

Ewa Czechowska

**Ocena stężeń wybranych białek ostrej fazy po zabiegu
augmentacji materiałem kościozastępczym R.T.R.**

Promotor pracy:

Prof. UM. dr hab. Jerzy Sokalski

Praca na stopień doktora nauk medycznych

Poznań 2012

**Z Katedry i Kliniki Chirurgii Stomatologicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola
Marcinkowskiego w Poznaniu**

Podziękowania

*Promotorowi, Panu Profesorowi Jerzemu
Sokalskiemu składam serdeczne podziękowania
za opiekę merytoryczną, cenne wskazówki oraz
za wyrozumiałość i życzliwość.*

Rodzicom dziękuję za wsparcie.

Spis treści

	Strona
I. Wstęp i przegląd piśmiennictwa	5
1. Przebieg gojenia kości	5
2. Gojenie zębodołu po ekstrakcji zęba	8
3. Resorpcja zębodołu po ekstrakcji zęba	9
4. Sterowana regeneracja kości i jej zastosowanie w stomatologii	10
5. Wskazania do zastosowania przeszczepów kostnych w stomatologii	10
6. Definicja biomateriałów	13
7. Podział materiałów kościozastępczych	13
8. Mechanizm oddziaływania autogenicznych przeszczepów kości	15
9. Charakterystyka β – trójfosforanu wapnia	15
10. Przebieg procesu zapalnego w ustroju	19
11. Reakcja ostrej fazy	19
II. Cel pracy	29
III. Materiał i metody	30
1. Dobór grup badawczych	30
2. Metody kliniczne	33
2.1 Wskazania do ekstrakcji zęba	33
2.2 Metoda ekstrakcji zęba	35
2.3 Aplikacja materiału R.T.R. do zębodołu	37
3. Metody laboratoryjne	39
3.1 Pobieranie materiału do badania	39
3.2 Technika ilościowego oznaczania wybranych białek ostrej fazy	39
3.3 Technika jakościowego oznaczania białek ostrej fazy	41
4. Analiza statystyczna	43

IV. Wyniki	44
1. Analiza wykonanych ekstrakcji ze względu na liczbę i rodzaj usuniętych zębów	44
2. Przebieg gojenia rany po implantacji materiału R. T. R.	45
3. Zmiany poziomu stężeń i glikozylacja wybranych białek ostrej fazy	45
4. Korelacje	62
5. Charakterystyka zmian stężeń i glikozylacji białek ostrej fazy w przypadku powikłań	87
V. Omówienie wyników i dyskusja	90
VI. Wnioski	102
VII. Streszczenie	103
VIII. Piśmiennictwo	107
IX. Spis tabel, rycin, fotografii	123
X. Wykaz akronimów	126

I. Wstęp i przegląd piśmiennictwa

Idea współczesnej rehabilitacji narządu żucia opiera się na zaawansowanych technologicznie sposobach leczenia z wykorzystaniem implantów stomatologicznych. Utrata zębów oraz związana z tym resorpcja podłoża kostnego często utrudnia lub nawet uniemożliwia proces terapeutyczny. Wielu pacjentów w takiej sytuacji wymaga leczenia za pomocą przeszczepów kości (18, 90). W chirurgii stomatologicznej stosuje się zarówno przeszczepy kości własnej jak i przeszczepy allo-, ksenogenne oraz materiały alloplastyczne (34, 37, 90, 120). Rozwój syntetycznych materiałów kościozastępczych (materiałów alloplastycznych) pozwolił na wyeliminowanie niedogodności związanych z pobieraniem kości autogennej oraz ryzyka niepożądanego reakcji immunologicznej wskutek wszczepiania materiałów pochodzenia zwierzęcego, czy trudnego do zaakceptowania zastosowania materiału allogennego (34, 90, 97).

Doniesienia naukowe udowadniają, iż wiele czynników tj: infekcje bakteryjne, nowotwory, urazy operacyjne, oparzenia czy fizjologicznie przebiegająca ciąża wywołują specyficzną reakcję ogólnoustrojową manifestującą się ilościowymi i jakościowymi zmianami określonych składowych osocza krwi. Pionierskim krokiem w tej dziedzinie nauki było odkrycie białka C – reaktywnego w osoczu chorych na pneumokokowe zapalenie płuc przez Williama Tilleta i Thomasa Francisa z Instytutu Rockefellera w 1930 roku (114).

Leczenie implantologiczne w wielu przypadkach pozwala na znacznie lepszą, niż przy zastosowaniu tradycyjnych metod, rehabilitację protetyczną układu stomatognatycznego. Warunkiem jego zastosowania jest wystarczająca ilość tkanki kostnej wyrostków zębodołowych, umożliwiającą wypreparowanie łoża o odpowiedniej długości i umieszczenie w nim wszczepu stomatologicznego w sposób gwarantujący stabilizację pierwotną. Nie wszyscy pacjenci spełniają powyższe warunki. Znaczny zanik kości skłania do poszukiwania materiału, który ten niedobór mógłby uzupełnić, bez ujemnej reakcji ze strony organizmu biorcy. Podjęte badania są próbą odpowiedzi na pytanie, czy biomateriały mogą wywołać określoną odpowiedź organizmu gospodarza.

1. Przebieg gojenia kości

Reparacja rany kostnej po ekstrakcji zęba, urazie, wgajanie implantu, przeszczepu kości lub materiałów kościozastępczych czy tworzenie nowej tkanki kostnej po zabiegu osteodystrakcji, opiera się na podobnych procesach biologicznych resorpcji i osteogenezy kości (12, 82). Procesy te przebiegają równolegle prowadząc do regeneracji kości (68, 82). Powstanie nowej kości jest rezultatem równowagi obydwóch procesów.

W przebiegu gojenia kości wyróżnia się cztery fazy:

1. faza zapalna (faza ziarninowania),
2. faza ziarniny (faza rozplemowa, faza kostniny niezmineralizowanej),
3. faza kostniny twardej (faza modelowania lub dojrzewania kostniny niezmineralizowanej),
4. faza przebudowy wewnętrznej (remodelowania).

Faza zapalna

Faza zapalna zwana również fazą ziarninowania rozpoczyna się w momencie powstania rany kostnej i trwa 7 dni. Na skutek przerwania ciągłości naczyń krwionośnych dochodzi do wynaczynienia krwi i powstania krwiaka. Agregacja płytek krwi i fibrynogen odpowiadają za proces powstania skrzepu w miejscu urazu. Odsłonięte włókna kolagenowe są zasiedlane przez płytki krwi, które uwalniają enzymy proteolityczne, tromboksan, serotoninę i prostaglandyny. Trombocyty są również źródłem czynnika wzrostowego pochodzącego z płytek krwi – PDGF, insulinopodobnego czynnika wzrostowego – IGF 1, transformującego czynnika wzrostowego β – TGF β oraz czynnika wzrostowego naskórka – EGF. Czynniki te wpływają na zdolność indukcji i chemotaksji leukocytów, makrofagów, neutrofilów i komórek tłuszczowych. Makrofagi w miejscu urazu pełnią rolę fagocytarną, usuwając martwe tkanki. Komórki biorące udział w przebiegu fazy zapalnej oraz ich mediatory odpowiadają za fagocytozę oraz pełnią rolę demarkacyjną, tworząc tym samym miejsce dla mających nastąpić procesów naprawczych. Dalszy przebieg gojenia zależy od czasu trwania i zakresu fazy zapalnej.

Faza ziarniny

Faza ziarniny trwa około 14 dni. Jej istotą jest migracja, proliferacja i różnicowanie komórek mezenchymalnych, zyskujących zdolność syntezy macierzy pozakomórkowej oraz angiogeneza. Angiogeneza dokonuje się wskutek mitogennego i morfogenetycznego działania

czynnika VEGF (vascular endothelial growth factor) na angioblasty i komórki śródbłonna. Dochodzi do wytworzenia światła w nowopowstałych naczyniach i do ich zróżnicowania w kapilary żyłne i tętnicze. Efektem opisanej fazy jest powstanie ziarniny stanowiącej luźną tkankę łączną, prekursorowych komórek osteogennych oraz naczyń krwionośnych. Powstała tkanka łączna zbudowana jest głównie z kolagenu typu III oraz niewielkiej ilości kolagenu typu I i V, stanowiąc tym samym substrat do migracji prekursorowych komórek osteogennych i wrastania naczyń krwionośnych.

Faza kostniny twardej

W fazie kostniny twardej, trwającej od 1 do 4 miesięcy, dochodzi do syntezy, dojrzewania i mineralizacji macierzy kostnej. Kluczową rolę w tym procesie odgrywiają osteoblasty. Powstają one z komórek prekursorowych na skutek działania czynników mitogennych, osteoindukcyjnych – TGF β (transforming growth factor β) i białek morfogenetycznych. Wyróżnia się dwa typy komórek prekursorowych:

1. zdeterminowane prekursory komórek osteogennych (DOPC – Determined Osteogenic Precursor Cells),
2. indukowane prekursory komórek osteogennych (IOPC – Inducible Osteoprogenitor Cells).

Funkcją osteoblastów jest synteza białek niekolagenowych: osteopontyny (OPN), osteonektyny (SPAR), osteokalcyny i sialoproteiny kostnej (BSP), odpowiedzialnych za dojrzewanie pozakomórkowych składników macierzy kostnej oraz za proces biologicznej mineralizacji prowadzących do utworzenia dojrzałej kości. Osteoblasty również biorą udział w syntezie fosfatazy alkalicznej, inicjującej proces mineralizacji. W procesie mineralizacji wyróżnia się dwa etapy: inicjacji i progresji. W etapie inicjacji dochodzi do: wzrostu zewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca^{2+} , fosforanów nieorganicznych, syntezy białek niekolagenowych, powstawania pęcherzyków macierzy oraz kompleksów wapniowo – fosforanowych odłożonych na włóknach kolagenowych wewnątrz tych pęcherzyków. Etap progresji polega na wzroście kryształów hydroksypatytów na drodze epitaksji. Zmineralizowana macierz organiczna tworzy kostninę histologicznie odpowiadającą grubowłóknistej kości splotowatej.

Faza przebudowy wewnętrznej (remodelowania).

Remodelowanie kości trwa od 1 – 4 lat i jest procesem, który polega na zastąpieniu kości splotowatej bardziej wytrzymałą kością blaszkowatą. Przy udziale osteoblastów i

osteoklastów dochodzi do jednoczesnego tworzenia i resorpcji kości. Osteoblasty w procesie przebudowy odpowiadają za syntezę czynników regulujących proliferację i różnicowanie osteoklastów oraz za syntezę białek niekolagenowych takich jak osteopontyna i sialoproteina kostna, które wraz z integrynami wpływają na adhezję osteoklastów do powierzchni kości. Osteoblasty syntezują również cytokiny: PGE 2, IL – 1, IL – 6, TNF α stymulujące resorpcję kości oraz kolagenazę degradującą macierz organiczną. Osteoklasty powstają pod wpływem cytokin takich jak: IL – 1, IL – 3, IL – 6, IL – 11, TNF α oraz pod wpływem czynników stymulujących tworzenie kolonii: makrofagalnych oraz granulocytowo – makrofagalnych. Osteoklasty, poprzez wymianę jonów H⁺ i Cl⁻ wywołują pozakomórkowe kwaśne środowisko na poziomie pH 4,5, co powoduje degradację mineralnych składników macierzy kostnej (82, 108).

Podstawowymi pierwiastkami odpowiedzialnymi za gojenie kości jest wapń i fosfor. Gospodarka wapniowo – fosforanowa organizmu podlega regulacji na skutek działania czynników takich jak: stężenie parathormonu, czynności przysadki mózgowej, dostatecznej podaży wapnia i fosforu, właściwego metabolizmu białek, zdolności wchłaniania wymienionych substancji w przewodzie pokarmowym, wydolności nerek oraz stanu wydolności układu naczyniowego. Wpływ na gojenie mają również czynniki ogólne, do których należą: witamina C, K, D, parathormon, kalcytonina, hormon wzrostu, hormony płciowe, glikokortykosteroidy i insulina (18, 108).

2. Gojenie zębodołu po ekstrakcji zęba

W zębodole po ekstrakcji zęba regeneracja tkanki rozpoczyna się zarówno od kostnych brzegów rany jak i od wewnętrznej powierzchni ścian zębodołu. Ubytek w najbardziej powierzchniowej części jest pomostowany tkanką łączną z minimalną ilością niedojrzałej kości. Obecne w zębodole osteoblasty są źródłem białek niekolagenowych, będących składnikiem macierzy kostnej. Komórki te układają się wzdłuż włókien kolagenowych, tworząc najpierw blaszki kostne, które dają początek kości splotowatej. Reparatywna tkanka kostna cechuje się obecnością splotowatych włókien niedojrzałej kości pierwotnej oraz prymitywnymi kanałami Haversa. Na tym etapie można zaobserwować gąbczastą, bogatokomórkową kość z osteocytami obecnymi w szerokich lakunach. W fazie remodelingu dochodzi do stopniowego łączenia się chaotycznie ułożonych beleczek w pojedynczą strukturę. Większość odizolowanych włóknisto – naczyniowych przestrzeni stopniowo staje

się centrum formowania właściwych kanałów Haversa. Ostatni etap stanowi uwapnienie wytworzonej tkanki – czyli kalcyfikacja (15, 112).

3. Resorpcja zębodołu po ekstrakcji zęba

Atrofia kości wyrostka zębodołowego po ekstrakcji zęba jest dobrze znanym zjawiskiem (2, 31, 37, 63, 105, 107). Gojenie zębodołu po ekstrakcji przebiega spontanicznie wraz z utratą wysokości brzegów wyrostka zębodołowego. Większość procesu resorpcji i odbudowy kości ma miejsce w ciągu pierwszych 3 miesięcy od ekstrakcji. Proces remodelingu kości, włączając przegrodę międzykorzeniową zębodołów zębów wielokorzeniowych, odbywa się między 6 a 12 miesiącem od ekstrakcji. Badania Larsa wsp. ujawniają 50% utratę szerokości kości wyrostka zębodołowego po 12 miesiącach od ekstrakcji (99). Jednak 65% resorpcji objętości kości ma miejsce w pierwszych 3 miesiącach po zabiegu (38). W przypadku ekstrakcji mnogich uzyskano większy ubytek kości na szerokość niż na wysokość. Utrata kości brzegów zębodołu ma miejsce głównie w ciągu pierwszych 3 miesięcy po ekstrakcji, a reorganizacja blaszki zbitej trwa przez cały okres gojenia. Poziom kości w zębodole powstały w procesie gojenia nigdy nie osiąga wartości powierzchni mezialnej i dystalnej zębodołu (99). Szubert, badając zanik kości w zuchwie po ekstrakcji zęba, na wysokości 3 mm od brzegu zębodołu zanotował resorpcję rzędu 25,9% po 3 miesiącach, 43,5 % po 6 miesiącach i 48,2% po 12 miesiącach. W szczęce wartości kształtowały się na poziomie 17,8% po 3 miesiącach od ekstrakcji zęba, 21,2% po 6 miesiącach i 28,6% po roku (107). Aimetti i wsp. po 3 miesiącach od ekstrakcji wykazali redukcję szerokości wyrostka zębodołowego o $3,2 \text{ mm} \pm 1,8 \text{ mm}$, i wysokości o $10,0 \text{ mm} \pm 2,3 \text{ mm}$ (2). Araujo i Lindhe, obserwując gojenie zębodołów po ekstrakcjach u psów w okresie 8 tygodni po zabiegu, zauważyli, że redukcja wysokości brzegu wyrostka zębodołowego jest bardziej zaznaczona po stronie policzkowej niż językowej (4). Cardapollini i wsp. w swych badaniach porównali gojenie ubytku kostnego w wyrostku zębodołowym psów bez, oraz z zastosowaniem augmentacji. W ubytkach gojących się spontanicznie centralna i przyszczytowa część wypełniona była w 61% szpikiem kostnym, a tylko w 39% zmineralizowaną kością. W ubytkach wypełnionych substytutem kości szpik kostny stanowił 38%, a kość zmineralizowana 62%. W obu przypadkach ubytki zamknięte były mostem tkanki twardej, w którym widoczne było wklęsłe zagłębienie wymiarach ok. 0,8 mm w przypadku spontanicznie gojącego się ubytku oraz 0,6 mm w przypadku ubytku po augmentacji (17).

4. Sterowana regeneracja kości i jej zastosowanie w stomatologii

Sterowana regeneracja tkanek (GTR), a w szczególności kości (GBR) przy zastosowaniu membran zaporowych oraz materiałów kościozastępczych stanowi bazę dla nowoczesnych rozwiązań uzupełnień braków podłoża kostnego (109). Regeneracja kości w stomatologii staje się standardem mającym zapewnić optymalne warunki funkcjonalne oraz estetyczne rehabilitacji narządu żucia.

Pierwszy raz metodę sterowanej regeneracji tkanek opisali Nyman i Karring, próbując zregenerować zniszczone procesem chorobowym tkanki przyzębia (12, 61). Dało to początek badaniom nad możliwościami kontrolowanego procesu odbudowy tkanek przyzębia, w tym kości z wykorzystaniem materiałów syntetycznych.

Sterowana regeneracja kości (GBR) polega na zastosowaniu odpowiednich procedur z użyciem materiałów kościozastępczych oraz membran. Wymienione biomateriały, działając osteoindukcyjnie lub/i osteokondukcyjnie oraz uniemożliwiając wnikanie komórek nabłonkowych do ubytku, stymulują tym samym odbudowę tkanki kostnej (109).

Prawidłową regenerację tkanki kostnej warunkują trzy składowe tzw. triady Lyncha. Pierwszą składową stanowi nośnik, którym może być materiał kostny pochodzenia własnego lub obcego, jak również materiał syntetyczny. Drugą – cząsteczki sygnałowe procesu gojenia: białka morfogenetyczne kości – BMPs, adhezyny, hormony, witaminy oraz czynniki wzrostu. Trzecim elementem triady Lyncha są komórki macierzyste, komórki częściowo zdeterminowane, np. preosteoblasty, fibroblasty, chondroblasty oraz komórki zróżnicowane takie jak fibrocyty i osteocyty, stanowiące komórki osteogenne (20, 40, 121).

5. Wskazania do zastosowania przeszczepów kostnych w stomatologii

Materiały kościozastępcze znajdują obecnie bardzo szerokie zastosowanie w wypełnianiu ubytków kostnych różnej etiologii, w leczeniu implantologicznym, w zabiegach podnoszenia dna zatoki szczękowej, w chirurgii przedprotetycznej i periodontologii (63).

Kamińska i Krukowska w swej pracy przedstawiły wyniki wypełniania ubytków poresekcyjnych materiałem kościozastępczym uzyskując dzięki tej metodzie poprawę utrzymania zęba w zębodole (41). Dominiak i Łysiak sugerują, że zastosowanie w ubytkach poresekcyjnych materiału kościozastępczego z wykorzystaniem dwuwarstwowego ułożenia błon resorbowalnych, tj. od strony błony śluzowej podniebienia i przedsionka jamy ustnej, redukuje ryzyko niecałkowitej regeneracji kości z wytworzeniem centralnej blizny

łącnotkankowej (23). Autorki również zaobserwowały, bazując na obserwacjach własnych, zwiększoną skuteczność regeneracji ubytków pocystektomijnych przy jednoczesnym zastosowaniu augmentacji biomateriałem (23). Zmniejszenie szerokości i wysokości wyrostka zębodołowego, utratę tkanek miękkich oraz pozabiegowe recesje zębów sąsiednich zaobserwowano również po zabiegach chirurgicznego usuwania kłów. Te niekorzystne zmiany również wymagają zabiegów rekonstrukcyjnych z użyciem sterowanej regeneracji tkanek. Dominiak i wsp. potwierdziły zasadność oraz uzyskały zadowalające wyniki terapeutyczne i estetyczne stosując natychmiastową i odroczoną sterowaną regenerację kości po chirurgicznym usunięciu zatrzymanych kłów (22). W innych badaniach, wspomniane autorki, wypełniając ubytki poekstrakcyjne trójfosforanem wapnia oraz stosując nieresorbowalną teflonową błonę, oceniały gęstość kości, uzyskując wartości zbliżone do gęstości kości w warunkach fizjologicznych (24). Materiały kościozastępcze znalazły również zastosowanie w zabiegach podnoszenia dna zatoki szczękowej (sinuslift) jednocześnie z instalacją implantów. Ze względu na pneumatyzację tego regionu szczęki oraz resorpcję kości po utracie zębów w okolicy zatoki szczękowej, zabiegi implantacji są niemożliwe lub bardzo utrudnione. Zorzano i wsp. dzięki zabiegowi podniesienia dna zatoki szczękowej z użyciem materiału β - tcp oraz kości własnej uzyskał zadowalające podłoże kostne oraz właściwą osteointegrację wszczepianych implantów (124). Na uwagę również zasługuje zastosowanie bioabsorbowalnego analogu korzenia w celu zamknięcia połączenia ustno – zatokowego (113).

GTR odgrywa ogromną rolę w zabiegach periodontologicznych, gdzie głównym celem tej metody jest odtworzenie wszystkich tkanek podporowych zęba i przywrócenie im maksymalnie prawidłowej funkcji. Do odbudowy pionowych ubytków kostnych z powodzeniem stosuje się kość pochodzenia zwierzęcego, trójfosforan wapnia czy białka matrycy szklanej (EMD) (21, 69, 115). Badania Wenz w leczeniu ubytków śródkostnych przyzębia przy użyciu materiału kościozastępczego wraz z membraną zaporową wykazują, iż użycie GTR gwarantuje dwukrotnie wyższe prawdopodobieństwo uzyskania powodzenia terapeutycznego niż w przypadku zastosowania samej chirurgii płatowej (117). Porowata struktura materiałów kościozastępczych z powodzeniem może być stosowana jako nośnik leku. Połączenie materiału alloplastycznego z antybiotykiem w zębodole stanowi skuteczną profilaktykę zakażeń, zmniejsza ryzyko bólu i szczękoscisku pozabiegowego i jednocześnie zapobiega zanikowi wyrostka zębodołowego (118).

W badaniach Kozakiewicza i wsp. zostały zastosowane nakładkowe przeszczepy kości własnej z bródki, w celu poprawy warunków rehabilitacji protetycznej, przy znacznych

zanikach kości wyrostków zębodołowych w szczęce i zuchwie. Autorzy zanotowali wysoki odsetek powodzenia tego typu procedury. Oceniając gęstość optyczną, Kozakiewicz i wsp. zaobserwowali iż struktura utkania kości przeszczepu w ciągu pierwszych 3 miesięcy od zabiegu podlega przewadze procesów demineralizacji, w 4 – 6 miesiącu dominuje proces remineralizacji, następnie dochodzi do osiągnięcia równowagi pomiędzy opisywanymi zjawiskami. Po upływie roku, w okresie remodelingu, następuje dalszy wzrost gęstości przeszczepionej kości (50, 51).

Materiały kościozastępcze stosowane są w postępowaniu profilaktycznym, stwarzają korzystne warunki do implantacji lub innego rodzaju uzupełnienia protetycznego. Do metod tych zaliczana jest technika opisywana jako zachowanie (ang. preservation) wyrostka zębodołowego lub zębodołu. Postępowanie profilaktyczne pozwala uniknąć późniejszych rekonstrukcji podłoża protetycznego, które są zwykle obarczone większym ryzykiem niepowodzenia. Dlatego coraz powszechniej i z pozytywnym rezultatem stosuje się metody GBR bezpośrednio po ekstrakcji zębów, co potwierdzają liczne doniesienia (10, 13, 31, 37).

Sterowana regeneracja kości stanowi istotną część postępowania chirurgicznego przygotowującego wyrostek zębodołowy do instalacji implantów, ponieważ to właśnie ubytki podłoża kostnego są głównym wskazaniem do zastosowania materiałów kościozastępczych w profilaktyce implantologicznej. W sytuacji kiedy zęby mają zostać zastąpione wszczepami tytanowymi istnieje wiele czynników wpływających na wybór optymalnego czasu implantacji. Do czynników tych należą: lokalizacja zęba w jamie ustnej, anatomia kości, tkanek miękkich oraz zmiany adaptacyjne wyrostka zębodołowego następujące po ekstrakcji zęba. Ze względu na różnice czasowe między momentem ekstrakcji zęba a implantacją wszczepu została stworzona klasyfikacja implantacji zawierająca opis tkanek miękkich i twardych:

1. Typ 1 – implantacja wszczepu odbywa się natychmiast po ekstrakcji zęba, obie procedury wykonywane są w ramach jednego zabiegu chirurgicznego.
2. Typ 2 – implantacja wszczepu ma miejsce 4 – 8 tygodni po ekstrakcji zęba, zębodół jest całkowicie pokryty tkankami miękkimi.
3. Typ 3 – implantacja wszczepu ma miejsce w ciągu 12 -16 tygodni po ekstrakcji zęba, zębodół jest już wypełniony znaczącą ilością kości splotowatej, a dojrzała tkanka miękka ułatwia wytworzenie prawidłowego płata śluzówkowo – okostnowego.

4. Typ 4 – implantacja wszczepu odbywa się w miejscu wygojonego zębodołu (najwcześniej po 16 tygodniach od ekstrakcji zęba).

Typ 3 i 4 postępowania chirurgicznego w opisanej wyżej klasyfikacji, ze względu na niemożliwą do przewidzenia ilość zastanej kości, często wymaga dodatkowego zastosowania procedur sterowanej regeneracji kości z wykorzystaniem materiałów kościozastępczych (61).

6. Definicja biomateriałów

Zgodnie z ustaleniami Konferencji Biomateriałów z 1982 roku (A Consensus Development Conference on the Clinical Applications of Biomaterials. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) przyjęto definicję: „Biomateriał to każda substancja albo kombinacja substancji, syntetycznych lub naturalnych, inna niż lek, która może być użyta w dowolnym okresie, a której zadaniem jest uzupełnienie lub zastąpienie tkanek narządu albo jego części lub spełnianie jego funkcji” (92, 107).

Materiały stosowane jako wszczepy powinny charakteryzować się określonymi cechami takimi jak:

- brak toksyczności,
- brak aktywności immunologicznej,
- czystość chemiczna,
- biogodność,
- stabilność fizyczna,
- odpowiednie parametry mechaniczne,
- możliwość sterylizacji (92).

Idealny materiał kościozastępczy wykazuje zdolności osteokondukcyjne i osteoindukcyjne, ulega resorpcji oraz zastąpieniu przez prawidłową kość (34, 81, 87).

7. Podział materiałów kościozastępczych

Najczęściej stosowanym materiałem kościozastępczym, spełniającym wiele kryteriów dla tego typu biomateriałów jest kość autogenna, która dzięki swoim właściwościom nazwana została „złotym standardem” (63, 90, 120). Jako jedyny materiał przeszczepowy ma

właściwości osteoindukcyjne. Autoprzeszczep pobierany jest zazwyczaj jednocześnie u tego samego pacjenta, u którego jest wykonywany zabieg sterowanej regeneracji kości. Materiał można pobierać z okolicy bródki, guza szczęki, okolicy zatrzonowcowej jak i z talerza biodrowego, i implantować w postaci kości gąbczastej lub/i zbitej, koagulatu kostnego czy mieszanki kostnej (ang. bone blend) (37, 82, 87, 120). Przeszczep autogenny całkowicie eliminuje ryzyko odrzucenia przeszczepu .

Istnieją jednak pewne ograniczenia takie jak: niedostateczna ilość kości potrzebnej do uzupełnienia ubytku, a także powikłania pooperacyjne w miejscu pobrania – ból, krwiak, infekcja, zaburzenia czucia (34, 63, 90, 97) .

Innym rodzajem materiałów stosowanych do uzupełniania ubytków kostnych są alloprzeszczepy. Alloprzeszczep pochodzi od dawcy tego samego gatunku, ale różnego genetycznie (82). W związku z tym, nie można wykluczyć możliwości odrzucenia przeszczepu jak i przeniesienia zakażeń, mimo iż materiał rutynowo jest poddawany testom na wykrycie HIV, WZW i innych czynników zakaźnych (63). Najczęściej stosowaną formą jest kość mrożona i liofilizowana (FDBA) oraz kość odwapniona, mrożona i liofilizowana (DFDBA). Przykładem takiego produktu jest RegenerOss Allograft Putty (Biomet/3i, Palm Beach Garden, FL). Właściwości osteoindukcyjne alloprzeszczepów są poddawane w wątpliwość, co prawdopodobnie jest związane ze zróżnicowaną procedurą ich przygotowania w banku tkanek; sposobem sterylizacji, wielkością cząsteczek a także z wiekiem dawcy (63, 120).

Alternatywną formą przeszczepu stał się ksenoprzeszczep, nazywany również heteroprzeszczepem. Jest to materiał odzwierzęcy, przez co należy rozumieć, że jest pobierany od dawcy innego gatunku, genetycznie różnego (82). W przypadku zastosowania tego rodzaju materiałów nie można wykluczyć ich immunogenności. Materiały ksenogenne można podzielić na te pochodzące od kręgowców jak i od bezkręgowców (92). Przykładem materiału pochodzącego od kręgowców jest Dexabone (aap. Biomateriale GmbH & Co. K, Germany) czy Bio – Oss (GestlichPharma Biomateriale, Wolhusen, Switzerland). Wymienione preparaty stanowią odbiałczoną kość wołową o właściwościach osteokondukcyjnych. Są integrowane i wchłaniane podczas naturalnego procesu przebudowy kości z udziałem osteoklastów i osteoblastów. Bio – Oss jest produkowany w 3 formach: Bio – Oss Corticalis, preparat kości kortykałnej, Bio – Oss Spongiosa, jako granulaty kości gąbczastej oraz Bio – Oss Collagen z kolagenem pochodzenia świńskiego. Badania kliniczne z zastosowaniem materiału Bio – Oss wykazują zadawalające rezultaty w leczeniu ubytków śródkostnych (69). Materiały pochodzące od bezkręgowców są wytwarzane z naturalnego

koralu. Przykładem są: Frios Algipore (Densply Friadent), Biocoral (Biocoral Inc.) czy Pro Osteon (Biomet). Koral nie stwarza możliwości zakażenia wirusami ani prionami (92).

Materiały syntetyczne, alloplastyczne są dostępne w wymaganej ilości, nie wywołują ryzyka przeniesienia zakażeń wirusami ani prionami, wykazują właściwości osteokondukcyjne. Należą do nich materiały z grupy bioceramiki hydroksyapatytowej (HA Biocer, NanoBone), trójfosforany wapnia (TCP Septodont, Cerasorb) i biologicznie aktywne szkła (Biogran, Perioglass) (92). Najczęściej stosowanymi materiałami syntetycznymi są preparaty fosforanu wapnia. Le Geros podzieliła je na 4 grupy:

1. hydroksyapatyty (HA) – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ – ,
2. fosforany trójwapniowe – $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ – ,
3. dwufazowe fosforany wapnia; preparaty złożone z β – tcp i HA,
4. niesiekane fosforany wapnia (60).

8. Mechanizm oddziaływania autogennych przeszczepów kości

Przeszczepy autogenne, jako jedyne wykazują właściwości osteoindukcyjne, co oznacza zdolność syntezy protein matrycy kostnej pod wpływem białek morfogenetycznych kości.

Białka morfogenetyczne są wydzielane pod wpływem cytokin uwalnianych z osteoblastów, fibroblastów czy makrofagów. Cytokiny indukują również neoangiogenezę i przekształcenie komórek mezenchymatycznych w komórki tworzące kość i chrząstkę (68, 82, 92, 116, 120).

Pozostałe materiały kościozastępcze (za wyjątkiem niektórych materiałów allogenicznych) charakteryzują się wyłącznie potencjałem osteokondukcyjnym, oznacza to, że stanowią mechaniczną podporę dla wnikających komórek i naczyń krwionośnych (82, 92)

9. Charakterystyka β - trójfosforanu wapnia

β - trójfosforan wapnia należy do grupy materiałów fosforano – wapniowych, jest wysoce biokompatybilnym i resorbowalnym materiałem kościozastępczym o działaniu osteokondukcyjnym (97). Składem chemicznym, własnościami fizycznymi, porowatością i uwapnieniem przypomina ludzką kość (26, 36, 57). Podczas resorpcji materiału, produkty degradacji (jony wapnia i fosforu) są naturalnie metabolizowane i nie powodują podwyższonego poziomu wyżej wymienionych pierwiastków w osoczu i w moczu (7). Bioresorpcja fosforanów wapnia zależy w głównej mierze od odpowiedniego zestawienia określonych parametrów fizycznych i chemicznych. Należą do nich: geometria porów,

topografia i połączenia porów (3). Mikro i makropory znacząco zwiększają powierzchnię materiału, umożliwiając nasiąkanie osoczem, płynami tkankowymi oraz adhezję białek gospodarza odpowiedzialnych za resorpcję materiału, czynników wzrostu umożliwiających osteogenezę w macierzy oraz osteoblastów i fibroblastów, dzięki którym powstają centryczne źródła osteogenezy. Makropory umożliwiają wrastanie naczyń krwionośnych zaopatrujących włókniste i komórkowe elementy nowo powstałej kości w substancje odżywcze (81). W testach *in vivo* potwierdzono, że β - tcp odznacza się wysoką stabilnością chemiczną, o czym świadczą niewielkie, bliskie poziomowi fizjologicznemu, wahania pH (123). Materiał ten jest produkowany w różnych formach; porowatych bloczkach, granulach i proszku (74). W literaturze przedstawiono wiele wyników badań dotyczących skuteczności augmentacji z użyciem monofazy β - tcp (31, 76, 80, 90, 101, 112) a także w połączeniu z innymi biomateriałami:

1. z kolagenem (13, 74, 97, 111),
2. ze szpikiem kostnym oraz ze szpikiem i hydroksyapatytem (6, 86),
3. z mezenchymalnymi komórkami macierzystymi z krwi pępowinowej (39),
4. z przeszczepem allogennym (36),
5. z tytanem (72, 78),
6. z alginatem (73),
7. z lekiem – antybiotykiem (118).

9.1 Otrzymywanie β – tcp

β - tcp o wzorze chemicznym β $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ otrzymuje się w wyniku spiekania stechiometrycznego hydroksyapatytu w odpowiednim zakresie temperatur i przy zachowaniu określonej kinetyki i procesu obróbki cieplnej (123).

Innym sposobem jest użycie reagentów w postaci CaCO_3 oraz bezwodnego Ca_2PO_4 . Reagenty zostają zmieszane w stosunku molowym 1:2 a następnie suszone w temp. $80^0 - 100^0$ C. W ten sposób uzyskuje się odwapniony syntetyczny hydroksyapatyt, który zostaje poddany kalcyfikacji w określonym zakresie temp. $750^0 - 900^0$ C. Z tak powstałego hydroksyapatytu w temp. ok. 1050^0 C w procesie spiekania powstaje β - tcp (34, 36, 110, 112).

9.2 Bioresorpcja β – tcp

Bioresorpcja materiału β – tcp następuje poprzez chemiczne rozpuszczenie w płynach biologicznych oraz poprzez degradację komórkową. Rozpuszczenie chemiczne jest indukowane przez komórki mezenchymalne, biorące również udział w rozkładzie komórkowym. Możliwość degradacji β – tcp mają również osteoblasty, fibroblasty, osteoklasty oraz monocyty i makrofagi (90). W dostępnym piśmiennictwie znaleźć można zgodne informacje, iż inkorporacja materiału β – tcp stopnia I następuje po 6 – 10 tygodniach, a stopnia III po 6 – 18 miesiącach od augmentacji (81, 97).

9.3 Analiza histologiczna i histomorfometryczna β – tcp.

W ocenie histologicznej ubytków kostnych augmentowanych materiałem β – tcp już po 3 do 5 dniach można zaobserwować nieznaczne ilości kości splotowatej i włóknika wokół granulek materiału. Po 7 dniach kość splotowata widoczna jest w bocznych i centralnej części ubytku, a nowo powstała kość zdeponowana na granulach β – tcp zasiedlona jest przez komórki prekursorowe osteoblastów. Dochodzi do proliferacji komórek mezenchymalnych i formowania się wysepek osteoidu połączonych ze sobą mostami. Po 14 dniach zwiększa się znacznie ilość kości splotowatej wokół granulek β – tcp i materiał stopniowo zostaje zastąpiony przez nowo powstałą kość. Po 30 dniach 70% ubytku jest już zajęte przez zmineralizowaną kość, pozostałe 30 % stanowi jeszcze β – tcp. Potwierdzają to wyniki badań histomorfometrycznych, z których wynika, iż średni udział tkanki kostnej do tkanek otaczających wynosił 66 – 68 % (107). Ilość granulek zmniejsza się stopniowo w czasie, w zależności od wielkości cząsteczek. Pozostałe cząsteczki są fagocytowane przez komórki prekursorowe osteoklastów (78, 81, 101, 112). W przypadku zastosowania β – tcp wraz z kolagenem – kolagen ulega degradacji po 4 tygodniach (74). Również w 4 tygodniu dochodzi do zaniku, obecnego początkowo w każdym augmentowanym ubytku kostnym, słabego nacieku neutrofilów, a po 8 tygodniach znikają limfocyty (111). W badaniach histomorfometrycznych Sandora i wsp. preparat, po 9 miesiącach wgajania materiału β – tcp z kolagenem, zawierał: w 62,6% zmineralizowaną nową kość, w 21,1% szpik kostny i w 16,3% pozostałości cząsteczek β - tcp (13)

9.4 Immunomodulujący wpływ β - tcp

W ostatnich latach badania skupiają się na próbie odpowiedzi czy materiał kośćcozastępczy β - tcp może mieć działanie prozapalne i osteoklastogeniczne. Lange i wsp. dowiedli w badaniach in vitro, że β - tcp wpływa na aktywność TNF - α , IL - 1 β IL - 8. Cząsteczki materiału β - tcp mają jednak nieznaczny wpływ na produkcję czynnika GM - CSF i nie wpływają na aktywację białka RANKL. Związanie ligandu RANKL ze swoim fizjologicznym receptorem RANK, znajdującym się w błonie komórkowej osteoklastów i ich komórek prekursorowych, prowadzi do nasilenia ich różnicowania i aktywacji dojrzałych osteoklastów odpowiedzialnych za proces resorpcji. Opisane właściwości β - tcp stoją w opozycji do materiału HA, który z kolei znacząco pobudza różnicowanie komórek dendrytycznych i osteoklastogenezę poprzez aktywację RANKL. Wyniki tych badań mogą mieć znaczący wpływ na wybór materiału kośćcozastępczego w określonych warunkach klinicznych (33, 57). W dostępnej literaturze nie znaleziono doniesień na temat zmian stężeń białek ostrej fazy w osoczu po wszczepianiu w kość materiału kośćcozastępczego R. T. R.

