

הצלחה וכשל של שתלים בפה

ד"ר ליעד בדיחי-האוסליך

פרופ' מיכאל סלע

הפקולטה לרפואת שיניים, האוניברסיטה העברית ירושלים
הגורמים הביולוגיים העיקריים לכישלון שתלים אורטופדיים ודנטליים הם זיהום ודלקת של הרקמות הסובבות. האירועים הפתולוגיים של הרקמות סביב שתלים בפה, פריאימפלנטיטיס ומוקוזיטיס של סב השתל, הינם מצבים שכיחים שעלולים להוות איום על קיום השתל לטווח ארוך. מוקוזיטיס הינה תגובה דלקתית של הרקמות הסובבות, בעוד שפריאימפלנטיטיס הינה תגובה דלקתית הקשורה לאובדן העצם התומכת המקיפה את השתל הפעיל. מחקרים מסוימים קובעים כי שכיחות מצב זה נעה בין 2 ל-10%, אך הדוח שהוציאה הסדנה האירופית השישית מציע שפריאימפלנטיטיס משפיע על 28 עד 56% מהמתרפאים עם שתלים (Lindhe et al., 2008).

במחקר שעסק במצבי מוקוזיטיס סביב שתלים דווח (Zitzmann & Berglundh, 2008) על 80% מהמתרפאים ו-50% ממוקדי השתלים הסובלים ממצב זה. בנוסף ישנם דיווחים שמוקוזיטיס הוא הסיבוך הביולוגי הנפוץ ביותר של כתרים בודדים על שתלים ושכיחותם נאמדת בכ-9.7% מהשתלים אחרי חמש שנים (Jung et al., 2008). בסקר של ספריית קוכרן האלקטרונית (Esposito et al., 2007) התגלה שתדירות מצבי פריאימפלנטיטיס סביב שתלים עם פני שטח מחוספסים גבוהה באופן משמעותי מאשר בשתלי ברנמרק ללא חספוס. התפתחות דלקת סביב שתלים אוראליים קשורה להצטברות חידקים ספציפיים בצורת ביופילם. בעוד שבסביבתם של שתלים עם רקמה בריאה מתגלים סוגי חידקים הקשורים לחניכיים בריאות, מצבי פריאימפלנטיטיס קשורים לנוכחותם של חידקים פתוגניים לחניכיים, כגון

Porphyromonas gingivalis, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* Leonhardt et al., 1999; Shibli et al.,) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (2007). במחקרים שנערכו בתנאים קליניים, בהם נחשפו חומרי שתלים לפלורה החידקית, נמצא שעל פני השתלים התיישבו ראשוניים בעיקר חידקי הפה מסוג סטרפטוקוקים, שמספרם היה תלוי בסוג פני השטח של השתל (Nakazato et al., 1989). מחקרי מעבדה וקליניקה הראו שכיסוי פני שטח השתל בחידקים תלוי בחספוס, ושהידבקות לפני שטח מחוספסים גבוהה בהרבה מאשר לפני שטח חלקים (Quirynen et al., 1996; Rimondini et al., 1997; Pier-Francesco et al., 2006).

גורמים חשובים נוספים במנגנון הדבקות החידקים לשתלים הינם גורמים מקומיים של המאכסן כגון מרכיבי פלסמה, יונים מהרוק וחלבונים הנקשרים לפני שטח השתל. במחקרים שנעשו במעבדתנו בעבר נמצא שהחלבונים העיקריים שמקורם ברוק הנקשרים לטיטניום בתנאי מעבדה ובפה הם אלפא עמילז ואלבומין.

בנוסף נמצא שאחד המנגנונים העיקריים להתקשרות אלבומין לטיטניום הינו באמצעות גשרי סידן. בהמשך נתגלה שמבין חלבוני הפלסמה, אלבומין ופיברונקטין הם העיקריים הנקשרים לטיטניום (Steinberg et al., 1995; Kohavi et al., 1995; Kohavi et al., 1997; Klinger et al., 1997; Sela et al., 2007).

