

K. M. Galler¹

Perspektiven in der Pulparegeneration*

Perspectives in pulp regeneration



K. M. Galler

Als häufigste endodontische Therapie zum Zahnerhalt wird die Wurzelkanalbehandlung einschließlich der Obturation des Wurzelkanalsystems mittels eines synthetischen Materials standardmäßig durchgeführt. Neue Erkenntnisse aus Klinik und Forschung geben jedoch Grund zur Annahme, dass eine Regeneration der Zahnpulpa möglich sein könnte. Seit mehreren Jahren ist es möglich, Stammzellen aus der Pulpa zu isolieren, die in der Lage sind, zu differenzieren und neues Pulpagewebe sowie Dentin zu bilden. Aus dem Bereich der Biomaterialien steht mittlerweile eine Vielzahl an Trägermaterialien (Scaffolds) für Stammzellen zur Verfügung. Für bestimmte Anwendungsbereiche können nun geeignete Materialien identifiziert werden und diese können durch Modifikation bioaktiv gestaltet werden, um die Neubildung des Zielgewebes zu unterstützen. Die Begriffe Regeneration und Tissue Engineering sind hierbei voneinander abzugrenzen. Während Regeneration die Fähigkeit des Organismus bezeichnet, zerstörtes Gewebe wiederherzustellen, wird beim Tissue Engineering durch bewusstes Eingreifen der Prozess der Gewebeherstellung kontrolliert und optimiert und dadurch häufig auch erst ermöglicht. Dies geschieht in der Regel durch das Einbringen eines mit Stammzellen beladenen bioaktiven Trägermaterials in den Organismus. Ergebnisse aus dem Bereich der Grundlagenforschung zum Thema Zahnpulpa zeigen, dass dentale Stammzellen nach Ein-
 saatz in ein geeignetes Trägermaterial Pulpagewebe und tubuläres Dentin bilden können. Dies wurde in Tierversuchen zunächst anhand von Modellen mit Zahnscheiben oder Dentinzyklindern zur Imitation der Pulpakammer bzw. des Wurzelkanals gezeigt, mittlerweile jedoch auch in Versuchen im Wurzelkanal von Zähnen nachgewiesen. In eigenen Arbeiten wurde ein Peptid-basiertes Hydrogel für die Anwendung zur Pulparegeneration im Wurzelkanal modifiziert und für die Adhäsion und Proliferation von Pulpastammzellen optimiert. In einem darauffolgenden Versuch wurden Dentinzyklinder mit Hydrogel und Stammzellen beschickt und im Mausmodell subkutan implantiert. Nach 5 Wochen hatte sich innerhalb der Dentinwände ein vaskularisiertes, pulpaähnliches Gewebe gebildet, wobei die dem Dentin anliegenden Zellen differenziert waren und ein Odonto-

Root canal treatment is a procedure that is commonly performed in dental offices worldwide in order to preserve teeth after loss of the dental pulp. Its final step includes the obturation of the root canal system with a synthetic material. However, advances in research as well as in clinical practice indicate that regeneration of dental pulp might be possible. To date, stem cells can be isolated from dental pulp, which are capable of differentiation and formation of new pulp and dentin. Numerous scaffold materials for regenerative medicine and tissue engineering are available. Suitable materials can be identified for specific applications; they can be customized and made bioactive in order to support formation of the target tissue. In this context, the terms "Regeneration" and "Tissue Engineering" should be distinguished. Regeneration refers to an organisms' capability to restore damaged tissues, whereas Tissue Engineering aims at improving or replacing tissue function by combining cells with a bioactive material to enable and control tissue formation. Results from the area of basic research in dentistry show that dental stem cells that have been seeded into a suitable scaffold material are able to form pulp and tubular dentin. Animal experiments provide proof of principle, initially with tooth slices and later with dentin cylinders to imitate the pulp chamber and the root canal, respectively; recent experiments show pulp tissue formation within the root canal in dog teeth. In previous own work, peptide-based hydrogels were modified for an application in the root canal and optimized for adhesion and proliferation of dental pulp stem cells. In a next step, dentin cylinders laden with hydrogels and pulpal stem cells were implanted subcutaneously in a mouse model. After 5 weeks, a vascularized, pulp-like tissue had formed within the cylinders, where cells adjacent to the dentin walls had differentiated and expressed a protein specific for odontoblasts. Clinical case reports, on the other hand, describe a procedure to revitalize immature teeth with incomplete root formation. Provocation of bleeding into the root canal provides a guide rail for cells of the apical papilla of the forming root to migrate, re-populate the root canal and form new tissue. After this procedure, completion of root formation and healing even of ex-

¹ Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, Universitätsklinikum Regensburg

* Dieser Text wurde in ähnlicher Form abgedruckt in der Zeitschrift „Wehrmedizin und Wehrpharmazie“ 2/2012.

