



# Semmelweis Egyetem Fogorvostudományi Kar

## Fogászati és Szájsebészeti Oktató Intézet

igazgató: Dr. Kivovics Péter egyetemi docens

<http://semmelweis-egyetem.hu/fszoi/>

<https://www.facebook.com/fszoi>



## Sertés eredetű xenograft vizsgálata alveolus prezervációban: Prospektív klinikai, szövettani és microCT vizsgálat

Dr. Kivovics Márton  
egyetemi tanársegéd,  
Ph.D. hallgató



A bírálóbizottság elnöke:

Dr. Hermann Péter, egyetemi tanár, PhD

Opponensek:

Dr. Nagy Katalin, egyetemi tanár, PhD

Dr. Márton Krisztina, egyetemi docens,  
PhD, med. habil.

Tagjai:

Dr. Olasz Lajos, egyetemi tanár, DSc

Dr. Kispélyi Barbara, egyetemi docens,  
PhD



Témavezető:

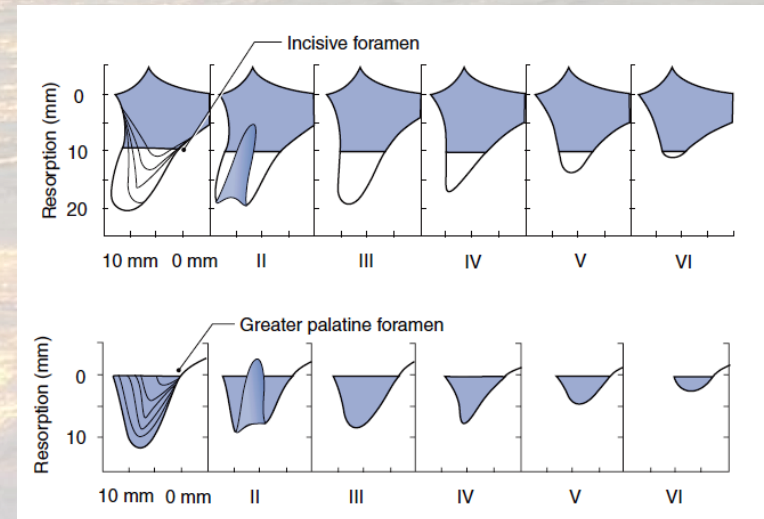
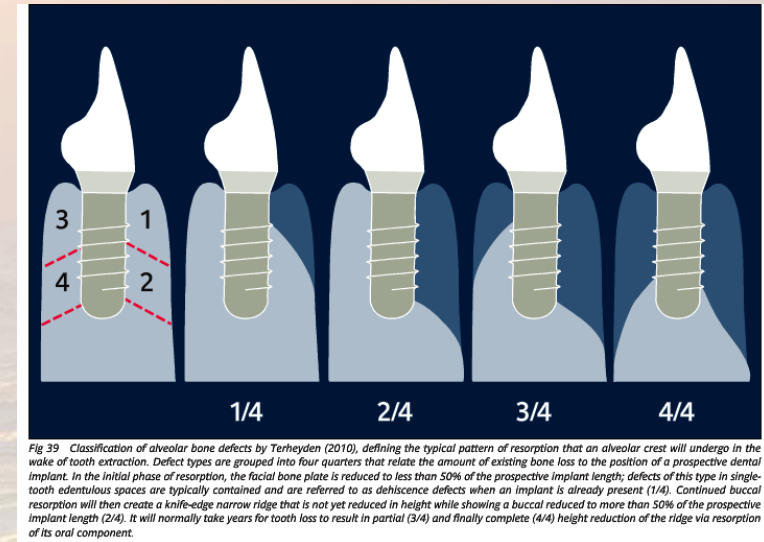
Dr. Szabó György, emeritus egyetemi tanár, DSc.

Dr. Dóri Ferenc, egyetemi docens, PhD, med. habil.

# Bevezetés (Irodalmi háttér)

- A processus alveolaris csontállományát fenntartó inger az a rágóerőből adódó fiziológias, funkcionális terhelés, melyet a fogak a periodontális ligamentumok által húzóerőként közvetítenek a csontra.
- A fogeltávolítást követően funkcionális terhelés hiányában megkezdődik az alveolusok atrophija.
- Ha a rehabilitációt implantátumokon elhorgonyzott vagy azokon megtámasztott fogpótlással tervezzük, az alveolusok atrophija az implantátumok beültetéséhez elégtelen csontkínálathoz, a korona gyökér arány megváltozásához, az implantátumok protetikai szempontból nem megfelelő vagy kompromisszumos helyzetéhez és esztétikai problémákhoz vezethet.

- Cordaro L, Terheyden H. Ridge augmentation procedures in implant patients ITI treatment guide Volume 7
- Cawood JI, Howell RA. A classification of the edentulous jaws. Int J Oral Maxillofac Surg 1988;17:232–6.

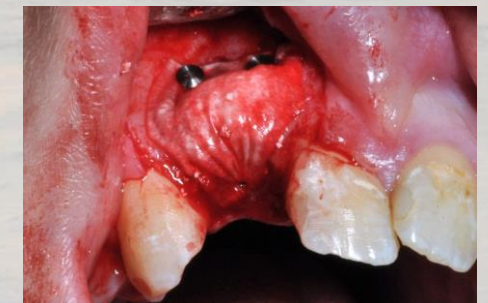
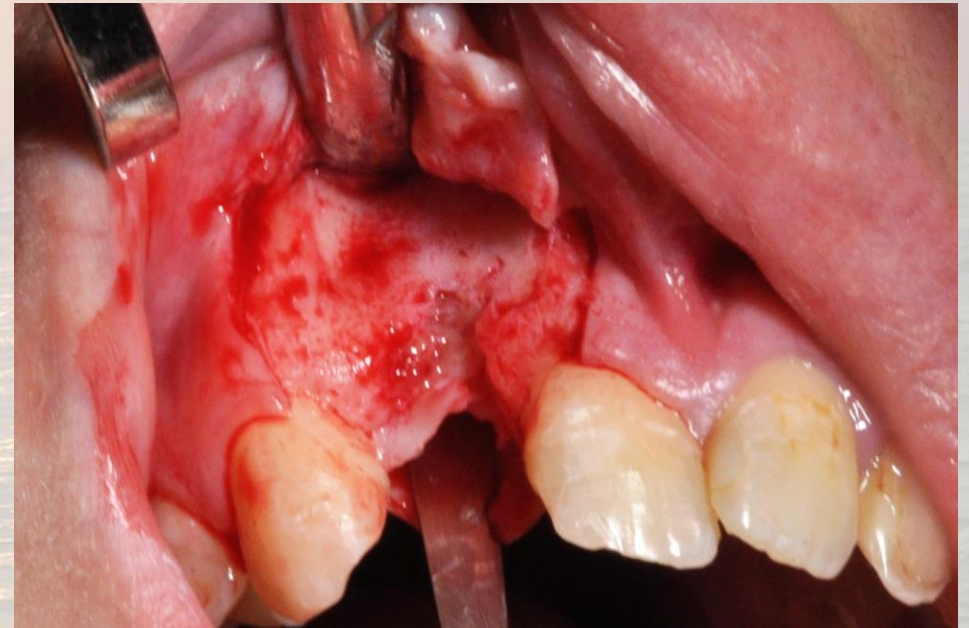


# A fogmedernyúlvány keményszöveteinek mennyiségi változásai a fogeltávolítást követően

- Schropp és mtsai vizsgálata szerint a fogeltávolítást követően az extractiós seb zavartalan gyógyulásakor a fogmedernyúlvány 50%-ot veszít vastagságából. Ennek a dimenziócsökkenésnek a kétharmad része az első három hónapban következik be.
- Chappuis és mtsai vizsgálatukban atraumatikusan, lebenyképzés nélkül végzett fogeltávolítások után közvetlenül, és 8 hét múlva készült cone beam CT-k alapján vizsgálták a buccális fal rezorpcióját. Megfigyelték, hogy vékony (1mm-nél vékonyabb) buccális fal esetén midfaciálisan átlagosan 7,5mm-es (62%-os) vertikális dimenziócsökkenésre, míg vastag (1mm-nél vastagabb) buccális fal esetén mindössze 1,1mm-es (9%-os) vertikális dimenziócsökkenésre számíthatunk.

