

Innowacyjne metody wypełniania ubytków zębowych

Joanna Howis, Michał Wrzecionek, Paweł Ruśkowski,
Agnieszka Gadomska-Gajadhur

W e współczesnej dentyście najbardziej popularną metodą wypełniania ubytków w zębach jest wypełnienie korony zęba lub wszczępienie implantów. Dobór sposobu leczenia zależy od stopnia zaawansowania ubytków. Postępy w inżynierii tkankowej oraz rozwój technologii pozwalają na opracowywanie innowacyjnych metod wypełniania ubytków zębów.

Rekonstrukcja zębów stanowi wielkie wyzwanie ze względu na właściwości charakteryzujące tkanki tj.: przestrzenna budowa, interakcje międzykomórkowe, anizotropowe właściwości mechaniczne i niejednorodny rozkład czynników wzrostu [2]. Kluczowy w rekonstrukcji jest również dobór odpowiedniego materiału, który powinien charakteryzować się odpowiednią porowatością, wytrzymałością, sztywnością oraz biokompatybilnością. Z punktu widzenia pacjenta najważniejsze jest jak najdokładniejsze dopasowanie implantu.

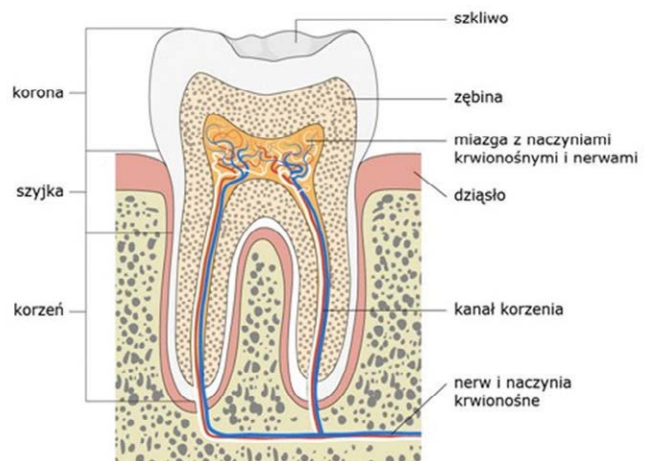
Druk 3D

Technologia druku 3D polega na wytwarzaniu fizycznego obiektu poprzez nanoszenie kolejnych warstw materiału. Składają się na to skoordynowane ruchy maszyny w trzech kierunkach. Projekt drukowanej struktury tworzony jest z wykorzystaniem oprogramowania do projektowania wspomaganego komputerowo (*computer-aided design CAD*) lub obrazów wykonanych za pomocą tomografu komputerowego czy rezonansu magnetycznego [2].

Niedawne postępy umożliwiły drukowanie 3D biokompatybilnych materiałów, komórek i komponentów pomocniczych w złożonych, funkcjonalnych żywych tkankach 3D. Biodrukowanie 3D jest stosowane w medycynie regeneracyjnej, aby zaspokoić zapotrzebowanie na tkanki i narządy nadające się do przeszczepów. Metoda biodruku 3D pozwala otrzymać struktury o wysokiej precyzji wykonania przy jednoczesnym zapewnieniu integralności produkcji.

Ze względu na budowę zęba oraz funkcję, jaką pełni w organizmie człowieka niewiele materiałów spełnia kryteria pozwalające na wykorzystanie w rekonstrukcji uzębienia. Powszechnie do druku 3D w zastosowaniach biomedycznych stosuje się syntetyczne polimery, a w szczególności PCL i jego kompozyty [4]. Istotnym czynnikiem jest również dobór atramentu, którego formuła musi wykazywać odpowiednie cechy mechaniczne i biologiczne. Najczęściej wy-