10. Przebieg procesu zapalnego w ustroju

Infekcja bakteryjna lub działanie szkodliwych bodźców mechanicznych, chemicznych czy fizycznych wywołuje w organizmie reakcję obronną w postaci stanu zapalnego. Czynniki uszkodzające powodują uwolnienie histaminy i serotoniny z komórek tucznych, trombocytów i granulocytów zasadochłonnych, przyczyniających się do zaburzeń przepuszczalności naczyń krwionośnych. Dochodzi również do zmian średnicy naczyń oraz do zmian przepływu krwi i do leukocytozy (55). Leukocyty, makrofagi i inne komórki gromadzące się w miejscu uszkodzenia są źródłem enzymów hydrolitycznych, wolnych rodników, jonów nadtlenkowych, prostaglandyn i innych mediatorów (46). Kliniknym objawem zapalenia są: obrzęk, zaczerwienienie, podwyższona temperatura, ból oraz zaburzenie funkcji.

Zmiany w termoregulacji są skutkiem wydzielania endogennych pirogenów (45, 48, 55). Zachodzi wiele zmian w układzie endokrynnym; dochodzi do wzrostu wydzielania wielu hormonów takich jak: glukagon, insulina, ACTH, kortyzol, hormony nadnerczy, hormon wzrostu, tyroksyna, aldosteron i wazopresyna (55). Zwiększa się katabolizm białek i dochodzi do zwiększenia uwalniania aminokwasów z mięśni. Wzrasta pobór aminokwasów przez wątrobę. Tym zjawiskom towarzyszy ujemny bilans azotowy. Dochodzi również do zmian w poziomie trójglicerydów, wolnych kwasów tłuszczowych, ciał ketonowych oraz do zwiększenia glukoneogenezy. W osoczu zwiększa się poziom żelaza i cynku (45, 47, 55).

Na skutek infekcji, zranienia lub martwicy tkanek dochodzi do miejscowego uwolnienia hydrolaz lizosomalnych, których funkcją jest eliminacja martwiczych złogów. Proces ten jest wspomagany przez makrofagi i leukocyty wielojądrzaste uwalniające katepsyny i proteiny: kolagenazę i elastazę. Jednak niekontrolowane i nadmierne działanie proteinaz może doprowadzić do wtórnych uszkodzeń tkanek. Również krwawienie, wytworzenie i rozpuszczenie skrzepu należy do reakcji obronnej organizmu. Uraz, martwica czy nadkażenie aktywują również układ immunologiczny. Zanim jednak nastąpi wytworzenie swoistych przeciwciał, pierwszą linię obrony stanowią białka ostrej fazy (bof) (46) .

11. Reakcja ostrej fazy

Odpowiedzią organizmu na uraz, infekcję lub innego typu uszkodzenie tkanek np. uraz operacyjny, jest reakcja zapalna, początkowo ograniczająca się do zmian miejscowych, z czasem obejmuje również szereg zmian ogólnych.

Reakcja ostrej fazy jest elementem odporności nieswoistej i obejmuje najwcześniej zachodzące zmiany w odpowiedzi na uszkodzenie tkanek, w której pod wpływem IL-6 (grupa cytokin określona zbiorczo mianem cytokin grupy interleukiny 6), indukowanej przez IL – 1 oraz TNF – α następuje wzrost we krwi stężeń białek specyficznych zwanych białkami ostrej fazy, których główną rolą jest zachowanie homeostazy (32, 54).

Białka ostrej fazy są niespecyficznym, laboratoryjnym wykładnikiem istnienia i aktywności procesu zapalnego, dlatego pomiar ich stężeń może dostarczyć istotnych informacji o kondycji organizmu (103).

Funkcją biologiczną białek jest ograniczenie reakcji zapalnej, uczestniczenie w procesach naprawczych, wywieranie modulującego (zwykle hamującego) wpływu na limfocyty T oraz ograniczenie utraty cennych składników (np. żelaza) (103).

Białka ostrej fazy jako markery diagnostyczne znalazły szerokie zastosowanie w ocenie stanu ogólnego oraz w monitorowaniu chorych (102). Oznaczenie ich stężeń pozwala na ocenę rozwoju i aktywności zapaleń oraz ich różnicowanie, monitorowanie i prognozowanie przebiegu choroby, a także na kontrolowanie odpowiedzi organizmu na podjęte leczenie (88).

Stosowane jest zarówno w leczeniu szpitalnym jak i lecznictwie otwartym (79, 88, 102).

Głównym miejscem syntezy białek ostrej fazy (bof) jest wątroba. Ponadto niektóre z nich, w nieznacznej ilości, mogą być produkowane przez monocyty, limfocyty oraz komórki nabłonka (119).

11.1 Podział białek ostrej fazy

W literaturze znajduje się wiele podziałów bof, jednym z nich jest podział na białka pozytywne, których stężenie w osoczu wzrasta o min. 25% oraz negatywne, których stężenie na skutek zadziałania czynnika uszkodzającego się obniża (45). Kushner podzielił białka pod względem różnic we wzroście stężenia na:

1. Białka, których stężenie wzrasta o ok. 50%:

- ceruloplazmina (Cp),
- C3.

2. Białka, których stężenie wzrasta 2 – 4 razy:

- α 1 – kwaśna glikoproteina (AGP),
- α 1 – antytyrypsyna (AT),
- α 1 – antychymotrypsyna (ACT),

- fibrynogen,
- haptoglobina (Hp).

3. Białka, których stężenie wzrasta ok. 1000 razy:

- białko C – reaktywne (CRP),
- SAA (55).

Istnieje również podział związany z szybkością narastania zmian stężeń. Wyróżnia się białka pierwszego rzutu, których stężenie wzrasta od 6 – 8 godzin od momentu zadziałania szkodliwego bodźca oraz białka drugiego rzutu, których stężenie wzrasta w przedziale od 24 – 48 godzin. Stężenie białek pierwszego rzutu osiąga wartości maksymalne po 24 – 48 godzinach, a po wyeliminowaniu czynnika uszkodzającego powrót do wartości normalnych następuje po 4 – 5 dniach. Należą do nich: CRP, SAA, ACT. Najwyższy poziom stężenia białek drugiego rzutu występuje po 72 – 96 godzinach. Wartości prawidłowe zostają osiągnięte najwcześniej po 10 dniach od eliminacji negatywnych bodźców, a pełna normalizacja stężeń może trwać nawet kilka tygodni (47, 55).

11.2 Funkcje białek ostrej fazy i przydatność kliniczna pomiarów ich stężeń

Białko C - reaktywne (CRP)

Stężenie CRP w osoczu u osób zdrowych nie powinno przekraczać 5 mg/l (8). Białko C – reaktywne cechuje się właściwościami chemotaktycznymi dla granulocytów i monocytów oraz opsonizacyjnymi, wzmagając fagocytozę, resorpcję i regenerację uszkodzonych tkanek dzięki właściwościom wiązania polisacharydów ścian bakteryjnych. Moduluje również odpowiedź immunologiczną poprzez aktywację kaskady dopełniacza oraz makrofagów (46, 48). Precypituje wielocukry C dwoinki zapalenia płuc (30, 32, 103, 114).

Kindmark badając stężenie CRP u zdrowych osobników uzyskał stężenia od 0.02 do 13.5 mg/l. Szczegółowe dane przedstawia tabela I. Znamienne jest, iż w każdej badanej grupie wiekowej, wartości stężeń CRP są szerokie (44).

Tabela I. Stężenia CRP u osób zdrowych w badaniu Kindmarka.

Grupa wiekowa	Liczba osób w grupie	Średnia wartość CRP w mg/ml
Noworodki	23	0,1
Noworodki, 1 doba życia	31	0,32
Noworodki, 1 tydzień życia	21	0,16
Noworodki, 1 miesiąc życia	18	0,15
Dzieci w wieku szkolnym	30	0,17
Mężczyźni	59	0,55
Kobiety niebędące w ciąży	86	0,42
Dorośli (kobiety i mężczyźni)	145	0,47
Matki bezpośrednio po porodzie	23	4,4

(44)

Wzrost stężenia białka C – reaktywnego jest ściśle związany z obecnością infekcji, stąd jako parametry nieswoiste, ale wysoce czułe, są niezwykle użyteczne w diagnostyce laboratoryjnej. Potwierdzają to liczne doniesienia, w których dowodzi się przydatności oznaczeń bof w diagnozowaniu zakażeń bakteryjnych i wirusowych (8, 49, 64, 79, 93). Zwiększone stężenie CRP wskazujące na zakażenie, wraz z określonym obrazem klinicznym, pozwala na podjęcie decyzji terapeutycznej związanej ze stosowaniem antybiotyków. W związku z narastającą lekoopornością bakterii na antybiotyki, badania potwierdzające czynnik infekcyjny wydają się racjonalnym rozwiązaniem (28, 58, 79).

α 1 – antytrypsyna (AT)

α 1 – antytrypsyna odpowiada za 70% aktywności proteolitycznej w ludzkiej surowicy. Hamuje działanie min. elastazy oraz neutrofilii (48). Wykazuje właściwości hamujące apoptozę. AT wpływa również na komórki linii komórkowych wywodzących się z hepatocytów, zwiększając syntezę ferrytyny (103). W warunkach klinicznych oznaczenie stężenia AT znalazło zastosowanie jako czynnik prognostyczny u chorych na raka

gruczołowego płuc. Kasprzyk i wsp. wykazali znamienne wyższe stężenie tego białka w osoczu chorych na raka gruczołowego w porównaniu z innymi typami histologicznymi (42).

α 2 – makroglobulina (L2M)

α 2 – makroglobulina jest białkiem o dużej masie cząsteczkowej (725,000). Wykazuje szerokie spektrum działania, dezaktywuje prawie wszystkie enzymy proteolityczne (serynowe, cysteinowe i metaloproteinazy) obecne w surowicy. Jej rola związana jest również z kontrolą aktywności cytokin i metabolizmu lipidów. Może spełniać rolę przenośnika Zn o Cd we krwi (46). Istotnie wyższe stężenie α 2 – makroglobuliny odnotowano w przebiegu ciąży (119), w zespole metabolicznym (9), oraz w przebiegu raka gruczołowego (42).

Transferyna (Tf)

Białko to ma zdolność wiązania dwóch jonów żelaza trójwartościowego (32). Główną funkcją transferyny jest transport żelaza z komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego wątroby do komórek układu krwiotwórczego i innych tkanek (46). U osób nadużywających alkohol wykazano wzrost stężenia ubogosjadowanych izoform transferyny przy jednoczesnym spadku stężenia całkowitego transferyny. Tego typu zmiany świadczą o zaburzeniach zarówno w syntezie glikoprotein w wątrobie jak i w ich glikozylacji (53).

Ceruloplazmina (Cp)

Ceruloplazmina jest białkiem posiadającym zdolność wiązania miedzi (Cu). Masa cząsteczkowa ceruloplazminy wynosi 132,000. Jedna cząsteczka wiąże od 6 do 8 atomów Cu. Główną rolą tego białka jest transport Cu z wątroby do enzymów tkankowych takich jak oksydaza cytochromowa. Pełni również rolę ferooksydazy, katalizując utlenianie Fe 2+ do Fe 3+ (46, 119). Wittmann i wsp. odnotowali, iż stężenie Cp w surowicy kobiet ciężarnych wzrastało od 10 tygodnia ciąży aż do porodu. Również profil glikozylacji Cp u ciężarnych różnił się od profilu kobiet zdrowych (119). Bogdański i wsp. wykazali istotny wzrost stężenia Cp w osoczu chorych na zespół metaboliczny mający znaczenie w patogenezie miażdżycy (9).

Haptoglobina (Hp)

Haptoglobina wiąże hemoglobinę w sposób nieodwracalny, pozwalając na zatrzymanie żelaza w organizmie oraz hamując wzrost bakterii (46). We wspomnianych wyżej badaniach

Kasprzyka i wsp. udowodniono wzrost stężenia haptoglobiny w surowicy pacjentów, u których stwierdzono przerzuty nowotworowe w regionalnych węzłach chłonnych (N1 lub N2). Autorzy zasugerowali, iż monitorowanie stężenia Hp mogłoby służyć jako czynnik prognostyczny przeżycia odległego jak i ryzyka nawrotu choroby nowotworowej po wcześniejszym leczeniu operacyjnym (42).

α 1 – kwaśna glikoproteina (AGP)

Białko to bierze udział w regeneracji gojących się tkanek i reorganizacji nowopowstających włókien kolagenu. Wykazuje również właściwości immunomodulujące w stosunku do limfocytów i komórek nabłonka oraz właściwości antyapoptotyczne. Chroni organizm przed wstrząsem wywołanym przez wzrastające stężenie TNF – α (103). Łobos i wsp. w badaniach własnych wykazali, iż oznaczenie stężenia AGP w surowicy może być przydatne w diagnostyce różnicowej limfocytarnego i ropnego zapalenia opon mózgowo – rdzeniowych (64).

α 1 – antychymotrypsyna (ACT)

Jest to białko o największym profilu działania antyproteolitycznego – hamuje aktywność kolagenazy, elastazy i katepsyny G (46, 48). Sobieska i wsp. badając stężenie α 1 – antychymotrypsyny u chorych po urazach wielonarządowych dowiedli, iż poziom tego białka był istotnie podwyższony, gdy zdiagnozowano izolowany uraz czaszkowo – mózgowy, albo ten typ urazu był dominującym elementem. Ponadto wykazano, iż wzrost stężenia ACT występował również w przypadkach niedotlenienia mózgu na tle niezwiązanym z urazem (103).

11.3 Glikozylacja białek ostrej fazy

Czynniki uszkodzające wywołują nie tylko zmiany w stężeniach bof. Obserwuje się również zmiany jakościowe. Manifestują się one zmianą proporcji istniejących wariantów oraz zmianą struktury heteroglikanów. Glikozylacja oraz synteza bof odbywa się w hepatocytach, ale zmiany glikozylacji i ekspresji genów bof są regulowane przez niezależne mechanizmy. Zmiany glikozylacji bof podlegają regulacji przez cytokiny, między innymi IF β 2 (IL – 6), stanowią również odrębny składnik szeroko pojętej odpowiedzi ostrej fazy (66, 67).

Białka ostrej fazy, z wyjątkiem CRP, SAA i albuminy są glikoproteinami zbudowanymi z łańcucha polipeptydowego oraz przyłączonych do niego bocznych łańcuchów cukrowych.

Łańcuchy cukrowcowe glikoprotein w ludzkiej surowicy połączone są z łańcuchem polipeptydowym trzema różnymi sposobami: wiązaniem N – glikozydowym N – acetyloglukozoaminy z asparaginą, O – glikozydowym N – acetyloglukozoaminy z seryną lub asparaginą oraz O – glikozydowym galaktozy z 5 – hydroksylizyną. Wszystkie glikoproteiny, które są syntetyzowane w wątrobie cechują się pierwszym typem wiązania: N – glikozydoaminowym (65, 66, 67, 103). Wymienione glikoproteiny zawierają wyłącznie łańcuchy cukrowcowe typu złożonego.

Początkowo do łańcucha białkowego przyłączony zostaje tzw. wyjściowy oligocukier (heteroglikan), zawierający identyczny rdzeń utworzony z dwóch reszt N – acetyloglukozoaminy i z trzech reszt mannozy. Do oligocukru dołączone są dwa, trzy lub cztery łańcuchy boczne, zwane antenami, odchodzące od α 1,3 i α 1,6 przyłączonych reszt mannozy. Anteny składają się głównie z N acetyloglukozoaminy, galaktozy i galaktozaminy. Mogą również zawierać fukozę i/lub kwas sjałowy. Biosynteza N – związanych heteroglikanów zachodzi kotranslacyjnie w części szorstkiej siateczki endoplazmatycznej, a dalszy proces modyfikacji reszt cukrowcowych zachodzi potranslacyjnie w części gładkiej siateczki endoplazmatycznej oraz w aparacie Goldiego. Charakterystyczną cechą glikoprotein surowicy ludzkiej, a tym samym bof, jest heterogeny charakter ich reszt cukrowcowych. Heterogenność ta nosi miano mikroheterogenności i występuje w dwóch formach: głównej i pobocznej. Mikroheterogenność główna opisuje zmiany struktur antenarnych, a poboczna zmiany ilościowe kwasu sjałowego (66, 67, 103). Glikoproteiny zawierające identyczne struktury łańcuchów bocznych nazywane są wariantami. W warunkach fizjologicznych proporcje wariantów są stałe (65).

W przebiegu ostrego stanu zapalnego obserwuje się wzrost liczby struktur dwuantenarnych, natomiast w przewlekłym stanie zapalnym wzrasta liczba struktur trzy – i czteroantenarnych (19).

Do oceny mikroheterogenności bof stosuje się technikę immunoelektroforezy powinowactwa z użyciem lektyn, w szczególności konkanawaliny A (9, 19, 65, 66, 67, 103). Konkanawalina A posiada zdolność wiązania niepodstawionych atomów węgla C3, C4, i C6 α – związanej 2 – O – mannozy, dzięki czemu wiąże się wyłącznie ze strukturami dwuantenarnymi. Natomiast konkanawalina A nie reaguje ze strukturami trzy – i czteroantenarnymi (66).

W celu oceny liczbowej profilu glikozylacji stosuje się tzw. współczynnik reaktywności (reactivity coefficient, RC) określonego białka z konkanawalina A, który opisuje proporcję wszystkich wariantów reagujących z konkanawalina A do wariantu niereagującego. Dla AGP

wartość współczynnika u osób zdrowych wynosi $AGP - RC = 1,2 - 1,5$. Dla ACT wartość ta wynosi $ACT - RC = 2,76 - 5,10$ (103).

11.4 Przydatność kliniczna oznaczania zmian jakościowych bof w różnych stanach chorobowych

Wg Mackiewicza, zmiany glikozylacji białek ostrej fazy są odrębnym składnikiem szeroko pojętej odpowiedzi ostrej fazy (66, 67). Zjawisko mikroheterogenności związane ze specyficzną budową reszt cukrowych, określanych mianem wariantów, pozwala odróżnić stany ostre od przewlekłych (19, 89, 103). Badanie to polega na określeniu ilości wariantów reagujących i niereagujących z konkanawaliną A i jest najlepiej poznane w przypadku białka AGP i ACT. Ostry profil glikozylacji w przypadku bof pozytywnych wiąże się z ich zwiększonym stężeniem, a przewlekły obraz glikozylacji można stwierdzić zarówno przy podwyższonym jak i obniżonym stężeniu danego białka (103).

U pacjentów chorujących na cukrzycę typu II zaobserwowano wzrost poziomów wariantów niereaktywnych AGP i ACT, co wskazuje, że toczący się w ich organizmach proces ma cechy przewlekłej reakcji zapalnej (89, 103). Podobne wnioski uzyskano badając mikroheterogenność AGP u chorujących na reumatoidalne zapalenie stawów, gdzie reaktywność białka z Con A jest mocno obniżona, a wzrost aktywności choroby pogłębia ten stan. W zeszywniającym zapaleniu stawów kręgosłupa zaobserwowano identyczne, choć nie tak głęboko zaznaczone zmiany, potwierdzające przewlekły proces zapalny. Również w chorobie Still'a profile glikozylacji AGP i ACT są zmienione w kierunku obniżenia reaktywności z lektyną. W toczniu układowym oraz w zapaleniu wielomięśniowym i skórnomięśniowym glikozylacja AGP i ACT jest niezmienną lub zmieniona w miernym stopniu (103). Przewagę występowania wariantów silnie reagujących obserwuje się w stanach zapalnych o ostrym przebiegu. Ten typ glikozylacji wykazano w przebiegu: astmy oskrzelowej (85), nadciśnienia tętniczego ze współistniejącą otyłością (19), depresji z długim wywiadem trwania choroby (103). Monitorowanie profilu glikozylacji znalazło również zastosowanie w przebiegu: zawału serca, rekonwalescencji po zabiegach operacyjnych, oparzeniach (65, 103). W urazach wielonarządowych profile glikozylacji AGP i ACT wykazują obraz typowy dla ostrego stanu zapalnego (103).

11.5 Przydatność kliniczna oceny stężeń białek ostrej fazy w przebiegu chorób i zabiegów stomatologicznych

W stomatologii przedmiotem badań jest najczęściej poziom białka C-reaktywnego, będący markerem toczących się stanów zapalnych.

Ren i wsp. zbadali poziom CRP w surowicy pacjentów cierpiących z powodu ropni zębopochodnych, ropni przyzębnych oraz powikłania po ekstrakcji – suchego zębodołu.

Stężenie CRP powyżej 5 mg/l zanotowano u 75% pacjentów. Skuteczne leczenie danej jednostki chorobowej powodowało obniżenie stężenia CRP do granic normy u 50% pacjentów po tygodniu od wdrożonego leczenia. Szczególnie wyraźne spadki poziomu CRP zaobserwowano u pacjentów leczonych z powodu ropni zębopochodnych (95).

Salzberg i wsp. przedstawili w swej publikacji rezultaty badań poziomów białka C – reaktywnego u pacjentów z agresywnym zapaleniem przyzębia. Potwierdzili tym samym hipotezę, iż agresywne zapalenie przyzębia wpływa znacząco na wzrost stężenia CRP we krwi obwodowej. Udowodnili również, że poziom stężenia CRP jest znacznie wyższy w uogólnionym agresywnym zapaleniu przyzębia niż w zlokalizowanej postaci choroby (98).

Podwyższone stężenie białka CRP zanotowali również Adinolfi i Lehner u chorych z zespołem Behçet'a oraz aftowym owrzodzeniem jamy ustnej (1).

Proctor i wsp. w swych badaniach wykazali, że poziom CRP w zdrowej miazdze zęba różni się znacząco od poziomu CRP w miazdze zmienionej zapalnie. Jednak stan zapalny miazgi zęba nie jest wystarczającym bodźcem, aby wywołać uogólnioną odpowiedź zapalną w organizmie, co znajduje potwierdzenie w obserwacji, iż poziom CRP w surowicy krwi nie ma związku z poziomem CRP w miazdze zęba (91).

Kuras dowiódł, że jedynie białko CRP i transferyna mogą służyć do oceny przebiegu stanu zapalnego po zabiegach chirurgicznych w jamie ustnej. Współczynnik reaktywności AGP – RC sprawdził się w ocenie stanu zapalnego u operowanych z powodu utrudnionego wyrzynania zatrzymanego trzeciego zęba trzonowego. Wyniki badań wykazały, iż mimo braku objawów klinicznych zapalenia, zmiany stężeń bof i profilu glikozylacji wskazują na jego występowanie. Również zakres zabiegów chirurgicznych w jamie ustnej wpływał na zmiany bof. Statystycznie istotny wzrost stężenia bof wystąpił po zabiegu operacyjnego usunięcia zatrzymanego trzeciego zęba trzonowego z żuchwie oraz po zabiegu wszczepienia dwóch i więcej implantów (54).

Freitas w wsp. badając skuteczność przeciwzapalną naświetlania laserem rany pooperacyjnej po zabiegu operacyjnego usunięcia zatrzymanego zęba mądrości wykazał zredukowany

poziom stężenia CRP u naświetlanych pacjentów, co może wskazywać zmniejszenie pooperacyjnego stanu zapalnego (29).

Badanie poziomu CRP jest również niezwykle przydatne w ocenie stanu zapalnego rozwijającego się na skutek przebycia operacji w obrębie części twarzowej czaszki. Miyawaki i wsp. analizując poziomy CRP u pacjentów po przebyciu zabiegu operacyjnego dowiedli, że nie zależą one od długości trwania procedury. Zanotowali również wyraźny związek pomiędzy wzrostem poziomu CRP a odpowiedzią ze strony IL – 6 w ciągu 24 h od zabiegu (75).

11.6 Zmiany stężeń białek ostrej fazy po zabiegach wszczepiania biomateriałów

Zabieg wszczepienia stentów u pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową wiąże się ze znaczącym statystycznie wzrostem stężenia białka CRP w surowicy. Wyniki badań Kalisza i wsp. dowodzą, że wzrost stężenia CRP jest adekwatny do ilości naczyń wieńcowych zaopatrzonych w stenty jak i sumy długości wszystkich stentów (52). Podobne wyniki zostały uzyskane przez Almagor i wsp. (3).

Wszczepienie endoprotezy stawu biodrowego wywołuje przewlekły stan zapalny wyrażony zmianami w profilach glikozylacji białek ostrej fazy. Proces ten jest bardziej zaznaczony w przypadku stosowania endoprotez cementowych niż bezcementowych (70, 71). Fassbender i wsp. badając kinetykę zmian glikozylacji AGP po wszczępieniu endoprotezy stawu biodrowego dowiedli przydatności tej metody w wykryciu powikłań o charakterze zapalnym po zabiegu (27).

Wpływ biomateriałów na stężenie białek ostrej fazy wykazano również na modelach zwierzęcych. Dowiedziono, że zastosowanie biodegradowalnych polimerów w uzupełnieniu ubytków ścian przewodu pokarmowego indukuje zarówno lokalną jak i ogólną odpowiedź zapalną w organizmach zwierząt. Wykazano również specyfikę odpowiedzi tkankowej gospodarza w zależności od rodzaju wszczępionego materiału (62, 96).

W zabiegach wszczępienia implantów tytanowych w jamie ustnej, Kuras odnotował znaczący statystycznie wzrost stężeń bof oraz zmiany profilu glikozylacji AGP wskazujące na obecność ostrego stanu zapalnego występującego w przypadku umieszczenia w kości co najmniej dwóch implantów (54).

W dostępnym piśmiennictwie nie znalazłam doniesień na temat wpływu materiałów kościozastępczych na zmiany stężeń bof.

II. Cel pracy

Zapobieganie resorpcji wyrostka zębodołowego przy użyciu materiałów kośćozastępczych jest uznaną formą profilaktyki i leczenia. Nowoczesne technologie dostarczają lekarzom możliwości zastosowania syntetycznych biomateriałów, cechujących się coraz lepszymi właściwościami.

Niniejsza praca jest próbą:

1. Oceny przebiegu procesu gojenia zębodołu po implantacji materiału R. T. R.
2. Oceny zmiany stężeń białek ostrej fazy w osoczu pacjentów, u których wykonano zabieg augmentacji zębodołu po ekstrakcji zęba.

Oraz próbą odpowiedzi na pytanie:

3. Czy oznaczanie stężeń i profilu glikozylacji wybranych białek ostrej fazy może być pomocne w prognozowaniu wyniku leczenia z użyciem materiału R. T. R.

III. Materiał i metody

1. Dobór grup badawczych

Badaniami objęto 40 pacjentów: 23 kobiety i 17 mężczyzn w wieku od 22 do 56 roku życia, u których istniały wskazania do zabiegu usunięcia zęba. Średnia wieku wynosiła 32 lata. Do zabiegu augmentacji zakwalifikowani zostali pacjenci w stanie ogólnym dobrym, u których nie stwierdzono zarówno ogólnoustrojowych jak i miejscowych stanów zapalnych, nie przyjmujący żadnych leków.

Tabela II. Liczebność grup badanych z podziałem na wiek i płeć.

Rok ur. \ Płeć	1950-1959	1960-1969	1970-1979	1980-1989
Kobiety	4	5	5	9
Mężczyźni	0	1	10	6
Razem	4	6	15	15

Na badania uzyskana została zgoda Terenowej Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Pacjenci zostali poinformowani o korzyściach i ewentualnych powikłaniach pozabiegowych, wyrazili również pisemną zgodę na udział w badaniach z uwzględnieniem pobrania krwi.

Zabiegi pojedynczej ekstrakcji zęba oraz augmentacji zębodołu materiałem kośćozastępczym zostały wykonane w Katedrze i Klinice Chirurgii Stomatologicznej UM im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w latach 2008 – 2009. Do augmentacji użyto materiału kośćozastępczego R.T.R. firmy Septodont w postaci granulatu lub stożka. Materiał R.T.R. jest syntetycznym trójfosforanem wapnia ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$).

Granulat dostępny jest w strzykawce o objętości 0,8 cm³ i zawiera granulki o rozmiarach od 500 μm do 1000 μm. Rozmiary makroporów kształtują się pomiędzy 100 – 400 μm, a mikropory mają średnicę mniejszą niż 10 μm (fot.1).

Stożek składa się również z granulek trójfosforanu wapnia, które dodatkowo pokryte są macierzą wysokiej klasy czystości włókien kolagenowych pochodzenia wołowego (materiał ten spełnia wymagania WHO i Unii Europejskiej w zakresie zdrowia i bezpieczeństwa). Objętość stożka wynosi 0,3 cm³, średnica 6 mm, wysokość 10 mm (fot. 2, 3).

R.T.R. sterylizowany jest promieniami gamma w dawce minimalnej 25 kGy.



Fot. 1. Materiał R. T. R. w formie granulatu.



Fot. 2. Materiał kośćozastępczy R. T. R.

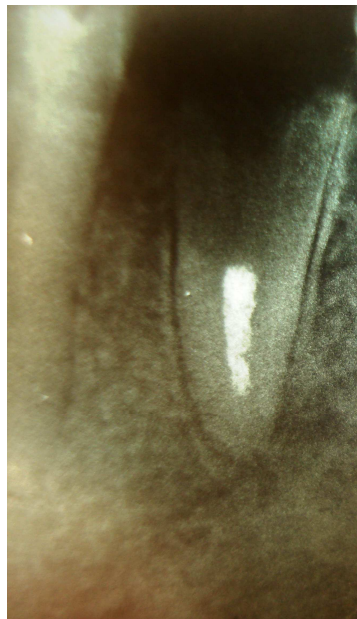


Fot. 3. Materiał R. T. R. w formie stożka.

2. Metody kliniczne

2.1 Wskazania do ekstrakcji

Najczęstszym wskazaniem do ekstrakcji był brak możliwości przeprowadzenia prawidłowego leczenia endodontycznego z powodu zakrzywienia korzeni, niedrożności kanałów czy złamania narzędzia endodontycznego w kanale (18 pacjentów). Kolejną przyczyną było złamanie korony zęba poniżej brzegu wyrostka zębodołowego uniemożliwiające zarówno leczenie zachowawcze jak i protetyczne (13 pacjentów). Przyczyną złamania było osłabienie tkanek twardych zęba pochodzenia próchnicowego lub uraz mechaniczny. U 4 pacjentów wskazaniem do ekstrakcji była próchnica korzenia, u 2 niekorzystne, skośne złamanie korzenia. U pozostałych 3 pacjentów wskazaniem do ekstrakcji była perforacja dna komory.



Fot. 4. Zdjęcie RTG zęba 35 zakwalifikowanego do ekstrakcji.



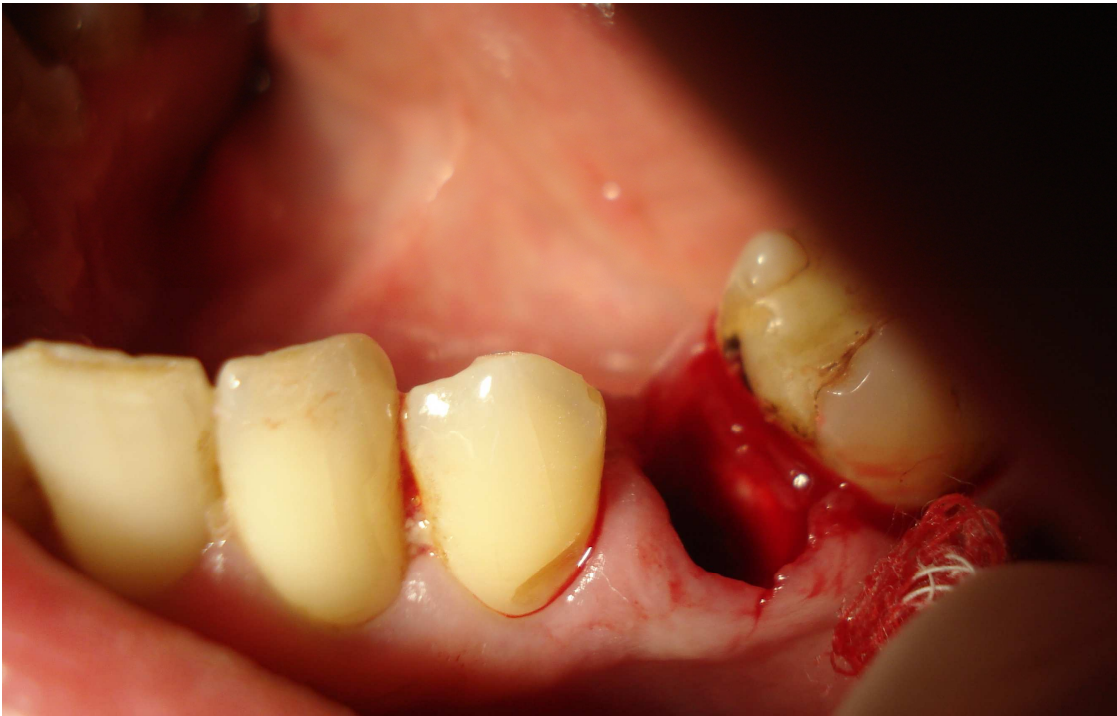
Fot. 5. Ząb 35 zakwalifikowany do ekstrakcji – jama ustna.

2.2 Metoda ekstrakcji

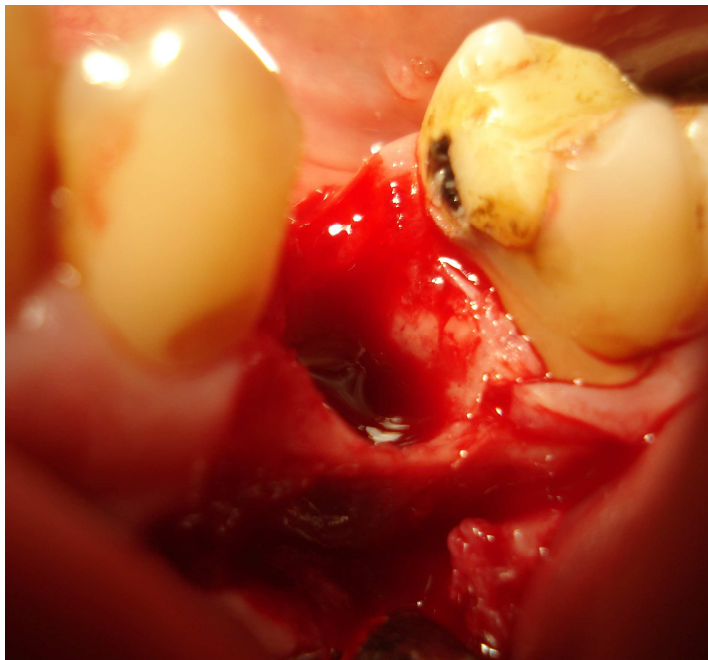
Ekstrakcja zęba została przeprowadzona w znieczuleniu nasiękowym bądź przewodowym. Jako środek znieczulający zastosowano 4% artykainę w ilości od 1,7 ml do 5,1 ml. Ekstrakcję wykonywano w sposób atraumatyczny ze szczególną ostrożnością w celu zachowania wszystkich 5 ścian zębodołu uzyskując tym samym ubytek modelowy (fot. 7). Następnie wykonywano cięcie trapezowe brzeżne tkanek miękkich w przedsionku jamy ustnej. Uzyskany w ten sposób płat śluzówkowo – okostnowy odpreparowywano od podłoża kostnego raspaturem Willigera oraz podcinano okostną w celu wydłużenia płata (fot. 8). Brzeg płata oraz dziąsło od strony podniebiennej odświeżano skośnie ścinając nabłonek. W przypadkach, w których stwierdzono obecność nierównych brzegów wyrostka zębodołowego, wyrównywany był on przy pomocy kleszczy Luera lub wiertła.



Fot. 6. Instrumentarium zastosowane podczas zabiegu ekstrakcji zęba i wszczepienia materiału kośćozastępczego.



Fot. 7. Zębodół po ekstrakcji zęba.



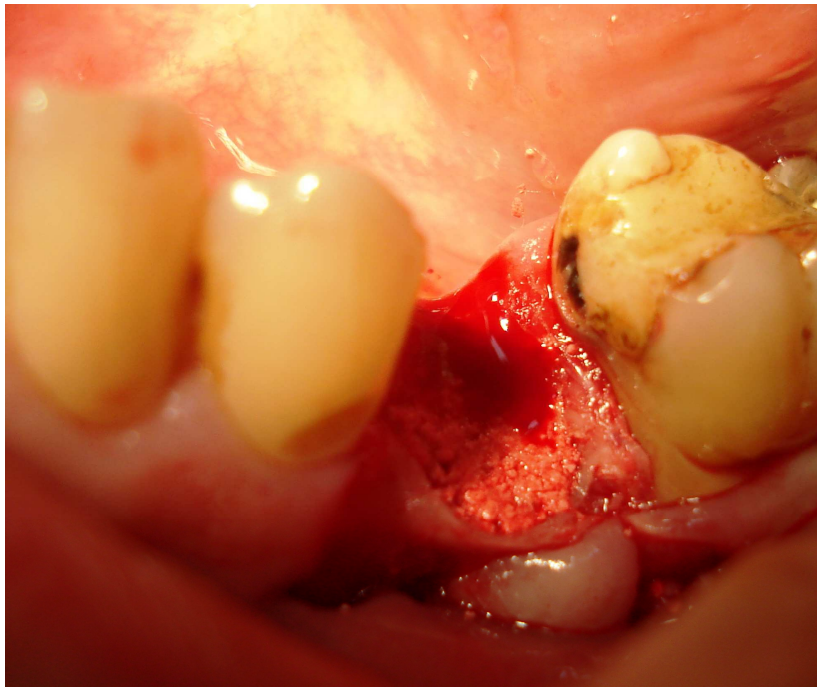
Fot. 8. Zębodół z zachowaniem wszystkich ścian kostnych i odreparowanym płatem śluzówkowo – okostnowym.

2.3 Aplikacja materiału R.T.R. do zębodołu

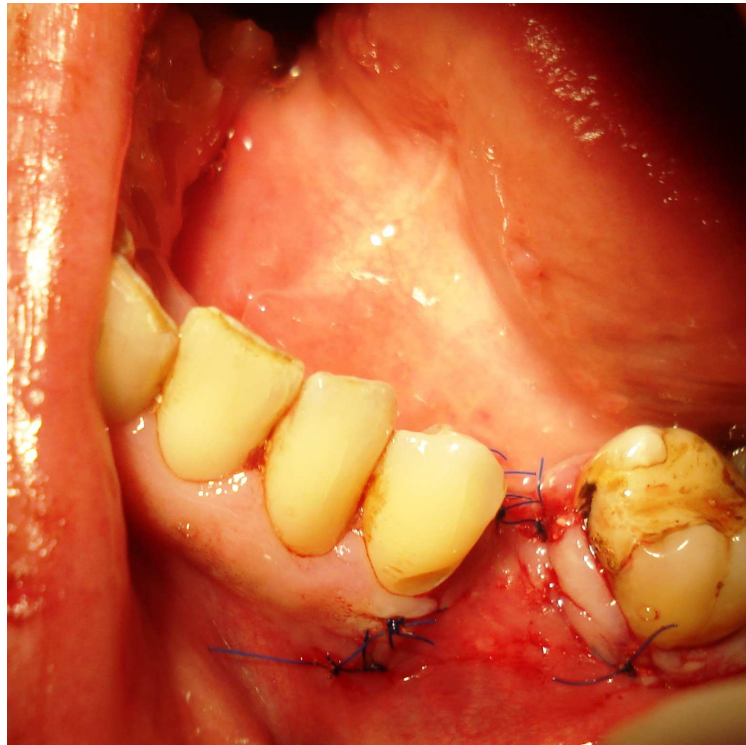
Do zębodołu zakładano materiał kośćcozastępczy R.T.R. w postaci granulek lub stożka uprzednio nasączając go krwią pacjenta. Wybór zastosowania danej formy preparatu R. T. R. w zależności od zębodołu był losowy. Zębodół wypełniano szczelnie materiałem, unikając kondensacji, wg zaleceń producenta (fot. 9). Ranę zamykano szczelnie szwami poliamidowymi 5 – 0, które usuwano po 7 dobach od zabiegu (fot. 10). Zabieg przeprowadzano w osłonie antybiotykowej stosując klindamycynę 600 mg w dawce 2 razy dziennie po 1 tabletkę. W celu uśmierzzenia bólu mogącego wystąpić po zabiegu pacjentom przepisywano ketoprofen 100 mg. Po zabiegu zalecono pacjentom stosowanie zimnych okładów oraz płukanie jamy ustnej 2% roztworem chlorhexydyny.