Peer-reviewed article: eingereicht: 20.01.2014, Fassung akzeptiert: 23.01.2014

DOI 10.3238/dzz.2014.0152-0157

blasten-spezifisches Protein exprimierten. Im Bereich der Klinik beschreiben Fallberichte ein Prozedere zur Revitalisierung bei jugendlichen Zähnen mit nicht abgeschlossenem Wurzelwachstum. Über die Erzeugung einer Einblutung in den Wurzelkanal wird eine Leitschiene für Zellen geschaffen, die es Zellen aus der apikalen Papille der sich bildenden Wurzel ermöglicht, einzuwandern und wieder Gewebe zu bilden. Dadurch kann es zum Fortschreiten des Wurzelwachstums und sogar zur Ausheilung ausgedehnter periapikaler Läsionen kommen. Diese Entwicklungen aus Forschung und Klinik lassen einen Paradigmenwechsel im Bereich der Endodontie erwarten, nach welchem regenerative Behandlungskonzepte in ausgewählten Fällen zunehmend in den klinischen Alltag Einzug halten könnten. (Dtsch Zahnärztl Z 2014; 69: 152–157)

Schlüsselworte: Regenerative Endodontie, Revitalisierung, Tissue Engineering, Dentale Stammzellen

Konventionelle Wurzelkanalbehandlung

Der menschliche Zahn ist, bei genauerer Betrachtung, ein komplexes kleines Organ, zusammengesetzt aus verschiedenen Hart- und Weichgeweben. Die mineralisierten Gewebe – Schmelz, Dentin und Zementum – umschließen dabei das Weichgewebe der dentalen Pulpa. Über eine Öffnung am Apex steht dieses mit den umliegenden Gewebestrukturen in Verbindung. Entwicklungsgeschichtlich sind Pulpa und Dentin eng miteinander verbunden, da nach erfolgter Zelldifferenzierung ektomesenchymaler Zellen zu Odontoblasten diese Zellen beginnen, Dentin zu bilden und somit das Weichgewebe oder Endodont einzumauern. Dabei hinterlässt jeder Odontoblast einen Zellfortsatz im Dentin, welches dadurch bedingt eine tubuläre Struktur aufweist. Aufgrund dieser engen Verbindung sprechen wir auch vom Pulpa-Dentin-Komplex, und Dentin ist, ähnlich dem Knochen, als vitales Gewebe zu sehen. Wird aufgrund von äußeren Einflüssen, meist Karies oder Trauma, der schützende Hartgewebemantel teilweise zerstört, kommt es über das Eindringen von Bakterien sowie deren Toxinen zur Entzündungsreaktion im Pulpagewebe, welches bei fortdauernder und übermäßiger Reizeinwirkung oder ausbleibender therapeutischer Intervention zur Gewebszerstörung und Nekrose führt.

Das Ziel der endodontischen Therapie besteht nun darin, irreversibel geschädigtes oder nekrotisches Pulpagewebe zu entfernen, die Zahl der Bakterien im Wurzelkanalsystem durch ausreichende Des-

infektion zu dezimieren und den entstandenen Hohlraum anschließend mit einem Wurzelfüllmaterial zu verschließen. Dadurch soll eine weitere Ausbreitung von Mikroorganismen verhindert werden, eine Ausheilung der beteiligten Gewebestrukturen ermöglicht und der Zahn möglichst langfristig in der Mundhöhle erhalten werden. Als Wurzelkanalfüller dienen hierbei synthetische Materialien, zumeist Guttapercha in Kombination mit einem härtenden Sealer. Dadurch ist in über 90 % der Fälle ein Zahnerhalt möglich [4], jedoch geht mit dem Verlust des Endodonts auch dessen Funktionen verloren. Dazu gehören die Innervation und Befeuchtung des Dentins, die immunologische Abwehrleistung, die Schmerzleitung als Warnsystem, die Bildung von Reiz- oder Reparaturdentin sowie, im Sonderfalle des jugendlichen Patienten, der Abschluss des Wurzelwachstums.

Der Erhalt einer vitalen Pulpa ist insbesondere bei jugendlichen Zähnen mit nicht abgeschlossenem Wurzelwachstum kritisch, da mit deren Verlust, meist nach Trauma, auch das Wurzelwachstum zum Erliegen kommt. Dabei erschwert der weit offene Apex mit dünn auslaufenden, fraktur anfälligen Dentinwänden die suffiziente Wurzelkanalfüllung erheblich. Das bisher geläufige Therapiekonzept der Apexifikation, durch welche im apikalen Bereich eine Hartgewebsbarriere induziert werden soll, ist zeitaufwendig und führt auch bei erfolgreichem Abschluss zumeist zwar zu einer Verdickung der Dentinwände, nicht jedoch zu einer Zunahme des Wurzellängenwachstums.

Durch die rasche Entwicklung regenerativer Strategien im Bereich des Tissue

tended periapical lesions have been observed. These advances in clinics and research may herald a paradigm shift in the area of endodontics. Regenerative strategies may – at least in selected cases – find their way into endodontics treatment concepts.

Keywords: regenerative endodontics; revitalization; tissue engineering; dental stem cells

Engineering wird mittlerweile auch in der Zahnheilkunde angestrebt, Neuerungen gewinnbringend anzuwenden. Derzeit wird aktiv an der Entwicklung von Verfahren geforscht, durch welche zukünftig die Wurzelkanalbehandlung in der derzeitigen Form zumindest in ausgewählten Fällen durch regenerative Verfahren verdrängt werden könnte.

