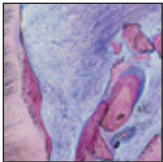


Histologische Evaluation einer allogenen mineralisierten Knochenmatrix bei der Behandlung parodontaler knöcherner Defekte



Jana-Marie Koylass, DDS, MS*
Pilar Valderrama, DDS, MS**
James T. Mellonig, DDS, MS***

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde untersucht, wie eine allogene Knochenmatrix die Neubildung von Knochen, Zement und Parodontalligament an einer zuvor erkrankten Wurzeloberfläche fördert. An dieser Studie nahmen vier Patienten mit schwerer chronischer Parodontitis und parodontal oder restaurativ nicht erhaltungswürdigen Zähnen teil. Bei jedem Patienten wurde ein Zahn mit einem schweren Knochendefekt ausgewählt. Zu Beginn wurden die Sondierungstiefe, die Gingivarezession und die Höhe des klinischen Attachments gemessen. Nach der Lappenabhebung wurde am apikalen Anteil des Zahnsteins eine Wurzelkerbe angebracht. Nach der Wurzelkürettage wurde allogenes Knochenmaterial in den Defekt gefüllt. Nach einer Heilungszeit von mindestens sechs Monaten wurden die Zähne en bloc entfernt und zur histologischen Untersuchung vorbereitet. An zwei der vier Zähne hatten sich Knochen, Zement und Parodontalligament neu gebildet. Ein Zahn heilte durch die Ausbildung eines neuen Bindegewebsattachments und ein weiterer durch die Bildung eines Saumepithels. (Int J Par Rest Zahnheilkd 2012;32:385–391.)

- * Privatpraxis, San Fernando, Trinidad; zuvor Resident, Periodontics Department, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, Texas, USA.
- ** Privatpraxis, Temple, Texas, USA; zuvor Resident, Periodontics Department, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, Texas, USA.
- *** Professor emeritus, Periodontics Department, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, Texas, USA.

Korrespondenz an: Dr. James T. Mellonig, Periodontics Department, University of Texas Health Science Center at San Antonio, 7703 Floyd Curl Drive, San Antonio, TX 78229-3900, USA. E-Mail: jtmellong@gmail.com

Das langfristige Ziel der Parodontaltherapie ist die Regeneration des parodontalen Attachments an einer zuvor erkrankten Wurzeloberfläche¹⁻⁴. Dazu wurden Knochen- und Proteintransplantate eingesetzt^{1-3, 5-9}. Knochen- und Proteintransplantate werden unterteilt in Autografts, Allografts, Xenografts und Alloplastiken¹⁰.

Poröses mineralisiertes humanes Spongiosa-Allograft (MCBA; Zimmer) wird im firmeneigenen, fünfstufigen Tutoplast-Prozess (Biodynamics International) hergestellt. Die fünf Herstellungsschritte sind (1) Delipidierung, (2) osmotische Kontrastbehandlung, (3) oxidative Behandlung mit Wasserstoffperoxid, (4) Dehydrierung durch Lösemittel und (5) Gammabestrahlung (1,78 Mrad). Nach Angaben des Herstellers zerstört und entfernt dieser Prozess Fett, Bakterien, Viren und Prionen, während die osteokonduktiven Eigenschaften des Allografts erhalten bleiben¹¹. Froum et al.¹² berichteten, dass MCBA 26 bis 32 Wochen nach einem Sinuslift zu mehr neuem Knochen und einem höheren Anteil von vitalem Knochen führte als anorganischer boviner Knochen. Numbissi et al.¹³ beschrieben nach Sinuslifts eine schnellere Knochenneubildung bei Verwendung von MCBA als bei der Kombination von dekalzifiziertem

gefriergetrocknetem Knochen-Allograft und anorganischem Knochen. Vastardis und Yukna¹⁴ zeigten beim Menschen nach einer Transplantation mit MCBA klinisch eine mittlere Abnahme der Sondierungstiefe um 3,0 mm und eine Knochenfüllung von 2,5 mm. Browning et al.¹⁵ evaluierten die Effektivität von MCBA bei intraossären Defekten bei 20 Patienten. Bei der Wiedereröffnung sechs Monate postoperativ stellten sie eine mittlere Zunahme des klinischen Attachments um 4,2 mm und eine mittlere Knochenfüllung von 66,8 % fest. Bislang wurde die Fähigkeit von MCBA zur Regeneration des Parodonts noch nie in histologischen Studien am Menschen evaluiert. In der vorliegenden Studie wurde histologisch die Fähigkeit von porösem MCBA zur Regeneration von neuem Knochen, Zement und Parodontalligament bei der Behandlung von parodontalen intraossären Defekten untersucht.