Badania kontrolne pooperacyjne połączone z pobraniem materiału do badań laboratoryjnych były wykonywane po 24 godzinach oraz 7 dobach po zabiegu.

Kolejne wizyty kontrolne przeprowadzono w 6 i 9 miesiącu po zabiegu i obejmowały wykonanie badania klinicznego oraz zębowego zdjęcia RTG.



Fot. 9. Materiał kośćcozastępczy R. T. R. umieszczony w zębodole.



Fot. 10. Szczelne zamknięcie rany po ekstrakcji zęba i augumentacji zębodołu.

3. Metody laboratoryjne

3.1 Pobieranie materiału do badań

Krew od pacjentów pobierana była trzykrotnie; bezpośrednio przed zabiegiem, 24 godziny po zabiegu oraz po 7 dniach od zabiegu. Każdorazowo pobierano ok. 3 ml krwi obwodowej z żyły odłokciowej. Materiał był przekazywany do Katedry Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (kierownik prof. dr hab. Krzysztof Wiktorowicz).

Próbki krwi zostały poddane odwirowaniu przez 10 min z prędkością 1500 obrotów na sekundę, a uzyskaną w ten sposób surowicę zamrażano w temperaturze -20 stopni Celsjusza. Po odmrożeniu badano stężenia następujących białek ostrej fazy: białka C – reaktywnego, α 1 – kwaśnej glikoproteiny, α 1 – antychymotrypsyny, α 2 – makroglobuliny, α 1 – antytrypsyny, transferyny, ceruloplazminy oraz haptoglobiny.

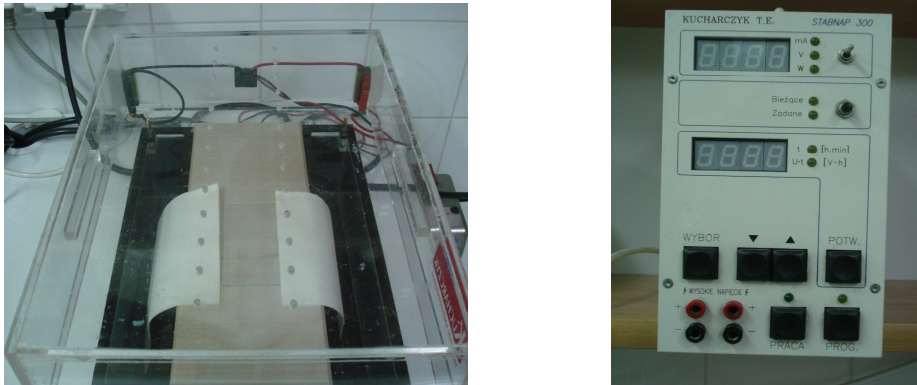
3.2 Technika ilościowego oznaczania wybranych białek ostrej fazy.

Immunoelktroforeza raketkowa wg Laurella

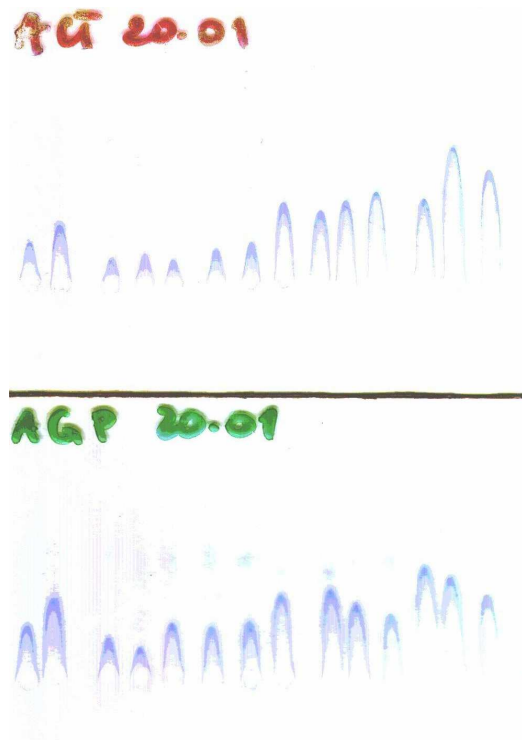
Pomiar ilościowy stężeń wybranych bof został oparty na metodzie immunoelktroforezy raketkowej wg Laurella (55).

Immunoelktroforeza raketkowa polega na ukierunkowanej wędrówce antygeny w nośniku elektroforetycznym – żelu agarozowym, zawierającym przeciwciała. Żel agarozowy ma postać przestrzennie usieciowanych struktur i jako porowaty nośnik przyczynia się do dodatkowego frakcjonowania makrocząsteczek. 1% agarosa, uprzednio wysycana króliczym przeciwciałem poliklonalnym przeciwko badanemu białku surowicy ludzkiej (firmy DakoCytomation, Dania) w ilości po 8,5 ml i temperaturze 56 stopni Celsjusza jest umieszczana na szklanych płytkach o wymiarach 6,5 na 9 cm. Po zastygnięciu żelu agarozowego wycina się w nim 14 studzienek. W dwóch pierwszych studzienkach umieszcza się po 3 μ l standardów w rozcieńczeniu 1:5 i 1:10. W pozostałych 12 studzienkach umieszcza się identyczną ilość badanych surowic w rozcieńczeniu 1:10. Elektroforeza rozwijana jest w polu elektrycznym o napięciu 1,5 V/cm i prowadzona jest przez 18 godzin. W polu elektrycznym antygen wędruje ze studzienek zlokalizowanych w pobliżu katody przez żel w kierunku anody. Wędrujący antygen, napotykając unieruchomione w żelu przeciwciała, tworzy precypitat o charakterystycznym kształcie raketki. Technika ta pozwala określić ilość

antygeny w próbce na podstawie porównania uzyskanego, obliczonego planimetrycznie, pola powierzchni rakiety do pola powierzchni rakiety wzorcowej. Czulość tej metody wynosi 0,1 – 1 mg/l (55, 94).



Fot. 11. Aparat do immunoelektroforezy z zasilaczem i woltomierzem.



Fot. 12. Obraz immunoelektroforezy rakiетkowej ACT oraz AGP.

3.3 Technika jakościowego oznaczania glikozylacji białek ostrej fazy.

Immunoelektroforeza krzyżowa powinowactwa wg Bøg-Hansena

Pomiar jakościowy białek AGP i ACT został oparty na metodzie immunoelektroforezy krzyżowej powinowactwa wg Bøg – Hansena (11).

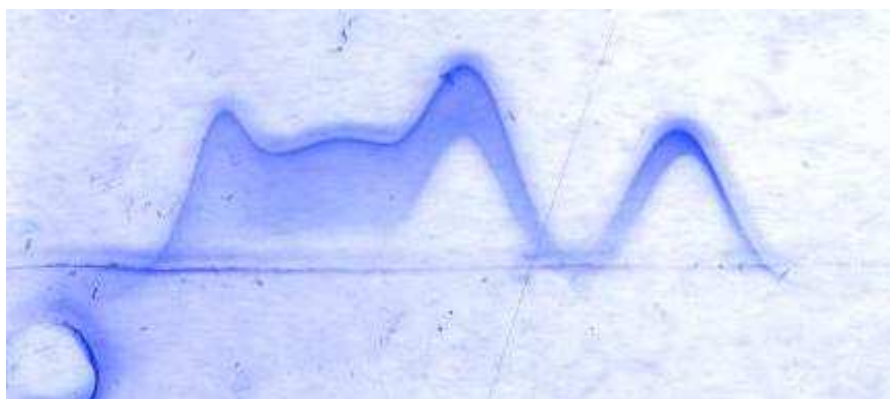
Metoda opiera się na wykorzystaniu zdolności antygenów (glikoprotein) do rozpoznawania i tworzenia nierozpuszczalnych kompleksów z lektynami, specyficznymi wobec określonej struktury cukrowej.

Pierwszy kierunek elektroforezy (ang. first dimension – 1D) przeprowadza się w 1% żelu agarozowym zawierającym lektynę. Lektyna jest to białko zdolne do rozpoznawania i tworzenia kompleksów ze specyficznymi strukturami cukrowymi. W tej metodzie stosuje się konkanawalinę A – lektynę występującą w nasionach kanawalii mleczokształtnej (*Canavalia ensiformis*), wykazującą znaczne powinowactwo do dwuantenarnych struktur N – glikanów glikoprotein zawierających 2 – O – podstawione reszty mannozy.

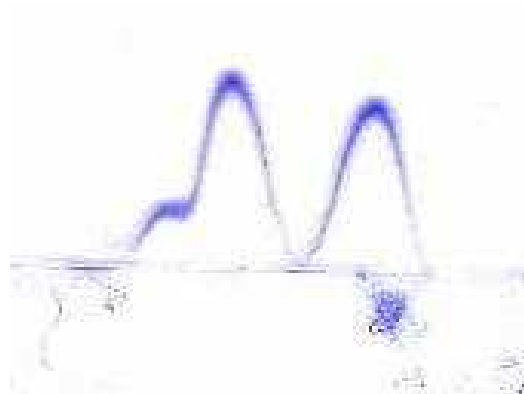
Konkanawalinę A (firma Sigma USA) w ilości 23 mg rozpuszcza się w 0,5 ml wody destylowanej, a następnie dodaje się 17,5 ml agarozy w temperaturze 56 stopni Celsjusza. Po zastygnięciu agarozy z konkanawaliną na szklanej płytce pierwszego kierunku, w żelu wycina się 13 studzienek. W pierwszej studzience znajduje się 3 μ l albuminy z barwnikiem BPB, w pozostałych 12 studzienkach umieszcza się po 10 μ l badanej surowicy w rozcieńczeniu 1:10. Pierwszy kierunek elektroforezy (1D) wykonywany jest w polu elektrycznym o natężeniu ok. 10 V/cm w czasie 50 min. Podczas elektroforezy 1D glikoproteiny wiążą się z różnym powinowactwem z konkanawaliną A w zależności od rodzaju eksponowanych struktur części cukrowych. Po zakończeniu elektroforezy 1D, żel agarozowy zostaje pocięty na paski wzdłuż drogi wędrówki antygeny. Na szklanych płytkach drugiego kierunku umieszcza się po 2 paski żelu i następnie płytki zalewa się 5,5 ml agarozy z dodatkiem odpowiedniego przeciwciała AGP (firmy DakoCytomation, Dania) w ilości 24 – 26 mg/l oraz α – metylomannozy – D – pyranozydu (firma Sigma, USA), inhibitora uwalniającego glikoproteinę od lektyny. Uwolnione w ten sposób glikoproteiny wykazują zdolność do wędrówki w żelu w elektroforezie drugiego kierunku (2D), którą prowadzi się przy natężeniu 1,5 V/cm przez 18 godzin. Kierunek elektroforezy 2D jest zawsze prostopadły względem elektroforezy 1D.

Po zakończeniu elektroforezy 2D płytki są płukane, suszone i barwione błękitem kumasyny (Commasie Brilliant Blue, Sigma, USA). Nadmiar barwnika jest wmywany, pozostaje tylko ten związany z białkami.

Pola powierzchni pod łukami precypitacyjnymi uzyskanych wariantów oblicza się planimetrycznie, a następnie przelicza się stężenia, odsetek i proporcje wariantów (11, 94).



Fot. 13. Prawidłowy obraz glikozylacji ACT.



Fot. 14. Prawidłowy obraz glikozylacji AGP.

4. Analiza statystyczna

Badanie polegało na określeniu poziomu stężeń wybranych białek ostrej fazy w trzech kolejnych pomiarach, wykonanych w jednakowych przedziałach czasowych. Określono również profile glikozylacji dla wybranych dwóch białek.

Wszystkie uzyskane wyniki stężeń bof opisano średnią, odchyleniem standardowym, wartością minimalną i maksymalną. Dla profilów glikozylacji AGP i ACT podano wartość mediany. Dla parametrów opisanych średnią sprawdzono ich zgodność z rozkładem normalnym za pomocą testu Shapiro – Wilka. Jednak dla większości parametrów nie stwierdzono zgodności z rozkładem normalnym i do porównań użyto testów nieparametrycznych. Porównania wartości stężeń bof mierzonych w trzech przedziałach czasowych, nieposiadających zgodności z rozkładem normalnym, wykonano za pomocą testu Friedmana z analizą kontrastów Dunna. Dla wartości parametrów, które posiadały rozkład zgodny z rozkładem normalnym, do porównań użyto testu ANOVA (dla pomiarów powtarzalnych). Wyznaczono również współczynnik korelacji rang Spearmana dla wybranych parametrów.

Obliczenia wykonano przy pomocy programu statystycznego Statistica pl. v 9.1 oraz programu InStat v 3.00 firmy Graphpad. Za wartość istotnie statystyczną przyjęto poziom istotności $p < 0,05$.

Obliczenia statystyczne wykonano w Zakładzie Bioinformatyki i Biologii Obliczeniowej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (kierownik prof. dr hab. Elżbieta Kaczmarek).

IV. Wyniki

1. Analiza wykonanych ekstrakcji ze względu na liczbę i rodzaj zębów

W badanej grupie pacjentów wykonano łącznie 40 ekstrakcji zębów, w tym 24 zęby szczęki i 16 zębów żuchwy. Z łuku zębowego szczęki usunięto 3 siekacze przyśrodkowe, 3 siekacze boczne, 1 kieł, 10 przedtrzonowców i 7 trzonowców. Z łuku zębowego żuchwy usunięto 5 przedtrzonowców i 11 trzonowców. Szczegółowe wyniki zawiera tabela nr III.

Tabela III. Liczba i lokalizacja usuniętych zębów w badanej grupie.

	1	3	1	0	0	1	1	2	2	1	3	6	2	1	*
szczeka	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	
żuchwa	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	**
	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	8	2	

* liczba usuniętych zębów

** numer zęba

Wykonanie ekstrakcji zęba z zachowaniem wszystkich ścian zębodołu wymagało odpowiednich kwalifikacji technicznych oraz precyzji. Aplikacja materiału kośćcozastępczego R. T. R. w formie stożka nie nastęczała jakichkolwiek trudności zarówno w żuchwie jak i szczęce. Granulat był umieszczany w zębodole bezpośrednio z jałowej strzykawki. Taka forma opakowania pozwalała na aspirację krwi z rany poekstrakcyjnej oraz na nasączenie nią materiału kośćcozastępczego. Podczas badań zanotowano możliwość utraty pewnej ilości granul podczas ich aplikacji w zębodołach szczęki.

Pacjenci zgłaszali się w wyznaczonych terminach w celu pobrania krwi oraz na wizyty kontrolne.

2. Przebieg gojenia rany po implantacji materiału R. T. R.

Gojenie ran pooperacyjnych miało prawidłowy przebieg. W ciągu 2 – 3 dni po implantacji materiału kośćcozastępczego R. T. R. zaobserwowano nieznaczny obrzęk okolicznych tkanek miękkich, proporcjonalny do zakresu ich preparowania. Na wizytach kontrolnych po upływie tygodnia od wykonania zabiegu nie stwierdzano zaczerwienienia, obrzęku tkanek miękkich oraz występowania bólu samoistnego.

Po 24 godzinach od zabiegu u 2 pacjentów stwierdzono rozejście się brzegów rany, u kolejnych 3 pacjentów podobne powikłanie zaobserwowano w 7 dobie po zabiegu. Na skutek rozejścia się brzegów rany u 3 pacjentów, którym wszczepiono materiał kośćcozastępczy w formie granulatu, stwierdzono wydzielenie się pojedynczych granulek preparatu. Leczenie polegało na przepłukaniu rany roztworem nadmanganianu potasu.

U pacjentów, u których zastosowano materiał kośćcozastępczy w formie stożka, nie stwierdzono sekwestracji materiału.

U 1 pacjenta w drugiej dobie po zabiegu wystąpiło powikłanie w postaci ropnia policzka, które zostało leczone według ogólnie przyjętych zasad poprzez nacięcie i sączkowanie.

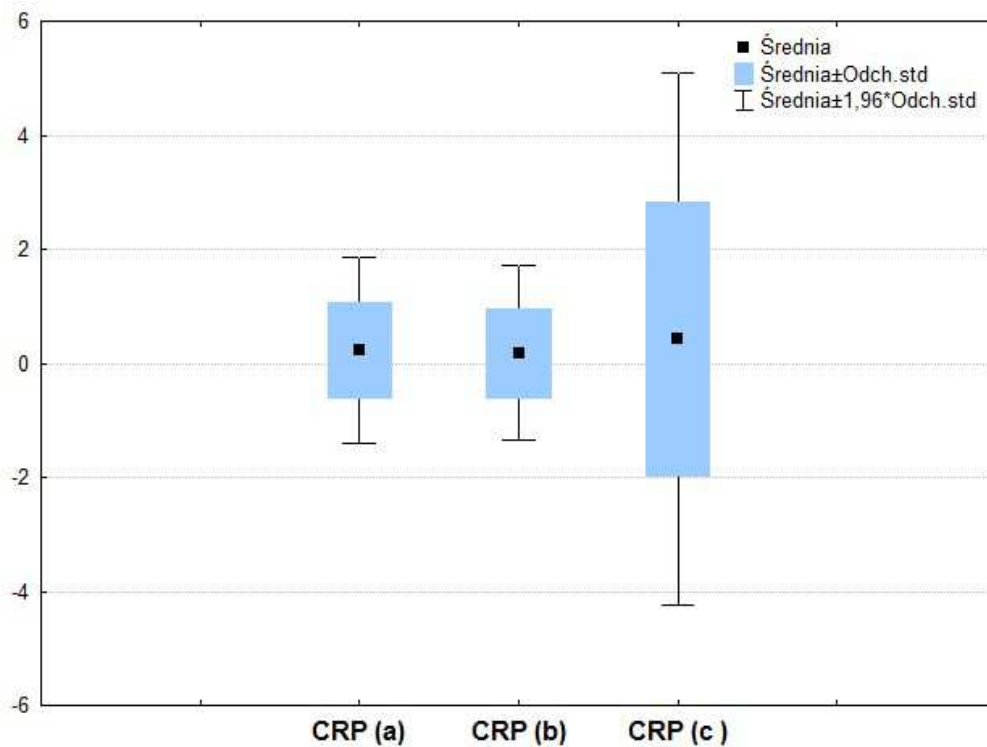
U kolejnej pacjentki stwierdzono zaburzenie czucia w obrębie wargi górnej. Regeneracja uszkodzonych zakończeń nerwów czuciowych wspomagana została naświetlaniami lampą Sollux z filtrem niebieskim oraz za pomocą zabiegów galwanizacji.

3. Zmiany poziomu stężeń i glikozylacji wybranych białek ostrej fazy

Analizie poddano wartości stężeń białek ostrej fazy oraz zmiany glikozylacji u 40 pacjentów, u których wykonano augmentację zębodołu materiałem kośćcozastępczym po ekstrakcji zęba. Do badań ilościowych wybrano następujące białka : CRP, Cp, Hp, AT, Tf, AGP, ACT oraz L2M. Analizę glikozylacji przeprowadzono dla dwóch białek: AGP i ACT. Zbadano stężenia poszczególnych wariantów tych białek oraz obliczono współczynnik reaktywności RC, który stanowi proporcję sumy wszystkich wariantów badanego białka reagujących z Con A do wariantu niereagującego. Określenie wartości ilościowych i jakościowych wykonywano przed zabiegiem, dobę po zabiegu oraz 1 tydzień po zabiegu. Istotą badania było porównanie otrzymanych wartości przed zabiegiem do wyników po pierwszej i siódmej dobie po zabiegu. Wyniki przedstawiono w formie opisowej oraz za pomocą tabel i wykresów.

3.1 Białko C – reaktywne (CRP)

Średnie stężenie białka C – reaktywnego przed wykonaniem zabiegu ekstrakcji zęba i augmentacji powstałego zębodołu materiałem kościozastępczym R. T. R. wyniosło $0,23 \text{ mg/l} \pm 0,83 \text{ mg/l}$. Dobę po zabiegu średnie stężenie CRP utrzymywało się na podobnym poziomie i wynosiło $0,18 \text{ mg/l} \pm 0,78 \text{ mg/l}$. Po upływie tygodnia od zabiegu średnie stężenie CRP wzrosło do wartości $0,43 \text{ mg/l} \pm 2,38 \text{ mg/l}$. Różnice stężeń uzyskanych w kolejnych pomiarach były statystycznie nieistotne i mieściły się w granicach normy. W trzecim pomiarze wykonanym tydzień po zabiegu zanotowano nieliczne wysokie wartości CRP przekraczające przyjętą normę.

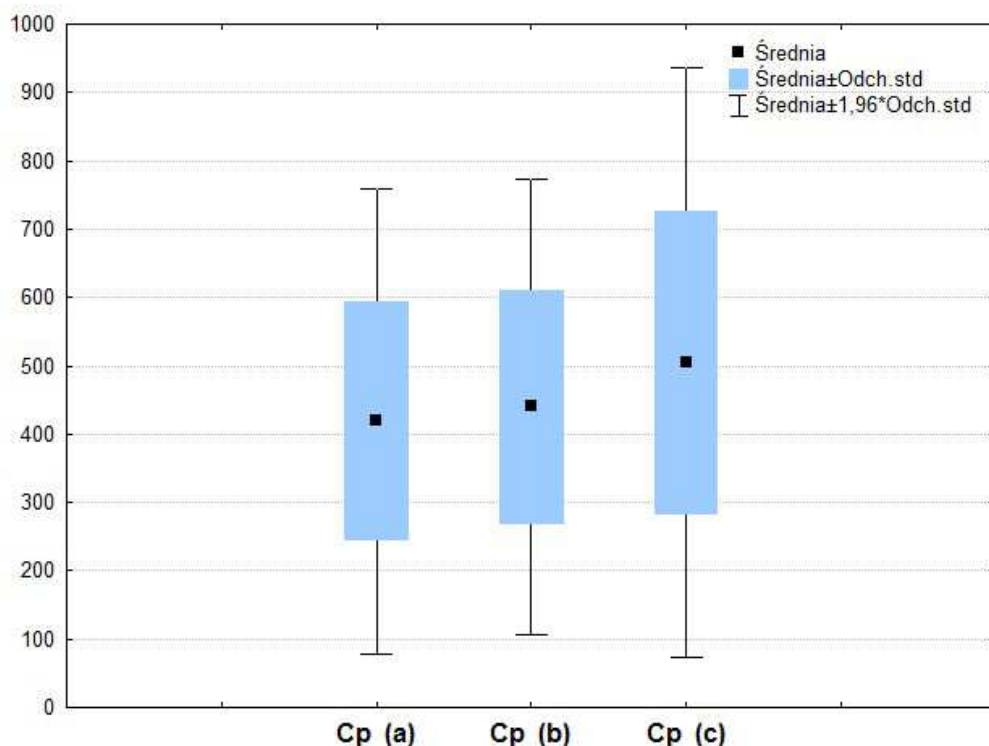


Ryc. 1. Stężenia CRP w trzech kolejnych pomiarach (a, b, c).

3.2 Ceruloplazmina (Cp)

U pacjentów przed ekstrakcją zęba oraz augmentacją zębodołu materiałem kośćozastępczym R. T. R. średnie stężenie ceruloplazminy w osoczu krwi mieściło się w normie (380 – 500 mg/l) i wynosiło $419 \text{ mg/l} \pm 177 \text{ mg/l}$. Po upływie 24 h średnie stężenie nieznacznie wzrosło do $440 \text{ mg/l} \pm 170 \text{ mg/l}$. Po tygodniu od zabiegu zaobserwowano dalszy wzrost wartości średniego stężenia, który wyniósł $505 \text{ mg/l} \pm 220 \text{ mg/l}$, nieznacznie przekraczając górną granicę normy.

Średnie stężenie ceruloplazminy osiągnięte w pierwszym i trzecim pomiarze wykonanym po tygodniu od zabiegu był istotny statystycznie ($p < 0,01$).

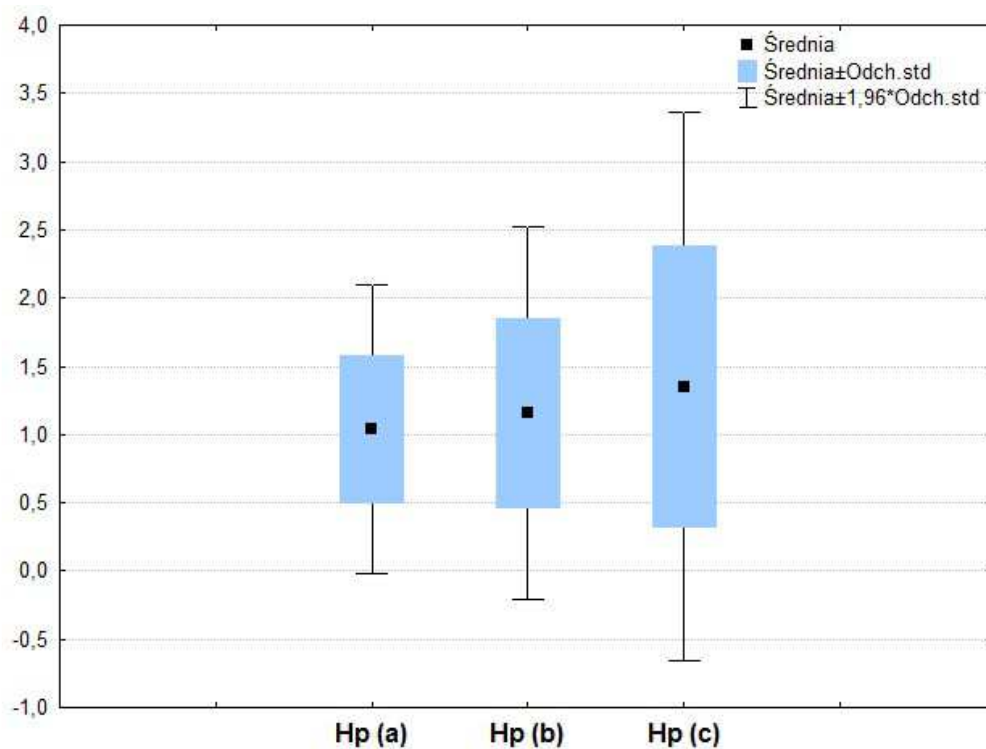


Ryc. 2. Stężenia Cp w trzech kolejnych pomiarach.

3.3 Haptoglobina (Hp)

Średnie stężenie haptoglobiny przed zabiegiem mieściło się w normie (0,6 – 3,5 g/l) i wynosiło $1,04 \text{ g/l} \pm 0,5 \text{ g/l}$. Dobę po zabiegu wynosiło $1,15 \text{ g/l} \pm 0,7 \text{ g/l}$. Tydzień po zabiegu jego wartość nadal wzrastała do poziomu $1,35 \text{ g/l} \pm 0,1 \text{ g/l}$. Wyniki drugiego i trzeciego pomiaru również mieściły się w normie.

Wzrost średniego stężenia haptoglobiny porównywany między pomiarem pierwszym i trzecim był statystycznie istotny ($p < 0,001$).

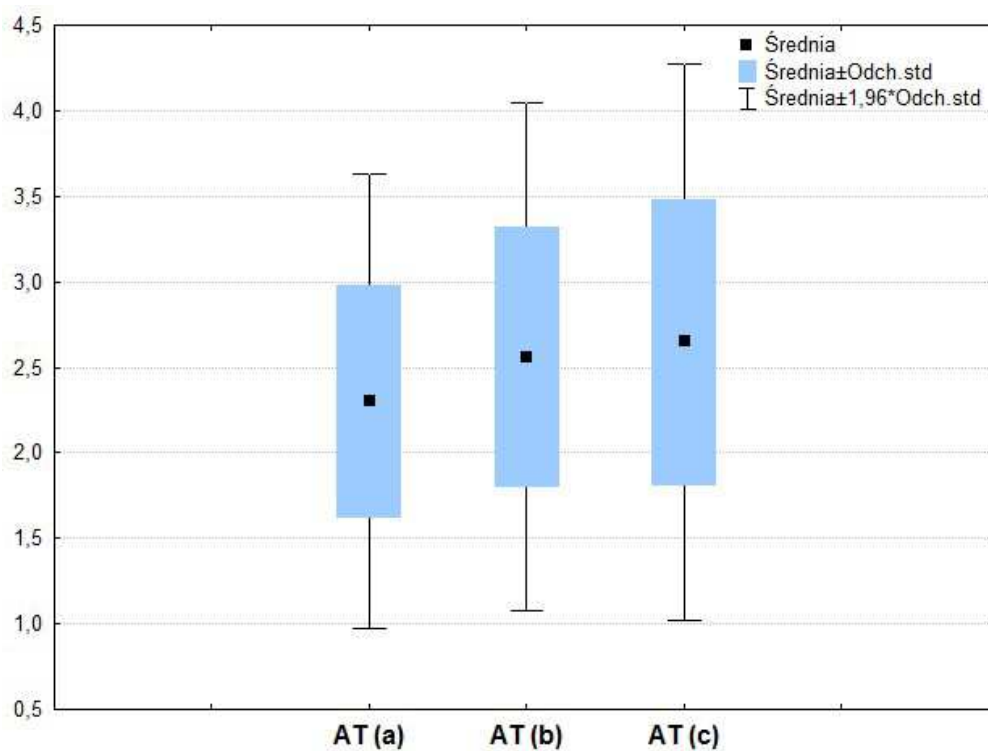


Ryc. 3. Stężenie Hp w trzech kolejnych pomiarach.

3.4 α 1 – antytypsyna (AT)

Średnie stężenie α 1 – antytypsyny przed zabiegiem mieściło się w normie (1,9 – 3,5 g/l) i wynosiło $2,30 \text{ g/l} \pm 0,7 \text{ g/l}$. Dobę po zabiegu stężenie nieznacznie wzrosło do $2,55 \text{ g/l} \pm 0,8 \text{ g/l}$. Tydzień po zabiegu średni poziom stężenia AT nadal utrzymywał tendencję wzrostową i wyniósł $2,64 \text{ g/l} \pm 0,8 \text{ g/l}$. Wyniki drugiego i trzeciego pomiaru również mieściły się w normie.

Różnica osiągniętych średnich wartości stężeń α 1 – antytypsyny w pierwszym i trzecim pomiarze była istotna statystycznie ($p < 0,01$).

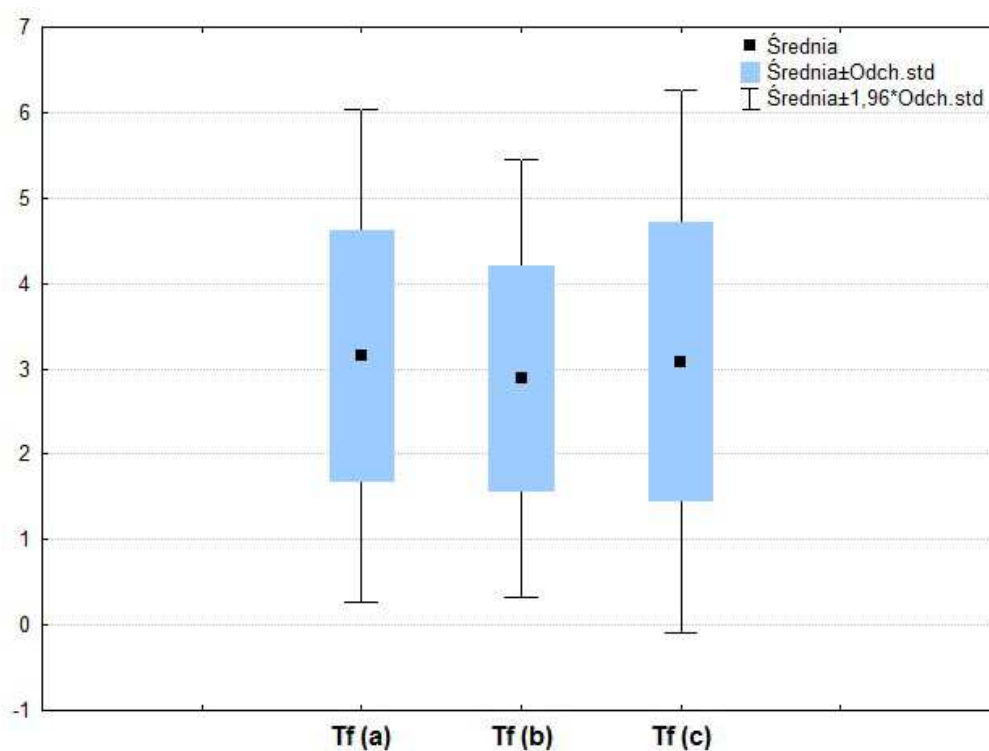


Ryc. 4. Stężenie AT w trzech kolejnych pomiarach.

3.5 Transferyna (Tf)

Średnie stężenie transferyny w surowicy badanych pacjentów przed zabiegiem mieściło się w normie (2,2 – 3,7 g/l) i wyniosło $3,15 \text{ g/l} \pm 0,14 \text{ g/l}$. Dobę po zabiegu średnie stężenie obniżyło się do wartości $2,88 \text{ g/l} \pm 0,13 \text{ g/l}$. Tydzień po zabiegu średnie stężenie wzrosło do poziomu $3,08 \text{ g/l} \pm 0,16 \text{ g/l}$. Średnie stężenie zarówno drugiego jak i trzeciego pomiaru mieściło się w normie.

Różnice w wartości średniego stężenia transferyny w trzech kolejnych pomiarach były nieistotne statystycznie.



Ryc. 5. Stężenie Tf w trzech kolejnych pomiarach.

3.6 α 1 – kwaśna glikoproteina (AGP)

Średnie stężenie α 1 – kwaśnej glikoproteiny przed zabiegiem wynosiło $919 \text{ mg/l} \pm 404 \text{ mg/l}$ i nieznacznie przekraczało normę ($700 - 900 \text{ mg/l}$). 24 godz. po zabiegu średnie stężenie wzrosło do wartości $976 \text{ mg/l} \pm 361 \text{ mg/l}$, nieznacznie przekraczając górną granicę normy. Tydzień po zabiegu średnie stężenie wzrastało dalej do wartości $1020 \text{ mg/l} \pm 386 \text{ mg/l}$, przekraczając górną granicę normy.

Wzrost stężenia AGP pomiędzy pierwszym a trzecim pomiarem był istotny statystycznie ($p < 0,05$).

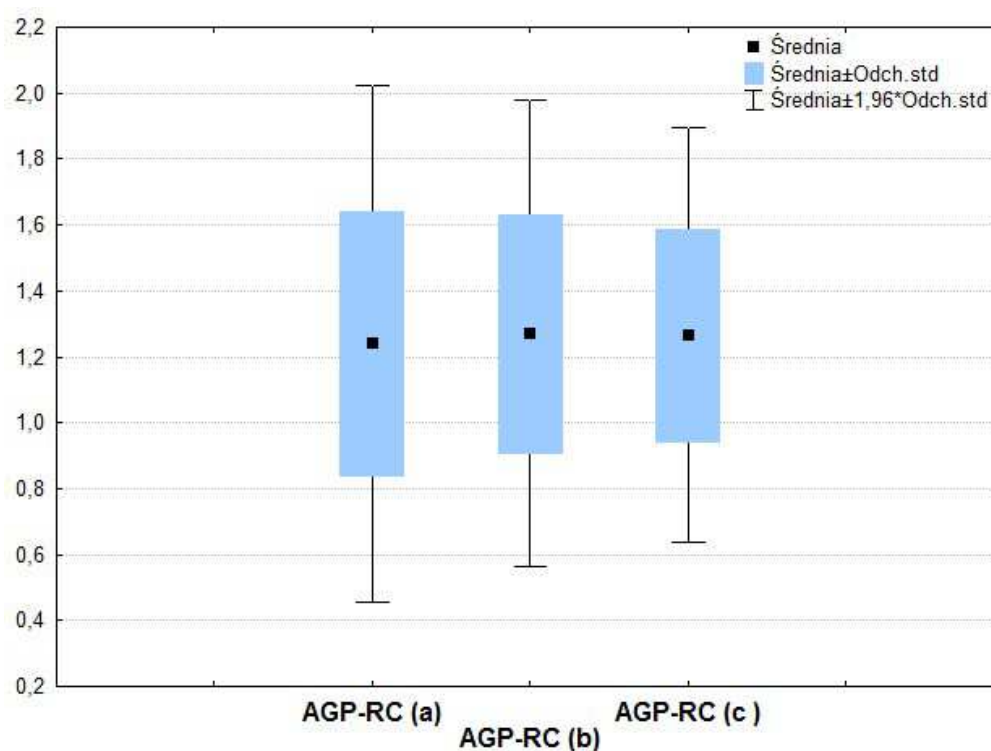
3.7 Współczynnik reaktywności AGP – RC

Średnia wartość współczynnika reaktywności AGP – RC w pierwszym dniu pomiaru, przed wykonaniem ekstrakcji zęba i augmentacji zębodołu, wynosiła $1,24 \pm 0,40$. Dobę po zabiegu średnia wartość AGP – RC nieznacznie wzrosła do poziomu $1,27 \pm 0,36$. Tydzień po wykonaniu zabiegu średnia wartość AGP – RC była równa wartości drugiego pomiaru i wynosiła $1,27 \pm 0,32$. Średnie wartości współczynnika reaktywności AGP – RC otrzymane w trzech kolejnych pomiarach mieściły się w normie wynoszącej $1,2 - 1,5$.

Różnice w wartościach średnich AGP – RC nie były istotne statystycznie.

Tabela IV. Wartości współczynnika AGP – RC w trzech kolejnych pomiarach.

	Statystyki opisowe					
	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch.std.
AGP-RC (a)	40	1,24	1,23	0,43	2,22	0,40
AGP-RC (b)	40	1,27	1,20	0,39	2,17	0,36
AGP-RC (c)	40	1,27	1,29	0,45	1,99	0,32



Ryc. 6. Współczynnik reaktywności AGP – RC w trzech kolejnych pomiarach.

