2826

Dtsch. zahnärztl. Z. 35, 11–14 (1980)

Die Knochenersatzplastik des Unterkiefers durch identische allogene, gefriergetrocknete Unterkiefertransplantate im Tierversuch – vorläufige Mitteilung –*

Von H. F. Sailer, Zürich**

Wir berichten über tierexperimentelle Untersuchungen zur subperiostalen Resektion und Sofortrekonstruktion von Unterkieferteilen mit identischen, allogenen gefriergetrockneten Kieferabschnitten. Diese Versuche wurden an 5 Affen (Macaca irus) durchgeführt. 1 weiteres Tier diente als Kontrolle. Eine polychrome Sequenzmarkierung mit Oxytetracyclin, DCAF und Hämatoporphyrin diente den Studien der Knochenumbauvorgänge in den 5 Transplantaten, die sämtlich einheilten. Die rekonstruierten Gelenke waren von jenen der nicht operierten Kontrollseite nicht zu unterscheiden. Immunologische Untersuchungen (Leukozyten-Migrations-Hemmungstest) zeigten, daß gefriergetrocknete allogene Knochenteile reduzierte antigene Eigenschaften besitzen, die nicht mehr in der Lage zu sein scheinen, eine Abstoßung des Implantates auszulösen.

Plotnikov beschrieb 1966 38 primäre und 11 sekundäre Unterkieferrekonstruktionen unter Verwendung allogener gefriergetrockneter Unterkiefertransplantate mit guten Ergebnissen. In Tierversuchen hatte *Burwell* (1963) gezeigt, daß gefriergetrocknete Knochentransplantate nach Entfernung des Knochenmarks eine verminderte Wirtsreaktion auslösen. Den Untersuchungen *Burwells* folgend verwendeten *De Friez* und Mitarbeiter (1971) marklose, allogene gefriergetrocknete Unterkiefertransplantate als eine Art Behälter für des Patienten eigene Spongiosa, wodurch zwar der Vorteil der idealen Transplantatform erhalten wurde, aber gleichzeitig der Nachteil der Entnahme autologer Spongiosa in Kauf genommen werden mußte. Die Ergebnisse, die mit dieser Technik von verschiedenen Chirurgen erzielt wurden, waren keineswegs überzeugend. Da es uns nicht gelang, mit *Plotnikov* in Kontakt zu treten und die Diskrepanz zwischen seinen und *de Friez'* klinischen Ergebnissen aufzuhellen, führten wir an Affen subperiostale Ramusresektionen und sofortige Rekonstruktionen mit gefriergetrockneten, identischen allogenen Ramustransplantaten aus. Ein Schwerpunkt der Untersuchung sollte die Gelenkrekonstruktion betreffen. Die Studie wurde im Forschungszentrum des Royal College of Surgeons of England durchgeführt.

Methode

Als Tiermodell verwendeten wir 5 erwachsene Affen (Macaca irus), da bei ihnen Kieferform und Gelenkfunktion außerordentlich menschenähnlich sind. Eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beim Menschen wäre daher am ehesten wahrscheinlich. Gleichzeitig sollten immunologische Untersuchungen durchgeführt werden. Wegen der phylogenetischen Verwandtschaft dürfte eine Übertragbarkeit solcher Ergebnisse auf den Menschen mit geringeren Risiken behaftet sein. Da die subperiostale Resektion und sofortige Rekonstruktion bei Makaken bislang nicht durchgeführt wurde, das Verhalten der Tiere nach diesem Eingriff nicht bekannt war und wir das gewählte Fixationsmittel (Vitallium-Fingerplatten, Howmedica) testen wollten, wurde einem weiteren Tier von extraoral der Ramus auf Kieferwinkelhöhe abgesetzt und einschließlich Condylus reseziert; anschließend wurde er wieder eingesetzt und mit 2 Fingerplatten fixiert. Eine gewisse Kompression wurde durch Anlegen exzentrischer Bohrlöcher erzielt. Es erfolgte keine intermaxilläre Fixation. Dem selben Tier wurde ein Stück frischer, allogener Knochen zur Submandibularregion verpflanzt; die Wirtsreaktion auf diesen diente als positive Kontrolle bei den immunologischen Untersuchungen.

