

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Vergleichende Untersuchungen unterschiedlicher  
Tricalciumphosphatpartikulate zur Kieferkammaugmentation –  
eine histomorphometrische und immunhistochemische Studie**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

**Alina Bednarek**

aus Bromberg

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. dent. Chr. Knabe  
2. Prof. Dr. Dr. A. Neff  
3. Prof. Dr. Dr. K.-D. Wolff

Datum der Promotion: 04.02.2011

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Stand der Forschung.....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Implantologie.....	1
1.1.2 Augmentationsmaterialien.....	3
1.1.2.1 Calciumphosphatkeramiken.....	6
1.1.3 Charakterisierung der Zell- und Gewebsantwort.....	9
<b>1.2 Fragestellungen der vorliegenden Arbeit.....</b>	<b>10</b>
<b>2. MATERIAL UND METHODE.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 Patientenauswahl.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2 Bildgebende diagnostische Verfahren.....</b>	<b>15</b>
<b>2.3 Sinusbodenaugmentation.....</b>	<b>15</b>
<b>2.4 Verwendete Knochenersatzmaterialien.....</b>	<b>17</b>
2.4.1 Cerasorb <sup>®</sup> M.....	17
2.4.2 Ceros <sup>®</sup> .....	19
<b>2.5 Biopsiegewinnung und Implantatinsertion.....</b>	<b>21</b>
<b>2.6 Histologie, Histomorphometrie und Immunhistologie.....</b>	<b>22</b>
2.6.1 Histologie.....	22
2.6.1.1 Aufbereitung der Proben.....	22
2.6.1.2 Immunhistochemische Färbung.....	23
2.6.2 Histomorphometrie.....	25

---

2.6.3	Immunhistologie.....	27
<b>2.7</b>	<b>Statistische Analyse.....</b>	<b>29</b>
<b>3.</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>30</b>
<b>3.1</b>	<b>Klinische Resultate.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2</b>	<b>Histologische Ergebnisse.....</b>	<b>31</b>
3.2.1	Histologie.....	31
3.2.2	Histomorphometrie.....	37
3.2.2.1	Histomorphometrie bei Cerasorb <sup>®</sup> M.....	38
3.2.2.2	Histomorphometrie bei Ceros <sup>®</sup> .....	39
3.2.2.3	Histomorphometrischer Vergleich der verwendeten β-TCP-Keramiken.....	40
3.2.3	Immunhistologie.....	43
3.2.3.1	Immunhistologie bei Cerasorb <sup>®</sup> M.....	49
3.2.3.2	Immunhistologie bei Ceros <sup>®</sup> .....	52
3.2.3.3	Immunhistologischer Vergleich der verwendeten β-TCP-Keramiken.....	55
<b>4.</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>57</b>
<b>4.1</b>	<b>Studiengestaltung.....</b>	<b>58</b>
<b>4.2</b>	<b>Klinische Ergebnisse.....</b>	<b>59</b>
<b>4.3</b>	<b>Diskussion der histologischen Ergebnisse.....</b>	<b>60</b>
<b>4.4</b>	<b>Diskussion der histomorphometrischen Daten.....</b>	<b>61</b>
<b>4.5</b>	<b>Diskussion der immunhistologischen Daten.....</b>	<b>64</b>

---

<b>4.6</b>	<b>Unterschiede bei der Verwendung von Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup> .....</b>	<b>66</b>
<b>4.7</b>	<b>Folgerungen für <math>\beta</math>-TCP als Knochenersatzmaterial.....</b>	<b>69</b>
<b>5.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>72</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>75</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

AEC	3-Amino-9-Ethylcarbazol
ALP	alkalische Phosphatase
$\alpha$ -TCP	$\alpha$ -Tricalciumphosphat
$\beta$ -TCP	$\beta$ -Tricalciumphosphat
BSA	bovines Serumalbumin
BPO	Benzoylperoxid
BSP	bone sialo protein
BMA	Butylmetacrylat
BMP	bone morphogenetic protein
Col 1	Kollagen 1
ECM	extrazelluläre Matrix
GBR	guided bone regeneration / gesteuerte Knochenregeneration
HA	Hydroxylapatit
mRNA	messenger ribonucleic acid
MMA	Methylmethacrylat
OC	Osteocalcin
ON	Osteonectin
OP	Osteopontin
PEG	Polyethylenglykol
PMMA	Polymethylmethacrylat
REM	Rasterelektronenmikroskopie
TCP	Tricalciumphosphat
TGF- $\beta$	transforming growth factor $\beta$

## Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Cerasorb<sup>®</sup> M-Granulate
- Abbildung 2: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Cerasorb<sup>®</sup> M-Oberfläche
- Abbildung 3: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Ceros<sup>®</sup>-Partikels
- Abbildung 4: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Ceros<sup>®</sup>-Oberfläche
- Abbildung 5: Entnommener Biopsiezylinder
- Abbildung 6: Histologisches Bild einer Biopsie nach Sinusbodenaugmentation, projiziert auf den Querschnitt einer posterioren Maxilla
- Abbildung 7: Querschnitt durch die Knochenoberfläche
- Abbildung 8: Pluripotente Mesenchymzellen, eingebettet in eine Matrix aus retikulären Fasern des Knochenmarks
- Abbildung 9: Deutlich abgerundeter Cerasorb<sup>®</sup> M-Partikel mit interner Knochenbildung in den Mikroporen
- Abbildung 10: Morphologie der Ceros<sup>®</sup>-Partikel im histologischen Bild
- Abbildung 11: Gut osseointegrierter kleiner Cerasorb<sup>®</sup> M-Partikel
- Abbildung 12: Knochenanlagerung und direkter Zellkontakt am Knochen-Implantat-Interface am Beispiel von Ceros<sup>®</sup>
- Abbildung 13: Übersicht der apikalen Region einer Cerasorb<sup>®</sup> M-Biopsie mit unregelmäßigen Knochentrabekeln und noch nicht degradierten Partikeln
- Abbildung 14: Apikale Region einer Ceros<sup>®</sup>-Biopsie
- Abbildung 15: Beginnende Knochenneubildung an einem Ceros<sup>®</sup>-Partikel in der apikalen Region
- Abbildung 16: Prozentuale Zusammensetzung in der apikalen und zentralen Region nach Augmentation mit Cerasorb<sup>®</sup> M
- Abbildung 17: Zusammensetzung der apikalen und zentralen Region nach Augmentation mit Ceros<sup>®</sup>
- Abbildung 18: Übersicht über die prozentualen Zusammensetzungen der apikalen Region bei Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup>
- Abbildung 19: Übersicht über die prozentualen Zusammensetzungen der zentralen Region bei Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup>
- Abbildung 20: Negativkontrolle

- Abbildung 21a: Häufigkeiten der Expression von Col 1 in der apikalen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisierung sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial
- Abbildung 21b: Häufigkeiten der Expression von Col 1 in der zentralen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisierung sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial
- Abbildung 22a: Häufigkeiten der Expression von ALP in der apikalen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisierung sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial
- Abbildung 22b: Häufigkeiten der Expression von ALP in der zentralen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisierung sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial
- Abbildung 23a: Häufigkeiten der Expression von OC in der apikalen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisierung sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial
- Abbildung 23b: Häufigkeiten der Expression von OC in der zentralen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisierung sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial
- Abbildung 24a: Häufigkeiten der Expression von BSP in der apikalen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisierung sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial
- Abbildung 24b: Häufigkeiten der Expression von BSP in der zentralen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisierung sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial
- Abbildung 25: Immunhistochemische Färbung von OC einer Cerasorb<sup>®</sup> M-Biopsie
- Abbildung 26: BSP-Expression in der zentralen Region einer Cerasorb<sup>®</sup> M-Biopsie
- Abbildung 27: Moderate bis starke Expression von Col 1 in der apikalen Region bei mesenchymalen Zellen
- Abbildung 28: Starke positive Färbung der fibrösen Matrix auf BSP in der zentralen Region

## Tabellenverzeichnis

- Tabelle I: Patientenverteilung in der Cerasorb<sup>®</sup> M-Gruppe
- Tabelle II: Patientenverteilung in der Ceros<sup>®</sup>-Gruppe
- Tabelle III: Verwendete primäre Antikörper
- Tabelle IV: Verwendeter sekundärer Antikörper
- Tabelle V: Ordinale Bewertungsskala der immunhistochemischen Färbung
- Tabelle VI: Prozentuale Zusammensetzung der Cerasorb<sup>®</sup> M-Biopsien
- Tabelle VII: Prozentuale Zusammensetzung der Ceros<sup>®</sup>-Biopsien
- Tabelle VIII: Mediane der Markerexpression in der apikalen Region
- Tabelle IX: Mediane der Markerexpression in der zentralen Region

# 1. Einleitung

## 1.1 Stand der Forschung

Die maxilläre Implantologie ist als wissenschaftlich anerkannte Therapie ein integraler Bestandteil der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (Richter, 2005). Bei schwierigen anatomischen Situationen stellen verschiedene präimplantologisch-chirurgische Verfahren zur Vermehrung des Hartgewebsangebotes einen wichtigen Bestandteil der modernen Implantologie dar (Watzek und Mailath-Pokorny, 2000).

### 1.1.1 Implantologie

Die Versorgung von Patienten mit implantatgetragenen Zahnersatz hat in den letzten Jahren einen hohen Stellenwert in der zahnärztlichen Prothetik erlangt (von Arx *et al.*, 2001). Neuesten Berechnungen der Deutschen Gesellschaft für Implantologie zufolge stieg die Anzahl der inserierten Implantate in Deutschland im Jahr 2008 schätzungsweise auf 950.000 Implantate. Verglichen mit den Zahlen für das Jahr 2006 ergibt dies einen Zuwachs um 58 % in zwei Jahren (Zahnimplantologie auf dem Vormarsch: Qualitätssicherung ist wichtig, 2008).

Der Wunsch des Patienten nach einem möglichst wenig störenden, ästhetisch und funktionell anspruchsvollen Zahnersatz (Kaptein *et al.*, 1998) hat die Implantation zu einer gängigen Behandlungsmaßnahme im zahnlosen und teilbezahnten Gebiss werden lassen (Belser *et al.*, 2000). Limitierend für die Implantatinsertion sind oftmals ein unzureichendes Knochenangebot als Folge natürlicher Resorptionsprozesse nach Zahnextraktion (Winkler, 2002), aber auch Knochendefekte, die durch parodontale und apikale Entzündungsprozesse verursacht werden (Buser *et al.*, 1999). Für eine erfolgreiche Implantation ist aber eine ausreichende Primärstabilität Voraussetzung (Lindenmüller und Lambrecht, 2006). So bedarf es zur Insertion von maxillären Implantaten einer Mindestknochenhöhe von 6 – 8 mm im Unterkiefer bzw. 10 mm im Oberkiefer und einer Alveolarkammweite von mindestens 5 mm (van den Bergh *et al.*, 2000; Schultze-Mosgau, 2007). Um eine prognostisch günstige Implantatinsertion trotz unzureichenden Knochenangebots zu ermöglichen, müssen regenerative Maßnahmen angewandt werden (Buser *et al.*, 1999). Dabei hat das Konzept der gesteuerten Knochenregeneration „guided bone regeneration“ (GBR) eine weit verbreitete Anwendung in der zahnärztlichen Implantologie gefunden (Buser *et al.*, 1993; Buser *et al.*, 1995; Buser *et al.*, 1996; Buser *et al.*, 2002).

Augmentative Maßnahmen und Regenerationen von knöchernen Defekten stellen als klinische Anwendungsbereiche der GBR häufig durchgeführte Maßnahmen vor der Implantatinserterion dar (Ganz und Valen, 2002; Winkler, 2002; Eisig *et al.*, 2003). Ferner resultiert aus der hohen Erfolgsrate von Implantaten in augmentierten Kieferkambereichen (Buser *et al.*, 2002) heute die Forderung, die Implantatposition der zahnärztlich-prothetischen Planung der Suprakonstruktion anzupassen, sog. „prosthodontically driven implant placement“ (Garber und Belser, 1995; Belser *et al.*, 2000; Winkler, 2002). Ist eine Implantatinserterion an einer für die Prothetik sinnvollen Stelle durch das mangelnde Knochenangebot limitiert, so sind augmentative Maßnahmen angezeigt (Winkler, 2002). Eine Implantation an einer für die prothetische Versorgung ungünstigen Stelle wird im Gegensatz zu den Anfängen der Implantologie als nicht akzeptabel angesehen (Brugnam und Caleffi, 2005).

Besonders in der posterioren Maxilla wird durch die Nähe zur Kieferhöhle die Insertion von enossalen Implantaten häufig durch ein unzureichendes Knochenangebot eingeschränkt (Lindenmuller und Lambrecht, 2006). Neben den physiologischen Resorptionsvorgängen nach Extraktion wird das Knochenvolumen hier durch die fortschreitende Pneumatisation der Kieferhöhle limitiert (Tatum, 1986; van den Bergh *et al.*, 2000; Stricker *et al.*, 2003; Brugnam und Caleffi, 2005). Dies kann in der posterioren Maxilla, in Verbindung mit der weitmaschigen Spongiosa und der relativ dünnen Kompakta, Knochendichte D3/D4 nach Misch und Judy (Misch und Judy, 1987), zu einer insuffizienten Primärstabilität der Implantate führen (Davies, 2003). Zudem stellt der zentrifugale Knochenabbau in der zahnlosen Maxilla ein funktionelles und ästhetisches Problem bei der Implantation dar. Richtet sich die Insertion der Implantate nach dem Restknochenangebot, so resultiert daraus oftmals ein ungünstiges Kronen-Implantat-Verhältnis, eine nur schwer zu erreichende optimale Okklusion und ein zu breiter bukkaler Korridor. Diese funktionellen und ästhetischen Schwierigkeiten können nur vermieden werden, wenn die Implantatposition der Stellung der natürlichen Zähne entspricht (Winkler, 2002).

