

# Onderzoek

## EXPERIMENTELE PARODONTALE BOTDEFECTEN

F. J. Vande Velde, tandarts  
P. A. Adriaens, tandarts  
J. A. De Boever, tandarts

### EEN HISTOMETRISCH ONDERZOEK IN BEAGLE HONDEN

#### SAMENVATTING

Het doel van dit onderzoek was de veranderingen van de parodontale aanhechting in experimentele, onbehandelde intra-bony pockets histometrisch te analyseren. Bij acht Beagle honden werden in 63 tweewandige, chirurgisch gecreëerde defecten plaqueretentieve matrices ingesloten. Eén week (controles) en 4, 8, 12 en 24 weken (experimentele laesies) na het wegnemen van de corpora aliena werden bloksecties genomen. Het percentage van nieuwe aanhechting of progressieve afbraak werd histometrisch bepaald. Nieuwe aanhechting werd vastgesteld in 21 van de 32 controlelaesies en in 27 van de 31 experimentele laesies. De grootste verschillen werden gemeten aan de controlezijde: van maximum 95% nieuwe aanhechting tot maximum 31% progressief verlies aan aanhechting. De veranderingen in het aanhechtingsniveau waren karakteristiek voor de individuele hond. Bovendien waren er per hond in 79% van de gevallen significante verschillen tussen analoge laesies. De laesies moeten derhalve per hond en per laesie worden bestudeerd. De uitgebreide, spontane en slecht voorspelbare regeneratiecapaciteit roept de vraag op hoe bruikbaar experimentele parodontitismodellen bij de Beagle hond zijn, en met name de toepasbaarheid van dit model.

VANDE VELDE FJ, ADRIAENS PA, DE BOEVER JA. Experimentele parodontale botdefecten. Een histometrisch onderzoek in Beagle honden. Ned Tijdschr Tandheelkd 1988; 95: 261-5.

Uit de Kliniek voor Tand-, Mond- en Kaakziekten van de rijksuniversiteit te Gent.

Trefwoorden: **Parodontologie** – Beagle honden – Experimentele parodontitis – Histometrie

Datum van acceptatie: 11 februari 1988.

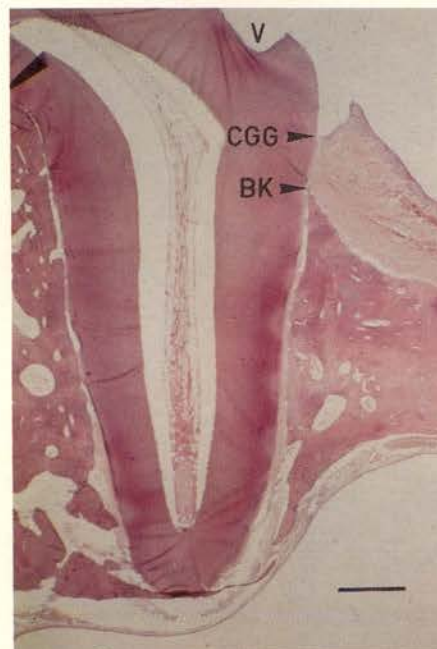
Adres: F. J. Vande Velde, De Pintelaan 185, 9000 Gent, België.

#### 1. INLEIDING

Uitgaande van epidemiologisch onderzoek van grote bevolkingsgroepen is de indruk ontstaan dat parodontitis chronisch verloopt.<sup>1</sup> Daaronder wordt verstaan een langzaam, continu, progressief en veralgemeend proces. Uit recent longitudinaal onderzoek blijkt daarentegen dat de pathologie gelokaliseerd, acuut en discontinu verloopt. De acute fasen worden afgewisseld door fasen van remissie en gematigd herstel.<sup>2</sup> Over de histopathologische, microbiologische en immunologische kenmerken van dit specifieke verloop is nog onvoldoende bekend. Dierproeven zijn een waardevol hulpmiddel om meer inzicht te verkrijgen in de pathogenese van parodontitis.