Die Knochengewinnung erfolgte so, daß ein Tier getötet wurde und beide Rami einschließlich Condylen subperiostal entfernt wurden. Die Präparate wurden dann in 1%-Beta-Propiolacton eine Stunde lang sterilisiert und das Sterilans anschließend wie-

* Dieser Beitrag wurde mit einem Tagungspreis der Arbeitsgemeinschaft für Kieferchirurgie ausgezeichnet.

** Kieferchirurgische Klinik des Universitätsspitals am Zahnärztlichen Institut der Universität, Plattenstraße 11, CH-8028 Zürich

der ausgewaschen. Der Gefriertrocknungsprozeß umfaßte ein einstündiges Einfrieren auf einer Temperatur von −60 °C und die folgende Trocknung im Vakuum für 7 Tage. Die Aufbewahrung der Präparate erfolgte in luftdichten Metallgefäßen unter Vakuum.

Vor der Operation wurden die Knochenpräparationen für 12 Stunden in antibiotischer Lösung (Penicillin G 10 Mio. E/l) rehydriert und wie oben beschrieben dann bei zunächst 2 Tieren eingepflanzt. Die bei diesen Tieren resezierten Rami wurden jeweils wieder sterilisiert, gefriergetrocknet, rehydriert und transplantiert. Insgesamt wurde bei 5 Makaken einseitig eine subperiostale Resektion und gleichzeitige Rekonstruktion mit gefriergetrockneten, identischen, allogenen Unterkieferanteilen ausgeführt. Für drei Tage postoperativ erhielten die Tiere ein Penicillinpräparat (1 Amp. Triplopen/d) i. m. verabreicht.

Es erfolgten wöchentliche Röntgenkontrollen. Außerdem wurde eine polychrome Sequenzmarkierung (*Olerud* und *Lorenzi* 1970) unter Verwendung von Oxytetracyclin (Gesamtdosis auf 2 aufeinanderfolgende Tage verteilt: 150 mg/kg), DCAF (= Di (Carboxymethyl)-(Aminomethyl) Fluorescein, Dosis 25 mg/kg) und Hämatoporphyrin (Dosis 300 mg/kg) vorgenommen.

Zur Feststellung der Antigenität der Implantate wurde der Leukozyten-Migrationshemmungstest (*Søborg* und *Bendixen* 1967) verwendet. Da die beim Menschen gebräuchlichen Separationsmethoden für weiße Blutkörperchen unter anderem wegen der geringen Sedimentationsneigung von Makakenblut nicht anwendbar waren, wurde in Vorversuchen eine Methode erprobt, mit der eine ausreichend große Anzahl (mehr als 10^7 Leukozyten/ml) Leukozyten gewonnen werden konnte: 10 ml Blut wurden über ein Gemisch (1:4) von 9% Ficoll und Triosil 350 geschichtet und bei 400 U/Min. 5–8× für 5 Minuten zentrifugiert; der die Leukozyten enthaltende Überstand wurde intermittierend abpipetiert.

Die Herstellung des für den Leukozyten-Migrationshemmungstest erforderlichen Antigens erfolgte folgendermaßen: Gefriergetrockneter Knochen wurde über einer feinen Feile pulverisiert, gewogen und in Kulturmedium homogenisiert (Medium 199, Flow-Laboratories); anschließend wurde das Homogenisat durch einen Millipore-Filter gepreßt und verschiedene Antigenkonzentrationen durch Verdünnung mit Medium 199 hergestellt.

Die Tiere wurden nach 39 Tagen, 2, 3, 4½ und 6 Monaten getötet.

Ergebnisse

Die Tiere belasteten die Transplantate vom ersten Tag an und nahmen ihre normale Kost (Eier, Bananen, Cakes) auf. Eine Sondenernährung war nicht erforderlich. Am 8. postoperativen Tag wurden die Fäden entfernt. Es traten weder Früh- noch Spätinfekte auf. Da die Implantate nahezu gleiche Größe und Form wie die resezierten Kieferteile aufwiesen (Abb. 1), waren die Konturen absolut symmetrisch.

Während die Mundöffnung in den ersten 3–4 Wochen noch eine Abweichung zur operierten Seite zeigte, verschwand diese Deviation in der Folge nahezu ganz; eine Kontrolle war dadurch möglich, daß die Tiere in Aggressionshaltung die Kiefer öffnen und die Zähne zeigen. Als Substrat dieser optimalen Funktionsfähigkeit fanden wir an den Präparaten einen in der normalen Position reinserierten M. pterygoideus lateralis (Abb. 5).

