

THE USE OF XENOGRAFT TISSUE SUBSTITUTE IN PERIMPLANT GINGIVAL AUGMENTATION

Wassim Manhal* | Claude Ghorra Sader** | Karim Senni*** | Ronald Younes****

Abstract

Recently, porcine acellular dermal matrix (Mucoderm®) has become an alternative to connective tissue autografts in periodontal surgery. For the experimental purpose of using an alternative material to autologous connective tissue we selected a case of keratinized gingival augmentation. The expected results had been disappointing, which led us to ask the problem of the evolution in situ of this matrix and the reality of its bio-integration.

We investigated in vivo human biopsy taken from patient who underwent xenogenic dermal transplant. Biopsy obtained at 11 weeks post-tissue transplant and stained with Hematoxylin-Eosin demonstrated the presence of numerous inflammatory cells in the connective gingival tissue at the periphery of ulceration inside of which many foreign body giant cells constitute a granuloma; similarly, newly formed collagen fibers are present, very dense and reminiscent of fibrotic tissue.

This relative clinical failure can thus reveal the poor bio-integration of the material related to its macromolecular structure and poor colonization of this matrix by cells such as gingival fibroblasts, but also by extension to poor neoangiogenesis.

Keywords: Acellular dermal matrix - giant cells - inflammatory cells.

IAJD 2019;10(1):31-35.

UTILISATION D'UN SUBSTITUT TISSULAIRE XÉNOGÉNIQUE DANS LE BUT D'UNE AUGMENTATION GINGIVALE PÉRI-IMPLANTAIRE

Résumé

L'utilisation de dermes xénogéniques décellularisés d'origine porcine (Mucoderm®) est actuellement une alternative à l'autogreffe gingivale offerte au clinicien en chirurgie parodontale. Dans une optique expérimentale de recours à un matériau alternatif au tissu conjonctif autologue nous avons sélectionné un cas d'augmentation de gencive kératinisée. Les résultats attendus avaient été décevants ce qui nous a amené à poser la problématique de l'évolution in situ de cette matrice et de la réalité de sa bio-intégration. Nous présentons dans ce cas clinique les résultats d'une biopsie prélevée chez un patient.

La biopsie pratiquée à 11 semaines dans une zone du site greffé de derme xénogénique et cliniquement jugé peu concluant, montre après coloration des lames à l'hématoxyline-éosine, la présence de nombreuses cellules inflammatoires dans le conjonctif gingival à la périphérie d'une ulcération à l'intérieur de laquelle de nombreuses cellules géantes à corps étranger forment un granulome ; de même, de très denses fibres de collagène nouvellement formées sont présentes et qui font penser à un tissu fibrotique.

Cet échec clinique relatif peut ainsi révéler la mauvaise bio-intégration du matériau liée à sa structure macromoléculaire et à une mauvaise colonisation de cette matrice par les cellules tels les fibroblastes gingivaux, mais aussi par extension à une mauvaise néoangiogénèse.

Mots clés : matrice dermique acellulaire - corps étranger - cellules inflammatoires.

IAJD 2019;10(1):31-35.

* DCD, DES Pathologie Orale, CES parodontologie, Master de Recherche, Chargé d'enseignement académique, Faculté de Médecine Dentaire, Université Saint Joseph de Beyrouth, Liban.

*** Professeur de Biomatériaux et Biotechnologies, Ecole de Biologie Industrielle, Cergy, Pontoise, Chercheur associé UMR CNRS 7244/CSPBAT, Faculté de Médecine de Bobigny, Université, Paris 13

** Assistant Professor, Pathologiste, Hôtel Dieu de France, Pr Associée, Faculté de médecine, Université Saint Joseph, Beyrouth, Liban

**** DCD, DEA, Doctorat d'Université, FICD, Chef de service de Chirurgie Orale, Faculté de Médecine Dentaire, Université Saint Joseph de Beyrouth, Liban

Introduction

A un an d'une extraction dentaire, des remaniements tissulaires surviennent menant à une diminution de 25% du volume osseux, principalement dans le sens vestibulo-lingual [1-2]. Les 2/3 de cette résorption surviennent dans les 3 premiers mois entraînant l'apparition d'une concavité vestibulaire marquée.

