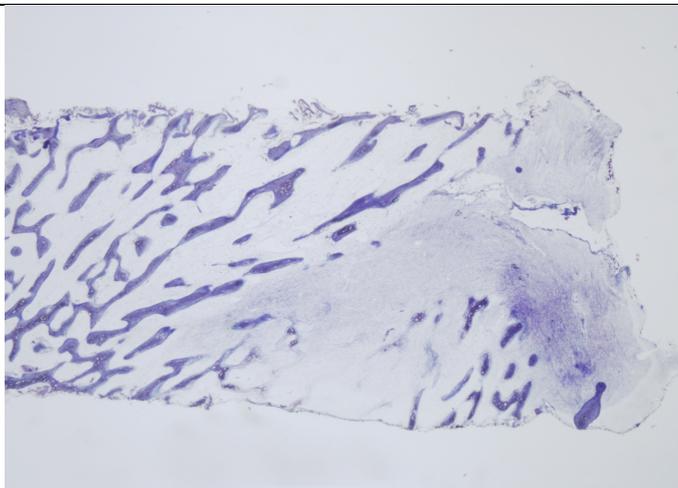
Uzorak novoformiranog koštanog tkiva iz eksperimentalne alveole (rhBMP-2/ACS) u regionu 34, 4 meseca od ekstrakcije; uveličanje x 1

Slika 8.3.2.



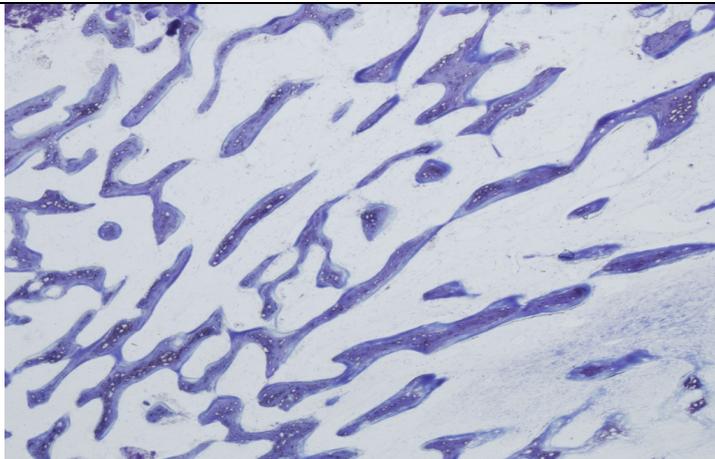
Uzorak novoformiranog koštanog tkiva (apikalni deo) iz eksperimentalne alveole (rhBMP-2/ACS) u regionu 34, 4 meseca od ekstrakcije; uveličanje x 2

Slika 8.3.3.



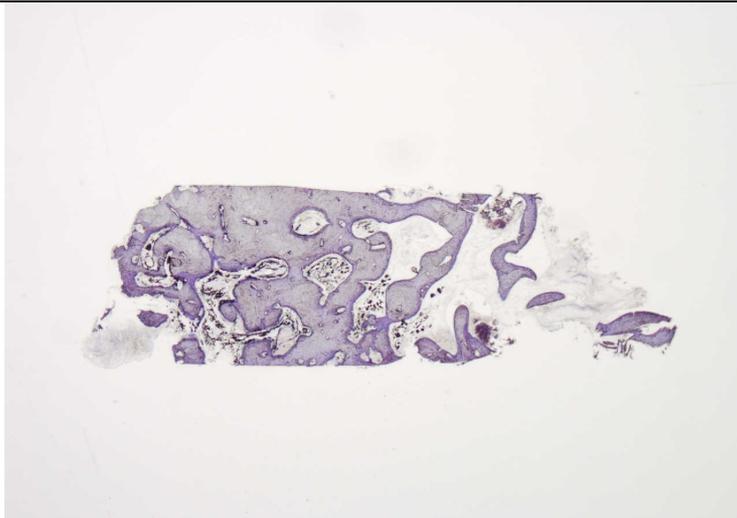
Uzorak novoformiranog koštanog tkiva (koronarni deo) iz eksperimentalne alveole (rhBMP-2/ACS) u regionu 34, 4 meseca od ekstrakcije; uveličanje x 2

Slika 8.3.4.



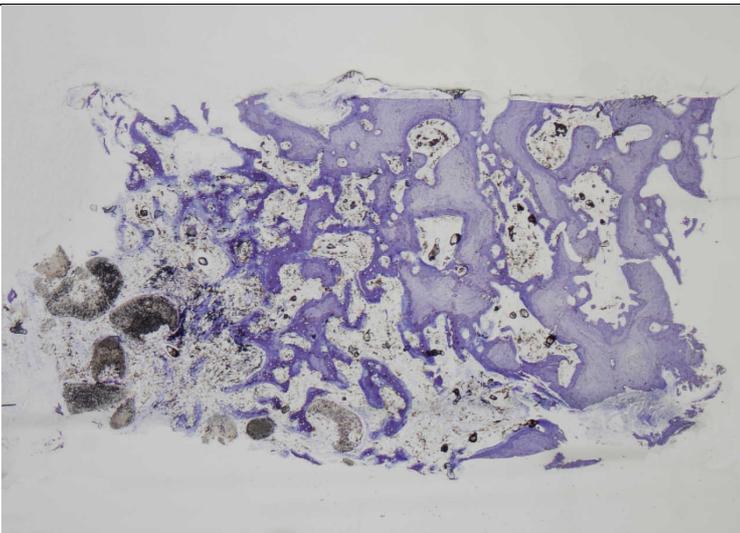
Uzorak novoformiranog koštanog tkiva (središnji deo) iz eksperimentalne alveole (rhBMP-2/ACS) u regionu 34, 4 meseca od ekstrakcije; uveličanje x 4

Slika 8.3.5.



Uzorak novoformiranog koštanog tkiva iz eksperimentalne alveole (rhBMP-2/ACS+TCP) u regionu 36, 4 meseca od ekstrakcije; uveličanje x 1

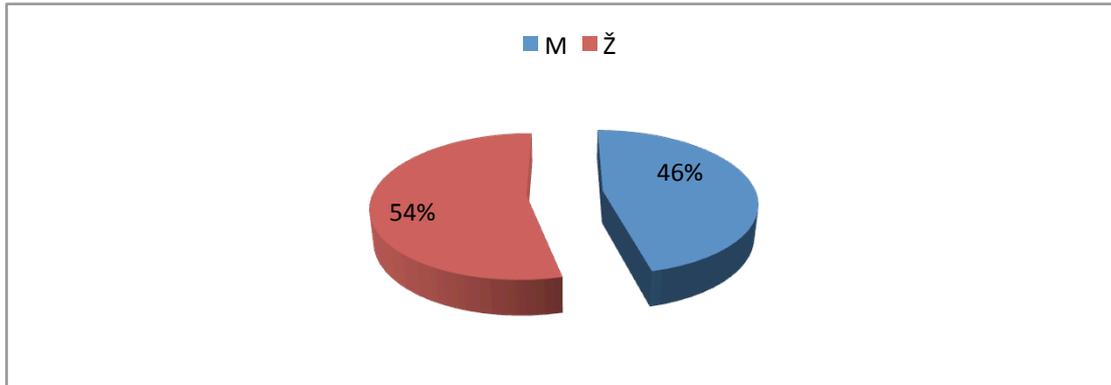
Slika 8.3.6.



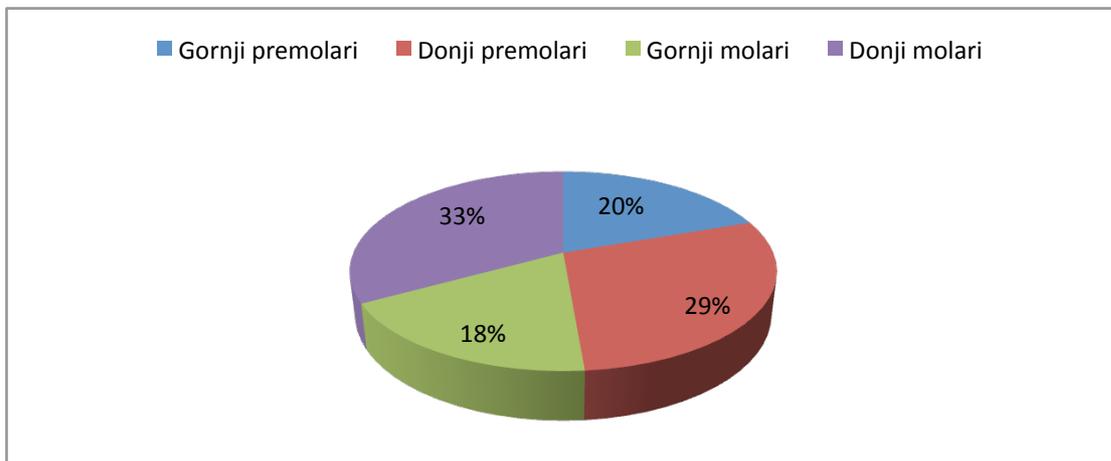
Uzorak novoformiranog koštanog tkiva (koronarni deo) iz eksperimentalne alveole (rhBMP-2/ACS+TCP) u regionu 36, 4 meseca od ekstrakcije; uveličanje x 2

Grafički i tabelarni prikaz rezultata

Grafikon 8.1. Odnos muškaraca i žena u uzorku ispitanika (N=26)



Grafikon 8.2. Procentualna zastupljenost ekstrahovanih premolara i molara u obe vilice (N=78)



Grafikon 8.3. Najčešći uzroci za ekstrakciju zuba koji su bili uključeni u ispitivanje

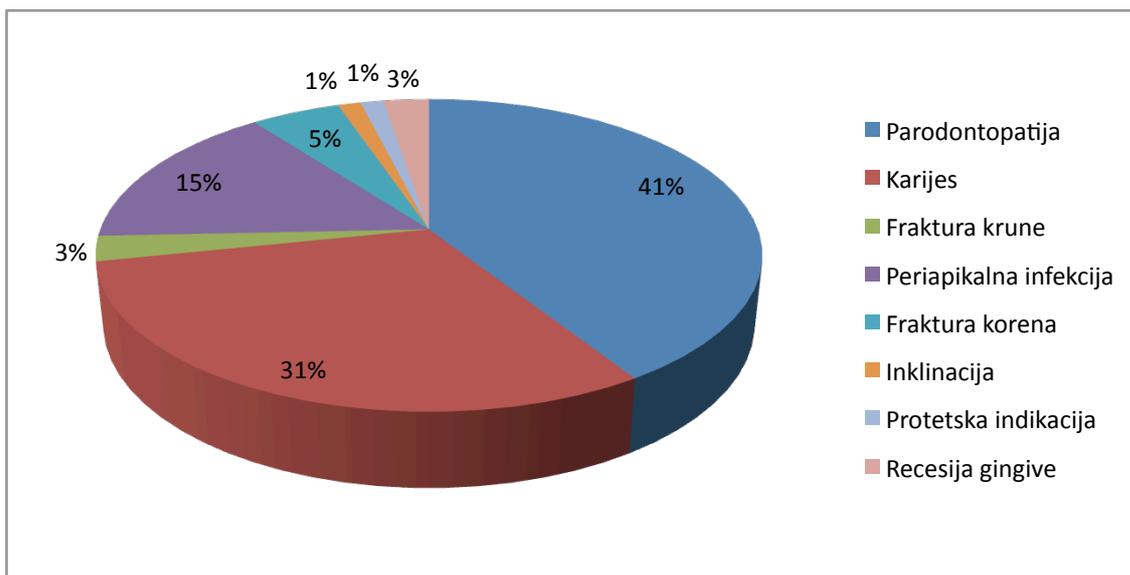


Tabela 8.1.1.1. Mere deskripcije za konturu mekog tkiva, nedostatak visine mekog tkiva i širinu keratinizovane gingive kod I i II grupe ispitanika u regionima zuba indikovanih za ekstrakciju

| Parametri | grupa | Mere deskripcije | | | | | 95% Interval poverenja | |
|---|----------|---------------------|----------------------------|----------------|---------------|----------------|------------------------|-------------|
| | | Aritmetička sredina | Standardna devijacija (SD) | Medijana (Med) | Minimum (Min) | Maksimum (Max) | Donji nivo | Gornji nivo |
| Kontura mekog tkiva (mm) | I grupa | 1.13 | 1.19 | 1.00 | 0 | 3 | 0.74 | 1.52 |
| | II grupa | 0.95 | 1.16 | 0.00 | 0 | 3 | 0.57 | 1.33 |
| Nedostatak visine mekog tkiva (mm) | I grupa | 0.67 | 0.81 | 0.00 | 0 | 2 | 0.41 | 0.93 |
| | II grupa | 0.64 | 0.87 | 0.00 | 0 | 3 | 0.36 | 0.92 |
| Širina keratinizovane gingive (mm) | I grupa | 3.62 | 1.11 | 4.00 | 2 | 6 | 3.25 | 3.98 |
| | II grupa | 3.56 | 0.94 | 3.00 | 2 | 6 | 3.26 | 3.87 |

Tabela 8.1.1.2. Rezultati poređenja parametara koji se odnose na karakteristike mekog tkiva prve i druge grupe ispitanika

| Parametri | Vrsta poređenja | p (Mann-Whitney U test) |
|--------------------------------------|--------------------|-------------------------|
| Kontura mekog tkiva | I grupa - II grupa | =0.494 |
| Nedostatak visine mekog tkiva | I grupa - II grupa | =0.763 |
| Širina keratinizovane gingive | I grupa - II grupa | =0.751 |

Grafikon 8.1.1.1. Grafički prikaz distribucije određenih karakteristika mekih tkiva u regionu zuba indikovanih za ekstrakciju kod obe grupe ispitanika prema parametrima klasifikacije *Juodzbalya i sar. 2008. godine*

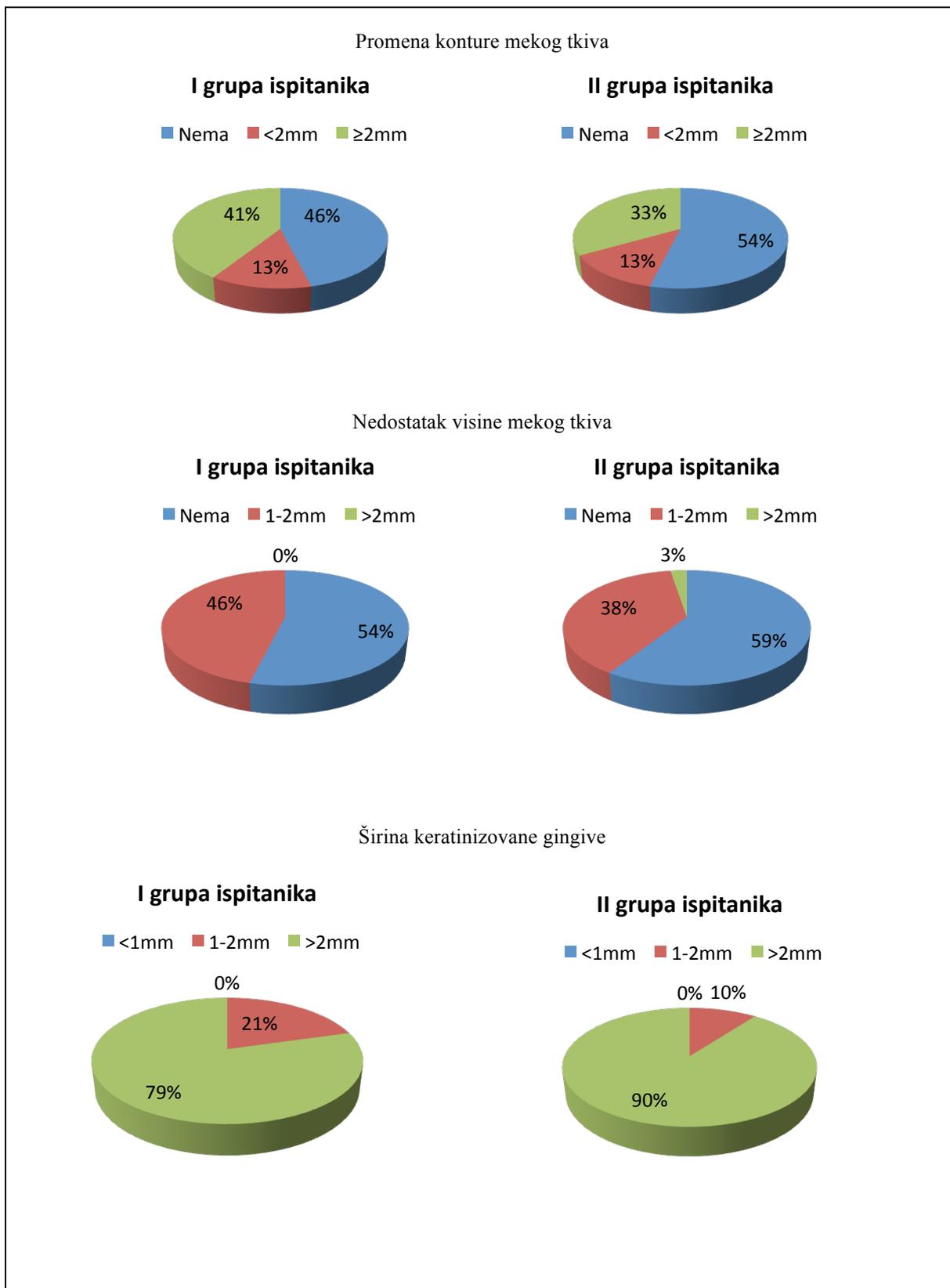


Tabela 8.1.1.3. Distribucija frekvencija (n[%]) i rezultati poređenja za mezijalnu i distalnu papilu, kvalitet mekog tkiva i biotip gingive kod I i II grupe ispitanika u predelu zuba indikovanih za ekstrakciju

| Parametri | Klasa/karakteristike | Grupa ispitanika | | p (χ^2 test) |
|------------------------------------|----------------------|------------------|-----------|--------------------|
| | | I grupa | II grupa | |
| Mezijalna papila (n[%]) | I | 13 (33.3) | 9 (23.1) | =0.580 |
| | II | 20 (51.3) | 24 (51.5) | |
| | III | 6 (15.4) | 6 (15.4) | |
| | | | | |
| Distalna papila (n[%]) | I | 24 (61.5) | 22 (56,4) | =0.745 |
| | II | 11 (28.2) | 14 (35.9) | |
| | III | 4 (10.3) | 3 (7.7) | |
| | | | | |
| Kvalitet mekog tkiva (n[%]) | Adekvatan | 11 (28.2) | 8 (20.5) | =0.668 |
| | Kompromitovan | 16 (41.0) | 16 (41.0) | |
| | Deficijentan | 12 (30.8) | 15 (38.5) | |
| | | | | |
| Biotip (n[%]) | Tanak | 10 (25.6) | 13 (33.3) | =0.105 |
| | Umeren | 9 (23.1) | 15 (38.5) | |
| | Debeo | 20 (51.3) | 11 (28.2) | |

Grafikon 8.1.1.2. Grafički prikaz distribucije određenih karakteristika mekih tkiva u regionu zuba indikovanih za ekstrakciju kod obe grupe ispitanika prema parametrima klasifikacije *Juodzbalya i sar. 2008.godine*

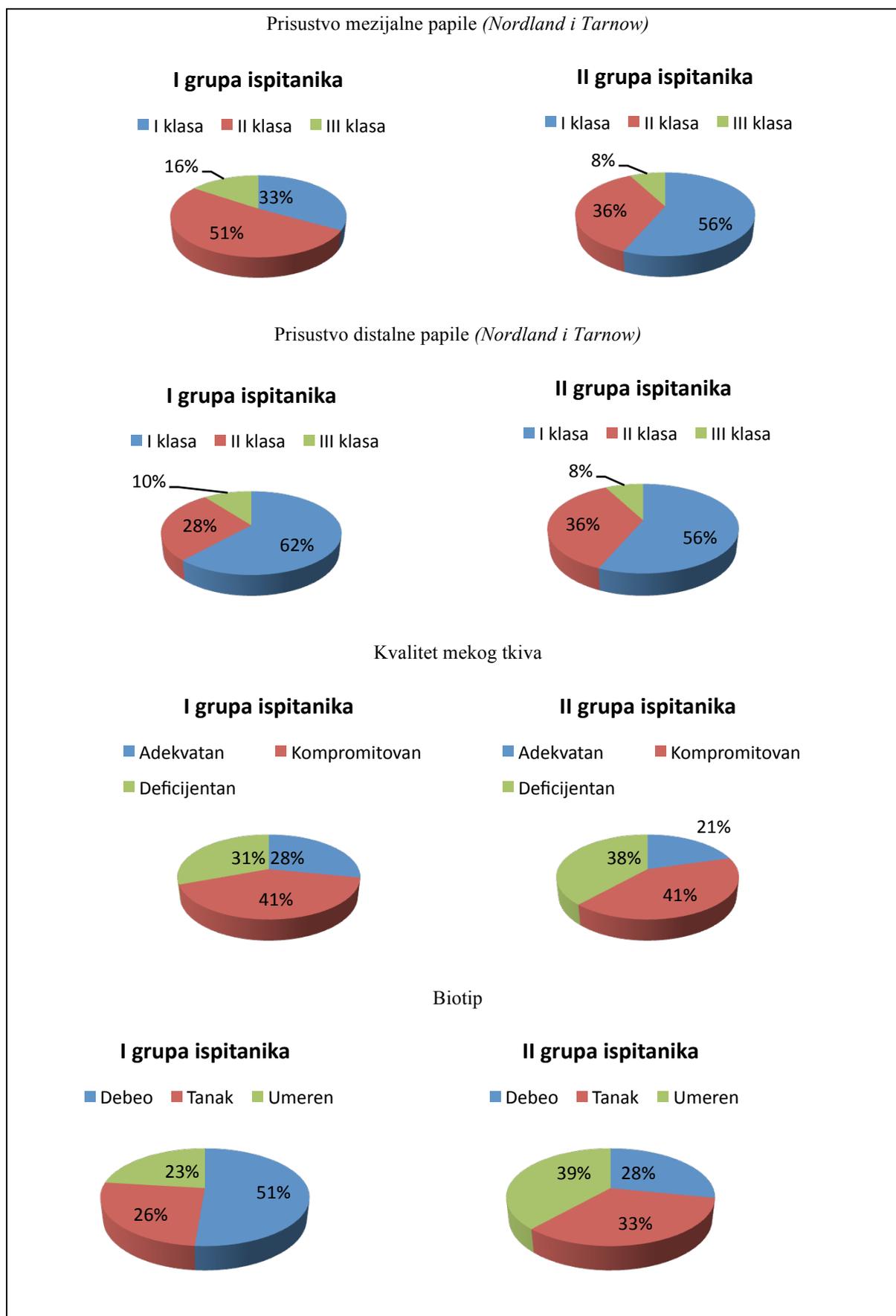


Tabela 8.1.1.4. Distribucija frekvencija (n[%]) i rezultati poređenja klasifikacije mekih tkiva u regionu ekstrakcionih rana na dan ekstrakcije zuba kod I i II grupe ispitanika

| Klasifikacija prema Juodzbalyu i sar. 2008. | | | |
|---|------------------|-----------|--------------------|
| Klasa n[%] | Grupa ispitanika | | p (χ^2 test) |
| | I grupa | II grupa | |
| I | 11 (28.2) | 5 (12.8) | =0.213 |
| II | 13 (33.3) | 18 (46.2) | |
| III | 15 (38.5) | 16 (41.0) | |

Grafikon 8.1.1.3. Grafički prikaz klasifikacije mekih tkiva ekstrakcione rane prema Juodzbalyu i sar. 2008.

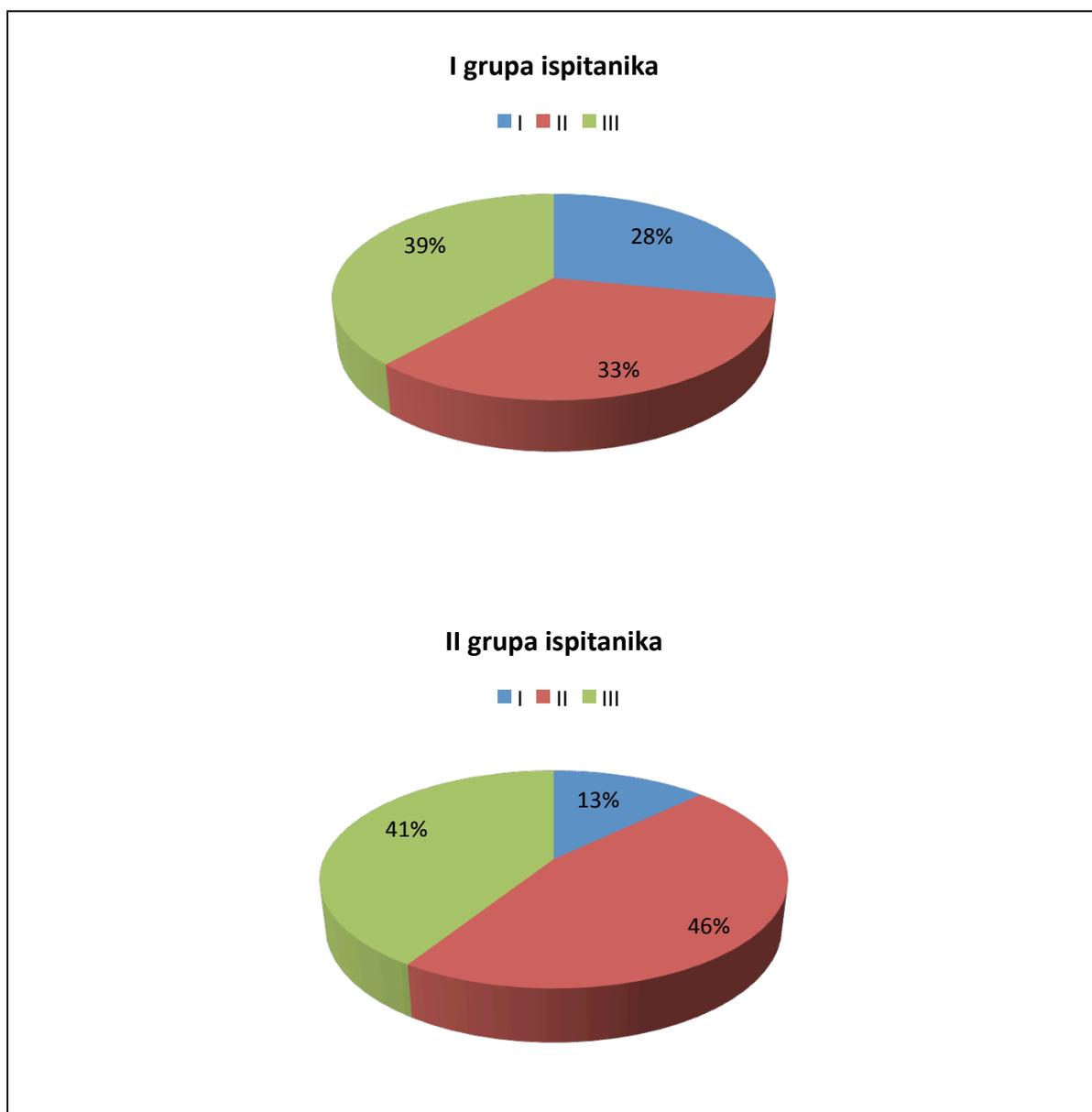
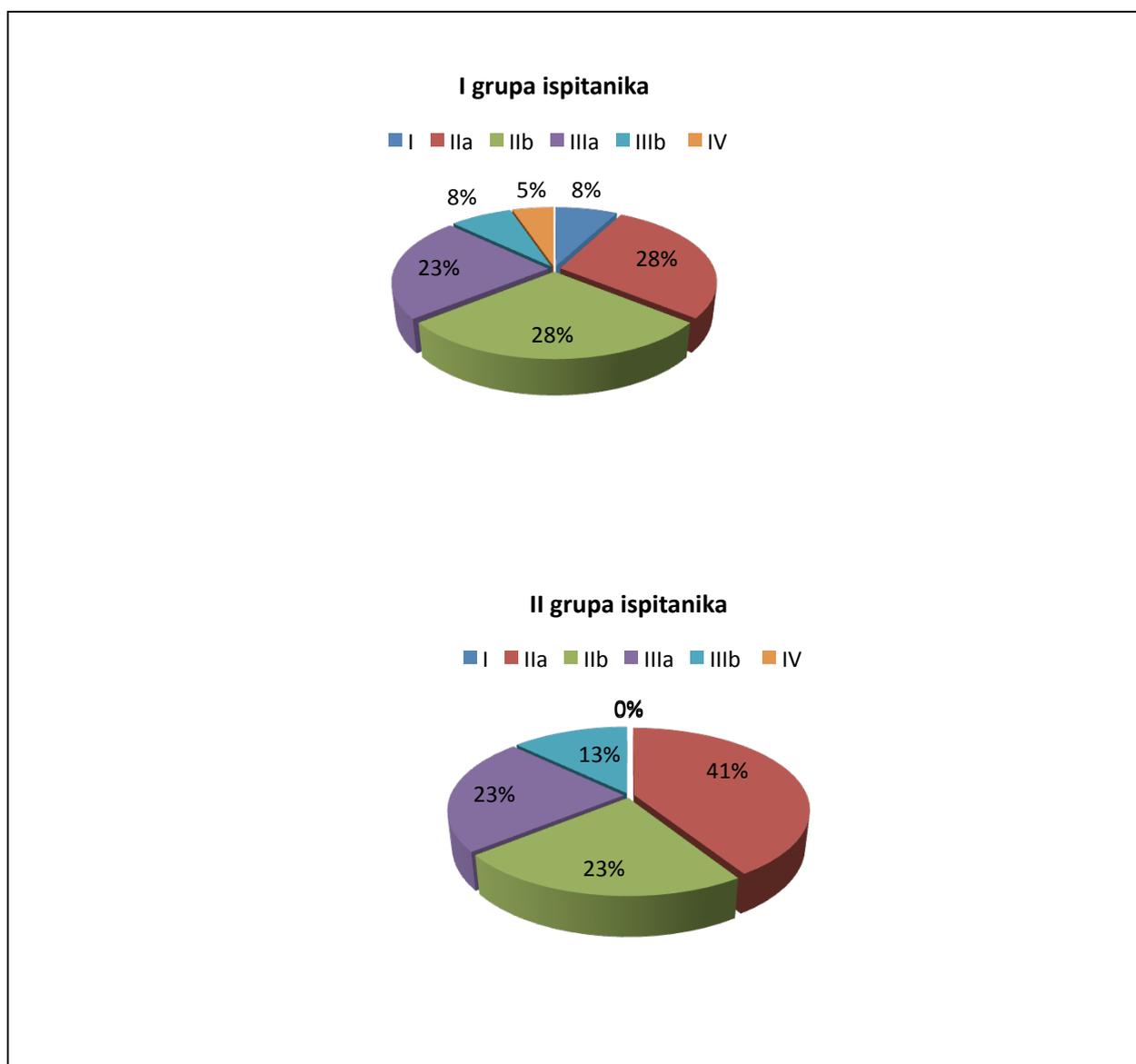