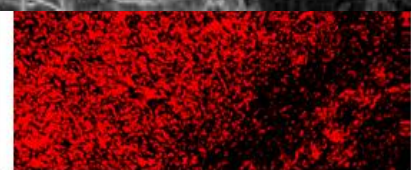
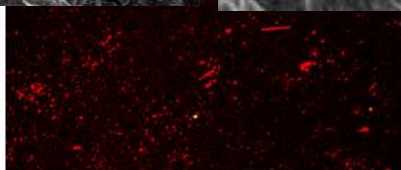
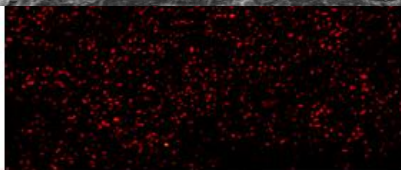
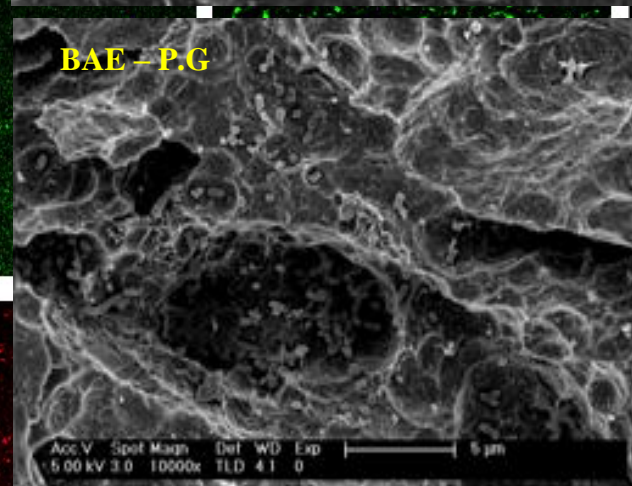
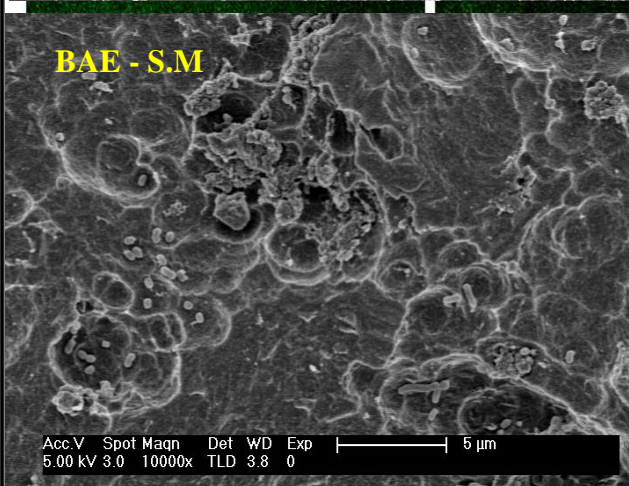
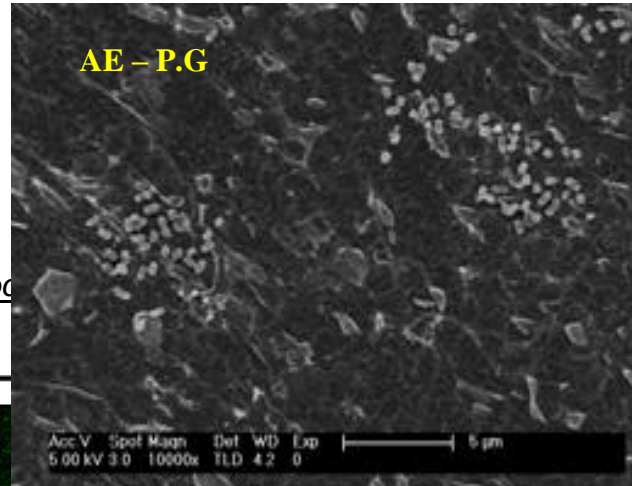
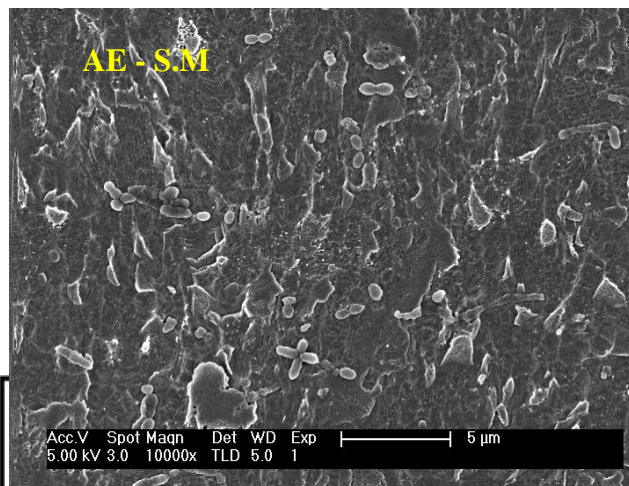
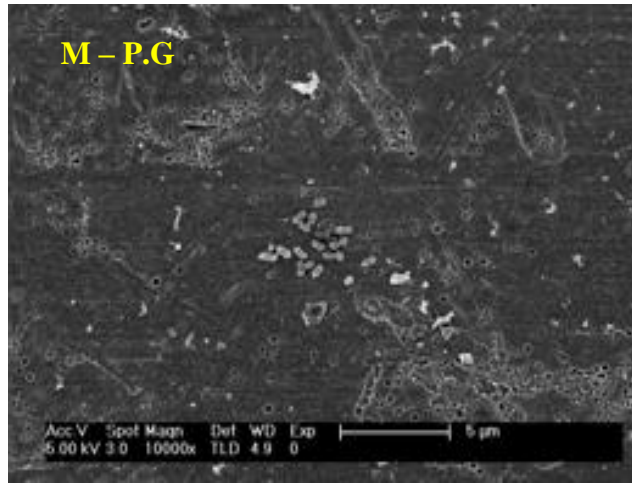
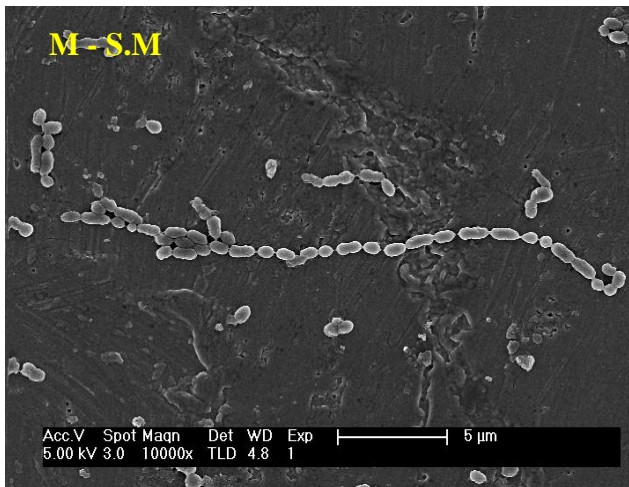
פיתוחם של שתלי טיטניום חדשניים מבוסס כיום בעיקר על מאפיינים פיזיקו-כימיים ייחודיים של פני השטח. יתרה מכך, בשנים האחרונות מתפתחת גישה חדשה, שמטרתה להגביר את התאימות הביוכימית של פני השטח של שתלי טיטניום. גישה זו מצדדת בהגברת ריפוי העצם בממשק עם השתל באמצעות קישור מולקולות ביולוגיות לפני השטח של הטיטניום (Morra, 1999; Puleo & Nanci, 2007). אפשרות נוספת שהועלתה היא שניתן להמריץ את ריפוי העצם באמצעות התאמות בפני השטח של שתל הטיטניום על ידי פפטידים או חלבוני מטריקס חוץ תאיים (Middleton et al., 2007).