3.8 Wariant W0 AGP

Średnie stężenie wariantu W0 dla $\alpha 1$ – kwaśnej glikoproteiny przed zabiegiem wynosiło 422 mg/l \pm 196 mg/l, co stanowiło 46% całkowitej ilości AGP. Prawidłowa wartość stężenia W0 dla AGP wynosi 301 – 387 mg/l, co stanowi 43% całkowitego stężenia AGP. Dobę po zabiegu stężenie wariantu W0 nieznacznie wzrosło się do wartości 441 mg/l \pm 181 mg/l (45%), a tydzień po zabiegu wynosiło 453 mg/l \pm 165 mg/l (45%). Zmiany wartości stężeń wariantu W0 między poszczególnymi pomiarami były statystycznie nieistotne.

3.9 Wariant W1 AGP

Średnie stężenie wariantu W1 AGP przed zabiegiem wynosiło 384 mg/l \pm 183 mg/l, co stanowiło 42% całkowitej ilości AGP. Prawidłowa wartość stężenia wariantu W1 dla AGP wynosi 313 – 405 mg/l, co stanowi 45% całkowitego stężenia AGP. Dobę po zabiegu stężenie wariantu W1 wynosiło 408 mg/l \pm 165 mg/l (42%), a tydzień po zabiegu wzrosło do wartości 450 mg/l \pm 192 mg/l (44%). Zmiany wartości stężeń wariantu W1 między pierwszym a trzecim pomiarem były statystycznie istotne ($p < 0,05$).

3.10 Wariant W2 AGP

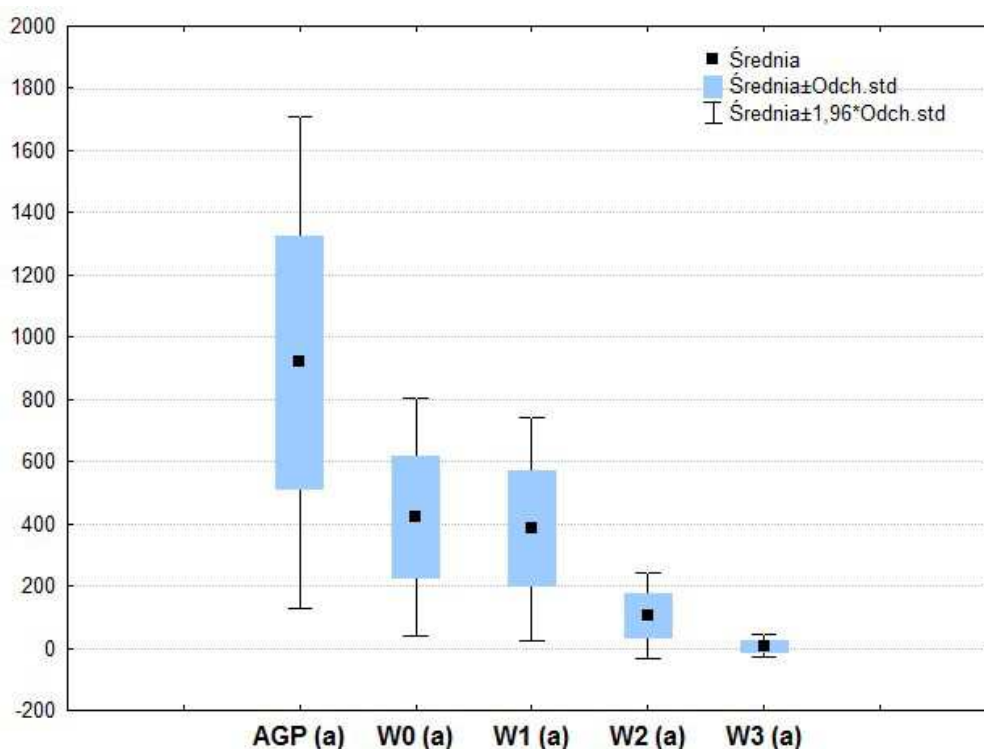
Średnie stężenie wariantu W2 AGP przed wykonaniem zabiegu wynosiło $105 \text{ mg/l} \pm 71 \text{ mg/l}$, co stanowiło 11% całkowitej ilości AGP. Prawidłowa wartość stężenia wariantu W2 dla AGP wynosi $84 - 108 \text{ mg/l}$, co stanowi 12% całkowitej ilości AGP. Dobę po zabiegu wartość stężenia W2 wzrosła do $122 \text{ mg/l} \pm 75 \text{ mg/l}$ (12%), a 7 dni po zabiegu stężenie W2 obniżyło się do $113 \text{ mg/l} \pm 61 \text{ mg/l}$ (11%). Zmiany wartości stężeń wariantu W2 między pierwszym a drugim pomiarem były istotne statystycznie ($p < 0,05$).

3.11 Wariant W3 AGP

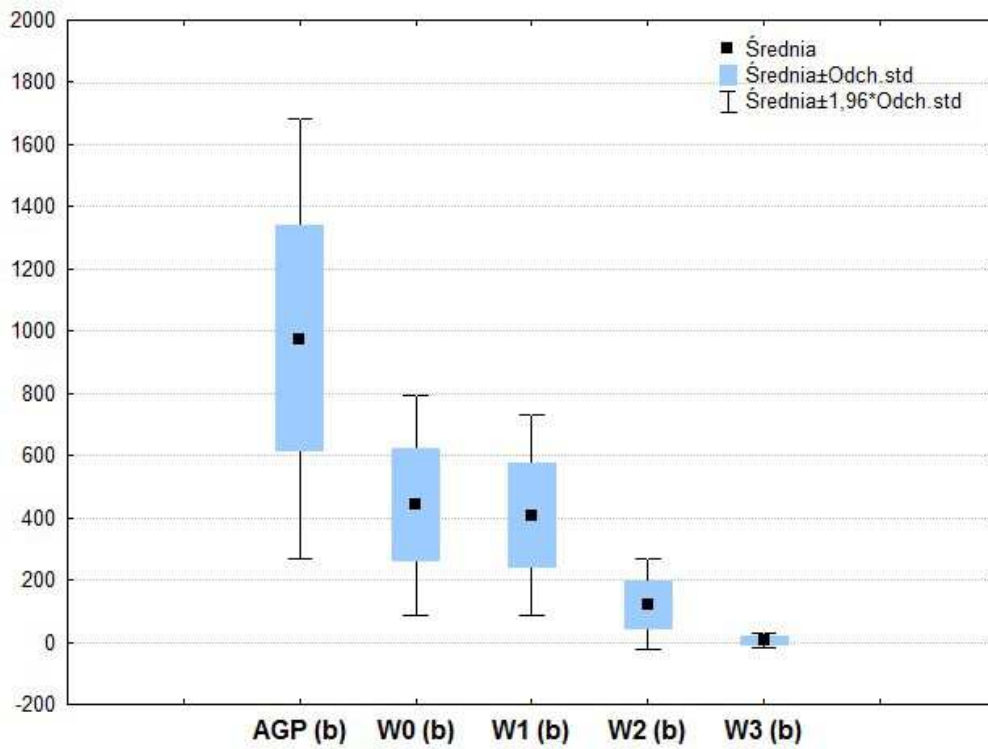
Średnie stężenie wariantu W3 AGP przed zabiegiem wynosiło $7 \text{ mg/l} \pm 18 \text{ mg/l}$, co stanowiło 1% całkowitej ilości AGP. Po upływie 24 godzin od zabiegu średnia wartość stężenia W3 obniżyła się do poziomu $4 \text{ mg/l} \pm 12 \text{ mg/l}$ (0,5%), a po 7 dniach badanie wykazało zbliżoną wartość $4 \text{ mg/l} \pm 13 \text{ mg/l}$ (0,5%).

Różnice stężeń uzyskanych w wyniku kolejnych pomiarów były statystycznie nieistotne.

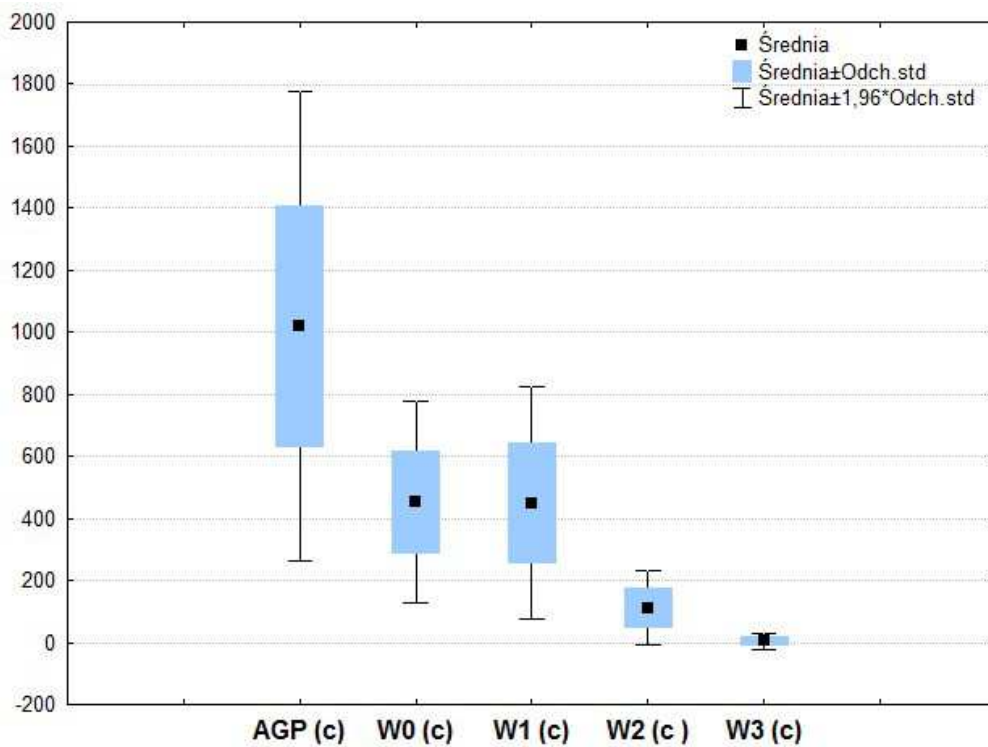
Wariant W3 AGP pojawia się w przypadku wystąpienia ostrego stanu zapalnego.



Ryc. 7. Stężenie AGP i wariantów AGP w pomiarze pierwszym.



Ryc. 8. Stężenie AGP i wariantów AGP w pomiarze drugim.



Ryc. 9. Stężenie AGP i wariantów AGP w trzecim pomiarze.

Podział na określone typy glikozylacji zależy od wzajemnych proporcji wariantów względem siebie i opiera się na poniższym schemacie:

profil prawidłowy: $W0 = 43\%$, $W1 = 45\%$, $W2 = 12\%$ - typ 1 (A),

profil ostry: $W1 \gg W0$, obecny $W3$ – typ 2 (B),

profil przewlekły: $W0 \geq W1$, brak $W3$ – typ 3 (C)

profil przewlekły zaostrozony $W0 > W1$, obecny $W3$ – typ 4 (D).

Tabela V. Średnia wartość typu glikozylacji AGP w trzech kolejnych pomiarach.

AGP	Statystyki opisowe			
	N	Mediana	Minimum	Maksimum
Typ glikozylacji (a)	40	3,00	1,00	4,00
Typ glikozylacji (b)	40	3,00	1,00	4,00
Typ glikozylacji (c)	40	2,00	1,00	4,00

W pomiarze drugim u 22 pacjentów wystąpił typ glikozylacji 3 (C), u kolejnych 13 – typ 1 (A), u 3 – typ 2 (B), u 3 – typ 4 (D).

W pomiarze trzecim u 18 pacjentów wystąpił typ glikozylacji 3 (C), u kolejnych 17 – typ 1 (A), u 4 – typ 2 (B), u 1 – typ 4 (D).

3.12 α 1 – antychymotrypsyna (ACT)

Średnie stężenie α 1 – antychymotrypsyny przed zabiegiem mieściło się w normie (350 – 450 mg/l) i wynosiło $364 \text{ mg/l} \pm 127 \text{ mg/l}$. Po upływie 24 godzin od zabiegu poziom stężenia nieznacznie wzrósł do $401 \text{ mg/l} \pm 150 \text{ mg/l}$, a tydzień po zabiegu średnie stężenie podniosło się do wartości $462 \text{ mg/l} \pm 175 \text{ mg/l}$. Wartość średniego stężenia w trzecim pomiarze przekroczyła górną granicę normy.

Różnica średniego stężenia α 1 – antychymotrypsyny między pierwszym a trzecim pomiarem była istotna statystycznie ($p < 0,01$).

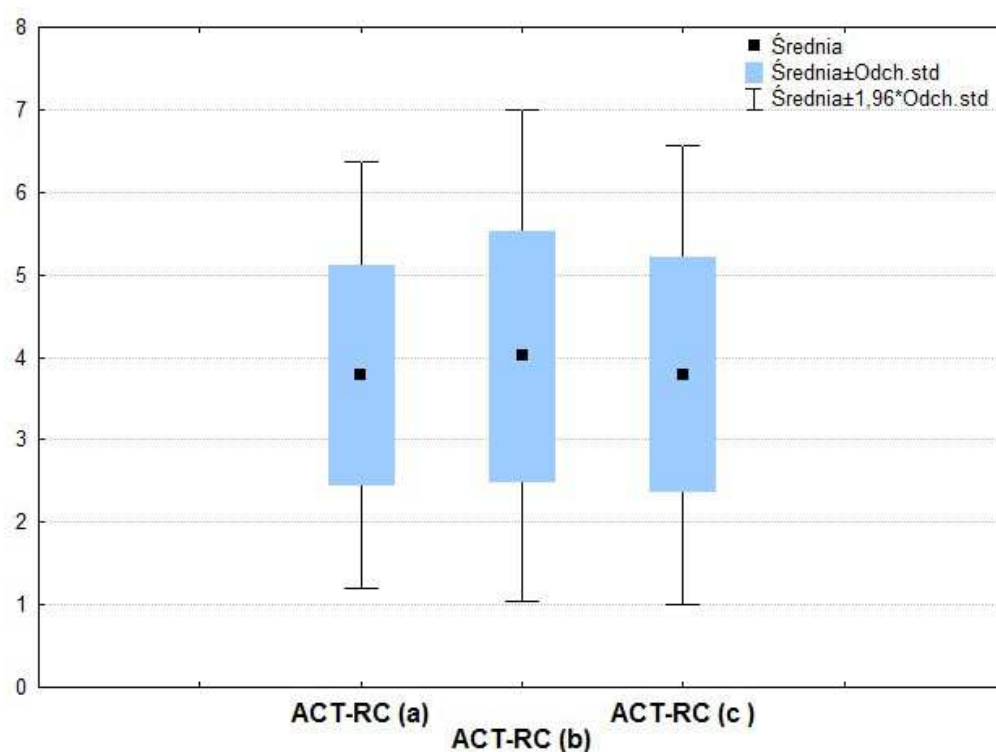
3.13 Współczynnik reaktywności ACT – RC

Średnia wartość współczynnika reaktywności przed wykonaniem zabiegu ekstrakcji zęba i augmentacji zębodołu wynosiła $3,78 \pm 1,32$. Norma dla ACT – RC wynosi 2,76 – 5,10. Dobę

po zabiegu wartość ACT – RC wzrosła nieznacznie do poziomu $4,01 \pm 1,51$. Tydzień po zabiegu wartość ACT – RC obniżyła się do wartości pierwszego pomiaru $3,78 \pm 1,41$. Różnice w średnich wartościach ACT – RC w trzech kolejnych pomiarach nie były istotne statystycznie.

Tabela VI. Wartości współczynnika ACT – RC w trzech kolejnych pomiarach.

	Statystyki opisowe					
	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch.std.
ACT-RC (a)	40	3,78	3,81	1,35	7,28	1,32
ACT-RC (b)	40	4,01	3,87	1,00	8,78	1,51
ACT-RC (c)	40	3,78	3,50	1,28	8,84	1,41



Ryc. 10. Współczynnik reaktywności ACT – RC w trzech kolejnych pomiarach.

3.14 Wariant A1 ACT

Średnia wartość stężenia wariantu A1 ACT przed zabiegiem wynosiła $82 \text{ mg/l} \pm 38 \text{ mg/l}$, co stanowiło 23% całkowitej ilości ACT. Norma dla wariantu A1 ACT wynosi 25%. Dobę po zabiegu nastąpił nieznaczny wzrost stężenia wariantu A1 do wartości $87 \text{ mg/l} \pm 46 \text{ mg/l}$ (22%), tydzień po zabiegu zanotowano dalszy wzrost stężenia do wartości $103 \text{ mg/l} \pm 47 \text{ mg/l}$ (23%).

Różnica średniego stężenia była istotna statystycznie zarówno pomiędzy pierwszym i trzecim pomiarem ($p < 0,001$) jak i pomiędzy drugim i trzecim pomiarem ($p < 0,05$).

3.15 Wariant A2 ACT

Średnie stężenie wariantu A2 ACT przed zabiegiem wynosiło $107 \text{ mg/l} \pm 43 \text{ mg/l}$, co stanowiło 29% całkowitej ilości ACT. Norma dla wariantu A2 ACT wynosi 25%. Dobę po zabiegu średnie stężenie A2 nieznacznie wzrosło do wartości $113 \text{ mg/l} \pm 47 \text{ mg/l}$ (28%). Po upływie tygodnia odnotowano najwyższą wartość wariantu A2 $135 \text{ mg/l} \pm 58 \text{ mg/l}$ (29%).

Różnica średnich stężeń była istotna pomiędzy pierwszym i trzecim pomiarem ($p < 0,001$) oraz pomiędzy drugim i trzecim pomiarem ($p < 0,05$).

3.16 Wariant A3 ACT

Średnie stężenie wariantu A3 ACT przed wykonaniem zabiegu wynosiło $111 \text{ mg/l} \pm 50 \text{ mg/l}$, co stanowiło 30% całkowitej ilości ACT. Norma dla wariantu A3 ACT wynosi 23%. Po 24 h od zabiegu wartość średniego stężenia podniosła się do $122 \text{ mg/l} \pm 57 \text{ mg/l}$ (30%), a po tygodniu wynosiła $140 \text{ mg/l} \pm 62 \text{ mg/l}$ (30%).

Różnica średnich stężeń wariantu A3 ACT pomiędzy pierwszym i trzecim pomiarem była istotna statystycznie ($p < 0,05$).

3.17 Wariant A4 ACT

Średnie stężenie wariantu A4 ACT przed zabiegiem wynosiło $53 \text{ mg/l} \pm 31 \text{ mg/l}$, stanowiąc 15% całkowitej ilości ACT. Norma dla wariantu A4 ACT wynosi 27%. Dobę po zabiegu średnie stężenie A4 wzrosło do $64 \text{ mg/l} \pm 33 \text{ mg/l}$ (16%). Pomiar wykonany po tygodniu od

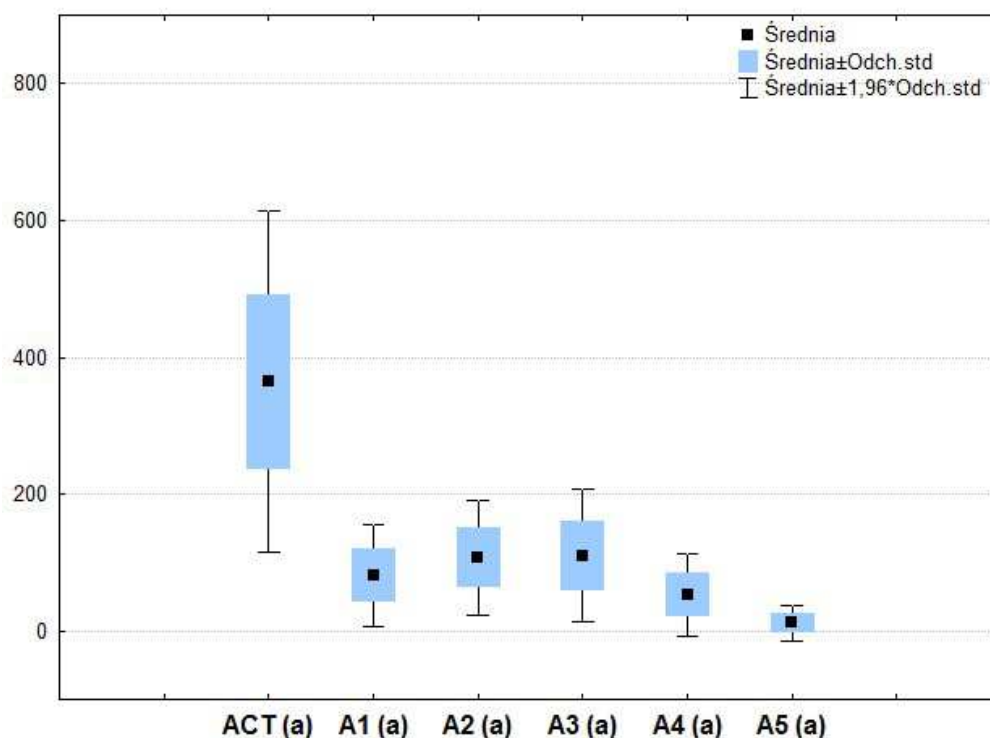
zabiegu wykazał utrzymującą się tendencję wzrostową stężenia A4 do wartości $68 \text{ mg/l} \pm 40 \text{ mg/l}$ (15%).

Istotna statystycznie była różnica pomiędzy pierwszym i trzecim pomiarem ($p < 0,05$).

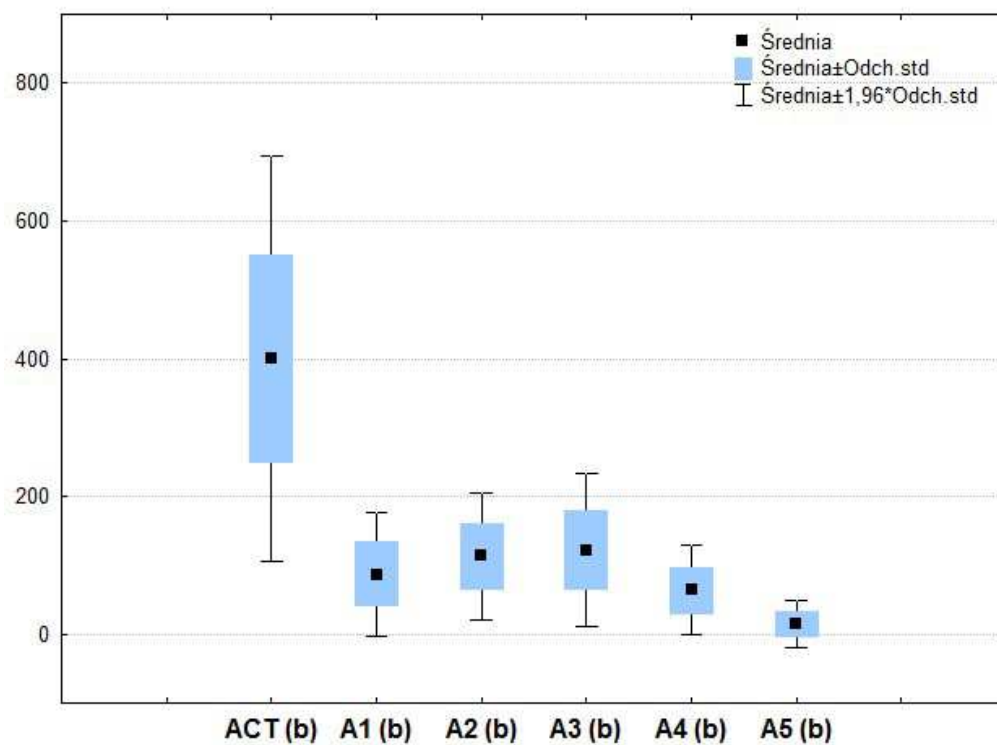
3.18 Wariant A5 ACT

Średnie stężenie wariantu A5 przed zabiegiem wynosiło $12 \text{ mg/l} \pm 13 \text{ mg/l}$, co stanowiło 4% całkowitej ilości ACT. Dobę po zabiegu stężenie A5 wzrosło do wartości $14 \text{ mg/l} \pm 18 \text{ mg/l}$ (4%), a po tygodniu stężenie A5 wyniosło $16 \text{ mg/l} \pm 17 \text{ mg/l}$ (4%).

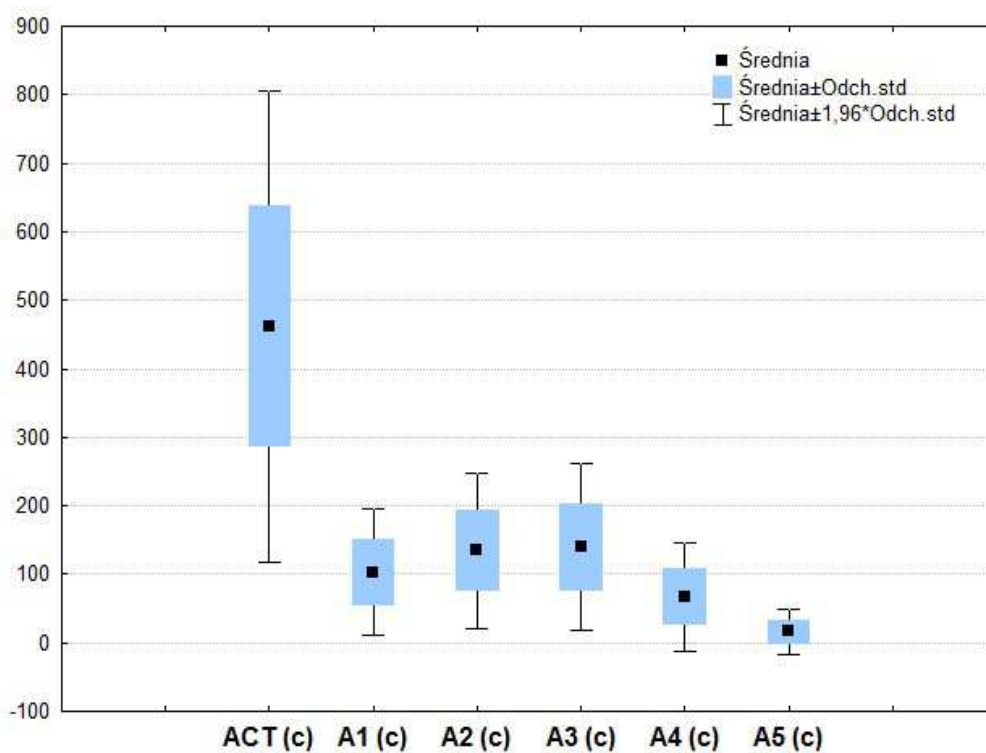
Zmiany wartości stężeń wariantu A5 ACT pomiędzy poszczególnymi pomiarami nie były istotne statystycznie.



Ryc. 11. Stężenie ACT i wariantów ACT w pomiarze pierwszym.



Ryc. 12. Stężenie ACT i wariantów ACT w pomiarze drugim.



Ryc. 13. Stężenie ACT i wariantów ACT w pomiarze trzecim.

Podział na określone typy glikozylacji zależy od wzajemnych proporcji wariantów względem siebie i opiera się na poniższym schemacie:

profil prawidłowy: $A1 = 25\%$, $A2 = 25\%$, $A3 = 23\%$, $A4 = 27\%$ - typ 1 (A),

profil ostry: $A4 \gg A1$, $A2 > A1$, obecny A5 – typ 2 (B),

profil przewlekły: $A1 > A2$, $A2 > A4$ – typ 3 (C)

profil przewlekły zaostrozony: $A4 > A2$, $A1 > A2$, obecny A5 – typ 4 (D).

Tabela VII. Średnia wartość typu glikozylacji ACT w trzech kolejnych pomiarach.

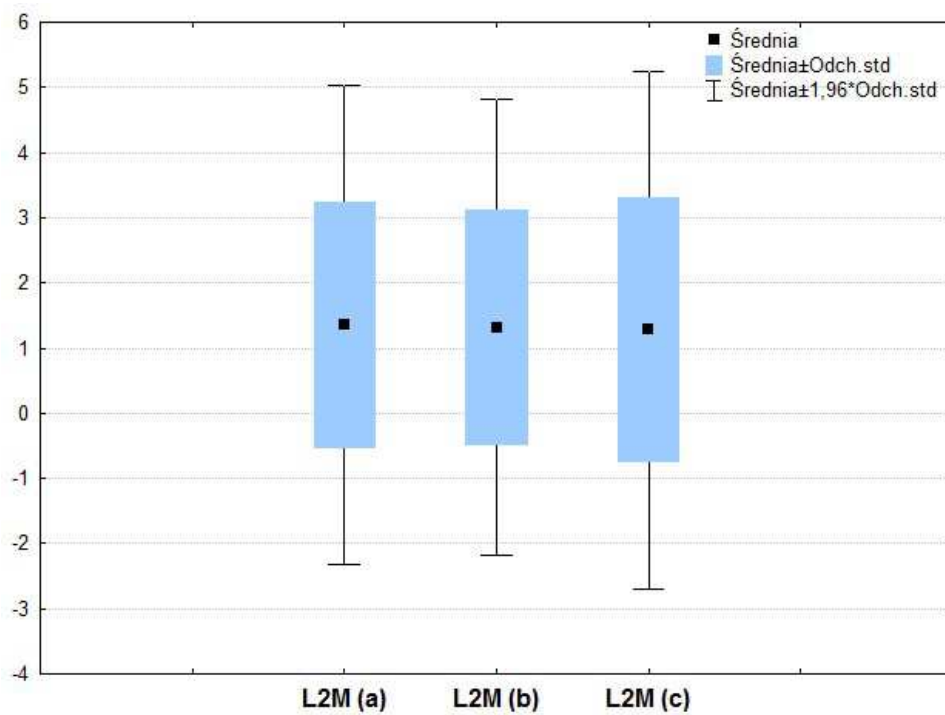
ACT	Statystyki opisowe			
	N	Mediana	Minimum	Maksimum
Typ glikozylacji (a)	40	3,00	1,00	4,00
Typ glikozylacji (b)	40	3,00	1,00	4,00
Typ glikozylacji (c)	40	3,00	1,00	4,00

W pomiarze drugim u 16 pacjentów wystąpił typ glikozylacji 4 (D), u kolejnych 12 – typ 3 (C), u 9 – typ 2 (B), u 3 – typ 1 (A).

W pomiarze trzecim u 19 pacjentów wystąpił typ glikozylacji 4 (D), u kolejnych 12 – typ 3 (C), u 7 – typ 2 (B), u 2 – typ 1 (A).

3.19 $\alpha 2$ – makroglobulina (L2M)

Średnie stężenie $\alpha 2$ – makroglobuliny przed zabiegiem wynosiło $1,35 \text{ g/l} \pm 1,87 \text{ g/l}$ i było poniżej dolnej granicy normy ($1,5 - 4 \text{ g/l}$). Dobę po zabiegu średnie stężenie zmniejszyło się do wartości $1,32 \text{ g/l} \pm 1,78 \text{ g/l}$, a 7 dni po zabiegu wartość średniego stężenia badanego białka obniżyła się do $1,27 \text{ g/l} \pm 2,02 \text{ g/l}$. Różnice wartości stężeń otrzymanych w trzech kolejnych pomiarach były nieznaczące statystycznie.



Ryc. 14. Stężenie L2M w trzech kolejnych pomiarach.

4. Korelacje

4.1 Korelacja AGP i ACT

Istnieje korelacja przeciętna między AGP a ACT dla pierwszego i drugiego pomiaru powyższych parametrów (pierwszy i drugi wiersz tabeli VIII). Nie stwierdza się korelacji pomiędzy AGP a ACT w trzecim pomiarze stężenia.

Tabela VIII. Wartości współczynnika korelacji między AGP a ACT w trzech kolejnych pomiarach.

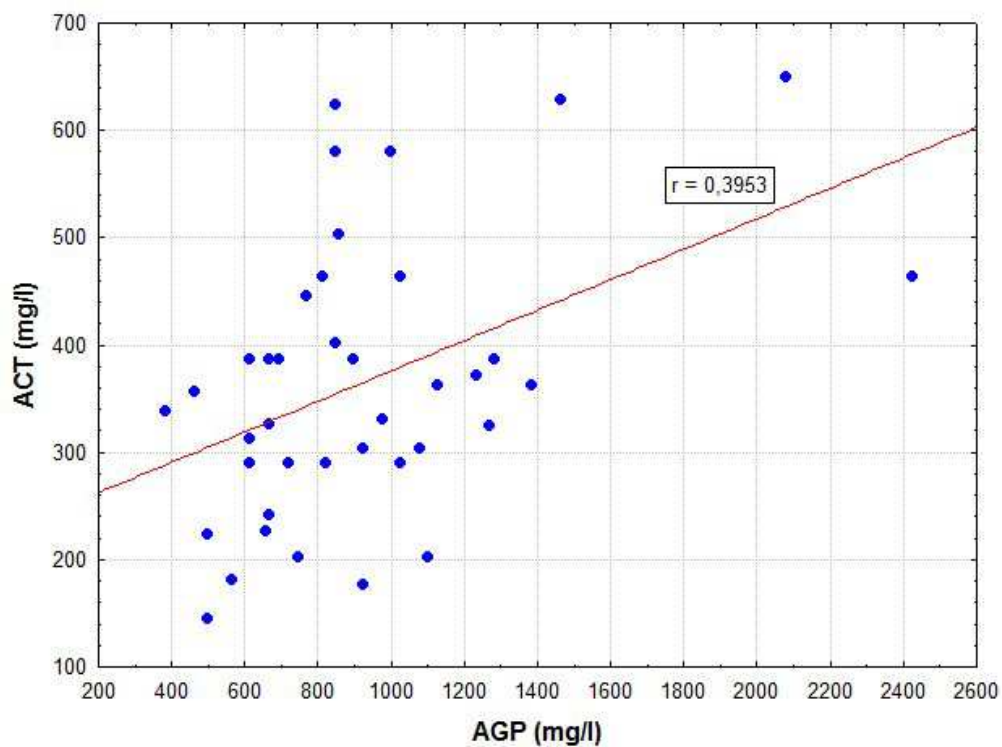
	Korelacja porządku rang Spearmana		
	N	współczynnik korelacji r	p
AGP mg/l (a) & ACT mg/l (a)	40	0,3953	0,0116
AGP mg/l (b) & ACT mg/l (b)	40	0,4642	0,0025
AGP mg/l (c) & ACT mg/l (c)	40	0,2276	0,1579

$p < 0,05$ – wynik istotny statystycznie

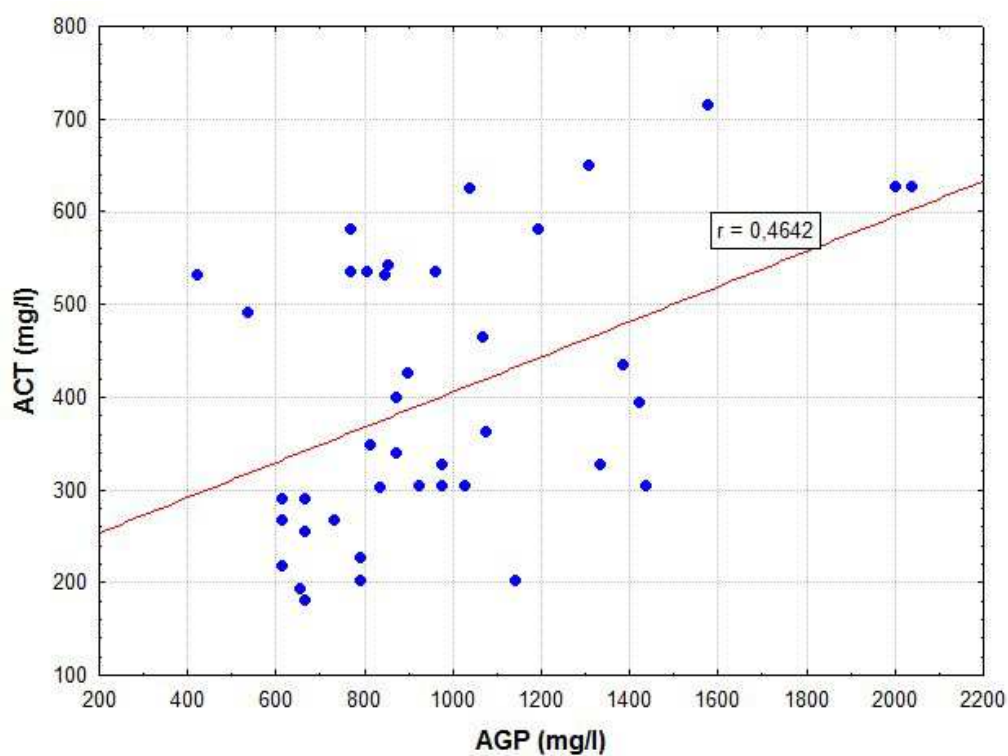
a – pomiar wykonany przed zabiegiem,

b – pomiar wykonany 24 h po zabiegu,

c – pomiar wykonany tydzień po zabiegu.



Ryc. 15. Wykres korelacji między AGP a ACT dla pomiaru pierwszego.



Ryc. 16. Wykres korelacji między AGP a ACT dla pomiaru drugiego.

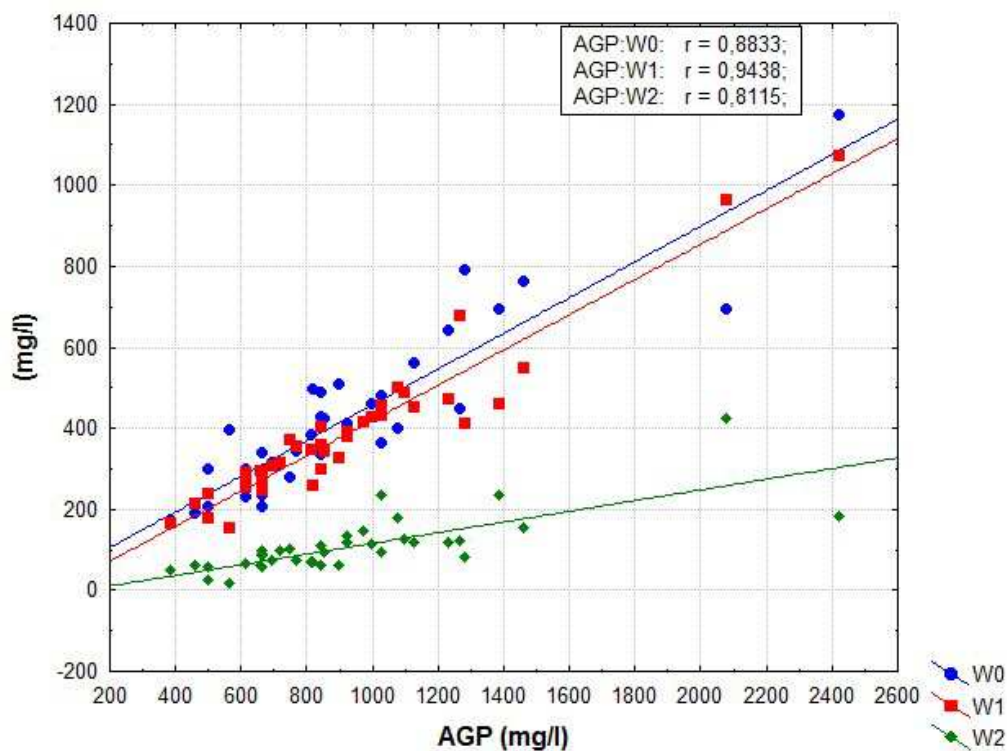
4.2 Korelacje pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a wariantami AGP

4.2.1 Korelacje pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a wariantami AGP – pomiar pierwszy

Istnieje bardzo wysoka korelacja pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a wariantami W0, W1 oraz W2. Nie stwierdza się korelacji pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a stężeniem wariantu W3.