Tabela 8.1.2.1. Distribucija frekvencija (n[%]) i rezultati poređenja klasifikacije alveola u regionu ekstrakcione rane nakon ekstrakcije zuba kod obe grupe pacijenata

| Klasifikacija prema Lekoviću i sar. 1997. | | | p (χ^2 test) |
|---|------------------|-----------|--------------------|
| Klasa n[%] | Grupa ispitanika | | |
| | I grupa | II grupa | =0.250 |
| I | 3 (7.7) | 5 (12.8) | |
| IIa | 11 (28.2) | 16 (41.0) | |
| IIb | 11 (28.2) | 9 (23.1) | |
| IIIa | 9 (23.1) | 9 (23.1) | |
| IIIb | 3 (7.7) | 5 (12.8) | |
| IV | 2 (5.1) | 0 (0) | |

Grafikon 8.1.2.1. Grafički prikaz klasifikacije ekstrakcionih rana prema *Lekoviću i sar. 1997.*



Grafički i tabelarni prikaz rezultata kliničkih merenja

Tabela 8.1.3.1. Mere deskripcije za EVM, IVM i HM kod prve grupe (rhBMP-2/ACS), druge grupe (rhBMP-2/ACS+TCP) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (kontrola1) u okviru prve grupe ispitanika (N=13) na dan ekstrakcije zuba i 4 meseca posle

| Parametri | Vreme | Alveola N=39 | Mere deskripcije | | | | | 95% Interval poverenja | |
|-----------|---------|-----------------|---------------------|----------------------------|----------------|---------------|----------------|------------------------|-------------|
| | | | Aritmetička sredina | Standardna devijacija (SD) | Medijana (Med) | Minimum (Min) | Maksimum (Max) | Donji nivo | Gornji nivo |
| EVM | Dan 0 | rhBMP-2/ACS | 8.23 | 2.20 | 8 | 5 | 12 | 6.90 | 9.56 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 9.08 | 2.72 | 9 | 5 | 14 | 7.43 | 10.72 |
| | | kontrola1 | 8.92 | 2.02 | 9 | 5 | 13 | 7.70 | 10.14 |
| | Dan 120 | rhBMP-2/ACS | 6.54 | 1.66 | 6 | 4 | 9 | 5.53 | 7.54 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 7.92 | 2.32 | 8 | 4 | 12 | 6.52 | 9.33 |
| | | kontrola1 | 6.23 | 1.48 | 6 | 3 | 9 | 5.34 | 7.13 |
| IVM | Dan 0 | rhBMP-2/ACS | 10.00 | 2.71 | 9 | 6 | 14 | 8.36 | 11.64 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 10.38 | 2.75 | 10 | 7 | 14 | 8.72 | 12.05 |
| | | kontrola1 | 10.31 | 2.09 | 10 | 7 | 14 | 9.04 | 11.57 |
| | Dan 120 | rhBMP-2/ACS | 3.38 | 1.75 | 3 | 1 | 7 | 2.32 | 4.45 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 1.77 | 0.72 | 2 | 1 | 3 | 1.33 | 2.21 |
| | | kontrola1 | 5.31 | 1.44 | 5 | 3 | 8 | 4.44 | 6.18 |
| HM | Dan 0 | rhBMP-2/ACS | 8.85 | 1.72 | 9 | 7 | 12 | 7.80 | 9.89 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 8.23 | 1.59 | 8 | 6 | 11 | 7.27 | 9.19 |
| | | kontrola1 | 9.00 | 1.68 | 8 | 7 | 12 | 7.98 | 10.02 |
| | Dan 120 | rhBMP-2/ACS | 6.77 | 1.54 | 6 | 5 | 9 | 5.84 | 7.70 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 6.92 | 1.32 | 7 | 5 | 9 | 6.13 | 7.72 |
| | | kontrola1 | 5.23 | 1.66 | 5 | 4 | 7 | 4.53 | 5.94 |

8.1.3.2. Rezultati poređenja prosečnih promena ispitivanih parametara EVM, IVM i HM u funkciji vremena posmatranja kod prve grupe (**rhBMP-2/ACS**), druge grupe (**rhBMP-2/ACS+TCP**) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola1**)

| Vrsta poređenja | | Prosečna promena | Standardna devijacija (SD) | 95% Interval poverenja | | |
|-----------------|---------------|------------------|----------------------------|------------------------|-------------|------|
| | | | | Donji nivo | Gornji nivo | |
| EVM | Dan 0-Dan 120 | rhBMP-2/ACS | 1.69 | 0.75 | 1.23 | 2.14 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 1.16 | 0.55 | 0.81 | 1.48 |
| | | kontrola1 | 2.69 | 1.31 | 1.89 | 3.48 |
| | | p [‡] | 0.000* | | | |

| Vrsta poređenja | | Prosečna promena | Standardna devijacija (SD) | 95% Interval poverenja | | |
|-----------------|---------------|------------------|----------------------------|------------------------|-------------|------|
| | | | | Donji nivo | Gornji nivo | |
| IVM | Dan 0-Dan 120 | rhBMP-2/ACS | 6.62 | 1.50 | 5.70 | 7.52 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 8.61 | 2.14 | 7.32 | 9.91 |
| | | kontrola1 | 5.00 | 1.22 | 4.25 | 5.74 |
| | | p [‡] | 0.000* | | | |

| Vrsta poređenja | | Prosečna promena | Standardna devijacija (SD) | 95% Interval poverenja | | |
|-----------------|---------------|------------------|----------------------------|------------------------|-------------|------|
| | | | | Donji nivo | Gornji nivo | |
| HM | Dan 0-Dan 120 | rhBMP-2/ACS | 2.08 | 0.64 | 1.68 | 2.46 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 1.31 | 0.48 | 1.01 | 1.59 |
| | | kontrola1 | 3.77 | 0.72 | 3.33 | 4.20 |
| | | p [‡] | 0.000* | | | |

‡Dvofaktorska analiza varijanse sa ponovljenim merenjima; *statistički značajna razlika

8.1.3.3. Rezultati poređenja prosečnih promena posmatranih parametara tokom vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru prve grupe ispitanika

| Vrsta poređenja | | p |
|-------------------------------|------------------------------|---------------------|
| Prosečne promene (0.-120.dan) | | |
| EVM | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | 0.026 ^{#*} |
| | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | 0.001 ^{#*} |
| | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | 0.101 [§] |
| IVM | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | 0.006 ^{#*} |
| | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | 0.000 ^{#*} |
| | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | 0.011 ^{#*} |
| HM | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | 0.000 ^{#*} |
| | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | 0.000 ^{#*} |
| | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | 0.007 ^{§*} |

[#]t-test: za nezavisne uzorke; [§]Mann Whitney U test; *statistički značajna razlika

8.1.3.4. Rezultati poređenja prosečnih razlika parametara EVM, IVM i HM u jednom vremenu posmatranja ispitivanih grupa alveola rhBMP-2/ACS, rhBMP-2/ACS+TCP i kontrola1

| Parametri | Vrsta poređenja | Prosečna razlika (±SE) | 95% Interval poverenja | | p (t-test [#]) |
|--------------------------------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-------------|--------------------------|
| | rhBMP-2/ACS - kontrola1 | | Donji nivo | Gornji nivo | |
| EVM | 0 dan | 0.69±0.82 | -1.02 | 2.4 | =0.412 |
| | 120 dan | -0.31±0.61 | -1.58 | 0.96 | =0.623 |
| IVM | 0 dan | 0.31±0.95 | -1.65 | 2.26 | =0.749 |
| | 120 dan | 1.92±0.63 | 0.62 | 3.22 | =0.005* |
| HM | 0 dan | 0.15±0.66 | -1.22 | 1.53 | =0.820 |
| | 120 dan | -1.54±0.53 | -2.64 | -0.43 | =0.008* |
| kontrola1-rhBMP-2/ACS+TCP | | | | | |
| EVM | 0 dan | -0.15±0.94 | -2.09 | 1.78 | =0.871 |
| | 120 dan | -1.69±0.76 | -3.27 | -0.11 | =0.037* |
| IVM | 0 dan | -0.08±0.96 | -1.05 | 1.90 | =0.937 |
| | 120 dan | 3.54±0.44 | 2.61 | 4.46 | =0.000* |
| HM | 0 dan | 0.77±0.64 | -0.55 | 2.09 | =0.243 |
| | 120 dan | -1.69±0.48 | -2.70 | -0.68 | =0.002* |
| rhBMP-2/ACS - rhBMP-2/ACS+TCP | | | | | |
| EVM | 0 dan | -0.85±0.97 | -2.85 | 1.15 | =0.392 |
| | 120 dan | -1.38±0.79 | -3.02 | 0.25 | =0.094 |
| IVM | 0 dan | -0.38±1.07 | -2.59 | 1.82 | =0.723 |
| | 120 dan | 1.62±0.52 | 0.52 | 2.70 | =0.005* |
| HM | 0 dan | 0.62±0.65 | -0.72 | 1.95 | =0.354 |
| | 120 dan | -0.15±0.56 | -1,313 | -1.00 | =0.787 |

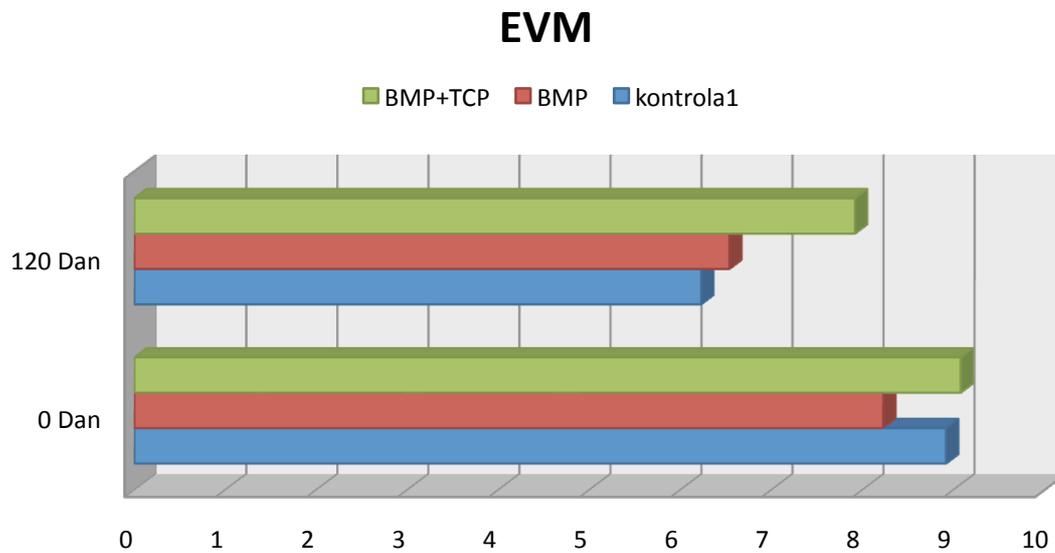
[#]t-test: za nezavisne uzorke; *statistički značajna razlika

Tabela 8.1.3.5. Komparacija dinamike promena posmatra nih parametara u funkciji vremena

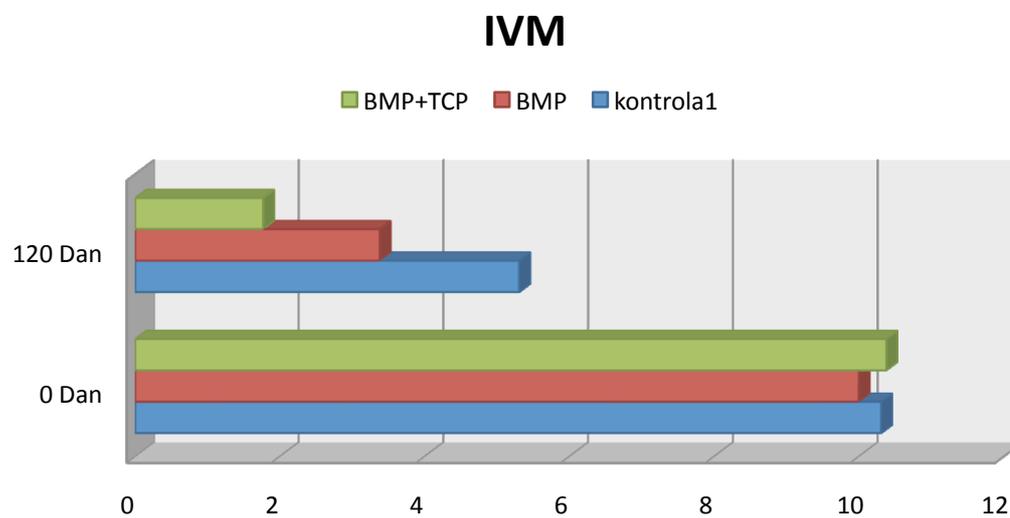
| Vrsta poređenja | | p [‡] |
|-------------------------------|------------------------------|----------------|
| Dinamika promene (0.-120.dan) | | |
| EVM | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | 0.026* |
| | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | 0.001* |
| | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | 0.048* |
| IVM | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | 0.006* |
| | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | 0.000* |
| | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | 0.011* |
| HM | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | 0.000* |
| | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | 0.000* |
| | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | 0.002* |

[‡]Dvofaktorska analiza varijanse sa ponovljenim merenjima; *statistički značajna razlika
Značajnost promene se odnosi na osenčene ispitivane grupe

Grafikon 8.1.3.1. Prosečna promena (EVM) kod prve grupe (**rhBMP-2/ACS**), druge grupe (**rhBMP-2/ACS+TCP**) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola1**) 120 dana nakon ekstrakcije



Grafikon 8.1.3.2. Prosečna promena (IVM) kod prve grupe (**rhBMP-2/ACS**), druge grupe (**rhBMP-2/ACS+TCP**) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola1**) 120 dana nakon ekstrakcije



Grafikon 8.1.3.2. Prosečna promena (**HM**) kod prve grupe (**rhBMP-2/ACS**), druge grupe (**rhBMP-2/ACS+TCP**) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola1**) 120 dana nakon ekstrakcije

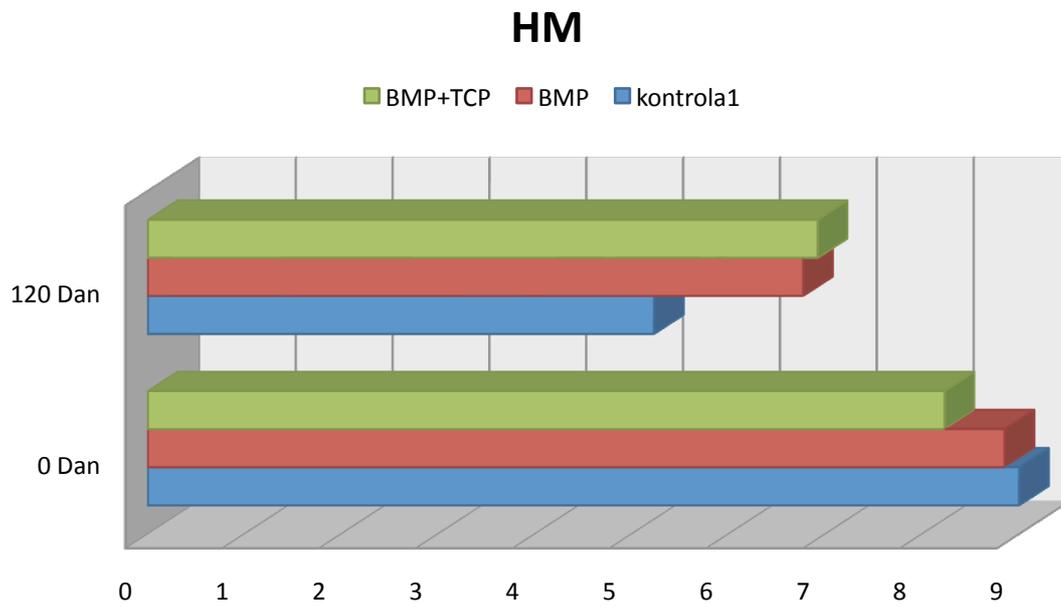


Tabela 8.1.4.1. Mere deskripcije za EVM, IVM i HM kod prve grupe (rhBMP-2/ACS+M), druge grupe (rhBMP-2/ACS+TCP+M) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (kontrola2) u okviru druge grupe ispitanika (N=13) na dan ekstrakcije zuba i 4 meseca posle

| Parametri | Vreme | Alveola N=39 | Mere deskripcije | | | | | 95% Interval poverenja | |
|-----------|---------|-------------------|---------------------|----------------------------|----------------|---------------|----------------|------------------------|-------------|
| | | | Aritmetička sredina | Standardna devijacija (SD) | Medijana (Med) | Minimum (Min) | Maksimum (Max) | Donji nivo | Gornji nivo |
| EVM | Dan 0 | rhBMP-2/ACS+M | 9.46 | 1.80 | 9 | 6 | 12 | 8.37 | 10.55 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 7.92 | 2.25 | 8 | 5 | 12 | 6.56 | 9.28 |
| | | kontrola2 | 8.08 | 2.10 | 8 | 6 | 12 | 6.81 | 9.53 |
| | Dan 120 | rhBMP-2/ACS+M | 8.15 | 1.81 | 8 | 5 | 11 | 7.05 | 9.25 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 7.62 | 2.10 | 8 | 4 | 11 | 6.34 | 8.89 |
| | | kontrola2 | 5.62 | 1.71 | 5 | 4 | 9 | 4.58 | 6.65 |
| IVM | Dan 0 | rhBMP-2/ACS+M | 10.54 | 2.25 | 11 | 6 | 14 | 9.17 | 11.90 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 9.54 | 2.78 | 10 | 6 | 14 | 7.85 | 11.22 |
| | | kontrola2 | 9.54 | 2.14 | 9 | 6 | 13 | 8.24 | 10.83 |
| | Dan 120 | rhBMP-2/ACS+M | 2.77 | 0.59 | 3 | 2 | 4 | 2.41 | 3.13 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 0.62 | 0.50 | 1 | 0 | 1 | 0.31 | 0.92 |
| | | kontrola2 | 4.46 | 0.96 | 4 | 3 | 6 | 3.88 | 5.05 |
| HM | Dan 0 | rhBMP-2/ACS+M | 8.77 | 1.48 | 9 | 6 | 11 | 7.87 | 9.66 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 9.54 | 1.71 | 10 | 7 | 11 | 8.5 | 10.57 |
| | | kontrola2 | 8.96 | 1.88 | 9 | 6 | 12 | 7.55 | 9.83 |
| | Dan 120 | rhBMP-2/ACS+M | 7.08 | 1.49 | 7 | 5 | 10 | 6.17 | 7.98 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 8.62 | 2.10 | 8 | 4 | 11 | 6.34 | 8.89 |
| | | kontrola2 | 5.62 | 1.71 | 5 | 4 | 9 | 4.58 | 6.65 |

8.1.4.2. Rezultati poređenja prosečnih promene ispitivanih parametara EVM, IVM i HM u funkciji vremena posmatranja kod prve grupe (**rhBMP-2/ACS+M**), druge grupe (**rhBMP-2/ACS+TCP+M**) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola2**)

| Vrsta poređenja | | Prosečna promena | Standardna devijacija (SD) | 95% Interval poverenja | | |
|-----------------|---------------|-------------------|----------------------------|------------------------|-------------|------|
| | | | | Donji nivo | Gornji nivo | |
| EVM | Dan 0-Dan 120 | rhBMP-2/ACS+M | 1.31 | 0.48 | 1.01 | 1.59 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 0.30 | 0.48 | 0.17 | 0.59 |
| | | kontrola2 | 2.46 | 1.05 | 1.82 | 3.09 |
| | | p [‡] | 0.000* | | | |

| Vrsta poređenja | | Prosečna promena | Standardna devijacija (SD) | 95% Interval poverenja | | |
|-----------------|---------------|-------------------|----------------------------|------------------------|-------------|-------|
| | | | | Donji nivo | Gornji nivo | |
| IVM | Dan 0-Dan 120 | rhBMP-2/ACS+M | 7.77 | 2.04 | 6.53 | 9.00 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 8.92 | 2.36 | 7.49 | 10.35 |
| | | kontrola2 | 5.07 | 1.38 | 4.24 | 5.91 |
| | | p [‡] | 0.000* | | | |

| Vrsta poređenja | | Prosečna promena | Standardna devijacija (SD) | 95% Interval poverenja | | |
|-----------------|---------------|-------------------|----------------------------|------------------------|-------------|------|
| | | | | Donji nivo | Gornji nivo | |
| HM | Dan 0-Dan 120 | rhBMP-2/ACS+M | 1.69 | 0.48 | 1.40 | 1.98 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 0.92 | 0.52 | 1.51 | 2.01 |
| | | kontrola2 | 3.34 | 0.68 | 2.73 | 3.57 |
| | | p [‡] | 0.000* | | | |

‡Dvofaktorska analiza varijanse sa ponovljenim merenjima; *statistički značajna razlika

8.1.4.3. Rezultati poređenja prosečnih promena posmatranih parametara tokom vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru prve grupe ispitanika

| Vrsta poređenja | | p |
|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------|
| Prosečne promene (0.-120.dan) | | |
| EVM | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.001* |
| | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000* |
| | rhBMP-2/ACS+M- rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.000* |
| IVM | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.001* |
| | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000* |
| | rhBMP-2/ACS+M- rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.196 |
| HM | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.000* |
| | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000 ^s * |
| | rhBMP-2/ACS+M- rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.002 ^s * |

#t-test: za nezavisne uzorke; ^sMann Whitney U test; *statistički značajna razlika

8.1.4.3. Rezultati poređenja prosečnih razlika parametara EVM, IVM i HM u posmatranom vremenu merenja između ispitivanih grupa alveola **rhBMP-2/ACS+M, **rhBMP-2/ACS+TCP+M** i **kontrola2****

| Parametri | Vrsta poređenja | Prosečna razlika (\pm SE) | 95% Interval poverenja | | p (t-test) |
|---|----------------------------------|------------------------------|------------------------|-------------|------------|
| | rhBMP-2/ACS+M - kontrola2 | | Donji nivo | Gornji nivo | |
| EVM | 0 dan | 1.38 \pm 0.76 | -0.20 | 2.97 | =0.084 |
| | 120 dan | 2.54 \pm 0.69 | 1.11 | 3.96 | =0.001* |
| IVM | 0 dan | 1.00 \pm 0.86 | -0.78 | 2.78 | =0.259 |
| | 120 dan | -1.69 \pm 0.31 | -2.34 | -1.04 | =0.000* |
| HM | 0 dan | 0.08 \pm 0.66 | -1.29 | 1.45 | =0.909 |
| | 120 dan | 1.54 \pm 0.56 | 0.36 | 2.70 | =0.012* |
| kontrola2-rhBMP-2/ACS+TCP+M | | | | | |
| EVM | 0 dan | -0.15 \pm 0.85 | -1.60 | 1.91 | =0.859 |
| | 120 dan | -2.00 \pm 0.75 | -3.55 | -0.44 | =0.014* |
| IVM | 0 dan | 0.00 \pm 0.97 | -2.01 | 2.01 | =1.000 |
| | 120 dan | 3.85 \pm 0.30 | 3.22 | 4.47 | =0.000* |
| HM | 0 dan | -0.58 \pm 0.70 | -2.30 | 0.61 | =0.243 |
| | 120 dan | -2.00 \pm 0.61 | -4.26 | -1.73 | =0.000* |
| rhBMP-2/ACS+M -rhBMP-2/ACS+TCP+M | | | | | |
| EVM | 0 dan | 1.54 | -0.11 | 3.19 | =0.067 |
| | 120 dan | 0.54 | -1.05 | 2.13 | =0.492 |
| IVM | 0 dan | 1.00 | -1.05 | 3.05 | =0.325 |
| | 120 dan | 2.15 | 1.70 | 2.60 | =0.000* |
| HM | 0 dan | -0.77 | -1.31 | 1.18 | =0.398 |
| | 120 dan | -1.54 | -1.19 | 1.07 | =0.062 |

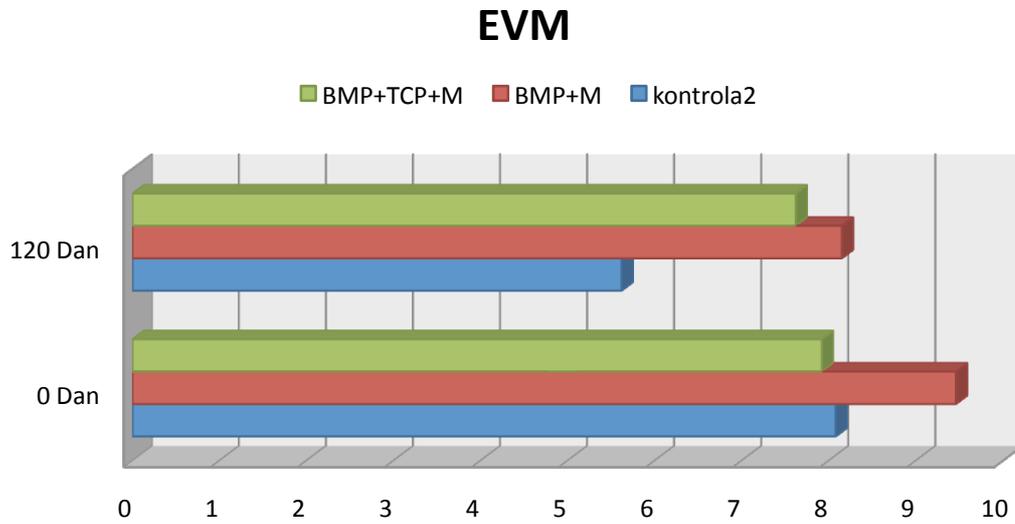
#t-test: za nezavisne uzorke; *statistički značajna razlika