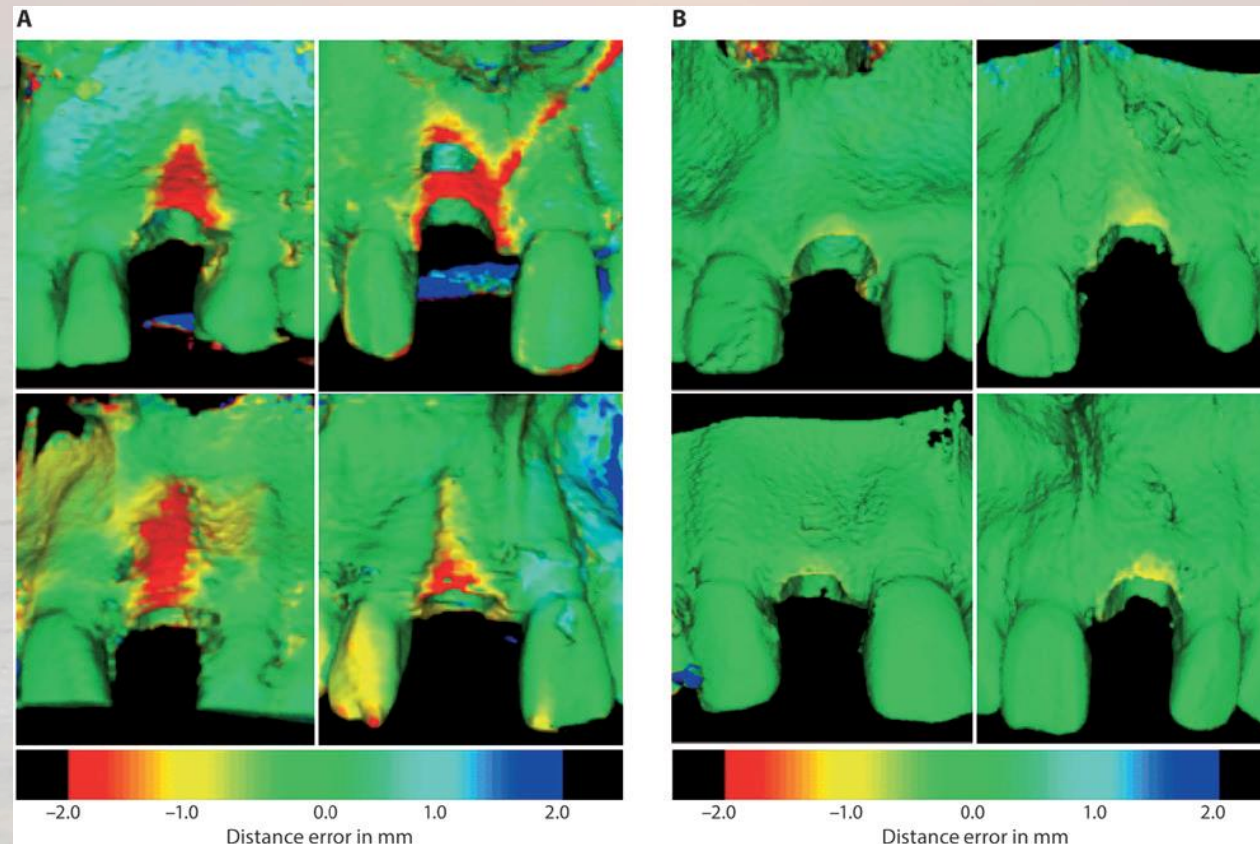
Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. (2003) Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 23: 313-323.

Chappuis V, Engel O, Reyes M, Shahim K, Nolte LP, Buser D. (2013) Ridge alterations post-extraction in the esthetic zone: a 3D analysis with CBCT. *J Dent Res*, 92: 195s-201s.



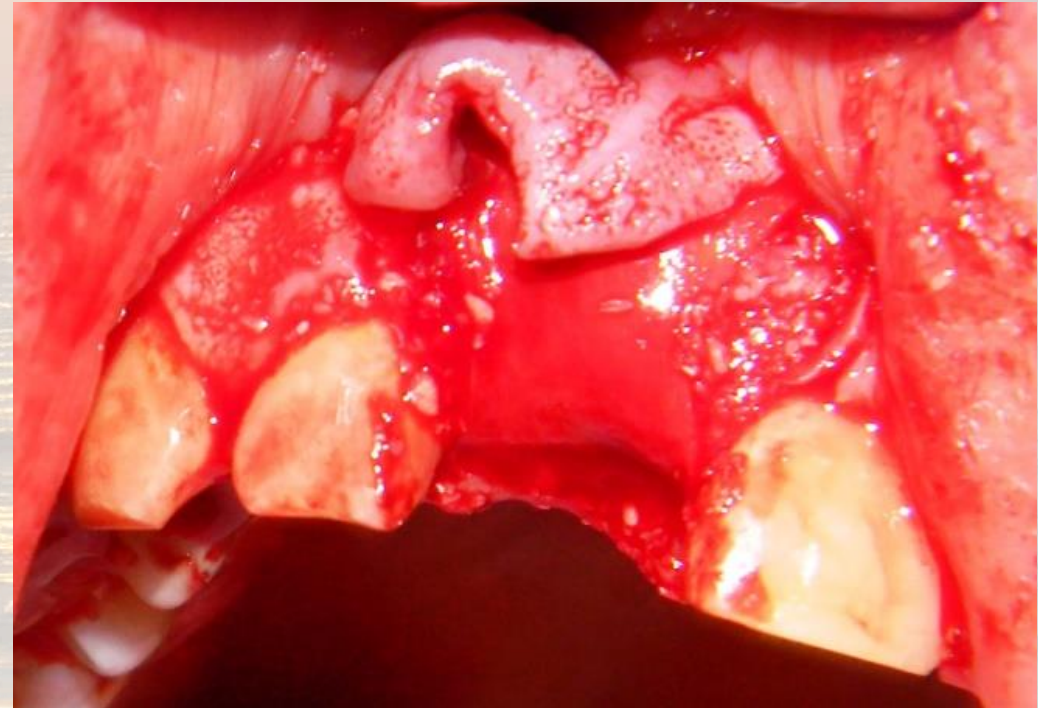
# A fogmedernyúlvány lágyszöveteinek mennyiségi változásai a fogeltávolítást követően

- Amennyiben a buccális csontfal vékony, 8 hét alatt a lágyszövetek vastagsága meghétszereződik.
- Ezzel szemben, ha a buccális csontfal vastag a lágyszövetek, átlagosan 0,7-0,8mm vastagságúak maradnak.



# Az alveolus prezerváció műtéti technikái

- Az irodalomban az alveolus prezerváció számos technikájának leírását megtaláljuk.
- Számos bioanyag használható alveolus prezerváció céljából.
- Jó eredmények érhetők el irányított csontregenerációval (GBR Guided Bone Regeneration) és lebenyképzés nélküli technikákkal.
- GBR technika alkalmazásakor használhatunk felszívódó és nem felszívódó membránokat csontpótló anyaggal, mint fillerrel, vagy anélkül.
- GBR technika alkalmazása felszívódó vagy nem felszívódó membránok és szemcsés csontpótló anyagok kombinációjával hatékonyan megőrzi a fogmedernyúlvány vastagságát implantáció előtt, de a filler jelenléte az alveolusban hátráltathatja annak természetes gyógyulását.



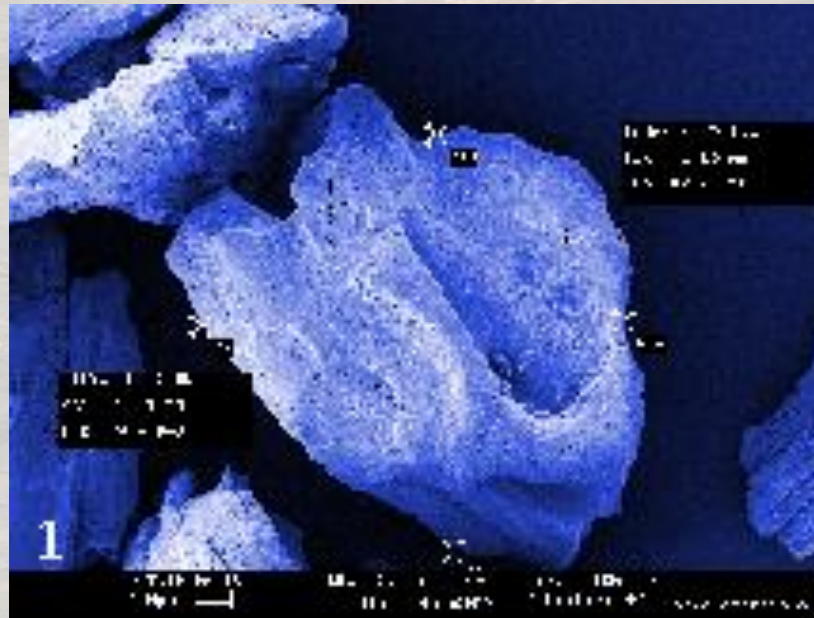
# Célkitűzések

**Prospektív klinikai vizsgálatunk célja a sertés eredetű xenograft szövetintegrációjának vizsgálata alveolus prezervációban szövettani és microCT vizsgálati módszerekkel.**

1. Megfigyelhető-e a csontpótló anyag integrációjakor nem kívánatos gyulladásos vagy idegentest reakció?
2. A csontpótló anyag kötőszövetesen vagy csontosan integrálódik a prezervált alveolusokban?
3. Homogén-e a prezervált alveolus szöveti felépítése?
4. Eltér-e a csontpótolt és nem csontpótolt alveolusok csontszerkezete?
5. Eltér-e a prezervált alveolusokban az újonnan képződött csont és a nem csontpótolt alveolusok csontszerkezete?