Tabela IX. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a stężeniem wariantów W0, W1, W2, W3 – pomiar pierwszy.

DZIEŃ PIERWSZY			
(pomiar pierwszy)			
	N	R	p
AGP mg/l (a) & W0 mg/l (a)	40	0,8833	0,0000
AGP mg/l (a) & W1 mg/l (a)	40	0,9438	0,0000
AGP mg/l (a) & W2 mg/l (a)	40	0,8115	0,0000
AGP mg/l (a) & W3 mg/l (a)	40	-0,1996	0,2170



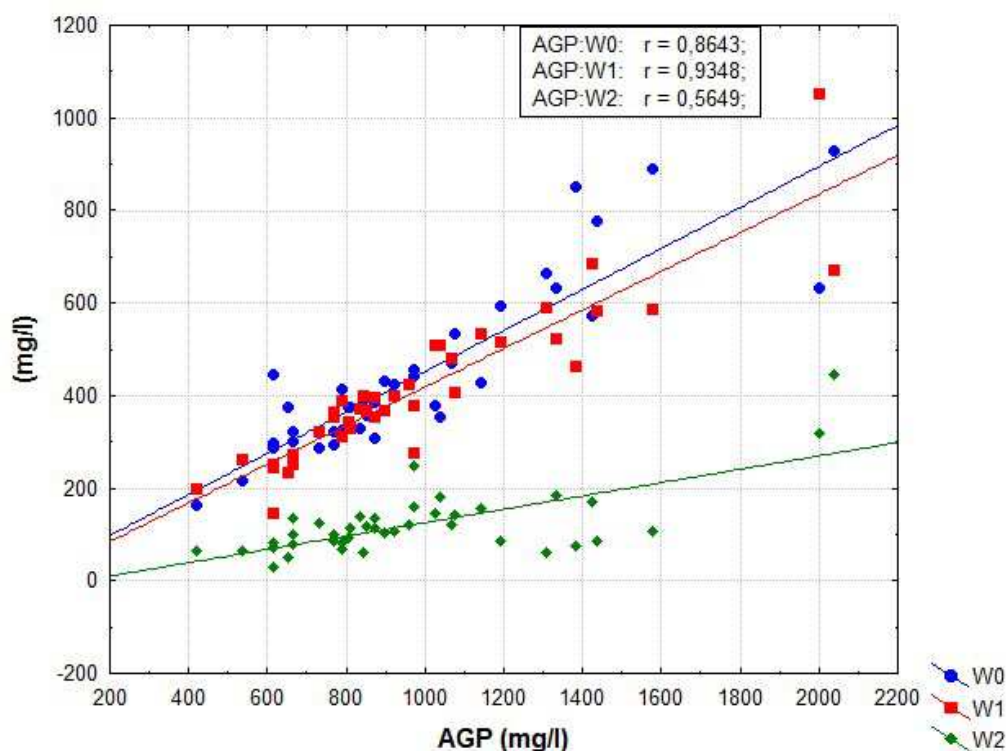
Ryc. 17. Wykres korelacji pomiędzy AGP a wariantami W0, W1, W2 – pomiar pierwszy.

4.2.2 Korelacje pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a wariantami AGP – pomiar drugi

Istnieje bardzo wysoka korelacja pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a stężeniem wariantów W0 i W1 oraz wysoka korelacja pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a stężeniem wariantu W2. Nie stwierdza się korelacji pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a stężeniem wariantu W3.

Tabela X. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a stężeniem wariantów W0, W1, W2, W3 – pomiar drugi.

DZIEŃ DRUGI			
(pomiar drugi)			
	N	R	p
AGP mg/l (b) & W0 mg/l (b)	40	0,8643	0,0000
AGP mg/l (b) & W1 mg/l (b)	40	0,9348	0,0000
AGP mg/l (b) & W2 mg/l (b)	40	0,5649	0,0001
AGP mg/l (b) & W3 mg/l (b)	40	-0,1627	0,3158



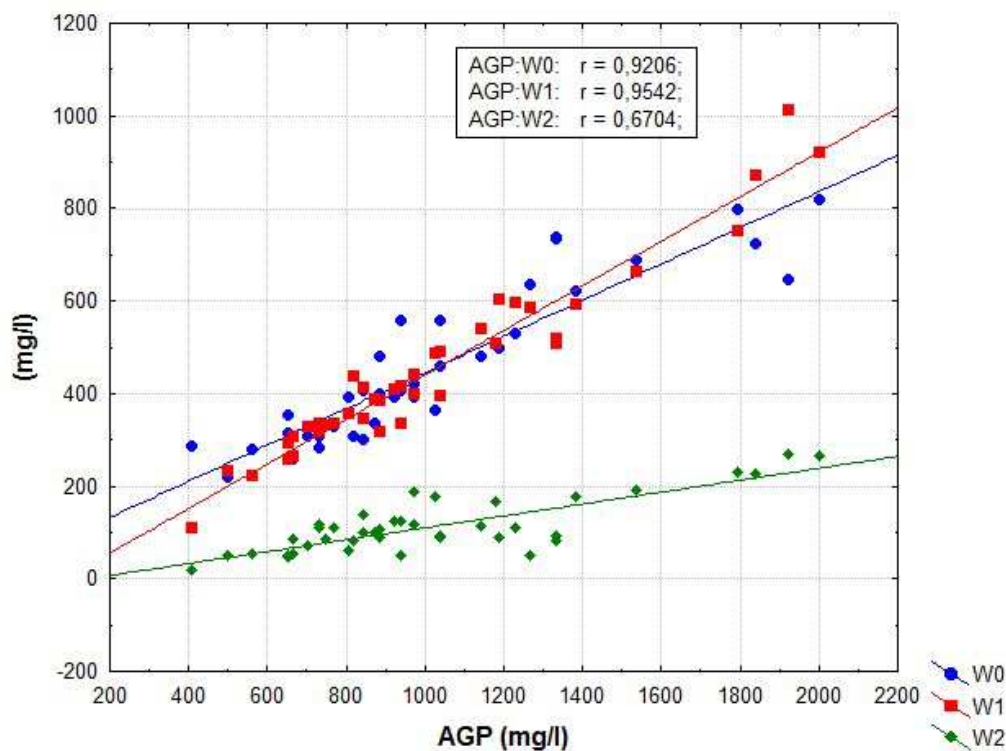
Ryc. 18. Wykres korelacji pomiędzy AGP a wariantami W0, W1, W2 – pomiar drugi.

4.2.3 Korelacje pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a wariantami AGP – pomiar trzeci

Pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a stężeniem wariantów W0 i W1 istnieje korelacja prawie pełna, a pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a wariantem W2 korelacja wysoka.

Tabela XI. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a stężeniem wariantów W0, W1, W2, W3 – pomiar trzeci.

DZIEŃ TRZECI			
(pomiar trzeci)			
	N	R	p
AGP mg/l (c) & W0 mg/l (c)	40	0,9206	0,0000
AGP mg/l (c) & W1 mg/l (c)	40	0,9542	0,0000
AGP mg/l (c) & W2 mg/l (c)	40	0,6704	0,0000
AGP mg/l (c) & W3 mg/l (c)	40	0,0371	0,8203



Ryc. 19. Wykres korelacji pomiędzy AGP a wariantami W0, W1, W2 – pomiar trzeci.

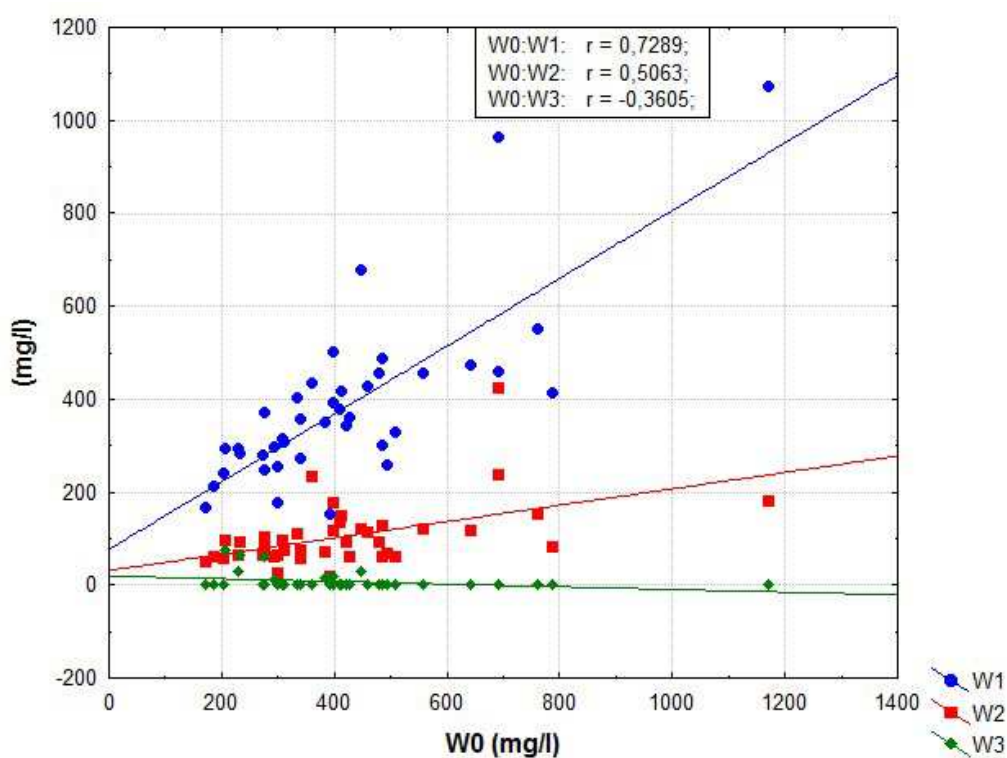
4.3 Korelacje pomiędzy wariantami AGP

4.3.1 Korelacje pomiędzy wariantami AGP – pomiar pierwszy

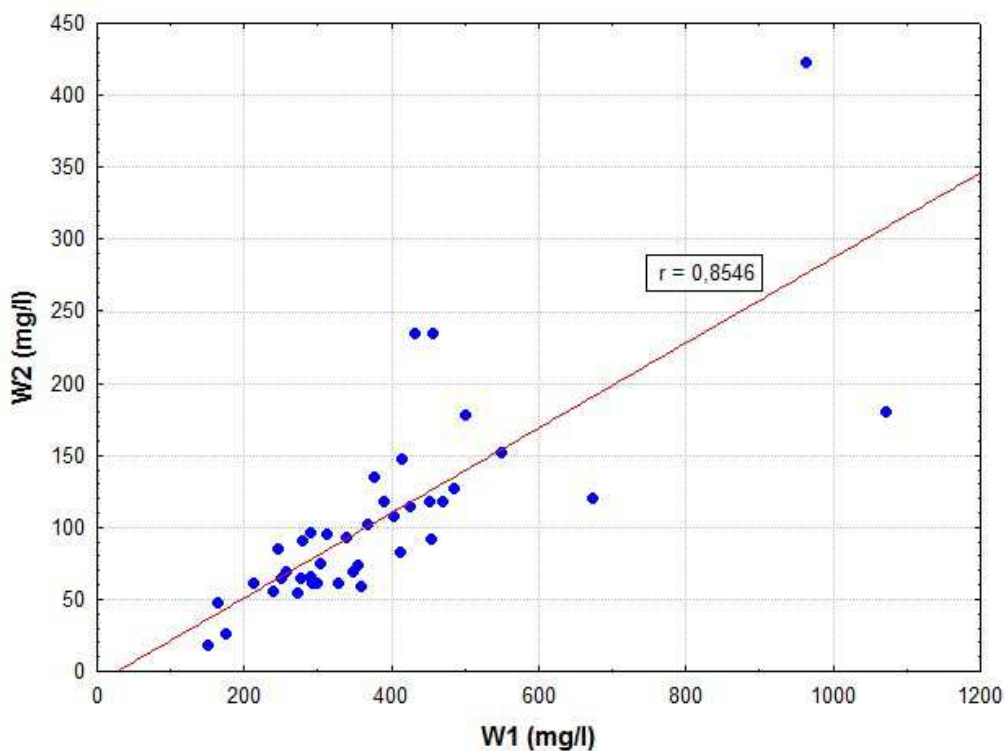
Istnieje bardzo wysoka korelacja między wariantem W0 a wariantem W1 oraz między wariantem W1 a wariantem W2. Pomędzy wariantem W0 a wariantem W2 istnieje korelacja wysoka, a pomiędzy wariantem W0 a wariantem W3 korelacja przeciętna ujemna. Poniższa tabela ilustruje zachodzące korelacje pomiędzy wariantami AGP wyrażonymi w mg/l. Korelacje istotne statystycznie zaznaczone są czerwonym kolorem.

Tabela XII. Wartości współczynników korelacji między wariantami AGP w pomiarze pierwszym.

	DZIEŃ PIERWSZY (pomiar pierwszy)			
	W0 mg/l (a)	W1 mg/l (a)	W2 mg/l (a)	W3 mg/l (a)
W0 mg/l (a)		0,7289	0,5063	-0,3605
W1 mg/l (a)	0,7289		0,8546	-0,1532
W2 mg/l (a)	0,5063	0,8546		-0,0154
W3 mg/l (a)	-0,3605	-0,1532	-0,0154	



Ryc. 20. Wykres korelacji między wariantem W0 a wariantami W1, W2, W3.



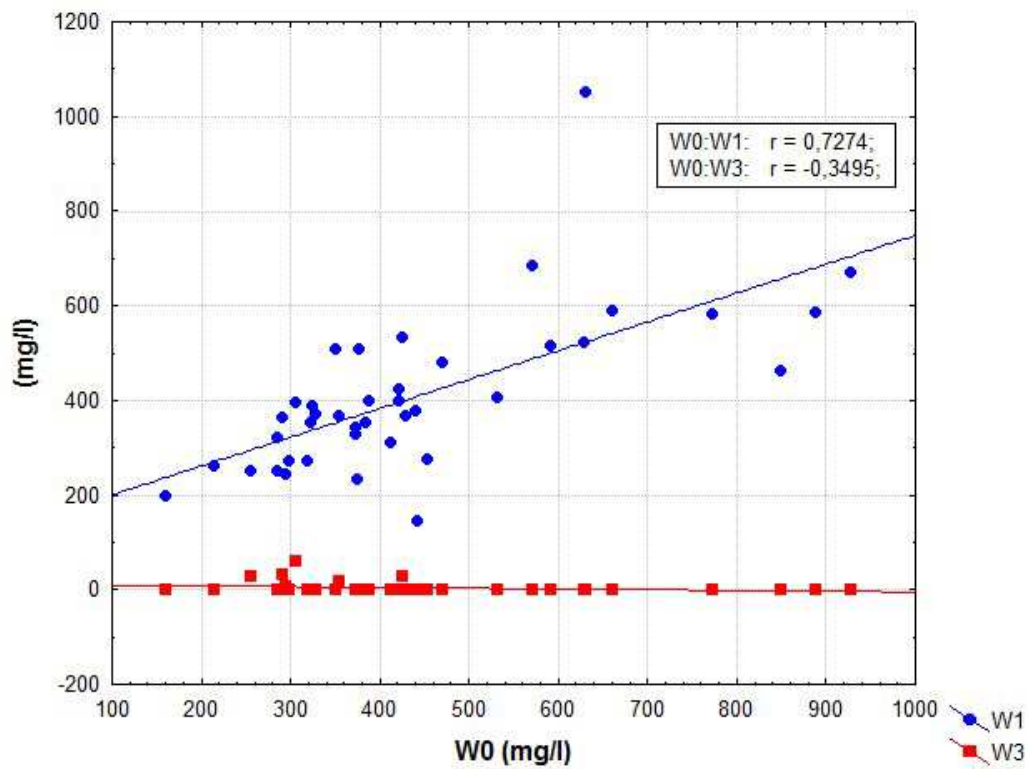
Ryc. 21. Wykres korelacji między wariantem W1 a wariantem W2.

4.3.2 Korelacje pomiędzy wariantami AGP – pomiar drugi

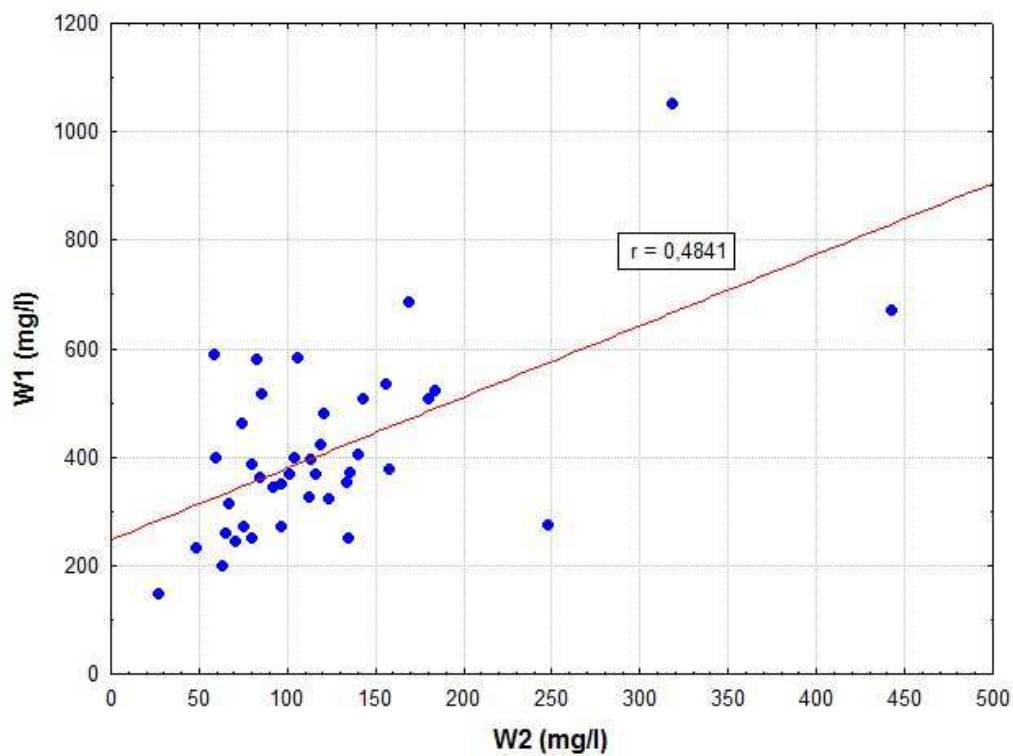
Istnieje bardzo wysoka korelacja między wariantem W0 a wariantem W2 oraz przeciętna korelacja między wariantem W1 a wariantem W2. Pomędzy wariantami W0 a W3 istnieje korelacja przeciętna ujemna.

Tabela XIII. Wartości współczynnika korelacji między wariantami AGP w pomiarze drugim.

	DZIEŃ DRUGI (pomiar drugi)			
	W0 mg/l (b)	W1 mg/l (b)	W2 mg/l (b)	W3 mg/l (b)
W0 mg/l (b)		0,7274	0,2747	-0,3495
W1 mg/l (b)	0,7274		0,4841	-0,1090
W2 mg/l (b)	0,2747	0,4841		0,0557
W3 mg/l (b)	-0,3495	-0,1090	0,0557	



Ryc. 22. Wykres korelacji między wariantem W0 a wariantami W1 i W3.



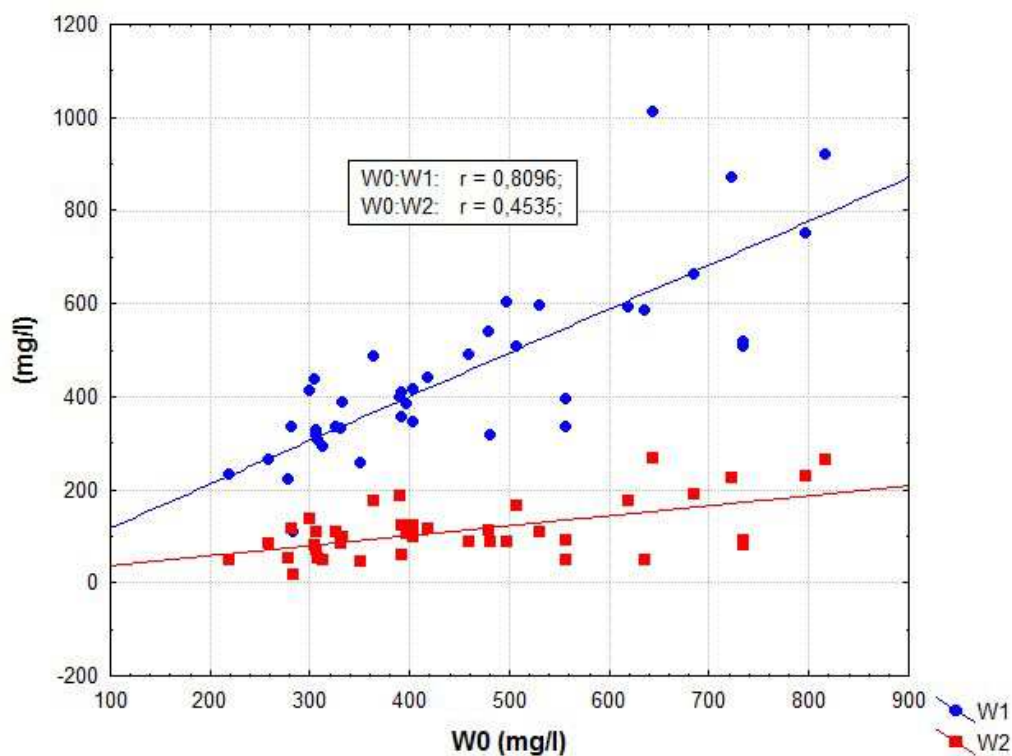
Ryc. 23. Wykres korelacji między wariantem W2 a wariantem W1.

4.3.3 Korelacje pomiędzy wariantami AGP – pomiar trzeci

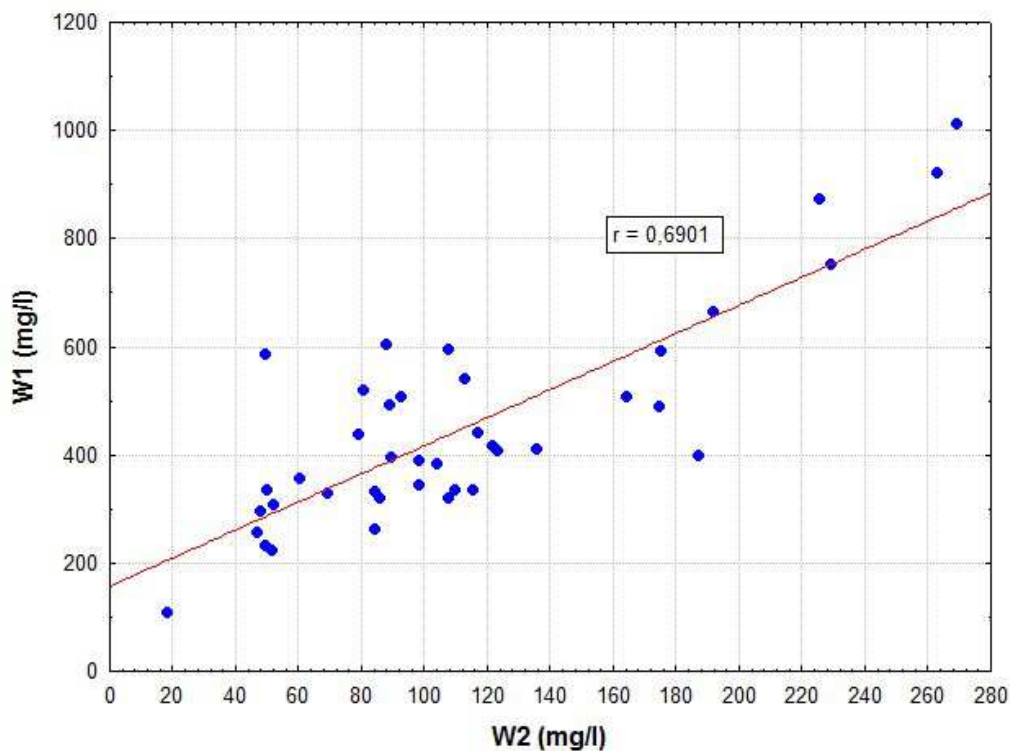
Istnieje bardzo wysoka korelacja między wariantem W0 a wariantem W1, wysoka korelacja między wariantem W1 a wariantem W2 oraz przeciętna korelacja między wariantem W0 a wariantem W2.

Tabela XIV. Wartości współczynnika korelacji między wariantami AGP w pomiarze trzecim.

	DZIEŃ TRZECI (pomiar trzeci)			
	W0 mg/l (c)	W1 mg/l (c)	W2 mg/l (c)	W3 mg/l (c)
W0 mg/l (c)		0,8096	0,4535	-0,0303
W1 mg/l (c)	0,8096		0,6901	0,0448
W2 mg/l (c)	0,4535	0,6901		0,1104
W3 mg/l (c)	-0,0303	0,0448	0,1104	



Ryc. 24. Wykres korelacji między wariantem W0 a wariantami W1 i W2.



Ryc. 25. Wykres korelacji między wariantem W2 a wariantem W1.

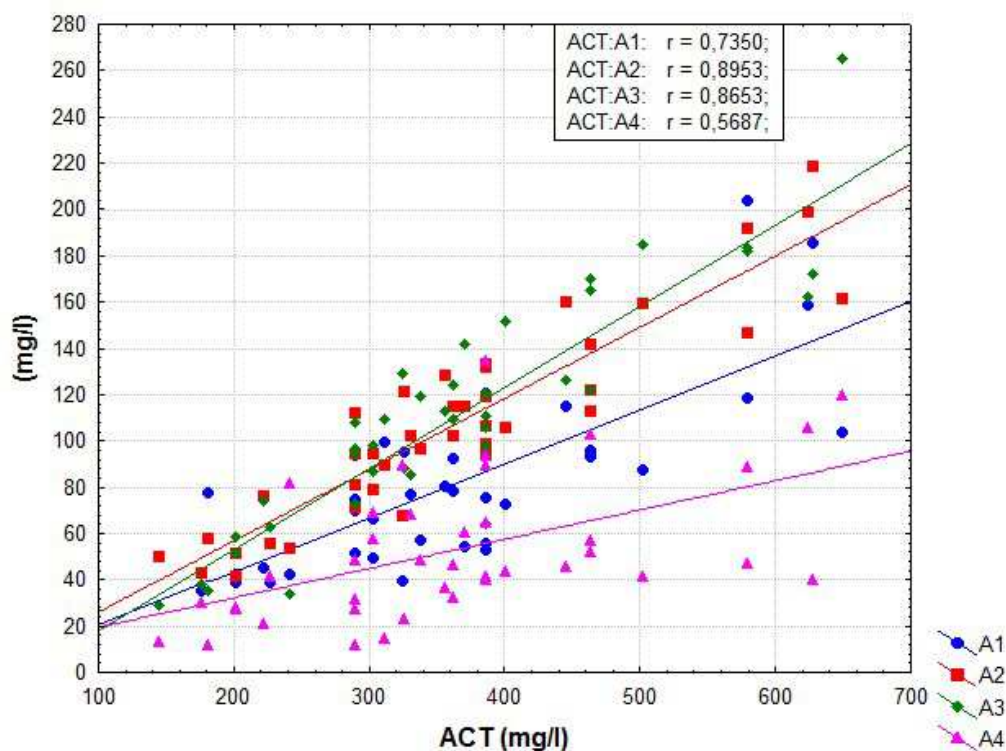
4.4 Korelacje pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a wariantami ACT

4.4.1 Korelacje pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a wariantami ACT – pomiar pierwszy

Istnieje bardzo wysoka korelacja pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantów A1, A2, A3 oraz wysoka korelacja pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantu A4.

Tabela XV. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantów A1, A2, A3, A4 – pomiar pierwszy.

DZIEŃ PIERWSZY			
(pomiar pierwszy)			
	N	R	p
ACT mg/l (a) & A1mg/l (a)	40	0,7550	0,0000
ACT mg/l (a) & A2 mg/l (a)	40	0,8953	0,0000
ACT mg/l (a) & A3 mg/l (a)	40	0,8653	0,0000
ACT mg/l (a) & A4 mg/l (a)	40	0,5687	0,0001
ACT mg/l (a) & A5 mg/l (a)	40	-0,1085	0,5052



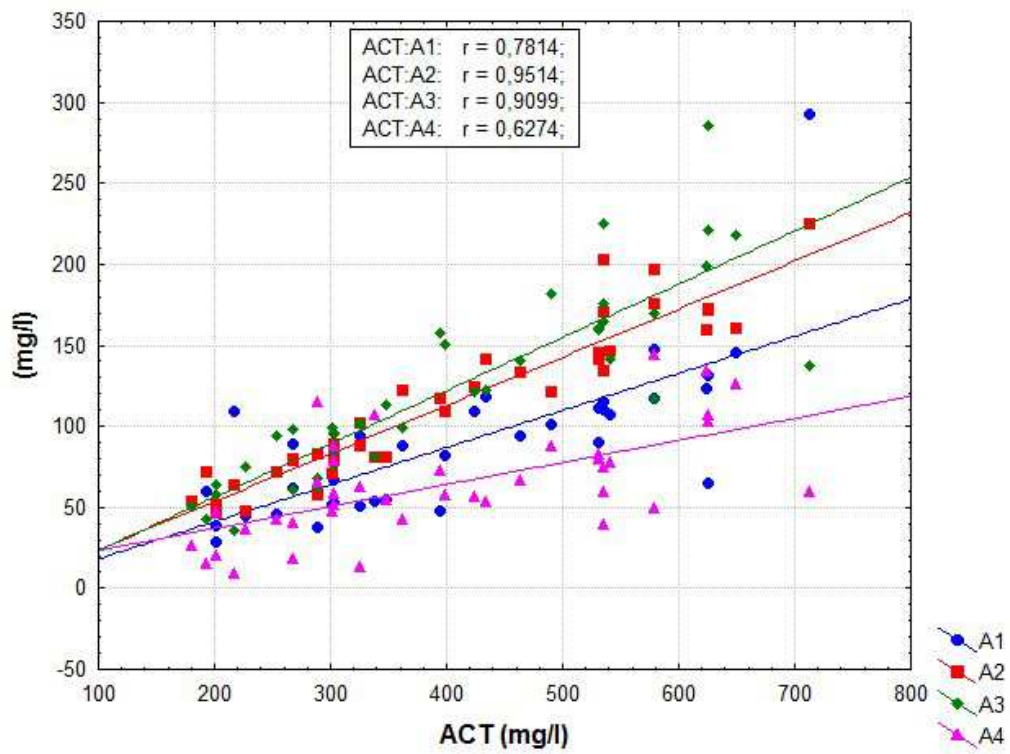
Ryc. 26. Wykres korelacji pomiędzy ACT a wariantami A1, A2, A3, A4 – pomiar pierwszy.

4.4.2 Korelacje pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a wariantami ACT – pomiar drugi

Istnieje korelacja prawie pełna pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantów A2 i A3, bardzo wysoka korelacja pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantu A1 oraz wysoka korelacja pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantu A4.

Tabela XVI. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantów A1, A2, A3, A4, A5 – pomiar drugi.

DZIEŃ DRUGI			
(pomiar drugi)			
	N	R	p
ACT mg/l (b) & A1mg/l (b)	40	0,7814	0,0000
ACT mg/l (b) & A2mg/l (b)	40	0,9517	0,0000
ACT mg/l (b) & A3mg/l (b)	40	0,9099	0,0000
ACT mg/l (b) & A4mg/l (b)	40	0,6274	0,0000
ACT mg/l (b) & A5 mg/l (b)	40	-0,0162	0,9210



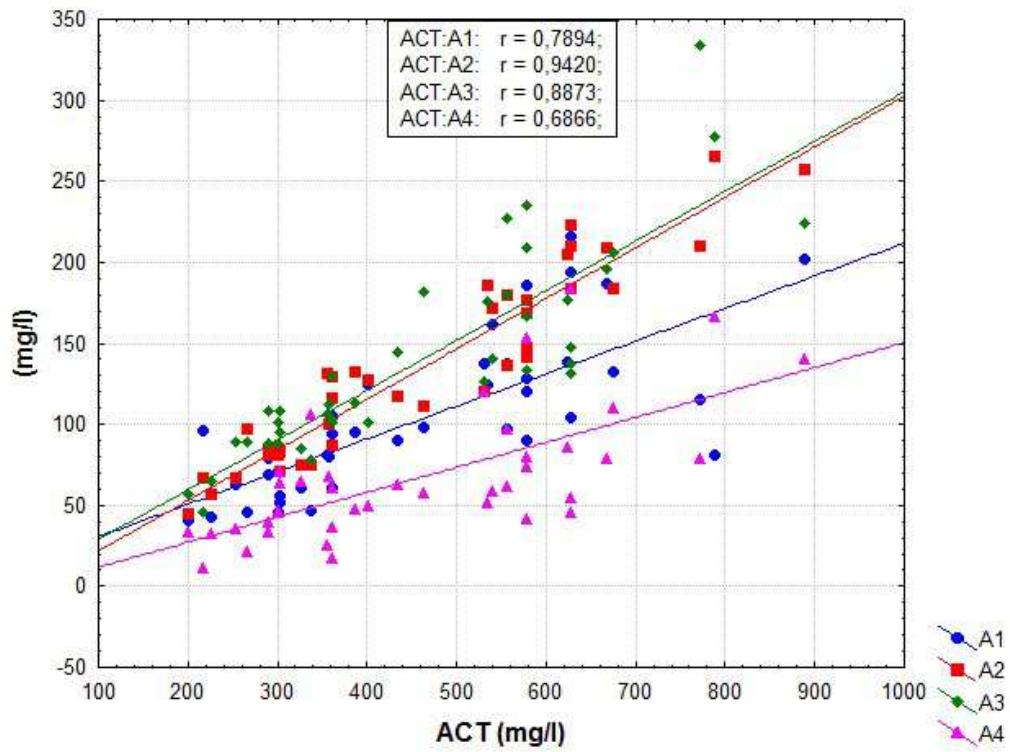
Ryc. 27. Wykres korelacji pomiędzy ACT a wariantami A1, A2, A3, A4 – pomiar drugi.

4.4.3 Korelacje pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a wariantami ACT – pomiar trzeci

Istnieje korelacja prawie pełna pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantu A2, bardzo wysoka korelacja pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantów A1 i A3 oraz wysoka korelacja między całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantu A4.

Tabela XVII. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantów A1, A2, A3, A4, A5 – pomiar trzeci.

DZIEŃ TRZECI			
(pomiar trzeci)			
	N	R	p
ACT mg/l (c) & A1mg/l (c)	40	0,7894	0,0000
ACT mg/l (c) & A2mg/l (c)	40	0,9420	0,0000
ACT mg/l (c) & A3mg/l (c)	40	0,8873	0,0000
ACT mg/l (c) & A4mg/l (c)	40	0,6866	0,0000
ACT mg/l (c) & A5 mg/l (c)	40	0,1785	0,2705



Ryc. 28. Wykres korelacji pomiędzy ACT a wariantami A1, A2, A3, A4 – pomiar trzeci.

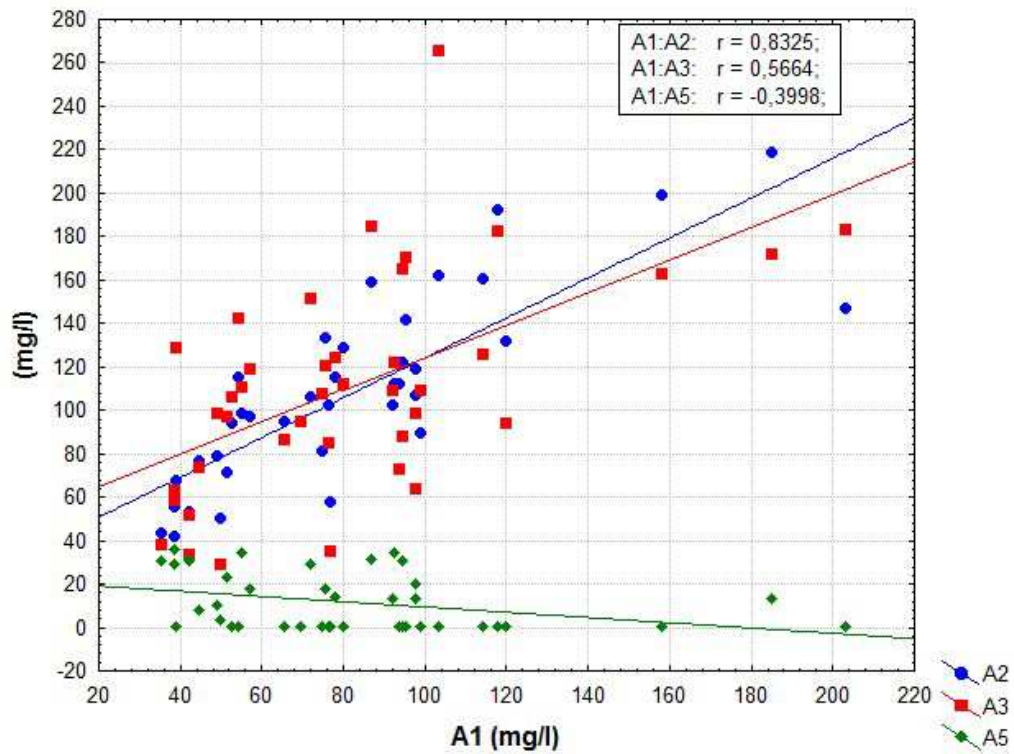
4.5 Korelacje pomiędzy wariantami ACT

4.5.1 Korelacje pomiędzy wariantami ACT – pomiar pierwszy

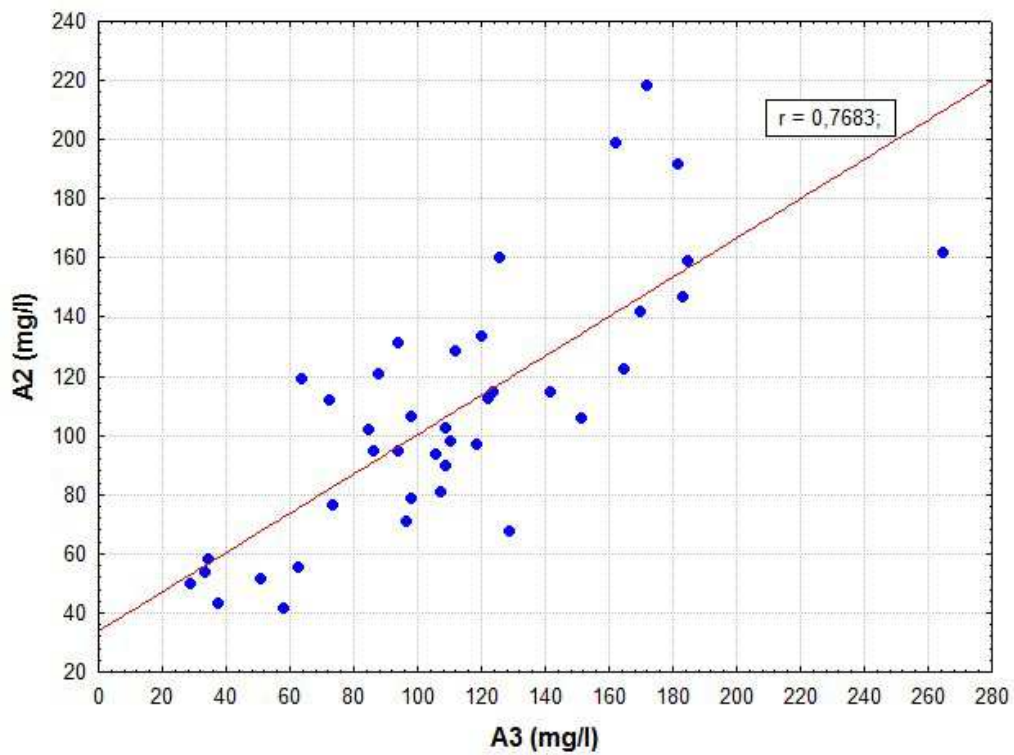
Istnieje bardzo wysoka korelacja między wariantem A1 a wariantem A2 oraz między wariantem A2 a wariantem A3. Wysoka korelacja występuje między wariantem A1 a wariantem A3, przeciętna korelacja między wariantem A3 a wariantem A4. Pomędzy wariantem A1 a wariantem A5 istnieje korelacja przeciętna ujemna.