Tabela 8.1.4.5. Komparacija dinamike promena posmatra nih parametara u funkciji vremena

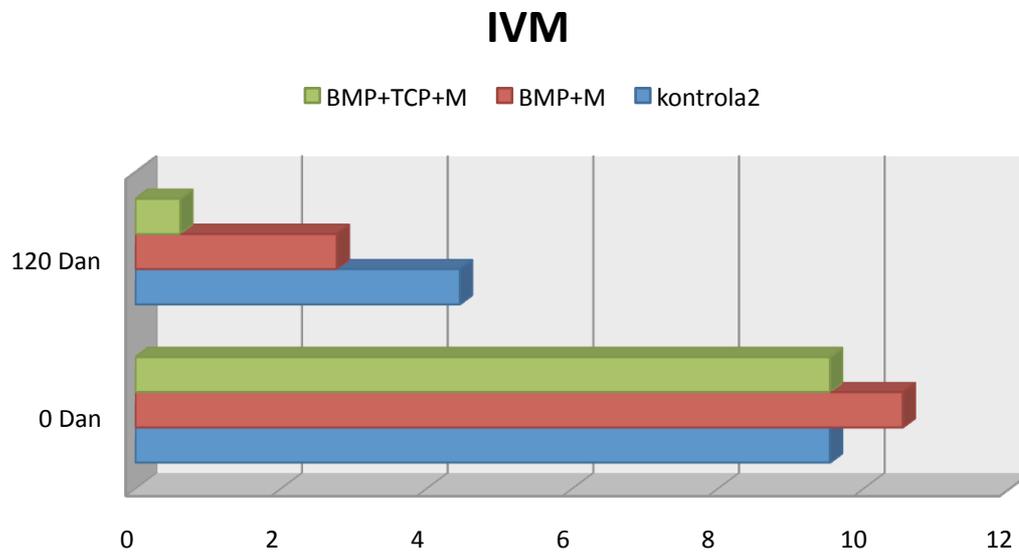
| Vrsta poređenja | | p [‡] |
|--------------------------------------|----------------------------------|----------------|
| Dinamika promene (0.-120.dan) | | |
| EVM | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.000* |
| | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.001* |
| | rhBMP-2/ACS+M- rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.000* |
| IVM | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.000* |
| | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.001* |
| | rhBMP-2/ACS+M- rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.196 |
| HM | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.000* |
| | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000* |
| | rhBMP-2/ACS+M- rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.000* |

‡Dvofaktorska analiza varijanse sa ponovljenim merenjima; *statistički značajna razlika
Značajnost promene se odnosi na osenčene ispitivane grupe

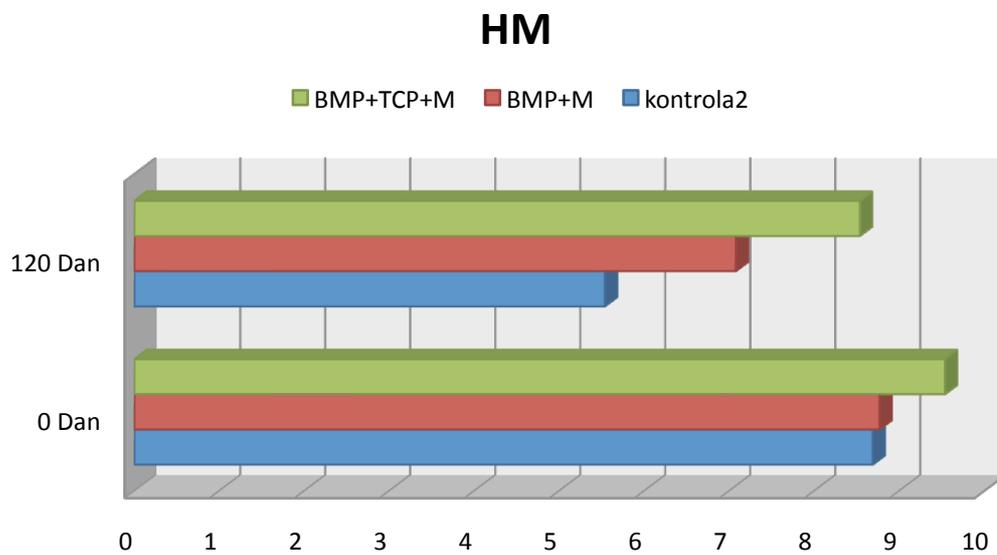
Grafikon 8.1.4.1. Prosečna promena (EVM) kod prve grupe (**rhBMP-2/ACS+M**), druge grupe (**rhBMP-2/ACS+TCP+M**) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola2**) 120 dana nakon ekstrakcije



Grafikon 8.1.4.2. Prosečna promena (IVM) kod prve grupe (**rhBMP-2/ACS+M**), druge grupe (**rhBMP-2/ACS+TCP+M**) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola2**) 120 dana nakon ekstrakcije



Grafikon 8.1.4.3. Prosečna promena (EVM) kod prve grupe (**rhBMP-2/ACS+M**), druge grupe (**rhBMP-2/ACS+TCP+M**) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola2**) 120 dana nakon ekstrakcije

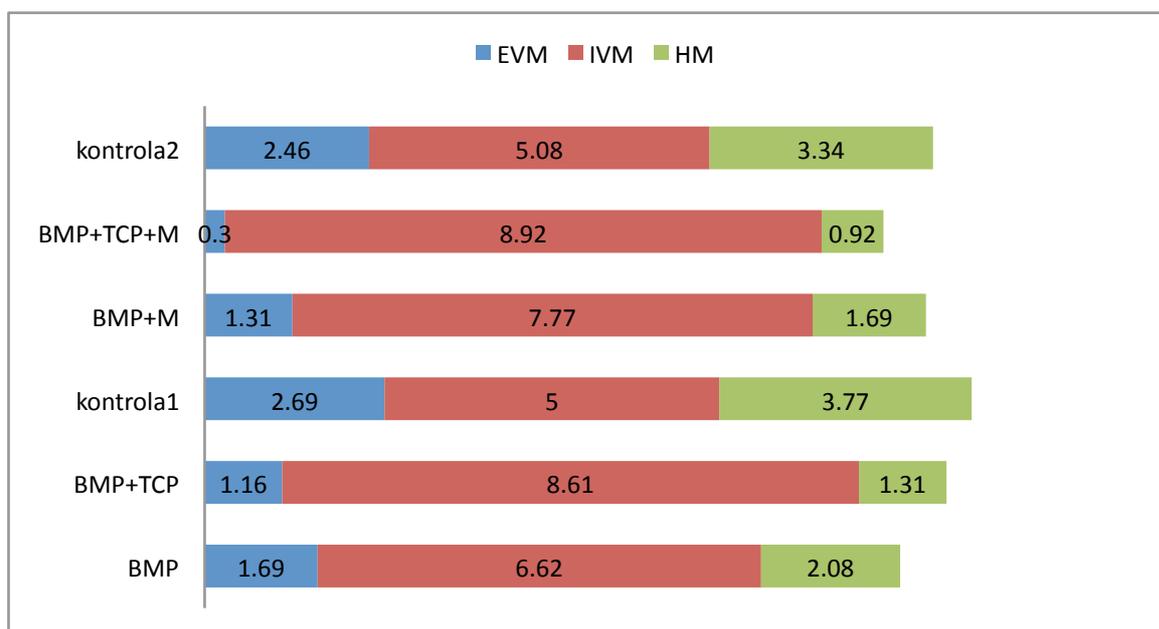


8.1.5.1. Rezultati poređenja prosečnih promena posmatranih parametara tokom vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru obe grupe ispitanika

| Vrsta poređenja | | p |
|-------------------------------|------------------------------------|----------------------|
| Prosečne promene (0.-120.dan) | | |
| EVM | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+M | =0.243 ^s |
| | rhBMP-2/ACS+TCP -rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.002 ^{s*} |
| IVM | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+M | =0.114 [#] |
| | rhBMP-2/ACS+TCP -rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.731 [#] |
| HM | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+M | =0.186 ^s |
| | rhBMP-2/ACS+TCP -rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.186 ^s |

[#]t-test za nezavisne uzorke; ^sMann Whitney test; ^{*}statistički značajna razlika

Grafikon 8.1.5.1. Komparacija prosečnih promena vredosti EVM, IVM i HM kod svih ispitivanih alveola



Tabelarni i grafički prikaz dinamike zarastanja ekstrakcionih rana

Tabela 8.1.6.1. Distribucija frekvencija (n[%]) Indeksa zarastanja rane (HI) kod **prve grupe ispitanika** (N=39 ispitivanih alveola)

| | rhBMP-2/ACS | rhBMP-2/ACS+TCP | kontrola1 | p (χ^2 test) |
|---------------------|-------------|-----------------|------------|--------------------|
| 2. dana | | | | |
| 1 | 1 (7.7%) | 3 (23.1%) | 11 (84.6%) | =0.000* |
| 2 | 7 (53.8%) | 10 (76.9%) | 2 (15.4%) | |
| 3 | 5(38.5%) | 0% | 0% | |
| 7. dana | | | | |
| 2 | 1 (7.7%) | 4 (30.8%) | 11 (84.6%) | =0.001* |
| 3 | 10 (76.9%) | 9 (69.2%) | 2 (15.4%) | |
| 4 | 2 (15.4%) | 0% | 0% | |
| 14. dana | | | | |
| 2 | 0% | 3 (23.1%) | 5 (38.5%) | =0.018* |
| 3 | 3 (23.1%) | 6 (46.2%) | 7 (53.8%) | |
| 4 | 9 (69.2%) | 4 (30,8%) | 1 (7.7%) | |
| 5 | 1 (7.7%) | 0% | 0% | |
| 21. dan | | | | |
| 3 | 0% | 3 (23.1%) | 6 (46.2%) | =0.005* |
| 4 | 4 (30.8%) | 7 (53.8%) | 6 (46.2%) | |
| 5 | 9 (69.2%) | 3 (23.1%) | 1 (7.7%) | |
| 30. dana | | | | |
| 2 | 0% | 1 (7.7%) | 0% | =0.393 |
| 3 | 0% | 0% | 1 (7.7%) | |
| 4 | 2 (15.4%) | 5 (38.5%) | 4 (30.8%) | |
| 5 | 11 (84.6%) | 7 (53.8%) | 8 (53.8%) | |
| 120. dana | | | | |
| 5 | 13 (100%) | 13 (100%) | 13 (100%) | =1.000 |
| p (Friedmanov test) | =0.000* | =0.000* | =0.000* | |

*statistički značajna razlika

Tabela 8.1.6.2. Rezultati poređenja indeksa zarastanja rane (HI) između dve eksperimentalne grupe alveola kod **prve grupe ispitanika** u posmatranim vremenima merenja

| | Vrsta poređenja | p ^(a) |
|----------|----------------------------------|------------------|
| 2. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+TCP | =0.038* |
| 7. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+TCP | =0.146 |
| 14. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+TCP | =0.074 |
| 21. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+TCP | =0.033* |
| 30. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+TCP | =0.204 |
| 120. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+TCP | =1.000 |

^(a) χ^2 test; *statistički značajna razlika

Tabela 8.1.6.3. Rezultati poređenja indeksa zarastanja rane (HI) između eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS) i kontrolnih alveola kod druge grupe ispitanika u posmatranim vremenima merenja

| | Vrsta poređenja | p ^(a) |
|----------|---------------------------|------------------|
| 2. dan | rhBMP-2/ACS vs. kontrola1 | =0.000* |
| 7. dan | rhBMP-2/ACS vs. kontrola1 | =0.000* |
| 14. dan | rhBMP-2/ACS vs. kontrola1 | =0.003* |
| 21. dan | rhBMP-2/ACS vs. kontrola1 | =0.002* |
| 30. dan | rhBMP-2/ACS vs. kontrola1 | =0.343 |
| 120. dan | rhBMP-2/ACS vs. kontrola1 | =1.000 |

^(a) χ^2 test; *statistički značajna razlika

Tabela 8.1.6.4. Rezultati poređenja indeksa zarastanja rane (HI) između eksperimentalne grupe alveola (rhBMP-2/ACS+TCP) i kontrolnih alveola kod prve grupe ispitanika u posmatranim vremenima merenja

| | Vrsta poređenja | p |
|----------|-------------------------------|------------------------|
| 2. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. kontrola1 | =0.005 ^{(b)*} |
| 7. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. kontrola1 | =0.015 ^{(b)*} |
| 14. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. kontrola1 | =0.305 ^(a) |
| 21. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. kontrola1 | =0.354 ^(a) |
| 30. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. kontrola1 | =0.536 ^(a) |
| 120. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. kontrola1 | =1.000 ^(a) |

^(a) χ^2 test; ^(b) Fischerov test; *statistički značajna razlika

Grafikon 8.1.6.1. Dinamika zarastanja ekstrakcionih rana kod prve grupe ispitanika

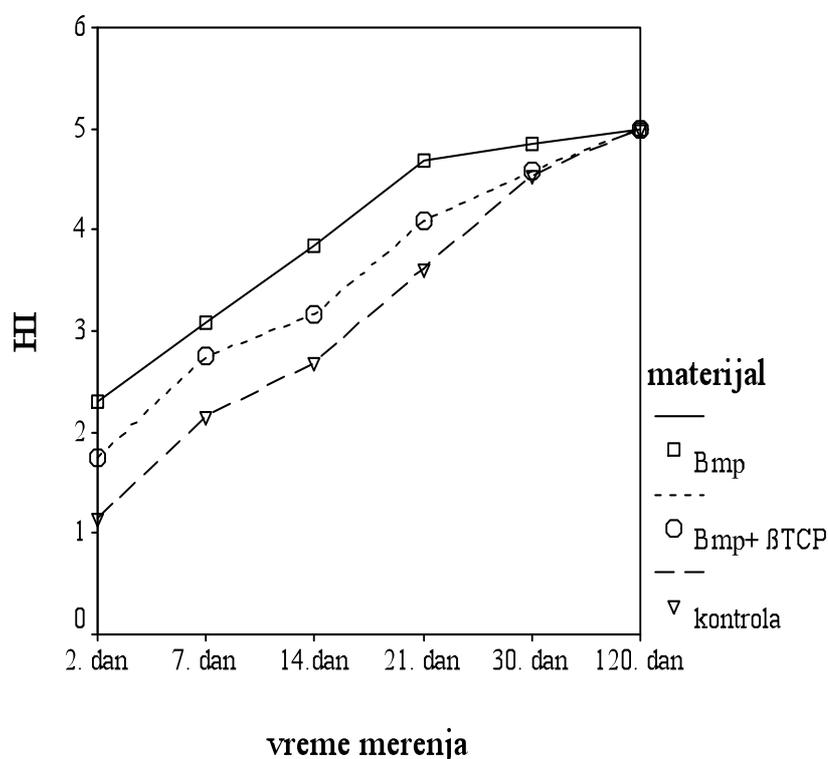


Tabela 8.1.7.1. Distribucija frekvencija (n[%]) Indeksa zarastanja rane (HI) kod **druge grupe ispitanika** (N=39 ispitivanih alveola)

| | rhBMP-2/ACS+M | rhBMP-2/ACS+TCP+M | Kontrola2 | p (χ^2 test) |
|---------------------|---------------|-------------------|------------|--------------------|
| 2. dana | | | | |
| 1 | 0% | 2 (15,4%) | 10 (76,9%) | =0.000* |
| 2 | 7 (53,8%) | 7 (53,8%) | 3 (23,1%) | |
| 3 | 6 (46,2%) | 4 (30,8%) | 0% | |
| 7. dana | | | | |
| 1 | 0% | 0% | 0% | =0.000* |
| 2 | 0% | 1 (7,7%) | 10 (76,9%) | |
| 3 | 12 (92,3%) | 12 (92,3%) | 3 (23,1%) | |
| 4 | 1 (7,7%) | 0% | 0% | |
| 14. dana | | | | |
| 2 | 0% | 0% | 4 (30,8%) | =0.001* |
| 3 | 2 (15,4%) | 18 (61,5%) | 8 (61,5%) | |
| 4 | 10 (76,9%) | 5 (38,5%) | 1 (7,7%) | |
| 5 | 1 (7,7%) | 0% | 0% | |
| 21. dan | | | | |
| 3 | 0% | 18 (61,5%) | 4 (30,8%) | =0.000* |
| 4 | 1 (7,7%) | 5 (38,5%) | 8 (61,5%) | |
| 5 | 12 (93,3%) | 0% | 1 (7,7%) | |
| 30. dana | | | | |
| 4 | 0% | 3 (23,1%) | 8 (61,5%) | =0.002* |
| 5 | 13 (100%) | 10 (76,9%) | 5 (38,5%) | |
| 120. dana | | | | |
| 5 | 13 (100%) | 13 (100%) | 13 (100%) | =1.000 |
| p (Friedmanov test) | =0.000* | =0.000* | =0.000* | |

*statistički značajna razlika

Tabela 8.1.7.2. Rezultati poređenja indeksa zarastanja rane (HI) između dve eksperimentalne grupe alveola kod **druge grupe ispitanika** u posmatranim vremenima merenja

| | Vrsta poređenja | p |
|----------|--------------------------------------|-----------------------|
| 2. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | 0.301 ^(a) |
| 7. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | 0.368 ^(a) |
| 14. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | 0.044 ^{(a)*} |
| 21. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | 0.011 ^{(b)*} |
| 30. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | 0.022 ^{(b)*} |
| 120. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | 1.000 ^(a) |

^(a) χ^2 test; ^(b) Fischerov test; *statistički značajna razlika

Tabela 8.1.7.3. Rezultati poređenja indeksa zarastanja rane (HI) između eksperimentalne grupe alveola (**rhBMP-2/ACS+M**) i **kontrolnih** alveola kod druge grupe ispitanika u posmatranim vremenima merenja

| | Vrsta poređenja | p |
|----------|-----------------------------|------------------------|
| 2. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. kontrola2 | =0.000 ^{(a)*} |
| 7. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. kontrola2 | =0.000 ^{(b)*} |
| 14. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. kontrola2 | =0.001 ^{(a)*} |
| 21. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. kontrola2 | =0.000 ^{(a)*} |
| 30. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. kontrola2 | =0.002 ^{(b)*} |
| 120. dan | rhBMP-2/ACS+M vs. kontrola2 | =1.000 ^(a) |

^(a) χ^2 test; ^(b) Fischerov test; *statistički značajna razlika

Tabela 8.1.7.4. Rezultati poređenja indeksa zarastanja rane (HI) između eksperimentalne grupe alveola (**rhBMP-2/ACS+TCP+M**) i **kontrolnih** alveola kod druge grupe ispitanika u posmatranim vremenima merenja

| | Vrsta poređenja | p |
|----------|---------------------------------|------------------------|
| 2. dan | rhBMP-2/ACS+TCP+M vs. kontrola2 | =0.004 ^{(a)*} |
| 7. dan | rhBMP-2/ACS+TCP+M vs. kontrola2 | =0.001 ^{(b)*} |
| 14. dan | rhBMP-2/ACS+TCP+M vs. kontrola2 | =0.036 ^{(a)*} |
| 21. dan | rhBMP-2/ACS+TCP+M vs. kontrola2 | =0.036 ^{(a)*} |
| 30. dan | rhBMP-2/ACS+TCP+M vs. kontrola2 | =0.111 ^(a) |
| 120. dan | rhBMP-2/ACS+TCP+M vs. kontrola2 | =1.000 ^(a) |

(a) χ^2 test; ^(b) Fischerov test; *statistički značajna razlika

Grafikon 8.1.7.1. Dinamika zarastanja ekstrakcionih rana kod druge grupe ispitanika

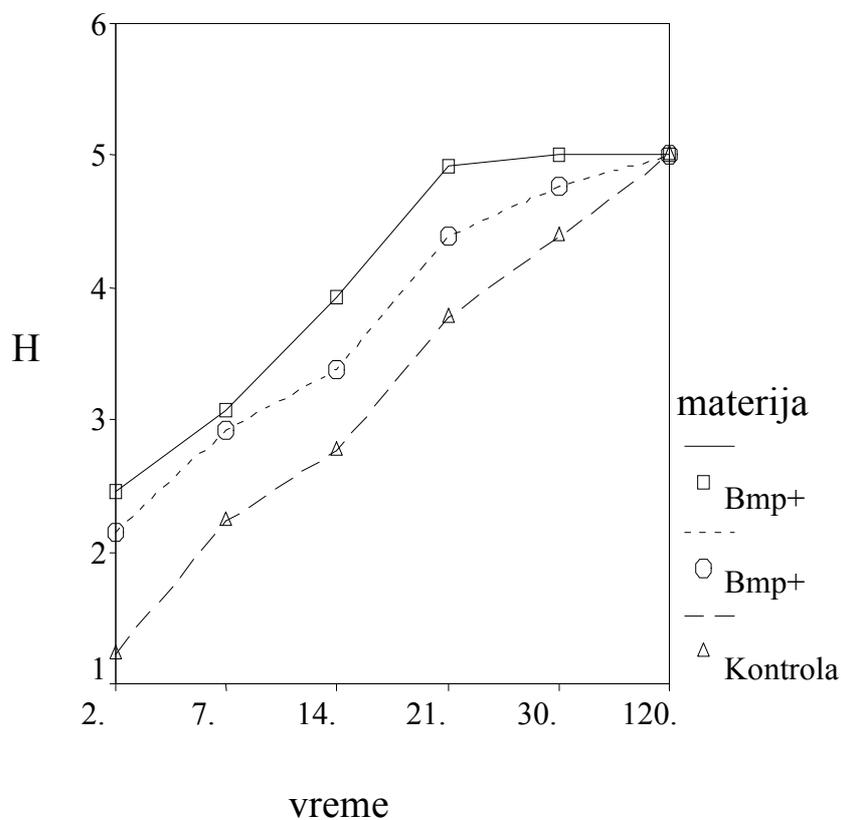


Tabela 8.1.8.1. Rezultati poređenja indeksa zarastanja rane (HI) dve eksperimentalne grupe alveola između prve i druge grupe ispitanika u posmatranim vremenima merenja

| | Vrsta poređenja | p ^(a) |
|----------|--------------------------------|------------------|
| 2. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+M | =0.580 |
| 7. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+M | =0.469 |
| 14. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+M | =0.881 |
| 21. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+M | =0.322 |
| 30. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+M | =0.480 |
| 120. dan | rhBMP-2/ACS vs. rh BMP-2/ACS+M | =1.000 |

^(a) χ^2 test

Tabela 8.1.8.2. Rezultati poređenja indeksa zarastanja rane (HI) dve eksperimentalne grupe alveola između prve i druge grupe ispitanika u posmatranim vremenima merenja

| | Vrsta poređenja | p |
|----------|--|-----------------------|
| 2. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | =0.094 ^(a) |
| 7. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | =0.322 ^(b) |
| 14. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | 0.183 ^(a) |
| 21. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | =0.168 ^(a) |
| 30. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | =0.363 ^(a) |
| 120. dan | rhBMP-2/ACS+TCP vs. rh BMP-2/ACS+TCP+M | =1.000 ^(b) |

^(a) χ^2 test ; ^(b) Fischerov test

Tabela 8.1.8.3. Rezultati ispitivanja uticaja stanja mekih tkiva i alveolarnih čašica na dinamiku zarastanja ekstrakcionih rana u posmatranim vremenima opservacije

| Parametri | Ideks zarastanja rane (HI) | | | | | |
|---|----------------------------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 2.dan | 7.dan | 14.dan | 21.dan | 30.dan | 120.dan |
| Stanje mekih tkiva <i>Juodzbalsza i dr, 2008.</i> | $p^{(a)} \uparrow > 0.05$ | | | | | |
| Stanje alveolarnih čašica <i>Leković i dr, 1997.</i> | $p^{(a)} > 0.05$ | | | | | |

^(a) χ^2 test ; \uparrow Kruskal-Wallisov test

Tabela 8.1.8.4. Rezultati poređenja plak indeksa osobe (PI) između I i II grupe ispitanika u određenim vremenima praćenja

| PI (srednja vrednost±SD) | I grupa (N=13) | II grupa (N=13) | p(t-test [#]) |
|--------------------------|----------------|-----------------|-------------------------|
| Dan 0 | 0.68±0.17 | 0.86±0.16 | =0.013* |
| Dan 30 | 1.32±0.15 | 1.12±0.21 | =0.014* |
| Dan 120 | 0.64±0.18 | 0.77±0.26 | =0.150 |

[#]t-test: za nezavisne uzorke; *statistički značajna razlika

Tabela 8.1.8.5. Rezultati poređenja plak indeksa osobe (PI) unutar grupa ispitanika u određenim intervalima vremena

| Vreme poređenja | Ispitanici | p [‡] |
|------------------|-----------------|----------------|
| Dan 0 - dan 30 | I grupa (N=13) | =0.000* |
| | II grupa (N=13) | =0.000* |
| Dan 30 - dan 120 | I grupa (N=13) | =0.000* |
| | II grupa (N=13) | =0.000* |

[‡]Dvofaktorska analiza varijanse sa ponovljenim merenjima; *statistički značajna razlika

Grafikon 8.1.8.1. Promene nivoa oralne higijene ispitanika tokom eksperimentalog perioda

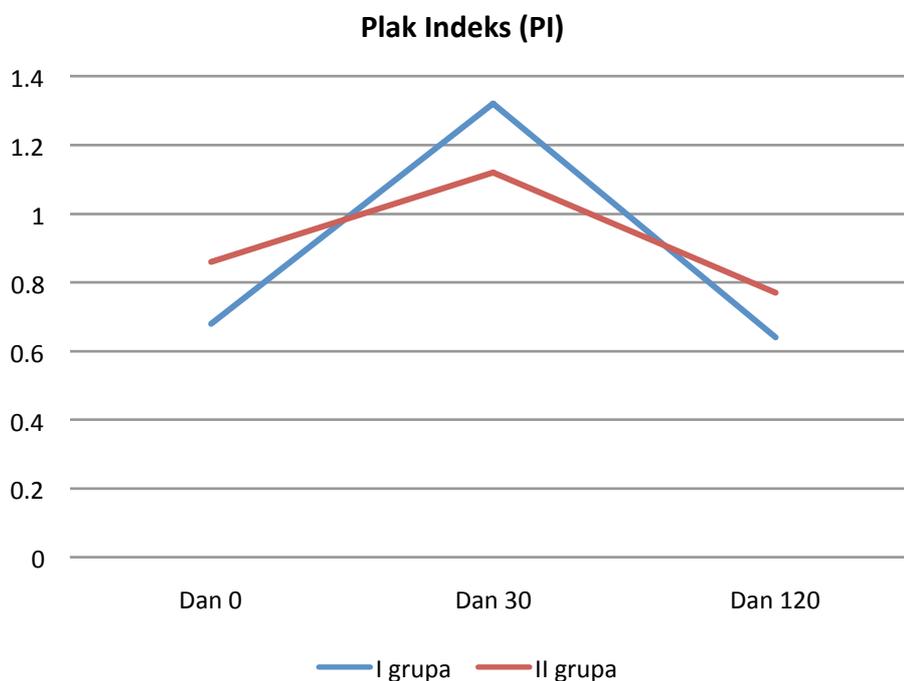


Tabela 8.1.8.6. Rezultati poređenja indeksa krvarenja sulkusa gingive osobe (SBI) između I i II grupe ispitanika u određenim vremenima praćenja

| SBI (srednja vrednost±SD) | I grupa(N=13) | II grupa(N=13) | p(t-test [#]) |
|---------------------------|---------------|----------------|-------------------------|
| Dan 0 | 1.03±0.21 | 1.17±0.21 | =0.095 |
| Dan 30 | 1.68±0.14 | 1.47±0.22 | =0.011* |
| Dan 120 | 0.99±0.16 | 1.16±0.26 | =0.191 |