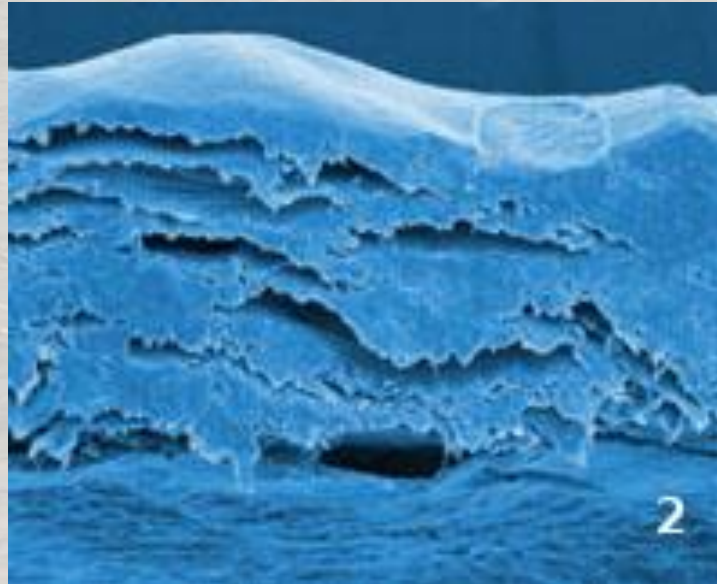
# A vizsgálatban alkalmazott csontpótló anyag és membrán

- A „Gen-Os” „Osteobiol” porózus, corticospongiosus, sertés eredetű xenograft, melyet alacsony hőmérsékleten (maximum 150°C-on) hőkezelnek, hogy megőrizzék a hidroxyl-apatit és I. típusú kollagén természetes struktúráját.



# A vizsgálatban alkalmazott csontpótló anyag és membrán

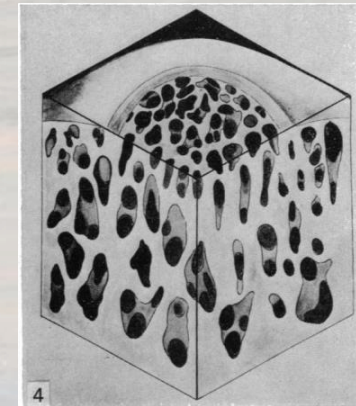
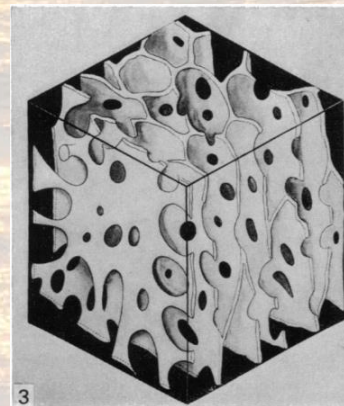
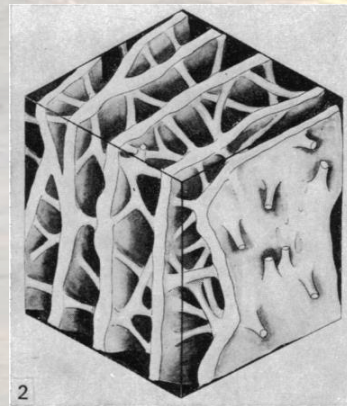
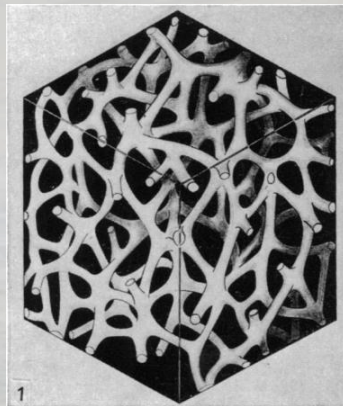
- Az „Evolution”, „Osteobiol” membrán sertés pericardium eredetű kollagénmembrán, melynek felszívódási ideje 3-4 hónap. Barrier funkcióját 8 hétig fejt ki.





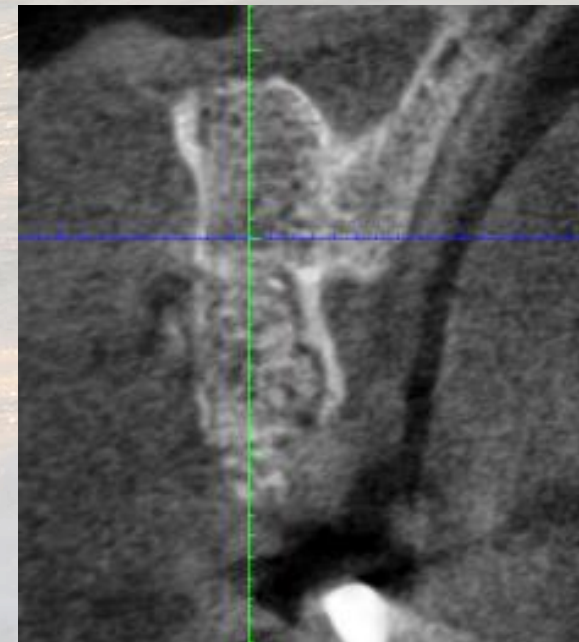
# A csontpótló anyag szövetintegrációjának lehetséges vizsgálati módszerei

Histomorphometria	Microct
A csont microarchitecturás vizsgálatok arany standardja.	Újabb eljárás, melynek eredményei jól korrelálnak a histomorphometriás eredményekkel.
Sejtszintű információt nyújt .	A szövetek sugárelnyeléséről (mineralizáltságáról) nyújt információt.
A szövetminta a vizsgálat következtében elpusztul.	A minta további vizsgálatoknak vethető alá.
Abból indul ki, hogy a csonttrabekulák struktúrája tányéralakú, pedik inkább tányérok és pálcikák bonyolult elrendeződésű halmaza. Ez pontatlansághoz vezethet.	A csont szerkezetét három dimenzióban rekonstruálja a szoftver és elvégzi a szükséges számításokat.
Eredményei megmutatják a mintában a különböző szövetféleségek százalékos arányát.	Sok más paraméterről is információt nyújt



# Módszerek Beteganyag I.

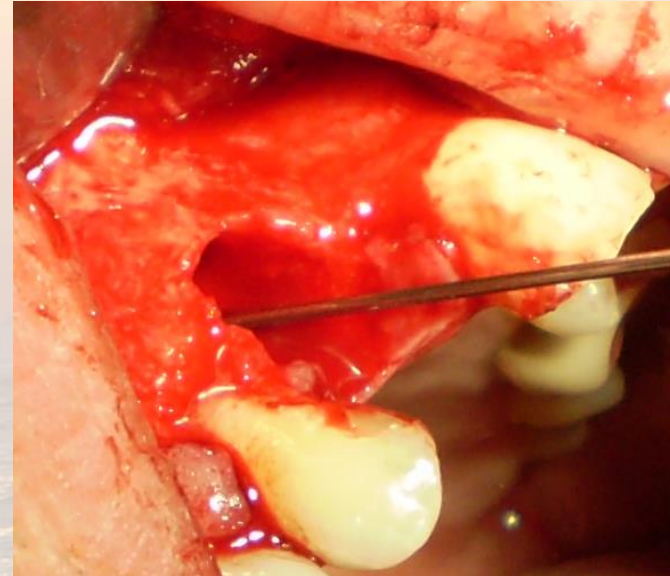
- Vizsgálatunkba olyan nem fogágybeteg felnőtt betegeket válogattunk be, akik átestek szájhigiénés előkészítésen és akiknek implantációs pótlást terveztünk.
- A vizsgálatból kizártuk azokat a betegeket, akiknek az anamnézisében olyan általános szervrendszeri betegség volt, mely a sebészeti beavatkozásokat kontraindikálta volna, azokat, akik a rendszeres kontrollvizsgálatokon nem jelentek meg, a dohányosokat és terheseket.
- A vizsgálatot a Helsink Deklarációban leírtaknak megfelelően végeztük. A kutatást az Egészségügyi Engedélyezési és Közigazgatási Hivatal (EEKH) engedélyezte az Egészségügyi Tudományos Tanács és Kutatásetikai Bizottság (ETT TUKEB) állásfoglalása alapján. A vizsgálat ügyszáma: 39993/2013/OTIG.



# Módszerek, Beteganyag II.

Az eseteket 3 csoportba soroltuk.

- Az I. csoport alveolusai háromfalú csontdefektusok voltak.
- A II. csoport pozitív kontrollként szolgált; alveolusai négyfalú konfigurációt mutattak.
- A III. csoport negatív kontrollként szolgált; A betegek alveolusai ebben a csoportban is elvesztették a buccális, labiális csontfalat; a fogeltávolítás után ezek az alveolusok is háromfalúak voltak akár a tesztcsoport alveolusai.