Beagle honden worden vaak gebruikt in dierexperimenteel onderzoek, onder meer omwille van hun handelbaarheid. Parodontitis is een relatief frequent voorkomende aandoening in oudere Beagle honden. Het probleem bij het werken met natuurlijk verworven laesies is vooral het traag en lokaal verschillend ontwikkelen van deze parodontale defecten. Daarom werden verscheidene modellen ontwikkeld voor het verkrijgen van een versnelde en beter reproduceerbare parodontale afbraak. Artificiële parodontitis wordt meestal verkregen door het aanbrengen van plaqueretentieve zijdeligaturen of elastieken rond de tandhalzen. De hieruit resulterende botresorptie verloopt in hoofdzaak horizontaal en de gingivale

pockets zijn ondiep.<sup>3-6</sup> Onder meer met chirurgische technieken kunnen verticale botdefecten en diepere gingivale pockets



Afb. 1. Histologisch beeld van een klinisch gezond parodontium van een premolaar uit de bovenkaak van een Beagle hond. Kenmerkend zijn de afwezigheid van een inflammatoir infiltraat en de aanwezigheid van een niet-proliferatief verbindingsepitheel dat reikt tot de cement-glazuurgrens. V = proximale vulling; CGG = cement-glazuurgrens; BK = botkam; staaf = 1 mm.

worden gecreëerd.<sup>7-17</sup> Het reversibele karakter van artificiële in parodontitismodellen gecreëerde pockets, in het bijzonder in chirurgische modellen, werd door een beperkt aantal auteurs aangehaald, maar nooit kwantitatief onderzocht.<sup>8 10 11 15</sup>

Het doel van dit onderzoek in de Beagle hond was de veranderingen in de parodontale aanhechting van chirurgisch gevormde, onbehandelde intra-bony pockets met histometrische technieken te evalueren.

#### 2. MATERIAAL EN METHODE

In dit onderzoek werden acht jongvolwassen Beagle honden (één tot twee jaar oud) gebruikt. Er werd steeds uitgegaan van een intact en klinisch gezond parodontium (afb. 1). Hiervoor werd eenmaal per dag gedurende vijf dagen per week met Hibigel®\* gepoetst. De periode waarin deze professioneel uitgevoerde profylaxis werd toegepast varieerde van minimum vier weken tot maximum drie maanden afhankelijk van het moment van chirurgie.

Met een eerder ontwikkeld chirurgisch model werden in totaal 63 artificiële intra-bony pockets gemaakt (afb. 2).<sup>13</sup> Na het afschuiven van een mucoperiost flap werden met beenboren en bijteltjes naar buccaal gerichte tweewandige botdefecten geprepareerd. Het vrijgelegde worteloppervlak werd door scaling vrijgemaakt van restanten van het parodontaal ligament en cement. Vervolgens werd met een omgekeerd ke-

\*Imperial Chemical Industries Limited, Cheshire, Engeland



gelboortje een groeve ter hoogte van de bodem van het botdefect gemaakt. In de defecten werden versterigde, roestvrijstalen, plaqueretentieve matrices ingesloten. De bedoeling van de matrices was een irreversibele proliferatieve ingroei van pocketepitheel en vorming van subgingivale plaque te bewerkstelligen. De plaque-accumulatie werd bevorderd door stopzetten van de profylaxis en door toedienen van gewekte voeding. In iedere Beagle hond werden acht laesies gecreëerd, waarvan telkens twee per kwadrant volgens een analoge tijdsorde (afb. 3). Aan zowel controle als experimentele zijde werden laesies gemaakt met twee arbitrair gekozen insluittijden voor het vreemde lichaam: zes en 12 weken. In alle acht Beagle honden werden de veranderingen in de onbehandelde defecten longitudinaal bestudeerd. 32 defecten met een maximum van één week potentiële genezing werden gebruikt als controle op de experimentele methode. Vier, acht, 12 en 24 weken na het wegnemen van de corpora aliena werden de bloksecties van de 31 contralaterale experimentele laesies genomen. Deze experimentele laesies dienden voor de analyse van de veranderingen in de parodontale aanhechting in functie van de tijd. Voor elke evaluatieperiode waren twee honden beschikbaar.