Der hohe Anteil spongiösen Knochens in der posterioren Maxilla bietet durch seine große Oberfläche, die gute Vaskularisation und die großen Knochenmarksräume jedoch auch optimale Bedingungen für eine schnelle Implantateinheilung (Yaszemski *et al.*, 1996). Das Knochenmark beinhaltet neben den Zellen des hämatopoetischen Systems ein Reservoir an pluripotenten Mesenchymzellen, die zu Zellen der osteoblastischen Zelllinie proliferieren können (Krebsbach *et al.*, 1999; Brugnam und Caleffi, 2005). Diese Proliferation zu Osteoprogenitorzellen beschleunigt wiederum die Osteogenese (Davies, 2003).

Die Sinusbodenelevation stellt ein inzwischen etabliertes Verfahren der GBR dar (Stricker *et al.*, 2003). Bei dem von Tatum beschriebenen Verfahren wird über ein laterales Fenster in der Kieferhöhlenwand die Sinusschleimhaut angehoben und der so geschaffene Hohlraum augmentiert (Tatum, 1986). Die Erfolgsrate der Implantation nach Sinusbodenelevation schwankt nach Angaben in der Literatur zwischen 75 % und 100 %, was durch die Heterogenität der Studien bedingt ist (Del Fabbro *et al.*, 2004; Graziani *et al.*, 2004; Yamamichi *et al.*, 2008). Einfluss auf den Erfolg einer Implantation nehmen neben der Verwendung verschiedener Knochenersatzmaterialien die Implantatsysteme, die Implantationsmodi, die Restknochenhöhe, aber auch die prothetische Versorgung und bestimmte Patientencharakteristika (Jensen *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2004). Der Implantationsmodus (ein- oder zweizeitig) wird dabei von der Restknochenhöhe, der Festigkeit des Knochens und der daraus erzielbaren Primärstabilität des Implantates bestimmt (Lindenmüller und Lambrecht, 2006). Bei der Wahl des Augmentationsmaterials stehen autogene Knochentransplantate verschiedener Spenderareale, Knochenersatzmaterialien oder Gemische beider zur Verfügung (Brugnami und Caleffi, 2005).

### **1.1.2 Augmentationsmaterialien**

Lange Zeit galt der autogene Knochen als Goldstandard bei Augmentationen (Yaszemski *et al.*, 1996; Buser *et al.*, 1998; von Arx *et al.*, 2001; Artzi *et al.*, 2005; Zijdeveld *et al.*, 2005). Jedoch resultieren aus der limitierten intraoral zu gewinnenden Knochenmenge (Kalk *et al.*, 1996; Wheeler, 1997; Kaptein *et al.*, 1998; Horch und Pautke, 2006) und dem zusätzlich benötigten operativen Eingriff bei extraoraler Transplantatgewinnung (Kenley *et al.*, 1993) Probleme bei der Verwendung von autogenen Knochentransplantaten. In den Fokus der Betrachtung rücken immer mehr die Spenderregionmorbidity und das Risiko persistierender Schäden am Entnahmeort (Horch und Pautke, 2006). Als Entnahmeorte zur Transplantatgewinnung stehen der anteriore und posteriore Beckenkamm, der Unterkiefer (Kinnregion oder retromolar), der Tuber der Maxilla, die Tibia, die Rippen, die Schädelkalotte und andere Regionen zur Verfügung (Kalk *et al.*, 1996). Die postoperativen Komplikationen nach der Entnahme aus der häufig verwendeten Crista iliaca anterior umfassen neben den Wundschmerzen (Johansson *et al.*, 1999a) auch Hämatome, Serome (Kaptein *et al.*, 1998), chronische Schmerzen und tiefe Beinvenenthrombosen, die durch die Immobilisation bedingt sind (Kalk *et al.*, 1996).

Die Verwendung von Knochenersatzmaterialien vereinfacht das Verfahren in mehrfacher Hinsicht (Buser *et al.*, 1999; von Arx *et al.*, 2001). Aufgrund der fehlenden Operation an der Entnahmestelle wird die Operationszeit deutlich verkürzt (Bucholz *et al.*, 1989) und die Kosten

sinken (Kenley *et al.*, 1993; Wheeler, 1997; Horch und Pautke, 2006). Der Eingriff ist unter Lokalanästhesie durchführbar, was zu einer geringeren Belastung für den Patienten führt. Des Weiteren entfallen die Risiken postoperativer Komplikationen auf Seiten der Spenderregion (Wheeler, 1997). Ist eine Augmentation mit autogenem Knochen dennoch erwünscht, so kann der Zusatz von Knochenersatzmaterialien die Menge an benötigtem autogenem Knochen reduzieren, wodurch die geringen Mengen gegebenenfalls intraoral entnommen werden können (Brugnamì und Caleffi, 2005; Jensen *et al.*, 2006).

Für Knochenersatz bzw. -aufbau steht neben der Verwendung von autogenem Knochen eine Vielzahl biologischer oder synthetisch gewonnener Knochenersatzmaterialien zur Verfügung. Biologische Knochentransplantate werden gemäß ihrer Herkunft in autogene, allogene und xenogene Transplantate eingeteilt. Das autogene Transplantat entstammt dem eigenen Körper, d. h. Spender und Empfänger sind ein und dasselbe Individuum. Das allogene Transplantat entstammt einem anderen Individuum der gleichen und das xenogene Transplantat einer anderen Spezies. Alloplastische Materialien sind keine Transplantate sondern synthetisch hergestellte Implantate (Schlegel und Neukam, 2002).

Als autogenes Transplantat werden, wie bereits erwähnt, Knochen verschiedener Spenderareale verwendet. Allogene Knochenersatzmaterialien werden in Form von demineralisierter Knochenmatrix angeboten. Xenogene Transplantate bovinen Ursprungs, wie z. B. BioOss<sup>®</sup> (Geistlich Biomaterials, Baden-Baden, Deutschland), finden eine breite klinische Anwendung. Auch aus Algen gewonnene Hydroxylapatit-Präparate wie Frios<sup>®</sup> Algipore (Dentsply Friadent, Mannheim, Deutschland) werden als Augmentate verwendet. Aufgrund der potentiellen Infektionsübertragung und der möglichen immunologischen Reaktion bei allogenen aber auch xenogenen Materialien (Kenley *et al.*, 1993; Horch *et al.*, 2006) stehen besonders die synthetisch hergestellten Biomaterialien im Fokus der weiteren Entwicklung (von Arx *et al.*, 2001; Orsini *et al.*, 2004).

Ziel der Verwendung von Materialien zur Unterstützung der Knochenregeneration ist die *Restitutio ad integrum* (Peters und Reif, 2004; Horch und Pautke, 2006; Palm *et al.*, 2006). Daher liegt der Vergleich der Knochenersatzmaterialien mit dem autogenen Knochen nahe (Kenley *et al.*, 1993). Seine Wirkungsweise bei Transplantation beruht auf drei Mechanismen: der Osteokonduktion, der Osteoinduktion und der Osteogenese (den Boer *et al.*, 2003; Tadic und Epple, 2004).

Das eingebrachte Transplantat dient bei der Knochenneubildung als Leitstruktur für einwachsende Gefäße und einwandernde Zellen (Zerbo *et al.*, 2001). Die Eigenschaft des

Augmentats, die Migration von Zellen und damit auch eine Vaskularisation zu ermöglichen, wird als Osteokonduktivität bezeichnet und stellt den wichtigsten Aspekt der periimplantären Heilung dar (Davies, 2003). Als Osteoiduktion wird die Fähigkeit bezeichnet, pluripotente Mesenchymzellen zu Ostoblasten zu differenzieren (Zerbo *et al.*, 2001). Dieser Effekt basiert auf der Wirkung der bone morphogenetic proteins (BMPs) (Groeneveld *et al.*, 1999; Xiao *et al.*, 2007). Davon abzugrenzen ist die Osteogenese: die Fähigkeit der Knochenneubildung durch im Transplantat enthaltene Osteoblasten (Kenley *et al.*, 1993).

Während vielen Knochenersatzmaterialien in Studien eine gute Osteokonduktivität nachgewiesen wurde (Ohsawa *et al.*, 2000; Steffen *et al.*, 2001; Artzi *et al.*, 2004), wird ihr osteoinduktiver Einfluss strittig diskutiert. Nakahara und Kollegen fanden 1992 in einer Studie heraus, dass Calciumphosphatkeramiken pluripotente Mesenchymzellen stimulieren können (Nakahara *et al.*, 1992), und auch Ohgushi konnte eine *de novo* Knochenbildung mit Calciumphosphatkeramiken und Mesenchymzellen im subcutanen Gewebe nachweisen (Ohgushi *et al.*, 1990). Weitere Autoren sprechen in diesem Zusammenhang von bioaktivem Potential (Eggli *et al.*, 1988; Neo *et al.*, 1996) und sehen einen Anhaltspunkt dafür unter anderem in der internen Knocheninselbildung in Knochenersatzpartikeln (Schepers *et al.*, 1991; Ducheyne und Qiu, 1999). Dabei wird der Begriff „Bioaktivität“ als positiver Einfluss auf die Zelladhäsion, Proliferation und Funktion der Osteoblasten durch Proteinadsorption definiert (El-Ghannam *et al.*, 1997), mit der Folge einer knöchernen Integration der Partikel (Neo *et al.*, 1993; Yamada *et al.*, 1997b).

Demgegenüber stehen Studien, die den Knochenersatzmaterialien eine rein osteokonduktive Eigenschaft und nur in Verbindung mit BMPs, transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) oder Knochenmark eine induktive Potenz nachweisen können (Neo *et al.*, 1996; Neo *et al.*, 1998a; den Boer *et al.*, 2003; Wiltfang *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2007). Besonders Zytokine der TGF- $\beta$ -Familie wirken chemotaktisch auf Präosteoblasten und Fibroblasten und bewirken bei simultaner Anwendung mit osteokonduktiven Materialien eine schneller voranschreitende Knochenneubildung (Wiltfang *et al.*, 2003).

Wie bereits erwähnt, soll das Knochenersatzmaterial als Leitstruktur für die Knochenneubildung fungieren, jedoch auch vollständig durch Knochen substituiert werden (Hollinger *et al.*, 1996; Yaszemski *et al.*, 1996; Artzi *et al.*, 2004; Zijdeveld *et al.*, 2005). Dies ist nur möglich, wenn das Knochenersatzmaterial simultan zur Knochenneubildung resorbiert wird. Das Resorptionsverhalten der Knochenersatzmaterialien ist aufgrund dessen von besonderem

Interesse. Während viele Studien für  $\beta$ -Tricalciumphosphat ( $\beta$ -TCP) eine vollständige Resorbierbarkeit nachweisen (Artzi *et al.*, 2004; Jensen *et al.*, 2007), sind die Resultate für Hydroxylapatit (HA) und xenogene Materialien nicht eindeutig. Histomorphometrische Analysen belegen eine deutlich größere Menge an verbleibendem Knochenersatzmaterial für HA im direkten Vergleich zu  $\beta$ -TCP, wobei die Möglichkeit einer vollständigen Resorption in Frage gestellt wird (Buser *et al.*, 1998; Lu *et al.*, 2002; Jensen *et al.*, 2006; Jensen *et al.*, 2007). Auf ähnliche Ergebnisse stößt man beim Vergleich von bovinen Knochenersatzmaterialien mit  $\beta$ -TCP (Artzi *et al.*, 2004; Jensen *et al.*, 2006).

### 1.1.2.1 Calciumphosphatkeramiken

Calciumphosphat ist ein wichtiges Biomineral des Menschen und in Form verschiedener Phasen im menschlichen Körper präsent. Viele Biomaterialien mit hoher Biokompatibilität beruhen daher auf diesem Material (Yaszemski *et al.*, 1996; Dorozhkin und Epple, 2002). Synthetische Calciumphosphatkeramiken sind mit ihrer exzellenten Biokompatibilität eine gute Alternative zu autogenem Knochen, xenogenen und allogenen Materialien. Neben HA-Keramiken und  $\beta$ -TCP-Präparaten kommen biphasische Calciumphosphate (eine Mischung aus HA und  $\beta$ -TCP) zur Anwendung (Dorozhkin und Epple, 2002; Jensen *et al.*, 2007).

In den vergangenen Jahren sind  $\beta$ -TCP-Präparate als Augmentationsmaterial propagiert und klinisch eingesetzt worden (Merten *et al.*, 2001; Schliephake und Kage, 2001; Zerbo *et al.*, 2001; Wiltfang *et al.*, 2003; Zerbo *et al.*, 2004; Szabo *et al.*, 2005; Zerbo *et al.*, 2005). Sowohl bei Augmentationen im Unterkiefer als auch bei der Sinusbodenelevation finden  $\beta$ -TCP-Präparate Anwendung in der klinischen Versorgung.