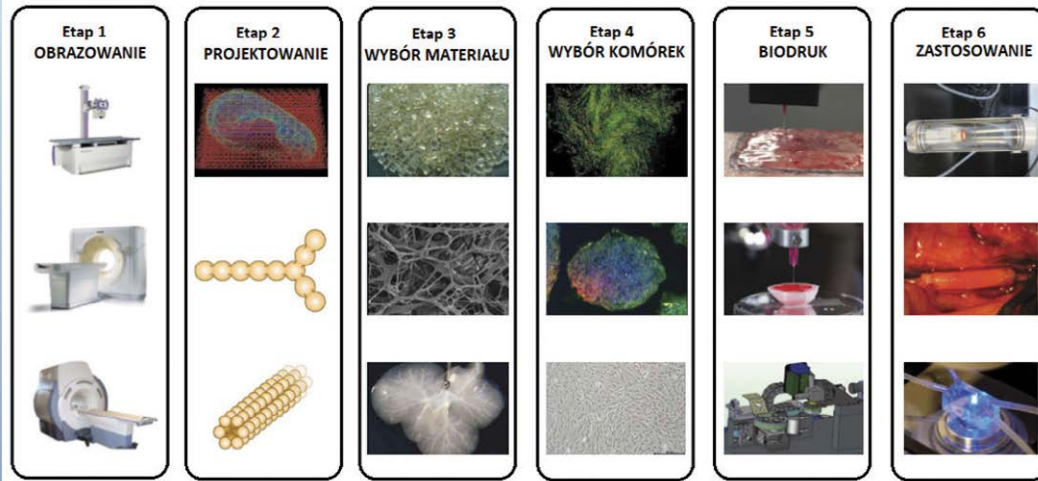
Ząb i jego tkanki wspomagające tworzą złożoną, trójwymiarową strukturę. W jej skład wchodzi: korzeń zęba, ukrwiona miazga zębowa z tkankami nerwowymi, ozębna oraz więzadła przyzębia (rys. 1.). Synergistyczna współpraca wszystkich struktur zęba zapewnia człowiekowi w codziennym życiu wspomaganie funkcji trawiennych oraz umiejętność mowy. Niestety wraz z wiekiem postępuje fizjologiczne zużycie struktur zęba. Niezbędne stają się częściowe lub nawet całkowite wypełnianie ubytków w uzębieniu. Częstymi przyczynami rekonstrukcji struktur zęba są również urazy mechaniczne, próchnica lub zapalenie ozębnej.



Rys. 1. Budowa anatomiczna zęba [1]

korzystywane są hydrożele wypełnione komórkami lub pozbawiona komórek macierz zewnątrzkomórkowa [5].

Dodatkowo duży problem stanowi szybki rozwój mikroorganizmów na implantach. Prowadzi on do odrzucenia przez organizm implantu, a w konsekwencji nawet do stanu zagrożenia życia. Negatywne konsekwencje rozwoju bakterii w jamie ustnej i wysoce zindywidualizowany dobór implantów doprowadził do opracowania antybakteryjnej żywicy, która dzięki drukowi 3D może służyć do



Rys. 2. Typowy tok postępowania w inżynierii tkankowej z wykorzystaniem biodruku 3D. Opracowanie własne na podstawie [3]

wykonywania idealnie dopasowanych implantów i uzupełnień dentystycznych. Dodatkowo naładowane monomery z dołączonym łańcuchem alkilowym są odpowiedzialne za właściwości przeciwbakteryjne. Synteza polega na bezpośredniej kopolimeryzacji z konwencjonalnymi składnikami żywicy poprzez fotoutwardzanie albo prepolimeryzacji jako łańcuch liniowy, który następnie zostaje włączony do częściowo przenikającej się sieci polimerowej z zastosowaniem indukcji światłem.

Przygotowane żywice przeciwdrobnoustrojowe mogą również znaleźć zastosowanie w stomatologii jako klej, cement mocujący lub kompozyt do mocowania zamków ortodontycznych na zębach. Z powodzeniem zrealizowano złożone geometrie aparatów ustnych, a wydrukowane w 3D obiekty wykazywały właściwości mechaniczne, które były prawie identyczne z konwencjonalnie fotoutwardzalnymi próbkami polimeru [6].

Biozęby

Idea hodowli zębów w celu wypełniania ubytków zębowych jest coraz bardziej realistyczna ze względu na intensywny rozwój w obszarze inżynierii tkankowej, hodowli komórek i genetyki molekularnej. Kluczowym problemem jest brak zdolności nowoutworzonych biozębów do wykształcenia systemów korzeniowych przyzębia oraz kontrolowania ich wielkości i kształtu w celu odtworzenia normalnej okluzji [7].