# Módszerek, Beteganyag III.

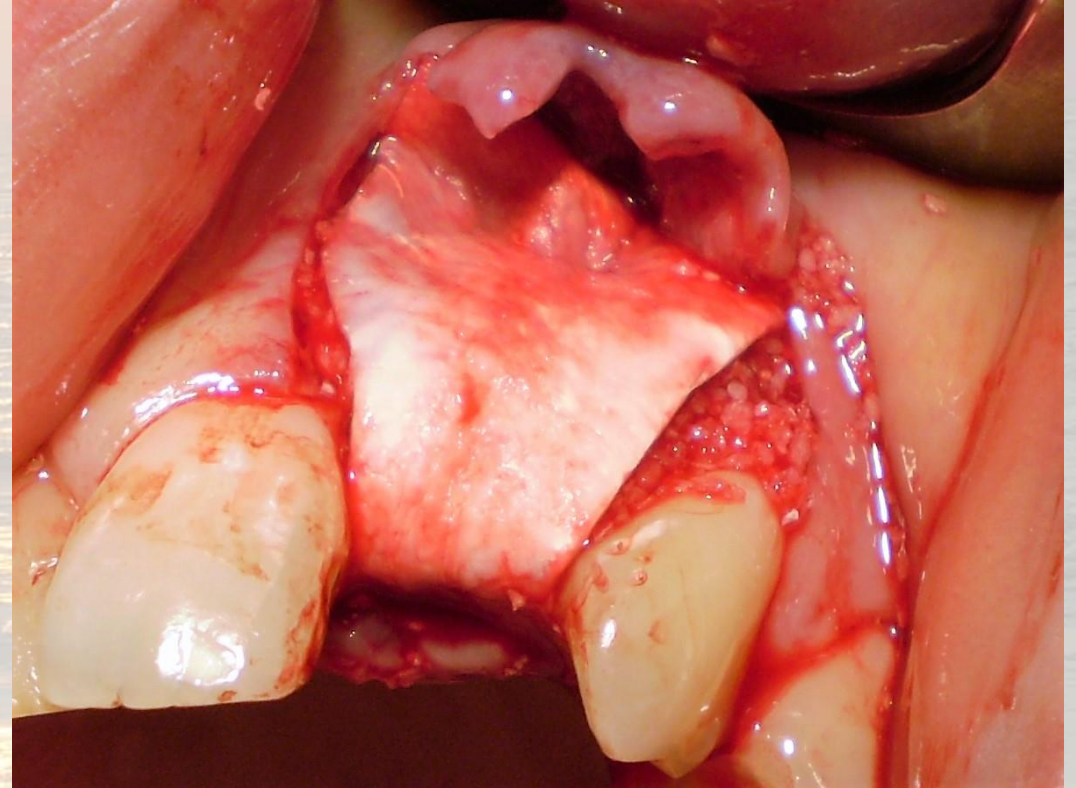
A vizsgálatba összesen 26 beteget válogattunk be.

- Az I. csoportban (tesztcsoport) 9 beteg ( $35,25 \pm 8,08$  év) (5 férfi és 4 nő) 12 prezervált alveolusából 12 csontbiopsziás mintát gyűjtöttünk.
- A II. csoportban, mely pozitív kontrollnak szolgált 8 beteg ( $50,38 \pm 18,32$  év) (5 férfi és 3 nő) 12 természetes úton gyógyuló extractiós sebéből 12 csontbiopsziás mintát vettünk.  $50,38 \pm 18,32$  év volt.
- A III. csoportban, mely negatív kontrollnak szolgált 9 beteg ( $48,89 \pm 19,46$  év) (6 férfi és 3 nő) 12 lebennyel per primam zárt gyógyult alveolusából 12 csontbiopsziás mintát vettünk.



# Módszerek, Sebészi beavatkozások I.

- Helyi érzéstelenítésben atraumatikus fogeltávolítást végeztünk és az alveolusokat alaposan excochleáltuk.
- Az alveolusok morphológiáját intraoperatívén értékeltük és a betegeket besoroltuk a csoportokba.
- Az I. és III. csoport alveolusainál intrasulculáris metszések és segédmetszések segítségével teljes vastagságú lebenyt képeztünk.
- Az I. csoport alveolusainál az extractiós sebet sertés eredetű xenografttal töltöttük fel és sertés eredetű kollagénmembránt használtunk barriermembránként.
- Az I. és III. csoport alveolusai esetén a lebenyt mobilizáltuk, hogy feszülésmentes zárást érjünk el. A sebet per primam zártuk egyszerű csomós öltésekkel.
- A II. csoport alveolusai esetén lebenyképzés nem történt és az extractiós sebeket természetes úton hagytuk gyógyulni.



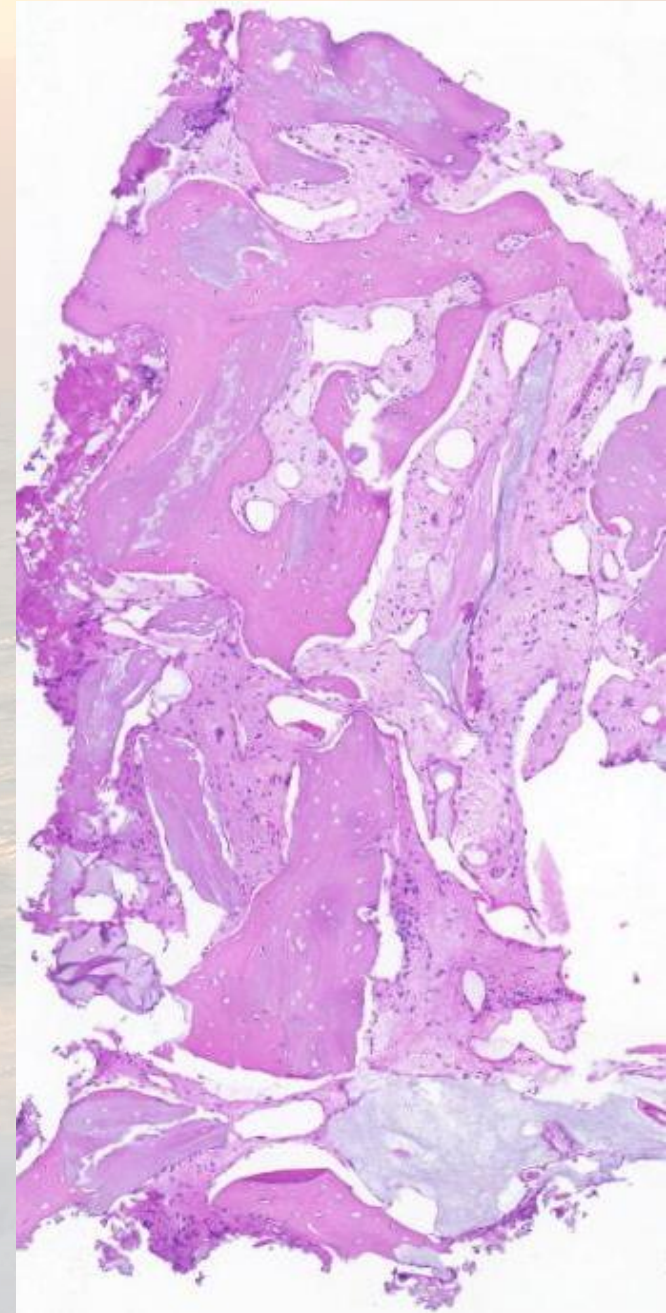
# Módszerek, Sebészi beavatkozások II.

- 6 hónapos gyógyulási időt követően a újra feltártuk a gyógyuló alveolusokat.
- A gyógyuló extractiós sebek területéről csontbiopsziás mintát vettünk trepánfúró segítségével.
- Az alveolusok területére fogászati titán csavarimplantátumokat ültettünk be. 3 hónapos gyógyulási idő múlva végleges fogpótlásokat készítettünk az implantátumokra.