Ziel der augmentativen Maßnahmen ist das Inserieren von Implantaten, die nach ihrer Osseointegration funktionell belastbar sind. Dies ist nur erreichbar, wenn einerseits genügend Knochen vorhanden ist, um ein entsprechend langes Implantat zu setzen und andererseits die Qualität des Knochens eine spätere Belastbarkeit zulässt (Tatum, 1986; Wheeler, 1997; Neukam und Esser, 2000; Suba *et al.*, 2006). Die Regeneration an der augmentierten Stelle muss besonders bei zweizeitigem Vorgehen innerhalb eines akzeptablen Zeitraumes erfolgen, damit eine Primärstabilität des Implantates gegeben ist. Folglich ist eine kurze Degradationszeit der Knochenersatzpartikel notwendig (Yaszemski *et al.*, 1996). Idealerweise sollten keine Restpartikel bei Implantation mehr vorhanden sein (von Arx *et al.*, 2001). Die Untersuchungen der Biodegradation von Calciumphosphatkeramiken führen zu der Annahme, dass es sich dabei um eine Kombination mehrerer Prozesse handelt. Einerseits findet der Abbau durch

physikalisch-chemische Lösungsprozesse und andererseits zellvermittelt statt (Yamada *et al.*, 1997a). Beide Formen der Degradation können sich gegenseitig ergänzen und beeinflussen (Lu *et al.*, 2002). Durch Lösungsprozesse der Calciumphosphatgranulate findet ein Zerfall der Materialien in kleinere Partikel (Desintegration) statt, die von Osteoklasten und Makrophagen phagozytiert werden (Eggli *et al.*, 1988; Yamada *et al.*, 1997a; Peters und Reif, 2004; Jensen *et al.*, 2006; Jensen *et al.*, 2007). Dabei kann die Lösung der Calciumphosphate durch Austausch von Ionen mit der interstitiellen Flüssigkeit erfolgen, aber auch durch eine Osteoklasten bedingte Lyse (Yamada *et al.*, 1997a; Lu *et al.*, 2002). Die daraus resultierende erhöhte  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration in der Nachbarschaft der Implantatmaterialoberfläche kann wiederum die Osteoklastenaktivität hemmen und eine verminderte Adhäsion dieser Zellen bewirken. Folglich findet eine ständige Wechselwirkung zwischen dem Lösungsverhalten der Granulate, dem Umgebungsmilieu und den phagozytierenden Zellen statt (Yamada *et al.*, 1997b).

Obgleich eine schnelle Degradation der Partikel wünschenswert erscheint (Yaszemski *et al.*, 1996), kann eine zu schnelle Resorption der Partikel die Osteokonduktivität negativ beeinflussen (von Arx *et al.*, 2001; Orsini *et al.*, 2004). Wird das Knochersatzmaterial schneller resorbiert als die Knochenneubildung voranschreitet, kann dieses nicht als Leitschiene fungieren, und der Gewinn an Knochen ist gemindert.

Tadic und Epple untersuchten verschiedene Calciumphosphatkeramiken und stellten Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung, aber auch in der Morphologie heraus und folgerten daraus auf die Degradation und die mechanische Festigkeit (Tadic und Epple, 2004). So können  $\beta$ -TCP-Präparate Spuren von  $\alpha$ -TCP und HA enthalten, was in einem inhomogenen Lösungsverhalten resultiert (Peters und Reif, 2004). Bei  $\alpha$ -TCP handelt es sich um die instabile Phase des TCP, die bei hohen Temperaturen entsteht. Im Gegensatz dazu ist das HA aufgrund seines höheren Calciumgehaltes im Vergleich zu TCP schlechter löslich (Bohner, 2000; Dorozhkin und Epple, 2002). Ducheyne konnte in mehreren Studien belegen, dass eine höhere Löslichkeit der Keramik die Knochenneubildung fördert (Ducheyne und Cuckler, 1992; Ducheyne und Qiu, 1999). Vergleichende Studien von HA und  $\beta$ -TCP bestätigen die langsamere Resorption von HA und die geringere Knochenneubildung (Eggli *et al.*, 1988; Hollinger *et al.*, 1996; Yaszemski *et al.*, 1996). Aber auch Knochenersatzmaterialien mit der gleichen chemischen Zusammensetzung können, in Abhängigkeit vom Herstellungsverfahren (Yamada *et al.*, 1997b; Bohner, 2000; Lu *et al.*, 2002; Orsini *et al.*, 2004), sowohl *in vivo* als auch *in vitro* unterschiedlich reagieren (Eggli *et al.*, 1988; Jensen *et al.*, 1996; Jensen *et al.*, 2007). Entscheidend für dieses Verhalten sind verschiedene Anteile der kristallinen Phasen (Bohner, 2000), Unterschiede in der Größe der Kristalle (Bohner, 2000; Bohner und Baumgart, 2004;

Peters und Reif, 2004) und ihrer Anordnung (Yamada *et al.*, 1997a), der Mikro- und Makroporosität (Ohgushi *et al.*, 1990; Bohner und Baumgart, 2004; Peters und Reif, 2004; Knabe *et al.*, 2008c) sowie der Oberflächenrauigkeit (Eggli *et al.*, 1988). Die kristalline Phase bestimmt die Protein- und Zelladhäsion sowie das Lösungsverhalten der Calciumphosphate (Lu *et al.*, 2002; Berube *et al.*, 2005), wobei die Größe der Kristalle von der Sintertemperatur abhängig ist (Ong *et al.*, 1998; Bohner, 2001). Bei hohen Temperaturen entstehen große Kristalle. Die Form, Größe und der Abstand der Kristalle zueinander bestimmen die Mikroporosität (Porengröße < 10 µm). Die Mikroporen sind entscheidend für die Penetration und Adhäsion von Makromolekülen sowie interstitieller Flüssigkeit (Rohanizadeh *et al.*, 1998). Makroporen mit ihrer Größe von > 100 µm bilden eine Leitschiene für einwandernde osteogene Zellen und einwachsende Blutgefäße. Bei interkonnektierenden Makroporen entsteht ein Gitternetzwerk für neu gebildeten Knochen (Eggli *et al.*, 1988). Mikro- und Makroporen bestimmen gemeinsam die Porosität des Knochenersatzmaterials. Synthetische Knochenersatzmaterialien, die klinisch angewendet werden, haben eine maximale Porosität von 65 %, da höhere Werte die Festigkeit des Materials negativ beeinflussen würden (Lu *et al.*, 2002).

Vergleichende Studien von TCP-Präparaten mit autogenem Knochen (Buser *et al.*, 1998; Zerbo *et al.*, 2004; Jensen *et al.*, 2006; Jensen *et al.*, 2007), bovinen Materialien (Artzi *et al.*, 2004; Artzi *et al.*, 2005; Jensen *et al.*, 2006) und Hydroxylapatiten (Buser *et al.*, 1998; Jensen *et al.*, 2007) bestätigen  $\beta$ -TCP eine gute klinische Anwendbarkeit. In einer vergleichenden histomorphometrischen tierexperimentellen Studie lieferte  $\beta$ -TCP die vielversprechendsten Ergebnisse unter den nicht autogenen Knochenersatzmaterialien in Bezug auf die Knochenneubildung und die Degradation (Buser *et al.*, 1998). Jensens Ergebnisse einer ebenfalls histomorphometrischen Untersuchung bestätigten, dass  $\beta$ -TCP nach einer anfänglich langsameren Regeneration eine schnelle und vollständige Defektheilung, dem autogenem Knochen entsprechend, hat (Jensen *et al.*, 2007). Die Resultate in Hinblick auf die verbleibende  $\beta$ -TCP-Menge und das neu gebildete Knochenvolumen variieren stark in Abhängigkeit vom Versuchsaufbau. Biopsien, die 9,5 Monate nach Augmentation mit  $\beta$ -TCP entnommenen wurden, zeigten eine inkomplette Regeneration mit 34 % neu gebildeten Knochen bei 29 % Restpartikelanteil (Zerbo *et al.*, 2001). Ebenfalls nach Sinusbodenaugmentation entnommene Biopsien bestanden sechs Monate nach Elevation aus 8 – 26 % Restaugmentat (Szabo *et al.*, 2005).

### 1.1.3 Charakterisierung der Zell- und Gewebsantwort

Idealerweise soll ein Knochenersatzmaterial schnell resorbiert werden, gleichzeitig jedoch einen stimulierenden Einfluss auf die Osteogenese haben und Knochen anlagern (Wheeler, 1997; Zijderveld *et al.*, 2005). Der positive Einfluss auf die Knochenneubildung basiert auf der Fähigkeit, die Differenzierung der Osteoprogenitorzellen zu Osteoblasten an der Oberfläche der Partikel zu stimulieren (Ohgushi *et al.*, 1990; Ducheyne und Qiu, 1999; Davies, 2003). Dabei basiert das Verständnis über die Prozesse, die zur Gewebsneubildung beitragen, auf der Charakterisierung der Zelladhäsions- und intrazellulären Signaltransduktionsmechanismen, sowie dem Wissen über den Ablauf der Zelldifferenzierungsvorgänge und die extrazellulären Matrix(ECM)-Bildung (Ducheyne und Qiu, 1999). *In-vitro*-Studien belegen, dass eine Reihe von Reaktionen an der Materialoberfläche stattfinden. Dazu gehört das In-Lösung-Gehen, der Ionenaustausch sowie die Adsorption und Präzipitation von biologischen Proteinen (Ducheyne und Cuckler, 1992; Neo *et al.*, 1993; El-Ghannam *et al.*, 1997).

Bei der Zelldifferenzierung osteogener Zellen werden drei grundlegende Phasen unterschieden:

1. die Phase der Zellproliferation,
2. die Phase der Zellreifung und
3. die Phase der Matrixmineralisation (Owen *et al.*, 1990; Aubin, 2000).

Während ihrer Differenzierung synthetisieren und sezernieren Osteoblasten Kollagen Typ 1 (Col 1), alkalische Phosphatase (ALP) sowie weitere nicht kollagene Knochenmatrixproteine wie Osteopontin (OP), Osteocalcin (OC), bone sialo protein (BSP) und Osteonectin (ON) (Owen *et al.*, 1990; Aubin, 1998; Franceschi, 1999; Aubin, 2000; Sodek und Cheifetz, 2000). *In-vitro*-Studien haben gezeigt, dass die Expression der unterschiedlichen Proteine bestimmten Phasen der Knochenneubildung zugeordnet werden kann. In der Initialphase der Proliferation und Biosynthese der ECM wird die mRNA für Col 1 verstärkt exprimiert, die mRNA für ALP hingegen wird während der postproliferativen Phase der ECM-Reifung vermehrt gebildet. Die Expression von OP, OC und BSP erfolgt während der dritten Phase, der ECM-Mineralisation (Aubin, 1998; Sodek und Cheifetz, 2000). Diese Knochenmatrixproteine haben sich als wertvolle Marker der Osteogenese erwiesen (Sodek und Cheifetz, 2000) und dienen der Charakterisierung der Zell- und Gewebsreifung.

Unter Verwendung osteogener Knochenzellkulturen ist es möglich, Implantat- und Knochenersatzmaterialien *in vitro* zu testen (Davies, 1996). Besonders wertvoll ist dabei ein Untersuchungsverfahren, das den Einfluss von Implantat- und Knochenersatzwerkstoffen auf die osteoblastische Zelldifferenzierung untersucht (Zreiqat *et al.*, 1996; Zreiqat und Howlett, 1999;

Knabe *et al.*, 2004; Sun *et al.*, 2006; Knabe *et al.*, 2007b). Bei diesem Verfahren wird die Gen- und Proteinexpression einer Palette von für den osteoblastischen Phänotyp charakteristischen Knochenmatrixproteinen bzw. osteogenen Markern quantitativ zu unterschiedlichen Zeitpunkten in auf Biomaterialien angezüchteten Knochenzellen bestimmt (Zreiqat *et al.*, 1996). Diesem Verfahren liegt die Hypothese zugrunde, dass eine verstärkte Markerexpression *in vitro* mit einer verstärkten Knochenneubildung *in vivo* korreliert. Die Korrelation der Daten *in vivo* mit der Expression *in vitro* kann durch Nachweis der Marker am Knochen-Implantat-Interface erbracht werden. Während die Quantifizierung der Knochenneubildung histomorphometrisch auch bei entkalkten Schnitten bestimmt werden kann, bedarf es zur Charakterisierung der Partikeldegradation und deren Einfluss auf die Knochenneubildung unentkalkter Schnitte (Hantschick und Stosiek, 1998; Knabe *et al.*, 2006). Bis vor einigen Jahren war es nicht möglich, immunhistochemische Färbungen an in Polymethylmethacrylat (PMMA) eingebetteten Sägeschnitten durchzuführen. Einige Autoren haben versucht, dieses Problem zu umgehen, indem sie *in-situ*-Hybridisierungen an entkalkten Schnitten durchführten. Sie verwendeten Sonden gegen Prokollagen I $\alpha$ 1, ON und OC, um die Gewebsantwort auf die Partikel und deren Degradationsprodukte auf molekularer Ebene zu charakterisieren (Neo *et al.*, 1996; Reis *et al.*, 1996; Neo *et al.*, 1998a; Neo *et al.*, 1998b; Ohsawa *et al.*, 2000). Bei diesem Verfahren wird jedoch der Restpartikelanteil während des Entkalkungsprozesses herausgelöst. Erst durch Fortschritte in der Entwicklung neuer Einbettkunststoffe und -verfahren wurde eine immunhistochemische Markierung von Implantatmaterial enthaltenden Schnitten ermöglicht (Gross und Strunz, 1977; Johansson *et al.*, 1999b; Roser *et al.*, 2000). Die neue Einbetttechnik ermöglicht die Charakterisierung der Gewebsantwort am Knochen-Implantat-Interface *in vivo* und leistet einen Beitrag zum Verständnis der Integration von Knochenersatzmaterialien.