Röntgenologisch beobachteten wir einen stark verzögerten Knochenumbau während der ersten 2 Monate. Erst nach 4½ Monaten waren

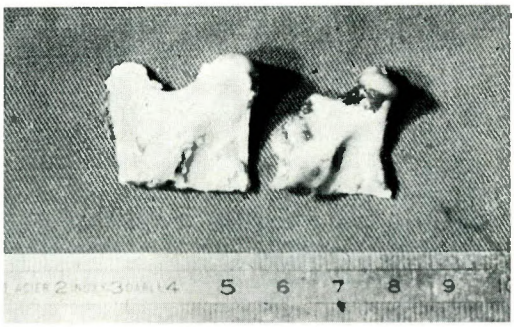


Abb. 1. Die Abbildung zeigt links das gefriergetrocknete, allogene Ramusimplantat, rechts das Resektat. Der Proc. muscularis wurde nicht reseziert; er wurde auf denjenigen des Implantates aufgeschraubt.



Abb. 2. Situation 39 Tage postoperativ: Die Osteosynthesestelle ist deutlich sichtbar. Die Sonde weist auf die intakte Gelenkkapsel hin. Auch nach Entfernung der Fingerplatte war die Osteosynthesestelle zu diesem Zeitpunkt funktionsstabil.

die Osteosynthesebezirke röntgenologisch nicht mehr erkennbar. Die makroskopischen Präparate deckten sich mit dem röntgenologischen Befund: Corticalisreste des allogenen Implantates waren noch nach 4½ Monaten sichtbar, am deutlichsten aber am 39. Tag; die gesamte Corticalis war makroskopisch noch vorhanden und zeigte kaum Umbauvorgänge; die Osteotomiestelle war deutlich sichtbar (Abb. 2). Dennoch war nach Entfernung der Platten eine stabile Verbindung zwischen Implantat und Restkiefer feststellbar, die auch ohne Platten zu diesem Zeitpunkt bereits funktionsfähig gewesen wäre. Unentkalkte Knochenschliffe der Osteosynthesestelle unter UV-Licht erklären die Stabilität: Nach 39 Tagen finden sich überall in der Spongiosa des Implantates Knochenbälkchen mit eingebauten fluoreszierenden Substanzen. Im Fluoreszenzmikroskop zeigt sich gleichzeitig subperiostale Knochenneubildung, ein Befund, der makroskopisch nicht erkennbar war (Abb. 3). Vereinzelt finden sich in der Corticalis fluoreszierende Havers'sche Kanäle. Der Spongiosaumbau und -durchbau bedingt offensichtlich die Stabilität der Osteosynthesestelle auch ohne Platten.

Nach 4½ und 6 Monaten finden sich nur noch geringe Compaktaanteile des allogenen Implantates. Nach 6 Monaten scheint es vollkommen umgebaut. Einen Beweis hierfür liefert wiederum die polychrome Sequenzmarkierung durch die genannten Substanzen; auch die Corticalis ist nun umgebaut.

Die erstaunlichsten Befunde konnten wir an den Gelenken erheben. Bei der Präparation wirkten sie wie jene der nicht operierten Seite. Die Gelenkkapsel war intakt (Abb. 2) und nicht vernarbt. Es fand sich ein normaler oberer und unterer Gelenkspalt (Abb. 4). Der Diskus, der bei der Operation belassen wurde, zeigte bei einem Tier distal geringe Adhäsionen am transplantierten Gelenkkopf. Wie erwähnt hatte der abgelöste M. pterygoideus lat. Anschluß an das Transplantat gefunden (Abb. 5). Der Gelenkknorpel war von einer zarten Bindegewebsschicht überzogen. Mikroskopisch zeigte sich im Schliffpräparat und im entkalkten Präparat die typische Formation von 3 Schichten.