Regeneration und Tissue Engineering

Die beiden Begriffe Regeneration und Tissue Engineering sind voneinander abzugrenzen. Regeneration bezeichnet die Fähigkeit des Organismus, verloren gegangenes oder verletztes Gewebe zu ersetzen und die Gewebefunktion wiederherzustellen. Hierbei wird eine Restitutio ad integrum erreicht. Im Gegensatz dazu ist das Tissue Engineering ein hochgradig interdisziplinärer Wissenschaftsbereich, welcher vor 25 Jahren definiert wurde als „... die Anwendung der Prinzipien und Methodik der Ingenieur- und Lebenswissenschaften zur Erlangung eines fundamentalen Verständnisses der Beziehung zwischen Struktur und Funktion in physiologischen und pathologisch veränderten Geweben, welches der Entwicklung biologischer Ersatzgewebe dienen kann, um die Organfunktion wiederherzustellen, zu erhalten oder zu verbessern ...“ [18]. Dem Tissue Engineering liegt das Konzept zugrunde, (Stamm)zellen mit einem geeigneten Trägermaterial zu kombinieren und mithilfe von Wachstumsfaktoren Zelldifferenzierung und Gewebebil- dung zu induzieren. Postnatale Stamm-

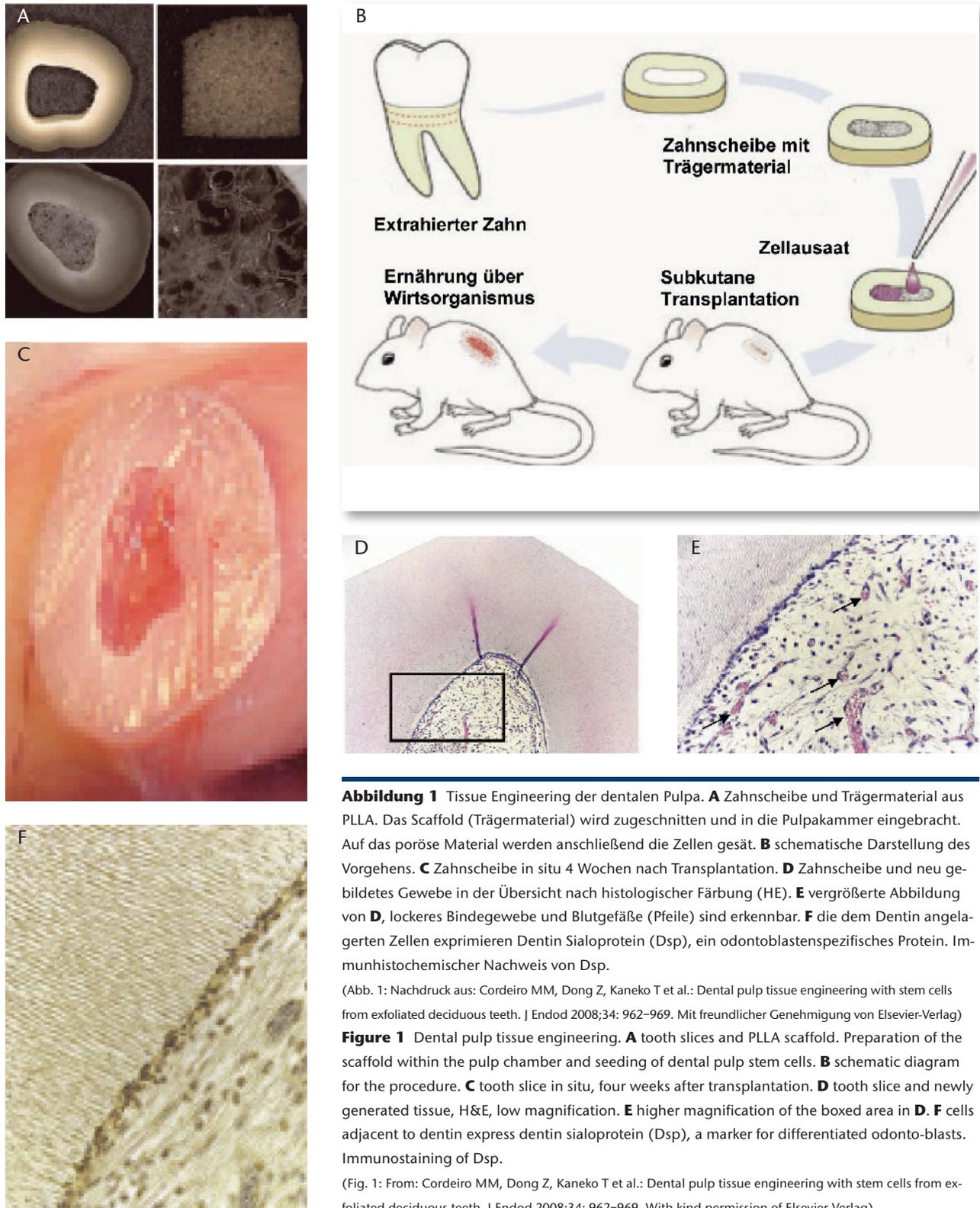


Abbildung 1 Tissue Engineering der dentalen Pulpa. **A** Zahnscheibe und Trägermaterial aus PLLA. Das Scaffold (Trägermaterial) wird zugeschnitten und in die Pulpakammer eingebracht. Auf das poröse Material werden anschließend die Zellen gesät. **B** schematische Darstellung des Vorgehens. **C** Zahnscheibe in situ 4 Wochen nach Transplantation. **D** Zahnscheibe und neu gebildetes Gewebe in der Übersicht nach histologischer Färbung (HE). **E** vergrößerte Abbildung von **D**, lockeres Bindegewebe und Blutgefäße (Pfeile) sind erkennbar. **F** die dem Dentin angelaagerten Zellen exprimieren Dentin Sialoprotein (Dsp), ein odontoblastenspezifisches Protein. Immunhistochemischer Nachweis von Dsp.