## 1.2 Fragestellungen der vorliegenden Arbeit

Die medizinische Forschung beschäftigt sich seit langem mit der Suche nach einem optimalen Knochenersatzmaterial. Der autogene Knochen setzt dabei Maßstäbe, die es zu erreichen gilt (Horch und Pautke, 2006). In vielen *in-vitro*- und *in-vivo*-Studien werden Knochenersatzmaterialien unterschiedlicher Herkunft auf Biokompatibilität, Osteokonduktivität, aber auch auf ihren möglicherweise osteoinduktiven Einfluss getestet. Unter den vielen *in-vivo*-Studien finden sich überwiegend Tierversuche (Suba *et al.*, 2006). Die standardisierte Verfahrensweise setzt dabei gute Rahmenbedingungen mit einem nachvollziehbaren und

reproduzierbaren Versuchsaufbau. Des Weiteren ermöglichen tierexperimentelle Untersuchungen die Entnahme größerer Biopsien und somit eine Betrachtung des umliegenden Gewebes. Die Ergebnisse der Studien liefern jedoch, in Abhängigkeit vom Versuchsaufbau, verschiedene Ergebnisse und sind nur schwer miteinander zu vergleichen (Strietzel, 2004).

In einer tierexperimentellen Studie im Unterkiefer stellten Artzi und Kollegen eine signifikant höhere Knochenneubildung bei  $\beta$ -TCP im Vergleich zu einem bovinen Material fest, während die Ergebnisse bei humanen Biopsien nach Sinusbodenaugmentation dem bovinen Material bessere Regeneration bestätigten (Artzi *et al.*, 2004; Artzi *et al.*, 2005). Ausschlaggebend für diese unterschiedlichen Ergebnisse scheinen die unterschiedliche Spezies (Lu *et al.*, 2002) sowie die Morphologie der Defekte zu sein (von Arx *et al.*, 2001; Jensen *et al.*, 2007). Bei experimentell eingebrachten Defekten im Unterkieferknochen handelt es sich um einen Fünf-Wand-Defekt mit optimalen Bedingungen für die Osteogenese (Buser *et al.*, 1998). Zudem verursacht die Präparation die Freisetzung von Wachstumsfaktoren, die die Knochenheilung mit beeinflussen. Laterale und vertikale Augmentationen stellen dagegen eine Besonderheit dar. Die Knochenneubildung kann hier bei rein osteokonduktiven Materialien nur vom Boden des Defektes her erfolgen.

Folglich erscheint eine Patientenstudie mit einem möglichst klinisch nahen Versuchsaufbau notwendig, um praxisnahe Ergebnisse zu liefern.

Bereits publizierte patientenbezogene Studien befassen sich überwiegend mit der Überlebensrate der Implantate oder der radiologischen Evaluation. Diese können jedoch im Gegensatz zu histologischen Methoden nur wenig Aufschluss über den Einfluss der Ersatzmaterialien auf die Knochenneubildung geben (Zerbo *et al.*, 2001). Histomorphometrische Untersuchungen humaner Biopsien sind selten in der Literatur beschrieben und ihr Vergleich scheint aufgrund der unterschiedlichen Rahmenbedingungen und Auswertungsmethoden eher fragwürdig (Szabo *et al.*, 2001; Tadjedin *et al.*, 2002; Wiltfang *et al.*, 2003; Suba *et al.*, 2006; Knabe *et al.*, 2008c).

Zusätzlich erscheint es wünschenswert, aufgrund der vorliegenden *in-vitro*- (Tadic und Epple, 2004) und *in-vivo*-Ergebnisse (Lu *et al.*, 2002; Knabe *et al.*, 2008c), die Knochenersatzmaterialien auf TCP-Basis weiter zu differenzieren. Tadic und Epple untersuchten verschiedene Calciumphosphatkeramiken und fanden in der Gruppe der TCP-Keramiken Unterschiede hinsichtlich der Zusammensetzung und Morphologie (Tadic und Epple, 2004). Der Einfluss der Porosität auf die Knochenneubildung wurde bereits *in vitro* (Eggli *et al.*, 1988) und *in vivo* (Knabe *et al.*, 2008c) untersucht. Die gewonnenen Daten bestätigen, dass eine hohe Porosität die Degradation der Partikel und die Knochenneubildung fördert (Knabe *et al.*, 2008c).

Mit der Verwendung zweier hochporöser  $\beta$ -TCP-Keramiken sollen weitere wichtige, auf die Knochenneubildung Einfluss nehmende Faktoren erörtert werden. Dabei sollen Unterschiede in der Reaktion *in vivo* herausgearbeitet, aber auch Gemeinsamkeiten aufgezeigt werden. Von besonderem Interesse sind die neu gebildete Knochenmenge und das Degradations- sowie Resorptionsverhalten der Partikel.

Ergänzend zu den histomorphometrischen Daten sollten immunhistochemische Färbungen an ebenfalls von diesen Patienten gewonnenen Schnitten durchgeführt werden. Dabei kann die Expression der osteogenen Marker bestimmten Arealen zugewiesen und auch am Implantat-Knochen-Interface betrachtet werden. Diese Zuordnung ist gerade bei der Sinusbodenaugmentation notwendig, da es sich hierbei, wie bereits erwähnt, um keinen allseits knöchern begrenzten Defekt handelt. Hinzu kommt, dass die Sinusschleimhaut als zusätzliche Defektbegrenzung eine besondere Situation darstellt. Die respiratorische Schleimhaut der Nebenhöhlen besteht aus zilientragendem Flimmerepithel, das im Vergleich zur Nasenschleimhaut sehr niedrig ist und weniger Becherzellen enthält. Die insgesamt recht dünne Lamina propria enthält wenige seromuköse Drüsen und heftet sich direkt an den darunter liegenden Knochen (Welsch, 2005).

Ziele dieser Studie sind es, durch den Vergleich zweier klinisch angewandter hochporöser  $\beta$ -TCP-Keramiken, Aufschluss zu geben über:

- Gemeinsamkeiten und Unterschiede bei der Verwendung dieser  $\beta$ -TCP-Granulate,
- Differenzen im Degradationsverhalten unter Berücksichtigung möglicher Einflussnehmender Faktoren,
- die Knochenneubildung und die Besonderheiten der Knochenregeneration nach vertikaler Augmentation sowie
- die klinische Anwendbarkeit von  $\beta$ -TCP bei der Sinusbodenaugmentation am Beispiel der verwendeten Granulate.

Daraus resultierend soll die Stellung von  $\beta$ -TCP innerhalb der Knochenersatzmaterialien erörtert werden.

## 2. Material und Methode

### 2.1 Patientenauswahl

In die Studie wurden insgesamt 40 Patienten im Alter von 21 bis 75 Jahren einbezogen, die über ein versorgungsbedürftiges Gebiss verfügten. Bei den 17 weiblichen und 23 männlichen Patienten wurde eine implantatgetragene prothetische Versorgung geplant. Als Ausgangssituation bei den ausgewählten Patienten stellte sich eine unterbrochene bzw. verkürzte Zahnreihe im posterioren Oberkiefer dar. Aufgrund des nicht ausreichenden Knochenangebots war bei allen Patienten eine Sinusbodenelevation indiziert, um eine Implantation zu ermöglichen. Die Patientenauswahl erfolgte nach eingehender ärztlicher und zahnärztlicher Untersuchung. Bei bedenklichem Allgemeinzustand (ASA-Klassifikation III und IV), schwerwiegenden Systemerkrankungen sowie jeglichem Drogenmissbrauch (auch Alkoholabusus) erfolgte der Ausschluss aus der Studie. Die Patienten hatten eine gute Mundhygiene und litten an keinerlei akuten Parodontopathien.

Alle Patienten waren zum Zeitpunkt der Operation Nichtraucher. Ehemalige Raucher hatten das Rauchen vor mindestens sechs Monaten aufgegeben.

Die augmentativen Maßnahmen sowie die Implantatinsertion erfolgten in der Praxis eines routinierten Chirurgen, der mindestens 200 Sinusbodenaugmentationen pro Jahr durchführt. In den Jahren 2005 bis 2007 wurden dabei zwei  $\beta$ -TCP-Präparate unterschiedlicher Hersteller verwendet. Die Zugehörigkeit zu der Studie wurde durch die Notwendigkeit einer Sinusbodenaugmentation mit zweizeitiger Implantation und einen unbedenklichen Allgemeinzustand nach den oben bereits erwähnten Kriterien bestimmt.

Um die Gewinnung einer Biopsie zu ermöglichen, musste der aufgebaute Alveolarfortsatz eine Mindestbreite von ca. 6 mm aufweisen und die Trepanationsstelle allseits von ortsständigen Knochen umgeben sein.

Von den 20 Patienten, bei denen mit Cerasorb<sup>®</sup> M augmentiert wurde, waren zehn Frauen und zehn Männer. In der Ceros<sup>®</sup>-Gruppe waren sieben weibliche und 13 männliche Patienten (siehe Tabelle I und II). Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 53,5 Jahren (55 Jahre bei Cerasorb<sup>®</sup> M und 52 bei Ceros<sup>®</sup>).

Nach Aufklärung der Patienten über den Ablauf des operativen Eingriffes, der anzuwendenden Knochenersatzmaterialien und der zu inserierenden Implantate, gaben alle Patienten ihr Einverständnis zum Ablauf der Studie.

Die Studie wurde nach den an der Charité-Universitätsmedizin Berlin geltenden Richtlinien des Protokolls der Ethikkommission durchgeführt.

**Tabelle I: Patientenverteilung in der Cerasorb® M-Gruppe**

Nummer	Patientenname	Geschlecht	Alter	Implantat
1	J.B.	M	66	Cerasorb® M
2	HJ. D.	M	55	Cerasorb® M
3	P.M.	M	65	Cerasorb® M
4	R.M..	W	60	Cerasorb® M
5	W.P.	M	65	Cerasorb® M
6	R.M.	M	60	Cerasorb® M
7	R.Sch.	W	43	Cerasorb® M
8	I.L.	W	75	Cerasorb® M
9	M.B.	W	47	Cerasorb® M
10	M.H.	M	44	Cerasorb® M
11	V.E.	M	46	Cerasorb® M
12	S.R.	W	36	Cerasorb® M
13	S.B.	W	44	Cerasorb® M
14	D.R.	M	48	Cerasorb® M
15	A.Sch.	M	62	Cerasorb® M
16	H.C.-K.	W	57	Cerasorb® M
17	S.B.	W	39	Cerasorb® M
18	E.F.	W	52	Cerasorb® M
19	G.L.	M	71	Cerasorb® M
20	A.L.	W	67	Cerasorb® M

**Tabelle II: Patientenverteilung in der Ceros®-Gruppe**

Nummer	Patientenname	Geschlecht	Alter	Implantat
21	M.K.	W	49	Ceros®
22	U.P.	W	22	Ceros®
23	W.R.	M	63	Ceros®
24	P.S.	M	64	Ceros®
25	E.T.-D.	W	67	Ceros®

26	A.R.	M	30	Ceros <sup>®</sup>
27	M.B.	W	54	Ceros <sup>®</sup>
28	G.R.	M	56	Ceros <sup>®</sup>
29	G.R.	W	65	Ceros <sup>®</sup>
30	H.Sch.	M	63	Ceros <sup>®</sup>
31	I.H.	m	47	Ceros <sup>®</sup>
32	J.H.	m	47	Ceros <sup>®</sup>
33	H.F.	m	68	Ceros <sup>®</sup>
34	H.G.L.	m	59	Ceros <sup>®</sup>
35	B.H.	m	61	Ceros <sup>®</sup>
36	H.J.V.	m	66	Ceros <sup>®</sup>
37	D.N.	m	64	Ceros <sup>®</sup>
38	M.W.	w	54	Ceros <sup>®</sup>
39	M.L.	m	30	Ceros <sup>®</sup>
40	K.N.	w	21	Ceros <sup>®</sup>

## 2.2 Bildgebende diagnostische Verfahren

Präoperativ wurden von allen Patienten Panoramaschichtaufnahmen als Übersichtsaufnahmen angefertigt. Diese wurden unter Umständen für eine genauere Darstellung des Sinusbodens, der Kieferhöhlenanatomie und des Knochenvolumens durch eine digitale Volumentomographie (NewTom<sup>®</sup>, Quantitative Radiology, Verona, Italien) ergänzt.