Afin de limiter cette résorption osseuse, plusieurs techniques de préservation des sites post-extractionnels ont été citées [3-4]. Parmi ces techniques, l'utilisation des matrices dermiques acellulaires (MDA) sous forme de membranes a été récemment proposée. Ces membranes sont indiquées pour le comblement du défaut osseux en vue de la pose d'implants, évitant ainsi le trauma induit par un prélèvement d'os autogène (douleur, morbidité, ...) [2-5].

Nous présentons un cas clinique qui a été traité par régénération osseuse guidée en utilisant la membrane MDA. Onze mois après la greffe, le site régénéré était de volume satisfaisant, mais la gencive présentait une rougeur atypique faisant penser à la persistance d'un état inflammatoire. Dans le but de prévenir une future complication péri-implantaire, une biopsie a été pratiquée afin de déterminer histologiquement l'état de la greffe.

Présentation du cas clinique

Un jeune homme de 35 ans s'était présenté pour la restauration de sa première prémolaire supérieure gauche. Il était non-fumeur, ne présentait aucun problème de santé général et n'était pas non plus soumis à aucun traitement susceptible d'altérer la cicatrisation des tissus mous.

L'examen clinique de ce patient a révélé la présence d'un parodonte fin, associé à une quantité de gencive kératinisée réduite en hauteur et en épaisseur. Le sondage n'a pas révélé la présence de poches parodontales.



Fig. 1 : augmentation du volume de la crête en utilisant le Mucoderm® suite à la pose d'implant.

a, b) aspect clinique préopératoire, concavité vestibulaire marquée après l'extraction de la première prémolaire supérieure gauche ; c) vue occlusale en per opératoire ; d) pose d'implant et mise en place d'une membrane Mucoderm®.

Pour des raisons esthétiques et fonctionnelles, un implant lui a été posé pour remplacer la dent extraite. Et pour compenser la perte osseuse, une membrane de Mucoderm® (Botiss Biomaterials, Berlin, Allemagne) d'une épaisseur variant de 1,7 à 2 mm découpée et préparée en fonction du site implanté a été mise en place et sécurisée par la vis de couverture de l'implant (Figs. 1a, 1b). A 2 mois post-opératoires, une diminution du défaut osseux a été cliniquement observée, avec toutefois persistance d'une rougeur de la gencive au niveau du site chirurgical (Figs. 2c, 2d). Onze semaines plus tard, le second temps chirurgical a été réalisé. Concomitamment à la pose de la vis de cicatrisation, une biopsie a été réalisée : un petit fragment de 3mm au niveau de la zone où la vis de cicatrisation a été vissée, a été prélevé. Le fragment prélevé a été posé sur sa face cruentée et non sur sa face épithéliale, en contact avec un film radiographique en plastique. La pièce a été fixée dans le formaldéhyde

à 4% et a été envoyée pour examen anatomo-pathologique. Une prothèse a été confectionnée et scellée 15 jours plus tard. Six mois après le scellement de la couronne, une rougeur était toujours observée au niveau de la gencive recouvrant le site greffé (Fig. 2d).

Résultats

La biopsie a été pratiquée à 11 semaines post-opératoires [6], temps de pose du pilier de cicatrisation.

L'examen anatomo-pathologique (coloration à l'hématoxyline éosine, coupes faites à une épaisseur de 4 microns) a montré la présence de cellules inflammatoires dans le conjonctif gingival, des plasmocytes, des lymphocytes et un amas de macrophages. Ceci est comparable à une réaction inflammatoire en réaction à la présence d'un corps étranger. A l'intérieur de l'ulcération, des structures colorées en rouge sont identifiées (Figs. 3a et 3b) pouvant correspondre à des restes de Mucoderm® [7, 8].

La structure de la greffe était encore perceptible, mais elle a été considérablement modifiée. La frontière entre la MDA et le tissu conjonctif gingival était très distincte.

A plus fort grossissement, la figure 3b montre les innombrables cellules inflammatoires qui ont envahi le conjonctif gingival entourant la zone greffée, ainsi que de nombreuses cellules allongées faisant penser à des fibroblastes. On trouve dans l'ulcération de nombreuses cellules géantes à corps étranger formant un granulome. La figure 3a montre des structures lamellaires colorées en rouge qui pourraient représenter des résidus de « Mucoderm® » en contact direct avec les cellules géantes [9-10]

La MDA présente des fibres épaisses et dispersées avec un aspect moins organisé. Les vaisseaux sanguins, qui proviennent à la fois du lambeau et du périoste, ont été observés pénétrant dans la partie périphérique de la MDA ; ils sont bien définis, signant une néogenèse vasculaire. Des fibres de collagène nouvellement formées sont présentes. Des trousseaux collagéniques très denses font penser à un tissu fibrotique [11, 12].