Badania nad stworzeniem biozęba prowadzone są w różnych kierunkach i obejmują eksperymenty rekombinacyjne, regenerację zębów na rusztowaniu, indukcję uzębienia trzeciego, montażu różnych części składowych podanych bioinżynierii, nowatorskiej inżynierii peletek komórkowych, inżynierii zębów chimerycznych

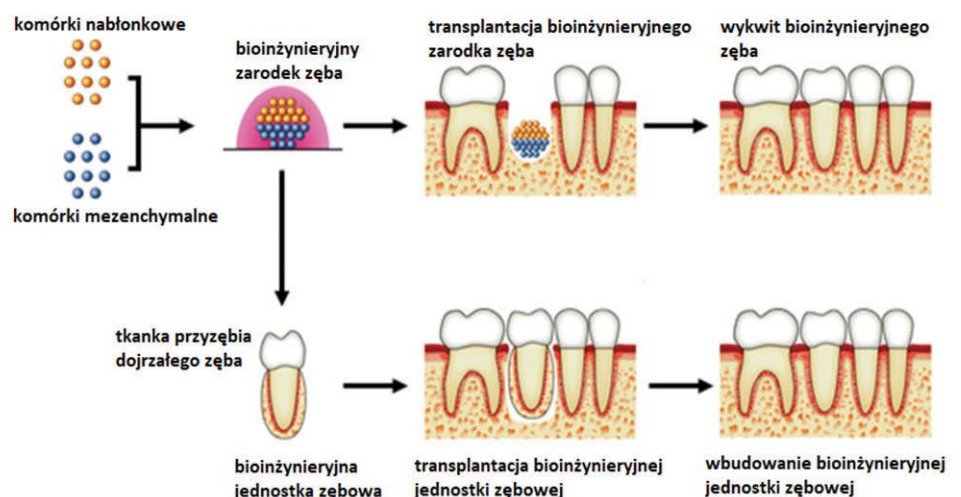
i regeneracji zębów za pomocą genów. Najbardziej obiecujące są dwie pierwsze z powyżej wymienionych metod.

Eksperymenty rekombinacyjne

Eksperyment rekombinacyjny to tradycyjna metoda, której celem jest ocena interakcji nabłonkowo-mezenchymalnych niezbędnych do różnicowania komórek i regeneracji tkanek w różnych narządach.

Rozwój zęba można podzielić na kilka etapów.

Na początku od ontogenezy ektomezenchym dostarcza sygnałów indukcyjnych, po których następuje tworzenie się łożyska zębowego. Późniejsza proliferacja komórek, kondensacja, polaryzacja i różnicowanie nabłonka i mezenchymu przyczyniają się do morfogenezy zębów. W kilku badaniach wykazano, że struktury przypominające koronę zęba mogą powstać w wyniku rekombinacji między zarodkowym nabłonkiem jamy ustnej a komórkami mezenchymalnymi pochodzenia zębowego lub nie dentystycznego [8–12], a nawet przez komórki rdzenia nerwowego w zarodkach kurcząt [13]. Jedną z koncepcji eksperymentów rekombinacyjnych zakłada bezpośrednie przeszczepienie zarodków zębowych w obszar utraconego zęba, a następnie przekształcenie w dojrzały ząb. Bardzo trudne jest jednak dokładne oddzielenie embrionalnego nabłonka jamy ustnej i zębów od leżących u jego podstaw składników mezenchymalnych. Ponadto dostępność komórek i tkanek z ludzkich etapów embrionalnych jest bardzo ograniczona ze względu na kwestie moralne i prawne. Inna strategia eksperymentów rekombinacyjnych ma na celu przeszczepienie już wykształconych jednostek zębowych, w tym



Rys. 3. Schemat poglądowy eksperymentu rekombinacyjnego mającego na celu wypełnienie ubytku w jamie ustnej biozębem. Opracowanie własne na podstawie [14]

części więzadła przyzębia i kości wyrostka zębodołowego, które zostaną wszczepione do kości wyrostka zębodołowego biorcy.