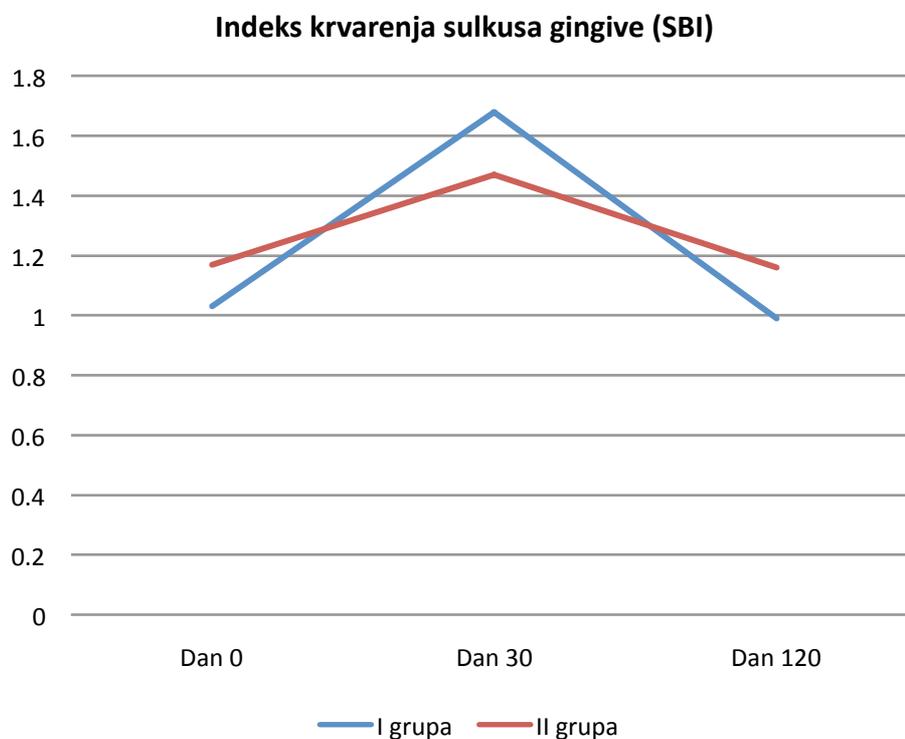
[#]t-test: za nezavisne uzorke; *statistički značajna razlika

Tabela 8.1.8.7. Rezultati poređenja indeksa krvarenja sulkusa gingive osobe (SBI) unutar grupa ispitanika u određenim intervalima vremena

| Vreme poređenja | Ispitanici | p [‡] |
|------------------|-----------------|----------------|
| Dan 0 - dan 30 | I grupa (N=13) | =0.000* |
| | II grupa (N=13) | =0.000* |
| Dan 30 - dan 120 | I grupa (N=13) | =0.000* |
| | II grupa (N=13) | =0.000* |

[‡]Dvofaktorska analiza varijanse sa ponovljenim merenjima; *statistički značajna razlika

Grafikon 8.1.8.2. Promene stanja gingive ispitanika tokom eksperimentalog perioda



Tabelarni i grafički prikaz rezultata radiografskih merenja

Tabela 8.2.1.1. Mere deskripcije radiografskih merenja VD i HD kod prve grupe (rhBMP-2/ACS), druge grupe (rhBMP-2/ACS+TCP) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola1**) u okviru prve grupe ispitanika (N=13) na dan ekstrakcije zuba, 30. i 120. dana nakon ekstrakcije

| Parametri | Vreme | Alveola N=39 | Mere deskripcije | | | | | 95% Interval poverenja | |
|-----------|---------|-----------------|---------------------|----------------------------|----------------|---------------|----------------|------------------------|-------------|
| | | | Aritmetička sredina | Standardna devijacija (SD) | Medijana (Med) | Minimum (Min) | Maksimum (Max) | Donji nivo | Gornji nivo |
| VD | Dan 0 | rhBMP-2/ACS | 9.90 | 2.68 | 8.98 | 4.52 | 12.42 | 6.75 | 10.99 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 10.28 | 2.72 | 9.68 | 4.66 | 14.02 | 7.62 | 11.38 |
| | | kontrola1 | 10.28 | 2.12 | 8.52 | 5.15 | 14.09 | 7.63 | 11.41 |
| | Dan 30 | rhBMP-2/ACS | 3.84 | 1.69 | 2.98 | 2.93 | 6.13 | 2.13 | 5.02 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 2.43 | 0.82 | 2.31 | 1.96 | 4.97 | 1.65 | 4.91 |
| | | kontrola1 | 5.67 | 1.41 | 4.55 | 3.18 | 8.07 | 4.19 | 7.18 |
| | Dan 120 | rhBMP-2/ACS | 3.35 | 1.64 | 2.76 | 1.68 | 5.20 | 2.03 | 4.39 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 1.81 | 0.69 | 2.09 | 1.43 | 4.11 | 1.34 | 2.91 |
| | | kontrola1 | 5.31 | 1.38 | 4.18 | 3.16 | 7.02 | 3.27 | 6.22 |
| HD | Dan 0 | rhBMP-2/ACS | 8.80 | 1.78 | 8.73 | 6.86 | 11.72 | 7.72 | 9.87 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 8.38 | 1.48 | 8.47 | 6.28 | 10.70 | 7.48 | 9.27 |
| | | kontrola1 | 8.76 | 1.74 | 8.15 | 6.60 | 11.80 | 7.70 | 9.81 |
| | Dan 30 | rhBMP-2/ACS | 6.97 | 1.46 | 5.55 | 5.10 | 9.48 | 6.09 | 7.86 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 7.00 | 1.21 | 6.97 | 5.31 | 9.04 | 6.27 | 7.73 |
| | | kontrola1 | 5.95 | 1.17 | 5.19 | 4.02 | 7.59 | 4.88 | 6.31 |
| | Dan 120 | rhBMP-2/ACS | 6.83 | 1.44 | 6.38 | 4.96 | 9.30 | 5.96 | 7.70 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 6.89 | 1.19 | 6.85 | 5.23 | 8.91 | 6.17 | 7.61 |
| | | kontrola1 | 5.34 | 1.13 | 4.98 | 3.81 | 7.30 | 4.65 | 6.03 |

Tabela 8.2.1.2. Rezultati poređenja prosečnih promena ispitivanih parametara VD i HD u funkciji vremena posmatranja kod prve grupe (**rhBMP-2/ACS**), druge grupe (**rhBMP-2/ACS+TCP**) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola1**)

| Vrsta poređenja | | | Prosečna promena | Standardna devijacija (SD) | 95% Interval poverenja | |
|-----------------|----------------|-----------------|------------------|----------------------------|------------------------|-------------|
| | | | | | Donji nivo | Gornji nivo |
| VD | Dan 0- Dan 30 | rhBMP-2/ACS | 6.05 | 1.46 | 5.16 | 6.92 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 7.84 | 2.02 | 6.13 | 8.52 |
| | | kontrola1 | 4.60 | 1.06 | 3.18 | 5.78 |
| | Dan 30-Dan 120 | rhBMP-2/ACS | 0.48 | 0.11 | 0.36 | 0.98 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 0.62 | 0.16 | 0.57 | 1.08 |
| | | kontrola1 | 0.36 | 0.08 | 0.32 | 0.43 |
| p [‡] | | | 0.000* | | | |

| | | | | | | |
|----------------|----------------|-----------------|--------|------|------|------|
| HD | Dan 0- Dan 30 | rhBMP-2/ACS | 1.82 | 0.44 | 1.55 | 2.09 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 1.37 | 0.28 | 1.2 | 1.54 |
| | | kontrola1 | 3.16 | 0.64 | 2.77 | 3.55 |
| | Dan 30-Dan 120 | rhBMP-2/ACS | 0.14 | 0.03 | 0.12 | 0.16 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP | 0.11 | 0.02 | 0.09 | 0.18 |
| | | kontrola1 | 0.25 | 0.51 | 0.22 | 0.28 |
| p [‡] | | | 0.000* | | | |

[‡]Dvofaktorska analiza varijanse sa ponovljenim merenjima; *statistički značajna razlika

Tabela 8.2.1.3. Rezultati poređenja prosečnih promena posmatranih parametara tokom jednog vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru prve grupe ispitanika

| Parametar | Vreme merenja | Vrsta poređenja | p (t-test) |
|-----------|---------------|------------------------------|------------|
| VD | 0.-30.dan | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | =0.008* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | =0.016* |
| | 30.-120. dan | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | =0.006* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | =0.018* |

*statistički značajna razlika

Tabela 8.2.1.4. Rezultati poređenja prosečnih razlika posmatranih parametara tokom jednog vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru prve grupe ispitanika

| Parametar | Vreme merenja | Vrsta poređenja | p† |
|-----------|---------------|------------------------------|---------|
| VD | 0. dan | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | =1.000 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | =1.000 |
| | | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | =1.000 |
| | 30. dan | rhBMP-2-ACS-kontrola1 | =0.004* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | =0.000* |
| | 120. dan | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | =0.001* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | =0.037* |
| | | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | =0.014* |

†Jednofaktorska analiza varijanse (Bonferroni); *statistički značajna razlika

Tabela 8.2.1.5. Rezultati poređenja prosečnih promena posmatranih parametara tokom jednog vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru prve grupe ispitanika

| Parametar | Vreme merenja | Vrsta poređenja | p (t-test) |
|-----------|---------------|------------------------------|------------|
| HD | 0.-30.dan | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | =0.005* |
| | 30.-120. dan | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | =0.056 |

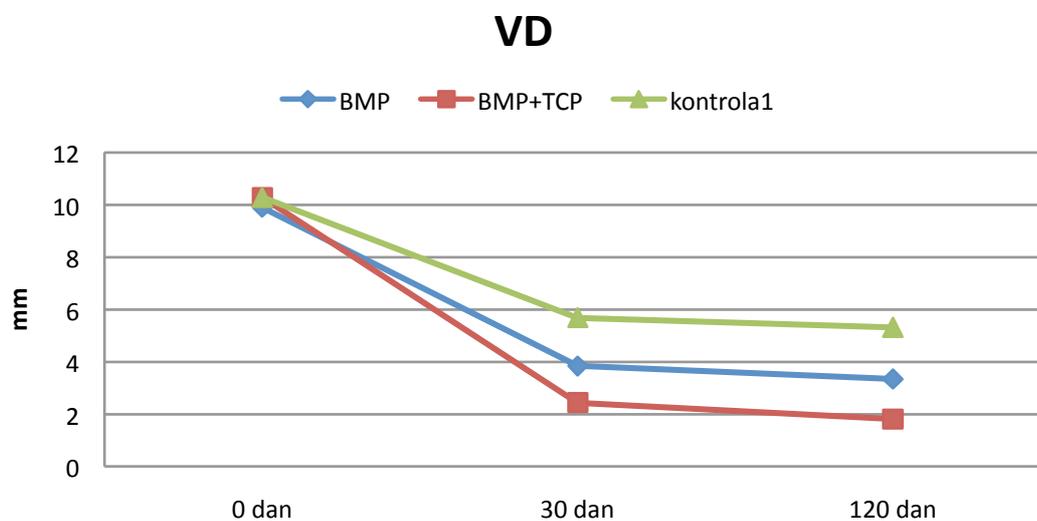
*statistički značajna razlika

Tabela 8.2.1.6. Rezultati poređenja prosečnih razlika posmatranih parametara tokom jednog vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru prve grupe ispitanika

| Parametar | Vreme merenja | Vrsta poređenja | p [†] |
|-----------|---------------|------------------------------|----------------|
| HD | 0.dan | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | =1.000 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | =1.000 |
| | | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | =1.000 |
| | 30. dan | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | =0.029* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | =0.026* |
| | | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | =1.000 |
| | 120.dan | rhBMP-2/ACS-kontrola1 | =0.014* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP-kontrola1 | =0.010* |
| | | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+TCP | =1.000 |

†Jednofaktorska analiza varijanse (Bonferroni);*statistički značajna razlika

Grafikon 8.2.1.1. Dinamika dimenzionih promena vertikalne dimenzije ispitivanih alveola kod prve grupe ispitanika



Grafikon 8.2.1.2. Dinamika dimenzionih promena vertikalne dimenzije ispitivanih alveola kod prve grupe ispitanika

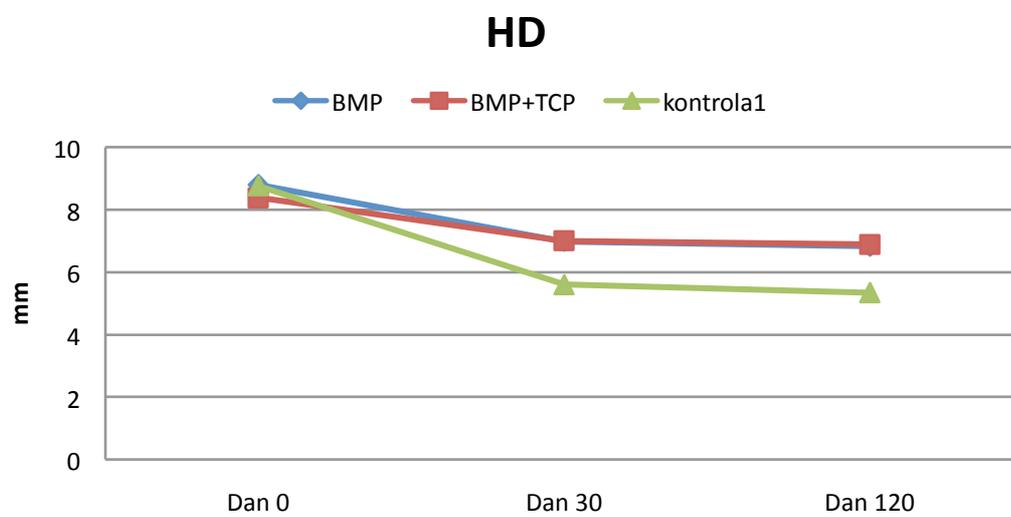


Tabela 8.2.2.1. Mere deskripcije radiografskih merenja VD i HD kod prve grupe (**rhBMP-2/ACS+M**), druge grupe (**rhBMP-2/ACS+TCP+M**) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola2**) u okviru prve grupe ispitanika (N=13) na dan ekstrakcije zuba, 30. i 120. dana nakon ekstrakcije

| Parametri | Vreme | Alveola N=39 | Mere deskripcije | | | | | 95% Interval poverenja | |
|-----------|---------|-------------------|---------------------|----------------------------|----------------|---------------|----------------|------------------------|-------------|
| | | | Aritmetička sredina | Standardna devijacija (SD) | Medijana (Med) | Minimum (Min) | Maksimum (Max) | Donji nivo | Gornji nivo |
| | | | | | | | | | |
| VD | Dan 0 | rhBMP-2/ACS+M | 10.58 | 2.08 | 9.24 | 5.68 | 12.16 | 8.42 | 11.74 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 9.53 | 2.66 | 8.16 | 4.39 | 10.01 | 8.02 | 10.38 |
| | | kontrola2 | 9.56 | 2.07 | 8.35 | 6.76 | 12.23 | 8.19 | 10.47 |
| | Dan 30 | rhBMP-2/ACS+M | 3.35 | 0.60 | 2.95 | 1.16 | 5.75 | 2.68 | 6.19 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 1.34 | 0.91 | 1.08 | 0.98 | 4.02 | 0.96 | 3.01 |
| | | kontrola2 | 4.89 | 0.42 | 3.13 | 3.17 | 6.90 | 3.09 | 5.88 |
| | Dan 120 | rhBMP-2/ACS+M | 2.77 | 0.58 | 1.86 | 1.08 | 3.99 | 2.04 | 4.11 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 0.68 | 0.25 | 0.52 | 0.43 | 3.08 | 0.35 | 1.69 |
| | | kontrola2 | 4.52 | 0.84 | 3.18 | 2.96 | 5.64 | 3.06 | 5.02 |
| HD | Dan 0 | rhBMP-2/ACS+M | 8.76 | 1.52 | 8.85 | 6.41 | 11.25 | 7.84 | 9.69 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 9.49 | 1.84 | 10.00 | 6.58 | 11.34 | 8.37 | 10.60 |
| | | kontrola2 | 8.67 | 1.73 | 8.53 | 6.41 | 11.87 | 7.62 | 9.72 |
| | Dan 30 | rhBMP-2/ACS+M | 7.25 | 1.40 | 7.09 | 4.95 | 9.74 | 6.40 | 8.10 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 8.75 | 1.21 | 9.24 | 6.15 | 10.39 | 7.72 | 9.77 |
| | | kontrola2 | 5.65 | 1.29 | 5.31 | 4.05 | 8.05 | 4.87 | 6.43 |
| | Dan 120 | rhBMP-2/ACS+M | 7.13 | 1.39 | 7.01 | 4.83 | 9.62 | 6.29 | 7.98 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 8.69 | 1.68 | 9.17 | 6.12 | 10.32 | 7.67 | 9.71 |
| | | kontrola2 | 5.41 | 1.25 | 5.07 | 3.86 | 7.74 | 4.65 | 6.17 |

Tabela 8.2.2.2. Rezultati poređenja prosečnih promena ispitivanih parametara VD i HD u funkciji vremena posmatranja kod prve grupe (**rhBMP-2/ACS+M**), druge grupe (**rhBMP-2/ACS+TCP+M**) eksperimentalnih alveola i kontrolnih alveola (**kontrola2**)

| Vrsta poređenja | | | Prosečna promena | Standardna devijacija (SD) | 95% Interval poverenja | |
|-----------------|----------------|-------------------|------------------|----------------------------|------------------------|-------------|
| | | | | | Donji nivo | Gornji nivo |
| VD | Dan 0- Dan 30 | rhBMP-2/ACS+M | 7.23 | 1.35 | 6.28 | 8.31 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 8.19 | 2.24 | 7.18 | 9.76 |
| | | kontrola2 | 4.64 | 1.29 | 3.72 | 6.08 |
| | Dan 30-Dan 120 | rhBMP-2/ACS+M | 0.58 | 0.14 | 0.34 | 2.06 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 0.65 | 0.17 | 0.26 | 1.87 |
| | | kontrola2 | 0.37 | 0.10 | 0.17 | 1.43 |
| p [‡] | | | 0.000* | | | |

| | | | | | | |
|----------------|----------------|-------------------|--------|------|------|------|
| HD | Dan 0-Dan 30 | rhBMP-2/ACS+M | 1.51 | 0.34 | 1.30 | 1.71 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 0.73 | 0.16 | 0.64 | 0.83 |
| | | kontrola2 | 3.02 | 0.48 | 2.73 | 3.31 |
| | Dan 30-Dan 120 | rhBMP-2/ACS+M | 0.12 | 0.02 | 0.10 | 0.13 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M | 0.05 | 0.01 | 0.50 | 0.06 |
| | | kontrola2 | 0.24 | 0.04 | 2.18 | 2.66 |
| p [‡] | | | 0.000* | | | |

[‡]Dvofaktorska analiza varijanse sa ponovljenim merenjima; *statistički značajna razlika

Tabela 8.2.2.3. Rezultati poređenja prosečnih promena posmatranih parametara tokom jednog vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru druge grupe ispitanika

| Parametar | Vreme merenja | Vrsta poređenja | p (t-test) |
|-----------|---------------|-----------------------------------|------------|
| VD | 0.-30.dan | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+M - rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.249 |
| | 30.-120. dan | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+M - rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.252 |

*statistički značajna razlika

Tabela 8.2.2.4. Rezultati poređenja prosečnih razlika posmatranih parametara tokom jednog vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru druge grupe ispitanika

| Parametar | Vreme merenja | Vrsta poređenja | p [†] |
|-----------|----------------|-----------------------------------|----------------|
| VD | 0.dan | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.796 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =1.000 |
| | | rhBMP-2/ACS+M - rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.718 |
| | 30. dan | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+M - rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.000* |
| | 120.dan | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+M - rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.000* |

[†]Jednofaktorska analiza varijanse (Bonferroni); *statistički značajna razlika

Tabela 8.2.2.5. Rezultati poređenja prosečnih promena posmatranih parametara tokom jednog vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru prve grupe ispitanika

| Parametar | Vreme merenja | Vrsta poređenja | p |
|-----------|---------------------|-----------------------------------|----------------------|
| HD | 0.-30.dan | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.000 ^{#*} |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000 ^{§*} |
| | | rhBMP-2/ACS+M - rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.000 ^{#*} |
| | 30.-120. dan | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.000 ^{#*} |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000 ^{#*} |
| | | rhBMP-2/ACS+M - rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.000 ^{#*} |

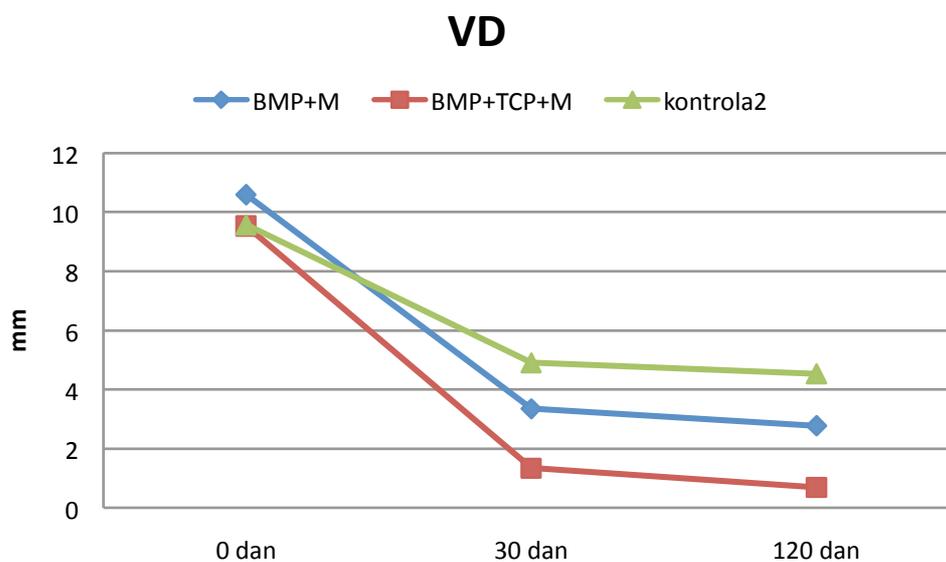
[#]t-test: za nezavisne uzorke; [§]Mann Whitney U test; *statistički značajna razlika

Tabela 8.2.2.6. Rezultati poređenja prosečnih razlika posmatranih parametara tokom jednog vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru druge grupe ispitanika

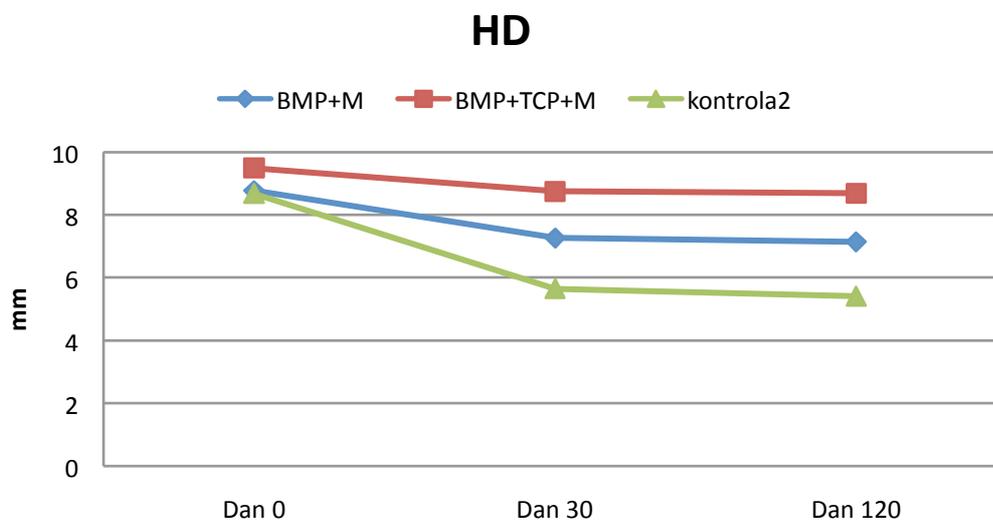
| Parametar | Vreme merenja | Vrsta poređenja | p † |
|-----------|---------------|-----------------------------------|---------|
| HD | 0.dan | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =1.000 |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.700 |
| | | rhBMP-2/ACS+M - rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.800 |
| | 30. dan | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.026* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+M - rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.042* |
| | 120.dan | rhBMP-2/ACS+M-kontrola2 | =0.014* |
| | | rhBMP-2/ACS+TCP+M-kontrola2 | =0.000* |
| | | rhBMP-2/ACS+M - rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.030* |

†Jednofaktorska analiza varijanse (Bonferroni); *statistički značajna razlika

Grafikon 8.2.2.1. Dinamika dimenzionih promena vertikalne dimenzije ispitivanih alveola kod druge grupe ispitanika



Grafikon 8.2.2.2. Dinamika dimenzionih promena horizontalne dimenzije ispitivanih alveola kod druge grupe ispitanika



8.2.3.1. Rezultati poređenja prosečnih promena posmatranih parametara tokom vremena praćenja između ispitivanih grupa alveola u okviru obe grupe ispitanika

| Parametar | Vreme merenja | Vrsta poređenja | p (t-test) |
|-----------|---------------|----------------------------|------------|
| VD | 0.-30.dan | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+M | =0.085 |
| | 30.-120. dan | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+M | =0.091 |
| HD | 0.-30.dan | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+M | =0.056 |
| | 30.-120. dan | rhBMP-2/ACS- rhBMP-2/ACS+M | =0.067 |

| Parametar | Vreme merenja | Vrsta poređenja | p (t-test) |
|-----------|---------------|------------------------------------|------------|
| VD | 0.-30.dan | rhBMP-2/ACS+TCP- rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.684 |
| | 30.-120. dan | rhBMP-2/ACS+TCP- rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.690 |
| HD | 0.-30.dan | rhBMP-2/ACS+TCP- rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.000* |
| | 30.-120. dan | rhBMP-2/ACS+TCP- rhBMP-2/ACS+TCP+M | =0.000* |

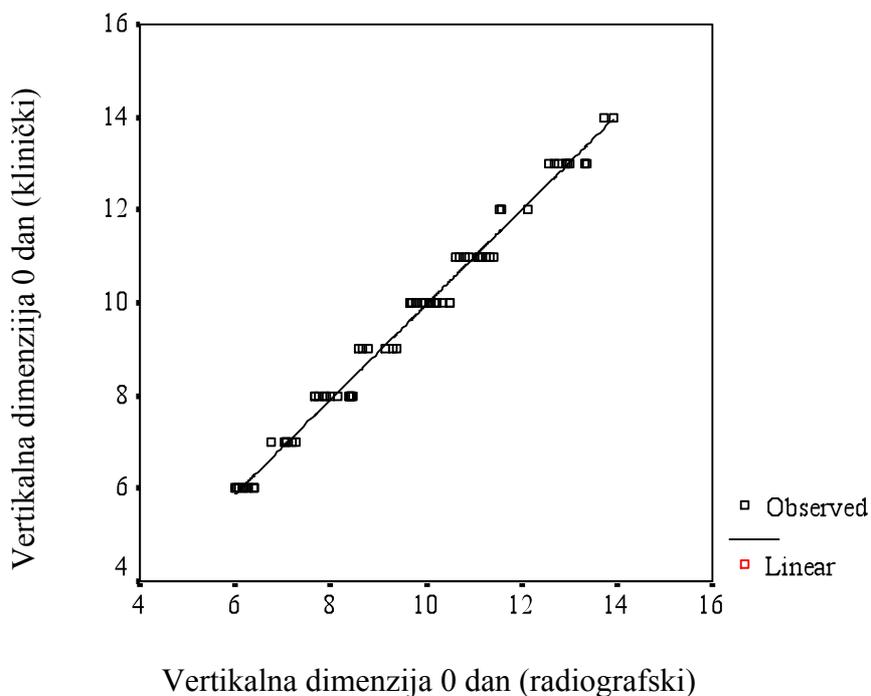
*statistički značajna razlika

Tabela 8.2.4.1. Rezultati regresione analize radiografskih i kliničkih merenja ispitivanih alveola