(Abb. 1: Nachdruck aus: Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T et al.: Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod* 2008;34: 962–969. Mit freundlicher Genehmigung von Elsevier-Verlag)

Figure 1 Dental pulp tissue engineering. **A** tooth slices and PLLA scaffold. Preparation of the scaffold within the pulp chamber and seeding of dental pulp stem cells. **B** schematic diagram for the procedure. **C** tooth slice in situ, four weeks after transplantation. **D** tooth slice and newly generated tissue, H&E, low magnification. **E** higher magnification of the boxed area in **D**. **F** cells adjacent to dentin express dentin sialoprotein (Dsp), a marker for differentiated odontoblasts. Immunostaining of Dsp.

(Fig. 1: From: Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T et al.: Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod* 2008;34: 962–969. With kind permission of Elsevier-Verlag)

zellen zum Einsatz in der regenerativen Medizin können mittlerweile aus einer Vielzahl von Geweben isoliert werden [19]. Dreidimensionale Zellverbände können entweder direkt in den Wirtsorganismus transplantiert oder zunächst in Zellkultur zur Gewebeformung gebracht und anschließend in den Körper

transplantiert werden. Mithilfe des Tissue Engineering können derzeit bereits verschiedenste Gewebe gezüchtet werden; hierzu gehören Blutgefäße, Haut, Knochen und Knorpel, Strukturen des Nervensystems, aber auch Organsysteme wie Trachea, Blase, Darm oder Pankreas [19]. Als Träger steht eine Vielzahl an natürli-

chen und synthetischen Materialien zur Verfügung, die je nach Anwendungsbereich spezifisch ausgewählt werden können. Während natürliche Materialien wie Fibrin, Kollagen oder zellfreie Extrazellulärmatrix der physiologischen Umgebung der Zellen eher entsprechen, bieten synthetische Biomaterialien den Vor-

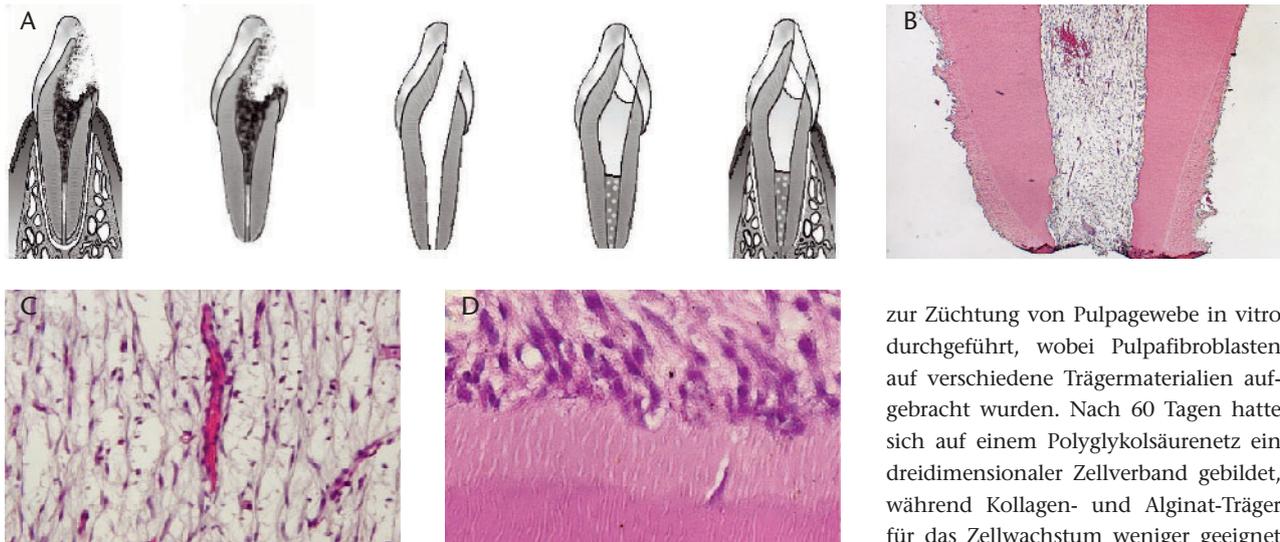


Abbildung 2 **A** schematische Darstellung des Vorgehens: Trepanation, Extraktion, Wurzelkanalaufbereitung und Apexektomie, Füllen des Wurzelkanals mit Trägermaterial und Zytokin (koronal) und mit Trägermaterial und Stammzellen (apikal), Replantation. **B** histologische Darstellung der Gewebeneubildung nach 4 Wochen. **C, D** die höhere Vergrößerung zeigt Blutgefäße und die dem Dentin angrenzenden Zellen.