Material und Methode

In diese Studie wurden vier Patienten mit generalisierter schwerer chronischer Parodontitis aufgenommen, bei denen jeweils mindestens ein tiefer intraossärer Defekt vorlag. Die beteiligten Zähne waren aus parodontaler und restaurativer Sicht nicht erhaltungswürdig und sollten extrahiert werden. Für die Studie musste jeder Defekt eine Sondierungstiefe ≥ 7 mm aufweisen und radiologisch ein vertikaler Knochendefekt > 4 mm vorliegen. Die Patienten, die die Einschlusskriterien erfüllten, unterzeichneten vor Studieneintritt eine Einwilligungserklärung, die vom hauseigenen Kontrollausschuss des University of Texas Health Science Center in San Antonio genehmigt wurde. Insgesamt wurden vier Zähne in die Studie aufgenommen. Ini-

tial wurden klinisch die Sondierungstiefe, die Gingivarezession und die Höhe des klinischen Attachments ermittelt.

Chirurgisches Vorgehen

Vor dem operativen Eingriff erhielten die Patienten Anweisungen zur Mundhygiene, es wurde aber weder ein Scaling noch eine Wurzelglättung durchgeführt. Direkt vor der Operation spülten die Patienten ihren Mund eine Minute lang mit Chlorhexidin 0,12 % (Peridex, Procter & Gamble). Nach Sulkuszisionen wurden Vollschichtlappen abgehoben, um den darunterliegenden Knochendefekt freizulegen (Abb. 1a). Mit einem 1/2-Rundbohrer wurde an der Apikalkante des Zahnsteins eine Kerbe angebracht, die später als histologischer Bezugspunkt zum Wiederauffinden der kontaminierten Wurzeloberfläche diente¹⁶⁻¹⁸. Die Wurzel des Studienzahns wurde gescalot und geglättet. Mit einer Kombination aus Ultraschall- und Handgeräten wurde das Granulationsgewebe aus dem Knochendefekt entfernt. Am Hartgewebe wurden folgende Messwerte erhoben: Abstand zwischen Schmelz-Zement-Grenze (SZG) und Alveolarkamm, Abstand zwischen SZG und Defektboden sowie Abstand zwischen Alveolarkamm und Defektboden. Anschließend wurden die knöchernen Defekte vollständig mit 250 bis 1000 μm großen MCBA-Partikeln aufgefüllt (Abb. 1b). Der Wundverschluss erfolgte durch vertikale Matrizen- oder Einzelknopfnähte mit nicht resorbierbaren 5.0-Fäden (W.L. Gore). Zum Schutz der Wunde wurde ein Parodontalverband angelegt. Die Patienten erhielten Doxycyclin 100 mg/d für 10 Tage und Ibuprofen 3 x 600 mg/d und wurden angewie-

sen, den Mund zweimal täglich für 30 Sekunden mit 0,12 % Chlorhexidinlösung zu spülen.

Die Patienten stellten sich nach 10 Tagen sowie in den folgenden sechs Monaten alle zwei Wochen zur postoperativen Behandlung vor. Sie umfasste eine supragingivale Plaque-Entfernung, Anweisungen zur Mundhygiene und okklusale Anpassungen.

Histologische Untersuchung

Nach einer mindestens sechsmoatigen Heilungszeit wurden die vier Studienzähne en bloc nach einem von Bowers et al. beschriebenen Protokoll entnommen^{9, 16, 17}. Die dadurch entstandenen Alveolarkammdefekte wurden mit einer Kombination aus MCBA und einer resorbierbaren Perikardmembran (Zimmer) für eine Kammaugmentation geschlossen. Nach dreimonatiger Wundheilung wurden die Patienten zur entsprechenden prothetischen Rehabilitation weitergeleitet.