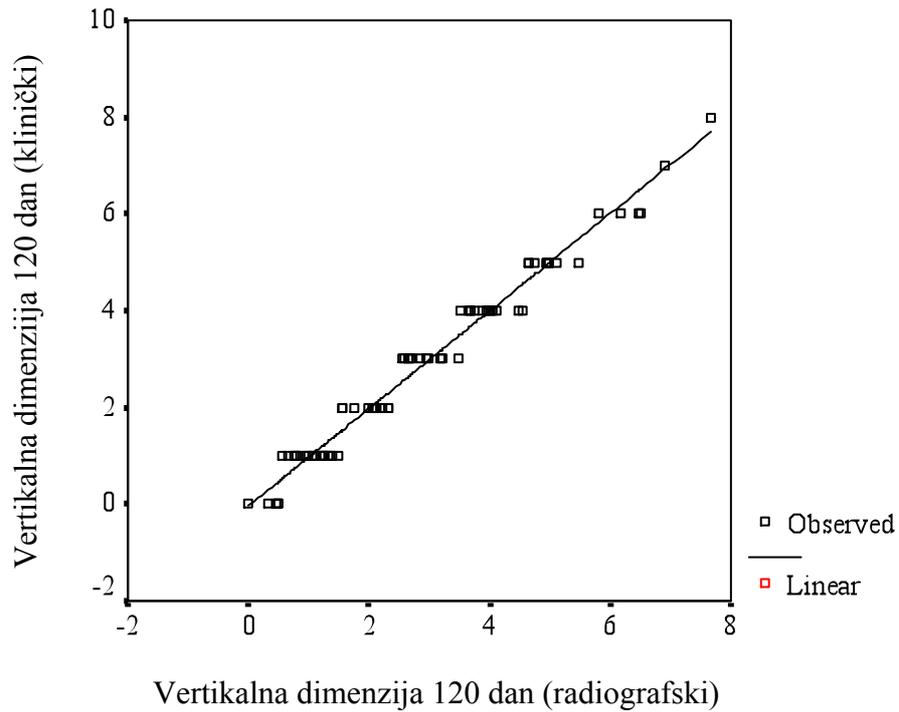
| Parametri | Pearsonova korelacija | p |
|---|-----------------------|---------|
| vertikalna dimenzija 0 dan klinički-radiografski | 0.993 | 0.000** |
| vertikalna dimenzija 120 dan klinički-radiografski | 0.988 | 0.000** |
| horizontalna dimenzija 0 dan klinički-radiografski | 0.991 | 0.000** |
| horizontalna dimenzija 120 dan klinički-radiografski | 0.985 | 0.000** |

**Stepen značajnosti korelacije je < 0.01

Grafikon 8.2.4.1. Regresiona prava koja pokazuje linearni oblik zavisnosti radiografskih i kliničkih merenja dubine alveola 0. dana ispitivanja

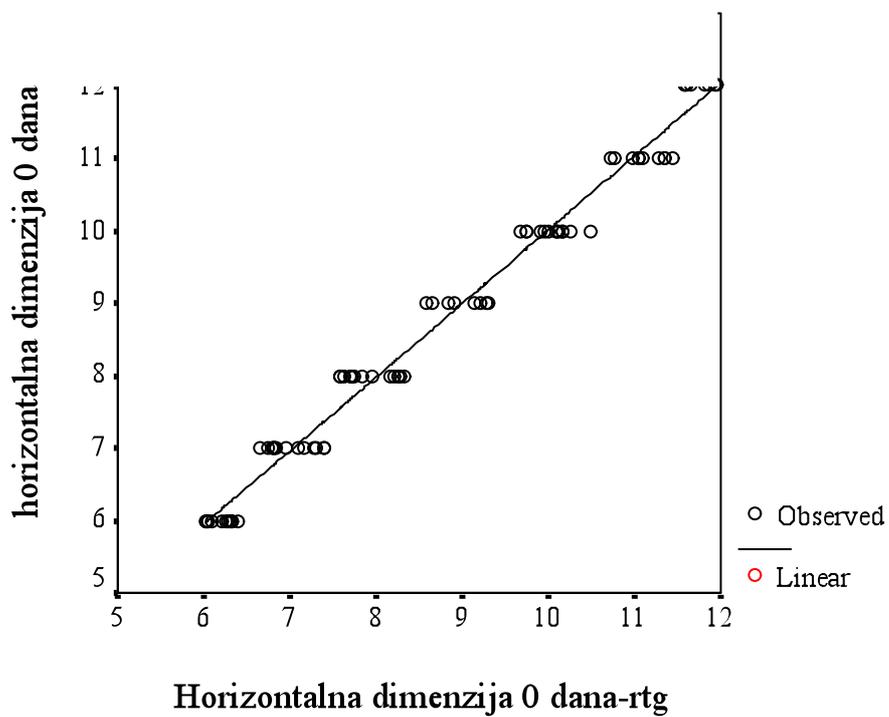


Grafikon 8.2.4.1. Regresiona prava koja pokazuje linearni oblik zavisnosti radiografskih i kliničkih merenja dubine alveola 120. dana ispitivanja

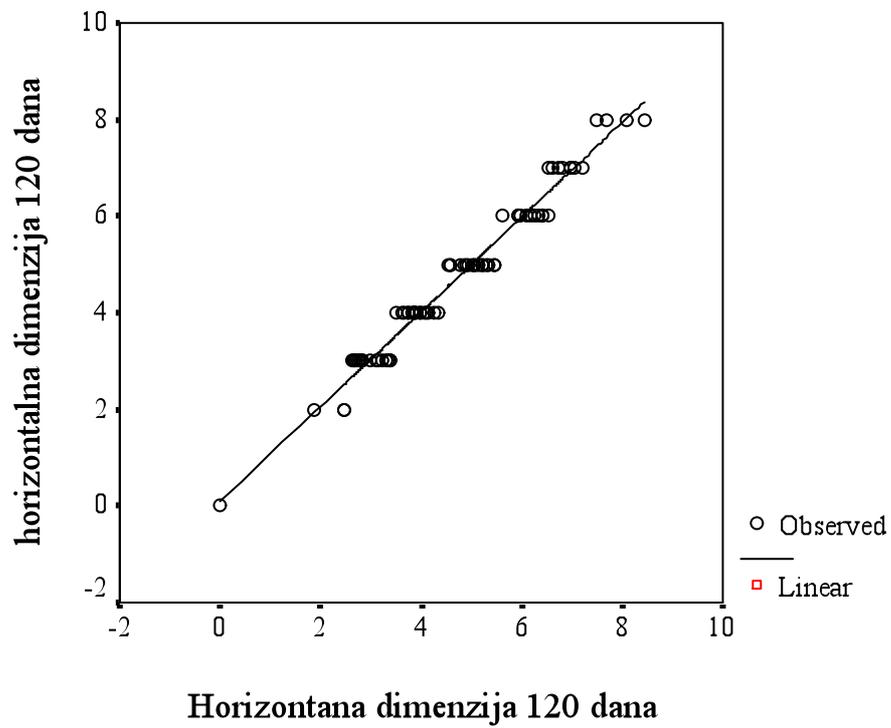


Grafikon 8.2.4.1. Regresiona prava koja pokazuje linearni oblik zavisnosti radiografskih i kliničkih merenja širine alveola 0. dana ispitivanja

radiografskih i kliničkih



Grafikon 8.2.4.1. Regresiona prava koja pokazuje linearni oblik zavisnosti radiografskih i kliničkih merenja širine alveola 0. dana ispitivanja



9. DISKUSIJA

Ispitivanje koje smo sprovedi imalo je za cilj da proveri efikasnost terapijske primene rekombinovanog humanog koštanog morfogenetskog proteina (rhBMP-2), u očuvanju što povoljnijih dimenzija alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba. Zapravo najintragantniji metod za povećanje i očuvanje volumena alveolarne kosti u savremenoj stomatologiji predstavlja indukcija formiranja koštanog tkiva. Eru koštane indukcije, kako je već rečeno, započeo je Urist 1965. godine kada je zapazio induktivna svojstva i kapacitet za indukciju rasta kosti, proteina koji je izolovao iz demineralizovanog koštanog matriksa. Taj protein je svoj induktivni potencijal za rast košnog tkiva ispoljavao kroz direktan uticaj na osteoprogenitorne ćelije izazivajući njihovu intenzivnu hemotaksu, proliferaciju i diferencijaciju (Wozney i dr, 1988).

Rekombinantna biotehnologija je, između mnogih izolovanih koštanih morfogenetskih proteina, za terapijske svrhe izdvojila rekombinovani humani koštani morfogenetski protein (rhBMP-2) kao supstancu sa izraženim osteoinduktivnim svojstvima. Inače njegova koncentracija u koštanom tkivu u proseku iznosi 1 μ g/g kosti i mnogo je puta manja od terapijske koncentracije koja je primenjena u ovom ispitivanju (1.5 mg/ml). Inače, kliničke studije na ljudima, koje su se bavile ispitivanjem bezbednosti i efikasnosti preparata na bazi rhBMP-2, koristile su ovaj koštani morfogenetski protein u koncentraciji od 0.27-2.89 mg/ml (Boyne i dr, 1997; Howell i dr, 1997). Osim u fiziološkom stanju koštanog tkiva, kada endogena koncentracija koštanih morfogenetskih proteina varira ovisno o fazi remodelacije i normalnom metabolizmu kosti, ekstrakcija zuba dovodi do povećane sinteze i koncentracije ovih proteina u tkivu. Taj skok endogene produkcije BMP-a se ne dešava naglo i neposredno nakon same ekstrakcije zuba već svoj vrhunac sinteze i dejstva ovi proteini dostižu u periodu od druge do osme nedelje posekstrakciono, da bi se nakon 3. meseca zarastanja njihova endogena produkcija svela na normalnu razinu. Ovaj skok sinteze endogenih koštanih morfogenetskih proteina naročito BMP-2 i BMP-7 se poklapa sa ranom i intermedijalnom fazom koštane reparacije, tj. mineralizacijom matriksa i sintezom nezrele, trabekularne kosti.

Definitivni zaključci prethodno pomenute studije su u skladu sa zaključcima ispitivanja Okube i dr, 2001. godine, koji su nakon implantacije rhBMP-2 u mišićno tkivo pacova pratili njegovo kretanje i dinamiku ispoljavanja osteoinduktivnog potencijala. Već

trećeg dana su uočili povećane koncentracije ovog proteina na mestu implantacije, da bi 10 dana detekcija ovog proteina bila skoncentrisana na područje gde su se nalazili hondrociti i novoformirana rskavica. Četrnaestog dana, BMP-2 je bio detektovan u novoformiranom segmentu trabekularne kosti, a 21. dana u relativno visokoj koncentraciji u samim osteoblastima koji su bili lokalizovani na površini novog koštanog tkiva. Od ovog perioda pa na dalje koncentracija ovog proteina je opadala, što je već bilo očigledno u period od 14. do 21. dana, kada je trabekularna kost maturirala i prelazila u lamelarnu. Dakle, ovaj proteini, bez obzira da li je sintetisan u tkivu domaćina (endogenog porekla) ili je unet u tkivo u terpijskoj koncentraciji (egzogenog porekla), ispoljava svoje osteoinduktivno dejstvo u najvećem stepenu u fazi regrutacije osteoprogenitornih ćelija, tokom sinteze koštanog matriksa i fazi rane mineralizacije koštanog tkiva.

Međutim, osteoinduktivni potencijal rhBMP-2, unetog na mesto defekata u terapijske svrhe, ne ovisi u potpunosti o samom koštanom morfogenetskom proteinu. Veoma je važno naglasiti da je za optimalan biološki odgovor ovog proteina sem koncentracije bitna i njegova kompatibilnost sa nosačem (Sigurdsson i dr, 1996; Hunt i dr, 2001). Zbog čega je za pozitivan efekat primene rhBMP-2 u kombinaciji sa različitim nosačima delom doprinela njihova struktura i podudarnost sa tkivom u koje su dopremali koštani morfogenetski protein.

Osnovna uloga nosača ili matriksa rhBMP-2, sem isporuke ovog proteina trebala bi da zadovolji i potrebe tkiva gde se indukuje osteogeneza. Dakle nosač mora biti biokompatibilan tako da omogući migraciju i kolonizaciju osteoprogenitornih ćelija, podrži kolateralnu cirkulaciju i obezbedi pravilnu isporuku adekvatnih koncentracija proteina dovoljnih za osteoinduktivne procese i osteosintezu (Darby i dr, 2008). Tokom regeneracije kosti prirodnim putem, produženo lokalno dejstvo BMP-a omogućeno je njegovim vezivanjem za ekstracelularni matriks (Sieron i dr, 2002). Kada je u pitanju terapijski unet rhBMP-2, on se zadržava na mestu unosa tako što ostaje zarobljen u novoformiranu kost koja prolongira njegovo prisustvo. Ekstracelularni matriks je u ranoj fazi osteogenetskog procesa fibrinske građe, a kasnije dobija gušću kolagenu strukturu. Ispitivanja Junga i saradnika su se upravo bavila ispitivanjem primene fibrina i plazme bogate trombocitima kao sistemima isporuke rhBMP-2. Kao krajnji ishod studije se moglo konstatovati da su se oba sistema pokazala podjednako uspešna u smislu potencijalnih nosača rhBMP-2 primenjenog u terapijske svrhe (Jung i dr, 2005).

Preparat koji je primenjen tokom našeg ispitivanja je kao nosač rhBMP-2 imao resorptivni kolageni matriks (ACS) koji je bio komercijalno dostupan i dopremljen sa koštanim morfogenetskim proteinom u kompletu.

Upravo ovakav preparat na bazi rhBMP-2 sa kolagenim nosačem, koji se najčešće ispituje u humanim studijama, je bio polazna tačka za procenu osteoinduktivne efikasnosti koštanog morfogenetskog proteina-2, u cilju očuvanja povoljnih dimenzija alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba u našem ispitivanju. Kolageni nosač, što su brojne studije pokazale do sada (Fiorellini i dr, 2005), se pokazao kao adekvatan sistem isporuke za rhBMP-2, i primenjujući ovaj preparat omogućeno nam je da ispitamo pravu efikasnost rhBMP-2 i dokažemo postavljene ciljeve ispitivanja. Međutim, sem isporuke, i održavanja aktivne koncentracije ovog proteina u tkivu kao i lake kliničke manipulacije i aplikovanja u ekstrakcionu ranu, kolageni matriks, nema izražene druge osobine. Međutim jedan od važnih faktora koji svakako doprinose osteoinduktivnosti rhBMP-2, a što je jedan ograničavajući faktor kada je reč o kolagenom nosaču, predstavlja osteokonduktivnost. Sam protein rhBMP-2 i pored izražene osteoinduktivnosti nema ovu osobinu koja je veoma značajna kada je reč o koštanim defektima gde nisu svi koštani zidovi intaktni, zatim kada je reč o augmentacionim procedurama i naročito ekstrakcionim ranama koje zarastaju *per secundam intentionem*. Zapravo u onim slučajevima kada visokodiferencirano osteoprogenitorno tkivo mora da se izbori za prostor koji teži da zauzme bržeproliferišuće osteoinsuficijentno tkivo gingive koje pored ostalog teži i da destabilizuje sam koagulum u ekstrakcionoj rani (Wikesjo i dr, 1990.)

Brojna ispitivanja koja su se, do sad, bavila problemom očuvanja alveolarnog grebena neposredno nakon ekstrakcije zuba primenom koncepta aktivne regeneracije pored ispitivanja efikasnosti primenjenog preparata imala su za cilj da pronađu terapijski modalitet koji bi predstavljao metod izbora za primenu rhBMP-2 i svojim udelom doprineo što boljoj osteoinduktivnosti ovog proteina (Barboza i dr, 2000).

Upravo zbog ovih činjenica, a na osnovu literature, i uvida u do sada primenjivane pasivne koncepte u cilju očuvanja alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba, u ovom ispitivanju smo aktivni koncept rhBMP-2 primenili u okviru terapijskih modaliteta pasivne regeneracije tkiva. Tako da smo sem rhBMP-2/ACS, kod određene grupe ekstrakcionih rana, primenili i preparat na bazi kalcijum fosfata, fluorohidroksiapatit (TCP), kao i koncept vođene koštane regeneracije osteopromocije, primenom resorptivne kolagene membrane.

Već je poznato da se alveolarni nastavak gornje i donje vilice se razvija sinhrono sa erupcijom zuba i postepeno s gubi nakon njihove ekstrakcije.

Ispitivanje Araúja i Lindhea, 2005. je pokazalo da se kod psa, tokom prvih osam nedelja od ekstrakcije zuba, dešava pojačana osteoklastična aktivnost koja dovodi do resorpcije bukalnog i lingvalnog zida alveole. Isto tako su primetili da je redukcija visine bila izraženija kod bukalnog zida alveole i da je bila praćena gubitkom širine alveolarnog grebena na mestu ekstrakcije zuba. Da je resorpcija tokom zarastanja ekstrakcione rane izraženija na bukalnom zidu potvrdile su brojne studije (Pietrokokovski, 1967; Schrop i dr, 2003). Leković i dr, 1997. su zaključili da je gubitak širine alveolarnog grebena veći od gubitka visine. Najbrže dimenzione promene se dešavaju u ranom post-ekstrakcionom periodu, od 6 meseci do 2 godine i četiri puta su izraženije u mandibuli nego u maksili, zaključili su Atwood i Coy, 1971. Schropp i dr, 2003. u svojoj studiji na humanom materijalu potvrđuju da se najveći gubitak kako horizontalne tako i vertikalne dimenzije alveolarnog grebena dešava u prva tri meseca nakon ekstrakcije zuba. Gubitak širine grebena u tom periodu iznosi oko 5-7mm. U prva 3 meseca >30%, a nakon 12 meseci >50% u proseku dolazi do redukcije širine grebena nakon ekstrakcije zuba.

Proces zarastanja alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba vidno rezultira jače izraženom resorpcijom bukalne nego palatinalne / lingvalne lamele alveolarne kosti. U svojim istraživanjima Pietrokovski i Massler, 1967. su pratili količinu izgubljenog tkiva alveolarne kosti nakon unilateralne ekstrakcije zuba i vršili procenu dimenzionih promena koristeći gipsane modele. Došli su do zaključka da se bukalna lamela i u maksili i u mandibuli resorbuje značajno više nego lingvalna, odnosno palatinalna, što ima za posledicu pomeranje sredine alveolarnog grebena ka palatinalno, odnosno lingvalno.

Soehren i dr, 1979. su pokazali da procesi zarastanja ekstrakcione rane brže odvijaju u maksili nego u mandibuli što se objašnjava boljom vaskularizacijom gornje vilice, a takođe navodi na zaključak da se i procesi resorpcije alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba brže odvijaju u maksili iz istog razloga.

Sve navedeno, doprinosi nezadovoljavajućem estetskom izgledu alveolarnog grebena kao i nepovoljnih dimenzionih odnosa za buduće protetsko zbrinjavanje pacijenta. Upravo zato smo u cilju prezervacije primenom koncepta aktivne regeneracije rhBMP-2 i njegovom kombinacijom sa pasivnim regenerativnim procedurama težili da očuvano dimenzije alveolarne čašice nakon ekstrakcije, terapijski indukujući sintezu koštanog tkiva koje će biti adekvatnog kvaliteta da pripremi greben za implantaciju dentalnih implantata.

Rezultati eksperimentalnih grupa alveola (rhBMP-2/ACS, rhBMP-2/ACS+TCP) kod prve grupe ispitanika (N=13) i istih terapijskih modaliteta u kombinaciji sa osteopromotivnim konceptom (rhBMP-2/ACS+M, rhBMP-2/ACS+TCP+M) kod druge grupe ispitanika (N=13), pokazali su signifikantno manji obim gubitaka koštanog tkiva grebena u odnosu na kontrolne grupe alveola koje su postojale kod obe grupe ispitanika i nisu bile tretirane ni jednim od pomenutih terapijskih koncepta.

Posmatrajući prvo rezultate u okviru prve grupe ispitanika se vidi da je prosečan gubitak EVM eksperimentalnih alveola iznosio 1.69mm (rhBMP-2/ACS) i 1.16 mm (rhBMP-2/ACS+TCP), a HM 2.08mm (rhBMP-2/ACS) i 1.31mm (rhBMP-2/ACS+TCP) u odnosu na EVM 2.69mm i HM 3.77mm kod kontrolne grupe. Iz priloženih rezultata se vidi da je najveći stepen gubitka koštanog tkiva bio prisutan kod kontrolne grupe alveola i da se odnosio na veoma izražen gubitak širine alveolarnog grebena. Uvidom u rezultate eksperimentalnih alveola u okviru druge grupe ispitanika se zapaža izuzetno mali gubitak EVM 1.31mm (rhBMP-2/ACS+M) i 0.30mm (rhBMP-2/ACS+TCP+M) i nešto veći gubitak širine grebena od 1.69mm odnosno 1.92mm. Kod kontrolne grupe alveola u okviru druge grupe ispitanika gubitak visine grebena je iznosio 2.46mm, a gubitak širine 3.34mm, što je bilo klinički i statistički značajno.

Ovi nalazi, kada su u pitanju kontrolne grupe su u skladu sa ispitivanjima prethodno navedenih autora (Leković i dr, 1997, Schropp i dr, 2003). Ovakav nalaz se mogao objasniti postojanjem specifičnog šablona resorpcije koji nije samo izražen u maksili kako se do sada isticalo, nego je u manjem obimu prisutan i u mandibuli. Najveći gubitak koštanog tkiva i to njegove širine se odvija u prvom tromesečju nakon ekstrakcije zuba i u proseku iznosi 30-40% njegove prvobitne širine. Sumirajući rezultate naših ispitivanja se može reći da je primena koncepta aktivne regeneracije u svim terapijskim modalitetima uspeła da značajno smanji obimnu resorpciju širine alveolarnog grebena i da je redukuje na gubitak manji od 20% u periodu od četiri meseca. Osim ovog, rezultati našeg ispitivanja pokazuju da je dinamika odnosno brzina gubitka visine i širine rezidualnog grebena svakako bila veća kod kontrolnih alveola te da je primenjeni rhBMP-2, uveliko usporio resorpciju koštanog tkiva alveola u korist regenerativnih osteoformativnih procesa.

Kada uzmemo u obzir, ipak, izvestan gubitak visine alveolarnog grebena koji je bio prisutan kod svih eksperimentalnih grupa alveola, ne smemo zaboraviti podatak da i ostali faktori, sem onih fizioloških, mogu doprineti značajnom gubitku visine grebena (Araújo i Lindhe, 2005).

Prvo, odizanje režnja tokom ekstrakcije zuba može kompromitovati ishranu bukalnog zida zbog čega može doći do nekroze dela koštanog zida. Tokom druge faze zarastanja nekrotični deo bukalnog zida biva resorbovan od strane osteoklasta. Oba ova procesa dovode kako do gubitka vertikalne tako i horizontalne dimenzije alveolarne kosti. Drugo, budući da je zapaženo da se iste dimenzione promene dešavaju i kad nije odizan režanj tokom ekstrakcije, može se zaključiti da i drugi faktori mogu doprineti tome, a to su (1) adaptacija na prestanak funkcionalne stimulacije i (2) genetski determinisane promene alveolarnog grebena nakon gubitka zuba (Araújo i Lindhe, 2009.).

Ukoliko obratimo pažnju na uzroke koji su doveli do ekstrakcije zuba, uključenih u naše ispitivanje, vidimo da je parodontopatija (41%) zajedno sa karijesom i njegovim komplikacijama (46%) predstavljala dominantan uzrok za ekstrakciju. Zbog čega, opet ne možemo da zaobiđemo prisustvo infekcije kao jedan od bitnih faktora rizika za neuspeh ili ograničene rezultate koji se mogu dobiti nakon primene ne samo aktivnog regenerativnog koncepta (rhBMP-2/ACS), nego i bilo kog drugog terapijskog pristupa u cilju očuvanja dimenzija rezidualnog alveolarnog grebena. Međutim, kao delimična podrška ovom zapažanju, može poslužiti uzgredan nalaz ispitivanja Serina i dr, 2003. koji su kod nekoliko kliničkih slučajeva, bez obzira da li je bila izvršena prezervacija alveole nakon ekstrakcije ili su ekstrakcione rane ostavljene da spontano zarastu, histološkim ispitivanjima zapazili, da je novoformirano koštano tkivo u centralnom delu alveola bilo manje gustine u odnosu na periferne delove. Retrospektivno, imajući u vidu uzroke ekstrakcije zuba gde je regeneracija kosti bila slabija, je bilo očigledno da su to bili inficirani zubi sa čestim komplikacijama u vidu apscesa i da je perzistirajuća infekcija bila faktor rizika koji je umanjio osteokonduktivni kapacitet materijala koji bio korišćen u ispitivanju (polilaktid-poliglikolna kiselina i kolgeni matriks).

Ako se ponovo vratimo na posmatrane parametre kao što su visina (EVM) i širina (HM) ispitivanih alveola, vidi se da ni kod jednog poređenja prosečne razlike ovih parametara, bilo da se radilo o poređenju eksperimentalnih grupa sa kontrolama ili eksperimentalnih grupa alveola međusobno, neposredno nakon ekstrakcije, dakle 0. dana merenja, nije bilo statistički značajne razlike. Ovo nam dakako ukazuje na to, da su ispitivane grupe alveola bile relativno slične i da je najvećim delom sama primenjena terapija dovela do njihove razlike koja je bila registrovana nakon četiri meseca.

Upoređujući redukciju visine i širine grebena među eksperimentalnim grupama alveola u okviru prve grupe ispitanika, se vidi da razlika u redukciji visine nije bila značajna,

ali je zato razlika u redukciji širine grebena bila značajnija u grupi alveola koje su bile prezervirane samo koštanim morfogenetskim proteinom-2 na kolagenom nosaču.

Slična je bila situacija i sa eksperimentalnim alveolama u okviru druge grupe ispitanika gde je postojao značajan gubitak, kako visine tako i širine grebena, kod alveola tretiranih koštanim morfogenetskim proteinom-2 na kolagenom nosaču i prekrivenih resorptivnom kolagenom membranom u poređenju sa rhBMP-2/ACS kojem je uz membranu dodat i sintetski koštani graft na bazi kalcijum fosfata. Mora se istaći da je rhBMP-2/ACS primenjen sa preparatom na bazi kalcijum fosfata u okviru osteopromotivnog koncepta, postigao, iako statistički značajnu ipak klinički minimalnu, redukciju visine grebena koja nije iznosila više od 0.30mm.

Kod oba ova terapijska pristupa, se vidi da je osteoinduktivni potencijal rhBMP-2 bio potenciran dodavanjem koštanog zamenika na bazi kalcijum fosfata u okviru osteopromotivnog koncepta, kada je u pitanju bilo očuvanje visine alveolarnog grebena.

Uspešnost primene aktivnog koncepta regeneracije u cilju prezervacije alveolarnog grebena primenom rhBMP-2, su potvrdili rezultati merenja unutrašnje verikalne dimenzije (IVM) ili dubine alveolarne čašice nakon opservacionog perioda od četiri meseca.

Posmatrajući rezultate eksperimentalnih alveola ispunjenih rhBMP-2/ACS, odnosno rhBMP-2/ACS u kombinaciji sa sintetskim zamenikom za kost (TCP) se vidi da je nakon četiri meseca prvobitna dubina alveolarne čašice bila redukovana za 66% odnosno 82%. Kod druge grupe ispitanika gde su eksperimentalne alveole bile ispunjene istim preparatima samo u okviru osteopromotivnog koncepta uz primenu membrana, redukcija dubine alveole je iznosila oko 73% (rhBMP-2/ACS+M), odnosno 93% (rhBMP-2/ACS+TCP+M). Redukcija dubine kontrolnih alveola kod obe grupe ispitanika se kretala od 48% do 53%.