(Abb. 2: Nachdruck aus: Nakashima M, Iohara K: Regeneration of dental pulp by stem cells. *Adv Dent Res* 2011;23:313–319. Mit freundlicher Genehmigung von International & American Associations for Dental Research)

Figure 2 **A** schematic depiction of the procedure: trepanation, extraction, root canal treatment and apexectomy, filling of the root canal with scaffold and cytokine (coronal part) and scaffold with stem cells (apical part). **B** histology of newly formed tissue after 4 weeks. **C, D** higher magnification shows blood vessels and cells adjacent to the dentin.

(Fig. 2: From: Nakashima M, Iohara K: Regeneration of dental pulp by stem cells. *Adv Dent Res* 2011;23:313–319. With kind permission of International & American Associations for Dental Research)

teil, Parameter wie Molekulargewicht der Ausgangssubstanz, Materialfestigkeit, chemische Zusammensetzung oder Bioabbaubarkeit genau kontrollieren zu können. Wachstums- und Differenzierungsfaktoren spielen für das Tissue Engineering eine wichtige Rolle, und gewebsspezifische Signalmoleküle können mit dem Trägermaterial in situ gebracht werden. Dabei werden derzeit Strategien entwickelt, welche eine Einbindung und verzögerte sowie kontrollierte Freisetzung dieser Faktoren ermöglichen.

Pulpastammzellen

Seit der Isolation mesenchymaler Stammzellen aus der Pulpa von bleibenden Zähnen [8] im Jahre 2000 wird auch im Bereich der Zahnmedizin daran geforscht, diese Zellen für regenerative Zwecke zu nutzen. Diese Stammzellen, welche nur einen geringen Prozentsatz aller Zellen einer Zahnpulpa ausmachen, können mittels verschiedener Verfahren aus der Gesamtpopulation herausselektiert werden. Nach

Pulpaexposition und Verlust der Odontoblastenschicht vermitteln Stammzellen Regeneration und Heilung. Angezogen von chemotaktischen Signalmolekülen, welche im entzündeten Gewebe freigesetzt werden, können sie migrieren, sich am Ort des entzündlichen Geschehens vermehren und zu dentinbildenden Zellen differenzieren. Es kommt zur Ausbildung einer Hartgewebsbrücke, welche als aktive Abwehrleistung der Pulpa zur Abgrenzung gegenüber Noxen oder Bakterien zu werten ist. Im Umgang mit dentalen Pulpastammzellen wurde deren Potenzial zur Differenzierung in verschiedene andere Gewebe nachgewiesen, darunter Knorpel, Knochen, Muskel- und Fettgewebe [8, 13]. Somit besteht die berechtigte Hoffnung, diese Zellen gewinnbringend zur Pulparegeneration einsetzen zu können.

Pulparegeneration in der Forschung

Bereits vor der Isolation dentaler Pulpastammzellen wurden erstmals Versuche

zur Züchtung von Pulpagewebe in vitro durchgeführt, wobei Pulpafibroblasten auf verschiedene Trägermaterialien aufgebracht wurden. Nach 60 Tagen hatte sich auf einem Polyglykolsäurenetz ein dreidimensionaler Zellverband gebildet, während Kollagen- und Alginat-Träger für das Zellwachstum weniger geeignet schienen [2, 14]. Mittlerweile werden zunehmend vielversprechende Berichte zur Pulparegeneration publiziert. Mittels eines Zahnscheibenmodells konnte in 2008 gezeigt werden, dass die Züchtung dentalen Pulpagewebes möglich ist [3] (Abb. 1). Pulpastammzellen aus Milchzähnen wurden in einem Poly(lactid-glycolid) (PLGA)-Trägermaterial in die leere Pulpakammer der Scheiben eingebracht. Diese wurden bei immundefizienten Mäusen für einen Zeitraum von 4 Wochen subkutan transplantiert. Nach dieser Zeitspanne hatte sich innerhalb der Dentinscheibe ein vaskularisiertes, pulpaähnliches Gewebe gebildet. Die dem Dentin anliegenden Zellen waren zu Odontoblasten differenziert und exprimierten das dentinspezifische Dentin Sialoprotein (Dsp).

Des Weiteren konnte nachgewiesen werden, dass die Zellen neues, tubuläres Dentin an die bestehende Dentinwand der Zahnscheibe absonderten. Der Nachweis der Dentinbildung gelang mittels einer Serie von Tetrazyklin-Injektionen, welche bei den Versuchstieren als Linien nachweisbare Störungen der Hartsubstanzbildung hervorrufen. Diese Linien waren an den Zähnen der Versuchstiere sowie an den implantierten Zahnscheiben nachweisbar [17]. Ähnliche Versuche wurden mit dentalen Pulpastammzellen in Poly-Laktid-Glykolid durchgeführt, wobei jedoch anstatt der Zahnscheiben Dentinzyylinder verwendet wurden. Diese wurden auf einer Seite mit einem bioaktiven Zement (MTA) verschlossen, was die Situation im Wurzelkanal imitieren sollte. Vier Wochen nach subkutaner Transplantation waren auch hier pulpaähnliche Gewebe und Dentinbildung nachweisbar [9]. Eine japanische Arbeitsgrup-