בניסויי מעבדה נמצא שציפוי פני שטח של טיטניום בפיברונקטין ממקור פלסמה של אדם מגביר התקשרות של פיברובלסטים, הידבקות קרטינוציטים ועוד (Scheideler et al., 2007). בניסויים בחיות מעבדה נתגלה שציפוי שתלי טיטניום בפיברונקטין או בחלקיקי החלבון מגביר את יצירת העצם סביב השתלים (Jimbo et al., 2007; Petrie et al., 2008, 2009). במעבדתנו נמצא, שציפוי שתלי טיטניום באלבומין מהרוק הפחית באופן משמעותי את הידבקותם של חידקי חניכיים פתוגניים (Steinberg et al., 1998). כאמור, זיהום חידקי נחשב לאחד הגורמים העיקריים לכישלון מוקדם או מאוחר של שתלים בפה באמצעות שיבוש האינטגרציה בין השתלים ורקמות הסביבה. כידוע, רוב הזיהומים בפה נגרמים מפעילות חידקים במצב של ביופילם ומכאן, שהיווצרות ביופילם של חידקים על פני השטח של שתלים עלול להוות מרכיב חשוב גם בהתפתחות זיהומים סביב שתלים. בניסויים שנעשו במעבדתנו בעת האחרונה הראינו