Die immunologischen Ergebnisse unter Verwendung des Leukozyten-Migrationshemmungstests zeigten gegenüber jenen nach Im-

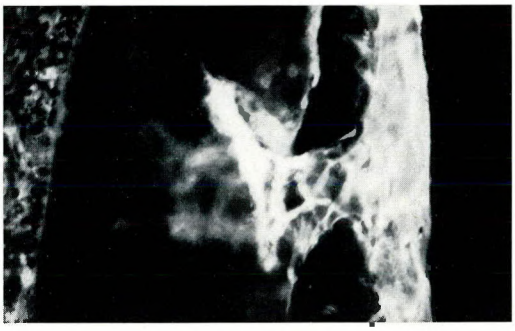


Abb. 3. Der Knochenschliff zeigt im Fluoreszenzmikroskop nach 39 Tagen Knochenregeneration in der Spongiosa (links im Bild) und subperiostal (rechts); die Corticalis ist als bereites, reaktionsloses Band (Mitte) zu sehen, das an einer Stelle von einem Havers'schen Kanal, in dem Knochenneubildung erfolgt, durchsetzt wird (Vergr. × 50).

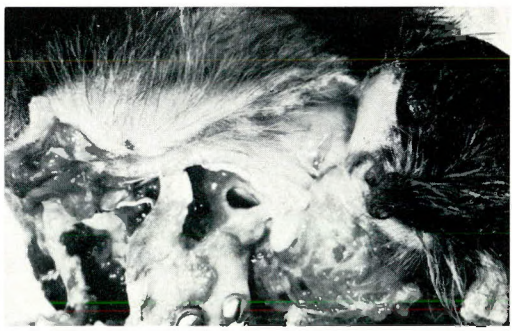


Abb. 4. Präparat mit eröffneter Gelenkkapsel, 2 Monate nach der Implantation: Die Gelenkregion ist von der der gesunden Seite nicht zu unterscheiden. Es findet sich ein oberer und unterer Gelenkspalt. Der Proc. muscularis des Versuchstieres wurde in diesem Fall mit einer Drahtnaht an das Implantat fixiert. Diese riß später aus, aber es war bereits eine narbige Fixation an das Implantat erfolgt.

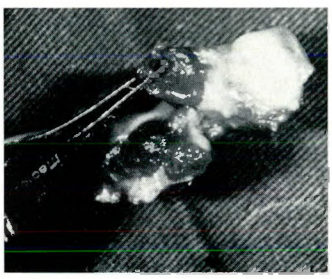


Abb. 5. Die Pinzette hält den reinserierten M. pterygoideus lateralis. Die condyläre Gelenkfläche ist 6 Monate postoperativ intakt.

plantation von allogenem Frischknochen zur Submandibularregion eine deutliche Reduktion der Antigenität gefriergetrockneten Knochens. Das frische, allogene Knochenimplantat wurde innerhalb von ca. 2½ Monaten resorbiert.

Diskussion

Wir möchten vorab darauf hinweisen, daß auch Versuchsergebnisse an nichtmenschlichen Primaten nur mit Einschränkung auf den Menschen übertragbar sind. Die folgenden Überlegungen müssen unter diesem Gesichtspunkt betrachtet werden.

Unsere tierexperimentellen Untersuchungen an Affen unterstützen die klinischen Ergebnisse *Plotnikovs* (1966). Form und Funktion eines mit einem autologen Rippen- oder Beckenkammtransplantat rekonstruierten Kieferabschnitts können niemals die Ergebnisse nach Rekonstruktion mit identischen, allogenen gefriergetrockneten Kieferanteilen erreichen. Es muß dabei hervorgehoben werden, daß es sich um subperiostale Resektionen handelte, die periostale Knochenbildung also wirksam wurde. Gleichzeitig kam es jedoch, wie die fluoreszenz-mikroskopischen Untersuchungen zeigten, auch zu einer Knochenneubildung über die End-zu-End osteosynthetisierten Spongiosaräume.

Kazanjian (1946), *Francksen* (1958), *Haunfelder* (1962) und *Steinhardt* (1967) haben über spontane Unterkieferregeneration nach subperiostaler Resektion ohne anschließende Rekonstruktion berichtet. Bei den meisten dieser Fälle handelte es sich jedoch um Kinder und Jugendliche, bei denen eine aktivere Knochenregeneration angenommen werden darf. Demgegenüber waren alle Versuchstiere voll ausgewachsen. Auch vom kosmetischen Ergebnis her sind spontan regenerierte Unterkieferabschnitte nicht mit den perfekten Ergebnissen nach Transplantation gefriergetrockneter Kieferteile vergleichbar, ganz abgesehen davon, daß keine intermaxilläre Fixation bei unseren Versuchstieren notwendig war. Die sofortige Belastung der Transplantate dürfte sich eher günstig auf die Umbauvorgänge ausgewirkt haben. Wir verweisen in diesem Zusammenhang auf die tierexperimentellen Untersuchungen Steinhäusers (1968), der für eine frühzeitige Belastung freier autologer Knochentransplantate plädiert.