Regeneracja zębów na rusztowaniu

Inżynieria zębów oparta na rusztowaniach jest obecnie popularnym podejściem do wykonania biozębów. W tym celu wykorzystuje się wstępnie ukształtowane rusztowanie, które ma naśladować naturalne środowisko macierzy zewnątrzkomórkowej. Powodzenie eksperymentu jest uzależnione od otrzymania rusztowania o odpowiedniej stabilności chemicznej i ściśle określonych właściwościach fizycznych dopasowanych do otaczających tkanek pod względem zgodności komórek, wydajności adhezji, proliferacji komórek, kontrolowanej degradacji i wytrzymałości mechanicznej [15]. Różne materiały są wykorzystywane do tworzenia rusztowań, zaczynając od wytrzymałej porowatej ceramiki hydroksyapatytowej po występujące w naturze cząsteczki o pośrednim czasie trwania (np. kolagen i chitozan), do stosunkowo krótkotrwałych polimerów, takich jak kwas poliglikolowy (PGA), kwas polimlekowy (PLA), blendę kwasów poliglikolowego i poli-L-mlekowego (PGA-PLLA) i kopolimer tych kwasów (PLGA).

Badania potwierdziły powstawanie struktur przypominających zęby poprzez zaszczerpienie zdysocjowanych komórek zawiązków zębów na siatce z włókien kwasu poliglikolowego i innych biodegradowalnych rusztowaniach [16–18]. Powodzenie eksperymentów nie było jednak całkowite ze względu na ograniczenia, jakie się pojawiły. Istnienie rusztowań może mieć negatywny wpływ na interakcje nabłonkowo-mezenchymalne, a kwaśne produkty mogą mieć niekorzystny wpływ na tworzenie się tkanek zęba. Ponadto dostarczanie składników odżywczych i usuwanie odpadów metabolicznych wewnątrz rusztowań jest często ograniczone, co może wpływać na sekwencyjne różnicowanie komórek i nieprawidłową morfogenezę zębów [19]. Niezbędne są dalsze badania związku między zębowymi komórkami macierzystymi a materiałami rusztowania przed rozważeniem ich klinicznego zastosowania.

Podsumowanie

Intensywny rozwój w obszarze inżynierii tkankowej pozwala na opracowywanie innowacyjnych implantów zębów z zastosowaniem różnych technik. Niezbędne do tego są biomateriały o sprecyzowanych właściwościach. W stomatologii coraz chętniej wykorzystuje się metodę druku 3D. Ograniczenie stanowi jednak wysoki koszt implantów. Ponadto nieustannie trwają prace mające na celu ulepszenie właściwości wykorzystywanych materiałów. Badania nad hodowlą biozębów stanowią obecnie większe wyzwanie i prowadzone są w różnych kierunkach. Pomimo pierwszych sukcesów niezbędne są dalsze badania nad możliwością kontrolowania wzrostu i kształtu zęba. Nie pozostawia wątpliwości, że biozęby są najlepszym zamiennikiem naturalnych zębów, ponieważ wykluczają odrzucenie przez organizm macierzysty, zapobiegają postępującej recesji dziąseł i zapewniają estetykę dziąseł. Co ważniejsze są gwarancją komfortu dla pacjenta i w przeciwieństwie do leczenia implantoprotetycznego nie wykluczają szerokiego grona pacjentów do tego typu leczenia.

Z tego względu istotne są dalsze prace nad innowacyjnymi metodami wypełniania ubytków zębowych.