Tabela XVIII. Wartości współczynnika korelacji między wariantami ACT w pomiarze pierwszym.

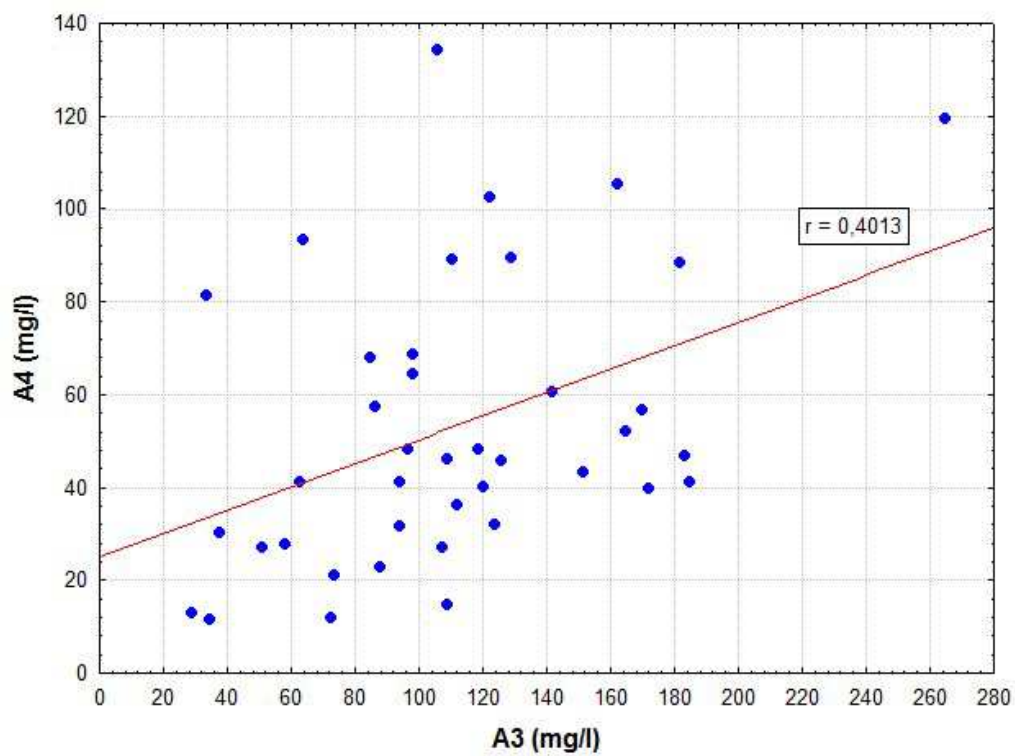
DZIEŃ PIERWSZY (pomiar pierwszy)					
	A1 mg/l (a)	A2 mg/l (a)	A3 mg/l (a)	A4 mg/l (a)	A5 mg/l (a)
A1 mg/l (a)		0,8525	0,5664	0,1355	-0,3998
A2 mg/l (a)	0,8525		0,7683	0,3008	-0,3008
A3 mg/l (a)	0,5664	0,7683		0,4013	-0,1555
A4 mg/l (a)	0,1355	0,3008	0,4013		0,0199
A5 mg/l (a)	-0,3998	-0,3008	-0,1555	0,0199	



Ryc. 29. Wykres korelacji między wariantem A1 a wariantami A2, A3 i A5.



Ryc. 30. Wykres korelacji między wariantem A3 a wariantem A2.



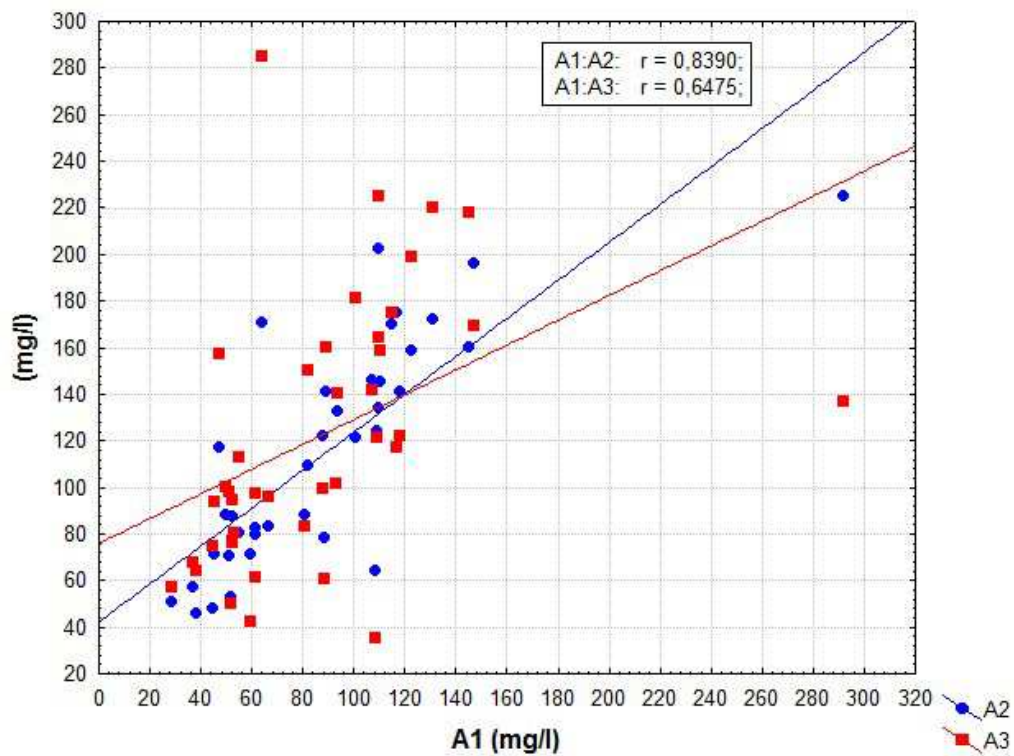
Ryc. 31. Wykres korelacji między wariantem A3 a wariantem A4.

4.5.2 Korelacje pomiędzy wariantami ACT – pomiar drugi

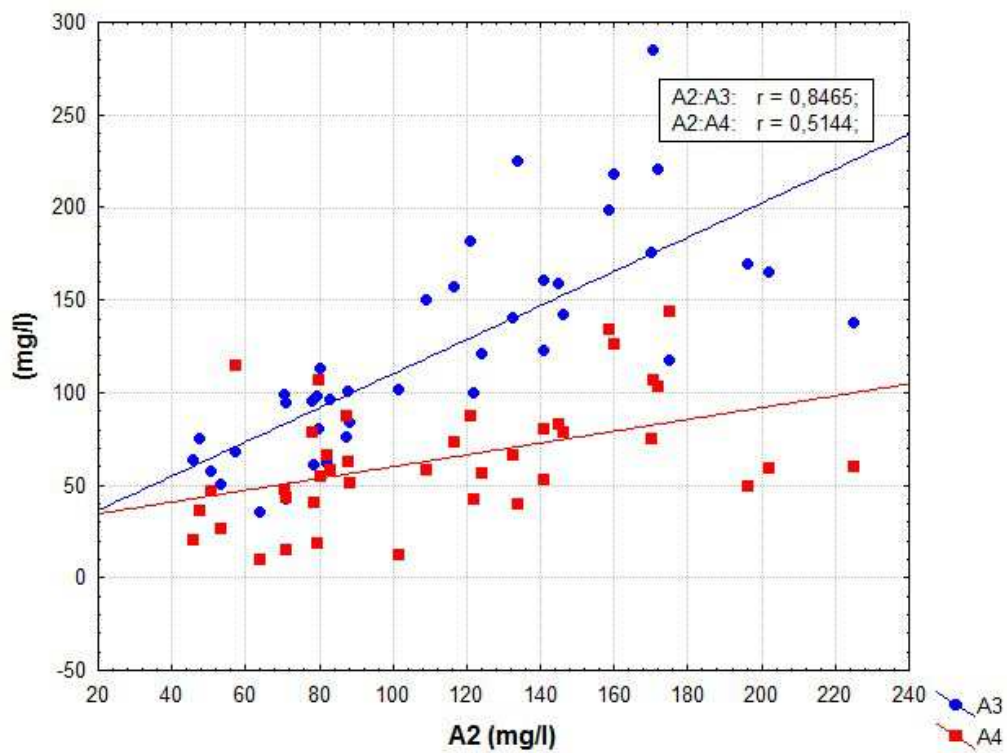
Istnieje bardzo wysoka korelacja między wariantem A1 a wariantem A2 oraz między wariantem A2 a wariantem A3. Korelacja wysoka występuje między wariantami: A1 a A3, A2 a A4 oraz A3 a A4.

Tabela XIX. Wartości współczynnika korelacji między wariantami ACT w pomiarze drugim.

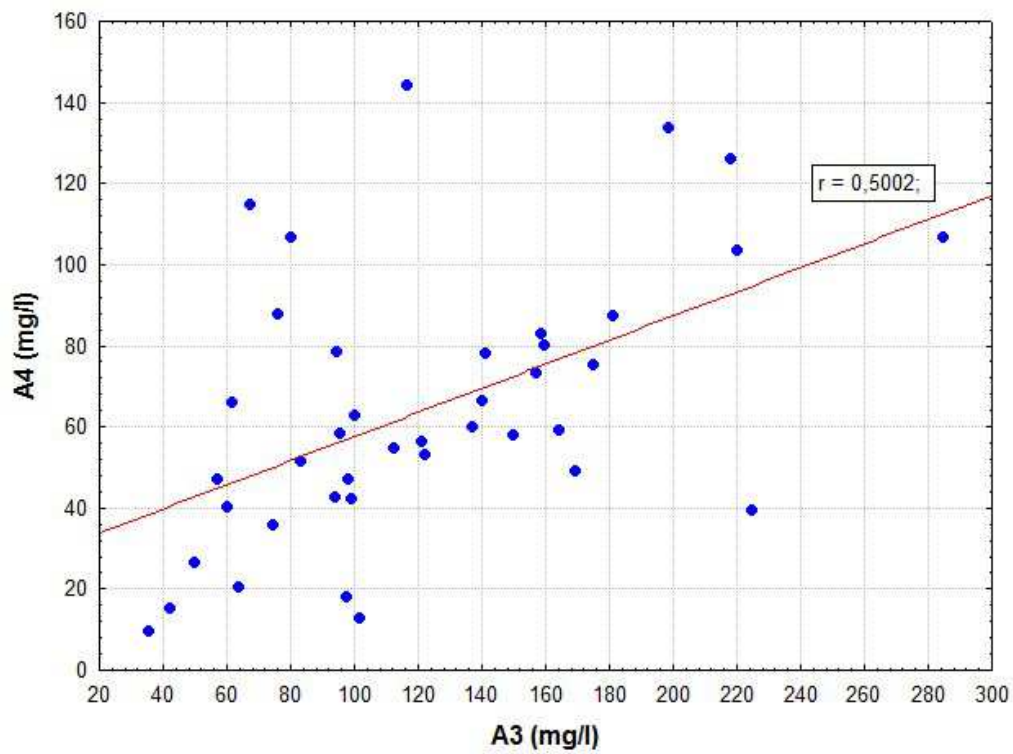
DZIEŃ DRUGI (pomiar drugi)					
	A1mg/l (b)	A2 mg/l (b)	A3 mg/l (b)	A 4mg/l (b)	A5 mg/l (b)
A1mg/l (b)		0,8390	0,6475	0,2619	-0,1400
A2 mg/l (b)	0,8390		0,8465	0,5144	-0,0958
A3 mg/l (b)	0,6475	0,8465		0,5002	-0,0184
A4 mg/l (b)	0,2619	0,5144	0,5002		-0,0437
A5 mg/l (b)	-0,1400	-0,0958	-0,0184	-0,0437	



Ryc. 32. Wykres korelacji między wariantem A1 a wariantami A2 i A3.



Ryc. 33. Wykres korelacji między wariantem A2 a wariantami A3 i A4.



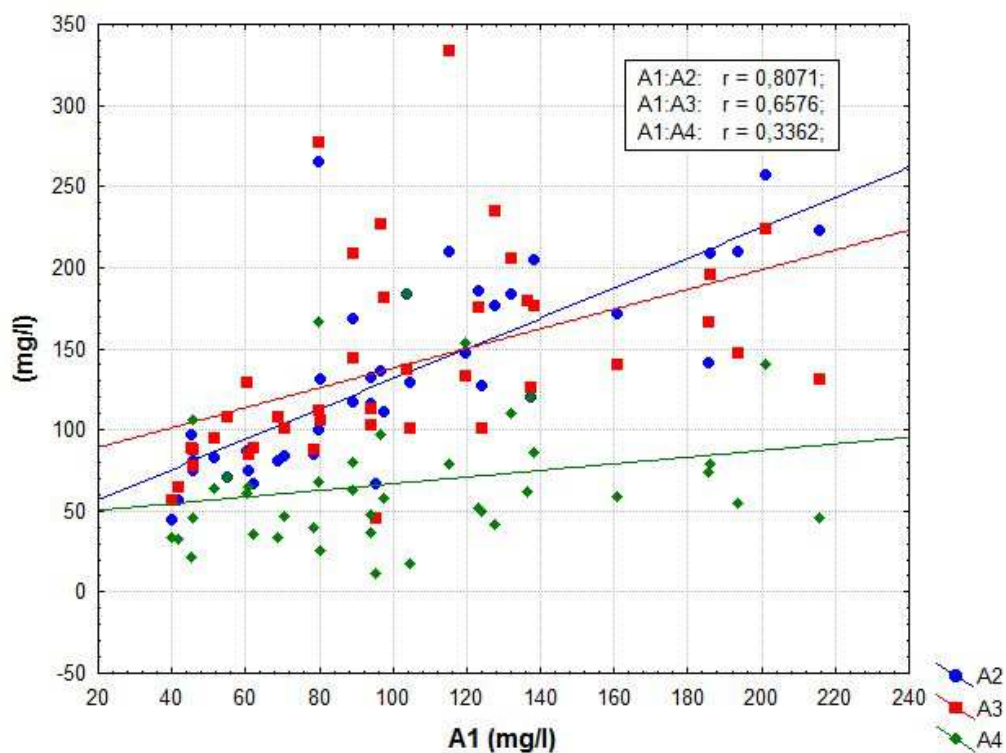
Ryc. 34. Wykres korelacji między wariantem A3 a wariantem A4.

4.5.3 Korelacje pomiędzy wariantami ACT – pomiar trzeci

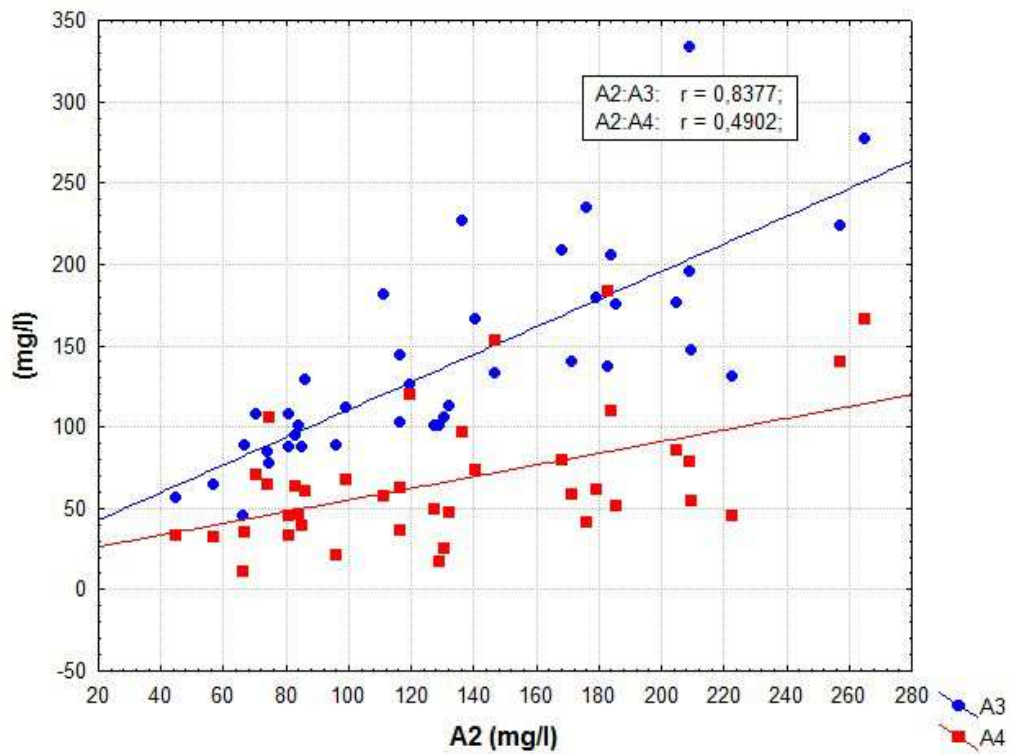
Istnieje bardzo wysoka korelacja między wariantem A1 a A2 oraz między wariantem A2 a A3. Korelacja wysoka występuje między wariantem A1 a A3 oraz między wariantem A3 a A4. Między wariantami: A1 a A4, A2 a A4 oraz A4 a A5 istnieją korelacje przeciętne.

Tabela XX. Wartości współczynnika korelacji między wariantami ACT w pomiarze trzecim.

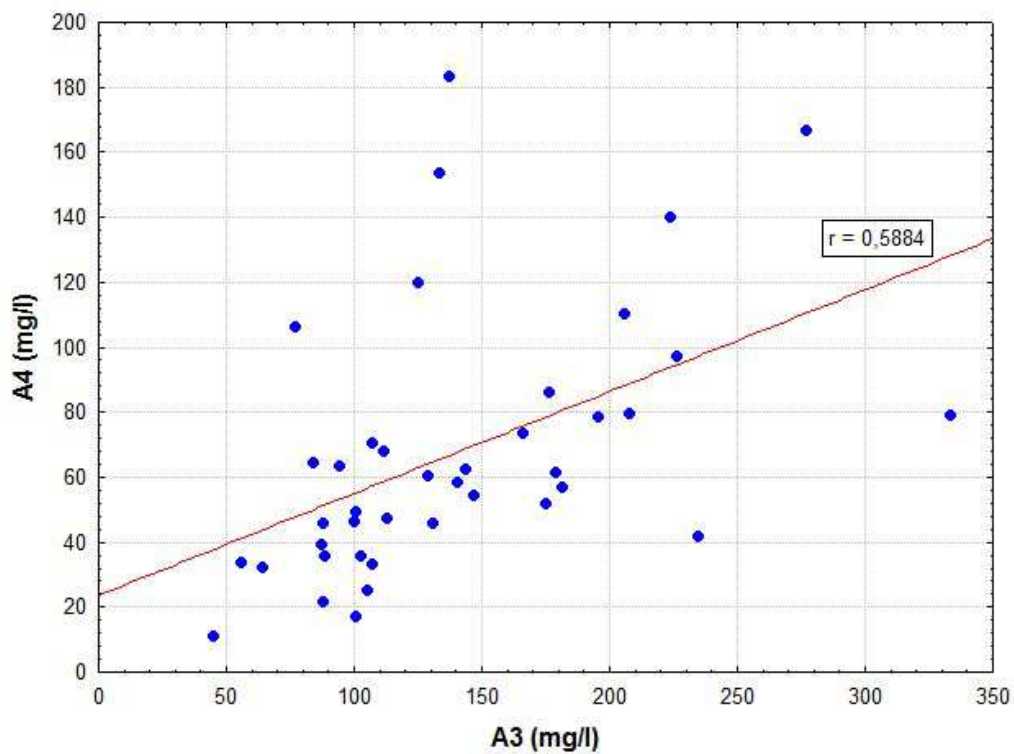
DZIEŃ TRZECI (pomiar trzeci)					
	A1mg/l (c)	A2 mg/l (c)	A3 mg/l (c)	A4 mg/l (c)	A5 mg/l (c)
A1mg/l (c)		0,8071	0,6576	0,3362	-0,0522
A2 mg/l (c)	0,8071		0,8377	0,4902	0,0316
A3 mg/l (c)	0,6576	0,8377		0,5884	0,0073
A4 mg/l (c)	0,3362	0,4902	0,5884		0,3136
A5 mg/l (c)	-0,0522	0,0316	0,0073	0,3136	



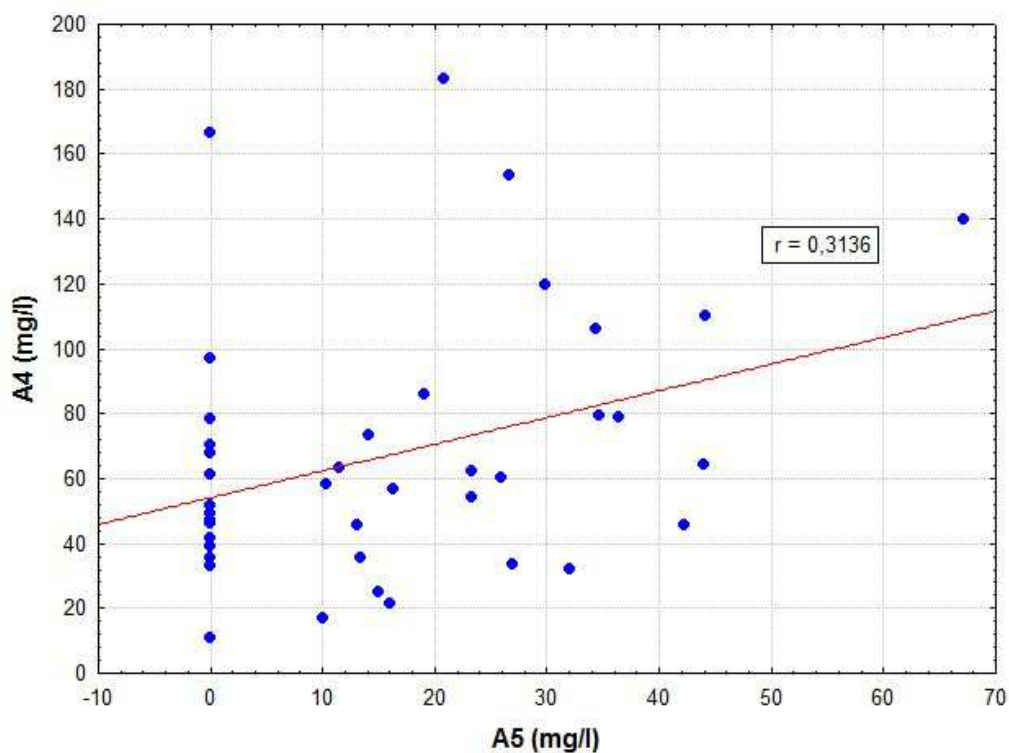
Ryc. 35. Wykres korelacji między wariantem A1 a wariantami A2, A3 i A4.



Ryc. 36. Wykres korelacji między wariantem A2 a wariantami A3 i A4.



Ryc. 37. Wykres korelacji między wariantem A3 a wariantem A4.



Ryc. 38. Wykres korelacji między wariantem A5 a wariantem A4.

5. Charakterystyka zmian stężeń i glikozylacji białek ostrej fazy w przypadku powikłań

W grupie pacjentów, u których wykonano zabieg ekstrakcji zęba i augmentacji zębodołu materiałem kośćozastępczym R. T. R. zaobserwowano jeden przypadek powikłania, które rzutowało na obraz wyników badań laboratoryjnych. U pacjentki rozwinął się ropień podśluzówkowy policzka, który był leczony według ogólnie przyjętych zasad: przez nacięcie i drenaż.

Stężenie CRP przed zabiegiem i 24 godziny po zabiegu miało wartości nieoznaczalne. Trzeci pomiar wykazał natomiast wartość 43 mg/l. Stężenie Hp oraz L2M zmieniło się rosnąco, ale zmiany te mieściły się w normie. Stężenie Cp przed zabiegiem mieściło się w normie a po zabiegu zarówno drugi jak i trzeci pomiar przekraczał górną granicę normy. Stężenie AT również wzrastało, jednak wartość pierwszego i drugiego pomiaru mieściły się w normie, wartość trzeciego pomiaru nieznacznie przekraczała górną granicę normy. Stężenie Tf zmieniło się nietypowo. W pomiarze drugim wartość stężenia Tf była wyższa niż w

miarze pierwszym, a wartość osiągnięta w miarze trzecim obniżyła się poniżej wartości stężenia w miarze pierwszym. Wszystkie zmiany mieściły się jednak w granicach normy. Stężenie AGP przekraczało nieznacznie normę już w pierwszym miarze i rosło dalej. W drugim dniu pomiaru profil glikozylacji był prawidłowy (typ 1, A), po 7 dniach od zabiegu profil glikozylacji wykazywał typ 4 (D), obecny był również wariant W3. Stężenie ACT w pierwszych dwóch miarach miało podobne wartości i mieściło się w normie, w trzecim miarze znacznie przekraczało górną granicę normy. Wykazano 4 typ glikozylacji (D), oraz wzrastające stężenie wariantu A5 w drugim i trzecim miarze.

Analiza stężeń CRP u pięciorga pacjentów, którzy przez wzgląd na resorpcję wyrostka zębodołowego nie zostali zakwalifikowani do leczenia implantologicznego wykazała, że poziom badanego białka utrzymywał się w okolicy wartości nieoznaczalnych we wszystkich miarach. Tylko u jednego pacjenta zanotowano wartość CRP 9 mg/l w miarze drugim.

Wartości stężeń Hp, AT, L2M oraz Cp przeważnie zmieniały się rosnąco i mieściły się w granicach normy. Zanotowano pojedyncze wartości pomiarów badanych białek zarówno poniżej jak i powyżej granic norm. Stężenia Tf u czworga pacjentów wzrosły w miarze drugim, a następnie ich wartości malały. Wszystkie zmiany stężeń przebiegały w granicach normy. U jednego pacjenta kinetyka Tf była odmienna – w miarze drugim zanotowano spadek stężenia, a w miarze trzecim jego wzrost. Wszystkie trzy otrzymane wartości stężeń przekraczały górną granicę normy. Stężenie AGP u trojga pacjentów w kolejnych miarach wzrastało mieszcząc się w granicach normy. U dwojga pacjentów wartości stężeń przekraczały górną granicę normy i zmieniały się malejąco. Przeważającym profilem glikozylacji AGP był typ 3 (C) – przewlekły, który w 2 przypadkach zmieniał się z czasem w typ 1 (A) – prawidłowy. Tylko u jednego pacjenta odnotowano w drugim i trzecim miarze wystąpienie typu glikozylacji 2 (B) – ostrego, i również tylko u tego pacjenta wystąpił wariant W3. Stężenie ACT zmieniało się przeważnie rosnąco, od wartości poniżej normy lub mieszczących się w normie aż do wartości ponadnormatywnych zanotowanych w trzecim miarze. U trojga pacjentów we wszystkich trzech miarach wystąpił 4 (D) typ glikozylacji – przewlekły zaostroszony, u dwojga typ 2 (B). U czworga pacjentów odnotowano obecność wariantu A5 we wszystkich trzech miarach. Szczegółowe dane przedstawione są w tabelach: XXI, XXII, XXIII, XXIV.

Tabela XXI. Profile glikozylacji AGP w trzech kolejnych pomiarach.

pomiar	pierwszy	drugi	trzeci
pacjent 1	3 (C)	1 (A)	1 (A)
pacjent 2	1 (A)	1 (A)	3 (C)
pacjent 3	3 (C)	3 (C)	3 (C)
pacjent 4	3 (C)	3 (C)	1 (A)
pacjent 5	4 (D)	2 (B)	2 (B)

Tabela XXIII. Profile glikozylacji ACT w trzech kolejnych pomiarach.

pomiar	pierwszy	drugi	trzeci
pacjent 1	2 (B)	2 (B)	1 (A)
pacjent 2	4 (D)	4 (D)	4 (D)
pacjent 3	4 (D)	4 (D)	4 (D)
pacjent 4	4 (D)	4 (D)	4 (D)
pacjent 5	2 (B)	2 (B)	2 (B)

1 (A), 2 (B), 3 (C), 4 (D) – profile glikozylacji,
 „-” wariant obecny,
 „+” wariant nieobecny.

Tabela XXII. Obecność wariantu W3 AGP w trzech kolejnych pomiarach.

pomiar	pierwszy	drugi	trzeci
pacjent 1	-	-	-
pacjent 2	-	-	-
pacjent 3	-	-	-
pacjent 4	-	-	-
pacjent 5	+	+	-

Tabela XXIV. Obecność wariantu A5 ACT w trzech kolejnych pomiarach.

pomiar	pierwszy	drugi	trzeci
pacjent 1	-	-	-
pacjent 2	-	-	-
pacjent 3	-	-	-
pacjent 4	-	-	-
pacjent 5	+	+	-

V. Omówienie wyników i dyskusja

Rehabilitacja protetyczna narządu żucia z zastosowaniem implantów, spełniająca estetyczne i funkcjonalne kryteria, wymaga podłoża kostnego o określonych parametrach morfologicznych. Aby uniknąć implantacji w trudnych warunkach, można zastosować metody zapobiegające utracie objętości kości wyrostka zębodołowego. Postępowanie terapeutyczne mające na celu zachowanie pożądanej wysokości i szerokości zębodołu po ekstrakcji zęba może opierać się na implantacji natychmiastowej lub spontanicznym, naturalnym gojeniu zębodołu i implantacji odroczonej. W przypadku niedostatecznej ilości kości własnej rozwiązaniem jest zastosowanie technik augmentacyjnych wykorzystujących błony zaporowe oraz materiały kościozastępcze. Literatura naukowa przedstawia liczne doniesienia, iż augmentacja zębodołu bezpośrednio po ekstrakcji jest uzasadnioną i skuteczną metodą zachowania objętości kości wyrostka zębodołowego przed planowaną implantacją (2, 24, 31, 37).

Skutkiem ekstrakcji zęba jest ekspozycja kości zębodołu na środowisko jamy ustnej oraz komplikacje w postaci zapalenia zębodołu, infekcji rany chirurgicznej czy nawet bakteriemii. Obnażona kość nie posiada mechanizmów obronnych chroniących zmineralizowaną powierzchnię przed kolonizacją bakteryjną. Ażeby zapobiec zapaleniu i martwicy kości organizm mobilizuje procesy odpowiedzialne za gojenie. Augmentacja może być skutecznym środkiem wspomagającym ochronę zębodołu i regenerację kości wyrostka zębodołowego (105).

Pacjenci zakwalifikowani do badania zostali poddani ekstrakcji zęba z zachowaniem zasad atraumatycznej techniki usuwania zębów. W pierwszym etapie następowało zwichnięcie aparatu zawieszeniowego zęba za pomocą przeznaczonych do tego celu dźwigni i luksatorów, a następnie użyto odpowiednich kleszczy do wyjęcia zęba z zębodołu. Minimalny uraz mechaniczny pozwolił na zachowanie wszystkich ścian zębodołu. Powyższy schemat postępowania stosowany był również w pracach innych badaczy (2, 38, 122).

Zębodoł po augmentacji materiałem kościozastępczym R.T.R. nasączonym krwią pacjenta zamykano szczelnie pełnej grubości płatem śluzówkowo – okostnowym. Odpowiednia długość płata zapewniła brak napięcia tkanek miękkich i sprzyjała prawidłowemu gojeniu. Irinakis w swojej pracy podkreślił mnogość potencjalnych powikłań związanych z nieprawidłowo zaprojektowanym płatem takich jak: utrata brodawek międzyczębowych na skutek zniszczenia ich przyczepu, recesje przy sąsiadujących zębach, nieestetyczna blizna,

dokoronowe przesunięcie dziąsła zrogowaciałego i jego brak w strefie estetycznej oraz zbyt napięcie płata i rozejście się brzegów rany (38). Zastosowana w niniejszej pracy technika skutkowała wystąpieniem obrzęku o małym nasileniu i zaczerwienieniem tkanek miękkich w pierwszych dniach po zabiegu. Opisane objawy ustępowały w ciągu tygodnia, co pokrywa się z doniesieniami innych autorów (24). W badaniach własnych rozejście się brzegów rany zaobserwowano u 5 pacjentów; u 2 po upływie doby od wykonania zabiegu, u pozostałych 3 po upływie 7 dni od wykonania zabiegu. U 3 pacjentów, u których augmentację wykonano materiałem w formie granulatu zaobserwowano utratę pojedynczych cząsteczek. U pacjentów, u których wszczepiono materiał β – tcp z kolagenem w kształcie stożka, powikłanie to nie przyniosło jakichkolwiek negatywnych konsekwencji. Brkovic i wsp. badając zachowanie objętości kości wyrostka zębodołowego po ekstrakcji zębów w szczęce po augmentacji zębodołów materiałem R.T.R. Cone zastosowali podobny protokół postępowania jak w niniejszej pracy, jednak zębodoł wypełniony materiałem kośćcozastępczym pozostawiono bez pokrycia płatem śluzówkowo – okostnowym. W opisanym badaniu nieosłonięty zębodoł po siedmiu dniach był kompletnie pokryty tkanką miękką. Nie zaobserwowano powikłań typu: utrata materiału, infekcja, wysięk czy przetoka (13). Również Aimetti nie pokrywał zębodołu płatem śluzówkowo – okostnowym. Zastosował jedynie szwy utrzymujące materiał kośćcozastępczy w zębodole. Całkowite pokrycie zębodołu nabłonkiem zanotował w ciągu 21 – 28 dni (2). W pracy Dominiak i wsp. 15 zębodołów wypełniono trójfosforanem wapnia w formie granulatu i pokryto nieresorbowalną błoną teflonową. Aż w 12 przypadkach doszło do odsłonięcia membrany. Pierwsze 2 przypadki odsłonięcia błony zaporowej zanotowano po 7 dniach od wykonania zabiegu. Średni czas, po którym następowało obnażenie materiału wynosił 3,5 tygodnia. Zamknięcie zębodołu po augmentacji płatem śluzówkowo – okostnowym zredukowało ryzyko utraty biomateriału w formie granulowanej oraz zakażenia w przypadku ekspozycji błon zaporowych (24). W świetle opisanych powyżej doświadczeń innych autorów, zamknięcie zębodołu wypełnionego granulowanym materiałem kośćcozastępczym wydaje się racjonalnym rozwiązaniem.

Leczenie pooperacyjne obejmowało doustne przyjmowanie antybiotyków, leków przeciwbólowych w razie potrzeby oraz płukanie jamy ustnej roztworem chlorheksydyny. Opisany protokół był zgodny z ogólnie przyjętym postępowaniem po wszczepieniu materiału kośćcozastępczego do zębodołu (2, 122).

Uraz chirurgiczny oraz wszczepienie ciała obcego wywołuje w organizmie gospodarza szereg reakcji fizjologicznych mających na celu przywrócenie homeostazy oraz akcelerację procesów naprawczych. Odpowiedź organizmu na bodziec uszkodzający nazywana jest reakcją ostrej fazy, w której aktywną rolę odgrywają białka osoczowe nazywane białkami ostrej fazy (32, 45, 47, 103). Wywołany w wyniku uszkodzenia stan zapalny może manifestować się objawami klinicznymi takimi jak: ból, zaczerwienienie, obrzęk czy wysięk (16). Wymiernym efektem jest wzrost lub obniżenie stężenia białek w osoczu krwi. Dynamika narastania/obniżania i powrotu do wartości normatywnych jest cechą indywidualną dla każdego białka. Białka pierwszego rzutu osiągają maksymalne stężenie po 24 – 48 godzinach, a spadek stężenia po eliminacji bodźca uszkodzającego trwa około 4 – 5 dni. Do tej grupy należy białko C – reaktywne oraz α 1 – antychymotrypsyna. Stężenie białek drugiego rzutu jest najwyższe po upływie 72 – 96 godzin. Do tej grupy należą pozostałe badane białka: ceruloplazmina, haptoglobina, α 1 – antytrypsyna, transferyna, α 1 – kwaśna glikoproteina oraz α 2 – makroglobulina (47, 55). Określenie stężeń badanych białek w 24 godziny oraz po 7 dobach od wykonaniu zabiegu ekstrakcji i augmentacji pozwoliło uwidocznić maksymalne ich wartości zarówno dla grupy pierwszego jak i drugiego rzutu. CRP jest uznane przez wielu autorów za czuły i niespecyficzny marker stanu zapalnego (56, 84, 106). Spadek stężenia transferyny – białka negatywnego jest znamienym markerem występowania zaburzeń równowagi organizmu pod wpływem czynników urazowych i bakteryjnych. Monitorowanie stężeń oraz profilów glikozylacji α 1 – kwaśnej glikoproteiny i α 1 – antychymotrypsyny pozwala na ocenę przebiegu gojenia ran pourazowych, pooperacyjnych, wystąpienia nadkażeń bakteryjnych czy martwicy (103). Białka biorą udział w procesie krzepnięcia, usuwania i regeneracji tkanek oraz zahamowania namnażania się bakterii (30, 32, 46, 103, 112). Jako wykładnik badań laboratoryjnych są przydatne w diagnostyce przebiegu stanów zapalnych, zakażeń oraz ocenie skuteczności antybiotykoterapii (8, 28, 49, 64, 79, 93). Wykorzystywane są również do monitorowania aktywności i leczenia choroby (103) oraz jako czynnik prognostyczny (14, 42, 88).