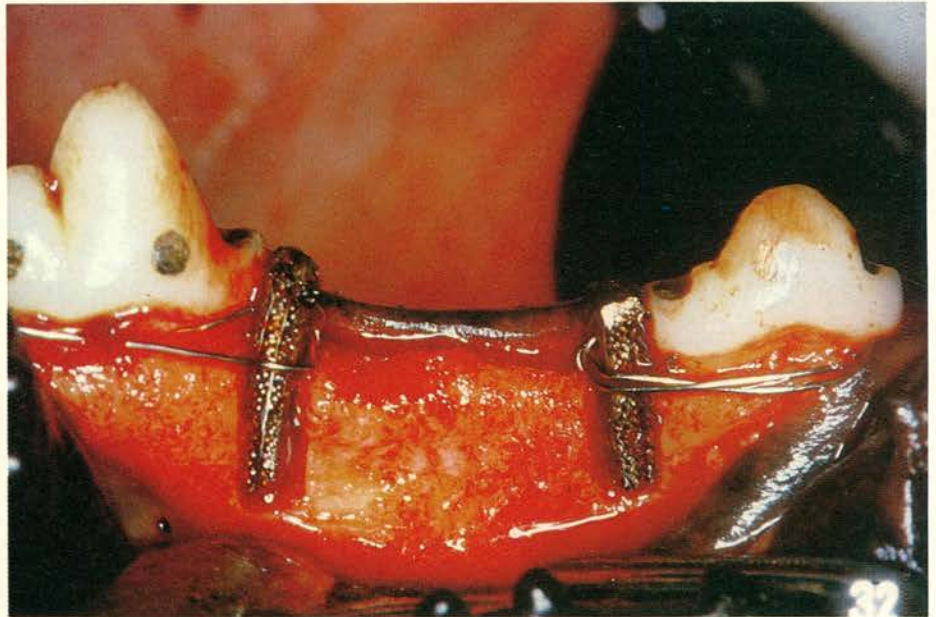
De bloksecties werden gemaakt na het doden door middel van een overdosis pentobarbital (Nembutal®) en perfusie van hoofd en hals met 10% neutraal gebufferde formol. De 63 bloksecties werden ingebed in Paraplast®. Seriecoupes met een dikte van zes µm werden gesneden van oraal naar buccaal volgens een oriëntatievlak bepaald door de proximale occlusale vulling en de apex. Uitsluitend de coupes die binnen het initieel gevormde defect gelegen waren, kwamen in aanmerking voor de verwerking. De histometrie werd uitgevoerd op het projectiescherm van de Ultraphot II-lichtmicroscop. De coupes werden geprojecteerd en georiënteerd op een raster met een diameter van 17 cm. In dit onderzoek werd het percentage nieuwe aanhechting of progressieve afbraak binnen het initieel gevormde defect bepaald (afb. 4).

De verschillen in parodontale aanhechting tussen de laesies werden getest op hun statistische significantie door middel van de 'Student's t test' en de 'Wilcoxon's rank sum test'.

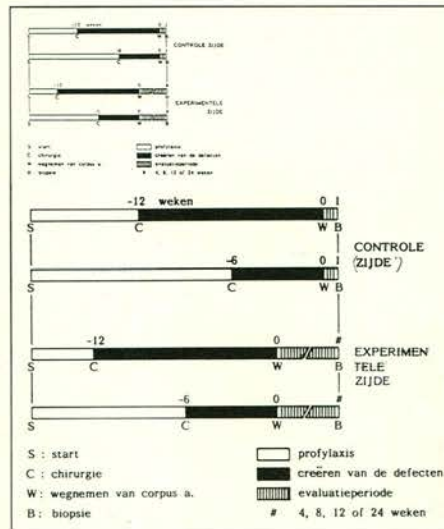
### 3. RESULTATEN

#### 3.1. Controlelaesies

Reeds in de controlelaesies (biopsies genomen maximaal één week na wegnemen van het corpus alienum) waren opvallende individuele verschillen waar te nemen. In afbeelding 5a wordt een representatief beeld voor een laesie met een uitgebreide progressieve parodontale afbraak getoond. De apicale begrenzing van het verbindingsepitheel reikt tot voorbij de bij chirurgie



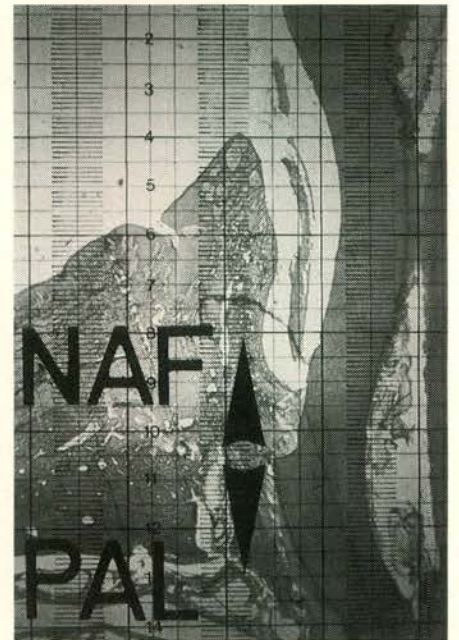
Afb. 2. Klinisch beeld tijdens de ingreep met ingesloten corpora aliena.