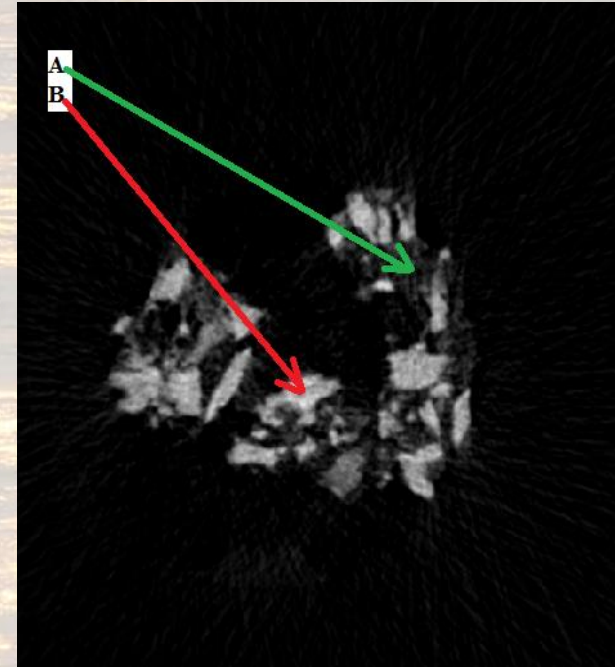
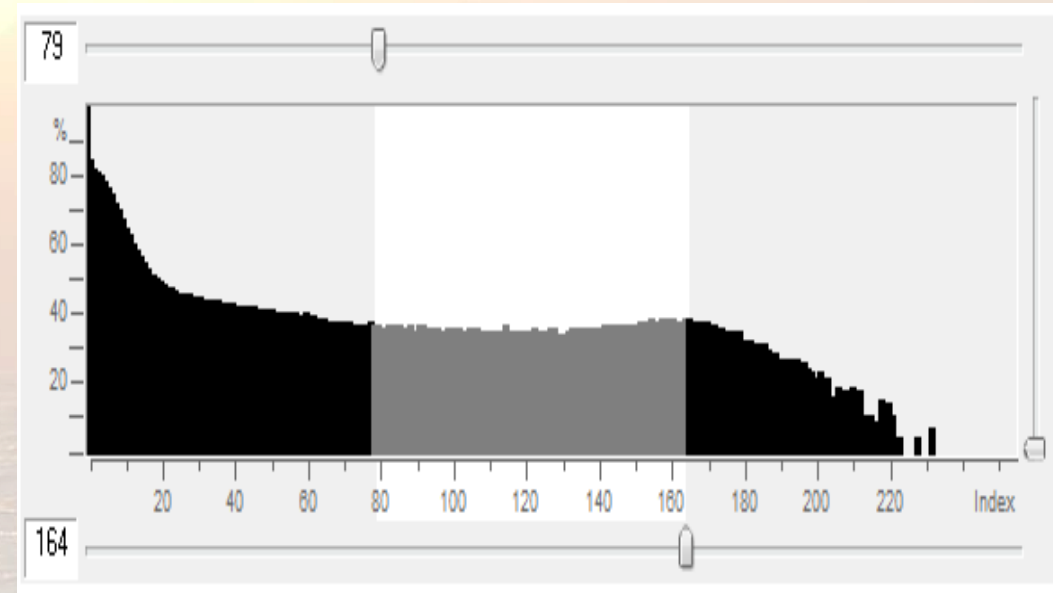
# Módszerek, Szövetteni vizsgálat

- A csontbiopsziás mintákat 10%-os pufferelt formaldehid oldatban fixáltuk.
- Dehidrálást és decalcinálást követően a mintát paraffinba beágyaztuk és metszeteket készítettünk.
- A metszetek rutin haematoxylin– eosin festést kaptak.



# Módszerek, MicroCT analízis

- A csontbiopsziás mintákat microCT szkener segítségével vizsgáltuk (SkyScan 1172 X-ray microtomograph, Bruker, Kontich, Belgium).
- A csőfeszültség 70kV, az intenzitás 124 $\mu$ A volt. A minták szkennelését 4%-os puffertelt formaldehid oldatban végeztük. A felbontás 5,90 $\mu$ m volt. 0,5 mm vastag alumínium szűrőt használtunk zajsökkentés céljából. A gyűrű műtermék korrekció 10, a beam hardening 61% volt. A szkennelés átlagos hossza 25 percig tartott.
- A szkennelést követően a háromdimenziós mikrostrukturális adatok rekonstrukciója a SkyScan NRecon szoftver segítségével történt. A rekonstrukció szeletenként 1,59s-ig tartott.
- Küszöbértékek megválasztásával szegmentáltuk a képeket abból a célból, hogy el tudjuk különíteni az újonnan képződött csontot a csontpótló anyag szemcséitől, és az újonnan képződött csontot a nem mineralizált szövetektől.



A: újonnan képződött csont  
B: csontpótló anyag szemcse



# Módszerek, Statisztikai analízis

## Összehasonlítottuk

- (a) az I. csoport (tesztcsoport) csontpótoló területek mintáinak, a II. csoport természetes úton gyógyuló alveolusaiból származó mintáinak és a III. csoport lebennyel zárt extractió sebéből gyűjtött mintáinak microarchitektúrás paramétereit,
- (b) és az I. csoport (tesztcsoport) csontpótoló területek mintáin belül az újonnan képzett csont, a II. csoport természetes úton gyógyuló alveolusaiból származó mintáinak és a III. csoport lebennyel zárt extractió sebéből gyűjtött mintáinak microarchitektúrás paramétereit.

Az eredmények statisztikai elemzését tapasztalt biostatistikussal konzultációban a Statistica 12 szoftverrel (StatSoft, Dell, Round Rock, Texas, Egyesült Államok) végeztük.

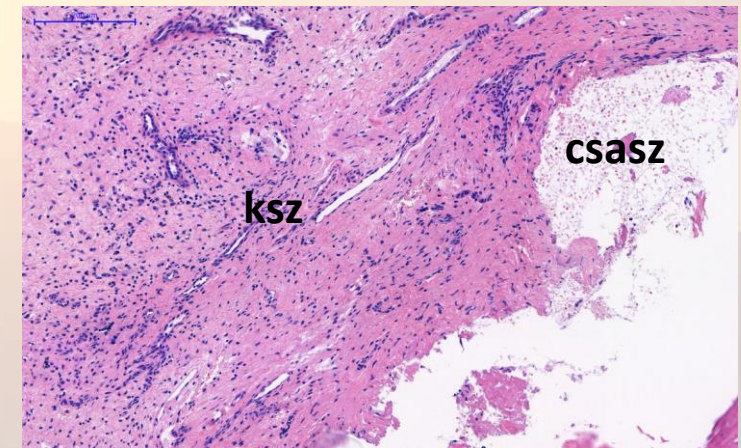
- A Levene-féle teszttel értékeltük a varianciák homogenitását és határoztuk meg, hogy az adott micromorphometrikus paraméter esetén parametrikus vagy nem parametrikus statisztikai eljárást alkalmazzunk-e.
- Paraméteres próbaként varianciaanalízist (Oneway ANOVA) és Bonferoni-tesztet, nem paraméteres próbaként Mann Whitney és Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztunk.
- $P \leq 0,05$  értékek esetén tekintettük szignifikánsnak az összefüggéseket.



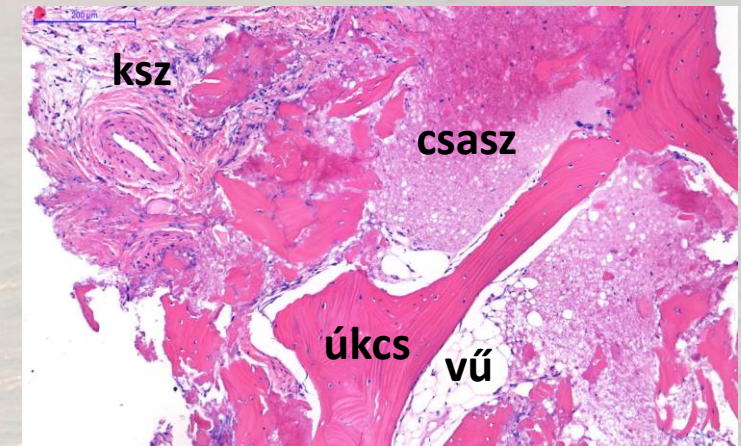
# Eredmények, A szövettani vizsgálat eredményei

- Az I. csoport (tesztcsoport) mintáinak szövettani vizsgálatának eredményei szerint a 12 csontbiopsziás mintából 8 mintában a csontpótló anyag szemcséit (**csasz**) újonnan képződött csont (**úkcs**) vette körül.
  - Ezekben a mintákban az apicális és centrális részeken primer, fonatos csontszövet és a csontpótló anyag szemcséivel közvetlen kapcsolatban lévő lamelláris csontból álló trabekulák voltak megfigyelhetők velőűrökkel (**vű**).
  - A minták coronális részében a csontpótló anyag szemcséit nagyrészt kollagén rostokban és erekben gazdag kötőszövet vette körül gyulladásoos reakció jelei nélkül.
- A 12 mintából 4 esetében a csontbiopsziás minták szövettani vizsgálata azt mutatta, hogy a csontpótló anyag szemcséit érett granulációs szövet vette körül (kötőszövet, **ksz**), gyulladásoos vagy idegentest reakció nem volt megfigyelhető.
- Mind a II., mind a III. csoport gyógyult extractiós sebeiből vett csontbiopsziás mintákban egészséges csontos gyógyulás volt megfigyelhető.