Naši rezultati su u skladu sa rezultatima Jovanovića i dr, 2007. koji prezervirajući veštački formirane koštane defekte u donjoj vilici pasa, primenom rhBMP-2/ACS bez i sa neresorptivnom ePTFE membranom, dobija 100% ispunjenost defekta u slučajevima gde je primenio rhBMP-2/ACS, 92% gde je koristio samo osteopromotivni koncept, dok je kod spontano-zarastajućih defekata dobio 60% ispunjenosti, nakon 3 meseca zarastanja. Rezultate je verifikovao radiološkim i histološkim putem. Ipak, ne smemo zaboraviti da su eksperimentalni model kao i anatomomorfološke karakteristike testiranih defekata i njihova lokalizacija isključivo u donjoj vilici koja ima veći potencijal regeneracije (Serino i dr, 2003), u gore navedenoj studiji i našem ispitivanju bili različiti i različitog porekla, zbog čega lošije rezultate dobijene u našem ispitivanju možemo smatrati opravdanim.

Dobijeni rezultati u okviru našeg ispitivanja, govore u prilog tome da prisustvo rhBMP-2/ACS u alveoli pozitivno doprinosi osealnoj regeneraciji i neogenezi koje se ogleda u značajno većoj ispunjenosti alveolarne čašice novoformiranim koštanim tkivom, u odnosu na kontrolu. Ono što je interesantno zapaziti jeste da dodavanje koštanog zamenika koštanom morfogenetskom proteinu u okviru osteopromotivnog koncepta, nije predstavljalo nikakvu prednost kada je bila u pitanju ispunjenost alveole. Zapravo razlika u ispunjenosti rhBMP-2/ACS+M, odnosno rhBMP-2/ACS+TCP+M alveola nije bila statistički značajna i alveole su se ispunjavale novoformiranim koštanim tkivom približno istom brzinom. Ipak bolji klinički rezultat i klinički ispunjenija alveola, je svakako bila ona tretirana rhBMP-2/ACS+TCP+M (8.92mm) u odnosu na rhBMP-2/ACS+M alveolu (7.77mm). Sličan dobitak novoformiranog koštanog tkiva imao je Boyne sa saradnicima, kada su primenom iste koncentracije rhBMP-2 kao u našem ispitivanju, u proseku dobili 8mm novoformirane kosti nastale augmentacijom poda maksilarnog sinura (Boyne i dr, 1997; Boyne i dr, 2005)

Ovo nije bio slučaj kada smo poredili eksperimentalne alveole u okviru prve grupe ispitanika, gde je klinički i statistički vidljiva bolja ispunjenost novoformiranim koštanim tkivom bila prisutna kod alveola kod kojih je uz rhBMP-2/ACS bio primenjen i koštani graft (8.61mm) u odnosu na alveole gde je bio primenjen samo rhBMP-2 na kolagenom nosaču (6.62mm). Ovde, naravno dolazi do izražaja oskudna osteokonduktivnost kolagenog nosača, pomenuta ranije, kao i njegova slaba uloga barijere prodoru oseoinsuficijentnog tkiva u sam prostor ekstrakcione rane.

Obimno i relativno brzo popunjavanje alveole koštanim tkivom koje je omogućeno sprečavanjem osteogeno insuficijentnog ekstraskelatalnog vezivnog tkiva da istovremeno učestvuje u fazi zarastanja alveolarnog koštanog prostora je krucijalan uslov za uspešno očuvanje vertikalne i horizontalne dimenzije grebena nakon ekstrakcije zuba. Potvrda uspešnosti primenjenog koncepta se ogleda u vrednostima prosečnog smanjenja dubine alveola.

Potvrdu naših rezultata i opravdanost eksperimentalnog dizajna našeg kliničkog ispitivanja koji je uključivao primenu koštanog grafta i membrane u cilju potenciranja osteinduktivnosti rhBMP-2, možemo naći delom u ipitivanjima Cardaropolia i dr, 2005; Carmangole i dr, 2002. Ovi autori ističu značaj primene osteokonduktivnih materijala u službi punioca ili čuvara prostora, u terapiji defekata, bilo da se radi o ekstrakcionim ranama ili arteficijelno formiranim defektima u eksperimentalne svrhe. Prva grupa razloga koje navode jeste obezbeđivanje stabilnosti koaguluma, izbegavanje gubitka volumena koštanog tkiva i izbegavanje površinske invaginacije korteksa i mekog tkiva rane koji se dešavaju zbog

sledstvene kontrakcije veziva tokom zarastanja. Potvrdu za ovakvu tvrdnju su pronašli u rezultatima studije, jer su defekti koji su bili tretirani samo kolagenim matriksom i koji su ostali prazni, imali invaginiran korteks, koji je premošćavao defekte, a invaginacija je iznosila 0.6-0.8mm. Ova invaginacija je bila jedva uočljiva na histološkim preparatima (0.1mm) gde je u cilju očuvanja koštanih zidova defekta bio aplikovan ksenogeni koštani graft (Cardaropoli i dr, 2005; Carmangola i dr, 2002). Drugi, veoma značajan razlog za primenu koštanog grafta u cilju očuvanja dimenzija ekstrakcione rane, je osteokonduktivnost koju većina koštanih zamenika za kost ima kao izraženu osobinu (Cardaropoli i dr, 2005; Carmangola i dr, 2002).

Osteokonduktivnost primenjenog preparata na bazi kalcijum fosfata, u našem ispitivanju, se pokazala kao pozitivan multiplikator osteoinduktivnog potencijala rhBMP-2/ACS, zbog čega je u eksperimentalnim alveolama koje su bile tretirane kombinacijom ovih preparata došlo do značajne ispunjenosti alveola novoformiranim koštanim tkivom.

Ne može se ni zanemariti osteopromotivni koncept koji je u kombinaciji sa rhBMP-2 i koštanim graftom u najvećoj meri uspeo da redukuje gubitak koštanog tkiva nastalog nakon ekstrakcije i da obezbedi najbolje rezultate od svih primenjenih terapijskih modaliteta. Čini se da kolageni nosač rhBMP-2, iako ima izvestan potencijal da se suprotstavi prodoru osteoinsuficijentnog koštanog tkiva u predeo rane, delom ipak ne može sprečiti njegov pritisak, tako da postavljanje membrane ipak predstavlja vid terapijskog pristupa sa predvidljivim ishodom. Resorptivna kolagena membrana u našem ispitivanju, je bila stabilizovana kočićima kako bi se sprečio njen kolaps i interponiranje tkiva gingive u prostor bukalne dehiscencije koja najčešće nastaje kao posledica ekstrakcije zuba. Takođe, imobilizacijom membrane sprečili smo nastanak mikrokretnji i njihov štetan uticaj na koagulum u periodu ranog zarastanja, čime je isključena produkcija fibroznog tkiva i povećan kvalitet novoformirane kosti tokom kasnije faze zarastanja (Jovanovic i dr, 1995; Zubillaga i dr, 2003).

Na osnovu rezultata koje smo dobili u ovom ispitivanju, možemo reći da se primenom materijala na bazi kalcijum fosfata ostvaruje pozitivan terapijski efekat u okviru maksimalne redukcije postekstrakcione resorpcije alveolarne kosti. Međutim, alveolarna kost poseduje poseban šablon i redosled sekvenci tkivnog zarastanja koji je genetski determinisan i predstavljen nizom lančanih reakcija. Ove reakcije karakteristiše neoosteogeneza unutar alveolarne čašice, i predstavljene su vrlo kompleksnim i ujedno veoma precizanim procesom.

Upravo zbog toga postoje mišljenja da svaki uticaj od strane bilo veštačkog zamenika za kost, koji se aplikuje u alveolu, sa fiziološkom kaskadom osteogenetskog procesa na

poseban način ugrožava ili bar usporava formiranje zrele, lamelarne kosti. Do ovakvog stava se došlo zahvaljujući preciznoj analizi histoloških studija (Artzi i Nemcowsky, 1998) gde je potvrđen visok stepen nezrelosti i strukturne nefukcionalnosti nove kosti formirane oko prisutnih granula implantata u alveoli. Ovaj nalaz se dovodi u direktnu vezu sa blagim inhibitornim delovanjem ksenograftnog materijala na visoko sofisticirani proces neoosteogeneze unutar alveolarne čašice.

Osteoblasti započinju formiranje kosti sa čvrste površine, obično sa dna i zidova koštanog defekta. Prethodna prezervacija koštanih defekata nekim od biokompatibilnih materijala može da olakša ili ubrza reparatorne procese u kosti, na taj način što prisustvo materijala obezbeđuje matricu sa koje osteoprogenitorne ćelije mogu da iniciraju formiranje kosti. Negativna svojstva ovih materijala su vezana za nepotpune osteoneogenetske procese unutar alveola ispunjenih implantatom (Artzi i dr, 2004).

Međutim mora se istaći i to da se svaki koštani graft primenjen u cilju regeneracije koštanih defekata pod uticajem faktora lokalne sredine, ne ponaša isto. Do sada, najbolje ispitani i dokumentovani koštani zamenici koji su koristili u cilju prezervacije alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba, bilo da su ispitivanja vršena na animalnom bilo na humanom modelu, su demineralizovani suvosmrznuti koštani alograft (DFDBA)(Iasella i dr, 2003.), ksenograft bovinog porekla (Bio-Oss[®])(Artzi i dr, 2000; Cardaropoli i dr, 2005; Jung i dr, 2002) i preparati na bazi kalcijum fosfata (β -TCP i HA) (Brkovic i dr, 2008; Artzi i dr, 2004; Nikolić-Jakoba, 2007; Barboza i dr, 2000).

Upoređujući histološke nalaze novoformiranog koštanog tkiva koje je uzeto biopsijom iz eksperimentalnih alveola u našem ispitivanju, sa histološkim i histomorfometrijskim rezultatima studija drugih autora, može se reći da su oni bili u skladu. U grupi eksperimentalnih alveola gde je bio primenjen rhBMP-2/ACS sa resorptivnom membranom ili bez nje, histološka struktura novoformirane kosti se nije razlikovala od susedne native kosti, jedino što su gredice trabekularne kosti bile tanke, u raličitim fazama sazrevanja, sa širokim prostorima koštane srži između njih. Ovakav nalaz je bio u skladu sa ispitivanjem Fiorellina i dr, 2005, koji su koristili dve koncentracije rhBMP-2/ACS (0.75 i 1.5 mg/ml), kolageni matriks i kontrolu u cilju augmentacije alveola sa oštećenim bukalnim zidom ($\geq 50\%$) nakon ekstrakcije zuba. Rezultati su potvrdili sa je kod koncentracije rhBMP-2/ACS od 1.5 mg/ml, nakon 4 meseca došlo do značajne augmentacije kosti i to dva puta veće nego kod kontrolnih alveola. Histološki nalaz je potvrdio da se novoformirana kost, indukovana terapijskim uticajem koštanog morfogenetskog proteina-2, nije značajno razlikovala po svojoj

histološkoj građi od okolne nativne kosti. Kliničari, naravno, moraju uzeti u obzir indikaciju, odnosno tip koštanog defekta, koji se tretirao rhBMP-2 na kolagenom nosaču, kao i da se rezultati naše i gore navedene studije odnose na defekte sa četiri koštana zida, a ne na defekte tipa dehiscencija ili onlej augmentacione procedure alveolarnog grebena. U tim slučajevima, ovako primenjen koncept zasigurno ne bi dao dobre rezultate u smislu povećanja dimenzija grebena, zbog slabog osteokonduktivnog potencijala koje ima kolageni matriks, koji je služio kao nosač faktora rasta u prethodno pomenutim ispitivanjima. Zbog toga je Jung sa saradnicima, da bi izvršio lateralnu augmentaciju bezubih alveolarnih grebena i istovremenu implantaciju endosealnih implantata, upotrebio koštani ksenograft kao nosač rhBMP-2 umesto kolagenog matriksa (Jung i dr, 2003). Histološki nalaz uzet biopsijom tkiva iz eksperimentalnih regiona, koji su bili ispunjeni ksenograftom sa rhBMP-2 i prekriveni resorptivnom membranom, je pokazao da je nakon 6 meseci došlo do formiranja nove lamelarne kosti koja je zauzimala 76% augmentiranog prostora. Kod kontrola kod kojih nije primenjen rhBMP-2, količina novoformirane kosti je iznosila 56%. Osim novoformirane kosti, u augmentiranim regionima se nalazila i izvesna količina granula koštanog zamenika 17-23%, sa tom razlikom što su na eksperimentalnoj strani ove granule u velikoj meri bile u direktnom kontaktu sa novoformiranom kosti. Definitivna zapažanja ovog ispitivanja su se odnosila na kombinaciju ksenogenog grafta i rhBMP-2, gde je uloga rhBMP-2 bila da ubrza osteogenezu i maturaciju kosti, te da poveća kontakt grafta i novoformirane kosti i samim time ubrza vođenu koštanu regeneraciju.

U našem ispitivanju, alveole koje su bile tretirane rhBMP-2/ACS+TCP sa membranom ili bez nje, kao zajednički histološki nalaz su imale široke gredice novoformiranog koštanog tkiva sa lakunama nepravilnog oblika gde su se nalazile granule preparata na bazi kalcijum fosfata koje su bile u velikoj meri u kontaktu sa koštanim tkivom, i u različitim fazama resorpcije. Kod alveola koje nisu bile tretirane membranom, neresorbovane granule zamenika za kost su delom dospevale i do mekog tkiva gingive gde su bile inkapsulirane. Naša zapažanja su u skladu sa zapažanjima Brkovića i dr, 2008, koji su u histološkom nalazu novoformiranog koštanog tkiva, 9 meseci nakon prezervacije alveole preparatom na bazi β -TCP-a sa kolagenom tip I, našli 16.3% neresorbovanih granula zaostalog koštanog grafta. Kao ni u našem ispitivanju nije bilo znakova inflamatorne reakcije niti reakcije stranog tela na mestima zaostalog grafta. Ovde ne možemo, a da rezultate našeg ispitivanja ne dopunimo rezultatima Artzi-a i dr, 2004, koji su u cilju sanacije veštački formiranih defekata kod psa, koristili ksenograft sa i bez resorptivne membrane, kao i

preparat na bazi TCP-a sa i bez resorptivne membrane. Histološki rezultati ispitivanja su potvrdili sa membrana nije igrala značajnu ulogu i nije uticala na kvalitet kosti sem u površinskim delovima alveole, gde je obezbedila formiranje tankog mostića kosti koji je opturirao defekte i time je kost na orificijumu kod ovih slučajeva bila veće gustoće. Kada je u pitanju ovo zapažanje moramo istaći da prisustvo membrane nije samo uticalo na kvalitet kosti orificijuma, u slučajevima gde je korišćen koštani graft, već je bilo značajno kada je u pitanju dinamika zarastanja mekog tkiva u postoperativnom periodu, što smo zapazili u našem ispitivanju, a o čemu će kasnije biti reči.

Studija Artzi-a i dr, 2004, je potvrdila da se TCP u potpunosti resorbuje u periodu od 24 meseca, dok ksenograft ostaje prisutan u koštanom tkivu i nakon 42 meseca od implantacije. Pitanje koje iz ove konstatacije sledi mora se odnositi na kvalitet takvog koštanog tkiva, mehaničku otpornost i njegov uticaj na oseointegraciju implantata, budući da u sebi nosi zaostale čestice koštanog grafta. Kada je u pitanju naše ispitivanje, u većinu eksperimentalnih alveola, prema protetskom planu, implantirani su dentalni implantati. Torziona sila pri implantaciji je iznosila 35N/cm i svi implantati su imali optimalnu primarnu stabilnost. Dalja ispitivanja su potrebna da se vidi ponašanje i dužina trajanja implantata implantiranih u prezervirane regione, nakon njihovog funkcionalnog opterećenja u dužem vremenskom periodu.

Jovanović i dr, 2003, su se upravo bavili ispitivanjima prirode novoformirane kosti pod uticajem rhBMP-2/ACS, u smislu njenog ponašanja tokom prihvatanja i distribucije sile koju su prenosili protetski rehabilitovani implantati. Autori su zaključili da se nakon 12-mesečnog opterećenja, novoformirana kost ponašala jednako kao i susedna nativna kost, da su implantati bili podjednako oseointegrisani. Po pitanju ostalih posmatranih parametara takođe nisu pronašli značajnu razliku između nativne i rhBMP-2 indukovane kosti. Studija je nadalje pokazala da je novoformirana kost bila spremna da prihvati implantate već nakon 3 meseca od prezervacije, i da je oseointegracija od 4 meseca bila dovoljna da oni prihvate funkcionalno opterećenje.

Budući da su kod eksperimentalnih alveola gde smo koristili koštani graft, nakon četiri meseca opservacije, i dalje bile prisutne neresorbovane čestice na bazi kalcijum fosfata, mogli smo staviti akcenat na njihovu dalju ulogu i uticaj na ponašanje novoformirane kosti u fazi opterećenje implantata. Neka ispitivanja anticipirala su i odgovor na ovu spekulaciju, tako što su nakon funkcionalnog opterećenja implantata implantiranog u prezerviranu alveolu koja je uz novoformiranu kost sadržala i granule grafta na bazi TCP-a, pratili njeno ponašanje

u periodu od 18 meseci. Zapažanja su dovela do zaključka da i nakon godinu i po dana, nije bilo promene okolnih tkiva, niti neočekivanih komplikacija (Brković i dr, 2008). Jedna od mana ove studije je ta što je bila vezana za jedna slučaj.

Međutim, Artzi i dr, 2003, na osnovu rezultata svoje studije koju smo već naveli, anticipiraju da bi zaostale granule grafta okružene gustim koštanim tkivom sa kojim su u kontaktu, mogle formirati tzv. „poroznu mrežu“. Visoka osteokonduktivnost grafta i spora resorpcija bi mogle doprineti snazi formirane „porozne mreže“ i povećati kvalitet kosti za ugradnju endosealnih implantata. Ipak, autori sugerišu, da je potreban veći broj ispitivanja kako bi se ova konstatacija u potpunosti dokazala, te da ukoliko se vrši bilo prezervacija bilo augmentacija grebena koštanim zamenikom, bez upotrebe koštanih morfogenetskih proteina, ipak treba imati u vidu da je period od 6-12 meseci optimalan da se postigne adekvatna konfiguracija, završi zarastanje i greben pripremi za implantaciju dentalnih implantata.

Ako se vratimo na histološki nalaz novoformiranog koštanog tkiva u prezerviranim alveolama, u okviru našeg ispitivanja, i uporedimo nalaze dobijene kod rhBMP-2/ACS alveola sa nalazima rhBMP-2/ACS+TCP alveola, možemo primetiti da jedinu razliku među uzorcima ne predstavljaju samo granule zaostalog grafta, već se ona odnosi i na različitu širinu gredica novoformiranog koštanog tkiva. Obratimo li pažnju, videćemo da su koštane gredice u uzorcima gde je rhBMP-2 bio aplikovan u alveolu u kombinaciji sa zamenikom za kost, šire sa manjim koštanosržnim prostorima između njih u poređenju sa gredicama kod kosti indukovane samo rhBMP-2/ACS. Ovo zapravo daje prednost kombinovanja aktivnog koncepta regeneracije sa pasivnim konceptom, koji je pokazao kako klinički bolje tako i histološki prihvatljivije rezultate, ukoliko prisustvo granula zamenika za kost ne posmatramo kao faktor rizika za lošiji kvalitet kosti, kompromitovanje oseointegracije i funkcionalnog opterećenja.

Ako posmatramo ritam resorpcije zamenika na bazi kalcium fosfata u studiji Artzi-a i dr, 2003, zapaža se, da se ovaj material kontinuirano resorbovao u period od 24 meseca. Materijal se inače resorbovao na dva načina; (1) osteoklastičnom aktivnosti i (2) rastvaranjem u tkivnoj tečnosti (Lu i dr, 1998). Ovaj poslednji mehaizam resorpcije dovodi do oslobađanja jona kalcijuma i fosfata bitnih u procesu mineralizacije nove kosti, ali i pada pH koji sledi tokom disocijacije materijala. Procesi resorpcije su pokazali naročito ubrzanje nakon 3. i nakon 12. meseci. Ako ovo zapažanje povežemo sa nalazima naše studije onda možemo konstatovati da je koštani morfogenetski protein unet u alveolu na kolagenom nosaču u terapijskoj koncentraciji od 1.5 mg/ml neposredno nakon ekstrakcije, indukovao

osteoprogenitorne ćelije, već tokom prvih 48-96 časova, koje su započele svoj ćelijski ciklus sa ciljem diferencijacije i sinteze nove kosti, koja se mogla očekivati već tokom druge nedelje od ekstrakcije, kada su krenuli da se oslobađaju, u velikim količinama endogeno sintetisani koštani morfogenetski proteini, koji su nastavili da deluju u rani. Sve ovo vreme paralelno se odvijala i resorpcija preparata na bazi kalcijum fosfata oslobađajući jone potrebne za mineralizaciju, dok je sam graft delovao kao osteokonduktivni matriks i čuvar prostora te tako indirektno potencirao ulogu rhBMP-2 u osteoinduktivnom procesu. Nakon 3 meseca, kada je novoformirana kost bila već u fazi maturacije, pojačana resorpcija grafta dovela je do daljeg oslobađanja koštanih morfogenetskih proteina iz okolne kosti sa kojom je graft u kontaktu, izazivajući njenu diskretnu resorpciju kiselim radikalima.

Ovo bi mogao biti jedan od objašnjenja zbog čega su koštane gredice na histološkim preparatima kosti uzetih sa mesta prezerviranih kombinacijom rhBMP-2 i preparata na bazi kalcijum fosfata, šire sa manje medularnih prostora od onih nastalih nakon primene samo aktivnog koncepta regeneracije. Samim time bi se dala prednost ovom terapijskom modalitetu, jer potencira pozitivna svojstva oba primenjena preparata (osteoinduktivnost rhBMP-2 i osteokonduktivnost TCP-a). Zbog svoje visoke (1) biokompatibilnosti (Ohsava i dr, 1995), (2) osteokonduktivnosti (Cong i dr, 2000.), (3) kontinuirane resorpcije (Knabe i dr, 2000; Le Huec i dr, 1997) kada oslobađa minerale potrebne za aktivnost osteoblasta i mineralizaciju kosti i (4) sposobnosti očuvanja njenog volumena tokom faze remodelovanja (Gao i dr, 1997) smo izabrali ovaj preparat na bazi kalcijum fosfata kao punioca alveola u kombinaciji sa aktivnim konceptom regeneracije.

I drugi preparati na bazi kalcijum fosfata, čak po hemijskoj strukturi slični našem preparatu sa tim izuzetkom što su manje porozni i nižeg stepena resorpcije, kao što je cement HA, su bili ispitivani kao mogući osteokonduktivni nosači rhBMP-2. Međutim, jedan od mogućih odgovora tkiva domaćina, primećenih u ispitivanjima Barboze i dr, 2000, na prisustvo rhBMP-2/ACS/HA je bila fibrozna inkapsulacija granula ovog materijala što je uslovalo izuzetno sporu resorpciju i prolongirano zadržavanje materijala u novoformiranom koštanom tkivu. Svi materijali koji se ne resorbuju brzo, mogu ometati procese remodelovanja kosti. Neresorptivni ili sporo resorptivni materijali, kao što je HA i ksenograft (Bio-Oss[®]), se integrišu sa okolnom kosti, ali ostaju u defektu veoma dugo vremena i na taj način usporavaju adaptaciju na opterećenje nove trabekularne kosti. Zbog toga savremena ispitivanja kao alternativne tehnologije za isporuku rhBMP-2 predlažu materijale koji se brže resorbuju, a ujedno poseduju i osteokonduktivni potencijal.

Sigurdsson i saradnici i Wikesjo i saradnici, su u dve zasebne studije pokazali da rh BMP-2 na DFDBA/fibrinskom nosaču, može dati zadovoljavajuće rezultate u smislu augmentacije grebena i oseintegracije dentalnih implantata, ali je niska prihvatljivost materijala bila jedan od faktora koji je sledeća ispitivanja usmerio na kalcijum-fosfatni cement α -BSM kao alterternativni osteokonduktivni nosač rhBMP-2 (Sigurdsson i dr, 2001; Wikesjö i dr, 2002).

Sama osteogeneza kao koštano zarastanje u potpunosti rekapitulira embriogenezu i ne može se posmatrati odvojeno. Stem ćelije iz svojih niša unutar koštane srži bivaju stimulisane da se dele u osteoprogenitorne ćelije koje nakon još jedne deobe daju jednu osteoprogenitornu ćeliju i drugu koja će kroz diferencijaciju dati funkcionalni osteoblast. Osteoblast je osnovna jedinica osteogeneze i ona nije sposobna da se reprodukuje. Međutim, sagledavajući osteogenezu sa ovog stanovišta, čitav proces zavisi od broja i rektivnosti regionalnih prekurzornih stem ćelija. Do sada su kod čoveka determinisane dve klase ovih ćelija i to: (1) determinisana prekurzor ćelija (DPC) i (2) induktabilna prekurzor ćelija (IPC).

DPC se definiše kao samoobnavljajuća populacija koja je in vivo uslovima sposobna da bez određenih stimulanasa započne osteogenezu. Za razliku od ove, populacija označena kao IPC zahteva predhodnu osteogenu indukciju od strane dekalcifikovanog koštanog matriksa ili tranzicionalnog epitela. Za našu, kao i uostalom za sve regenerativne procedure, je od krucijalnog značaja broj i aktivnost osteogenih ćelija u okolini tretiranog regiona (alveolarna kost). Dodson i saradnici prezentuju studiju u kojoj se bave kvantitativno-kvalitativnom evaluacijom populacije osteogenih stem ćelija in vitro (Dodson i dr, 1996). Oni dolaze do zaključka koji ukazuje da je po jedinici površine broj stem ćelija kod mladih sisara 10 puta veci nego kod starijih. Sa druge strane je i sintetička aktivnost kod mlađeg organizma mnogostruko veća. To se vidi na elektronskoj mikroskopiji i po broju aktivnih mitihondrija u citoplazmi stem ćelija. I u jednom, i u drugom slučaju je rezultat bio značajno na strani populacije stem ćelija koje potiču od mladih organizama. Sve je to rezultiralo slabijom i sporijom klasifikacijom koštanog matriksa kod starijih populacija. Ovo potvrđuju i rezultati istraživanja Schwartza koji govore u prilog tome da autologni koštani graft, uzet od starijeg donora ima slabije osteoinduktivne sposobnosti i da kao takav ima manji regenerativni potencijal.

Ovakvi rezultati nam ukazuju da starost kao parametar i te kako može odrediti tok i rezultate određene terapijske procedure. Uspešnost prezervacije alveolarnog grebena kao striktno regenerativne tehnike samim tim je još zavisnija od faktora kao što je starost.

Imajući u vidu biološke osobine tkiva koje aktivno učestvuju u procesu zarastanja ekstrakcione rane dolazimo do jednog stava čiju bi ispravnost trebalo proveriti naknadnim istraživanjima. Celokupno mišljenje se zasniva na činjenici da od svih paradontalnih tkiva samo koštano i periodontalno tkivo poseduju osteogene progenitorne ćelije sa mogućnošću osteogene diferencijacije. Takođe je potvrđeno da je tempo njihove diferencijacije kao i generička sposobnost na dosta niskom nivou kod čoveka.

Metodološki koncept koji je primenjen u ovoj studiji je podrazumevao kompletnu kiretažu (mehaničku obradu) koštanih zidova alveole nakon ekstrakcije zuba, a pre aplikovanja ispitivanog materijala. Na taj način, pored uklanjanja hronično inflamiranog granulacionog tkiva uklonjeni su i ostaci periodontalnog tkiva zaostalog na zidovima alveole. Uklanjanje obolelog granulacionog tkiva je u svakom slučaju pozitivan i potreban efekat, što se ne bi moglo reći za periodontalno. Eliminacijom periodontalnog tkiva iz alveole smanjen je u budućim događajima, osteogenezni potencijal alveolarne čašice koji je i onako na dosta niskom nivou. Na osnovu ovoga se može postaviti pitanje da li se potpunim uklanjanjem tkiva mezenhimalnog porekla sa zidova alveole više dobija ili gubi u očekivanju snažne i brze osteoneogeneze unutar alveolarne čašice.