Afb. 3. Schema van de vier verschillende typen defecten per hond.

aangebrachte groeve. Afbeelding 5b is representatief voor de controledefecten met uitgebreide nieuwe aanhechting. Het verbindingsepitheel eindigt ver boven de groeve. Een stabiele controlelaesie wordt getoond in afbeelding 5c. Dit zou men als de meest optimale uitgangssituatie kunnen beschouwen in de veronderstelling dat er een irreversibele epitheliale ingroei heeft plaatsgehad.

In afbeelding 6 wordt de gemiddelde hoeveelheid nieuwe aanhechting of progressieve afbraak per controledefect voor de acht Beagle honden tezamen weergegeven. Het type controlelaesie is afhankelijk van de insluittijd van het corpus alienum. Het diagram illustreert de uiteenlopende resultaten. De veranderingen in het aanhechtingsniveau verliepen wel gelijk voor de verschillende controledefecten van elke hond afzonderlijk. Zes van de acht laesies van hond drie en vier bleken relatief stabiel: er was nagenoeg geen nieuwe aanhechting noch progres-

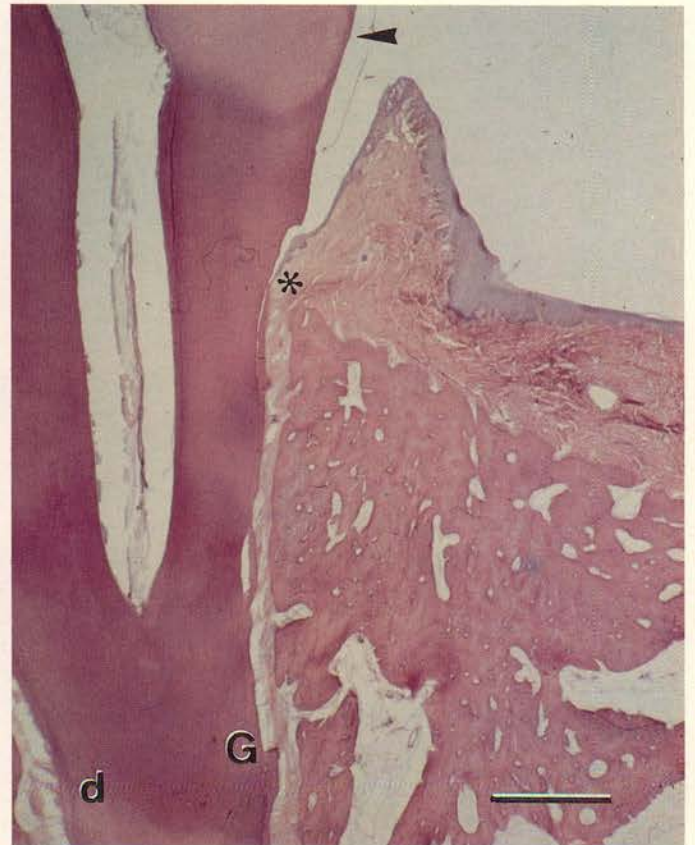
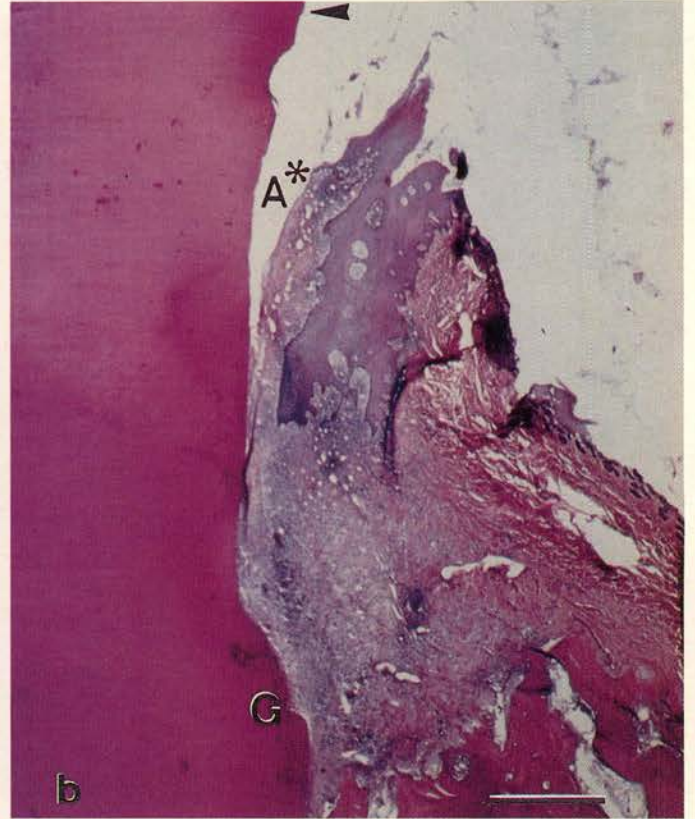