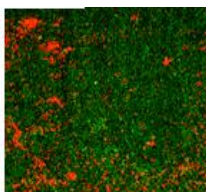
שהידבקות חידקים לפני שטח של טיטניום, כמו גם חומרים ביולוגיים אחרים, תלוי במבנה פני השטח. ניתן להסביר את העלייה בהידבקות לפני שטח מחוספסים בהגדלה של כלל פני השטח כתוצאה מאי הסדירות שנוצרת בתהליך הייצור של פני שטח כאלה. לעומת הידע הרב שנצטבר על יצירת ביופילם חידקי על גבי זגוגית השיניים, מנגנון ההידבקות של חידקים ויצירת ביופילם על שתלי טיטניום אינו מובן דיו. בדומה לדוק הדנטלי שמצפה את השיניים וחלקי השתל שמחוץ לחניכיים, גם על פני שטח השתל הנחשף לגורמי הפלסמה נוצרת שכבה א-צלולרית המורכבת בעיקרה מחלבונים ויונים שמקורם בפלסמה. יתרה מכך, פני שטח השתל שעשויים טיטניום דיאוקסיד וטעונים במטען שלילי, עשויים למשוך יונים טעונים חיובית כגון סידן דו ערכי חיובי. במחקר שנערך במסגרת עבודת הדוקטורט של דר' ליעד בדיחי-האוסליך במעבדתנו (Badihi Hauslich L., et al., 2011) נבדקה השפעת פני שטח שונים של שתלי טיטניום והידבקות חלבוני פלסמה לשתלים על הדבקות חידקים אוראליים. במחקר נבחנו שלושה פני שטח של שתלי טיטניום: Machined, פני שטח שלא עברו עיבוד, בעלי ערך חספוס נמוך; פני שטח בעלי ערכי חספוס בינוניים וגבוהים מסוג Acid etched שעברו כרסום בחומצה; וכן פני שטח מסוג Acid etched and blasting, שעברו כרסום בחומצה והליך הפצצת חלקיקים. הידבקות חידקים אוראליים נבחרים לפני השטח השונים נבחנה חזותית באמצעות SEM (Scanning Electron Microscopy). איפיון איכותי של אופי הידבקות החידקים *Streptococcus mutans* ויחסי הגומלין עם חלבון הפלסמה אלבומין, בוצע באמצעות צביעה פלואורוסצנטית וסריקה ב- CLSM (Confocal Laser Scanning Microscopy). הערכה כמותית של הידבקות החידקים השונים, לפני שטח השונים נעשתה באמצעות אנליזת DNA. כמו כן נבחנו מנגנוני הידבקות של חידקים שונים הקשורים עם כוחות אלקטרוסטטיים או חיבור עם חלבוני פלסמה. במחקר נמצא, כי הידבקות חידקים לפני השטח הינה תלויה חספוס, וכי אל פני שטח מסוג Acid etched and blasting, בעלי ערך חספוס גבוה יותר, נצפתה הידבקות חידקים מוגברת בהשוואה לפני השטח האחרים (תמונות 1, 2). עוד נמצא, כי ציפוי מוקדם באלבומין פלסמה גרם לירידה משמעותית בהידבקות חידקים מסוג *S. mutans* לפני השטח השונים ויחסיות ההידבקות של החידקים נמצא פחותה בכ-50% לפני השטח השונים בהשוואה לפני שטח שלא צופו בחלבון. בניגוד לכך לא נמצאה השפעה של ציפוי בחלבון אלבומין את פני השטח השונים על הידבקות החידקים *P. gingivalis* או *F. nucleatum*. לעומת זאת, ציפוי מוקדם של פני שטח הטיטניום השונים בחלבון פיברונקטין מהפלסמה גרם לעלייה משמעותית מבחינה סטטיסטית בהידבקות החידקים *P. gingivalis* וגם *F. nucleatum* בהשוואה לפני שטח ללא ציפוי מוקדם בחלבון פיברונקטין נמצא כי יחסיות ההידבקות של *P. gingivalis* הייתה 180% בממוצע לפני שטח השונים. יחסיות ההידבקות של *F. nucleatum* לפני השטח השונים בהשוואה לפני שטח ללא ציפוי פיברונקטין, עמדה על 156% בממוצע לפני שטח השונים. לעומת זאת, לא נמצאה השפעה של ציפוי מוקדם בפיברונקטין על הידבקות חידקי *S. mutans*. טיפול מוקדם בתמיסות מועשרות ביוניים טעונים נעשה על מנת לבחון את תפקיד הקשרים האלקטרוסטטיים בהידבקות החידקים הנבחרים לפני השטח. טיפול מוקדם ביוני סידן גרם לעלייה משמעותית סטטיסטית בהידבקות החידקים *S. mutans* ו-*F. nucleatum* אל כל אחד מפני השטח הנבדקים. בהשוואה לפני שטח שלא עברו טיפול מוקדם, יחסיות ההידבקות של חידקי *S. mutans* הייתה 184% בממוצע לפני השטח השונים. עוד נמצא, כי הסרת יוני הסידן באמצעות טיפול בקלטור סידן (EGTA) לאחר הידבקות חידקים על פני שטח טיטניום שעברו טיפול מקדים בסידן, הביאה לירידה משמעותית סטטיסטית בכמות החידקים וגרמה להסרה משמעותית שלהם מפני השטח השונים - 70% בממוצע. יחסיות הידבקות חידקים מסוג *F. nucleatum* לפני שטח שעברו טיפול מקדים ביוני קלציום עמדה על 142% בממוצע לפני השטח השונים, לעומת פני שטח שלא עברו טיפול מוקדם. לעומת זאת הידבקות *P. gingivalis* לפני השטח השונים לא הושפעה מטיפול מוקדם ביוני סידן, וטיפול מוקדם ביוני אשלגן (טעונים חיובית) לא השפיע כלל על הידבקות כל אחד מהחידקים הנבדקים. בסיכום, נמצא כי הידבקות חידקים לפני שטח מחוספסים גבוהה יחסית לפני שטח חלקים, וזאת לגבי כל החידקים הנבדקים. בבחינת מנגנוני הידבקות נמצא, כי חידקים שונים עושים שימוש במנגנוני הידבקות שונים אל פני הטיטניום. בעוד שאלבומין מעכב הידבקות חידקי *S. mutans*, פיברונקטין מורז הידבקות חידקי *P. gingivalis* ו-*F. nucleatum*. כמו כן, החידקים *S. mutans* ו-*F. nucleatum* עושים שימוש בגשרי סידן לקישור עם פני שטח הטיטניום.