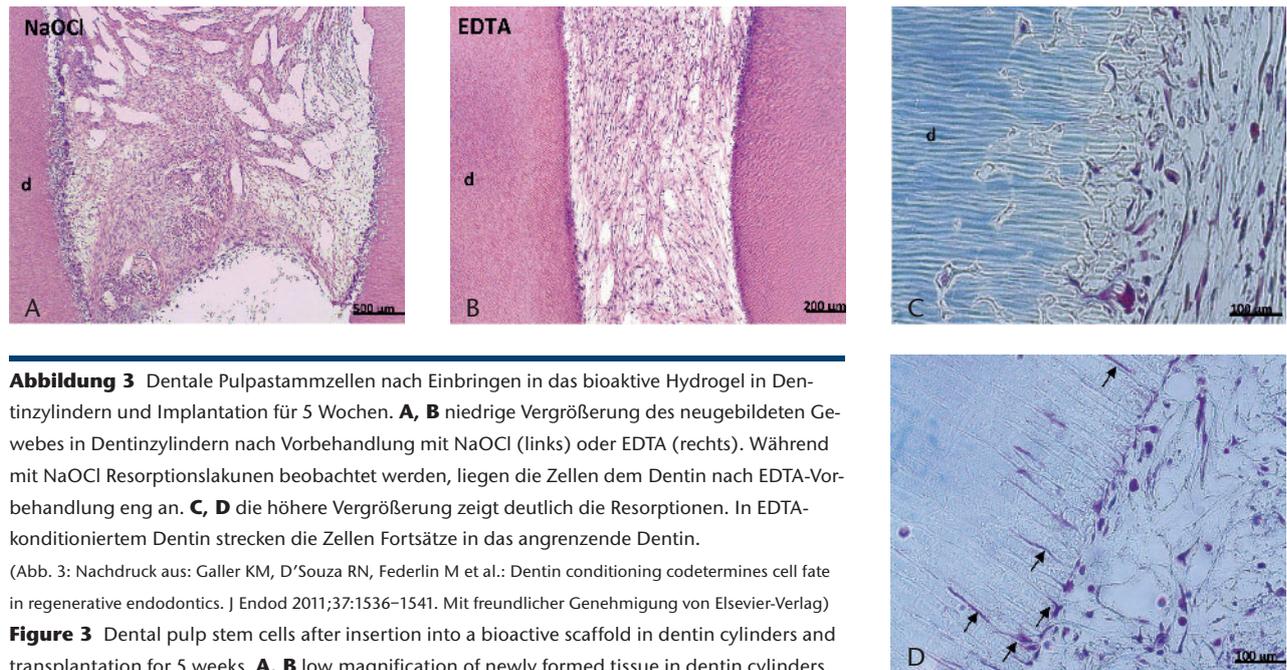


Abbildung 3 Dentale Pulpastammzellen nach Einbringen in das bioaktive Hydrogel in Dentinzylindern und Implantation für 5 Wochen. **A, B** niedrige Vergrößerung des neugebildeten Gewebes in Dentinzylindern nach Vorbehandlung mit NaOCl (links) oder EDTA (rechts). Während mit NaOCl Resorptionslakunen beobachtet werden, liegen die Zellen dem Dentin nach EDTA-Vorbehandlung eng an. **C, D** die höhere Vergrößerung zeigt deutlich die Resorptionen. In EDTA-konditioniertem Dentin strecken die Zellen Fortsätze in das angrenzende Dentin.

(Abb. 3: Nachdruck aus: Galler KM, D'Souza RN, Federlin M et al.: Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. *J Endod* 2011;37:1536–1541. Mit freundlicher Genehmigung von Elsevier-Verlag)

Figure 3 Dental pulp stem cells after insertion into a bioactive scaffold in dentin cylinders and transplantation for 5 weeks. **A, B** low magnification of newly formed tissue in dentin cylinders after treatment with NaOCl (left) or EDTA (right). Resorption lacunae can be observed after NaOCl-treatment, whereas cells in EDTA-treated cylinders are intimately associated with the dentin. **C, D** higher magnification showing dentin resorption. Cellular processes can be observed within the dentinal tubules in EDTA-treated dentin.

(Fig. 3: From: Galler KM, D'Souza RN, Federlin M et al.: Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. *J Endod* 2011;37:1536–1541. With kind permission of Elsevier-Verlag)