Białka ostrej fazy oceniono pod kątem ilościowym i jakościowym. Do oceny ilościowej – określenia stężenia białek w osoczu zastosowano immunoelektroforezę rakietską wg Laurella (59). Pod względem ilościowym oceniono stężenie: białka C – reaktywnego, ceruloplazminy, haptoglobiny, α 1 – antytrypsyny, transferyny, α 1 – kwaśnej glikoproteiny, α 1 – antychymotrypsyny oraz α 2 – makroglobuliny (59). Ocena jakościowa opiera się na określeniu profilu glikozylacji białek i została zbadana przy zastosowaniu immunoelektroforezy krzyżowej powinowactwa wg Børg – Hansena (11). Zbadano profile

glikozylacji AGP i ACT. Określone zmiany w profilach glikozylacji wyżej wymienionych białek mogą odzwierciedlać zaistnienie samego urazu oraz pozwalają na ocenę ciężkości urazu (103).

Białko C – reaktywne należy do grupy białek pozytywnych, czyli jego stężenie wzrasta po zadziałaniu czynnika urazowego lub infekcji. CRP jest również białkiem pierwszego rzutu, oznacza to, iż jego stężenie zaczyna narastać już 6 – 8 godzin po zadziałaniu bodźca, a wartości maksymalne osiąga po upływie 24 – 48 godzin. Spadek wartości CRP odnotowuje się w 4 – 5 dobie jeśli gojenie rany pourazowej lub pooperacyjnej przebiega prawidłowo lub jest wdrożone skuteczne leczenie infekcji (48, 55, 103). Prawidłowe stężenie CRP u osób zdrowych wynosi 0 – 5 mg/l. El – Hassan i wsp. badając stężenie CRP po urazach twarzo – czaszki zanotowali rozpiętość wartości stężeń od 14 do 237 mg/l (25). Miyawaki i wsp. przeprowadzili badanie stężenia CRP po zabiegach rejonu twarzo – czaszki w zależności od czasu trwania i rozległości operacji. Wyodrębnili 3 grupy badawcze: do pierwszej zaliczono zabiegi trwające mniej niż 4 godziny, takie jak usunięcie małej torbieli lub małego guza łagodnego, do drugiej – zabiegi trwające 4 – 8 godzin, np. ekstirpacja małego guza złośliwego, dużej torbieli żuchwy, osteotomia i rekonstrukcja żuchwy. Trzecia grupa obejmowała zabiegi trwające ponad 8 godzin, do których zaliczono operacje radykalnego usunięcia nowotworów złośliwych, głównie raków. Po 24 godzinach od zabiegu uzyskano następujące średnie stężenia CRP: w grupie pierwszej – 3,9 mg/l, w grupie drugiej – 5,6 mg/l, w grupie trzeciej – 8,0 mg/l (75). W badaniach własnych, u pacjentów przed wykonaniem zabiegu ekstrakcji zęba i augmentacji zębodołu materiałem kościozastępczym R.T.R., średnie stężenie CRP wynosiło 0,23 mg/l. Dobę po wykonaniu zabiegu wartość średnia CRP obniżyła się do poziomu 0,18 mg/l, a 7 dni po zabiegu osiągnęła najwyższy spośród 3 pomiarów poziom 0,43 mg/l. Średnie wartości stężeń CRP w trzech kolejnych pomiarach nie przekroczyły normy (ryc.1), ale uwagę zwraca jednostkowa, najwyższa wartość stężenia CRP w pomiarze trzecim (43 mg/l). Różnice stężeń badanego białka między poszczególnymi pomiarami nie były istotne statystycznie. Uzyskane wartości stężeń CRP we własnym materiale badawczym wydają się być adekwatne do zakresu wykonywanego zabiegu chirurgicznego w porównaniu do opisanych powyżej obserwacji innych autorów.

Pomiar stężenia CRP w badaniach Kurasa dotyczących wszczepiania implantów stomatologicznych wykazał istotny statystycznie wzrost do wartości 4,3 mg/l w pierwszej dobie po zabiegu w przypadku wszczepienia dwóch lub więcej implantów. Wszczepienie jednego implantu wywoływało tylko nieznaczne wahania stężenia CRP. Autor podkreślił, iż

wzrost stężenia CRP 24 godziny po zabiegu mógł wskazywać na wystąpienie ostrego stanu zapalnego. Wszystkie pomiary mieściły się jednak w granicach normy, a tydzień po zabiegu wartości wykazywały tendencję spadkową. Kuras wykazał również, iż wartości stężeń CRP badanych po zabiegu operacyjnego usunięcia zęba mądrości kształtowały się podobnie jak w przypadku wszczepienia dwóch lub więcej implantów. Znaczący statystycznie wzrost stężenia CRP został odnotowany w dobę po zabiegu (54). Potwierdzają to prace innych badaczy (14). Wyniki badań własnych sugerują, iż zabieg ekstrakcji zęba i augmentacji zębodołu materiałem kościozastępczym jest mniej traumatyczny dla organizmu niż implantacja dwóch i więcej wszczepów czy operacyjne usunięcie zęba mądrości.

Procedura wszczepienia materiału alloplastycznego R. T. R. zastosowana w niniejszym badaniu obejmowała osłonę antybiotykową w postaci preparatu klindamycyny w dawce 600 mg przyjmowanej 2 razy dziennie. Badanie porównawcze Morawca zastosowania miejscowego i ogólnego gentamycyny w przebiegu gojenia ran pooperacyjnych w obrębie jamy ustnej nie wykazało przekroczenia górnej granicy normy stężenia CRP w osoczu (77).

Kim i Yoon przy pomocy badania poziomu CRP porównali uraz tkankowy powstały wskutek histerektomii klasycznej i laparoskopowej. W pierwszym przypadku pooperacyjne średnie stężenie CRP wynosiło 39,5 mg/l, a po laparoskopii 10,8 mg/l (43). W zabiegach ortopedycznych poziom CRP również wzrastał znacząco powyżej normy w drugiej dobie po operacji (27, 100). Shen i wsp. wykonując artroplastykę 4 różnymi metodami zanotowali, iż pozabiegowy wzrost CRP nie jest uzależniony od operowanej okolicy czy ilości preparowanej tkanki miękkiej, ale od rozległości uszkodzenia kości i szpiku kostnego (100). Wzrost wartości CRP został również odnotowany po zabiegach implantacji biomateriałów w operacjach kardiologicznych oraz gastroenterologicznych. Wykazano znaczące różnice poziomów stężenia CRP w zależności od rozmiaru oraz rodzaju zastosowanego materiału (3, 52, 62, 96).

Podwyższone ponad normę wartości CRP w badaniach własnych uzyskano u sześciorga pacjentów, i poza jednym wyjątkiem, dotyczyło to wyłącznie jednego z trzech pomiarów. Najwyższą wartość CRP zanotowano u pacjentki, u której jako powikłanie rozwinął się podśluzówkowy ropień policzka. Stężenie CRP w trzecim pomiarze, wykonanym 7 dni po zabiegu, wyniosło 43 mg/l. Znamienny wzrost stężenia CRP korelował z obrazem klinicznym powikłania. U kolejnego pacjenta, u którego wartość stężenia CRP wynosiła 9 mg/l, wystąpiła resorpcja wyrostka zębodołowego uniemożliwiająca implantację wszczepu stomatologicznego. U pozostałych pacjentów podwyższone stężenia CRP nie były związane z klinicznymi objawami zapalenia w obrębie rany pooperacyjnej. Kuras udokumentował

podobny wzrost poziomu CRP (8 – 9 mg/l) w przypadkach braku integracji z kością 3 implantów stomatologicznych (54).

Wzrost stężenia AGP odzwierciedla zaistnienie samego urazu, a utrzymywanie się jego podwyższonej wartości może sugerować nadkażenie bakteryjne. W związku z tym ocena stężenia AGP wydaje się być przydatna w monitorowaniu zakażeń i skuteczności terapii antybiotykowej (103).

Obserwacje średniego stężenia AGP w trzech kolejnych pomiarach w badaniach własnych wykazały tendencję wzrostową, a najwyższa wartość AGP została osiągnięta w 7 dobie po zabiegu usunięcia zęba i implantacji materiału kośćozastępczego R. T. R. Wzrost stężenia między pierwszym i trzecim pomiarem był istotny statystycznie. AGP należy do białek drugiego rzutu, których stężenie jest najwyższe po upływie 72 – 96 godzin po zabiegu, co potwierdzają uzyskane wyniki. W badaniach Kurasa podobna dynamika zmian stężenia AGP ujawniła się zarówno w przypadku operacyjnego usunięcia zęba mądrości jak i zabiegu wszczepienia dwóch lub więcej implantów. Jednak najwyższe wyniki uzyskane w 7 dobie po zabiegu nie przekraczały górnej granicy normy (54). W niniejszej pracy średnie stężenie AGP przekraczało nieznacznie górną granicę normy jeszcze przed wykonaniem zabiegu, stąd rosnące wartości w pomiarze drugim i trzecim również osiągały wartości powyżej górnej granicy normy. Rickert na modelu zwierzęcym wykazała, iż zastosowanie biomateriału w celu uzupełnienia ubytku ściany żołądka nie powoduje istotnego statystycznie wzrostu stężenia AGP i Hp w porównaniu do grupy kontrolnej, u której został wykonany podobny zabieg, lecz bez implantacji biomateriału (96). Dane uzyskane na podstawie własnych obserwacji jak i wyniki opisywane przez Rickert sugerują, że zastosowanie biomateriału podczas zabiegu operacyjnego nie zmienia istotnie kinetyki AGP i Hp.

AGP oraz ACT należą do glikoprotein, białek połączonych z resztami węglowodanowymi, które tworzą rozgałęzione łańcuchy. Charakterystyczną cechą tych białek, określaną mianem mikroheterogenności, jest różnorodny charakter reszt cukrowych. W surowicy zdrowego człowieka ilość białka o takiej samej budowie cukrowych łańcuchów bocznych jest stała. W stanach patologicznych te proporcje ulegają zmianie. Względny wzrost występowania struktur dwuantenarnych notuje się w stanach ostrych, w stanach przewlekłych oraz w przebiegu ciąży występuje przewaga struktur trój – i czteroantenarnych (5, 19, 103).

Proporcje wariantów AGP w surowicy zdrowego człowieka są stałe. Dowiedziono, iż stężenie wariantu W0 i W1 ma podobną wartość, stężenie wariantu W2 jest znacznie niższe, a w ostrych stanach zapalnych pojawia się wariant W3 oraz dochodzi do zaburzenia istniejących wcześniej proporcji wariantów (103). Potwierdzają to wyniki badań Markuszewskiego i wsp.,

którzy odnotowali obecność wariantu W3 AGP u 71 – 95% chorych po zabiegu endoprotezoplastyki (70, 71). Badania własne glikozylacji AGP ujawniły, że już przed wykonaniem zabiegu wartość stężenia W0 i W1 nieznacznie przekraczała normę, a stężenie wariantu W2 było nieco obniżone. Wykazano również obecność wariantu W3 (1%). W kolejnych pomiarach poziomy stężenie poszczególnych wariantów ulegały małym fluktuacjom oscylując w granicach normy. W pomiarze drugim i trzecim zanotowano spadek poziomu stężenia wariantu W3 o 0,5%. Dominującym typem glikozylacji u pacjentów poddanych zabiegowi usunięcia zęba z jednoczesną implantacją zębodołu materiałem R. T. R. był typ trzeci (C), czyli u większości pacjentów zanotowano proces przewlekły. U pacjentów, u których dodatkowo wystąpił wariant W3, profil glikozylacji typu czwartego (D) odpowiadał przebiegowi procesu przewlekłego zaostrzonego.

Glikozylacja może zostać opisana przy pomocy wartości liczbowej nazwanej współczynnikiem reaktywności – RC (reactivity coefficient). Według definicji współczynnik reaktywności to proporcja wszystkich wariantów reagujących z konkanawaliną A do wariantu niereagującego. W warunkach fizjologicznych wartość RC dla AGP mieści się w przedziale 1,2 – 1,5 (54, 103). Wystąpienie ostrego stanu zapalnego w organizmie stymuluje pojawienie się wariantów reagujących z konkanawaliną A, w związku z czym wartość AGP – RC wzrasta. Proces przewlekły indukuje syntezę wariantów niereagujących i obniżenie wartości AGP – RC. W wykonanym badaniu uzyskane wartości AGP – RC w trzech kolejnych pomiarach mieściły się w normie, pozostając w jej dolnej granicy. Wartości pomiarów 24 godziny po zabiegu oraz tydzień po zabiegu były równe i tylko minimalnie większe od wartości AGP – RC otrzymanej w pierwszym pomiarze przed zabiegiem (tab. IV, ryc. 6). Różnice wartości współczynnika reaktywności w trzech pomiarach nie były istotne statystycznie. Ten nieznaczny wzrost wartości współczynników uzyskanych w badaniach własnych jest zgodny z kierunkiem rozwijania się ostrego stanu zapalnego, ale różnice w wartościach są zbyt małe, aby to potwierdzić. Po dużych zabiegach operacyjnych takich jak plastyka stawu biodrowego, zanotowano najwyższy poziom AGP – RC w drugiej dobie po zabiegu (27, 103). U pacjentów po endoprotezoplastyce bezcementowej wartość AGP – RC normalizowała się po 2 tygodniach, a po endoprotezoplastyce cementowej wartość współczynnika reaktywności nadal wzrastała. Markuszewski i wsp. udokumentowali utrzymywanie się przewlekłego stanu zapalnego przez długi okres czasu po zabiegach wszczepienia endoprotezy stawu biodrowego. Obserwowane w okresie 6 miesięcy zmiany stężenia AGP, wartości AGP – RC oraz profilu glikozylacji AGP sugerują, iż przewlekły stan zapalny jest wyraźniej zaznaczony po zabiegu endoprotezoplastyki cementowej (70, 71). W

zesztywniającym zapaleniu stawów kręgosłupa AGP – RC jest obniżony, jego wartości mieszczą się zwykle w przedziale 0,9 – 1,0. Jeszcze niższe wartości notuje się w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów: AGP – RC: 0,6 – 1,0. Wyniki te świadczą o toczącym się stanie przewlekłym w przebiegu wymienionych chorób. W toczniu rumieniowym AGP – RC ma wartości prawidłowe, a podwyższone wartości występują w chorobie Still'a u dorosłych (103).

W przeprowadzonych badaniach własnych glikozylacji AGP, wariant W3, występujący wyłącznie w ostrym stanie zapalnym, zanotowano u dziesięciorga pacjentów. Obecność W3 wykazano u pacjentki z ropniem policzka w pomiarze trzecim oraz u pacjenta, którego resorpcja wyrostka zębodołowego wyeliminowała z dalszych etapów leczenia. U tego pacjenta nie odnotowano jednak podwyższonego stężenia CRP.

ACT należy do białek pierwszego rzutu, jego stężenie osiąga najwyższy poziom 24 godz. po zadziałaniu bodźca (47, 55). Jego główną funkcją jest hamowanie proteaz, przede wszystkim chymotrypsyny. Stężenie ACT wzrasta w przypadku ostrych i przewlekłych stanów zapalnych, jak również w chorobach nowotworowych i martwiczych (103). Po zabiegu usunięcia zęba z jednoczesną implantacją materiału kościozastępczego R. T. R. średnie stężenie ACT 24 godziny po zabiegu mieściło się w normie, a tydzień po zabiegu wzrosło do wartości przekraczającej górną granicę normy. Ostatni wynik świadczy o tym, iż nie doszło do normalizacji wartości ACT zgodnego z jego dynamiką w warunkach gdy bodziec uszkadzający został usunięty. Różnica między pomiarem pierwszym i trzecim była istotna statystycznie. Wyniki badań innych autorów ujawniają, iż podwyższone stężenie ACT występuje szczególnie u chorych z izolowanym urazem czaszkowo – mózgowym lub wielonarządowym, gdzie uraz czaszkowo – mózgowy występował jako komponenta dominująca. Zanotowano również, że większy wzrost ACT występuje w przypadku zakażenia bakteriami Gram – ujemnymi niż Gram – dodatnimi. Zmiana stężenia ACT odzwierciedla uszkodzenie tkanek jak i wielkość martwicy tkanek (103). Znamiennie podwyższone wartości stężeń ACT wykazano również w przebiegu erythrodermii oraz u chorych z zatorowością płucną (103, 104).

W badaniu własnym wartości współczynnika ACT – RC uzyskane w trzech kolejnych pomiarach mieściły się w normie (2,76 – 5,10), a najwyższa wartość współczynnika została osiągnięta 24 godziny po zabiegu. Powyższy wynik może obrazować największą intensywność stanu zapalnego występującą dobę po wykonaniu zabiegu usunięcia zęba i wszczepienia materiału kościozastępczego.

Glikozylacja ACT w warunkach fizjologicznych wykazuje występowanie czterech wariantów: A1, A2, A3, A4. Najślabiej reagującym wariantem z lektyną jest wariant A1, a najsilniej reagującym jest wariant A4. W ostrych stanach zapalnych, jak również u dzieci, pojawia się wariant bardzo silnie reagujący z konkanawaliną A – wariant A5 (103).

W badaniu własnym glikozylacji ACT po ekstrakcji zęba i augmentacji zębodołu materiałem R. T. R. wykazano przewagę stężenia wariantu A2 oraz A3, które miały podobne wartości. Najniższą wartość stężenia zanotowano w przypadku wariantu A4. Wykazano również obecność wariantu A5, którego stężenia stanowiło zaledwie 4%. U badanych pacjentów zarówno w pierwszym jak i w drugim pomiarze wykazano, że dominującym typem glikozylacji był typ czwarty (D), nieco mniej pacjentów prezentowało trzeci typ glikozylacji (C). Powyższe wyniki wskazują, że u pacjentów po zabiegu pojawił się przewlekły zaostriżony lub przewlekły stan zapalny. Przewagę wariantów ACT słabo reagujących z konkanawaliną A zanotowano również w przebiegu choroby Still'a u dzieci. W reumatoidalnym zapaleniu stawów udokumentowano wyraźnie przewlekły profil glikozylacji (103).

Transferyna należy do grupy białek negatywnych, co oznacza, że jej stężenie maleje po zadziałaniu bodźca uszkodzającego. W przeprowadzonym badaniu, dobę po zabiegu operacyjnym zaobserwowano obniżenie poziomu średniego stężenia transferyny w stosunku do pierwszego pomiaru wykonanego przed zabiegiem. Po siedmiu dniach stężenie białka wzrosło. Wszystkie wyniki pomiarów mieściły się w normie. Podobne wyniki uzyskał Kuras po zabiegu wszczepiania dwóch i więcej implantów. Przedstawiona dynamika zmian stężeń transferyny pozwala wnioskować o dość niskiej aktywności zapalnej występującej po opisanych wyżej zabiegach. Zabieg operacyjnego usunięcia zatrzymanych zębów mądrości inicjował spadek stężenia Tf zarówno dobę jak i tydzień po zabiegu, co świadczy o wywołaniu ostrego stanu zapalnego (54).

Badanie zmian stężeń $\alpha 2$ – makroglobuliny po zabiegu usunięcia zęba i augmentacji zębodołu materiałem R. T. R. wykazało nietypową kinetykę dla omawianego białka. Jego stężenie nie osiągało dolnej granicy normy już w pomiarze pierwszym przed zabiegiem. Kolejne dwa pomiary osiągały coraz niższe wartości. L2M jest białkiem pozytywnym, stąd spadek jego stężenia pokrywa się z ustępowaniem zapalenia, a nie z jego rozwojem. Wzrost stężenia L2M zanotowany został w przebiegu ciąży, co wiąże się ze zwiększeniem produkcji tego białka przez łożysko (119).

Badanie stężeń AT i Hp po zabiegu ekstrakcji zęba i jednoczesnej implantacji z użyciem materiału R. T. R. wykazało tendencję wzrostową w funkcji czasu, wszystkie pomiary

mieściły się jednak w granicach normy. Stężenie Cp również wzrastało, a wartość trzeciego pomiaru nieznacznie przekraczała górną granicę normy. Wyniki te potwierdzają przynależność wymienionych białek do grupy białek pozytywnych oraz białek drugiego rzutu, których maksymalne stężenie zostaje osiągnięte po 72 – 96 godzinach od urazu (47, 55). Różnice stężeń oscylujące w granicach normy świadczą o małym nasileniu procesu zapalnego.

Badanie korelacji porządku rang Spearmana dla wartości AGP i ACT uzyskanych we własnym materiale ujawniło istnienie korelacji przeciętnej między stężeniem AGP a ACT dla pierwszego i drugiego pomiaru. W pomiarze trzecim, wykonanym tydzień po zabiegu, współczynnik korelacji między AGP a ACT miał wartość nieistotną statystycznie. Oba badane białka należą do białek pozytywnych, których stężenie wzrasta po zadziałaniu bodźca 2 – 4 krotnie. Uzyskane wyniki badań wskazują na wzrost stężenia zarówno AGP jak i ACT dobowo po wykonaniu zabiegu – w pomiarze drugim. W pomiarze trzecim, wykonanym 7 dni po zabiegu usunięcia zęba i implantacji zębodołu materiałem R. T. R., wartość AGP osiągnęła najwyższy poziom 1020 mg/l, co jest zgodne z kinetyką białek drugiego rzutu, do których należy AGP. Z kolei ACT należy do białek pierwszego rzutu, których maksymalne stężenie występuje 24 – 48 godzin od zadziałania bodźca uszkodzającego, a po jego wyeliminowaniu dochodzi do spadku poziomu stężenia w ciągu kilkunastu godzin. W przeprowadzonym badaniu zanotowano jednak odmienną dynamikę zmian stężenia ACT w kolejnych pomiarach: dobowo po zabiegu poziom stężenia przewyższał poziom pomiaru pierwszego, ale z czasem stężenie rosło dalej i tydzień po zabiegu osiągnęło swoją najwyższą wartość. Może to wskazywać na przyczynę braku korelacji między wartościami stężeń AGP i ACT w pomiarze trzecim. Stymulacja produkcji opisywanych białek zachodzi pod wpływem różnych cytokin, AGP jest produkowana pod wpływem IL – 1, a ACT pod wpływem IL – 6. Interleukina 6 synergistycznie z interleukiną 1 stymuluje produkcję białek I typu, do których należy AGP. Antagonistyczne działanie IL – 6 i IL – 1 reguluje syntezę białek II typu, do których należy ACT (103). Miyawaki i wsp. udokumentowali istnienie znaczącej korelacji pomiędzy stężeniem IL – 6 a CRP, należącym do białek typu I, po zabiegach operacyjnych w obrębie twarzy – czaszki (75).

Dalsze badania własne wykazały bardzo wysoka korelację, a w trzecim pomiarze prawie pełną, pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a wariantami W0 oraz W1. W przypadku ACT, korelację prawie pełną lub bardzo wysoką zanotowano w stosunku do wariantu A2, a wysoką w stosunku do wariantów A1 oraz A3. Wartości całkowitego stężenia AGP i ACT wyraźnie

korelowały z wariantami najslabiej reagującymi z konkanawaliną A, wskazując tym samym na obecność przewlekłego stanu zapalnego.

W wykonanych testach zanotowano bardzo wysoką korelację między wariantami W0 i W1 oraz między W1 i W2 w pomiarze pierwszym, W0 i W2 w pomiarze drugim oraz W0 i W1 w pomiarze trzecim. Tak silna korelacja pomiędzy wariantami może sugerować, iż są one syntetyzowane równolegle (119). W przypadku ACT bardzo wysoka korelacja występowała między A1 i A2 oraz A2 i A3 we wszystkich trzech pomiarach. Wysoka korelacja dotyczyła wariantów A1 i A3 również we wszystkich trzech pomiarach, a w pomiarze drugim zanotowano ją również w przypadku wariantów A2 i A4 oraz A3 i A4.

Ujemne korelacje o stopniu przeciętnym występowały między wariantami W0 i W3 w pomiarze pierwszym i drugim dla AGP oraz między A1 i A5 w pomiarze pierwszym dla ACT. Jest to charakterystyczny obraz dla wykluczających się wzajemnie markerów stanu zapalnego ostrego i przewlekłego.

Wittmann i wsp. w swojej pracy na podstawie analizy korelacji między całkowitym stężeniem Cp a jej wariantami (C1 – C5) u kobiet w ciąży wykazali, iż warianty C1 i C2 były konstytutywne i wykazywały stałe stężenia. Badając korelację między całkowitym stężeniem L2M a jej wariantami (M1 – M4), udokumentowali również, że M2 jest w przebiegu ciąży wariantem dominującym o stałym poziomie syntezy (119). Odrowąż – Sypniewska, obserwując wskaźniki zapalenia w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów, odnotowała wysoką korelację pomiędzy wartością OB a stężeniem CRP (84).

Z obserwacji własnych przeprowadzonych po zabiegu ekstrakcji i augmentacji zębodołu materiałem kościozastępczym R. T. R. wynika, że zastosowany biomateriał nie wpływa negatywnie na proces gojenia rany pooperacyjnej.

Z uzyskanej analizy wyników ilościowych i jakościowych zmian białek ostrej fazy można wnioskować, że zarówno uraz spowodowany usunięciem zęba jak i wszczepienie syntetycznego biomateriału wywołuje w organizmie stan zapalny o miernym nasileniu.

Stężenia badanych białek, z wyjątkiem L2M, wykazywały różnice poziomów zgodnie z ich kinetyką w stanie zapalnym, jednak były to zwykle wahania w granicach przyjętych norm. Stężenie białka AGP było nieznacznie podwyższone przed wykonaniem zabiegu, tak więc jego dalszy wzrost ponad górną granicę normy jest zgodny z dynamiką grupy białek drugiego rzutu.

Należy wziąć pod uwagę, że inicjacja syntezy białek ostrej fazy podlega przede wszystkim wpływowi cytokin. Jednak na wielkość i czas trwania tej syntezy mają wpływ również

czynniki działające w tym samym okresie jak i przed rozpoczęciem reakcji ostrej fazy. Do czynników tych należy niedożywienie, niedobór witaminy C, przewlekły stres, nadmierny wysiłek fizyczny czy nadużywanie alkoholu (53, 103).

Najbardziej czułe i reprezentatywne białko CRP wykazywało różnice w stężeniu w granicach normy. Współczynniki reaktywności AGP – RC i ACT – RC najwyższe wartości osiągały 24 godziny po wykonaniu zabiegu, można więc uznać, że po upływie doby stan zapalny miał największe nasilenie. Potwierdzają to również zmiany negatywnego białka ostrej fazy – transferyny. Profil glikozylacji AGP i ACT odpowiada przebiegowi przewlekłego stanu zapalnego o miernym nasileniu. Uzyskane wyniki badań pozwalają na stwierdzenie, iż ekstrakcja zęba z natychmiastową augmentacją zębodołu syntetycznym β – tcp wywołuje słabą reakcję ostrej fazy. W związku z powyższym podwyższone wartości białek ostrej fazy, szczególnie CRP i ACT mogły być spowodowane powikłaniami w postaci zakażeniem rany, czego przykładem może być obraz rozkładu stężeń wymienionych białek u pacjentki, u której rozwinął się ropień policzka. U pięciorga pacjentów, u których wystąpiła resorpcja uniemożliwiająca w późniejszym okresie implantację wszczepu stomatologicznego, zmiany stężeń badanych białek ostrej fazy nie były na tyle charakterystyczne, aby na podstawie ich analizy móc prognozować tego typu komplikację. Wydaje się, że jedynie stężenie ACT, badanie profilu glikozylacji ACT oraz wykrycie obecności wariantu A5 może mieć znaczenie w przewidywaniu wystąpienia resorpcji. Powyższe wnioski wymagają jednak dalszych, szeroko zakrojonych badań opierających się na znacznie większej grupie pacjentów.

VI. Wnioski

1. Zabieg usunięcia zęba i jednoczesnej implantacji materiału kośćozastępczego R. T. R. nie wywiera negatywnego wpływu na przebieg gojenia rany pooperacyjnej.
2. Pomimo braku klinicznych objawów zapalenia, analiza zmian stężeń oraz profilu glikozylacji białek ostrej fazy po zabiegu usunięcia zęba i implantacji materiału R. T. R. obrazuje występowanie przewlekłego stanu zapalnego o miernym nasileniu.
3. Wzbogacenie materiału R. T. R. kolagenem nie wpływa na przebieg procesu zapalnego po augmentacji.
4. Wyraźny wzrost stężenia białka CRP i ACT w przypadku powikłania o charakterze ropnym potwierdza przydatność diagnostyczną analizy zmian stężeń wymienionych białek.
5. W przypadkach wystąpienia niepożądanego resorpcji kości dyskwalifikującej pacjentów do leczenia implantologicznego, stężenia oraz profile glikozylacji badanych białek ostrej fazy zmieniają się w niejednorodny sposób, zatem nie mogą stanowić markeru prognostycznego.

VII. Streszczenie

Zastosowanie implantów stomatologicznych w wielu przypadkach staje się standardem współczesnej rehabilitacji narządu żucia. Utrata naturalnego uzębienia prowadzi do przebudowy i resorpcji podłoża kostnego, co ogranicza możliwości wszczęcia implantów. Rozwiązaniem problemu zaniku kości jest profilaktyczne lub terapeutyczne zastosowanie materiałów kośćcozastępczych. Stosowane w chirurgii stomatologicznej materiały kośćcozastępcze dzieli się na : autogenne, allogenne, ksenogenne oraz alloplastyczne. Materiał autogeny, jako jedyny spośród wyżej wymienionych, posiada potencjał osteoindukcyjny oraz osteokondukcyjny, jednak nie zawsze można go pozyskać w odpowiedniej ilości i jakości. Ze względu na swobodny dostęp, brak ryzyka wywołania odpowiedzi alergicznej oraz transmisji chorób, najczęściej wybieranymi przez klinicystów biomateriałami są te z grupy materiałów alloplastycznych.

Uraz związany z wszczęciem biomateriału może w organizmie wywołać reakcję charakteryzującą się zmianami ilościowymi i jakościowymi białek ostrej fazy. Białka te stanowią konstytutywny składnik osocza, lecz w stanach zaburzonej homeostazy ich stężenie ulega fluktuacjom. Pod wpływem urazu, infekcji czy zabiegu operacyjnego stężenie określonych białek może ulegać podwyższeniu lub obniżeniu w stosunku do wartości prawidłowej, z czym wiąże się ich podział na pozytywne i negatywne. Bof klasyfikowane są również na podstawie dynamiki i czasu powstania zmiany stężenia. Ich funkcja polega przede wszystkim na regulacji i ograniczaniu procesu zapalnego poprzez hamowanie proteaz, modulację funkcji granulocytów i makrofagów oraz odpowiedzi immunologicznej. Biorą również udział w transporcie metali i procesie krzepnięcia. Ich cechą jest również mikroheterogenność. Zjawisko to polega na występowaniu określonych wariantów tego samego białka, różniących się od siebie strukturą łańcuchów oligosacharydowych, dołączonych do łańcucha proteinowego. W warunkach zaburzenia równowagi organizmu dochodzi do zmian proporcji poszczególnych wariantów. Opisany fenomen stał się przydatny klinicznie: w wykrywaniu zakażeń, ocenie ciężkości stanu zapalnego w organizmie powstałego w wyniku choroby, urazu czy zabiegu operacyjnego, ocenie skuteczności podjętej terapii oraz prognozowaniu wyników leczenia. Piśmiennictwo naukowe przedstawia nieliczne badania dotyczące zmian ilościowych i/lub jakościowych białek ostrej fazy po zabiegach implantacji biomateriałów w organizmie ludzkim. W dostępnej literaturze nie spotkałam się z doniesieniami na temat materiałów kośćcozastępczych stosowanych w jamie ustnej oraz ich wpływie na bof.

W badaniach własnych podjęłam próbę oceny zmian ilościowych i jakościowych wybranych białek ostrej fazy po zabiegu ekstrakcji zęba i augmentacji zębodołu materiałem kośćcozastępczym R. T. R. firmy Septodont.

Badania zostały przeprowadzone w grupie 40 pacjentów obojga płci w wieku od 22 do 56 roku życia. Średnia wieku wynosiła 32 lata. Kryterium kwalifikacji pacjenta do badania stanowiło: obecność zęba ze wskazaniem do jego ekstrakcji oraz dobry ogólny stan zdrowia. Zabieg usunięcia zęba i aplikacji materiału kośćcozastępczego R. T. R. do zębodołu przeprowadzono w znieczuleniu miejscowym. Zastosowany biomateriał dostępny jest w dwóch postaciach: stożka i granulatu. R. T. R. jest syntetycznym trójfosforanem wapnia (β -tcp). Forma stożka jest wzbogacona kolagenem wołowym. Wybór postaci aplikowanego biomateriału był przypadkowy. W celu uzyskania osocza do badań stężeń białek ostrej fazy pobierano trzykrotnie krew od pacjentów z żyły odłokciowej: bezpośrednio przed zabiegiem, dobę oraz 7 dni po zabiegu. Oceniono stężenie następujących białek: CRP, AGP, ACT, AT, Cp, Hp, Tf i L2M. Wykonano również analizę zmian profilu glikozylacji AGP oraz ACT. Oznaczenie stężenia bof wykonano przy użyciu immunoelektroforezy rakietkowej według Laurella, a oznaczenie profilu glikozylacji – dzięki metodzie immunoelektroforezy krzyżowej powinowactwa według Bøg – Hansena.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione w formie tabel i rycin obrazujących zmiany stężeń oraz profile glikozylacji bof w czasie, jak również zachodzące między nimi korelacje. Powyższe dane liczbowe zostały również poddane analizie statystycznej.

Na podstawie uzyskanych wyników badań można wnioskować, iż pojedyncza ekstrakcja zęba i augmentacja zębodołu stanowią niewielki uraz dla ustroju, czego dowodem były nieznaczne zmiany w stężeniach białek ostrej fazy.

Najbardziej wyraźne zmiany stężeń uzyskano dla białka C – reaktywnego i ACT.

Profile glikozylacji AGP i ACT w przeprowadzonym badaniu były typowe dla przebiegu zapalenia przewlekłego lub przewlekłego zaostrzonego.

Zdecydowane różnice stężenia CRP przekraczające granicę normy uzyskano w przypadku powikłań: ropnia podśluzówkowego oraz resorpcji wszczepionego materiału.

Otrzymane wyniki sugerują, iż ocena ilościowa i jakościowa białek ostrej fazy może być przydatna w przypadku monitorowania pojawienia się powikłań o charakterze zapalnym po zabiegu ekstrakcji i augmentacji zębodołu materiałem R. T. R.

VII. Summary

In many cases dental implants are becoming a standard in the masticatory system rehabilitation of today. The loss of natural dentition produces compromised and resorbed bone thus limiting implants placement options. Bone loss is prevented or treated by the application of various bone graft materials. They are divided into: autograft, allograft, xenograft and alloplastic materials. Autografts, as the only ones among those mentioned, have an osteoinductive and osteoconductive potential. However, not always can they be harvested in desirable quantity and quality. The clinicists most often choose alloplastic materials due to their availability and no risk of allergic reaction or disease transmission involved.

Trauma produced by grafting a biomaterial into a body may bring about a reaction characterized by qualitative and quantitative changes in acute phase proteins (apps). These proteins are an essential component of blood plasma, but in disturbed homeostasis their concentration changes. With an infection, trauma or operation the concentration of certain proteins may increase or decrease comparing to the norm. Consequently, these proteins are divided into positive and negative ones. They are also classified as to their dynamics and the time of concentration change.

Their function is basically to control and limit inflammatory process what results from proteases inhibition, from granulocytes and macrophages function modulation, and from the modulation of immune response. They also participate in the transport of metals and clotting process. They are microheterogenic too. Microheterogeneity is the presence of specific variants of the same protein with different oligosaccharide chains structure, attached to a protein chain. When the body balance is impaired a change in proportions of individual variants takes place. The described phenomenon has become clinically useful to detect infections, to assess severity of the inflammation caused by a disease, trauma or operation, to evaluate effectiveness of the undertaken treatment, and to predict treatment results. Available literature presents scarce studies concerning quantitative and/or qualitative changes of acute phase proteins following implantation of biomaterials in a human body. In the available literature I have not encountered any reports on bone graft materials used in the oral cavity and their impact on apps. In my own studies I have attempted to assess quantitative and qualitative changes of chosen acute phase proteins following a tooth extraction and socked preservation with the R. T. R. bone graft material manufactured by Septodont.

The study was performed on a group 40 patients of both sexes aged 22 – 56 years. The average age was 32 years. Patients were qualified to enter the study if they had a tooth to be

extracted and were in good general health. Tooth extraction and R. T. R. bone graft material application was performed under local anaesthesia. The applied biomaterial presentation was granules and cones. R. T. R. is a synthetic tricalcium phosphate (β – tcp). Cones are enhanced with bovine collagen. The biomaterial presentation was chosen randomly. To collect plasma for lab tests of acute phase proteins concentration blood samples were taken from patients' basilic vein three times: directly before the procedure, 24 hours after, and 7 days after the procedure. Concentrations of the following proteins were taken into account: CRP, AGP, ACT, AT, Cp, Hp, Tf, and L2M. The changes in AGP and ACT glycozylation profile were also analyzed. App concentrations were determined using rocket immunoelectrophoresis by Laurell, and glycozylation profile was determined with cross affinoimmuno-electrophoresis by Bøg – Hansen.

Achieved results were presented in tables and figures showing concentration changes and app glycozylation profiles in time as well as correlations taking place between them. The data were also analyzed with statistical methods.

Basing on the results it can be concluded that a single tooth extraction and socket preservation procedures bring only a slight trauma to the body as confirmed by minute changes were noted for the C – reactive protein and ACT.

AGP and ACT glycozylation profiles in the present study were typical of a chronic inflammation and an exacerbated chronic inflammation.

Substantial CRP concentration changes beyond the norm was observed in case of complications: submucosal abscess and grafted material resorption.

The obtained results suggest the quantitative and qualitative evaluation of the acute phase proteins to be useful for monitoring the inflammatory complications following tooth extraction and socket preservation with the R. T. R. material.

VIII. Pósmiennictwo

1. Adinolfi M., Lehner T.

Acute phase proteins and C9 in patients with Behcet's syndrome and aphthous ulcers. *Clin Exp Immunol* 1976; 25: 36 – 39.

2. Aimetti M., Romano F., Griga F. B., Godio L.

Clinical and histologic healing of human extraction sockets filled with calcium sulfate. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009; 24: 901 – 909.

3. Almagor M., Keren A., Banai S.

Increased C – reactive protein level after coronary stent implantation in patients with stable coronary artery disease. *Am Heart J* 2003; 145: 248 – 253.

4. Araujo M. G., Lindhe J.

Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 212 – 218.

5. Atarowska M., Sobieska M., Oczachowska S., Ponikowska I., Samborski W.

Oznaczanie białek ostrej fazy oraz profilu ich glikozylacji przy ocenie skuteczności krioterapii ogólnoustrojowej u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. *Now Lek* 2005; 74, 2: 127 – 130.