Die Biopsate wurden in 10 % neutral gepuffertem Formalin mit 1 % Calciumchlorid fixiert und nach der Exaktmethode histologisch verarbeitet¹⁹. Die Proben wurden in einer von 70 % auf 100 % aufsteigenden Alkoholreihe über zwei Wochen dehydriert und dann in Kunststoff gegeben (Technovit 7200 VLC, Heraeus Kulzer). Mithilfe eines Mikroschleifverfahrens wurde die Probendicke auf 40 bis 60 μm reduziert. Anschließend wurden serielle mesiodistale Schnitte angefertigt und mit Hämatoxylin-Eosin angefärbt. Die histomorphometrische Untersuchung der Proben erfolgte mittels Lichtmikroskop und Kamera. Die Digitalfotos wurden abgespeichert und mit einer speziellen Bildsoftware ausgewertet (Image Pro Plus v 6.0, Media Cybernetics). Das

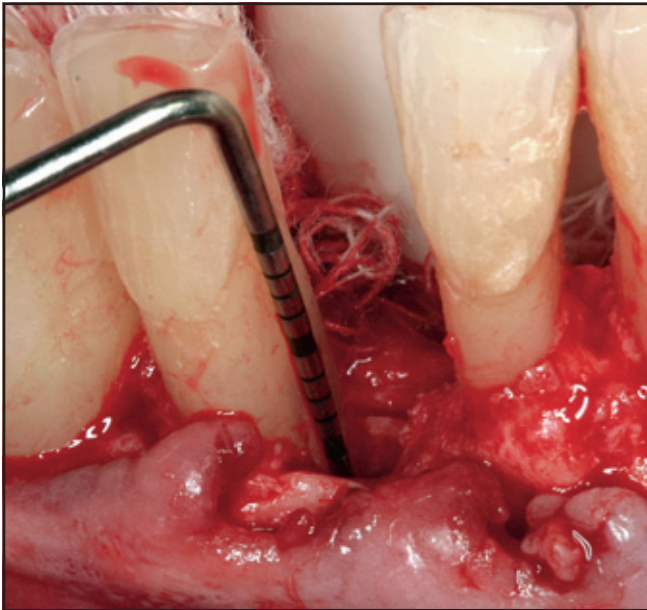


Abb. 1a Klinischer Befund der Knochendefekte bei Studienbeginn.

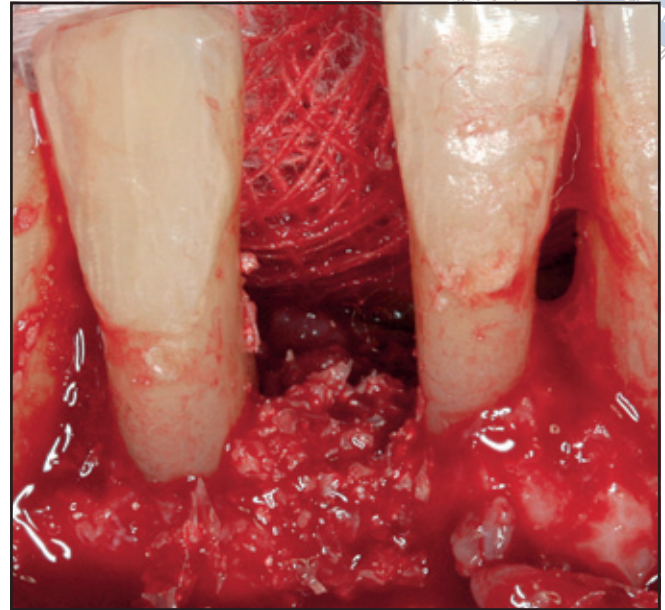


Abb. 1b Knochendefekt nach MCBA-Transplantation.

Programm wurde so eingestellt, dass die Messungen an den Schnitten im Verhältnis von 1:1 erfolgten. Die parodontale Wundheilung wurde evaluiert und nach Regeneration, neuem Attachment oder Saumeptithel klassifiziert. Außerdem erfolgten Längenmessungen. Für jede Probe wurden folgende Werte, bezogen auf die Basis der Kerbe, in Millimetern angegeben: die Länge des neuen Knochens, die Länge des neuen Zements, die Länge des neuen Parodontalligaments, die Länge des neuen Bindegewebes und die Länge des Saumeptithels.