Die immunologischen Untersuchungen zeigen, daß gefriergetrocknete allogene Knochentransplantate eine gewisse Restantigenität enthalten, die jedoch so schwach zu sein scheint, daß keine Abstoßung oder Resorption erfolgt. Ein Enhancement kann allerdings nicht ausgeschlossen werden. Auf Grund der komplikationslosen Inkorporation ganzer allogener gefriergetrockneter Kieferteile schließen wir, daß eine Entfernung des Knochenmarks wie sie von *de Friez* et al. (1971) durchgeführt wurde, bei dem von uns verwendeten Desinfektions- und Lyophilisationsverfahren und unter Berücksichtigung der subperiostalen Resektion nicht erforderlich zu sein scheint.

Anmerkungen

Diese Studie wurde durch Mittel des Schweizerischen Nationalfonds, der Hartmann-Müller-Stiftung und durch das Entgegenkommen der Erziehungsdirektion des Kantons Zürich ermöglicht. Herrn Prof. *Obwegeser* darf ich an dieser Stelle ganz besonders für seine Hilfe und stimulierende Anregung danken.

Großer Dank gebührt dem Royal College of Surgeons of England und insbesondere Herrn Professor *B. Cohen* (Department of Dental Science) und Herrn Professor *D. Poswillo* (Teratology Unit).

Schrifttum

Burwell, R. G.: Studies in the transplantation of bone. V. The Capacity of fresh and treated homografts of bone to evoke transplantation immunity. J. Bone and Joint Surg. *45 B*, 386 (1963).

De Friez, H. O., Marble, H. B., and *Sell, K. W.:* Reconstruction of the mandible. Arch. Otolaryngol. *93*, 426 (1971).

Francksen, U.: Periostale Regeneration des Unterkiefers nach halbseitiger Exartikulation. Fortschr. Kiefer- u. Gesichtschir. *4*, 337 (1958).

Haunfelder, G.: Über die Regeneration des Unterkiefers nach subperiostaler Resektion und Exartikulation. Chirurg. *33*, 62 (1962).

Kazanjian, V. H.: Spontaneous regeneration of bone following excision of section of the mandible. Oral Surg. *32*, 32 (1946).

Olerud, S., and *Lorenzi, G. L.:* Triple Fluorochrom Labeling in bone formation and bone resorption. J. Bone and Joint Surg. *52 A*, 274 (1970).

Plotnikov, N. A.: Methoden der Aufbereitung und Konservierung lyophilisierter Knochen-Homotransplantate zur Substitution bei Unterkieferdefekten. Chir. Plastica *2*, 65 (1966).

Søburg, M., and *Bendixen, G.:* Human lymphocyte migration as a parameter of hypersensitivity. Acta Med. Scand. *181*, 247 (1967).

Steinhardt, G.: Bewährte Operationsmethoden bei „semimalignen" Geschwülsten der Kiefer. Dtsch. Zahn-, Mund- u. Kieferheilk. *49*, 124 (1967).

Steinhäuser, E.: Unterkieferrekonstruktion durch intraorale Knochentransplantate, deren Einheilung und Beeinflussung durch die Funktion – tierexperimentelle Studie. Hab.-Schrift. Zürich 1968.

Anschrift des Verfassers: Dr. Dr. Hermann Sailer, Plattenstr. 11, CH-8028 Zürich

NDERDRUCK AUS DEUTSCHE ZAHNÄRZTLICHE ZEITSCHRIFT

35. Jahrgang, 1980

Alle Rechte, auch die des Nachdrucks, der photomechanischen Wiedergabe sowie der Übersetzung dieses Sonderdrucks, behält sich der Verlag vor.

CARL HANSER VERLAG
KOLBERGERSTRASSE 22, MÜNCHEN 86