sieve afbraak. Alleen de vier laesies van hond twee en één laesie van hond drie toonden een verder progressief verlies aan aanhechting (max. 31%). In alle andere honden vertoonden de controlelaesies nieuwe aanhechting, met een maximum van 95%. Tussen analoge controlelaesies per kwadrant en per hond waren er 11 op de 16 maal significante verschillen.

sieve afbraak. Alleen de vier laesies van hond twee en één laesie van hond drie toonden een verder progressief verlies aan aanhechting (max. 31%). In alle andere honden vertoonden de controlelaesies nieuwe aanhechting, met een maximum van 95%. Tussen analoge controlelaesies per kwadrant en per hond waren er 11 op de 16 maal significante verschillen.

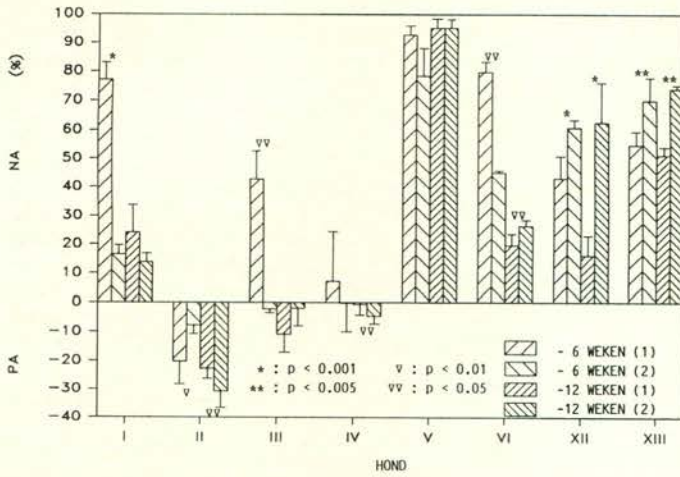
\*Oxford Laboratories International Corp., Kildare, Ierland





Afb. 5. (Vb. controle- en experimentele laesies. Pijl (►) = cement-glazuurgrens; G = groeve; ster (\*) = apicale begrenzing van het verbindingsepitheel; staaf = 1 mm). a. Controlelaesie met progressieve parodontale afbraak. De karakteristieken van parodontitis: subgingivale plaque; talrijke polymorfo-nucleairen; proliferatief pocketepitheel; in oppervlakte beperkt infiltraat met verhoogde vasculariteit en botresorptie. b. Nieuwe parodontale aanhechting: geen proliferatieve ingroei van pocketepitheel. Het originele defect wordt ingenomen door een zich organiserend jong bindweefsel. A = artefact. c. Stabiele controlelaesie: het verbindingsepitheel reikt tot de bodem van het originele defect. d. Experimentele laesie: er is bijna geen subgingivale plaque, noch zijn er uitgesproken begeleidende inflammatoire kenmerken terug te vinden. Er is een aanzienlijke volledige regeneratie met een beperkte apicale migratie van het verbindingsepitheel, de vorming van een nieuw georganiseerd parodontaal ligament, nieuw cement en het sluiten van het botdefekt.





Afb. 6. Staafdiagram van de 32 controlelaesies met aanduiding van de gemiddelde hoeveelheid nieuwe aanhechting (NA) of progressieve afbraak (PA) en van de standaarddeviatie (SD). De laesies werden per hond gegroepeerd. De eerste staaf stelt telkens het percentage NA of PA van het eerste zes-wekenletsel voor en de tweede het percentage voor een analoog defect binnen hetzelfde kwadrant. De twee 12-wekenletsels worden voorgesteld door de derde en de vierde staaf. De significante verschillen en de significantieniveaus tussen de analoge laesies per kwadrant werden eveneens aangeduid.