Rezultati mnogobrojnih studija su navodili na zaključak (Evian i dr, 1982; Lekić i dr, 2001; Cardoropoli i dr, 2003) da mezenhimalne ćelije periodontalnog ligamenta (PDL) mogu učestvovati u procesu zarastanja ekstrakcione rane, zapravo da se mogu diferencirati u osteoblaste i proizvoditi kost (Melcher, 1983). Malo je informacija u literaturi koje govore o dešavanjima u toku zarastanja ekstrakcione rane u slučaju odsustva PDL-a.

Cardoropoli i dr, 2005, u svom istraživanju imaju za jedan od ciljeva da utvrde da li odsustvo PDL-a može da dovede do alteracije dešavanja u procesu zarastanja ekstrakcione rane. Histomorfometrijskim analizama uzoraka uzetih 3 meseca nakon ekstrakcije zuba došli su do rezultata da ne postoje razlike u odnosu na većinu morfoloških karakteristika. Ovi nalazi svakako ne smeju da navode na zaključak da je prisustvo ćelija periodoncijuma u svežoj ekstrakcionoj rani nevažno u ranim fazama zarastanja. Naprotiv, isti autori su dve godine ranije, objavili da tokom prve nedelje zarastanja ekstrakcione rane, PDL koji je ostao vezan za pravu alveolarnu kost i dalje pokazuje vitalnost i da periodontalne ćelije migriraju u tzv. „provizorni matrix“ koji ispunjava ekstrakcionu ranu (Cardoropoli i dr, 2003). Ovi nalazi su u korelaciji sa nalazima koje je objavio Lin i dr, 1994. koji je pratio sudbinu fibroblasta iz periodoncijuma tokom zarastanja ekstrakcione rane u pacova. Lin i sar. su pokazali da fibroblasti iz periodoncijuma nakon ekstrakcije zuba „aktivno proliferišu, migriraju u koagulum, formiraju gusto vezivno tkivo i diferenciraju se u osteoblaste koji formiraju novu

kost tokom zarastanja ekstrakcione rane.“ Naravno, treba imati u vidu da PDL nije jedini izvor ćelija koji će formirati novu kost, nego da ovaj tip ćelija u „provizorni matriks“ dospeva i iz koštane srži koja se nalazi lateralno od zida alveole (Melcher, 1983).

Osim kliničkih i histoloških ispitivanja efikasnosti primene preparata na bazi rhBMP-2/ACS, jedan od ciljeva našeg ispitivanja odnosio se na radiografsku procenu dinamike promena alveolarnog grebena u intervalu od 30 i 120 dana nakon ekstrakcije. Isto tako, budući da se radilo o CT snimcima visoke rezolucije, cilj našeg ispitivanja je bio da poređenjem kliničkih i radiografskih merenja dokažemo postoji li, i u kojoj meri je izražena njihova međusobna zavisnost. Ovo bi trebalo da olakša kliničku procenu stepena dimenzione očuvanosti alveole čime bi se izbegla potreba za sekundarnim hirurškim zahvatom i direktnim kliničkim merenjima.

Interesantni su podaci do kojih smo došli analizom trodimenzionalnih snimaka dobijenih cross section metodom koji se odnose na dinamiku dimenzionih promena alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba.

Dinamika promena vrednosti vertikalne dimenzije alveolarne čašice tokom posmatranog četvoromesečnog perioda nije se statistički značajno razlikovala između kontrolnih i eksperimentalnih alveola kod obe grupe ispitanika. Statistički značajna razlika u vrednosti ovog parametra nije nađena u 0, ali je nađena u 30. i 120. danu merenja, kod svih ispitivanih alveola kod obe grupe ispitanika. Tokom vremena došlo je do statistički značajnog smanjenja vrednosti vertikalne dimenzije i kod eksperimentalnih i kod kontrolnih alveola u okviru obe ispitivane grupe. Posmatrajući promenu vrednosti vertikalne dimenzije kod kontrolnih alveola dobijeno je da je tokom prvih trideset dana došlo do statistički značajnog smanjenja ovog parametra koje se nastavilo u narednom periodu (od 30. do 120. dana).

U grupi eksperimentalnih alveola kod obe grupe ispitanika, vrednost vertikalne dimenzije alveolarnih čašica u periodu od prvih trideset dana nakon ekstrakcije zuba se statistički značajno smanjila, dok je u kasnijim vremenskim intervalima posmatranja (od 30.-120. dana) ova redukcija bila manje izražena, ali opet statistički značajna. Na osnovu ovih rezultata možemo reći da, iako ne postoji statistički značajno različita promena vrednosti ovog parametra između grupa, se zapaža brža stabilizacija vrednosti vertikalne dimenzije kod eksperimentalnih alveola. Stabilizacija vrednosti vertikalne dimenzije se dešava već mesec dana posle ekstrakcije zuba i ne menja se do kraja opservacionog perioda. Kod kontrolnih alveola promena ovog parametra traje znatno duže.

Nivo razlike u vrednostima horizontalne dimenzije, između kontrolnih i eksperimentalnih alveola kod obe grupe ispitanika, tokom četvoromesečnog perioda se

statistički značajno menjao. Međugrupnom analizom zapažamo da su vrednosti horizontalne dimenzije statistički značajno bile manje kod kontrolnih nego kod eksperimentalnih alveola u svim posmatranim vremenskim intervalima. I kod eksperimentalnih i kod kontrolnih alveola zapaža se statistički značajna razlika u vrednostima horizontalne dimenzije između posmatranih vremena merenja. Kao što je napred rečeno, tokom vremena, vrednosti ovog parametra značajno su se smanjivale. Kod kontrolnih alveola statistički značajna promena ovog parametra zabeležena je u prvom, i četvrtom mesecu nakon ekstrakcije zuba. Isti rezultati dobijeni su i kod eksperimentalnih alveola, što nam govori u prilog tome da stabilizacija vrednosti ovog parametra nije postignuta tokom četiri meseca ni u jednoj grupi alveola.

Schropp i dr, 2003, koristeći subtraktione radiografije su pratili formiranje alveolarne kosti i promene kontura alveolarnog grebena u periodu od 12 meseci nakon ekstrakcije zuba. U studiju je bilo uključeno 46 pacijenata sa ekstahovanim jednim premolarom ili molarom. Merenja su bila vršena trećeg, šestog i dvanaestog meseca nakon ekstrakcije. Došli su do zaključka da skoro dve trećine redukcije širine alveolarnog grebena se dešava u prva tri meseca nakon ekstrakcije zuba. Rezultati ovog ispitivanja su pokazali da se širina alveolarnog grebena smanjila za 50% (sa 12mm na 5.9mm, u proseku). Interesantan je podatak da se 2/3 redukcije širine alveolarnog grebena odigralo u prva 3 meseca nakon ekstrakcije zuba. Promene u visini alveolarne kosti su bile veoma diskretne (manje od 1mm).

Za razliku od navedenih studija mi smo postigli preciznu verifikaciju dimenzionih promena rezidualnog grebena nakon gubitka zuba uvođenjem fiksnih referentnih tačaka (pinova) koji su aplikovani na vestibularnu koštanu lamelu alveole tretiranog regiona. Potpuna preciznost dobijenih rezultata je omogućena činjenicom da smo pri analizi podataka koristili prosečne promene vrednosti i na taj način eliminisali subjektivni faktor vezan za neprecizno pozicioniranje titanijumskih pinova.

Ranih 80-ih godina prošlog veka primenom CT-a je omogućeno trodimenzionalno prikazivanje koštanih struktura, bez superpozicije i distorzije objekta radiografisanja. U stomatološkoj praksi CT se najviše primenjuje u domenu maksilofacijalne hirurgije za dijagnozu tumora, cista, traume, disfunkcija temporomandibularnog zgloba i dr. Sve je češća primena u implantologiji, endodonciji, ortodonciji i parodontologiji.

Primena ove dijagnostičke metode je dosta skupa, a i doze zračenja su relativno visoke (Vannier i dr, 1997). Morita CT aparat je pristupačniji što se tiče cene i daje bolju rezoluciju slike u aksijalnoj ravni od konvencijalnog CT-a (Arai i dr, 1999).

Celokupno skeniranje regije koja je od interesa se odigrava tokom rotacije koničnog radijacionog snopa za 360° oko objekta radiografisanja. Na ovaj način se ekspozicija radijaciji redukuje na 7.4 μ Sv (0.0074 mGy) po skeniranju (Arai i dr, 2004). Čak i kada se u cilju skeniranja cele vilice ponavljaju radiografisanja, ekspozicija zračenju je mnogo puta manja nego ona koja postoji kod konvencijalnog medicinskog CT-a.

Treba naglasiti da su se tzv. kontrolna radiografisanja obavljala radiografskom metodom koji radi sa kondicijama električne struje od 80 kV i 2-5 mA, koje obezbeđuju dobijanje zračnog snopa koji se apsorbuje u značajno manjoj meri nego što je to slučaj sa snopom iz dental rendgenskog aparata ili standardnog ortopantomografskog aparata. Snimanje se vrši pomoću cilindra dimenzija 40×30 mm u axijalnoj, frontalnoj i sagitalnoj ravni, a moguće je i dobiti preseke snimanog regiona iz bilo kog ugla što nam pruža mogućnost optimalne opservacije željenog regiona. Širina preseka može biti od 0.125 mm do 2 mm.

Vreme ekspozicije je oko 17s, a radijacioni rizik kojem je izložen pacijent je sličan kao i pri radiografisanju ortopantomografskim aparatom. Doza zračenja prilikom ortopantomografisanja je 0.01-0.1 mGy, odnosno 0.33-0.44 mGy prilikom radiografisanja dental aparatom (Wall i dr, 1979).

Osim toga volumen tkiva koji je bio izložen zračenju je bio sveden na najmanju moguću meru, odnosno na obim koji je svega za po 1.5 cm veći od dimenzija samog defekta. Na taj način su van zračne zone bila radiosenzitivna tkiva ovog regiona: očno sočivo, endotel izvodnih kanala pljuvačnih žlezda, tkivo tiroidne i paratiroidnih žlezda.

Analizom radiografija dobijenih cross section metodom imali smo uvid u dinamiku dimenzionih promena alveolarnog grebena. Dobijene su vrlo precizne numeričke vrednosti koje su u apsolutnoj saglasnosti sa rezultatima kliničkih merenja. Ovo nas vodi ka zaključku se da ova neinvazivna dijagnostička metoda može sa velikom sigurnošću koristiti u evaluaciji dimenzija bezubih regiona alveolarnog grebena pre ugradnje endosealnih implantata. Vrlo značajan doprinos ove metode je što se njenom primenom eliminiše potreba za sekundarnom procedurom.

Ovo je dokazala i studija Mengela i dr, 2005, koji su u svom istraživanju došli do zaključka da radiografije dobijene komercijalnim i Morita skenerom daju vrlo blagu devijaciju dimenzija parodontalnih defekata u poređenju sa dimenzijama defekta merenih na histološkom preparatu. Radiografije dobijene Morita CT aparatom daju slike boljeg kvaliteta u odnosu na konvencionalni medicinski CT.

Studiju koja prati dimenzione promene alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba pomoću analize kompjuterizovanih tomografija su objavili Nevins i dr, 2006. U cilju prezervacije alveolarnog grebena nakon ekstrakcije maksilarnih inciziva koristili su BioOss, dok su kontrolne alveole ostavljene prazne. Obe grupe alveola, i eksperimentalne i kontrolne, su zatvorene mukoznim flapom koji je prepariran sa vestibularne strane grebena. Periošt je ostavljen intaktan u cilju očuvanja bukalne lamele grebena. Kompjuterizovane tomografije su načinjene odmah nakon ekstrakcije zuba, 30. i 90. dana posle ekstrakcije. U ovoj studiji primenjena je potpuno drugačija metodologija u analizi tomografija. Praćene su samo dimenzione promene visine alveolarnog grebena na 6mm širine grebena. Rezultati ovog istraživanja su pokazali da je u regiji kontrolnih alveola došlo do gubitka visine grebena za 5.24 ± 3.72 mm, što je bilo statistički značajno više nego u odnosu na eksperimentalne alveole gde je gubitak visine grebena iznosi 2.42 ± 2.58 mm.

Ispitivanja Bianchi-a i dr, 2004, su u verifikaciji rezultata koje su dobili nakon primene dve različite koncentracije 0.75 mg/ml i 1.5 mg/ml rhBMP-2/ACS u cilju prezervacije alveola, koristili standardizovanu CT tehniku radiografisanja i Simplant (verzija 6.0, Columbija Scientific) kompjuterski softver za registrovanje volumetrijskih promena alveolarnih čašica. Rezultati ispitivanja su pokazali da su alveole tretirane nižom koncentracijom rhBMP-2/ACS u proseku bile manje ispunjene novoformiranim koštanim tkivom (0.106cm^3) u poređenju sa alveolama tretiranim većom koncentracijom rhBMP-2/ACS (0.192cm^3). Ovi autori nadalje ističu da je sama procedura radiografisanja jako bitna kada je u pitanju verodostojnost dobijenih rezultata. Sam aparat i dodatna oprema za fiksiranje položaja glave pacijenta uvek u istoj poziciji su od izuzetnog značaja. Takođe, laserski snopovi koji definišu region koji se želi radiografisati i fiksiranje mandibule nagriznim bedemom u određeni položaj, predstavljaju osnovne zahteve kada je u pitanju ovakav način radiografisanja. Budući da još uvek nije preciziran standardni metod kao ni referentne tačke koje bi se koristile u ovoj vrsti radiografisanja, ističe se potreba da ciljevi ispitivanja budućih studija budu usmereni ka rešavanju ovo problema.

Grimard i dr, 2009, takođe koriste metod kompjuterizovane tomografije u cilju procene efikasnosti primenjene terapije u regeneraciji parodontalnih defekata. Osnovni cilj njihove studije odnosio se zapravo na utvrđivanje stepena međusobne povezanosti direktnih kliničkih merenja sa merenjima izvršenih analizom standardnih intraoralnih radiograma kao i merenja izvršenih analizom selektovanih preseka radiograma dobijenih kompjuterizovanom tomografijom. Rezultati ispitivanja su pokazali da su merenja izvršena na osnovu selektovanih preseka dobijenih CT tehnikom radiografisanja, bila preciznija i daleko tačnija

merenjima dobijenim direktnim kliničkim pristupom, nego li su merenja izvršena na osnovu standardnih intraoralnih radiograma.

Do ovakvih rezultata smo i mi došli u našem ispitivanju, i utvrdili da postoji linearna zavisnost između direktnih kliničkih i radiografskih linearnih merenja do kojih smo došli analizom selektovanih preseka posmatranih alveola, koristeći priloženi softver.

Tokom našeg ispitivanja uz dimenzione promene alveolarnog grebena, pratili smo uticaj stanja mekih tkiva pre ekstrakcije zuba na dinamiku zarastanja istog u različitim periodima opservacije (2,7, 14, 21, 30. i 120. dana). Statističkom analizom podataka smo utvrdili da stanje mekih tkiva pre ekstrakcije zuba nije značajno uticalo na dinamiku zarastanja u postoperativnom periodu. Na osnovu ovoga se može pretpostaviti da su primenjeni preparati odnosno njihovi terapijski modaliteti, u najvećoj meri uticali na brzinu i stepen zarastanja mekih tkiva u regionima ekstrakcionih rana. Kako se jasno vidi iz rezultata ispitivanja se jasno može izvesti zaključak da je meko tkivo alveola kod kojih je bio primenjen rhBMP-2/ACS najbrže zarastalo i to naročito u ranijem periodu praćenja do 3. nedelje. Meko tkivo alveola kod kojih je bila primenjena membrana, bilo da se radilo o rhBMP-2/ACS+M ili rhBMP-2/ACS+TCP+M, je pokazalo sličan stepen i brzinu zarastanja tokom celokupnog vremena praćenja. Alveole ispujene rhBMP-2/ACS u kombinaciji sa koštanim graftom bez primene membrane su nešto lošije zarastale tako da je u pojedinim vremenima merenja njihovo zarastanje bilo veoma slično stepenu i brzini zarastanja kontrolnih alveola, koje su kod obe grupe pacijenata do kraja treće nedelje znatno sporije zarastale od eksperimentalnih.

Ovakvom nalazu kod alveola kod kojih je uz koštani morfogenetski protein primenjen bio i koštani zamenik bez membrane, doprinela je najvjerojatnije i iritacija mekog tkiva od strane granula koštanog grafta koje su dopirale u vezivno tkivo gingive gde su delom bile inkapsulirane vezivom, što smo verifikovali i histološki.

U savremenoj literaturi ne postoje studije koje su se na ovaj način bavile ispitivanjem dinamike zarastanja mekog tkiva gingive tako da naše rezultate ne možemo uporediti sa rezultatima drugih ispitivanja. Ali u ispitivanjima Wikesja i saradnika, može se naći mišljenje autora, koji navodi da BMP-2 ima pozitivan uticaj na zarastanje mekih tkiva (Wikesjö i dr, 2002; Wikesjö i dr, 2003). Opsežnija ispitivanja su potrebna da bi se ova pretpostavka utvrdila.

U okviru naših ispitivanja kontrolisali smo nivo oralne higijene i stanje parodonticijuma ispitanika tokom celokupnog perioda opservacije i motivisali ispitanike da

održavaju adekvatan nivo oralne higijene kako bi se eventualna pojava komplikacija u vidu infekcije, svela na minimum.

10. ZAKLJUČCI ISPITIVANJA

Na osnovu rezultata koje smo dobili nakon primene preparata na bazi rhBMP-2/ACS u okviru koncepta aktivne regeneracije alveolarne kosti u postekstrakcionim defektima, možemo zaključiti sledeće:

- Ekstrakcijom zuba pokreće se hroničan, kumulativni patološki proces koji rezultira obimnim gubitkom koštanog tkiva i redukcijom kako vertikalne tako i horizontalne dimenzije rezidualnog alveolarnog grebena.
- Primena koncepta aktivne regeneracije kosti doprinosi modulaciji tkivnih interakcija pri kontrolisanom zarastanju ekstrakcione rane.
- Preparat na bazi koštanog morfogenetskog proteina-2 na kolagenom nosaču (rhBMP-2/ACS), predstavlja efikasan materijal koji svojim osteoinduktivnim svojstvima doprinosi formiranju nove kosti.
- Primena preparata na bazi koštanog morfogenetskog proteina-2 na kolagenom nosaču (rhBMP-2/ACS), svakako doprinosi stabilizaciji postekstrakcionih dimenzionih promena u regiji tretiranih alveola.
- Prezervacija alveolarnog grebena preparatom na bazi koštanog morfogenetskog proteina-2 na kolagenom nosaču (rhBMP-2/ACS) predstavlja efikasnu terapijsku proceduru za prevazilaženje i preveniranje problema resorpcije alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba.
- Primenom preparata na bazi koštanog morfogenetskog proteina-2 na kolagenom nosaču (rhBMP-2/ACS), u okviru različitih terapijskih modaliteta potencira se njegovo osteoinduktivno dejstvo na regeneraciju alveolarne kosti.
- Primena osteokonduktivnih materijala i osteopromotivnog koncepta u kombinaciji sa preparatom na bazi koštanog morfogenetskog proteina-2 na kolagenom nosaču

(rhBMP-2/ACS), doprinosi značajnom očuvanju dimenzija alveolarne kosti nakon ekstrakcije zuba.

- Analiza radiograma dobijenih „cross section“ metodom omogućava praćenje dinamike dimenzionih promena alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba.
- Na osnovu rezultata preciznih radiografskih merenja dinamike dimenzionih promena alveolarnog grebana nakon ekstrakcije zuba, može se zaključiti da su dimenzione promene bile najizraženije u prvom mesecu nakon ekstrakcije zuba.
- Zbog izraženog visokog stepena zavisnosti između direktnih kliničkih i radiografskih merenja dobijenih „cross section“ metodom, na osnovu izvršenih samo radiografskih merenja mogu se predvideti klinička merenja.
- Zbog mogućnosti dobijanja veoma preciznih numeričkih podataka, primenom ove metode u visokom se stepenu može eliminisati potreba za sekundarnom hirurškom intervencijom.
- Aktivni koncept regeneracije, primenom rhBMP-2/ACS preparata, je pokazao da je u periodu od četiri meseca došlo do značajne regeneracije i osifikacije koštanog defekta ekstrakcione rane koja je verifikovana histološki.
- rhBMP-2/ACS se pokazao kao biokompatibilan preparat koji pozitivno utiče na brzinu zarastanja mekog tkiva ekstrakcione rane doprinoseći njegovom prihvatljivijem estetikom izgledu.
- Sa kliničke tačke gledišta preparat na bazi rhBMP/ACS je lak za kliničku manipulaciju i sa velikim stepenom predvidivosti rezultata se može primeniti u cilju očuvanja dimenzija alveolarnog grebena neposredno nakon ekstrakcije zuba.

11. LITERATURA

1. Ahn JJ, Shin HI. Bone tissue formation in extraction sockets from sites with advanced periodontal disease: a histomorphometric study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23:1133-8.
2. Alberius P, Dahlin, Linde A. Role of steopromotion in experimental bone grafting to the skull: A study in adult rats using mbrane technique. *J Oral Maxillofac Surg* 1992;50:829-34.
3. Aleksić Z. Primena faktora rasta u regenerativnoj terapiji parodontopatija. Doktorska disertacija, Beograd, 2005.
4. Allen EP, Gainza CS, Farthing GG. Improved technique for localized ridge augmentation *J Periodontol* 1985; 56:195-9.
5. Amler M.H, Salman I. Bungener H. Reticular and collagen fiber characteristics in human bone healing. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1964;17:785-96.
6. Amler MH, Johnson PL, Salman I. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. *J Am Dent Assoc* 1960;61:46–8.
7. Amler, M. H. (1969) The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surg* 1969;27:309–18.
8. Arai Y, Honda K, Kazuo I, Shinoda K. Practical model 3DX of limited cone-beam X-ray CT for dental use. *Int Conar Ser* 2001;1230:713-8.
9. Arai Y, Tammisalo E, Iwai K, Hashimoto K., Shinoda K. Development of a compact computed tomographic apparatus for dental use. *Dentomaxillofac Radiol* 1999;28:245-8.
10. Araújo M. G, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005;32: 212–8.
11. Araújo M. G, Lindhe J. Ridge alterations following tooth extraction with and without flap elevation: an experimental study in the dog. *Clin Oral Impl Res* 2009;20:545–9.
12. Araújo M. G, Sukekava F, Wennstrom JL, Lindhe J. Ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in dog. *J Clin Periodontol* 2005;32:645-52.
13. Araújo M. G, Sukekava F, Wennstrom JL, Lindhe J. Tissue modeling following implant placement in fresh extraction sockets. *Clin Oral Impl Res* 2006b;17:615-24.
14. Araújo M. G, Wennstrom JL, Lindhe J. Modeling of buccal and lingual bone walls of fresh extraction sites following implant installation. *Clin Oral Impl Res* 2006b;17:606-14.
15. Araújo MG, Berglundh T, Lindhe J. On the dynamics of periodontal tissue formation in degree III furcation defects. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 1997;24(10):738-46.
16. Artzi Z, Weinreb M, Givol N, et al. Biomaterial resorption rate and healing site morphology of inorganic bovine bone and β -tricalcium phosphate in the canine : a 24-month longitudinal histologic study and morphometric analysis . *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19 : 357 – 68.
17. Artzi Z, Nemcowsky C. The application of deproteinized bovine bone mineral for ridge preservation prior to implantation. Clinical and histological observations *J Periodontol* 1998;69:1062-7.

18. Artzi Z, Tal H, Davan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets:Part I: Histomorphometric evaluations at 9 months.*J Periodontol* 2000;21:1015-23.
19. Atwood DA, Coy WA. Clinical, cephalometric, and densitometric study of reduction of residual ridges. *J Prosthet Dent* 1971;26:280–95.
20. Bahat O, Deeb C, Golden T, Komarnyckij O. Preservation of ridges utilizing hydroxyapatite. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1987;7(6):34-41.
21. Baldock W.T, Hutchens L.H. Jr, McFall W.T. Jr, Simpson D.M. An evaluation of tricalcium phosphate implants in human periodontal osseous defects of two patients. *J Periodontol* 1985;56: 1-7.
22. Barboza EP, Caúla AL. Diagnoses, clinical classification, and proposed treatment of spontaneous early exposure of submerged implants. *Implant Dent* 2002;11(4):331-7.
23. Barboza EP, de Souza RO, Caúla AL, Neto LG, Caúla Fde O, Duarte ME. Bone regeneration of localized chronic alveolar defects utilizing cell binding peptide associated with anorganic bovine-derived bone mineral: a clinical and histological study. *J Periodontol* 2002 ;73(10):1153-9.
24. Barboza EP, Duarte LEM, Geolás L, Sorensen RG, Riedel GE, Wikesjö UME. Ridge augmentation following implantation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in the dog. *J Periodontol* 2000;71:488-495.
25. Basker RM, Devenporth JC, Tomlin H. Prosthetic treatment of edentulous patient. Second.ed Mac Millan Press London 1983.
26. Becker W, Becker B, Caffesse R.The comparison of demineralized freeze-dried bone and autologus bone to induce bone formation in human extraction sockets. *J Periodontol* 1994;65:1128-33.
27. Bianchi J, Fiorellini JP, Howell HT, et al. Measuring the efficacy of rhBMP-2 to regenerate bone: a radiographic study using a commercially available software program. *Int J Periodontics Rest Dent* 2004;24:579-87.
28. Blanco J, Nunez V, Aracil L, Minoz F, Ramos I. Ridge alterations following immediate implant placement in the dog: flap versus flapless surgery. *J Clin Periodontol* 2008;35:640-8.
29. Borghetti A, Novakovitch G, Louise F, Simeone D, Foure J. Cryopreserved cancellous bone allograft in periodontal intraosseous defects. *J Periodontol* 1993: 64: 128–32.
30. Botticelli D, Berglundh T, Lindhe J. Hard tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *J Clin Periodontol* 2004;31: 820–8.
31. Boyne PJ . Application of bone morphogenetic proteins in the treatment of clinical oral and maxillofacial osseous defects. *J Bone Joint Surg Am* 2001;83:146–150.
32. Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997;7(1):11–25.
33. Boyne PJ, Lilly LC, Marx RE, Moy PK, Nevins M, Spagnoli DB, Triplett RG . De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63:1693–1707.
34. Boyne PJ. Osseous repair of the postextraction alveolus in man. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1966;21:805–13.
35. Brion M. Anorganic bone plus collagen in the treatment of periodontal intrabony lesions. AAP Meeting in Dallas, 1990, *J Periodontol* 1991;62, abstr 83.