Literatura

- [1] Budowa zębów i przyzębia. Stomatologia - Medycyna Praktyczna dla pacjentów. <https://www.mp.pl/pacjent/stomatologia/choroby-i-leczenie-zebow/107907,budowa-zebow-i-pryzebia>. Accessed December 30, 2020.
- [2] F. Obregon, C. Vaquette, S. Ivanovski, D.W. Huttmacher, L.E. Bertassoni: Three-Dimensional Bioprinting for Regenerative Dentistry and Craniofacial Tissue Engineering. *J Dent Res.* 2015;94(9_suppl). doi:10.1177/0022034515588885.
- [3] S.V. Murphy, A. Atala: 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol.* 2014;32(8). doi:10.1038/nbt.2958.
- [4] M.A. Woodruff, D.W. Huttmacher: The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Prog Polym Sci.* 2010;35(10). doi:10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002.
- [5] S. Ji, M. Guvendiren: Recent Advances in Bioink Design for 3D Bioprinting of Tissues and Organs. *Front Bioeng Biotechnol.* 2017;5. doi:10.3389/fbioe.2017.00023.
- [6] J. Yue, P. Zhao, J.Y. Gerasimov et al.: 3D-Printable Antimicrobial Composite Resins. *Adv Funct Mater.* 2015;25(43). doi:10.1002/adfm.201502384.
- [7] J. Yu, J. Shi, Y. Jin: Current Approaches and Challenges in Making a Bio-Tooth. *Tissue Eng Part B Rev.* 2008;14(3). doi:10.1089/ten.teb.2008.0165.
- [8] B. Hu, F. Unda, S. Bopp-Kuchler et al.: Bone Marrow Cells Can Give Rise to Ameloblast-like Cells. *J Dent Res.* 2006;85(5). doi:10.1177/154405910608500504.
- [9] A. Ohazama, S.A.C. Modino, I. Miletich, P.T. Sharpe: Stem-cell-based Tissue Engineering of Murine Teeth. *J Dent Res.* 2004;83(7). doi:10.1177/154405910408300702.
- [10] B. Hu, A. Nadiri, S. Bopp-Küchler, F. Perrin-Schmitt, H. Lesot: Dental Epithelial Histomorphogenesis in vitro. *J Dent Res.* 2005;84(6). doi:10.1177/154405910508400607.
- [11] H. Yamamoto: Analysis of tooth formation by reagggregated dental mesenchyme from mouse embryo. *J Electron Microscop (Tokyo).* 2003;52(6). doi:10.1093/jmicro/52.6.559.
- [12] S.A.C. Modino, P.T. Sharpe: Tissue engineering of teeth using adult stem cells. *Arch Oral Biol.* 2005;50(2). doi:10.1016/j.archoralbio.2005.01.002.
- [13] C.S. Young, H. Abukawa, R. Asrican et al.: Tissue-Engineered Hybrid Tooth and Bone. *Tissue Eng.* 2005;11(9-10). doi:10.1089/ten.2005.11.1599.
- [14] S. Proksch, K.M. Galler: Scaffold Materials and Dental Stem Cells in Dental Tissue Regeneration. *Curr Oral Heal Reports.* 2018;5(4). doi:10.1007/s40496-018-0197-8.
- [15] P.M. Taylor: Biological matrices and bionanotechnology. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2007;362(1484). doi:10.1098/rstb.2007.2117.
- [16] M.T. Duailibi, S.E. Duailibi, C.S. Young, J.D. Bartlett, J.P. Vacanti, P.C. Yelick: Bioengineered Teeth from Cultured Rat Tooth Bud Cells. *J Dent Res.* 2004;83(7). doi:10.1177/154405910408300703.
- [17] M.J. Honda, Y. Sumita, H. Kagami, M. Ueda: Histological and immunohistochemical studies of tissue engineered odontogenesis. *Arch Histol Cytol.* 2005;68(2). doi:10.1679/aohc.68.89.
- [18] S. Iwatsuki, M.J. Honda, H. Harada, M. Ueda: Cell proliferation in teeth reconstructed from dispersed cells of embryonic tooth germs in a three-dimensional scaffold. *Eur J Oral Sci.* 2006;114(4). doi:10.1111/j.1600-0722.2006.00385.x.
- [19] J. Yang, M. Yamato, C. Kohno et al.: Cell sheet engineering: Recreating tissues without biodegradable scaffolds. *Biomaterials.* 2005;26(33). doi:10.1016/j.biomaterials.2005.04.061.

Joanna Howis

mgr inż. Michał Wrzecionek

dr inż. Paweł Ruśkowski

dr inż. Agnieszka Gadomska-Gajadur