### 3.2. Experimentele laesies

Tussen de experimentele defecten van verschillende honden waren de verschillen minder uitgesproken. Hier toonden meer laesies nieuwe aanhechting. Afbeelding 5d geeft een representatief beeld voor de laesies na 12 of 24 weken evaluatie zonder enige behandeling. In dit geval bedroeg de periode na het wegnemen van het vreemde lichaam 24 weken. Een uitgebreide nieuwe aanhechting is herkenbaar.

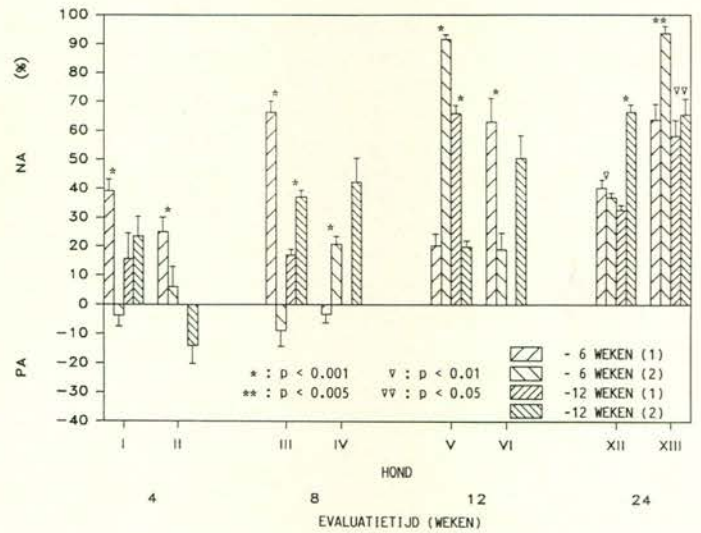
Afbeelding 7 illustreert de eigenschappen van de experimentele laesies. Aan de experimentele zijde toonde hond twee nog slechts één laesie met progressieve afbraak. Zes van de acht experimentele laesies van hond drie en vier toonden nieuwe aanhechting. Dit is in tegenstelling met de bij deze twee honden overwegend stabiele controlelaesies. Tevens blijkt dat de hoeveelheid nieuwe aanhechting van vier naar 24 weken toeneemt. Deze waarneming mag niet worden veralgemeend, gezien de grote individuele verschillen tussen de analoge laesies per kwadrant. Er waren meer en sterker significante verschillen tussen beide experimentele laesies in het zelfde kwadrant dan aan de controlezijde.

## 4 DISCUSSIE

Artificiële parodontale defecten werden reeds vaak gebruikt voor toegepast onderzoek onder meer naar de efficiëntie van verschillende behandelingstechnieken. Dit gebeurde echter dikwijls zonder kritische analyse van de toegepaste methodologie. In de literatuur ontbreken studies over de ontwikkeling van chirurgische parodontitismodellen. Alleen in Groningen werd het ligatuurmodel in Beagle honden uitgebreid bestudeerd.<sup>18-20</sup> Uitgaande van de in deze onderzoeksgroep vastgestelde

individuele verschillen werd besloten de resultaten per scoreplaats in de muil uit te drukken, maar dan wel voor alle honden samen. Omdat uit onze resultaten eveneens bleek dat de resultaten van de verschillende honden sterk verschillen, mogen gemiddelden afkomstig van verschillende honden en van verschillende scoreplaatsen niet worden gebruikt. Verdere analyse van de histometrische, klinische en röntgenologische gegevens zal uitmaken of het door ons bestudeerde model essentieel verschilt van de 'ligatuurmodellen'. Uit de longitudinaal verzamelde gegevens zal eveneens blijken of de hier gerapporteerde verschillen te wijten zijn aan het karakteristieke, gelokaliseerde, fasische verloop van parodontitis.

In welke mate de nieuwe steunweefselvorming bestaat uit een reële nieuwe bindweefselaanhechting of uit een lange epitheelverkleving wordt verder geanalyseerd. Bij een onbehandeld niet-chirurgisch model in apen werd veelvuldig de vorming van een lange epitheelverkleving vastgesteld.<sup>21</sup> In dit onderzoek blijkt uit de controlelaesies van meerdere, maar niet alle honden, dat zeer snelle regeneratie optreedt. De regeneratie neemt geleidelijk toe met de tijd (zie experimentele laesies), mogelijk door coronale migratie van het verbindingsepitheel. Tot op heden werd te



Afb. 7. Staafdiagram van de experimentele laesies met aanduiding van de gemiddelde hoeveelheid NA of PA (+SD), inclusief de significante verschillen tussen de analoge laesies per kwadrant. De honden werden geordend naar toename in evaluatietijd bij het nemen van de biopsies.