6. Bansal S., Chauhan V., Sharma S., Maheshwari R., Juyal A., Raghuvanshi S.

Evaluation of hydroxyapatite and beta – tricalcium phosphate mixed with bone marrow aspirate as a bone graft substitute for posterolateral spinal fusion. *Ind J Orthop* 2009; 43, 3: 234 – 239.

7. Barre F., van Blitterswijk C. A., de Groot K.

Bone regeneration: molecular and cellular interactions with calcium phosphate ceramics. *Int J Nanomedicine* 2006; 8, 1 (3): 317 – 332.

8. Bobilewicz D.
Rola diagnostyczna białka C – reaktywnego (CRP). *Przeg Med Lab* 2004; 1: 3 – 4.
9. Bogdański P., Chyrek R., Pupek – Musialik D., Jabłecka A.
Ocena stężenia wybranych białek ostrej fazy u chorych na zespół metaboliczny. *Pol Merk Lek* 2006; XXI, 121: 12 – 14.
10. Boix D., Weiss P., Gautier O., Guicheux J., Bouler J – M., Pilet P., Daculsi G., Grimandi G.
Injectable bone substitute to preserve alveolar ridge resorption after tooth extraction: a study in dog. *J Mater Sci Mater Med* 2006; 17 (11): 1145 – 1152.
11. Bøg – Hansen T. C.
Crossed immuno – affinoelectrophoresis: an analytical method to predict the result of affinity chromatography. *Anal Biochem* 1973; 56: 480 – 488.
12. Brandt H. H.
Metody stosowane w celu poprawy warunków do implantacji. W: *Wprowadzenie do implantologii*. Wrocław: Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, 1998: 131 – 138.
13. Brkovic B., Prasad H. S., Konandreas G., Radulovic M., Antunovic D., Sandor G., Rohrer M. D.
Simple preservation of maxillary extraction socket using beta – tricalcium phosphate with type type I kolagen: preliminary clinical and histomorphometric observations. *JCDA*. www.cda-adc.ca/jcda. 2008; 7/8, 74, 6: 523 – 528.
14. Bulut E., Bulut S., Etikan I., Koseoglu O.
The value of routine antibiotic prophylaxis in mandibular third molar surgery: acute phase protein levels as indicators of infection. *J Oral Sci* 2001; 43, 2: 117 – 122.
15. Cacchioli A., Spaggiari B., Ravenetti F., Martini F. M., Borghetti P., Gabbi C.
The critical sized bone defect: morphological study of bone healing. *Ann Fac Medic Vet di Parma* 2006; 26: 97 – 110.

16. Całkosiński I., Dobrzyński M., Całkosińska M., Seweryn E., Bronowicka – Szydełko A., Dzierzba K., Ceremuga I., Gamian A.
Charakterystyka odczynu zapalnego. *Postepy Hig Med Dosw (online)* 2009; 63: 395 – 408.
17. Cardapoli G., Araujo 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 – 440.
18. Chruściel – Nogalska M., Światłowska M.
Przebieg gojenia ubytków kostnych szczęki i żuchwy i jego wpływ na ukształtowanie podłoża protetycznego w oparciu o piśmiennictwo. *Prot Stomatol* 2001; 51, 4: 197 – 201.
19. Chyrek R., Bogdański P., Cymerys M., Pupek – Musialik D., Jabłecka A.
Wpływ redukcji masy ciała na wybrane parametry procesu zapalnego u chorych z nadciśnieniem tętniczym i otyłością. *Farm Współ* 2008; 1: 123 – 128.
20. Cieślik – Bielecka A., Bielecki T., Gaździk T. S., Cieślik T.
Czynniki wzrostu zawarte w osoczu bogatopłytkowym jako autogennym materiale stymulującym procesy gojenia tkanki kostnej. *Czas Stomatol* 2006; 59, 7: 510 – 517.
21. Czuryszkiewicz – Cyrana J.
Porównanie skuteczności regeneracji tkanek przyzębia po zastosowaniu autogennej kości z autologiczną masą płytkową oraz preparatu Cerasorb z autologiczną masą płytkową. *Annal Acad Med Stein* 2008; 54, 2: 86 – 92.
22. Dominiak M., Leśniak P., Łagowska K., Michalska A., Ozga M., Szulgan A.
Wczesna i odroczone sterowana regeneracja kości przy usuwaniu zatrzymanych kłów – doniesienia wstępne. *Dent Med Probl* 2002; 39, 2: 313 – 322.
23. Dominiak M., Łysiak K.
Naprawa i/lub regeneracja poresekcyjnych i pocystektomijnych ubytków śródkostnych wyrostka zębodołowego – ocena uwarunkowań na podstawie piśmiennictwa i doświadczeń własnych. *Dent Med Probl* 2005; 42, 2: 341 – 350.

24. Dominiak M., Łysiak K.
Ocena skuteczności wybranej metody regeneracji kości z zastosowaniem materiału wszczepialnego w leczeniu poekstrakcyjnych ubytków kości wyrostka zębodołowego – badania wstępne. *Dent Med Probl* 2006; 43, 3: 368 – 378.
25. El – Hassan B. S., Peak J., D., Whicher J. T., Shepherd J. P.
Acute phase protein levels as an index of severity of physical injury. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1990; 19: 346 – 349.
26. Epstein N. E.
Beta tricalcium phosphate: observation of use 100 posterolateral lumbar instrumented fusions. *Spine J* 2009; 9: 630 – 638.
27. Fassbender K., Gerber B., Karrer U., Sobieska M., Aeschlimann A., Muller W.
Glycosylation of acute phase proteins and interleukins following hip arthroplasty: inflammation parameters studied in 10 patients. *Acta Orthop Scan* 1993; 64 (2): 216 -220.
28. Franz A. R., Bauer K., Schalk A., Garland S. M., Bowman E. D, Rex K., Nyholm C., Norman M., Bougateg A., Kron M., Mihatsch W. A., Pohlandt F.
Measurement of interleukin 8 in combination with C – reactive protein reduced unnecessary antibiotic therapy in newborn infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediat* 2004; 114: 1 – 8.
29. Freitas A. C., Pinheiro A., Miranda P., Thiers F., Vieira A.
Assessment of anti – inflammatory effect of 830 nm laser light using C – reactive protein levels. *Braz Dent J* 2001; 12 (3): 187 – 190.
30. Gabay C., Kushner I.
Acute – phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 2, 11: 448 – 454.
31. Gläser R.
Zastosowanie stabilnego kompozytu na bazie β – tcp dostosowującego się do kształtu ubytków kostnych. *Implants* 2008; 4: 36 -38.

32. Gołąb P., Jakóbisiak M., Zagożdżon R., Obłąkowski P.
Cytokiny. W: Immunologia. Red. J. Gołąb, M. Jakóbisiak, W. Lasek. Warszawa:
Wydawnictwo Naukowe PWN, 2002: 198-248.
33. Götz W., Le M., Heinemann F.
Resorpcja kości w periimplantitis – rola układu RANK/RANKL. *Implants* 2009;2:
12 – 19.
34. Hesaraki S., Safari M., Shokrgozar M. A.
Development of β – tricalcium phosphate/sol – gel derived bioactive glass composites:
physical, mechanical, and in vitro biological evaluations. *J Biomed Mater Res Part B:
Appl Biomater* 91B 2009; 6; 459 – 469.
35. Hing K. A.
Bioceramic bone graft substitutes: influence of porosity and chemistry. *Int J Appl Ceram
Technol* 2005; 2, 3: 184 – 199.
36. Hirota M., Matsui Y., Mizuki N., Kishi T., Watanuki K., Ozawa T., Fukui T., Shoji S.,
Adachi M., Monden Y., Iwai T., Tohnai I.
Combination with allogenic bone reduces early absorption of β – tricalcium phosphate (β
– TCP) and enhances the role as a bone regeneration scaffold. *Experimental animal study
in rat mandibular bone defects. Dent Mat J* 2009; 28, 2: 153 – 161.
37. Irinakis T.
Rationale for socket preservation after extraction of a single – rooted tooth when planning
for future implant placement. *JCDA*. www.cda-adc.ca/jcda. 2006; 12, 72, 10: 917 – 922.
38. Irinakis T., Tabesh M.
Preserving the socket dimensions with bone grafting in single sites: an esthetic surgical
approach when planning delayed implant placement. *J Oral Implantol* 2007; 33, 3:
156 – 163.
39. Jang B. J., Byeon Y. E., Lim J. H., Ryu H. H., Kim W. H., Koyama Y., Kikuchi M.,
Kang K. S., Kweon O. K.

Implantation of canine umbilical cord blood – derived mesenchymal stem cells mixed with beta – tricalcium phosphate enhances osteogenesis in bone defect model dogs. *J Vet Sci* 2008; 9, 4: 387 – 393.

40. Jiang D., Dziak R., Lynch S. E., Stephan E. B.

Modification of an osteoconductive anorganic bovine bone mineral matrix with growth factors. *J Periodontol* 1999; 70: 834 – 839.

41. Kamińska A., Krukowska J.

Zastosowanie materiałów do sterowanej regeneracji kości podczas zabiegów resekcji wierzchołków korzeni zębów przednich. *Wiad Lek* 2005; 58, 3 – 4: 166 – 169.

42. Kasprzyk M., Dyszkiewicz W., Zwaruń D., Leśniewska K., Wiktorowicz K.

Ocena wybranych białek ostrej fazy jako czynników rokowniczych u chorych leczonych chirurgicznie z powodu niedrobnokomórkowego raka płuc. *Pneumol Alergol Pol* 2008; 76: 321 – 326.

43. Kim T. K., Yoon J. R.

Comparison of the neuroendocrine and inflammatory responses after laparoscopic and abdominal hysterectomy. *Korean J Anesthesiol* 2010; 10, 59, 4: 265 – 269.

44. Kindmark C. O.

The concentration of C – reactive protein in sera from healthy individuals. *Scand J Clin Lab Invest* 1972; 29: 407 – 411.

45. Koj A.

Reakcja ostrej fazy i klasyfikacja białek ostrej fazy. *Diagn Lab* 1985; 21, 6: 261-266.

46. Koj A.

Biologiczne funkcje białek ostrej fazy. *Diagn Lab* 1987; 23: 191-208.

47. Koj A.
Definition and classification of acute phase proteins. W: A.H. Gordon, A Koj. The Acute Phase Response to Injury and Infection. Amsterdam, New York, Oxford: Elsevier, 1985: 139-144.
48. Koj A.
Biological functions of acute phase proteins. W: A.H. Gordon, A Koj. The Acute Phase Response to Injury and Infection. Amsterdam, New York, Oxford: Elsevier, 1985: 145-160.
49. Korczowski B., Szybist W., Romańczuk W., Sieklucki J., Rusin J.
Porównanie przydatności diagnostycznej prokalcytoniny i białka C – reaktywnego w biegunkach o różnej etiologii. *Pediatrics Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka* 2002; 4, 3: 289 – 292.
50. Kozakiewicz M., Gaszyńska E.
Zmiany wielkości przeszczepów nakładkowych własnopochodnej kości z bródki zastosowanych dla poprawy cech podłoża protetycznego. *Prot Stomatol* 2006; 56, 1: 26 – 32.
51. Kozakiewicz M., Gaszyńska E., Denkowski M., Arkuszewski P.
Ocena zmian gęstości optycznej nakładkowych przeszczepów kości własnopochodnej z bródki zastosowanych dla zmiany cech podłoża protetycznego. *Prot Stomatol* 2006; 56, 6: 436 – 443.
52. Kralisz P., Kemonia H., Dobrzycki S., Bachórzewska – Gajewska H., Nowak K., Sawicki Z.
Changes in C – reactive protein levels following coronary stent implantation depend on the extent of periprocedural arterial injury. *Kardiol Pol* 2006; 64: 364 – 371.
53. Krawiec A., Chrostek L., Cylwik B., Supronowicz Z., Szmitowski M.
Stężenie sjałowanych glikoprotein w surowicy mężczyzn uzależnionych od alkoholu. *Pol Merk Lek* 2007; 23, 136: 251 – 254.

54. Kuras M.
Ocena stanu zapalnego po niektórych zabiegach stomatologicznych na podstawie analizy wybranych białek ostrej fazy. Rozprawa doktorska. AM Poznań. 2004.
55. Kushner I.
The phenomenon of the acute phase response. *Ann NY Acad Sci* 1982; 389: 39-48.
56. Kyr M., Fedora M., Elbl L., Kugan N., Michalek J.
Modeling effect of septic condition and trauma on C – reactive protein levels in children with sepsis: a retrospective study. *Crit Care* 2007; 11, 3: R70.
57. Lange T., Schilling A. F., Peters F., Haag F., Morlock M. M., Rueger J. M., Amling M.
Proinflammatory and osteoclastogenic effects of beta – tricalcium phosphate and hydroxyapatite particles on human mononuclear cells in vitro. *Biomaterials* 2009; 30: 5312 – 5318.
58. Laskowska – Klita T.
Białko C – reaktywne (CRP) w diagnostyce infekcji u noworodków. *Przeg Med Lab* 2004; 1: 5 -10.
59. Laurell C.B.
Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Scand J Clin Invest* 1973; 5: 1-9.
60. Legeros R. Z.
Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. *Clin Orthop Rel Res* 2002; 2, 395: 81 – 98.
61. Lindhe J., Lang N., Karring T.
Clinical periodontology and implant dentistry. Blackwell, Munksgaard 2008.
62. Löbner M., Sas M., Kunze C., Schmitz K. P., Hopt U. T.
Biomaterial implants induce the inflammation marker CRP at the site of implantation. *J Biomed Mater Res* 2002; 61: 165 – 167.

63. Lupovici J. A.

Histologic and clinical results of DFDBA with lecithin carrier used in dental implant applications: three case reports. *Pract Proced Aesthet Dent* 2009; 21, 4: 223 – 230.

64. Łobos M., Rusinek A., Paradowski M., Kuydowicz J., Stanisławska – Majda E., Mamełka B., Szablewski M., Piątas S.

Czy oznaczanie stężeń białek ostrej fazy w płynie mózgowo – rdzeniowym lub/i w surowicy w wirusowym zapaleniu opon mózgowo – rdzeniowych u dzieci ma znaczenie diagnostyczne? Część I. Limfocytarne zapalenie opon mózgowo – rdzeniowych wywołane wirusem nagminnego zapalenia przyusznic. *Przeegl Epidemiol* 2002; 56: 615 – 622.

65. Machyńska – Bućko Z., Leśniewska K., Sobieska M., Wiktorowicz K.

Zmiany glikozylacji alfa 1 – kwaśnej glikoproteiny i alfa 1 – antychymotrypsyny u chorych ciężko oparzonych. *Rocz Oparzeń* 1998; 9: 53 – 62.

66. Mackiewicz A.

Badanie mechanizmów regulujących glikozylację białek ostrej fazy. *Badania in vitro. Immunol Pol* 1989; 14: 103-127.

67. Mackiewicz A.

Badanie mechanizmów regulujących glikozylację białek ostrej fazy. *Immunol Pol* 1990; 15: 47 - 64.

68. Majewski S., Majewski P.

Biologiczne mechanizmy przebudowy struktur kostnych i gojenia tkanek miękkich jamy ustnej po zabiegach implantacyjnych. *Implantoprot* 2009; X, 1, 34: 3 – 7.

69. Markowska J., Radwan – Oczko M., Ziętek M.

Bio - Oss® w leczeniu śródkostnych ubytków przyzębia – ocena kliniczna i radiologiczna w 6 – miesięcznej obserwacji. *Polim Med* 2005; 35, 3: 1 – 12.

70. Markuszewski J., Wierusz – Kozłowska M., Woźniak W., Leśniewska K., Sobieska M.

Odpowiedź ostrej fazy po endoplastyce stawu biodrowego i w aseptycznym obluzowaniu implantu. *Chir Narzadow Ruchu Ortop Pol* 2007; 72, 5: 305 – 309.

71. Markuszewski J., Wierusz – Kozłowska M., Woźniak W., Leśniewska K., Sobieska M.
Charakterystyka zmian w profilu białek ostrej fazy we wczesnym okresie po endoplastyce stawu biodrowego. *Ortop Traum Rehab* 2009; 4, 6, 11: 324 – 332.
72. Masago H., Shibuya Y., Munemoto S., Takeuchi J., Umeda M., Komori T., Kuboki Y.
Alveolar ridge augmentation using various bone substitutes – a web form of titanium fibers promotes rapid bone development. *Kobe J Med Sci* 2007; 53, 5: 257 – 263.
73. Matsuno T., Hashimoto Y., Adachi S., Omata K., Yoshitaka Y., Ozeki Y., Umezu Y., Tabata Y., Nakamura M., Satoh T.
Preparation of injectable 3D – formed β – tricalcium bead/alginate composite for bone tissue engineering. *Dent Mat J* 2008; 27, 6: 827 – 834.
74. Matsuno T., Nakamura T., Kuremoto K., Notazawa S., Nakahara T., Hashimoto Y., Satoh T., Shimizu Y.
Development of β – tricalcium phosphate/collagen sponge composite for bone regeneration. *Dent Mat J* 2006; 25, 1: 138 – 144.
75. Miyawaki T., Maeda S., Shimada M.
Elevation of plasma interleukin – 6 level in patients undergoing oral and maxillofacial surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 81: 15 – 20.
76. Momma F., Nakazawa T., Amagasa M.
Repair and regeneration of vertebral body after antero – lateral partial vertebrectomy using beta – tricalcium phosphate. *Neurol Med Chir* 2008; 48: 337 – 342.
77. Morawiec T.
Porównanie efektów terapeutycznych miejscowego i ogólnoustrojowego podawania gentamycyny w chirurgii stomatologicznej. *Czas Stomatol* 2006; 59, 7: 503 – 509.

78. Murai M., Sato S., Fukase Y., Yamada Y., Komiyama K., Ito K.
Effects of different sizes of β – tricalcium phosphate particles on bone augmentation within a titanium cap in rabbit calvarium. *Dent Mat J* 2006; 25, 1: 87 – 96.
79. Muszyńska A., Steciwko A., Horst – Sikorska W., Siebert J., Mastalerz – Migas A., Wawrzyniak A., Nitsch – Osuch A., Życińska K., Babińska Z., Pokorna – Kałwak D., Reksa D.
Przydatność szybkich testów CRP (Nycocard II® CRP) w codziennej pracy lekarza rodzinnego w aspekcie racjonalizacji wskazań do antybiotykoterapii w ostrych infekcjach. *Fam Med Prim Care Rev* 2007; 9, 4: 998 – 1006.
80. Nagayama M., Takeuchi H., Doi Y.
Comparison of carbonate and β – tricalcium phosphate (resorbable calcium phosphates) implanted subcutaneously into the back of rats. *Dent Mat J* 2006; 25, 2: 219 – 225.
81. Neamat A., Gawish A., Gamal – Eldeen A. M.
 β – tricalcium phosphate promotes cell proliferation, osteogenesis and bone regeneration in intrabony defects in dogs. *Arch Oral Biol* 2009; 54: 1083 – 1090.
82. Neukam F. W., Schultze – Mosgau S.
Problematyka rozległych ubytków kości w implantologii. W: *Implantologia*. Red. Koeck B., Wagner W. Wrocław: Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, 2004: 184 – 233.
83. Nolff M. C., Gellrich N. C., Hauschild G., Fehr M., Bormann K. H., Rohn K., Spalthoff S., Rücker M., Kokemüller H.
Comparison of two β – tricalcium phosphate composite grafts used for reconstruction of mandibular critical size bone defects. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2009; 22: 96 – 102.
84. Odrowąż – Sypniewska G.
Wskaźniki zapalenia w diagnostyce laboratoryjnej chorób układu kostno – stawowego. *Przeg Med Lab* 2004; 1: 11 – 16.

85. Olejniczak K., Bręborowicz A., Sobieska M., Światły A., Alkiewicz J., Wiktorowicz K. Ocena stężeń wybranych białek ostrej fazy w surowicy i wydzielinie z nosogardła u dzieci do 2 roku życia chorych na obturacyjne zapalenie oskrzeli lub astmę oskrzelową. *Przeg Ped* 2005; 35, 3: 121 – 126.
86. Orii H., Sotome S., Chen J., Wang J., Shinomiya K. Beta – tricalcium phosphate (beta – TCP) graft combined with bone marrow stromal cells (MSCs) for posterolateral spine fusion. *J Med Dent Sci* 2005; 52: 51 – 57.
87. Palmer R. M., Smith B. J., Howe L. C., Palmer P. J. Grafting procedures for implant placement. W: *Implants in clinical dentistry*. London and New York: Taylor & Francis Group, 2002: 131 – 153.
88. Paradowski M., Szablewski M., Piątas S., Urbaniak A., Majda J. Zaburzenia biochemiczne w przebiegu zespołu odpowiedzi zapalnej (SIRS) i sepsy. Cz. II. Laboratoryjne markery wykorzystywane w diagnostyce i monitorowaniu sepsy. *Przegł Epidemiol* 2006; 60: 617 – 625.
89. Pisarczyk – Wiza D., Zozulińska D., Majchrzak A., Sobieska M., Wiktorowicz K., Wierusz – Wysocka B. Ocena wybranych białek ostrej fazy u otyłych chorych na cukrzycę typu 2. *Diabetol Dosw Klin* 2002; 2, 6: 455 – 460.
90. Podaropoulos L., Veis A. A., Papadimitrou S., Alexandridis C., Kalyvas D. Bone regeneration using β – tricalcium phosphate in a calcium sulfate matrix. *J Oral Impl* 2009; 35, 1: 28 – 36.
91. Proctor M. E., Turner D. W., Kaminski E. J., Osetek E. M., Heuer M. A. Determination and relationship of C – reactive protein in human dental pulps and in serum. *J Endodon* 1991; 17, 6: 265 – 270.
92. Puchała P., Kucharski G., Jaremczuk B., Monkos – Jaremczuk E. Przegląd biomateriałów na podstawie piśmiennictwa. *TPS* 2008; 10: 28 – 36.

93. Puczko – Michalczyk A., Zoch – Zwierz W., Wasilewska A., Porowski T., Korzeniecka – Kozerska A.
Ocena wskaźników zapalenia i uszkodzenia nerek u najmłodszych dzieci chorych na odmiedniczkowe zapalenie nerek. *Pol Merk Lek* 2008; 25, 150: 451 – 454.
94. Pupek M., Kątnik – Prastowska I.
Metody immunoelektroforetyczne. W: *Immunochemia w biologii medycznej*. Red. Kątnik – Prastowska. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2009: 78 – 94.
95. Ren F. Y., Malstrom H. S.
Rapid quantitative determination of C – reactive protein at chair side in dental emergency patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104: 49 – 55.
96. Rickert D., Scheithauer M. O., Coskun S., Kelch S., Lendlein A., Franke R. P.
The influence of a multifunctional, polymeric biomaterial on the concentration of acute phase proteins in an animal model. *Clin Hemor Microcir* 2007; 36: 301 – 311.
97. Saikia K. C., Bhattacharya T. D., Bhuyan S. K., Talukdar D. J., Saikia S. P., Jitesh P.
Calcium phosphate ceramics as bone graft substitutes in filling bone tumor defects. *Indian J Orthop* 2008; 42, 2: 169 – 172.
98. Salzberg T. N., Overstreet B. T., Rogers J. D., Califano J. V., Best A. M., Schenkein H. A.
C – reactive protein levels in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2006; 77: 933 – 939.
99. 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 Periodontics Restorative Dent* 2003; 23, 3: 313 – 323.
100. Shen H., Zhang N., Zhang X., Ji W.
C – reactive protein levels after 4 types of arthroplasty. *Acta Orthop* 2009; 80, 3: 330 – 333.

101. Shiratori K., Matsuzaka K., Koike Y., Murakami S., Shimono M., Inoue T.
Bone formation in β – tricalcium phosphate – filled bone defects of the rat femur: morphometric analysis and expression of bone related protein mRNA. *Biom Res* 2005; 26, 2: 51 – 59.
102. Sikora J. P., Kwiatkowska R.
Przydatność kliniczna oznaczania stężenia białka C – reaktywnego i prokalcytoniny w diagnostyce i monitorowaniu zespołu uogólnionej odpowiedzi zapalnej. *Alergia Astma Immunologia* 2005; 10, 2: 63 – 68.
103. Sobieska M.
Ocena przydatności oznaczania białek ostrej fazy w medycynie klinicznej. Rozprawa habilitacyjna. UM Poznań 2008.
104. Staniszewski R., Słowiński M., Leśniewska K.
Ocena przydatności oznaczania białek ostrej fazy i TNF w chorobie zakrzepowo – zatorowej. *Now Lek* 2005; 74, 5: 564 – 569.
105. Steiner G. G., Francis W., Burrell R., Kallet M. P., Steiner D. M., Macias R.
The healing socket and socket regeneration. *Compend Contin Educ Dent* 2008; 29, 2: 114 – 124.
106. Strzelczyk J., Wasiak J., Modzelewski B.
Monitorowanie białka C – reaktywnego w celu wczesnego wykrywania powikłań po zabiegach operacyjnych. *Pol Przeg Chir* 1994; 66, 4: 352 – 357.
107. Szubert P.
Ocena kliniczna i histologiczna podłoża kostnego po zastosowaniu polimorficznego dwuortofosforanu trójwapnia przed implantacją wszczepów systemu Osteoplant. Rozprawa doktorska. AM Poznań 2005.
108. Szwarczyński A.
Gojenie się złamań kości. W: *Traumatologia szczękowo – twarzowo – czaszkowa*. Red. Lewandowski L., Osmola K. Poznań: WNUM, 2009: 33 – 38.

109. Szyszkowska A., Krawczyk K.

Błony zaporowe stosowane w implantologii i stomatologicznych zabiegach regeneracyjnych – praca pogładowa. *Implantoprotetyka* 2009; 10, 1, 34: 8 – 10.

110. Ślósarczyk A.

Bioceramika hydroksyapatytowa. Polska Akademia Nauk, Polskie Towarzystwo Ceramiczne. Kraków 1997.

111. Takahashi K.

Effect of new bone substitute materials consisting of collagen and tricalcium phosphate. *Bull Tokyo Dent Coll* 2009; 50, 1: 1 – 11.

112. Takeuchi H., Nagayama M., Imaizumi Y., Tsukahara T., Nakazawa J., Kusaka Y., Katsuyuki O.

Immunohistochemical analysis of osteoconductivity of β – tricalcium phosphate and carbonate apatite applied in femoral and parietal bone defects in rats. *Dent Mater J* 2009; 28, 5: 595 – 601.

113. Thoma K., Pajarola G. F., Grätz K. W., Schmidlin P. R.

Bioabsorbable root analogue for closure of oroantral communications after tooth extraction: a prospective case – cohort study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101, 5: 558 – 564.

114. Tillet W. S., Francis T.

Serological reactions in pneumonia with a nonprotein somatic fraction of pneumococcus. *Jour Exp Med* 1930; 52: 561 – 571.

115. Trąbalska – Świstelnicza M., Dembowska E.

Regeneracja tkanek przyzębia – przegląd metod stosowanych w Zakładzie Periodontologii PAM. *Dent Med Probl* 2002; 39, 1: 127 – 130.

116. Urist M. R., Mikulski A., Lietze A.

Solubilized and insolubilized bone morphogenic protein. Proc Natl Acad Sci 1979; 76, 4: 1828 – 1832.

117. Wenz B.

Bone substitutes possess different levels of effectiveness in periodontal defects. Implantoprotetyka 2005; 6,1: 39 – 44.

118. Wiśniewska I., Ślósarczyk A., Myśliwiec L., Sporniak – Tutak K.

Wpływ aplikowania do zębodołu linkomycyny na nośniku TCP na proces gojenia rany po chirurgicznym usunięciu zęba mądrości. Ann Acad Med Stetin 2009; 55, 2: 59 – 64.

119. Wittmann K., Ciszynska A., Sobieska M., Wiktorowicz K.

Badanie stężeń i profilu glikozylacji α – 2 makroglobuliny i ceruloplazminy w przebiegu fizjologicznej ciąży. Now Lek 1999; 68, 7: 654 – 664.

120. Wnukiewicz J., Konopka T.

Chirurgiczne leczenie chorób przyzębia. TPS 2008; 7 – 8: 11 – 17.

121. Wrotniak M., Bielecki T., Gaździk T. S.

Współczesne poglądy na temat wykorzystania żelu bogatopłytkowego w ortopedii i traumatologii. Ortop Trauma Rehab 2007; 3, 6, 9: 227 – 238.

122. Zhao J. H., Tsai C. H., Chang Y. C.

Clinical and histologic evaluations of healing in an extraction socket filled with platelet – rich fibrin. J Dent Sci 2011; 6, 2: 116 – 122.

123. Zima A., Paszkiewicz Z., Ślósarczyk A.

Bioceramika TCP (α TCP, β TCP, BTCP) dla ortopedii i stomatologii – otrzymywanie oraz ocena w testach in vitro. Materiały Ceramiczne 2010; 62. 1: 51 – 55.

124. Zorzano L., Tojo M., Urizar J.

Maxillary sinus lift with intraoral autologous bone and β – tricalcium phosphate: histological and histomorphometric clinical study. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2007; 12, 7: 532 – 536.

IX. Spis tabel, rycin, fotografii

Tabele:

Tabela I. Stężenia CRP u osób zdrowych w badaniu Kindmarka.

Tabela II. Liczebność grup badanych z podziałem na wiek i płeć.

Tabela III. Liczba i lokalizacja usuniętych zębów w badanej grupie.

Tabela IV. Wartości współczynnika AGP – RC w trzech kolejnych pomiarach.

Tabela V. Średnia wartość typu glikozylacji AGP w trzech kolejnych pomiarach.

Tabela VI. Wartości współczynnika ACT – RC w trzech kolejnych pomiarach.

Tabela VII. Średnia wartość typu glikozylacji ACT w trzech kolejnych pomiarach.

Tabela VIII. Wartości współczynnika korelacji między AGP a ACT w trzech kolejnych pomiarach.

Tabela IX. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a stężeniem wariantów W0, W1, W2, W3 – pomiar pierwszy.

Tabela X. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a stężeniem wariantów W0, W1, W2, W3 – pomiar drugi.

Tabela XI. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem AGP a stężeniem wariantów W0, W1, W2, W3 – pomiar trzeci.

Tabela XII. Wartości współczynników korelacji między wariantami AGP w pomiarze pierwszym.

Tabela XIII. Wartości współczynnika korelacji między wariantami AGP w pomiarze drugim.

Tabela XIV. Wartości współczynnika korelacji między wariantami AGP w pomiarze trzecim.

Tabela XV. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantów A1, A2, A3, A4 – pomiar pierwszy.

Tabela XVI. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantów A1, A2, A3, A4, A5 – pomiar drugi.

Tabela XVII. Wartości współczynnika korelacji i poziomu istotności pomiędzy całkowitym stężeniem ACT a stężeniem wariantów A1, A2, A3, A4, A5 – pomiar trzeci.

Tabela XVIII. Wartości współczynnika korelacji między wariantami ACT w pomiarze pierwszym.

Tabela XIX. Wartości współczynnika korelacji między wariantami ACT w pomiarze drugim.

Tabela XX. Wartości współczynnika korelacji między wariantami ACT w pomiarze trzecim.

Tabela XXI. Profile glikozylacji AGP w trzech kolejnych pomiarach.

Tabela XXII. Obecność wariantu W3 AGP w trzech kolejnych pomiarach.

Tabela XXIII. Profile glikozylacji ACT w trzech kolejnych pomiarach.

Tabela XXIV. Obecność wariantu A5 w trzech kolejnych pomiarach.

Ryciny:

Ryc. 1. Stężenia CRP w trzech kolejnych pomiarach (a, b, c).

Ryc. 2. Stężenia Cp w trzech kolejnych pomiarach.

Ryc. 3. Stężenie Hp w trzech kolejnych pomiarach.

Ryc. 4. Stężenie AT w trzech kolejnych pomiarach.

Ryc. 5. Stężenie Tf w trzech kolejnych pomiarach.

Ryc. 6. Współczynnik reaktywności AGP – RC w trzech kolejnych pomiarach.

Ryc. 7. Stężenie AGP i wariantów AGP w pomiarze pierwszym.

Ryc. 8. Stężenie AGP i wariantów AGP w pomiarze drugim.

Ryc. 9. Stężenie AGP i wariantów AGP w trzecim pomiarze.

Ryc. 10. Współczynnik reaktywności ACT – RC w trzech kolejnych pomiarach.

Ryc. 11. Stężenie ACT i wariantów ACT w pomiarze pierwszym.

Ryc. 12. Stężenie ACT i wariantów ACT w pomiarze drugim.

Ryc. 13. Stężenie ACT i wariantów ACT w pomiarze trzecim.

Ryc. 14. Stężenie L2M w trzech kolejnych pomiarach.

Ryc. 15. Wykres korelacji między AGP a ACT dla pomiaru pierwszego.

Ryc. 16. Wykres korelacji między AGP a ACT dla pomiaru drugiego.

Ryc. 17. Wykres korelacji pomiędzy AGP a wariantami W0, W1, W2 – pomiar pierwszy.

Ryc. 18. Wykres korelacji pomiędzy AGP a wariantami W0, W1, W2 – pomiar drugi.

Ryc. 19. Wykres korelacji pomiędzy AGP a wariantami W0, W1, W2 – pomiar trzeci.

Ryc. 20. Wykres korelacji między wariantem W0 a wariantami W1, W2, W3.

Ryc. 21. Wykres korelacji między wariantem W1 a wariantem W2.

Ryc. 22. Wykres korelacji między wariantem W0 a wariantami W1 i W3.

Ryc. 23. Wykres korelacji między wariantem W2 a wariantem W1.

Ryc. 24. Wykres korelacji między wariantem W0 a wariantami W1 i W2.

Ryc. 25. Wykres korelacji między wariantem W2 a wariantem W1.

Ryc. 26. Wykres korelacji pomiędzy ACT a wariantami A1, A2, A3, A4 – pomiar pierwszy.

Ryc. 27. Wykres korelacji pomiędzy ACT a wariantami A1, A2, A3, A4 – pomiar drugi.

Ryc. 28. Wykres korelacji pomiędzy ACT a wariantami A1, A2, A3, A4 – pomiar trzeci.

- Ryc. 29. Wykres korelacji między wariantem A1 a wariantami A2, A3 i A5.
- Ryc. 30. Wykres korelacji między wariantem A3 a wariantem A2.
- Ryc. 31. Wykres korelacji między wariantem A3 a wariantem A4.
- Ryc. 32. Wykres korelacji między wariantem A1 a wariantami A2 i A3.
- Ryc. 33. Wykres korelacji między wariantem A2 a wariantami A3 i A4.
- Ryc. 34. Wykres korelacji między wariantem A3 a wariantem A4.
- Ryc. 35. Wykres korelacji między wariantem A1 a wariantami A2, A3 i A4.
- Ryc. 36. Wykres korelacji między wariantem A2 a wariantami A3 i A4.
- Ryc. 37. Wykres korelacji między wariantem A3 a wariantem A4.
- Ryc. 38. Wykres korelacji między wariantem A5 a wariantem A4.

Fotografie:

- Fot. 1. Materiał R. T. R. w formie granulatu.
- Fot. 2. Materiał kośćcozastępczy R. T. R.
- Fot. 3. Materiał R. T. R. w formie stożka.
- Fot. 4. Zdjęcie RTG zęba 35 zakwalifikowanego do ekstrakcji.
- Fot. 5. Ząb 35 zakwalifikowany do ekstrakcji – jama ustna.
- Fot. 6. Instrumentarium zastosowane podczas zabiegu ekstrakcji zęba i wszczepienia materiału kośćcozastępczego R. T. R.
- Fot. 7. Zębodół po ekstrakcji zęba.
- Fot. 8. Zębodół z zachowaniem wszystkich ścian kostnych i odreparowanym płatem śluzówkowo – okostnowym.
- Fot. 9. Materiał kośćcozastępczy R. T. R. umieszczony w zębodole.
- Fot. 10. Szczelne zamknięcie rany po ekstrakcji zęba i augumentacji zębodołu.
- Fot. 11. Aparat do immunoelektroforezy z zasilaczem i woltomierzem.
- Fot. 12. Obraz immunoelektroforezy rakietkowej ACT oraz AGP.
- Fot.13. Prawidłowy obraz glikozylacji ACT.
- Fot. 14. Prawidłowy obraz glikozylacji AGP.

XI. Wykaz akronimów

ACT	- α 1-antychymotrypsyna
ACT – RC	- współczynnik reaktywności ACT
ACTH	- hormon adrenokortykotropowy
A1, A2, A3, A4, A5	- warianty α 1-antychymotrypsyny
AGP	- α 1-kwaśna glikoproteina
AGP – RC	- współczynnik reaktywności AGP
AT	- α 1-antytrypsyna
BMPs	- białka morfogenetyczne
BPB	- błękit bromofenolowy
BSP	- sialoproteina kostna
bof	- białka ostrej fazy
C3	- składowa dopełniacza
C3, C4, C6	- atomy węgla
Cd	- kadm
Cl -	- jon chloru
Con A	- konkanawalina A
Cp	- ceruloplazmina
Cu	- miedź
CRP	- białko C – reaktywne
DFDBA	- kość odwapniona, mrożona, liofilizowana
DOPC	- zdeterminowane prekursory komórek osteogennych
EGF	- czynnik wzrostowy naskórka
Fe	- żelazo
FDBA	- kość mrożona, liofilizowana
GBR	- sterowana regeneracja kości
GM – CSF	- czynnik stymulujący kolonie granulocytów i makrofagów
GTR	- sterowana regeneracja tkanek
Hp	- haptoglobina
H+	- jon wodoru
HA	- hydroksyapatyt
HIV	- ludzki wirus niedoboru odporności
IGF 1	- insulinopodobny czynnik wzrostowy

IF β 2	- rekombinowany ludzki interferon β 2 (inaczej: IL – 6)
IL – 1	- interleukina – 1
IL – 3	- interleukina – 3
IL – 6	- interleukina – 6,
IL – 11	- interleukina – 11
IOPC	- indukowane prekursory komórek osteogennych
L2M	- α 2- makroglobulina
N1, N2	- węzły chłonne zmienione nowotworowo
OPN	- osteopontyna
PDGF	- płytkowo - pochodny czynnik wzrostu
PGE2	- prostaglandyna E2
RANK receptor	- receptor aktywator jądrowego czynnika kappa
RANKL białka	- ligand receptora aktywatora jądrowego czynnika kappa
SAA	- surowiczy składnik amyloidu A
SPARC	- osteonektyna
tcp β	- trójfosforan wapnia β
Tf	- transferyna
TGF β	- transformujący czynnik wzrostu β
TNF α , β	- czynniki martwicy guza α , β
W0, W1, W2, W3	- warianty α 1-kwaśnej glikoproteiny
WZW	- wirusowe zapalenie wątroby
VEGF	- czynnik wzrostu śródbłonna naczyń
Zn	- cynk