Eine weitere Panoramaaufnahme folgte sechs Monate postoperativ vor der Implantatinsertion und wurde durch eine Kontrollaufnahme direkt nach Implantation ergänzt.

## 2.3 Sinusbodenaugmentation

Der operative Eingriff erfolgte unter antibiotischer Abschirmung. Die Gabe einer Single-shot-Antibiose erfolgte zwei Stunden präoperativ mit 600 mg Clindamycin (Clindamycin-ratiopharm<sup>®</sup>, ratiopharm, Ulm, Deutschland) und wurde durch eine postoperative Antibiose fortgesetzt.

Die Sinusbodenaugmentation wurde bei allen Patienten unter Lokalanästhesie durchgeführt. Aufgrund der Resthöhe des Alveolarknochens von 1 – 3 mm und der damit nicht zu erwartenden

Primärstabilität der Implantate wurde ein zweizeitiges Vorgehen mit einer Implantatinsertion sechs Monate nach Sinusbodenaugmentation gewählt.

Die Operation wurde entsprechend dem Verfahren nach Tatum durchgeführt. Nach lateralem Zugang und Präparation der Schneiderschen Membran wurde der so geschaffene Hohlraum mit einer Mischung aus  $\beta$ -TCP und autogenen Knochenspänen im Verhältnis 4:1 augmentiert, um ein ausreichend dimensioniertes Knochenlager zu schaffen.

Die Gewinnung der Knochenspäne erfolgte am Tuber maxillae mithilfe einer Hohlmeißelzange. Vor der Applikation in die Kieferhöhle wurde das Knochenersatzmaterial mit venösem Blut vermischt. Der laterale Zugang zum Sinus wurde mit einer Kollagenmembran (BioGide<sup>®</sup>, Geistlich Biomaterials, Wolhusen, Schweiz) abgedeckt und der Mukoperiostlappen darüber dicht vernäht.

20 Patienten erhielten Cerasorb<sup>®</sup> M (Curasan, Kleinostheim, Deutschland) als  $\beta$ -TCP und 20 Patienten Ceros<sup>®</sup> (Mathys, Bettlach, Schweiz). Die Zuordnung der Patienten zu den Knochenersatzmaterialien wurde durch den Operationszeitpunkt bestimmt. Bis Mitte 2006 wurden alle Patienten mit Cerasorb<sup>®</sup> M versorgt. Spätere Augmentationen wurden mit Ceros<sup>®</sup> durchgeführt. Die Operationstechnik wurde während der gesamten Studie unverändert angewandt.

Um postoperative Infektionen und die damit verbundenen Komplikationen zu verhindern, erhielten die Patienten folgende Medikation:

Clindamycin (Clindamycin-ratiopharm<sup>®</sup>, ratiopharm, Ulm, Deutschland) 1200 – 1800 mg pro Tag über sieben Tage, sowie intravenöse Gabe von Kortison (Solu-Decortin<sup>®</sup>, Merck, Darmstadt, Deutschland) in Kombination mit Ibuprofen (IBU-ratiopharm<sup>®</sup> 400 akut, ratiopharm, Ulm, Deutschland) als Analgetikum zur Verhinderung der postoperativen Schwellung.

## 2.4 Verwendete Knochenersatzmaterialien

Alle Materialeigenschaften basieren auf den Angaben der Hersteller.

### 2.4.1 Cerasorb<sup>®</sup> M

(1) Charakteristiken:

Cerasorb<sup>®</sup> ist eine resorbierbare Biokeramik aus phasenreinem  $\beta$ -TCP. Das synthetische Material und der keramische Sinterprozess garantieren eine Keim- und Pyrogenfreiheit. Ein allergenes Potential kann ebenfalls ausgeschlossen werden.

Cerasorb<sup>®</sup> M ist ein multiporöses Granulat und in verschiedenen Kornfraktionen von 150 – 8000  $\mu\text{m}$  erhältlich.

(2) Substanz:

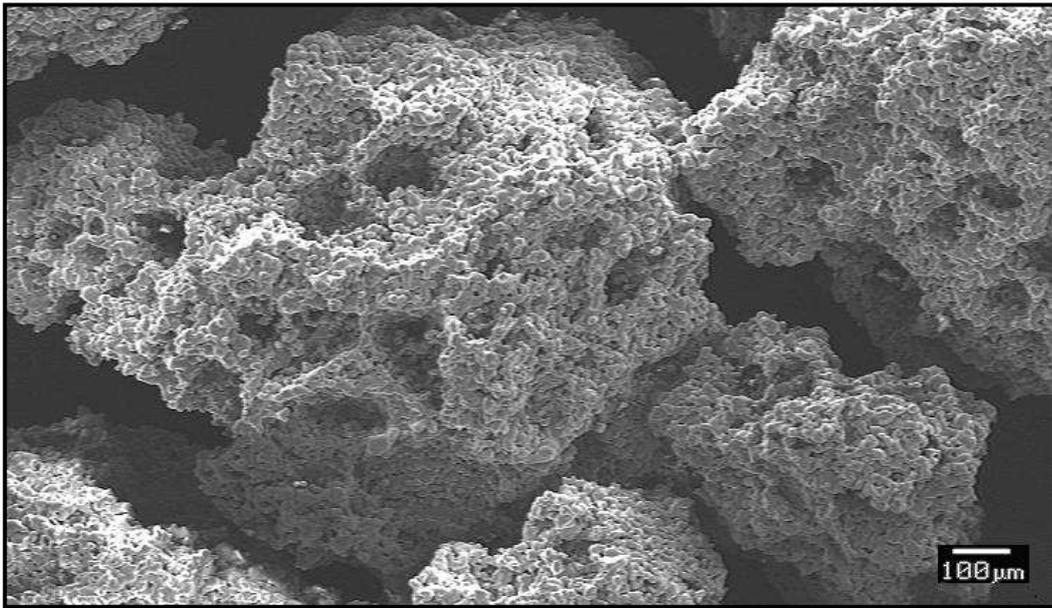
Bei Cerasorb<sup>®</sup> M handelt es sich um ein phasenreines  $\beta$ -TCP ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) mit einer Phasenreinheit von über 99 %.

(3) Porosität:

Cerasorb<sup>®</sup> M besteht aus einem interkonnektierenden Porensystem. Die Gesamtporosität beträgt  $65 \pm 5 \text{ Vol } \%$  ( $51 \text{ } \leq 100 \text{ } \mu\text{m}$  und  $14 \text{ } 100 - 500 \text{ } \mu\text{m}$ ) bei einer Porengröße zwischen 0,1 und 500  $\mu\text{m}$ . Die Primärpartikel, aus denen Cerasorb<sup>®</sup> M aufgebaut ist, sind 63  $\mu\text{m}$  groß.

(4) Morphologie der Granulate:

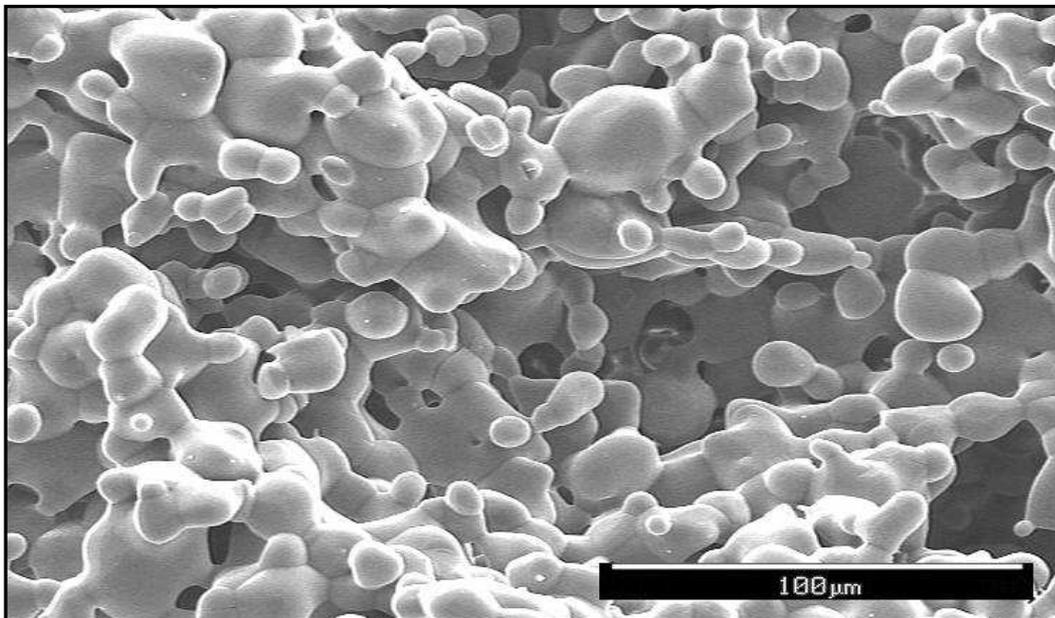
Die Primärpartikel bilden ein Gerüst, welches von einem interkonnektierenden Mikroporensystem durchzogen ist. Dieses Porensystem verbindet die zusätzlich eingebrachten großen Poren (siehe Abbildung 1 und 2).



Quelle: Curasan, Kleinostheim, Deutschland

**Abbildung 1: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Cerasorb® M-Granulate**

Die Cerasorb® M-Granulate weisen eine hohe Porosität auf. Die erkennbaren Makroporen haben eine Größe von  $\geq 100 \mu\text{m}$ . Die Herstellung der Granulate erfolgt durch Kompaktierung von Primärpartikeln. Zwischen diesen Primärpartikeln sind Mikroporen erkennbar.



Quelle: Curasan, Kleinostheim, Deutschland

**Abbildung 2: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Cerasorb® M-Oberfläche**

Die Primärpartikel weisen eine Größe von  $63 \mu\text{m}$  auf und sind durch sogenannte „necks“ miteinander verbunden. Sie bilden somit ein Gerüst, welches von einem interkonnektierenden Porensystem durchzogen ist.

(5) Herstellung:

Die  $\beta$ -TCP-Herstellung erfolgt durch einen Hochtemperatursinterprozess.

#### 2.4.2 Ceros<sup>®</sup>

(1) Charakteristiken:

Ceros<sup>®</sup> ist eine poröse  $\beta$ -TCP-Keramik. Für den zahnärztlichen Gebrauch ist Ceros<sup>®</sup> in den Partikelgrößen 0,5 – 0,7 mm und 0,7 – 1,4 mm erhältlich. Für die Osteosynthese stehen zusätzlich Partikel mit einer Größe von 1,4 – 2,8 mm und 2,8 – 5,6 mm zur Verfügung. Die synthetische Herstellung garantiert konstante Porosität und Porengrößen, Phasenreinheit des Materials sowie Keimfreiheit.

(2) Substanz:

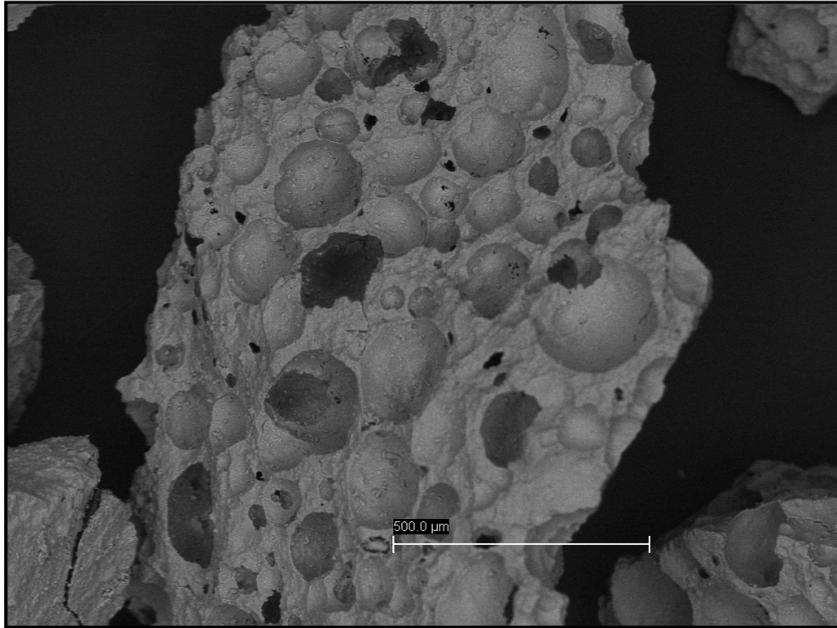
Bei Ceros<sup>®</sup> handelt es sich um ein phasenreines  $\beta$ -TCP ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) mit einer geforderten Phasenreinheit von über 95 %. Die tatsächlich erreichte Phasenreinheit liegt durchschnittlich, laut Angaben des Herstellers, bei > 98 %.

(3) Porosität:

Ceros<sup>®</sup> verfügt über ein interkonnektierendes Porensystem aus Mikro- und Makroporen. Die Porosität von Ceros<sup>®</sup> beträgt 60 %. Der Anteil der Poren von 100 bis 500  $\mu\text{m}$  liegt bei 95 %.