ממצאי המחקר מצביעים על קשרי גומלין מורכבים בין סוג פני שטח טיטניום, ספיחת חלבוני פלסמה אל פני שטח הטיטניום בחלל וברקמות הפה, ומנגנוני הידבקות חידקים מסוגים שונים. יש להמשיך ולחקור את המנגנונים הללו על מנת להגיע להבנה טובה יותר באשר להשפעתם של פיתוחי שתלים ועיבודי פני שטח של טיטניום שונים על הידבקות חידקים שעלולים להביא לזיהום מקומי, דלקת ואף לידי כישלון השתל. לשתל הדנטלי ייחודיות רבה בכך שהוא מהווה תותב פנימי שעובר עיגון בעצם, אך גם בעל חלק חיצוני בחלל הפה המתמודד מול גורמים פתוגניים שעלולים להביא לכישלון. אלו שתי מטרות שצריכות להתקיים יחדיו אך מצויות בסתירה: מצד אחד עליהן להוות גורם בעל יכולת אינטראקציה עם רקמות חיות, ומצד שני על החומר להיות אינרטי לסביבת המזהמים ותגובת הגוף בתהליך הדלקתי. מורכבות התהליכים הביולוגיים בהתפתחות רקמה חיה, תפקודית ומוגנת בפני זיהומים, גבוהה ביותר. אותם הגורמים המביאים להצלחה יכולים גם להביא לכשל. מתוך כך צריכה לעלות המסקנה, כי על מנת לייצר פיתוחי שתלים נכונים ומיטביים, עלינו להבין תחילה את מכלול הגורמים המשפיעים על התהליכים עוד בהתהוותם.