weinig rekening gehouden met de spontane regeneratiecapaciteit van artificiële parodontale laesies. Enkele auteurs stelden voor een pre-experimentele periode van drie maanden in acht te nemen alvorens met toegepast onderzoek te starten (b.v. regeneratietechnieken).<sup>6, 19</sup> De vraag die moet worden gesteld, is of met dit model niet in hoofdzaak de reactie op een vreemd lichaam werd bestudeerd, in plaats van een door plaque-geïnduceerde parodontitis. Dit geldt trouwens voor ieder experimenteel parodontitismodel, in het bijzonder voor ligatuurmodellen waar de plaque zich in hoofdzaak supragingivaal afzet en bovendien mogelijk onvoldoende virulent is.

In de literatuur varieert de insluitijd van het vreemde lichaam bij zuiver chirurgische parodontitismodellen tussen nul en acht weken. In dit onderzoek werden twee relatief lange insluitijden arbitrair gekozen. De invloed van de insluitijd werd niet in de resultaten vermeld. Uit een voorafgaande analyse van de laesies per kwadrant bleek dit onderscheid niet relevant te zijn.<sup>22</sup> Na 12 weken insluiten trad slechts in vijf op de 16 gevallen significant minder nieuwe aanhechting op.

De aanwezigheid van een vreemd lichaam zou noodzakelijk zijn voor het in stand houden van een progressieve parodontale afbraak.<sup>4</sup> Dan pas zou de invloed

## SUMMARY

### HISTOMETRIC ANALYSIS OF THE ELLEGAARD-MODEL IN BEAGLE DOGS

Keywords: Periodontics - Beagle dogs - Periodontitis - Histometrics

The purpose of this animal study was to analyse histometrically the attachment loss in experimen-



van cofactoren en systeemfactoren kunnen worden bestudeerd. Toch moeten resultaten van dierexperimenteel onderzoek in verband met deze secundaire factoren met omzichtigheid worden geïnterpreteerd. Mogelijk kan de lokale factor (het corpus alienum) te sterk het verloop van de parodontitis bepalen en aldus het effect van de cofactor of systeemfactor verdoezelen. Tegenstrijdige resultaten, zoals bij occlusaal trauma, zouden hierdoor kunnen worden verklaard.

## 5. CONCLUSIES

Dit experimentele parodontitismodel leverde spontaan regenererende laesies op. Regeneratie werd tot zes maanden na aanbrengen van de laesies vastgesteld en was bovendien slecht voorspelbaar. Dit betekent dat de experimentele methode niet reproduceerbaar is. Het is de vraag of experimentele parodontitismodellen wel goede onderzoeksmodellen zijn. Een kritische analyse van de literatuurgegevens is noodzakelijk. Conclusies uitgaande van dierexperimenteel onderzoek en de implicaties voor de parodontitis bij de mens moeten kritisch en met de grootste omzichtigheid worden gereëvalueerd.

Gezien het grote aantal significante verschillen tussen de honden onderling evenals tussen beide laesies per kwadrant moeten de laesies individueel per hond worden bestudeerd. Dit komt overeen met recente klinische gegevens over het gelocaliseerde gedrag van parodontitis bij de mens. In de praktijk betekent dit dat er vooral aandacht moet worden besteed aan het opsporen en behandelen van risicopatiënten en een relatief beperkt aantal risicoplaatsen binnen de individuele patiënt.

Dit onderzoek kwam mede tot stand dank zij de financiële steun van het Nationaal Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek (Kredieten aan Navorsers NFWO 3-0030-83 en NFWO 3-0028-84).

tally created intrabony pockets. Sixty-three intrabony pockets were created in eight Beagle dogs using a slightly modified Ellegaard-model. Reinforced ligated steel matrices were left for six of 12 weeks in surgically created 2-wall defects. After removal of the plaque-retaining foreign body 31 blockbiopsies were taken at four, eight, 12 and 24 weeks. Thirty-two contralateral defects with only one week of potential healing were used as controls. New attachment formation was observed in 21/32 control lesions and in 27/31 experimental lesions. The largest differences were measured on the control side: from a maximum of 95% new attachment formation up to a maximum of 31% progressive attachment loss of the initially created defect size. Changes in the attachment level were characteristic for the individual dog. In addition, when corresponding lesions from each quadrant were compared, 79% of the cases proved to be significantly different ( $p < 0.05$ ). Therefore, the experimental method was unable to induce a predictable amount of stable attachment loss. In this model in Beagle dogs the histometric analysis could not be presented as group results, but more properly for each pocket in the individual animal separately. The use of experimental periodontitis models should be critically reevaluated.