(4) Morphologie der Granulate:

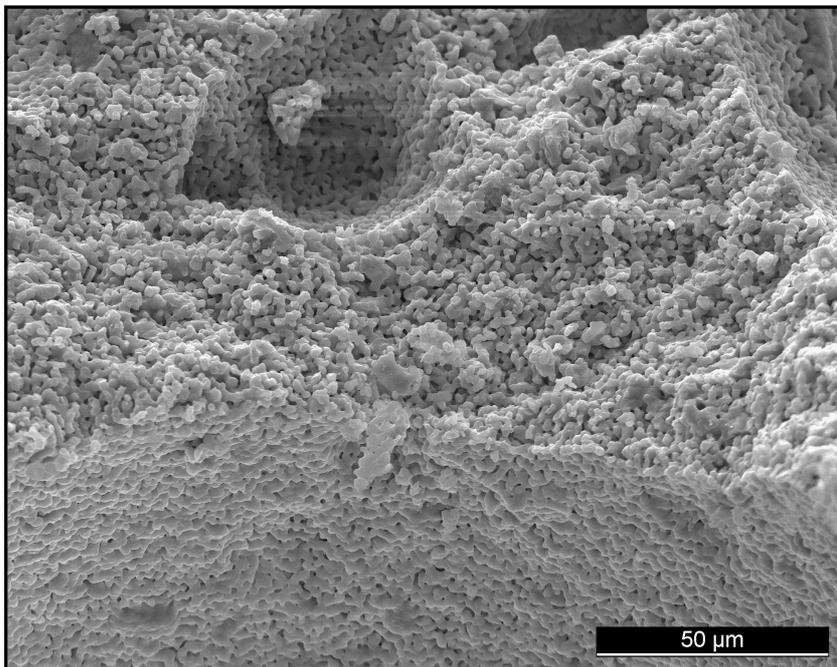
Die Größe und Verteilung der Makro- sowie interkonnektierenden Poren begünstigen das Einwachsen von Blutgefäßen und Knochen. Die Mikroporosität vergrößert die Oberfläche (siehe Abbildung 3 und 4).



Quelle: Mathys, Bettlach, Schweiz

**Abbildung 3: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Ceros®-Partikels**

Der Ceros®-Partikel weist eine hohe Anzahl an erkennbaren Makroporen mit einer Größe von 100 – 500 µm auf. Mikroporen sind hier nicht erkennbar.



Quelle: Mathys, Bettlach, Schweiz

**Abbildung 4: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Ceros®-Oberfläche**

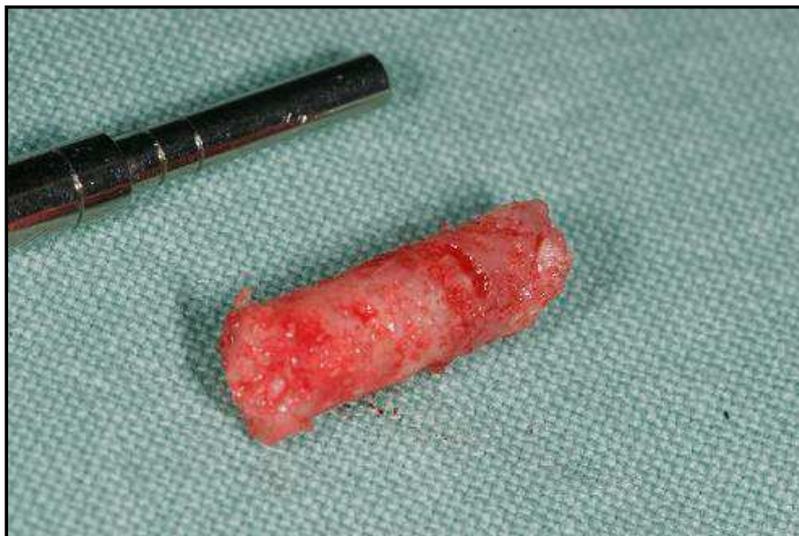
Die hohe Porosität der Ceros®-Granulate wird nur zu 5 % durch die Mikroporen bestimmt. Trotz hoher Auflösung sind die Mikroporen zwischen den Primärpartikeln nur schwer erkennbar. Im oberen Rand des Bildes sind eingebrachte Poren mit einer Größe von ca. 50 µm erkennbar.

(5) Herstellung:

Die  $\beta$ -TCP-Herstellung erfolgt durch einen Hochtemperatursinterprozess.

## 2.5 Biopsiegewinnung und Implantatinsertion

Die Biopsieentnahmen erfolgten im Zuge der Implantatbettvorbereitung nach einer Einheilphase des Augmentationsmaterials von sechs Monaten. Unter lokaler Anästhesie wurde nach crestaler Schnittführung mit mesialer Entlastung ein Mukoperiostlappen abpräpariert. Es folgte nach Begutachtung des Implantationsortes *intra operationem* die Biopsieentnahme mit einem Trepanbohrer (Dentsply Friadent, Mannheim, Deutschland). Die Entnahme wurde an der Stelle der späteren Implantatinsertion unter permanenter Kühlung mit physiologischer Kochsalzlösung durchgeführt. Der äußere Durchmesser des Bohrers betrug 3,5 mm und erlaubte die weitere Aufbereitung des Implantatbettes. Aus dem inneren Durchmesser von 2,75 mm ergab sich der Durchmesser der Biopsie, wobei die maximale Länge 12 mm betrug (siehe Abbildung 5). Die aus den Biopsien gewonnenen Schnitte dienten der histologischen, histomorphometrischen und immunhistologischen Analyse. Bei Patienten, bei denen die prothetische Versorgung mehrere Implantate erforderte, wurde die Biopsieentnahme an der Stelle mit dem geringsten ortsständigem Knochen durchgeführt.



**Abbildung 5: Entnommener Biopsiezylinder**

Der entnommene Biopsiezylinder weist eine gute Integrität auf. Seine Länge beträgt ca. 12 mm (gemessen an dem daneben liegenden Parallelisierungspfosten).

Nach schrittweiser Aufbereitung des Implantatbettes auf den vorgesehenen Implantatdurchmesser, wurde ein Schraubenimplantat in die Knochenkavität versenkt und mit einer Deckschraube versehen.

Bei den 40 Patienten kamen folgende Implantate zum Einsatz: Ankylos<sup>®</sup> (Dentsply Friadent, Mannheim, Deutschland), Camlog<sup>®</sup> (Altatec, Wimsheim, Deutschland), ITI<sup>®</sup> (Straumann, Basel, Schweiz). Die Implantate heilten nach Wundverschluss unbelastet submukosal bis zu ihrer Freilegung nach fünf Monaten ein.

## **2.6 Histologie, Histomorphometrie und Immunhistologie**

Die gewonnenen Biopsien beinhalteten den ortsständigen Knochen, den ehemaligen Sinusboden, sowie das augmentierte Areal. Für die genauere Betrachtung war der ortsständige Knochen, da er bereits vor Augmentation vorhanden war, von geringerem Interesse.

### **2.6.1 Histologie**

Nach Entnahme der Biopsie wurden die Proben in HistoCHOICE<sup>®</sup> (Amresco, Solon, Ohio, USA) für mindestens fünf Tage bei Raumtemperatur (20 – 22 °C) fixiert.

Die Weiterverarbeitung erfolgte analog zu dem von Knabe publiziertem Verfahren, um eine immunhistologische Untersuchung bei unentkalkten Schnitten zu ermöglichen (Knabe *et al.*, 2006).

#### **2.6.1.1 Aufbereitung der Proben**

Alle weiteren Schritte der Aufbereitung bis zur Polymerisation erfolgten bei 4 °C. Nach viertägigem Entwässern der Biopsien in 0,5 % Polyethylenglykol 400 (PEG 400, Merck, Darmstadt, Deutschland) in Azeton, wurden die Proben nacheinander für jeweils drei Stunden in reines Azeton, in Methylbenzoat und Xylol gestellt. Die Infiltration der Proben erfolgte durch eine Lösung aus destabilisiertem Methylmetacrylat (MMA) (Merck, Darmstadt, Deutschland) mit destabilisiertem N-Butylmetacrylat (BMA) (Merck, Darmstadt, Deutschland) und PEG 400 in einem Verhältnis 40:60:2. Die Proben wurden in dieser Lösung drei Tage lang infiltriert. Das Einbettmedium selbst, bestehend aus destabilisiertem MMA und destabilisiertem BMA, wurde aus zwei Stammlösungen hergestellt. Stammlösung A enthielt 100 ml MMA mit 2 g

Benzoylperoxid (BPO) als Katalysator (Merck, Darmstadt, Deutschland) und Stammlösung B 150 ml BMA mit 3 ml PEG 400 und 1,5 ml N,N-Dimethyl-p-Toluidin (Merck, Darmstadt, Deutschland). Die beiden Stammlösungen wurden direkt vor der Einbettung im Verhältnis 2:3 (A:B) gemischt und in Polyethylenbehälter appliziert. Die Polymerisation der in diese Behälter gelegten Proben dauerte bis zu vier Tagen in Abhängigkeit von der Größe der Probe.

Die Wahl dieses Einbettmediums ermöglichte das Sägen der Proben in 50 µm dicke Schnitte und erlaubte eine immunhistologische Untersuchung aufgrund der bestehen bleibenden Antigenität.

Nach Entnahme der auspolymerisierten Proben aus den Behältern wurde der Überschuss an Einbettmaterial entfernt und die getrimmte Probe mit Technovit 3040 (Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) auf den Probenträger geklebt. Die in das Sägemikrotom Leitz 1600 (Leitz, Wetzlar, Deutschland) eingespannte Probe wurde parallel zur Schnittebene angeschnitten und um die gewünschte Schnittdicke (zuzüglich der Sägeblattstärke) hochgestellt. Das Aufkleben des Acrylobjektträgers (Plexiglas GS209) (Röhm, Darmstadt, Deutschland) erfolgte mittels eines Zweikomponentenklebers aus Epoxidharz (UHU, Bühl, Deutschland). Mit dem Sägemikrotom Leitz 1600 (Leitz, Wetzlar, Deutschland) wurden 50 µm dicke Schnitte gesägt, anschließend mit 1200 und 4000 Schleifpapier (Schleifsystem Exakt 400 CS, Exakt, Norderstedt, Deutschland) geschliffen und poliert.

### **2.6.1.2 Immunhistochemische Färbung**

Vor der immunhistochemischen Färbung wurden die Proben durch Einstellen in Toluol (2 x 20 Minuten), Xylol (2 x 20 Minuten) und Azeton (1 x 10 Minuten) entplastet und mit destilliertem Wasser abgespült. Die Aufbewahrung der entplasteten Proben erfolgte in TRIS-Puffer bei pH 7,4.

Jede Probe wurde mit dem Dako Pen (Dako, Glostrup, Dänemark) umrandet, so dass das Volumen der aufgetragenen Reagenzien sich auf der Probe gleichmäßig verteilte. Um unspezifische Reaktionen zu verhindern wurden die Proben 20 Minuten mit 2 % bovinem Serumalbumin (BSA) (Sigma, St. Louis, USA) in Dako antibody diluent (Dako, Glostrup, Dänemark) inkubiert. Nach jedem Schritt folgte dreimaliges Spülen mit TRIS-Puffer für jeweils zwei Minuten.

Die körpereigene Peroxidase wurde mit der peroxidase enzyme blocking solution (Dako, Glostrup, Dänemark) für zehn Minuten blockiert.

Die Visualisierung der im Laufe der Osteogenese exprimierten Proteine beruhte auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Primäre Antikörper wurden auf die Schnitte gebracht und mit

einem sekundären Antikörper, der mit Peroxidase konjugiert war, markiert. Bei den primären Antikörpern handelte es sich um monoklonale Mausantikörper Anti-Alkalische Phosphatase (Sigma) und Anti-Osteocalcin (Abcam, Cambridge, Großbritannien) sowie polyklonale Kaninchenantikörper Anti-Kollagen Typ 1 (LF-39, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) und Anti-Bone Sialoprotein (LF-84, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) (siehe Tabelle III). Primäre Maus- und Kaninchenantikörper (PP54 und PP64, Millipore, Billerica, Massachusetts, USA) dienten als Negativkontrollen. Auf diese Weise sollten falsch positive Ergebnisse aufgrund von unspezifischen Bindungen der primären aber auch der sekundären Antikörper ausgeschlossen werden. Die Einwirkzeit der jeweiligen Antikörper betrug 30 Minuten bei einer Verdünnung von 1:200 in Dako antibody diluent, ausgenommen der ALP, bei der die Verdünnung auf 1:500 optimiert wurde.