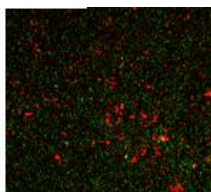
תמונה 1 : היזבקות חיידקים אל פני השטח השונים (מיקרוסקופ סורק)



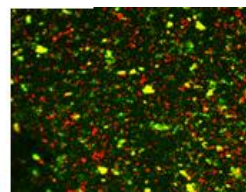
M-ALB-S.M



AE-ALB-S.M



BAE-ALB-S.M



BAE = Blasting Acid
etched
ALB = Albumin
S.M = *S. mutans*
P.G = *P. gingivalis*

ביבליוגרפיה

- Sela MN, Steinberg D, Rosen G, Kohavi D (2011). The adhesion of oral bacteria to modified titanium surfaces: Role of plasma proteins and electrostatic forces. *Clinical Oral Implants Research* Dec 13. [Epub ahead of print].
- Esposito M, Murray-Curtis L, Grusovin MG, Coulthard P & Worthington HV (2007). Interventions for replacing missing teeth: Different types of dental implants. *Cochrane Database of Systematic Review*. 17(4): CD003815.
- Jung RE, Pjetursson BE, Glauser R, Zembic A., Zwahlen M & Lang NP (2008). A systematic review of the 5-year survival and complication rates of implant-supported single crowns. *Clinical Oral Implants Research* 19:119-130.
- Jimbo R, Sawase T, Shibata Y, Hirata K, Hishikawa Y, Tanaka Y, Bessho K, Ikeda T, Atsuta M. (2007). Enhanced osseointegration by the chemotactic activity of plasma fibronectin for cellular fibronectin positive cells. *Biomaterials* 28:3469-77.
- Klinger A, Steinberg D, Kohavi D & Sela MN (1997). Mechanism of adsorption of human albumin to titanium in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research* 36: 387-392.
- Kohavi D, Klinger A, Steinberg D. & Sela MN (1995). Adsorption of salivary proteins to prosthetic titanium components. *Journal of Prosthetic Dentistry* 74: 531-534.
- Kohavi D, Klinger A, Steinberg D, Mann E & Sela MN (1997). Alpha-Amylase and salivary albumin adsorption onto titanium, enamel and dentin: an *in vivo* study. *Biomaterials* 18: 903-906.
- Leonhardt A, Renvert S & Dahlen G (1999). Microbial findings at failing implants. *Clinical Oral Implants Research* 10: 339-345.
- Lindhe J, Meyle J. (2008). Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol* 35:282-28.
- Middleton CA, Pendegrass CJ, Gordon D, Jacob J & Blunn GW (2007). Fibronectin silanized titanium alloy: A bioinductive and durable coating to enhance fibroblast attachment in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research A* 83:1032-1038.
- Morra M (2007). Biomolecular modification of implant surfaces. *Expert Review of Medical Device* 4:361-372.
- Nakazato G, Tsuchiya H, Sato M & Yamauchi M (1989). In vivo plaque formation on implant materials. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 4:321-326.
- Pier-Francesco A, Adams RJ, Waters MGJ & Williams DW (2006). Titanium surface modification and its effect on the adherence of *Porphyromonas gingivalis*: An *in vitro* study. *Clinical Oral Implants Research* 17:633-637.
- Puleo DA & Nanci A (1999). Understanding and controlling the bone-implant interface. *Biomaterials* 20:2311-2321.
- Petrie TA, Raynor JE, Reyes CD, Burns KL, Collard DM, García AJ (2008). The effect of integrin-specific bioactive coatings on tissue healing and implant osseointegration. *Biomaterials* 29:2849-57.

- Petrie TA, Reyes CD, Burns KL, García AJ (2009). Simple application of fibronectin-mimetic coating enhances osseointegration of titanium implants. *J Cell Mol Med* 13:2602-12.
- Quirynen M, Bollen CM, Papaionnou W, Van Eldere J & Van Streenberghe D (1996). The influence of titanium abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 11:169-178.
- Rimondini L, Fare S, Brambilla E, Felloni A, Consonni C, Brossa F & Carrassi A. (1997). The effect of surface roughness on early in vivo plaque colonization on titanium. *Journal of Periodontology* 68:556-562.
- Scheideler L, Rupp F, Wendel HP, Sathe S & Geis-Gerstorfer J (2007). Photocoupling of fibronectin to titanium surfaces influences keratinocyte adhesion, pellicle formation and thrombogenicity. *Dental Materials* 23:469-478.
- Sela MN, Badihi L, Rosen G, Steinberg D & Kohavi D (2007). Adsorption of human plasma proteins to modified titanium surfaces. *Clinical Oral Implants Research* 18:630-638.
- Shibli JA, Vitussi TR, Garcia RV, Zenóbio EG, Ota-Tsuzuki C, Cassoni A, Piattelli, d'Avila S. (2007). Implant surface analysis and microbiologic evaluation of failed implants retrieved from smokers. *Journal of Oral Implantology* 33: 232-238.
- Steinberg D, Klinger A, Kohavi D & Sela MN (1995). Adsorption of human salivary proteins to titanium powder. I. Adsorption of human salivary albumin. *Biomaterials* 16:1339-1343.
- Steinberg D, Klinger A, Sela MN & Kohavi D (1998). Adhesion of periodontal bacteria to titanium, and titanium alloy powders. *Clinical Oral Implants Research* 9:67-72.
- Zitzmann NU & Berglundh T (2008) Definition and prevalence of peri-implant diseases. *Journal of Clinical Periodontology* 35(8 Suppl):286-291.