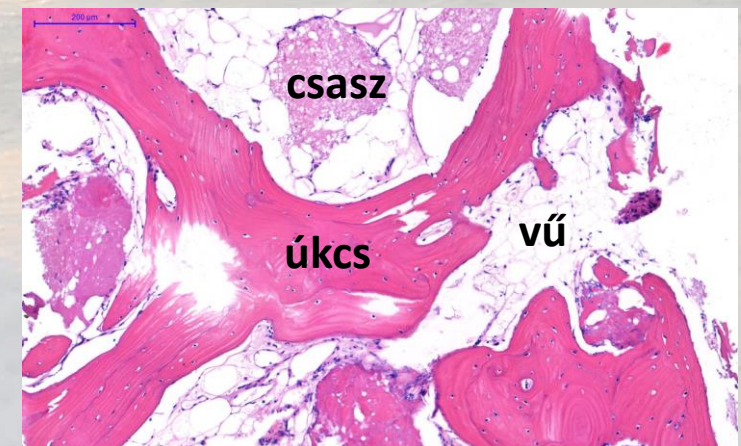
Coronális harmad



Centrális harmad

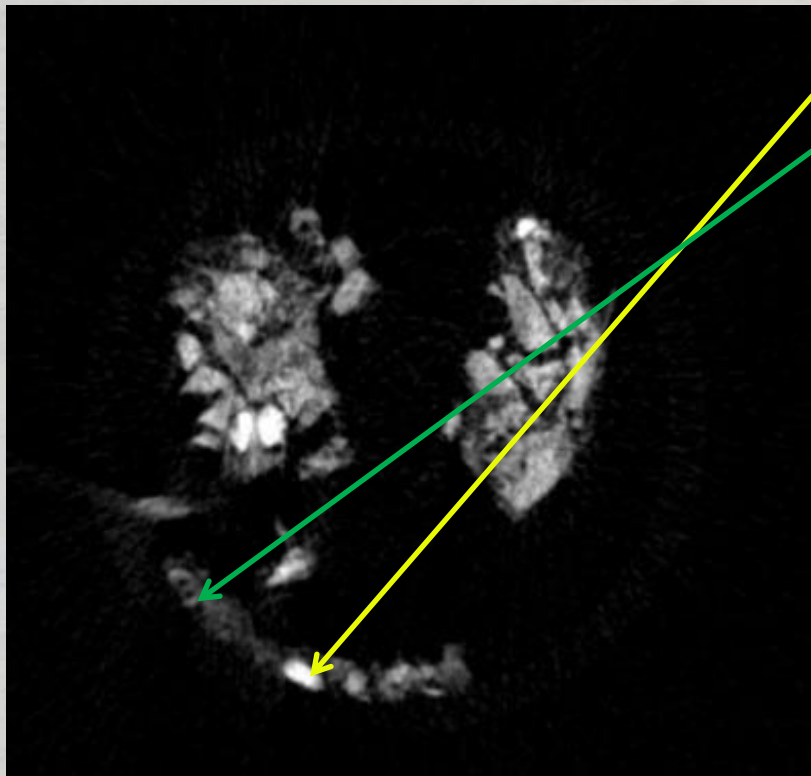


Apicalis harmad

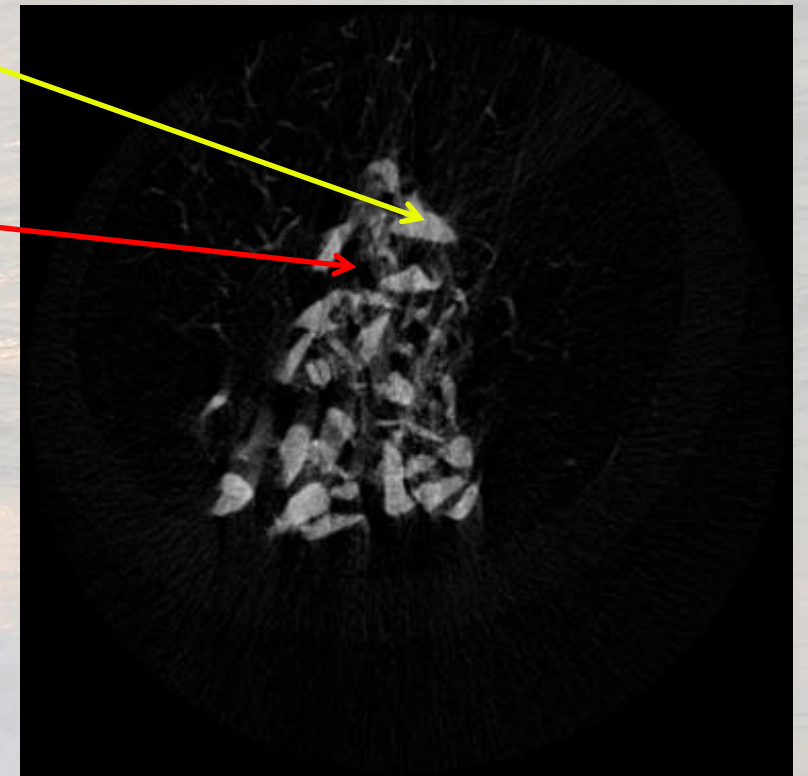


# Eredmények, MicroCT analízis kvalitatív eredményei

- Az I. csoport csontbiopsziás mintáinak microCT felvételei azt mutatták, hogy a 12 mintából 8-ban a minták apicális és centrális részeiben a csontpótló anyag intenzív sugárelnyelésű szemcséit újonnan képződött mineralizált csonttrabekulák veszik körül, melyek közvetlen kapcsolatban állnak a xenograft szemcséivel.
  - Ezen minták coronális harmadában a csontpótló anyag szemcséit nem mineralizált szövet veszi körül.
- A 12 mintából 4 esetében a csontpótló anyag szemcséi nem mineralizált szövetbe ágyazódtak be.
- Elmondható tehát, hogy a kvalitatív microCT analízis eredményei jól korreláltak a szövettani vizsgálat eredményeivel.