## LITERATUUR

- <sup>1</sup>LÖE H, ANERUD A, BOYSEN H, SMITH M. The natural history of periodontal disease in man. The rate of periodontal destruction before 40 years of age. *J Periodontol* 1978; 49: 607-20.
- <sup>2</sup>SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD, GOODSON JM, LINDHE J. New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984; 11: 21-32.
- <sup>3</sup>HUGOSON A, SCHMIDT G. Influence of plaque control on the healing of experimentally-induced bone defects in the dog. *J Periodontol* 1978; 49: 135-41.
- <sup>4</sup>LINDHE J, ERICSSON I. Effect of ligature placement and dental plaque on periodontal tissue breakdown in the dog. *J Periodontol* 1978; 49: 343-50.
- <sup>5</sup>VAN DIJK LJ, JANSEN J, PILOT T, VAN DER WEELE LT. Artificial periodontal defects in beagle dogs. A clinical evaluation during 24 months. *J Periodontol* 1982; 53: 449-52.
- <sup>6</sup>JANSEN J, PILOT T. Predictability of probing depths in ligature-induced periodontal defects in beagle dogs. *J Periodont Res* 1981; 16: 372-8.
- <sup>7</sup>SWENSON HM. Experimental periodontal pockets in dogs. *J Dent Res* 1947; 26: 273-5.
- <sup>8</sup>LINGHORNE WJ, O'CONNELL DC. Studies in the reattachment and regeneration of the supporting structures of the teeth. *J Dent Res* 1955; 34: 164-77.
- <sup>9</sup>COLLINGS CK. Experimental production of periodontitis in dogs. *J Periodontol* 1957; 28: 7-11.
- <sup>10</sup>HURT W. Epithelization of artificially induced periodontal lesions in dogs. *J Periodontol* 1963; 34: 120-7.
- <sup>11</sup>PACKER MW, SCHAFFER EM. Cementum-dentine and Gelfoam implants in surgical periodontal pockets in dogs. *Periodontics* 1964; 18: 722-9.
- <sup>12</sup>PATTERSON RL, COLLINGS CK, ZIMMERMAN ER. Autogenous implants in the alveolar process of the dog with induced periodontitis. *Periodontics* 1967; 5: 19-25.
- <sup>13</sup>ELLEGAARD B, KARRING T, DAVIES R, LÖE H. New attachment after treatment of intrabony defects in monkeys. *J Periodontol* 1974; 45: 368-77.
- <sup>14</sup>KAUFMAN H, CARRANZA FA, ENDRES B, NEWMAN MG, MURPHY N. The influence of trauma from occlusion on the bacterial repopulation of periodontal pockets in dogs. *J Periodontol* 1984; 55: 86-92.
- <sup>15</sup>MATTOUT P, MATTOUT C. Cicatrisation d'un défaut osseux après greffe d'os associé à du tissu desmodontal. *Jour Biol Buccale* 1984; 12: 117-31.
- <sup>16</sup>YAFFE A, EHRlich J, SHOSHAN S. Restoration of periodontal attachment employing enriched collagen solution in the dog. *J Periodontol* 1984; 55: 623-8.
- <sup>17</sup>LEVY L, NEVINS A, LAPORTA R. Healing potential of surgically-induced periodontal osseous defects in animals using mineralized collagen gel xenografts. *J Periodontol* 1981; 52: 303-6.
- <sup>18</sup>VAN DIJK LJ. Surgery and oral hygiene on artificial periodontal defects in beagle dogs. Thesis. Groningen, 1979.
- <sup>19</sup>JANSEN J. Artificial periodontal defects. Thesis Groningen, 1982: 1-117.
- <sup>20</sup>TROMP JAH, CORBA NHC. Periodontal health and frequency of plaque removal in the beagle dog. Thesis. Groningen, 1985.
- <sup>21</sup>CATON JG, ZANDER HA. Primate model for testing periodontal treatment procedures: I. Histologic investigation of localized periodontal pockets produced by orthodontic elastics. *J Periodontol* 1975; 46: 71-7.
- <sup>22</sup>VANDE VELDE FJ, ADRIAENS PA, DE BOEVER JA. Histometric analysis of the Ellegaard-model in Beagle dogs. *J Dent Res* 1986; 65: 822.