Discussion

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à une matrice acellulaire dermique, utilisée en pratique clinique comme substitut gingival, notamment dans le cas d'augmentation de la gencive kératinisée.

Idéalement, cette matrice acellulaire doit être remplacée par un tissu conjonctif gingival néoformé. Pour ce faire, cette matrice exogène doit être résorbée et envahie par les cellules et les structures qui vont permettre la reformation du tissu (fibroblastes gingivaux, cellules endothéliales, capillaires et autres vaisseaux sanguins) [13, 14].

Dans le cas clinique présenté, et suite à l'utilisation de cette matrice dermique acellulaire (MDA) nous avons constaté une rougeur persistante après plusieurs mois. Cette rougeur durable

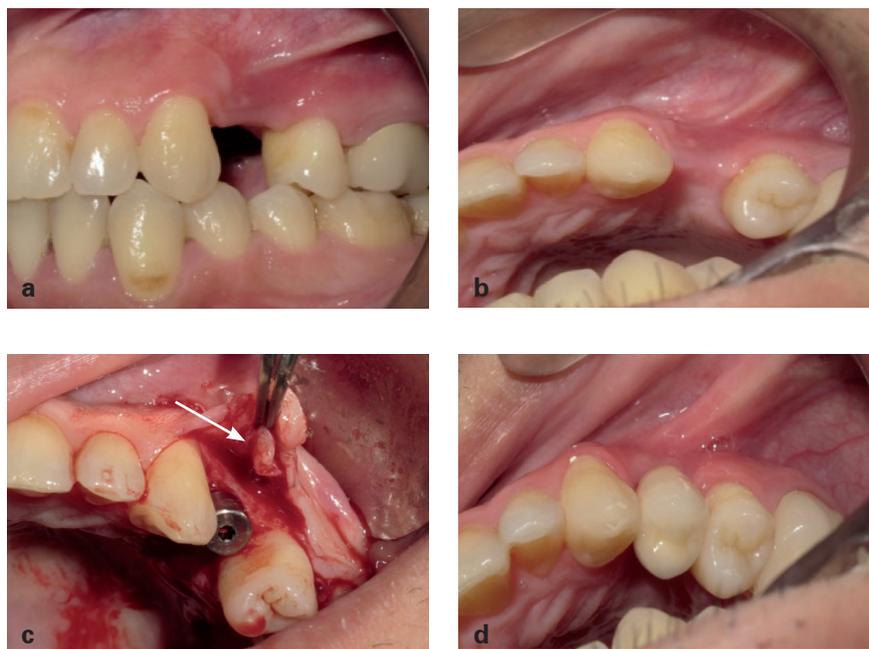


Fig. 2 : cicatrisation après 2 mois. a) vue vestibulaire ; b) vue occlusale ; c) biopsie prélevée (flèche noire) ; d) : couronne en place après 6 mois. Persistance de la rougeur en vestibulaire.

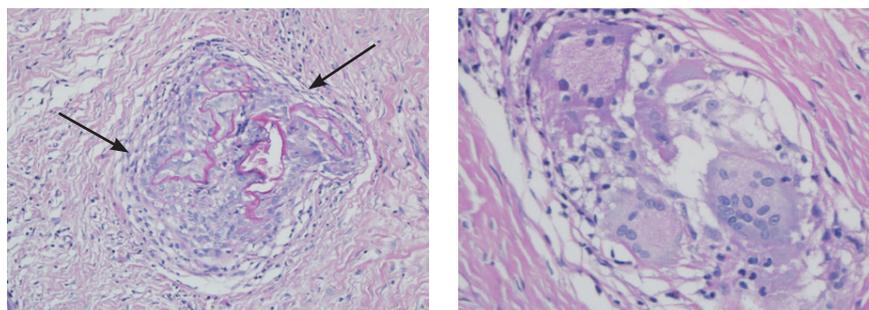


Fig. 3 : résultats histologiques des études in vivo. a) grossissement x4. Cellules inflammatoires dans le conjonctif gingivale entourant une ulcération (cellules géantes type à corps étranger, flèche noire) ; structures lamellaires colorées en rouge qui pourraient représenter des résidus de la membrane de Mucoderm® ; b) de nombreuses cellules géantes à corps étranger sont observées dans l'ulcération.