Ergebnis

Die Heilung verlief komplikationslos und alle Patienten gaben nach der Intervention minimale Beschwerden an. Der Weichgewebsverschluss war in der Regel nach 14 Tagen abgeschlossen. Die klinischen und histologischen Ergebnisse sind in den Tabellen 1 bis 3 zusammengefasst. Die Verwendung des Transplantatmaterials verbesserte die klinischen Parameter signifikant. Die mittlere Sondierungstiefe nahm um 4,5 mm ab (Bereich: 3,0 bis 6,0 mm) und die mittlere Gingivarezession um 1,0 mm

Tabelle 1		Klinische Messungen (mm) bei Studienbeginn und sechs Monate nach der operativen Knochenregeneration					
Defekt	Lage*	Studienbeginn			6 Monate		
		PD	REC	CAL	PD	REC	CAL
1	42M	7	1	8	2	2	4
2	42M	10	5	15	4	8	12
3	12M	8	0	8	5	0	5
4	42D	7	1	8	3	1	4

PD = Sondierungstiefe, REC = Gingivarezession, CAL = Höhe des klinischen Attachments, M = mesial, D = distal.
 *FDI-Zahnschema.

Tabelle 2		Klinische und histologische Ergebnisse (mm) 6 Monate nach der operativen Knochenregeneration				
Defekt	Lage*	PDR	REC	CAL	Heilungsart	
1	42M	5	1	4	REG	
2	42M	6	3	3	REG	
3	12M	3	0	3	NCT	
4	42D	4	0	4	LJE	

PDR = Reduktion der Sondierungstiefe, REC = Zunahme der Gingivarezession, CAL = Höhe des klinischen Attachments, M = mesial, D = distal, REG = parodontale Regeneration, NCT = neues Bindegewebsattachment, LJE = langes Saumeepithel.
 *FDI-Zahnschema.

Tabelle 3		Zusammenfassung der histologischen Ergebnisse (mm)			
Defekt	Lage*	Neuer Knochen	Neuer Zement	Neues PDL	Neues CT-Attachment
1	42M	2,59	2,85	2,59	0,91
2	42M	2,02	1,53	1,53	0,76
3	12M	0,00	0,00	0,00	1,80
4	42D	0,00	2,38	0,00	0,00

PDL = Parodontalligament, CT = Bindegewebe; M = mesial; D = distal.
 *FDI-Zahnschema.

(Bereich: 0,0 bis 3,0 mm), während die mittlere Höhe des klinischen Attachments um 3,5 mm (Bereich: 3,0 bis 4,0 mm) anstieg (Tabelle 2). Die histomorphometrische Analyse zeigte, dass die parodontale Regenera-

tion der Defekte 1 und 2 durch die Neubildung von Knochen, Weichgewebe und Parodontalligament erfolgt war (Abb. 2a und b). Defekt 3 heilte durch Ausbildung einer dünnen neuen Zementschicht mit ein-

strahlenden Bindegewebsfasern ab, d. h. mit einem neuen Bindegewebsattachment (Abb. 3a und b). Defekt 4 heilte nur durch Saumeepithel. In den regenerativ verheilten Defekten hatten die meisten Transplan-

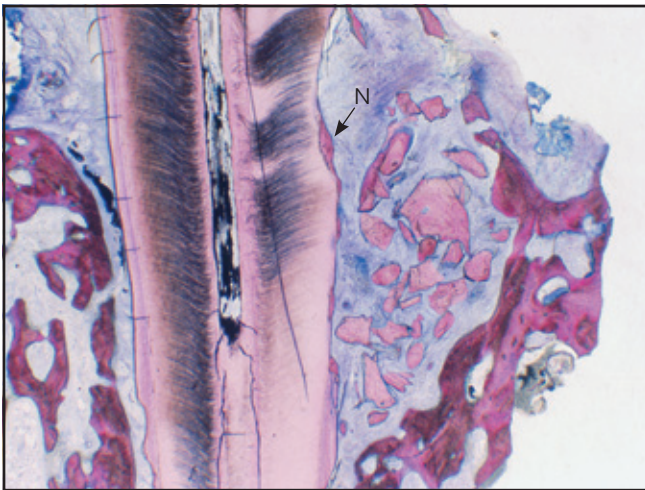


Abb. 2a Histologischer Schnitt von Defekt 1 mit der Wurzelkerbe (N), Transplantatpartikeln und dem Defektboden (Hämatoxylin-Eosin, Vergrößerung x 1).