**Tabelle III: Verwendete primäre Antikörper**

<b>Antigen</b>	<b>Hersteller/ Katalognummer</b>	<b>Isotyp/ Herkunftstier</b>	<b>Klonnummer/ Klonalität</b>
Col 1	National Institutes of Health LF-39	Kaninchen	polyklonal
ALP	Sigma A2951	IgG2a Maus	8B6 monoklonal
OC	Abcam ab13420	IgG3 Maus	OCG3 monoklonal
BSP	National Institutes of Health LF-84	Kaninchen	polyklonal

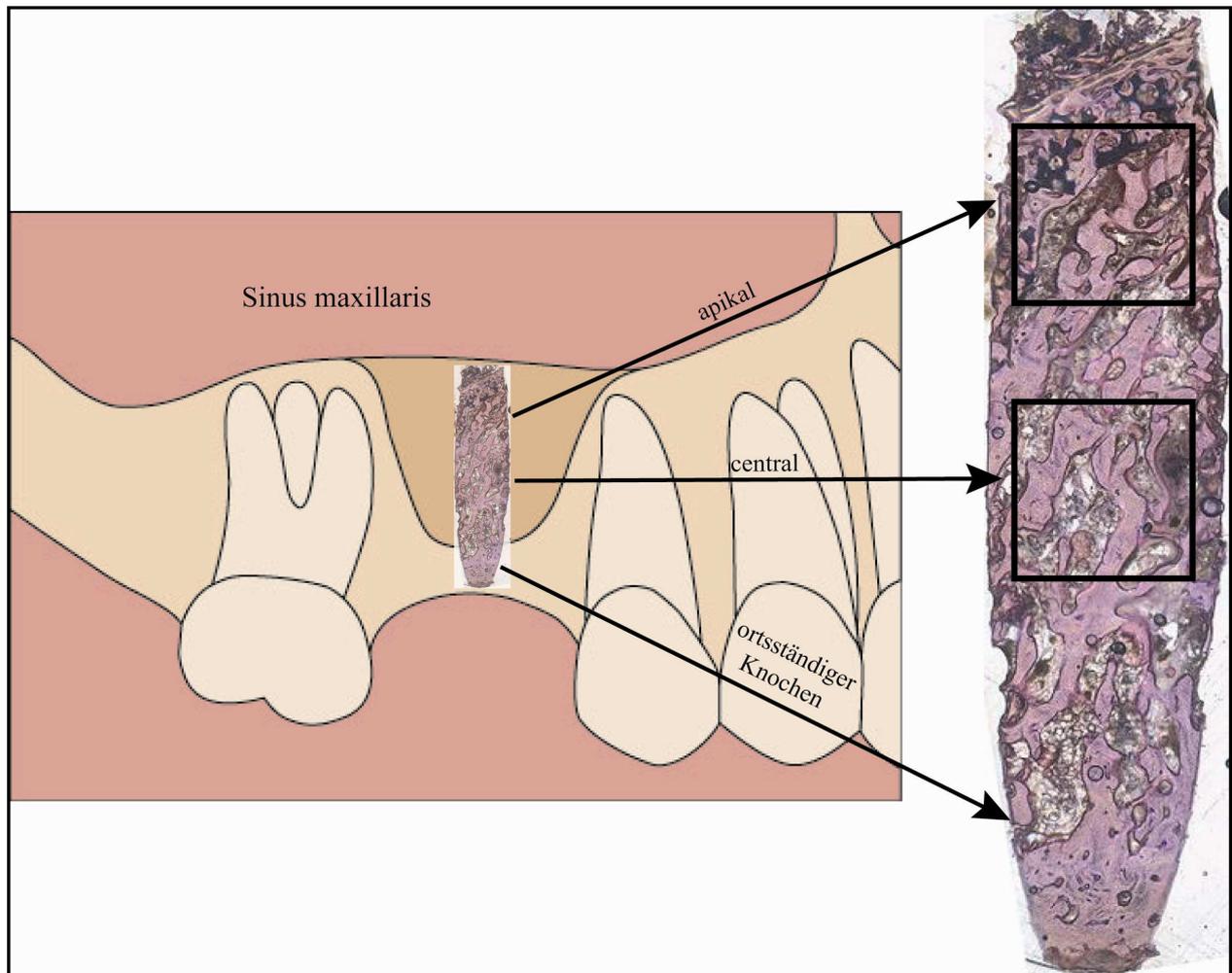
Der sekundäre Antikörper (DakoCytomation Envision + Dual link System Peroxidase, Dako, Glostrup, Dänemark) war ein mit Peroxidase markiertes Dextran, das mit Schafsantikörpern Anti-Maus und Anti-Kaninchen konjugiert wurde (siehe Tabelle IV). Die bei der Peroxidase-Reaktion freiwerdenden Protonen waren in der Lage, farbloses Chromogen zu einem farbigen Endprodukt zu oxidieren. Das aufgebrauchte 3-Amino-9-Ethylcarbazol (AEC, Dako, Glostrup, Dänemark) bildete nach fünf bis sieben Minuten ein rotes Endprodukt. Nach dreimaligem Spülen mit destilliertem Wasser wurden die Schnitte mit Meyers Hämalaun gegengefärbt und mit Kaisers Glycergelatine (Merck, Darmstadt, Deutschland) eingedeckt.

**Tabelle IV: Verwendeter sekundärer Antikörper**

<b>Antigen</b>	<b>Hersteller/ Katalognummer</b>	<b>Herkunftstier</b>	<b>Konjugation</b>
Maus & Kaninchen	Dako K4063	Schaf	Peroxidase

### 2.6.2 Histomorphometrie

Für die Histomorphometrie wurde von jedem Patienten mindestens ein Schnitt aus der Immunhistologie ausgesucht und gegebenenfalls mit einer Giemsa-Färbung ergänzt. Die Vermessung der Schnitte erfolgte halbautomatisch. Mit einer an ein Lichtmikroskop (Vanox-T AH-2, Olympus, Hamburg, Deutschland) angeschlossenen digitalen Kamera (ColorView IIIu<sup>®</sup>, Olympus, Hamburg, Deutschland) wurden zuerst Übersichtsaufnahmen der Schnitte angefertigt. Für die Auswertung wurde das Analysis docu<sup>®</sup> Programm (Olympus, Hamburg, Deutschland) genutzt. Da die entnommenen Biopsien sowohl aus dem ortsständigen Knochen als auch aus dem augmentierten Areal bestanden, wurden die Schnitte in drei Bereiche eingeteilt. Der crestale Teil der Biopsie enthielt ortsständigen Knochen und war für die weitere Analyse von geringem Interesse. Der zentrale Teil der Biopsie war der am nächsten zum Sinusboden liegende Teil des augmentierten Areals und der apikale der sich nahe der Schneiderschen Membran befindende. Besonders der zentrale und apikale Abschnitt waren für die Vermessung relevant, da sich hier nach Augmentation neu gebildeter Knochen befand. Die insgesamt zu vermessende Fläche wurde in zwei gleich große Teilgebiete aufgeteilt, wobei eines davon im apikalen und das andere im zentralen Bereich der Biopsie lokalisiert war. Die Markierung der Teilgebiete wurde nach Möglichkeit gleich groß gewählt und ergab in der Summe eine durchschnittliche Fläche von 8 mm<sup>2</sup> (siehe Abbildung 6). Für jedes Teilgebiet wurden jeweils der knöcherne Anteil, der Weichgewebsanteil (inklusive Knochenmark) und das Restaugmentat in mm<sup>2</sup> berechnet. Die Auswertung der Daten erfolgte als prozentuale Angabe der Gesamtfläche. Für die Darstellung der Daten wurden Box-and-whisker-plots gewählt.

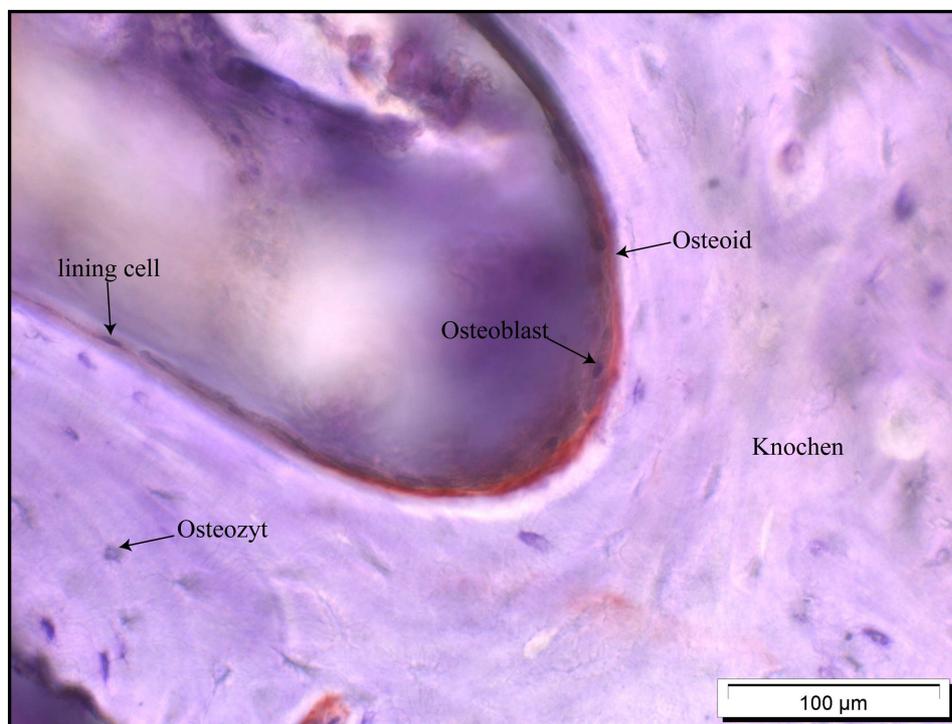


**Abbildung 6: Histologisches Bild einer Biopsie nach Sinusbodenaugmentation, projiziert auf den Querschnitt einer posterioren Maxilla**

Im Querschnitt der posterioren Maxilla sind die Relationen des augmentierten Bereiches (braun dargestellt) zum Sinus maxillaris erkennbar. Der crestale Anteil der Biopsie besteht aus ortsständigem Knochen, während sich der augmentierte Knochen in Richtung des Sinus befindet. Die umrandeten Bereiche stellen den apikalen und zentralen Bereich des augmentierten Gebietes dar. Der ortsständige Knochen wurde nicht mit in die Histomorphometrie einbezogen.

### 2.6.3 Immunhistologie

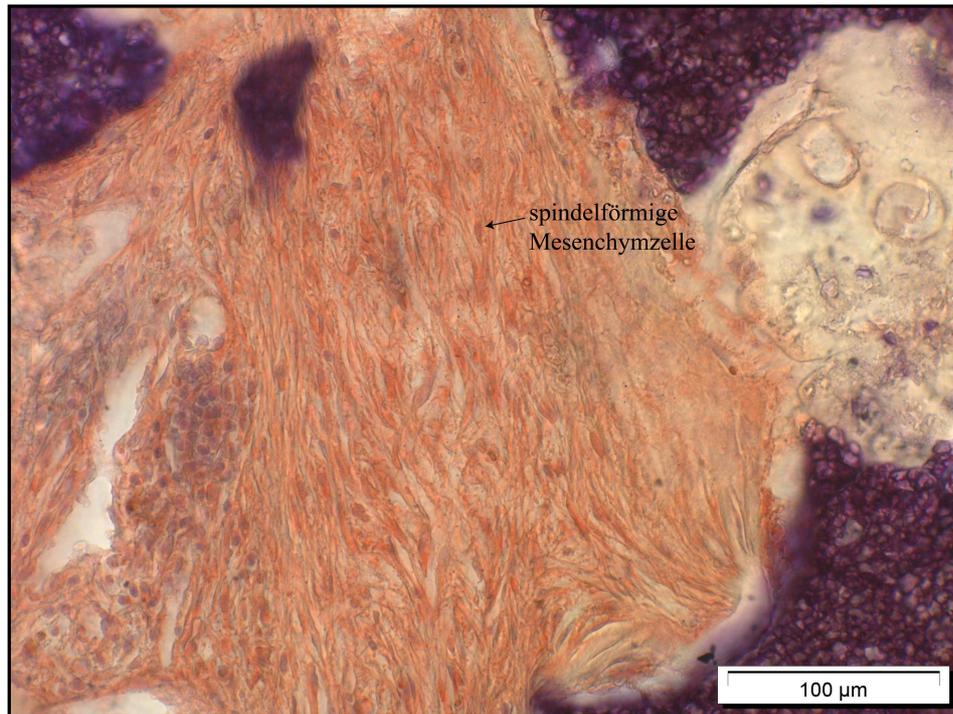
Die Auswertung der immunhistochemisch gefärbten Schnitte erfolgte semi-quantitativ unter dem Lichtmikroskop. Beurteilt wurde die immunhistochemische Färbung in zellulären Komponenten sowie die Färbung von Matrixbestandteilen. Auf zellulärer Ebene wurden Osteoblasten, Osteozyten und Mesenchymzellen auf eine positive Färbung hin untersucht. Als Matrixbestandteile wurden Knochen, fibröse Matrix und Osteoid beurteilt. Die Erkennung und Zuordnung der einzelnen Bestandteile erfolgte aufgrund der Morphologie und Lokalisation der Zellen und Gewebe (siehe Abbildung 7 und 8).



**Abbildung 7: Querschnitt durch die Knochenoberfläche**

Epithelartig angeordnete Osteoblasten bilden einen Saum auf der Knochenoberfläche. Zwischen den Osteoblasten und dem mineralisierten Knochen liegt eine Osteoidschicht. Nicht aktive Osteoblasten sind als lining cells aufgrund ihrer Morphologie und am fehlenden Osteoid erkennbar. Die in den Lakunen der mineralisierten Knochenmatrix befindlichen Osteozyten stehen über zytoplasmatische Fortsätze mit den Osteoblasten auf der Oberfläche in Verbindung.