observée au niveau du conjonctif pourrait être liée à une inflammation chronique [1,15]. Par ailleurs, la palpation de cette zone a révélé la présence d'un tissu plus dense en profondeur que normalement qui pourrait s'expliquer par la persistance du Mucoderm® non résorbé ou par la néoformation d'un tissu fibrotique. Afin de comprendre les mécanismes de bio-intégration de cette matrice exogène, nous avons voulu observer le pronostic de cette

matrice cliniquement et histologiquement après la pose d'un implant.

A 11 semaines post-opératoires et au faible grossissement, l'examen histopathologique a montré la présence d'un tissu de granulation aspécifique témoignant d'un infiltrat inflammatoire chronique.

Au centre de la coupe, on a noté la présence de cellules géantes à corps étranger. De même, au plus fort grossissement, on a mis en évidence la présence de cellules géantes pluri-

nucléées de type «à corps étranger» entourant un matériau exogène, qui semble être induit par la présence d'une substance étrangère qui est le Mucoderm®. La réaction inflammatoire à corps étranger est une inflammation à prédominance cellulaire, ou productive, caractérisée par l'intensité de la réaction macrophagique qui prend un aspect particulier. La présence de ces macrophages témoigne de la destruction et de la résorption du Mucoderm®, en formant une coque de cellules macrophagiques [16-17-18].

D. Rothamel et coll. avaient déjà démontré en 2012 qu'au bout de 8 semaines l'infiltration de cellules inflammatoires après implantation de la membrane dans le tissu adjacent était nettement réduite. Toutefois, quelques cellules géantes multinucléées pouvaient être identifiées dans le corps de la membrane, constat qui semble similaire à celui fait dans notre étude [16-19].

Les résultats histologiques observés dans le cas présenté sont en accord avec l'étude de Mike Barbeck et al., 2014 [20], qui a démontré la présence de cellules géantes multinucléées suite à l'utilisation d'une membrane porcine, évoquant par là même la possibilité que la présence de ces cellules pourrait affecter la réaction physiologique normale au cours de la cicatrisation.

D'ailleurs, les réactions granulomateuses sont plus fréquentes lors de traitements avec des produits de comblement qualifiés de permanents que lors de l'utilisation de produits temporaires. Ces réactions inflammatoires chroniques peuvent se manifester deux mois après le traitement ; la fonction de ce type de réaction étant de prévenir la migration de corps étrangers difficilement éliminables par phagocytose ou par destruction enzymatique. [19,21-22]

Cette réaction prononcée à un corps étranger peut empêcher ou compromettre l'intégration du tissu conjonctif, étant donné que la fixation et la prolifération des fibroblastes ont été rapportées comme étant des

conditions nécessaires à la déposition du collagène, puis à l'intégration tissulaire, ce qui pourrait expliquer la persistance de la rougeur clinique au-delà de 6 mois.

Nos résultats sont en contradiction avec les études de Scarano et coll. [7], et Cummings et coll. [16], qui ont comparé histologiquement le tissu conjonctif humain à celui de la MDA, démontrant la bonne intégration de la MDA au sein du tissu receveur après 6 mois.

De même, Jhaveri et coll. n'ont pas trouvé de différence significative dans l'incorporation de la MDA dans les tissus à 6 mois [9].

Aussi, la persistance de cette rougeur et la fermeté de la gencive à la palpation a mené à l'évaluation et à la compréhension du comportement du Mucoderm® en présence de fibroblastes. La morphologie et la distribution de ces cellules sur le MDA ont été mises en évidence grâce à leur culture in-vitro sur cette membrane. L'analyse histologique des différentes préparations in vitro a révélé que les cellules adhèrent dès les premiers jours à la surface du Mucoderm® sans montrer de colonisation significative de l'intérieur de la membrane même dans des délais prolongés.

Ces résultats sont compatibles avec ceux de Rodriguez et coll. (2010) et Maia et coll. (2011) qui ont montré que ces dermes acellulaires ne sont que partiellement colonisés in vitro par les fibroblastes gingivaux, ces cellules restant préférentiellement localisées à la surface, incapable de migrer de la périphérie de la matrice vers l'intérieur, et par la suite de coloniser la membrane, sans signe d'angiogénèse ni de néoformation collagénique [23-24-25].