Abb. 2b Der Bereich der Wurzelkerbe in Abb. 2a zeigt neuen Knochen (NB), neuen Zement (NC), am Zement inserierendes Bindegewebe (CT), Transplantatpartikel (GP) und die Grenze des Saumepithels (JE) (Hämatoxylin-Eosin, Vergrößerung x 1).

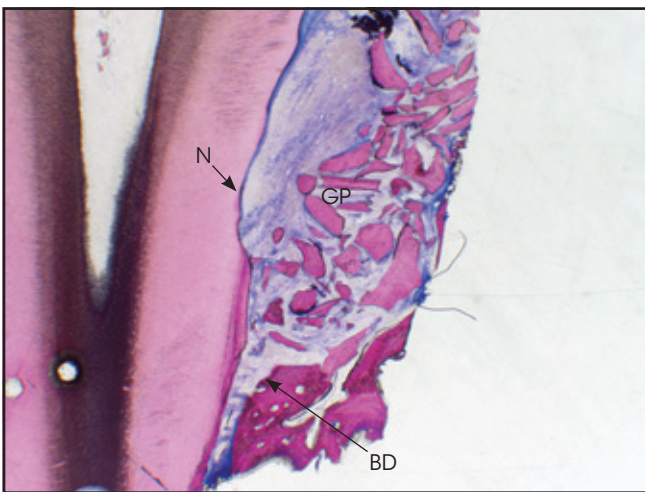


Abb. 3a Defekt 3 mit Wurzelkerbe (N), Transplantatpartikeln (GP) und Defektboden (BD) (Hämatoxylin-Eosin, Vergrößerung x 1).



Abb. 3b Der Bereich der Wurzelkerbe in Abb. 3a zeigt ein neues Bindegewebsattachment in der Kerbe (CT), neuen Knochen (NB) sowie die Basis des Saumepithels (JE) (Hämatoxylin-Eosin, Vergrößerung x 4).

tatpartikel neugebildeten Knochen angelagert, während andere von Bindegewebe umschlossen waren (Abb. 2a und b). Im neugebildeten Zement koronal der Kerbe fanden sich Zellen in den Lakunen im Sin-

ne einer zellulären Zementbildung (Abb. 2b). Der neue Zement wurde auf Dentin und altem Zement gebildet. Die Bindegewebsfasern waren rechtwinklig oder parallel ausgerichtet, wobei die meisten Fasern par-

allel zur Wurzeloberfläche verliefen (Abb. 2b und 3b).



Diskussion

Die Ergebnisse dieser Studie belegen, dass beim Menschen eine parodontale Regeneration parodontaler Knochendefekte mit MCBA möglich ist. Histologisch förderte MCBA die parodontale Regeneration des Attachmentapparats bei zwei der vier untersuchten Defekte. Bei den regenerativ heilenden Defekten betrug die mittlere Länge des neugebildeten Knochens 2,30 mm, die Länge des neuen Parodontalligaments 2,06 mm und die Länge des zellulären Zements 2,19 mm (Tabelle 3). Diese Zahlen liegen deutlich über der bei der Behandlung ungedeckter intraossärer Defekte mit demineralisiertem, gefriergetrocknetem Knochen-Allograft erzielten Länge des neuen Knochens von 1,97 mm, des Zements von 0,68 mm und des Parodontalligaments von 0,68 mm¹⁷.

Obwohl histologisch eine Regeneration erzielt wurde, waren einige der MCBA-Partikel von Bindegewebe umgeben und hatten keinen Knochen angelagert (Abb. 2a und b). Derartige Partikel lagen nahe dem Zentrum des Knochendefekts. Allerdings wiesen viele von ihnen eine gewisse Knochenanlagerung auf. Minichetti et al.²⁰ kamen bei einer Ridge Preservation mit MCBA nach einer Extraktion zu ähnlichen Ergebnissen. Die histologische Auswertung der Probe fünf Monate nach der Transplantation erbrachte nicht vitale Splitter aus kalzifiziertem Knochen mit hochorganisierter Matrix, umgeben von lebensfähiger nicht kalzifizierter unreifer Knochenmatrix.