pe entwickelte ein Versuchsmodell am Hund, wobei in diesem Fall eine angiogene Subpopulation von dentalen Pulpastammzellen anhand von Oberflächenmarkern aus der Gesamtzellpopulation herausselektiert wurde. In einer ersten Versuchsreihe wurde an Hundezähnen eine Pulpotomie bis zum Pulpakammerboden durchgeführt. Der Hohlraum wurde daraufhin mit angiogenen Pulpastammzellen in einem Kollagen-Trägermaterial gefüllt und koronal verschlossen. Bereits 14 Tage später war Gewebeneubildung nachweisbar, und nach 60 Tagen war die Pulpakammer mit vaskularisiertem Gewebe gefüllt, welches vom ursprünglichen Pulpagewebe nicht zu unterscheiden war [10]. In einer Nachfolgearbeit wurden Zähne am Hund extrahiert, trepaniert, der Wurzelkanal aufbereitet, die Wurzelspitze um 1 mm gekürzt und die Öffnung am Apex auf 0,8 mm Durchmesser erweitert. Daraufhin wurde die apikale Hälfte des Wurzelkanals mit einem Kollagenträger und den Stammzellen gefüllt, der koronale Anteil mit Material ohne Zellen, aber beschickt mit dem chemotaktisch wirkenden Wachstumsfaktor SDF-1 (stromal cell-derived factor 1). Die Zähne wurden daraufhin replantiert, und nach 14 und 60 Tagen erfolgte

die histologische Untersuchung der extrahierten Zähne. Wurzelkanal und Pulpakammer waren mit pulpaähnlichem Weichgewebe gefüllt [15] (Abb. 2). Mit immunhistochemischen Verfahren konnten Blutgefäße und sogar Nervfortsätze nachgewiesen werden. Diese Arbeiten zeigen auf eindrucksvolle Weise, dass die Regeneration der Pulpa nach Transplantation eines mit dentaler Stammzellen und Wachstumsfaktoren beladenen Trägermaterials prinzipiell möglich ist

In eigenen Arbeiten beschäftigen wir uns insbesondere mit Trägermaterialien. Während konventionelle Träger wie Polyether (Poly-Laktid, Poly-Glykolid) oder Kollagen für das Tissue Engineering prinzipiell gut geeignet sind, verfolgen wir die Strategie, mittels eines individualisierten, bioaktiven Trägermaterials Zellverhalten und -differenzierung zu optimieren. Ausgangsmaterial ist ein peptidbasiertes Hydrogel. Kurze Peptidmoleküle mit einer definierten Aminosäuresequenz können durch molekulare Selbstorganisation (Self-Assembly) nanofibröse Strukturen bilden, dadurch Wasser binden und Gele bilden.

Zellen können problemlos in diese Hydrogele eingesät werden. Ausgehend von einer Peptidsequenz konnten diese

durch Inkorporation einer enzymatisch spaltbaren Sequenz und eines Zelladhäsionsmotivs bioaktiv und bioabbaubar gestaltet werden [7]. Durch die Einbindung verschiedener Wachstumsfaktoren zur Stimulation der Gefäßeinsprossung und der Differenzierung der eingesäten Zellen wurde das Material weiter modifiziert. Dentale Pulpastammzellen wurden mit diesem bioaktiven Gel kombiniert, in Dentinzylinder eingebracht und subkutan bei immundefizienten Mäusen implantiert. Nach 5 Wochen konnte ein vaskularisiertes, pulpaähnliches Weichgewebe nachgewiesen werden [6]. Die Vorbehandlung des Dentins war jedoch hierbei von Bedeutung: Dentinzylinder, welche zur Desinfektion für 10 min in 5 % Natriumhypochlorit gelagert wurden, zeigten eine Resorption des oberflächlichen Dentins durch die eingesäten Zellen. In einer zweiten Gruppe, in welcher das Dentin nach Desinfektion mit 17 %igem EDTA oberflächlich demineralisiert worden war, fand Zelldifferenzierung entlang der Dentinwand statt. Die dem Dentin anliegenden Zellen exprimierten das dentinspezifische Dentin Sialoprotein. Des Weiteren erstreckten sich Zellfortsätze in die vorhandenen Dentintubuli (Abb. 3), so wie es physiologischerweise im Dentin vorzufinden ist. Hierfür ausschlaggebend ist die durch das EDTA ausgelöste Freisetzung von Wachstumsfaktoren, welche mit der Dentinbildung im Hartgewebe eingemauert werden und zu einem späteren Zeitpunkt

durch Demineralisation mobilisiert werden können.

Aktuelle Ansätze

Zur Entwicklung neuer Therapieansätze zur regenerativen Endodontie ist eine Zusammenführung von Klinik und Forschung unerlässlich. Tiermodelle zeigen, dass es möglich ist, durch das Einbringen eines mit Pulpastammzellen beladenen Trägermaterials eine Regeneration der Pulpa zu erzielen. Die Transplantation von Stammzellen ist jedoch mit etlichen Problemen behaftet, hierbei sind insbesondere Entnahmekzeitpunkt, Lagerung, Zellkultur in vitro und Rückführung in den Patienten zu nennen. Vorsichtigen Schätzungen zufolge würde sich demnach die Regeneration einer Zahnpulpa auf etwa 40.000,00 Euro beziffern. Vereinfachte und schnellere, nicht-invasive Verfahren zur Stammzellisolation könnten neue Wege eröffnen, es bleibt jedoch auch hierbei das Kosten-Nutzen-Verhältnis abzuwägen.