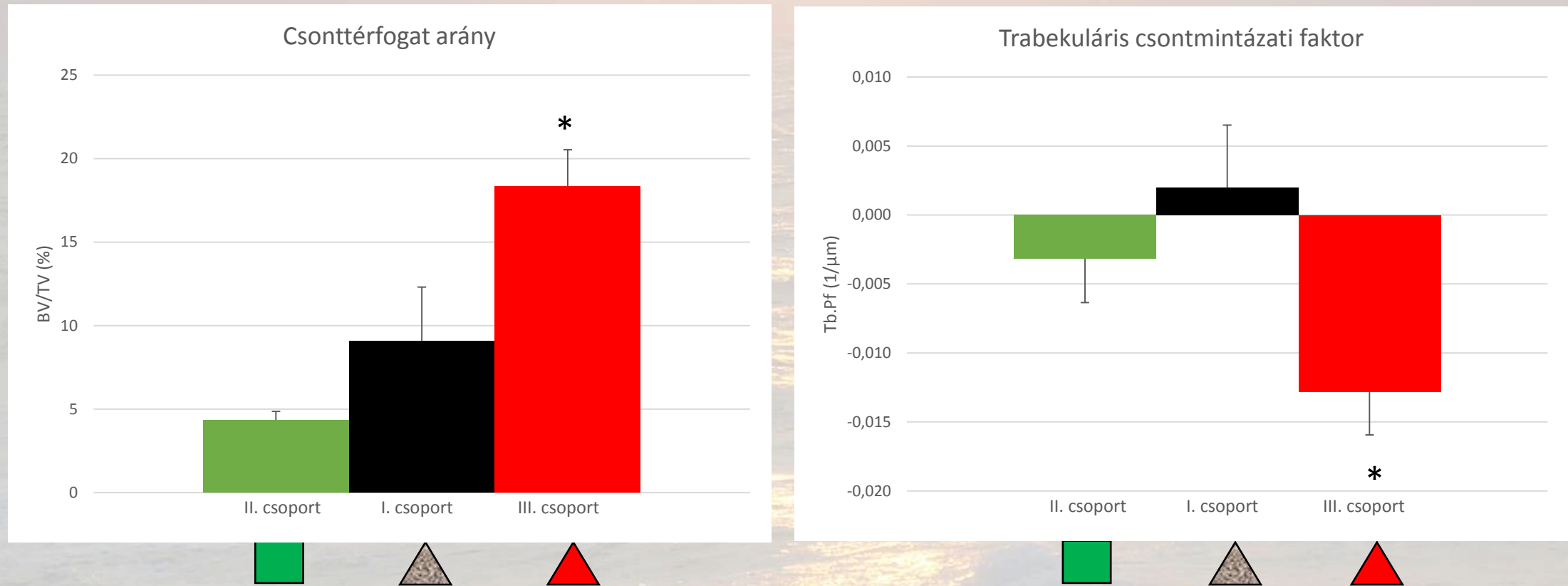


1. Csontpótló anyag szemcséi
2. Újonnan képződött csont
3. Nem mineralizált szövet



# Eredmények, MicroCT analízis kvantitatív eredményei

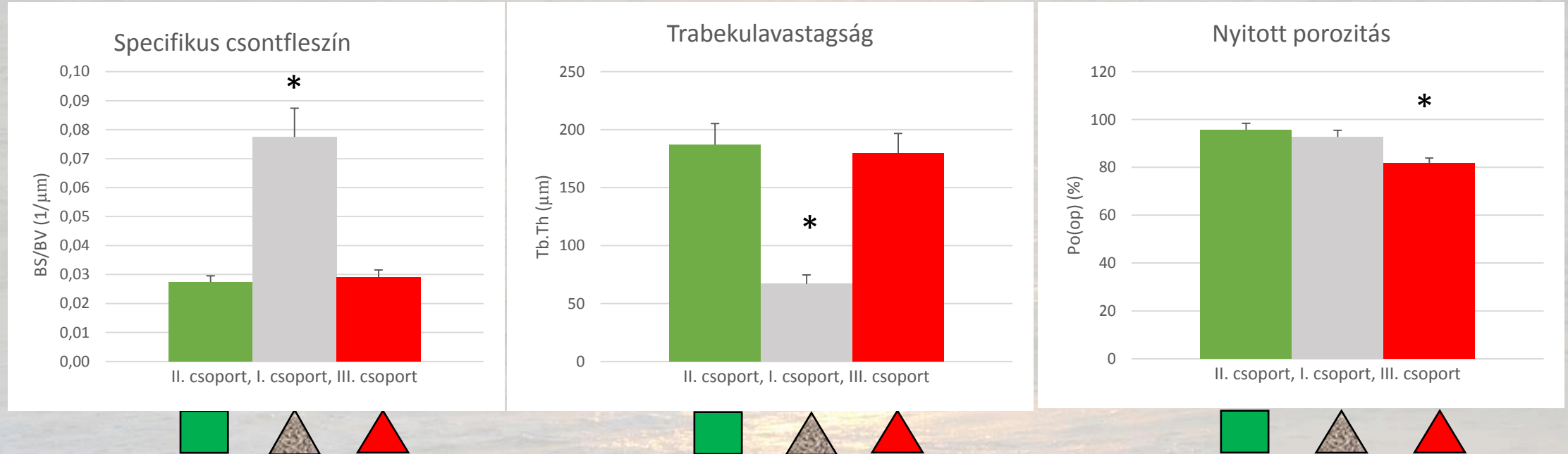
Összehasonlítottuk az I. csoport (tesztcsoport) csontpótoló területeiből, a II. csoport természetes úton gyógyuló extractió sebéből (pozitív kontrollcsoport) és a III. csoport lebennyel zárt alveolusaiból (negatív kontrollcsoport) nyert biopsziás minták micromorphológiai paramétereinek adatait.



BV/TV esetében varianciaanalízist (Oneway ANOVA) és Bonferoni tesztet, Tb.Pf esetében Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztunk, ( $p < 0,005$ ). Csillaggal jelöltük, ha a csoportban szignifikáns különbség volt a II. csoporthoz képest.

# Eredmények, MicroCT analízis kvantitatív eredményei

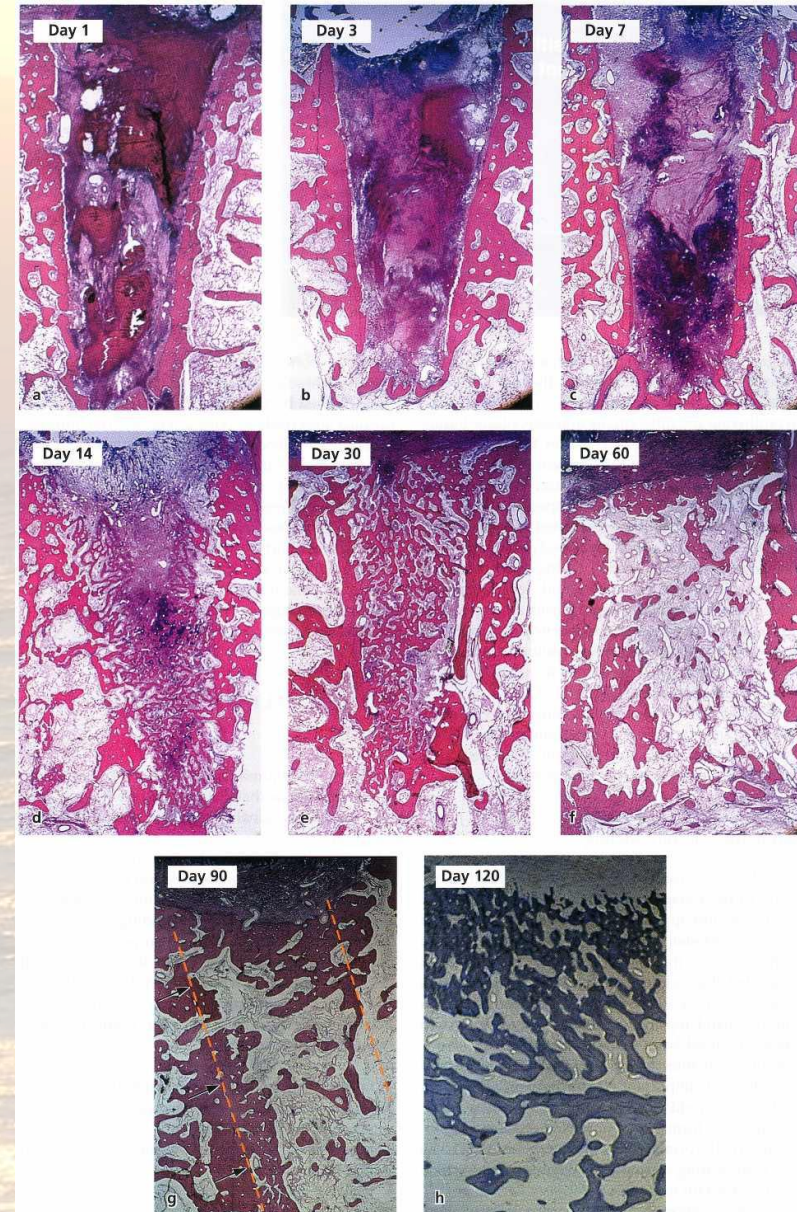
Összehasonlítottuk az I. csoport (tesztcsoport) csontpótlott területeiből gyűjtött biopsziás minták microCT felvételeiből szegmentált újonnan képződött csont, a II. csoport természetes úton gyógyuló extractiós sebeiből (pozitív kontrollcsoport) és a III. csoport lebennyel zárt alveolusaiból (negatív kontrollcsoport) nyert biopsziás minták micromorphológiai paramétereinek adatait.



Tb.Th és Tb.Sp esetében varianciaanalízist (Oneway ANOVA) és Bonferoni tesztet, BS/BV és Po(op) esetében Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztunk, ( $p < 0,005$ ). Csillaggal jelöltük, ha a csoportban szignifikáns különbség volt a II. csoporthoz képest.

# Megbeszélés I.

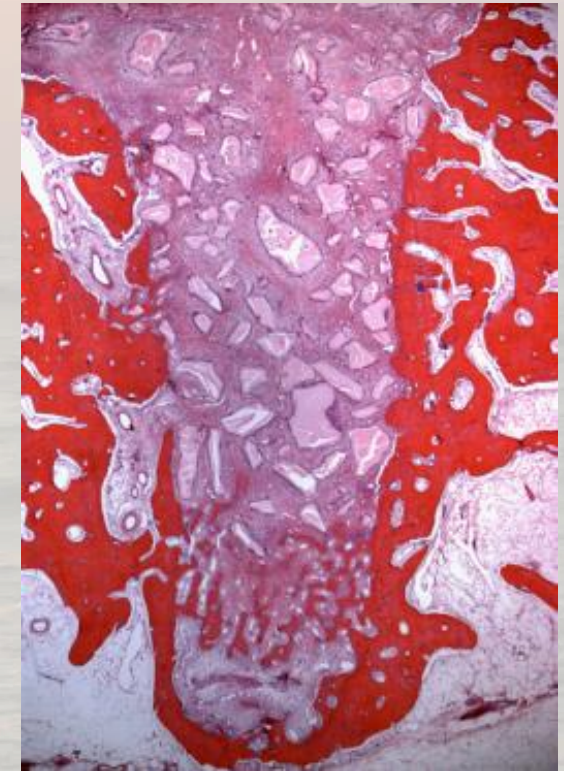
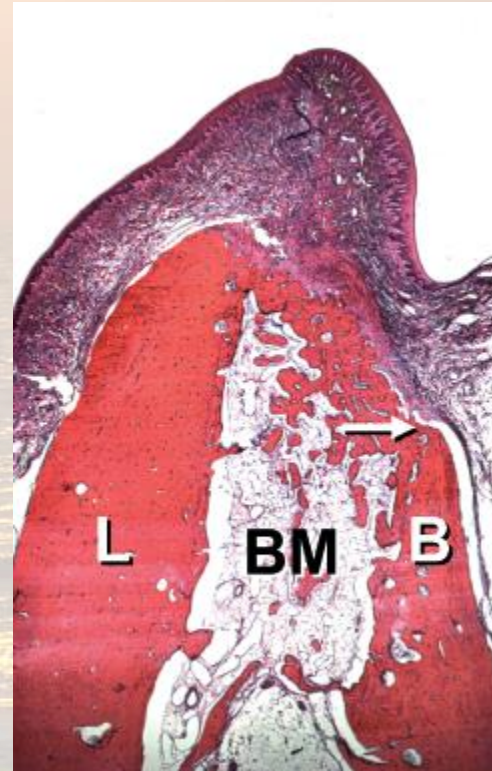
- Eredményeink szerint az I. csoport (tesztcsoport) 12 prezervált alveolusából 8-ban a coronális harmadban a csontpótló anyag szemcséi kötőszövetesen integrálódtak, a 12 alveolusból 4-ben pedig a teljes biopsziás mintában a xenograft szemcséinek kötőszövetes encapsulációja volt megfigyelhető.
- A sebgyógyulás hátráltatott voltát okozhatta a csontdefektusok kedvezőtlen morfológiája. A háromfalú csontdefektus regenerációs hajlama gyengébb, mint a négyfalú defektusoké.
- A négyfalú csontos fal minden irányból lehetővé teszi osteoprogenitor sejtek migrációját az extractiós sebbe és megvédi az alveolust a csontnál nagyobb regeneratív potenciállal rendelkező lágyszövet betöréstől.