Die En-bloc-Histologie wurde als unethisches Verfahren kritisiert²¹. Derzeit gibt es aber außer der histologischen Auswertung keine Möglichkeiten, eine parodontale Regeneration nachzuweisen. In dieser Studie am Menschen wurden die Defekte nach der Entnahme der Bi-

opsate mit einer Kombination aus einem MCBA-Transplantat und einer Perikardbarrieremembran zur Knochenregeneration verschlossen. Die Kammaugmentation vor der prothetischen Rehabilitation war in allen Fällen erfolgreich.

Danksagungen

Die Autoren danken Dr. David Carnes für die Bereitstellung der histologischen Proben. Diese Studie wurde von Zimmer Dental finanziert.

Literatur

1. Mellonig JT. Autogenous and allogeneic bone grafts in periodontal therapy. *Crit Rev Oral Biol Med* 1992;3:333-352.
2. Garrett S. Periodontal regeneration around natural teeth. *Ann Periodontol* 1996;1:621-666.
3. Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL, Gunsolley JC. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:227-265.
4. Wang HL, Greenwell H, Fiorellini J, et al. Periodontal regeneration. *J Periodontol* 2005;76:1601-1622.
5. Yukna RA, Mellonig JT. Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. *J Periodontol* 2000;71:752-759.
6. Trombelli L, Farina R. Clinical outcomes with bioactive agents alone or in combination with grafting or guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 2008; 35(suppl):117-135.
7. Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. Enamel matrix derivative (Emdogain) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;(4): CD003875.

8. Brunsvold MA, Mellonig JT. Bone grafts and periodontal regeneration. *Periodontol* 2000 1993;1:80-91.
9. Bowers GM, Schallhorn RG, Mellonig JT. Histologic evaluation of new attachment in human intrabony defects. A literature review. *J Periodontol* 1982;53:509-514.
10. Mellonig JT, Bowers GM. Regenerating bone in clinical periodontics. *J Am Dent Assoc* 1990;121:497-502.
11. Dalkyz M, Ozcan A, Yapar M, Gökay N, Yüncü M. Evaluation of the effects of different biomaterials on bone defects. *Implant Dent* 2000;9:226-235.
12. Froum SJ, Wallace SS, Elian N, Cho SC, Tarnow DP. Comparison of mineralized cancellous bone allograft (Puros) and anorganic bovine bone matrix (Bio-Oss) for sinus augmentation: Histomorphometry at 26 to 32 weeks after grafting. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006;26:543-551.
13. Noumbissi SS, Lozada JL, Boyne PJ, et al. Clinical, histologic, and histomorphometric evaluation of mineralized solvent-dehydrated bone allograft (Puros) in human maxillary sinus grafts. *J Oral Implantol* 2005;31:171-179.
14. Vastardis S, Yukna RA. Evaluation of allogeneic bone graft substitute for treatment of periodontal osseous defects: 6-month clinical results. *Compend Contin Educ Dent* 2006;27:38-44.
15. Browning ES, Mealey BL, Mellonig JT. Evaluation of a mineralized cancellous bone allograft for the treatment of periodontal osseous defects: 6-month surgical reentry. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2009;29:41-47.
16. Bowers GM, Granet M, Stevens M, et al. Histologic evaluation of new attachment in humans. A preliminary report. *J Periodontol* 1985;56:381-396.
17. Bowers GM, Chadroff B, Carnevale R, et al. Histologic evaluation of new attachment apparatus formation in humans. Part III. *J Periodontol* 1989;60:683-693.
18. Cole RT, Crigger M, Bogle G, Egelberg J, Selvig KA. Connective tissue regeneration to periodontally diseased teeth. A histological study. *J Periodontol Res* 1980;15:1-9.
19. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sägeschliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 1982;11:318-326.
20. Minichetti JC, D'Amore JC, Hong AY, Cleveland DB. Human histologic analysis of mineralized bone allograft (Puros) placement before implant surgery. *J Oral Implantol* 2004;30:74-82.
21. Leib AM, Kowalski CJ. Human histological research: Is it necessary? Humane? Ethical? *J Periodontol* 2005;76:1207-1210.