36. Brkovic B, Prasad HS, Konandreas G et al. Simple preservation of maxillary extraction socket using beta-tricalcium phosphate with type I collagen: preliminary clinical and histomorphometric observations. [www. cda-adc.ca/jcda/vol-74/issue-6/523.html](http://www.cda-adc.ca/jcda/vol-74/issue-6/523.html), accessed date 12/January/2010.
37. Camelo M, Nevins M, Schenk R, Simion M, Rasperini G, Lynch S, Nevins M. Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-OssA and Bio-Gide. *Int J Periodont Rest Dent* 1998;18: 321–31.
38. Cardaropoli G, Araújo M, Hayacibara R, Sukekava F, Lindhe J. Healing of extraction sockets and surgically produced-augmented and non-augmented- defects in the alveolar ridge. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005;32:435-40.
39. Cardaropoli G, Araújo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2003 ;30: 809–18.
40. Carmangola D, Adriaens P, Berglundh T. Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss[®]. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:137-43.
41. Carmangola D, Berglundh T, Araújo M, Albrektsson, Lindhe J. Bone healing around implants placed in a jaw defect augmented with Bio-Oss. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2000;27:799-805.
42. Carmangola D, Berglundh T, Lindhe J. The effects of fibine glue on the integration of Bio-Oss with bone tissue. An experimental study in labrador dogs. *J Clin Peridontol* 2002;29:377-83.
43. Carranza FA, Kenney EB, Lekovic V, Talamante E, Valencia J, Dimitrijevic B. Histologic study of the healing of human periodontal defects after placement of porous hydroxiapatite implants. *J Periodontol* 1987;58:682-8.
44. Caton J, Greenstein G, Zappa U. Synthetic bioabsorbable barrier for regeneration in human periodontal defects. *J Periodontol* 1994;65:1037-45.
45. Chen ST, Wilson TG, Hämmerle CHF. Immediate or early placement of implants following tooth extraction:review of biologic basis, clinical procedures and outcomes. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19(Suppl.):12-25.
46. Cochran DL, Schenk RK, Buser D, Wozney JM, Jones A. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulation of bone formation around endosseous dental implants. *J Periodontol* 1999;70:139-50.
47. Cong Z, Jainxi W, Xingdong Z. Osteoinductivity and biomechanics of a porous ceramic with autogenic periosteum. *J Biomed Mater Res* 2000;52:354-9.
48. Conner HD. Bone grafting with a calcium sulfate barrier after root amputation. *Compend Cont Educ Dent* 1996;17:42-6.
49. Covani U, Cornelini R, Barone A. Bucco-lingual bone remodelling around implants placed into immediate extraction sockets: a case series. *J Periodontol* 2003;74:268–73.
50. Crespi R, Capparè P, Gherlone E. Magnesium-enriched hydroxyapatite compared to calcium sulfate in the healing of human extraction sockets: radiographic and histomorphometric evaluation at 3 months. *J Periodontol* 2009;80:210-8.
51. Dahlin C, Linde A. Membrane induced bone augmentation at titanium implants. *Int J Periodontics Rest Dent* 1991;11:273-81.
52. Dahlin C, Linde A. Tissue dynamics during new bone formation by osteopromotion membrane technique. *Scand J Dent Res* 1993;118-26.
53. Darby i, Chen S, De Poi R. Ridge preservation: what is it and when should it be considered. *Australian Dental Journal* 2008;53:11-21.

54. Dodson SA, Bernard GW, Kenney EB, Carranza FA. In vitro comparison of aged and young osteogenic and hemopoietic bone marrow stem cells and their derivative colonies. *J Periodontol* 1996;67(3):184-96.
55. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached tissues. *J Oral Path* 1982;11:318-26.
56. Donath K. Preparation of histological sections (by the cutting-grinding technique for hard tissue and other material not suitable to be sectioned by routine methods)- equipment and methodological performance. Norderstedt: EXACT-Kulzer Publication, 1993.
57. Drago M.R, Kaldahl W.B. Clinical and histological evaluation of alloplasts and allografts in regenerative periodontal surgery in humans. *Int J Periodontics and Rest Dent* 1983;3: 8-29.
58. Evian C.L, Rosenberg E.S., Coslet J.G., Corn H. The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in human. *J Periodontol* 1982; 53:81-5
59. Fiorellini JP, Howell HT, Cochran D. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. *J Periodontol* 2005;76:605-13.
60. Fotek P, Neiva R, Wang H. Comparison of dermal matrix and polytetrafluoroethylene membrane for socket bone augmentation: a clinical and histologic study. *J Peridodontol* 2009;80:776-85.
61. Francis J.R, Brunsvold M.A, Prewett A.B, Mellonig J.T. Clinical evaluation of an allogenic bone matrix in the treatment of periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1995;66:1074-9.
62. Froum S, Cho S, Rosenberg E, Rohrer M Tarnow D. Histologic comparison of healin extraction sockets implanted with bioactive glass or demineralized-freeze dried bone allograft. A pilot study.*J Periodontol* 2002;73:94-102.
63. Froum S.J, Weinberg M.A, Tarnov D. Comparison of bioactive glass, synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. A clinical study. *J Periodontol* 1998;69: 698-709.
64. Fucini S.E, Quintero G, Gher, M.E, Black B.S, Richardson A.C. Small versus large particles of demineralized freeze- dried bone allografts in human intrabony periodontal defects. *J Periodontol* 1993;64: 844-7.
65. Fugazzotto PA. Implant placement in Maxillary first premolar fresh extraction sockets: description of technique and report of preliminary results. *J Peridontol* 2002;73:669-74.
66. Galgut, P.N., Waite, I.M., Brookshaw, J.D. i Kingston, C.P. A 4-year controlled clinical study into the use of a ceramic hydroxyapatite implant material for the treatment of periodontal bone defects. *J Clin Periodontol* 1992;19: 570-7.
67. Gao TJ, Lindholm TS, Kommonen B, Ragni P, Paronzini A, Lindholm TC. Stabilization of an inserted tricalcium phosphate spacer enhances the healing of a segmental tibial defects in sheep. *Arch Orthop Trauma Surg* 1997;116:290-4.
68. Gauthier O et al. A new injectable calcium phosphate biomaterial for immediate bone filling of extraction sockets: a preliminary study in dogs. *J Periodontol* 1999;70:375-83.
69. Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T. New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 1986;13: 604-16.
70. Grimard BA, Hiodal MJ, Mills MP, Mellonig JT, Nummikoski PV, Maley BL. Comparison of clinical, periapical radiograph, and cone beam volume tomography measurement techniques for assesing bone level changes following regenerative periodontal therapy. *J Peridontol* 2009;80:48-55.
71. Groenveld HH, van den Bergh JP, Holzmann P, ten Bruggenkate CM, Tuinzing DB, Burger E. Histological observations of a bilateral maxillary sinus floor elevation 6 and 12 months after grafting with osteogenic protein-1 device. *J Clin Periodontol* 1999;26(12):841-6.

72. Gross J. Bone grafting materials for dental applications: A practical guide. *Compendium* 1997;18: 1013–36.
73. Guarnieri R, Pecora G, Fini M, Alchini NN, Giardino R, Orsini G, Piattelli A. Medical-grade calcium sulfate hemihydrate in healing of human extraction sockets; clinical and histological observation at 3 months. *J Periodontol* 2004;75(6):902-8.
74. Hanisch O, Tatakis DN, Boskovic MM, Rohrer MD, Wikesjö UME. Bone formation and reosseointegration in peri-implantitis defects following surgical implantation of rhBMP-2. *Int J Oral Maxillofacial Impl* 1997;12:604-10.
75. Harris AG, Szabo G, Ashman A, Divinyi T, Suba Z, Martonffy K. Five-year 224-patient prospective histological study of the clinical application using a synthetic bone alloplast. *Impl Dent* 1998;7:287-99.
76. Hench LL, Wilson J. Biocompatibility of silicates for medical use. *Ciba Found Symp* 1986;121 :231-46.
77. Hoffmann O, Bartee B, Beaumont C, Kasaj A, Deli G, Zafiroopoulos G. Alveolar bone preservation in extraction sockets using non-resorbable dPTFE membranes: a retrospective non-randomized study. *J Periodontol* 2008;79:1355-69.
78. Howell TH, Fiorellini J, Jones A, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997;17:125-40.
79. Hsieh Y.D, Devlin H, Robert C. Early alveolar ridge osteogenesis following tooth extraction in the rat. *Arch Oral Biol* 1994; 39:424-428.
80. Hsiong S, Mooney D. Regeneration of vascularized bone. *Periodontology 2000* 2006;41:109-122.
81. Hughes F, Turner W, Belibasakis G, Martuscelli G. Effects of growth factors and cytokines on osteoblast differentiation. *Periodontology 2000* 2006;41:48-72.
82. Hunt DR, Jovanovic SA, Wikesjö UME, Wozney JM, Bernard GW. Hyaluronan supports, recombinant human bone morphogenetic protein -2 induced bone reconstruction of advanced alveolar ridge defects in dogs. A pilot study. *J Periodontol* 2001;65:1-8.
83. Hämmerle C, Chen S, Wilson T. Consensus statement and recommended clinical procedures regarding the placement of implants in extraction sockets. *Int J Oral Maxillofac Impl* 2004;19 (Suppl.):26-8.
84. Iasella JM, Greenwell H, Miller RL, et al. Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: A clinical and histologic study in humans. *J Periodontol* 2003;74:990-9.
85. Ivanovski S, Li H, Daley T, Bartold PM. An immunohistochemical study of matrix molecules associated with barrier membrane-mediated periodontal wound healing. *J Periodont Res* 2000;35:115-26.
86. Jahangiri L, Devlin H., Ting K., Nishimura I. Current perspective in residual ridge remodeling and its clinical implications: A review. *J Prosthet Dent* 1998; 80:224-37.
87. Jankovic S. Očuvanje alveolarnog grebena usmerenom regeneracijom koštanog tkiva. Magistarska teza, Beograd 2000.
88. Janssens K, ten Dijke P, Janssens S, Van Hul W. Transforming growth factor-beta1 to the bone. *Endocr Rev* 2005;26: 743–74.
89. Johnson K. A study of dimensional changes occurring in the maxilla following tooth extraction *Aust Prosthet J* 1969;14:241-4.
90. Jovanovic SA, Hunt DR, Bernard GW, Spiekermann H, et al. Long-term functional loading of dental implants in rhBMP-2 induced bone. A histologic study in the canine ridge augmentation model. *Clin Oral Implants Res*

2003;14(6):793-803.

91. Jovanovic SA, Hunt DR, Bernard GW, Spiekermann H, Wozney JM, Wikesjö UME. Bone reconstruction following implantation of rhBMP-2 and guided bone regeneration in canine alveolar ridge defects. *Clin Oral Implants Res* 2007;8:224-30.
92. Jovanovic SA, Schenk RK, Orsini M, Kenney EB. Supracrestal bone formation around dental implants: an experimental dog study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1995;10:23-31.
93. Jung RE, Glauser R, Scharer P, Hammerle CHF, Sailer HF, Weber FE. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res* 2003; 14: 556–68.
94. Jung RE, Schmoekel HG, Zwahlen R, Kokovic V, Hammerle CHF, Weber FE. Platelet-rich plasma and fibrin as delivery systems for recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Clin Oral Implants Res* 2005;16:676-82.
95. Juodzbaly G, Sukaviciusa D, Wang H. Classification of extraction sockets based upon soft and hard tissue components. *J Periodontol* 2008;79:413-24.
96. Kaigler D, Krebsbach PH, West ER, Horger K, Huang YC, Mooney DJ. Endothelial cell modulation of bone marrow stromal cell osteogenic potential. *FASEB J* 2005; 19: 665–7.
97. Karring T, Isidor F, Nyman S, Lindhe J. New attachment formation on teeth with reduced but healthy periodontal ligament. *J Clin Periodontol* 1985;12:51-60.
98. Karring T, Nyman S, Lindhe J. Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. *J Clin Periodontol* 1980;7:96-105.
99. Kenley R, Marden L, Turek T, et al. Osseous regeneration in the rat calvarium using novel delivery systems for recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). *Biomed Mater Res* 1994;28:1139-47.
100. Kirkland G, Greenwell H, Drisko C, Wittwer JW, Yancey J, Rebitski G. Hard tissue ridge augmentation using a resorbable membrane and a particulate graft without complete flap closure. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2000;20:383-9.
101. Kloen P, Di Paola M, Borrens O et al. BMP signaling components are expressed in human fracture callus. *Bone* 2003;33:362-71.
102. Knabe C, Driessens FC, Planell JA, et al. Evaluation of calcium phosphate bone cements using osteogenic culture. *J Biomed Mater Res* 2000; 52:498-508.
103. Kokubo S, Mochizuki M, Fukushima S, et al. Long-term stability of bone tissues induced by an osteoinductive biomaterial, recombinant human bone morphogenetic protein-2 and a biodegradable carrier. *Biomaterials* 2004;25:1795-1803.
104. Kotev-Emeth S, Pitaru S, Pri-Chen S, Savion N. Establishment of a rat long-term culture expressing the osteogenic phenotype: dependence on dexamethasone and FGF-2. *Connect Tissue Res* 2002; 43: 606–12.
105. Krajicek DD. The future of complete prosthodontics. *J Prosthet Dent* 1977;37.
106. Kuboki Y, Hashimoto F, Ishibashi K. Time-dependent changes of collagen crosslinks in the socket after tooth extraction in rabbits. *J Dent Res* 1988;944-8.
107. Landry RG, Turnbull RS, Howley T. Effectiveness of benzylamine HCL in the treatment of periodontal post-surgical patients. *Research in Clinic Forums* 1988;10:105-18.
108. Landsberg CJ, Bichacho NA. A modified surgical/prosthetic approach for optimal single implant supported crown. Part I. The socket seal surgery. *Pract Periodontics Aesthet Dent* 1994;6:11-17.

109. Lazzara, R.M. (1989) Immediate implant placement into extraction sites: surgical and restorative advantages. *Int J Perio Rest Dent* 1989;9:333–43.
110. Le Huec JC, Lesprit E, Delavigne C, Clement D, Chauveaux D, Le Rebellar A. Tri-calcium phosphate ceramics and allografts as bone substitutes for spinal fusion in idiopathic scoliosis: Comparative clinical results at four years. *Acta Orthop Belg* 1997;63:202-11.
111. Lee MB. Bone morphogenetic proteins: background and implications for oral reconstruction. *J Clin Periodontol* 1997; 24:355-65.
112. Lekholm U, Zarb GA. Patient selection and preparation. In Brånemark P-I, Zarb GA, Albrektsson T, eds. *Tissue Integrated Prostheses: Osseointegration in Clinical Dentistry*. Carol Stream IL. Quintessence Publishing Co. Inc; 1985:199-209.
113. Lekić P, Rojas R, Birek C, Tenenbaum H, Mc Culloch CA. Phenotypic comparison of periodontal ligament cells in vivo and in vitro. *J Perio Res* 2001;36:71-9.
114. Lekovic V, Camargo P, Klokkevold P, Weinlaender M. Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioresorbable membranes. *J Periodontol* 1998; 69:1044-9.
115. Lekovic V, Kenney E.B, Carranza F.A. i Danilovic V. Treatment of class II furcation defects using porous hydroxylapatite in conjunction with a polytetrafluoroethylene membrane. *Journal of Periodontology* 1990;61: 575-78.
116. Lekovic V, Kenney E.B, Weinlaender M et al. A bone regeneration approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. *J Periodontol* 1997; 68:563-70.
117. Li RH, Bouxein ML, Blake CA, et al. rhBMP-2 injected in a calcium phosphate paste (α -BSM) accelerates healing in the rabbit ulnar osteotomy model. *J Orthop Res* 2003;21:997-1004.
118. Li RH, Wozney JM. Delivering on the promise of bone morphogenetic proteins. *Trends Biotechnol* 2001;19:1660-9.
119. Lillo R, Peltier LF. The substitution of plaster of Paris rods for portions of the diaphysis of the radius in dogs. *Surg Forum*. 1956;6(1955):556-8.
120. Lin W. L, McCulloch C. A, Cho M. I. Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. *Anatomical Records* 1994;1240: 492–506.
121. Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Oxford: Blackwell publishing, 2003.
122. Lu JX, Gallur A, Flautre B, et al. Comparative study of tissue reactions to calcium phosphate ceramics among cancellous, cortical, and medullar bone sites in rabbits. *J Biomed Mater Res* 1998;42(3):357-67.
123. Lynch ES, Marx RE, Nevins M, Wisner-Lynch LA. *Tissue engineering. Applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics*. Second Edition, Quintessence Publishing Co, Inc. 2008.
124. Loe H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. *J Periodontol* 1967;38(Suppl.):610-16.
125. Mark Bartold P, Songtao S, Gronthos S. Stem cells and periodontal regeneration. *Periodontology* 2000 2006;40:164-72.
126. McKay WF, Peckham SM, Badura JM. A comprehensive clinical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (INFUSE® Bone Graft). *Int Orthopaedics* 2007; 31:729–34.
127. Meccall R.A, Rosenfeld A.L The influence of residual ridge resorption patterns on implant fixture placement and tooth position. Part I. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1991; 11:9-23.

128. Melcher HA: On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 1976;47:256-60.
129. Mengel R, Candir M, Shiratori K, Florens-de-Jacoby L. Digital volume Tomography in the diagnosis of periodontal defects: an in vitro study on native pig and human mandibles. *J Periodontol* 2005;76:665-73.
130. Misch CE, Dietsh-Misch F. A modified socket seal surgery with composite graft approach. *J Oral Implantol* 1999;25:244-50.
131. Morgenroth J.K, Schröder C, Themann H. Dopelfärbung von semidünnschnitten mit basischen farbstoffen. *Mikroskopie* 1970;26:260-63.
132. Movat HZ. Silver impregnation methods for electrom microscopy. *Am J Clin Pathol* 1961;35:260-3.
133. Musculoskeletal Council. Technical manual for tissue banking, Section II. McClean, VA: *American Association for Tissue Banking: M1–M25*.
134. Nemcovsky C.E, Serfaty V. Alveolar ridge preservation following tooth extraction of maxillary anterior teeth. Report of 23 consecutive cases. *J Periodontol* 1996; 67:390-5.
135. Nentwig G, Nick I, Helmke U. Implantation in a narrow alveolar process: diagnosis, classification and operative procedure. *Implantol* 1993;3: 156–9.
136. Nevins M, Camelo M, De Paoli S, Friedland B at all. A study of the fate of buccal wall of extraction sockets of teeth with prominent roots. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006;26:19-29.
137. Nikolić-Jakoba. Evaluacija primene preparata na bazi β -TCP u prezervaciji alveolarnog grebena nakon ekstrakcije zuba. Magistarska teza, Beograd 2007.
138. Nordland PW, Tarnow DP. A classification system for loss of papillary height. *J Periodontol* 1998;69:1124-6.
139. Nussenbaum B, Rutherford RB, Teknos TN, Dornfeld KJ, Krebsbach PH. Ex vivo gene therapy for skeletal regeneration in cranial defects compromised by postoperative radiotherapy. *Hum Gene Ther* 2003; 14: 1107–15.
140. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of periodontal ligament. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 1982;9:257-65.
141. Ohsawa K, Neo M, Matsuoka H, et al. The expression of bone matrix protein mRNAs around beta-TCP particles implanted into bone. *J Biomed Mater Res* 2000;52:460-6.
142. Okubo Y, Bessho K, Kusumoto K, Ogawa Y, Iizuka T. Expression of bone morphogenetic protein in the course of osteoinduction by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Clin Oral Impl Res* 2002;13:80-85.
143. Paolantonio M, Dolci M, Scarano A et al. Immediate implantation in fresh extraction sockets. A controlled clinical and histological study in man. *J Periodontol* 2001;72:1560–71.
144. Payne JM, Cobb CM, Rapley JW, Killoy WJ, Spencer R Migration of human gingival fibroblasts over guided tissue regeneration barrier materials. *J Periodontol* 1996;67:236-44.
145. Pietrokovski J, Massler M. Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *J Prosth Dent* 1967;17: 21–7.
146. Pietrokovski J, Starinsky R, Arensburg B, Keffe I. Morphologic characteristics of bony edentulous jaws. *J Prosthodont* 2007;16:141-7.
147. Polimeni G, Koo K-T, Qahash M, Xiropaidis AV, Albandar JM, Wikesjö UME. Prognostic factors for alveolar regeneration: effect of a space-providing biomaterial on guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 725–9.
148. Quinones CR, Caffesse RG. Current status of guided tissue periodontal regeneration. *Periodontol* 2000 1995;9:55-68.

149. Reinhardt RA, Lee HM, Schmid M, Payne JB, Golub L. Relationship between gelatinases and bone turnover in the healing bone defects. *J Oral Maxillofacial Surg* 2005;63:1455-60.
150. Ripamonti U, Renton L. Bone morphogenetic proteins and the induction of periodontal tissue regeneration. *Periodontology 2000* 2006;41:73-87.
151. Sarment DP, Cooke JW, Miller SE et al. Effects of rh PDGF-BB on bone turnover during periodontal repair. *J Clin Periodontol* 2000 2006;135-40.
152. Sato H, Takeda. Proliferative activity, apoptosis and histogenesis in the early stages of rat tooth extraction wound healing. *Cells, Tissues, Organs* 2007;186:104-11.
153. Scarfe WC, Farman AG, Sukovic P. Clinical applications of cone-beam computed tomography in dental practice. *J Can Dent Assoc* 2006;72(1):75-80.
154. Schenk RK, Buser D, Hardwick VR, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: A histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994;9:13-29.
155. Schepers EJC, de Clercq M, Ducheyne P, Kempeneers R. Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. *J Oral Rehabil* 1991;18:439-52.
156. Schepers EJO, Ducheyne P, Barbier L, Schepers S. Bioactive glass particles of narrow size range: a new material for the repair of bone defects. *Implant Dent* 1993; 2:151-6.
157. Schopper C, Moser D, Sabbas A et al. The fluorohydroxyapatite (FHA) FRIOS® Algipore® is a suitable biomaterial for the reconstruction of severely atrophic human maxillae. *Clin Oral Impl Res* 2003;14:743-9.
158. Schroeder A. [Dental implantation] . *Dtsch Med Wochenschr* 1986 ; 111(38):1427-30 available.
159. Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Perio Rest Dent* 2003; 23:313–23.
160. Schulte W, Kleinekenscheidt H, Linder K, Schareyka R. The Tübingen immediate implant in clinical studies (in German). *Dtsch Zahnärztl Z* 1978;33:348-59.
161. Schultz A.J. Guided tissue regeneration (GTR) of nonsubmerged implants in immediate extraction sites. *Practical Periodontics and Aesthetic Dentistry* 1993; 5: 59–65.
162. Schönfeld C, Bössnamm K. Eine methacrylateinbettung zur histologischenuntersuchung entkalkter wie auch unentkalkter präparate von zähnen mit umgebenden parodont. *Dtsch Zahnärztl Z* 1980;35:789-94.
163. Sclar A. Bio-Col technique. In :Bowyers LC, ed. Soft tissue and esthetic considerations i implant therapy. Chicago, IL-. Quintessence 2003;162-87.
164. Seibert J, Nyman S. Localized ridge augmentation in dogs: Pilot study using membranes and hydroxyapatite. *J Periodontol* 1990;61:157-65.
165. Seibert J. Treatment of moderate localized alveolar ridge defects. Prevention and reconstructive concepts in therapy. *Dent Clin North Am* 1993;37:265-80.
166. Seibert JS. Reconstruction of deformed partially edentulous ridges using full thickness onlay grafts. Technique and wound healing. *Compend Cont Educ Dent* 1983; 4:437-53.
167. Serino G, Biancu S, Iezzi G, Piattelli A. Ridge preservation following tooth extraction using a polylactide and polyglycolide sponge as space filler: A clinical and histological study in humans. *Clin Oral Impl Res* 2003;14:651–8.

168. Sieron AL, Louneva N, Fertala A. Site specific interaction of bone morphogenetic protein 2 with procollagen II. *Cytokine* 2002;18:214-21.
169. Sigurdsson JT, Fu E, Tatakis DN, Rohrer MD, Wikesjö UME. Bone morphogenetic protein-2 for peri-implant bone regeneration and osseointegration. *Clin Oral Implants Res* 1997;8:367-74.
170. Sigurdsson JT, Nguyen S, Wikesjö UME. Alveolar ridge augmentation with rh BMP-2 and bone-to-implant contact in induced bone. *Int J Periodontics Rest Dent* 2001;21:461-73.
171. Sigurdsson JT, Tatakis DN, Fu E et al. Periodontal repair in dogs; evaluation of rhBMP-2 carriers. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996;6:525-37.
172. Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal conditions. *Acta Odontol Scand* 1964;22:121-35.
173. Simion B, Von Hagen S, Deasy M, Faldu M, Resnansky D. Changes in alveolar bone height and width following ridge augmentation using bone graft and membranes. *J Periodontol* 2000;71:1774-91.
174. Soehren SE, Van Swol RL. The healing extraction site: a donor area for periodontal grafting material. *J Periodontol* 1979;50(3):128-33.
175. Sotossanti JS. Aesthetic extractions with calcium sulfate and the principles of guided tissue regeneration. *Pract Periodontics Aesthet Dent* 1993;5:61-9.
176. Sotossanti JS. Calcium sulfate-aided bone regeneration: a case report. *Periodont Clin Invest* 1995;17:1
177. Spector JA, Luchus JS, Mehrara BJ, Greenwald JA, Smith LP, Longaker MT. Expression of bone morphogenetic proteins during membranous bone healing. *Plastic Reconstructive Surgery* 2001;107:124-34.
178. Sukovic P. Cone beam computed tomography in craniofacial imaging. *Orthod Craniofac Res* 2003;6 Suppl 1:31-6; discussion 179-82.
179. Tamimi FM, Torres J, Tresguerres I, Clemente C, López-Cabarcos E, Blanco LJ. Bone augmentation in rabbit calvariae: comparative study between Bio-Oss[®] and a novel β -TCP/DCPD granulate. *J Clin Periodont* 2006;33 (12): 922–8.
180. Thomas M, Puleo D, Al-Sabbagh M. Calcium Sulfate: A review. *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants* 2005;15(6):599-607.
181. Todescan R, Davies JD. Reconstituted collagen produces different healing reactions in bony and soft tissue pen implant compartments. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994;9:298-304.
182. Trombelli L, Farina R, Marzola A., Bozzi L., Liljenberg B, Lindhe J. Modeling and remodeling of human extraction sockets. *J Clin Periodontol* 2008;35: 630–9.
183. Ulm C, Solar P, Blahout R, Matejka, M, Gruber H. Reduction of the compact and cancellous bone substances of the edentulous mandible caused by resorption. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1992;74:131–6.
184. Urist MR Fundamental and clinical bone physiology. Philadelphia:Lippencott, 1980.
185. Wall BF, Fisher ES, paynter R, Hudson A, Bird PD. Doses to patients from pantomographic and conventional radiography. *Br J Radiol* 1979;52:727-734.
186. Wang EA, et al. RPurification and characterization of other distinct bone-inducing factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1988;85:9484-8.
187. Vannier MW, Hildebolt CF, Conover G, Knapp RH. Three-dimensional dental imaging by spiral CT. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1997;84:561-570.

188. Watzek G, Haider R, Mendsdorff-Pouilli N, Haas R. Immediate and delayed implantation for complete restoration of the jaw following extraction of all residual teeth: a retrospective study comparing different types of serial immediate implantation. *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 1995;105:561-7.
189. Wetzel A, Stich H, Caffesse R. Bone apposition onto oral implants in the sinus filled with different grafting materials. *Clin Oral Impl Res* 1995;6: 155–63.
190. Wikesjö UM, Selvig KA. Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontol. 2000* 1999;19:21-39.
191. Wikesjö U, Sorensen R, Wozney J. Augmentation of alveolar bone and dental implant osseointegration: Clinical implications of studies with rhBMP-2. *J Bone Joint Surg Am* 2001;83-A:136-45.
192. Wikesjö UME, Nilveus R. Periodontal repair in dogs: effects of wound stabilisation on healing. *J Periodontol* 1990;61:719-24.
193. Wikesjö UME, Qahash M, Thomson RC, et al. Space-providing expanded polytetrafluorethylene devices define alveolar augmentation dental implants induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Clin Implant Dent Relat Res* 2003;5:112-23.
194. Wikesjö UME, Sorensen RG, Kinoshita A, Wozney JM. rhBMP-2/ α BSM[®] induces significant vertical alveolar ridge augmentation and dental implant osseointegration. *Clin Implant Dent Relat Res* 2002;4:173-81.
195. William FMcK, Peckhem SM, Badura JM. A comprehensive clinical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (INFUSE[®] Bone Graft). *Int Orth (SCIOT)* 2007;31:729-34.
196. Wood D. L, Hoag P. M, Donnenfeld O. W, Rosenberg, D. L. Alveolar crest reduction following full and partial thickness flaps. *J Periodontol* 1972; 43:141–4.
197. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, et al. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science* 1988;242:1528-34.
198. Zerbo I.R, Bronckers A.L.J.J, de Lange G.L, van Beeck, G.J, Burger, E.H. Histology of human alveolar bone regeneration with a porous tricalcium phosphate. A report of two cases. *Clin Oral Impl Res* 2001;12: 379–84.
199. Zubillaga G, Von Hagen S, Simion BI, Deasy MJ. Changes in alveolar bone height and width following post-extraction ridge augmentation using a fixed bioabsorbable membrane and demineralized freeze-dried bone osteoconductive graft. *J Periodontol* 2003;74:965-75.