- Lang NP, Araujo M, Karring T. Alveolar Bone Formation. In: Lindhe J, Karring T, Lang N P (szerk.), Clinical Periodontology and Implant Dentistry. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 2004: 866-898.

# Megbeszélés II.

- A szövettani vizsgálat és a microCT felvételek eredményei szerint megfigyelhető, hogy a GBR technikával prezervált alveolusokban a csontpótló anyag szemcséit az alveolus apicális és centrális harmadában újonnan képződött csont vette körül, a coronális harmadban ezzel szemben a xenograft szemcséi gyulladásmentes kötőszövettel voltak körülvéve idegentest reakció jelei nélkül.
- Az extractiós seb gyógyulása folyamán az osteoprogenitor sejtek forrása a parodontális rés és a csontos falak. Talán ezzel magyarázható, hogy a csontos falaktól legtávolabb eső coronális harmadban a csontképződés nem volt megfigyelhető.
- Ugyancsak lehetséges, hogy a felszívódó kollagénmembrán nem fejtette ki elég ideig sejtokklúzív szerepét, hogy a háromfalú csontdefektusok teljes csontos telődését lehetővé tegye.

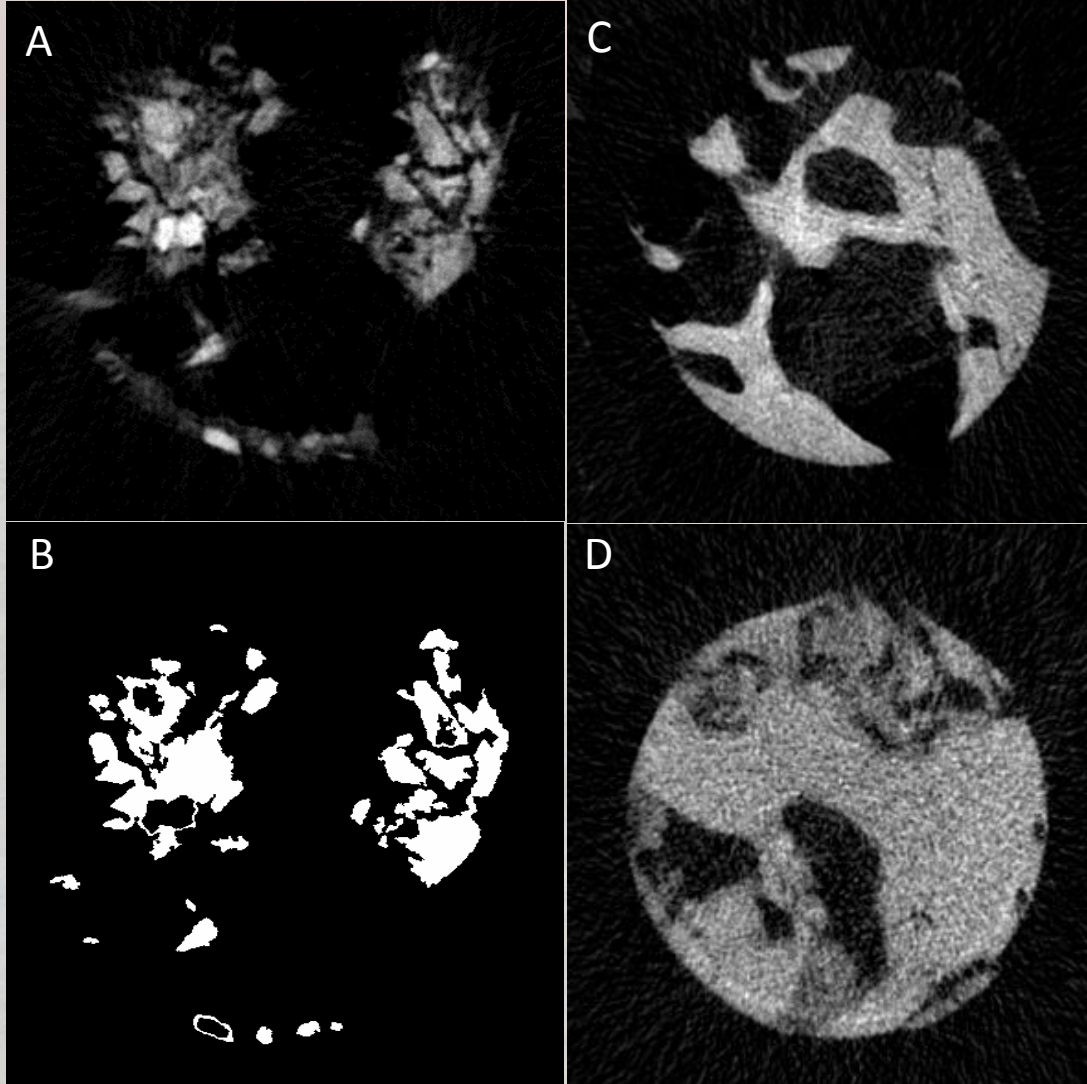


C

A

- Araujo MG, Liljenberg B, Lindhe J. (2010) Dynamics of Bio-Oss Collagen incorporation in fresh extraction wounds: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*, 21: 55-64.
- Araujo MG, Sukekava F, Wennstrom JL, Lindhe J. (2005) Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*, 32: 645-652.

# Megbeszélés III.



**A** az I. csoport csontpótolt területének jellemző microCT képe a csontpótló anyag szemcséivel és újonnan képződött csonttal.

**B** az I. csoport csontpótolt területének újonnan képződött csontra szegmentált jellemző microCT képe vékony, bonyolult struktúrájú, a csontpótló anyag szemcséit körülölvő trabekulákkal.

**C** a II. csoport természetesen gyógyuló extractiós sebeinek jellemző microCT képe vastag, ritkásabban elhelyezkedő trabekulákkal.

**D** a III. csoport lebennyel zárt alveolusainak jellemző microCT képe vastag, sűrűn elhelyezkedő trabekulákkal.



# Következtetések és új eredmények

1. Az esetek 2/3-ában a sertés eredetű xenograft szemcséi csontosan integrálódtak a csontpótlott területen, az esetek 1/3-ában azonban az integráció csak kötőszövetesen következett be.
2. A sertés eredetű xenograft a prezervált alveolusok apicalis és centralis részein csontosan, míg a prezervált alveolusok coronális részein kötőszövetesen integrálódott az augmentált területen.
3. A prezervált alveolusok csontjának microarchitecturája eltér a lebennyel zárt alveolusokétól és inkább a természetes úton gyógyuló négyfalú alveolusokéhoz hasonlított. Tehát a csontpótló anyag valóban osteokonduktív, vezeti a csontképzést.
4. A prezervált alveolusok újonnan képződött csontjának microarchitecturája eltér a lebennyképzés nélkül természetes úton gyógyuló négyfalú alveolusokétól és a lebennyel per primam zárt háromfalú alveolusokétól, mely a csontpótló anyag szemcséinek befolyásoló hatásának tudható be.
5. A lebennyképzés nélkül természetes úton gyógyuló négyfalú alveolusok csontjának microarchitecturája eltér a lebennyel per primam zárt háromfalú alveolusokétól. Tehát a fogeltávolítást követően a csontdefektus morfológiája (tehát a buccális fal megléte vagy hiánya) illetve a lebennyel történő zárás, vagy másodlagos gyógyulás választása hatással van a gyógyuló csont microarchitecturájára.

# Köszönetnyilvánítás

- Elsősorban köszönetet mondok Dr. Szabó György egyetemi tanárnak, témavezetőmnek, aki felkeltette az érdeklődésem a téma iránt és a kidolgozás során minden apró részletben a segítségemre volt.
- Köszönetet mondok társtémavezetőmnek, Dr. Dőri Ferenc, egyetemi docensnek, akinek segítségével sikerült kiszélesíteni a kutatás alapjait.
- Köszönetet mondok Dr. Dobó Nagy Csaba, egyetemi tanárnak, aki tanszékvezetőm volt a kutatás kezdetekor és speciális vizsgálati eljárásaival nagyban hozzájárult az eredményekhez.
- Hálával tartozom Dr. Gyulai-Gaál Szabolcs, egyetemi docensnek, aki elindított szájsebészeti tevékenységemben.
- Köszönöm a közös munkát társszerzőimnek, akik nélkül közleményeim nem jelenhettek volna meg.
- Köszönöm a támogatást családomnak, akik végig munkám során mellettem álltak és támogattak.
- Végül és nem utolsó sorban köszönetet mondok Dr. Palkovics Miklós, egyetemi tanárnak, a Magyar Tudományos Akadémia rendes tagjának, akadémikusnak, aki, mint tudományos diákköröst elindított tudományos pályámon.