Le Mucoderm® non dégradé est considéré comme un matériau étranger, favorisant la présence des cellules géantes à corps étranger, engendrant une inflammation chronique, cause de la rougeur observée cliniquement. Des résultats similaires ont été obtenus avec les travaux menés sur des

cultures cellulaires sur des matrices denses de collagènes supérieurs à 40 mg/ml, montrant une colonisation difficile via la formation de tunnels dans ces matrices par des cellules pionnières [26], alors que dans les études cliniques comparant ces biomatériaux avec la greffe de tissu conjonctif, les résultats cliniques ont démontré l'efficacité de ces biomatériaux en termes de couverture de racine [27-28-29].

Lors de la première réunion internationale des experts organisée en Novembre 2016 à Hambourg, Allemagne, les chercheurs ont décrit l'effet délétère de l'insertion des muscles dans les cas d'augmentation des tissus mous en utilisant le Mucoderm®. Une insertio, peut nuire aux résultats. Dans de tels cas, l'utilisation de Mucoderm® ne doit être envisagée que si une fermeture sans tension du lambeau recouvrant la greffe peut être réalisée, car cela pourrait être une source d'échec [30].

Conclusion

La présence de cellules géantes plurinucléées à corps étranger, et la persistance de la rougeur clinique pourraient être la cause d'une mauvaise intégration du Mucoderm®. L'architecture dense de la MDA dans les études in vitro semble limiter la pénétration cellulaire dans sa structure. Par conséquent, la prolifération et les migrations cellulaires étaient principalement observées sur sa surface externe, où les cellules pouvaient adhérer et se multiplier.

On peut donc estimer que le réseau collagénique présent dans le Mucoderm® est la cause d'une intégration difficile des fibroblastes humains. Des études à plus larges échelles et à plus long terme permettront de conforter nos conclusions.