Einfachere Verfahren wären mittels zellfreier Therapieansätze denkbar, wobei über bioaktive Trägermaterialien körpereigene ortsständige (Stamm)zellen rekrui-

tiert und in den Wurzelkanal gelockt werden könnten. Durch die Einbindung chemotaktiver Signalmoleküle und bestimmter Wachstumsfaktoren könnten diese Zellen migrieren, proliferieren und differenzieren. Während klinische Protokolle zur Regeneration eine Revitalisierung bewirken können und – wenngleich zunächst unbewusst – mit ortsständigen Stammzellen arbeiten, folgen sie nicht dem Prinzip des Tissue Engineering. Der Einsatz optimierter, speziell für die Pulparegeneration maßgeschneiderter Biomaterialien könnte die Erfolgsquote regenerativer Therapien verbessern. Eine Ausdehnung solcher Therapieansätze auf Zähne mit abgeschlossenem Wurzelwachstum wäre wünschenswert. Bei reversibel entzündeter Pulpa könnte im Sinne einer Pulpotomie unbeschädigtes Gewebe belassen werden, welches einen Pool von Stammzellen beherbergt, von welchem Regeneration ausgehen kann. Wünschenswert wäre hierbei die Entwicklung von diagnostischen Hilfsmitteln, welche klinisch eine Unterscheidung von reversibel und irreversibel geschädigten Gewebereichen ermöglichen. Denkbar wären hierbei in der Dentinflüssigkeit vorhandene Entzündungsmarker. Erste Ansätze existieren bereits, es

konnte gezeigt werden, dass in entzündlich verändertem Pulpagewebe eine Gewebsprotease, MMP-9, nachgewiesen werden kann [20]. Bei Zähnen mit abgeschlossenem Wurzelwachstum und gegebenenfalls periapikaler Läsion bleibt der zukünftige Einsatz regenerativer Verfahren fraglich. Es ist jedoch auch in diesen Fällen denkbar, durch Einwanderung von Zellen aus der periapikalen Region, Gewebeneubildung im Wurzelkanal zu erzielen. Die bisher gängigen Protokolle zur Wurzelkanalbehandlung werden hierbei voraussichtlich vom Behandler in abgewandelter Form zu bearbeiten sein. **DZZ**

Interessenskonflikt: Die Autorin erklärt, dass kein Interessenskonflikt im Sinne der Richtlinien des International Committee of Medical Journal Editors besteht.

Korrespondenzadresse

PD Dr. med. dent. Kerstin Galler, Ph.D.
Poliklinik für Zahnerhaltung und
Parodontologie
Universitätsklinikum Regensburg
Franz-Josef-Strauss Allee 11
93053 Regensburg
kerstin.galler@ukr.de

Literatur

1. Banchs F, Trope M: Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod* 2004;30:196–200
2. Bohl KS, Shon J, Rutherford B, Mooney DJ: Role of synthetic extracellular matrix in development of engineered dental pulp. *J Biomater Sci Polym Ed* 1998; 9:749–764
3. Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T et al.: Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod* 2008;34: 962–969
4. Fleming CH, Litaker MS, Alley LW, Eleazer PD: Comparison of classic endodontic techniques versus contemporary techniques on endodontic treatment success. *J Endod* 2010;36: 414–418
5. Galler KM, D'Souza RN, Federlin M et al.: Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. *J Endod* 2011;37:1536–1541
6. Galler KM, Hartgerink JD, Cavender AC, Schmalz G, D'Souza RN: A customized self-assembling peptide hydrogel for dental pulp tissue engineering. *Tissue Eng Part A* 2012;18:176–184
7. Galler KM, Aulisa L, Regan KR, D'Souza RN, Hartgerink JD: Self-assembling multidomain peptide hydrogels: designed susceptibility to enzymatic cleavage allows enhanced cell migration and spreading. *J Am Chem Soc* 2010;132: 3217–3223
8. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S: Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97: 13625–13630
9. Huang GT, Yamaza T, Shea LD et al.: Stem/Progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. *Tissue Eng Part A* 2010;16: 605–615
10. Iohara K, Zheng L, Ito M et al.: Regeneration of dental pulp after pulpotomy by transplantation of CD31(-)/CD146(-) side population cells from a canine tooth. *Regen Med* 2009;4: 377–385
11. Jung IY, Lee SJ, Hargreaves KM: Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. *J Endod* 2008;34:876–887
12. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A: Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod* 2011;37: 133–138
13. Miura M, Gronthos S, Zhao M et al.: SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:5807–5812
14. Mooney DJ, Powell C, Piana J, Rutherford B: Engineering dental pulp-like tissue in vitro. *Biotechnol Prog* 1996;12: 865–868
15. Nakashima M, Iohara K: Regeneration of dental pulp by stem cells. *Adv Dent Res* 2011;23:313–319
16. Petrino JA, Boda KK, Shambarger S, Bowles WR, McClanahan SB: Challenges in regenerative endodontics: a case series. *J Endod* 2010;36: 536–541
17. Sakai VT, Zhang Z, Dong Z et al.: SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. *J Dent Res* 2010;89: 791–796
18. Skalak R, Fox CF: *Tissue Engineering*. Preface P.xx. Alan R Riss, New York 1988
19. Van Blitterswijk C (Ed.): *Tissue Engineering*, Elsevier, New York 2008
20. Zehnder M, Wegehaupt FJ, Attin T: A first study on the usefulness of matrix metalloproteinase 9 from dentinal fluid to indicate pulp inflammation. *J Endod* 2011;37: 17–20