References

- Hasturk H, Kantarci A, Ohira T, et al. RvE1 protects from local inflammation and osteoclast-mediated bone destruction in periodontitis. *FASEB J.* 2006; 20:401–403.
- Griffin T, Cheung W, Zavras A, Damoulis P. Postoperative complications following gingival augmentation procedures. *J Periodontol* 2006;77: 2070-2079.
- Pabst AM, Lehmann K.M, Walter C, Kru "ger M, Stratul S, Kasaj AS. Influence of porcine-derived collagen matrix on endothelial progenitor cells: an in vitro study. *Odontology* 2014;104 (1):19-26.
- Aichelmann-Reidy M, Yukna R, Evans G, Nasr H, Mayer E. Clinical evaluation of acellular allograft dermis for the treatment of human gingival recession. *J Periodontol* 2001;72: 998-1005.
- Chen X. Application of acellular dermal xenografts in full-thickness skin burns. *Experimental And Therapeutic Medecine* 2013;6:194-198.
- Hansson HA, Albrektsson T, Brånemark PI. Structural aspects of the interface between tissues and titanium implants. *J Prosthet Dent.* 1983;50(1):108-113.
- Serhan CN, Chiang N. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: A new pharmacologic genus. *Br J Pharmacol.* 2008;153(1):200–S215.
- Scarano A, Barros RR, Iezzi G, Piattelli A, Novaes AB Jr. Acellular Dermal Matrix graft for gingival augmentation: A preliminary clinical, histologic, and ultrastructural evaluation. *J Periodontol* 2009;80(2):253-9.
- Novitsky YW, Orenstein SB, Kreutzer DL. Comparative analysis of histopathologic responses to implanted porcine biologic meshes. *Hernia* 2014;18:713–721.
- Jhaveri HM, Swaminathan M, Kumar S, et al. Acellular Dermal Matrix seeded with autologous gingival fibroblasts for the treatment of gingival recession: A proof-of-concept study. *J Periodontol* 2010;81(4):616-625.
- Klein B, Schiffer R, Hafemann B , Klosterhalfen B, Zwadlo-Klarwasser G. Inflammatory response to a porcine membrane composed of fibrous collagen and elastin as dermal substitute. *J Mater Sci Mater Med* 2001;12 (5):419–424.
- Lattouf R, Younes R, Lutomski D, Naaman N, Godeau G, Senni K and Changotade S. Tissues Picosirius Red Staining: A useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 2014;62 (10):751–758.
- Harris RJ. Gingival augmentation with an acellular dermal matrix: human histologic evaluation of a case placement of the graft on periosteum. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2004 ;24(4):378-85.
- Bernimoulin JP. Coronally repositioned periodontal flap. Clinical evaluation after one year. *J Clin Periodontol* 1975;2(1):1–13.
- Luczyszyn SM, Grisi MF, Novaes AB Jr, Palioto DB, Souza S.L.S, Taba M Jr. Histologic analysis of the acellular dermal matrix graft incorporation process: a pilot study in dogs. *Int J Periodontics & Restorative Dent* 2007;27(4):341-7.
- Ariel A, Fredman G, Sun YP, et al. Apoptotic neutrophils and T cells sequester chemokines during immune response resolution through modulation of CCR5 expression. *Nat Immunol* 2006;7:1209–1216.
- Cummings L, Kaldahl W, Allen E. Histologic evaluation of autogenous connective tissue and acellular dermal matrix grafts in humans. *J Periodontol* 2005 ;76:178-186.
- Faleris J.A, Hernandez RMC, Wetzel.D, Dodds R, Greenspan DC. In vivo and in vitro histological evaluation of two commercially available acellular dermal matrices. *Hernia* 2011;15:147–156.
- Harris R. Root coverage with a connective tissue with partial thickness double pedicle graft and an acellular dermal matrix graft: A clinical and histological evaluation of a case report. *J Periodontol* 1998;69:1305-1311.
- Maddox JF, Serhan CN. Lipoxin A4 and B4 are potent stimuli for human monocyte migration and adhesion: Selective inactivation by dehydrogenation and reduction. *J Exp Med* 1996;183:137–146.
- Mike Barbeck et al. Porcine Dermis-Derived Collagen Membranes Induce Implantation Bed Vascularization Via Multinucleated Giant Cells: A Physiological Reaction? *Journal of Oral Implantology*, 41(6), 2014
- Maia LP, Novaes AB, Souza SLS, Grisi MFM, Taba M, Palioto DB. In vitro evaluation of acellular dermal matrix as a three-dimensional scaffold for gingival fibroblasts seeding. *J Periodontol* 2011;82(2):293-301.
- Rodrigues AZ, Oliveira PT, Novaes Jr, Maia LP, Souza SL, Palioto DB. Evaluation of in vitro human gingival fibroblast seeding on acellular dermal matrix. *Braz Dent J* 2010;21(3):179-89.
- Rodríguez-Pizà I, Richaud-Patin Y, Vassena R, González F, Barrero MJ, Veiga A, et al. Reprogramming of human fibroblasts to induced pluripotent stem cells under xeno-free conditions. *Stem Cells.* 2010;28(1):36-44.
- Tettamanti G, Grimaldi A, Rinaldi L, Arnaboldi F, Congiu T, Valvassori R, et al. The multifunctional role of fibroblasts during wound healing in *Hirudo medicinalis* (Annelida, Hirudinea). *Biol Cell.* 2004;96(6): 443-55.
- Helary CH et al. Fibroblast populated dense collagen matrices: cell migration, cell density and metalloproteinases expression. *Biomaterials* 2005;26(13):1533–1543.
- Andrade PF, Felipe MC, Novaes AB, Souza SLS, Taba M, Palioto DB, Grisi, MM, Comparison between two surgical techniques for root coverage with an acellular dermal matrix graft. *J. Clin. Periodontol* 2008; 35:263–269.
- Queiroz Côrte A (DE), Martins Ag, Nociti Fh Jr et coll. Coronally positioned flap with acellular dermal matrix graft in the treatment of class 1 gingival recessions: a randomized controlled clinical study. *J Priodontol* 2004;75(8):1137-1144.
- Queiroz Côrtes A (DE). A two-year prospective study of coronally positioned flap with or without acellular dermal matrix graft. *J Clin Periodontol* 2006;33:683–689.
- Soft tissue augmentation with botiss mucoderm®. Findings from the 1st International Expert Meeting November 2016 in Hamburg, Germany. <https://www.straumann.com/en/shared/news/soft-tissue-management/soft-tissue-augmentation-with-botiss-mucoderm.html>