Immunhistochemische Col 1-Färbung, Vergrößerung: 200x



**Abbildung 8: Pluripotente Mesenchymzellen, eingebettet in eine Matrix aus retikulären Fasern des Knochenmarks**

Die spindelförmigen Mesenchymzellen sind in retikuläre Fasern eingebettet. Am Rande des Bildes sind jeweils Knochenersatzgranulate angeschnitten.

Immunhistochemische Col 1-Färbung, Vergrößerung: 200x

Die Auswertung basierte auf einer Skala, die die Stärke der Färbung und die Verteilung der angefärbten Marker mit einbezog. Alle oben erwähnten histologischen Komponenten wurden nacheinander beurteilt. In die Bewertung ging zuerst das Vorhandensein einer immunhistologischen Reaktion ein. Eine nicht vorhandene Reaktion wurde mit 0 bewertet. War die Färbung gering, mittelmäßig oder stark, so wurden +, ++ oder +++ vergeben. Als weiteres Kriterium ging die Lokalisation der Färbung in die Bewertung ein. Sie konnte lokalisiert oder generalisiert auftreten. Bei generalisierter Anfärbbarkeit einer Komponente wurden die Bewertungen äquivalent zu der lokalisierten Variante bewertet und lediglich zusätzlich markiert. Für eine bessere Vergleichbarkeit der Daten, wurde jeder Bewertung ein Wert zugeschrieben (siehe Tabelle V).

**Tabelle V: Ordinale Bewertungsskala der immunhistochemischen Färbung**

<b>Lokalisation</b>	<b>Färbung</b>	<b>Bewertung</b>	<b>Wert</b>
keine	keine	0	0
lokalisiert	leicht	+	1
	mittel	++	3
	stark	+++	4
generalisiert	leicht	+	2
	mittel	++	4
	stark	+++	5

Die Auswertung dieser ordinalen Bewertungsskala erfolgte rein deskriptiv mittels Häufigkeitsverteilungen und unter Zuhilfenahme der Mediane.

#### **2.6.4 Statistische Analyse**

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit SPSS 16.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA). Für den Vergleich der histomorphometrischen Daten wurden t-tests mit einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$  durchgeführt. Eine statistische Signifikanz lag vor, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner oder gleich dem Signifikanzniveau war, d. h.  $p \leq 0,05$ . Bei  $p \leq 0,01$  handelte es sich um ein statistisch hochsignifikantes Ergebnis.

Für die graphische Darstellung der morphometrischen Ergebnisse wurden Box-and-whisker-plots verwendet. Die immunhistologischen Daten wurden aufgrund der ordinalen Bewertungsskala unter Zuhilfenahme der Mediane und gestapelter Häufigkeitsdiagramme rein deskriptiv ausgewertet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Klinische Resultate

Die Sinusbodenaugmentationen verliefen bei allen Patienten komplikationslos. Eine Perforation der Schneiderschen Membran wurde bei keinem Patienten beobachtet. Schleimhäute, die sich bei der Präparation klinisch als sehr dünn darstellten, wurden vor der Augmentation mit einer resorbierbaren Membran (BioGide<sup>®</sup>, Geistlich Biomaterials, Wolhusen, Schweiz) abgedeckt, um das Risiko des Abwanderns von Knochenersatzmaterial durch die Schneidersche Membran in die Kieferhöhle zu minimieren. Die Wundheilung nach Augmentation verlief bei allen Patienten zufriedenstellend. Bis zum Zeitpunkt der Implantation wurden keine postoperativen Komplikationen, wie z. B. Sinusitiden, beobachtet.

Sechs Monate nach der Augmentation stellte sich der Knochen bei der Implantation als ausreichend dimensioniert dar, so dass alle Implantate eine gute Primärstabilität aufwiesen. Die Länge der entnommenen Biopsie variierte in Abhängigkeit von der inserierten Implantatlänge und der Fragilität des Biopsiezylinders. Insgesamt wurden jedoch in beiden Gruppen Biopsien mit 8 – 12 mm Länge entnommen. Bei Entnahme der Biopsien konnte der Chirurg einen Unterschied in der Knochenqualität zwischen beiden Gruppen feststellen. Der Alveolarkamm stellte sich bei der Pilotbohrung nach Augmentation mit Ceros<sup>®</sup> als fest und gut knöchern regeneriert dar. Die entnommenen Biopsien aus den mit Cerasorb<sup>®</sup> M augmentierten Gebieten waren gut knöchern umgebaut, jedoch insgesamt weicher und weniger kompakt. Zudem deuteten hier Reibegeräusche bei der Implantatbettvorbereitung und der Implantatinsertion auf das Vorhandensein von Restaugmentat hin. Die Stabilität der Implantate wurde dadurch jedoch nicht beeinflusst.

Bei den 20 Cerasorb<sup>®</sup> M-Patienten wurden insgesamt 55 und bei den 20 Ceros<sup>®</sup>-Patienten 67 Implantate inseriert. Ihre Einheilung verlief in beiden Gruppen beschwerdefrei. Sechs Monate nach Insertion wurden die Implantate freigelegt. Jeweils ein Implantat in der Cerasorb<sup>®</sup> M- und der Ceros<sup>®</sup>-Gruppe stellte sich bei Freilegung als nicht osseointegriert dar.

Bis zum Abschluss der Studie wurden drei Implantatverluste beobachtet, davon ein Verlust in der Cerasorb<sup>®</sup> M-Gruppe und zwei in der Ceros<sup>®</sup>-Gruppe. Zwei Patienten, bei denen es zum Implantatverlust kam, erhielten jeweils drei Implantate, wovon sich nur eines bei Implantatfreilegung als nicht osseointegriert darstellte. Bei einer Patientin lockerte sich das

Implantat erst nach Belastung. Entzündungszeichen waren bei allen Patienten nicht zu beobachten. Bei den Implantaten handelte es sich um zwei erste Molaren und einen Prämolaren. Ein Patient wurde drei Monate nach Explantation mit einem neuen Implantat versorgt. Dieses Implantat ist osseointegriert und bis zum heutigen Zeitpunkt *in situ*. Der weitere Verlauf ist bei den anderen Patienten nicht bekannt.

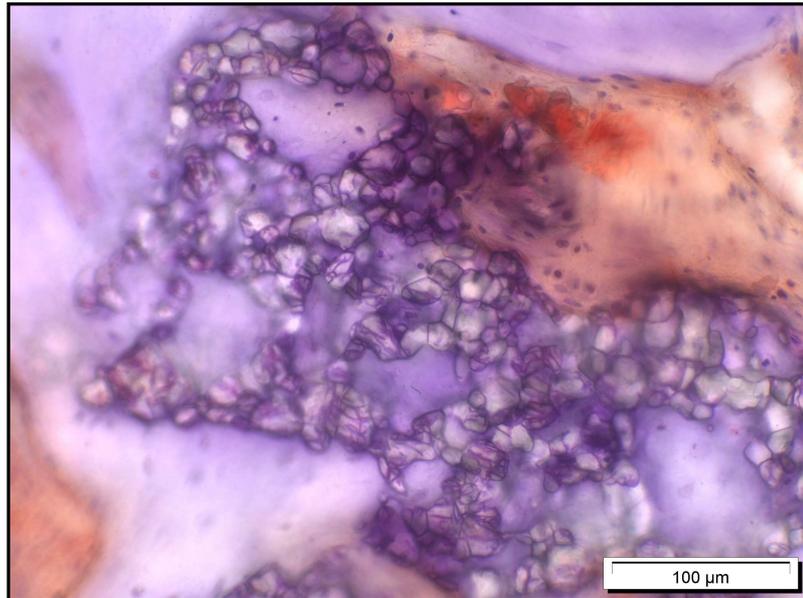
## 3.2 Histologische Ergebnisse

### 3.2.1 Histologie

Alle entnommenen Biopsien konnten weiterverarbeitet und ausgewertet werden. Um zelluläre Bestandteile besser beurteilen zu können, wurden einzelne Schnitte mit Giemsa gefärbt.

In jeder der 40 entnommenen Biopsien fand eine Knochenneubildung statt, deren Ausmaß in Abhängigkeit von der Lokalisation variierte. Während stellenweise Knochenersatzmaterial durch neu gebildeten Knochen ersetzt wurde, konnten in beiden Gruppen Bereiche mit Restpartikeln beobachtet werden. Eine vollständige knöcherne Regeneration der Granulate fand nur bei einem Patienten in der Cerasorb<sup>®</sup> M-Gruppe statt. Entzündungsprozesse waren nicht zu beobachten. Neben knochenbildenden waren auch immunkompetente Zellen und Zellen des hämatopoetischen Systems zu finden. Vereinzelt konnten auch multinukleäre Riesenzellen gesehen werden, jedoch nicht in direktem Kontakt zum Knochenersatzmaterial.

Die unterschiedliche Morphologie der verwendeten Knochenersatzmaterialien war in den histologischen Schnitten gut zu erkennen. Cerasorb<sup>®</sup> M ist aus kleinen kugeligen Primärpartikeln aufgebaut, die traubenförmig zu größeren Partikeln zusammengelagert sind (siehe Abbildung 9). Die Morphologie von Ceros<sup>®</sup> dagegen ist wie die eines Naturschwammes mit Poren (siehe Abbildung 10). In Abhängigkeit vom Fortschritt der Resorption waren in den Cerasorb<sup>®</sup> M-Biopsien große und kleine Partikel, aber auch einzelne kugelige Primärpartikel zu finden. Insgesamt erschien Cerasorb<sup>®</sup> M in der Histologie sehr abgerundet. Ceros<sup>®</sup> hatte dagegen eine kantigere Struktur und zerfiel seltener in Primärpartikel. Restpartikel erschienen hier recht groß und kompakt, jedoch gut knöchern integriert.



**Abbildung 9: Deutlich abgerundeter Cerasorb® M-Partikel mit interner Knochenbildung in den Mikroporen**

Die Partikel weisen eine hohe Tendenz zur Desintegration auf. Sie sind gut knöchern integriert, und in den Poren findet eine interne Knochenbildung statt. Im oberen rechten Rand des Bildes ist ein direkter Kontakt zu Zellen des Knochenmarks erkennbar.

Immunhistochemische BSP-Färbung, Vergrößerung: 200x



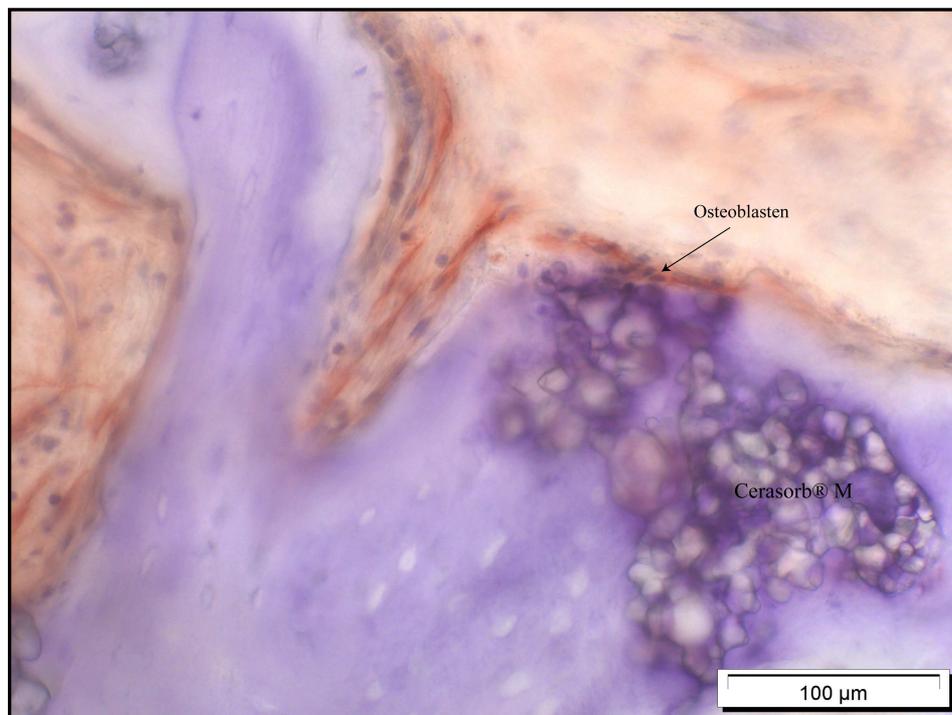
**Abbildung 10: Morphologie der Ceros®-Partikel im histologischen Bild**

Das Granulat zeigt eine kantige Struktur mit geringer Tendenz zur Desintegration jedoch hervorragender Osseointegration mit interner Knocheninsbildung in den großen Poren. Stellenweise ist hier ein direkter Kontakt zum Knochenmark erkennbar.

Immunhistochemische ALP-Färbung, Vergrößerung: 100x

Die Biopsien enthielten den ortsständigen Knochen mit ehemaligem Sinusboden, der nicht in die Auswertung mit einbezogen wurde. Der zentrale Anteil der Biopsie bestand sowohl bei den Cerasorb<sup>®</sup> M- als auch bei Ceros<sup>®</sup>-Patienten aus spongiösem Knochen mit ausgeprägten Knochentrabekeln. Knochenersatzmaterial war hier nur vereinzelt vorhanden und weitgehend knöchern ummantelt. Besonders bei den Makroporen der Ceros<sup>®</sup>-Partikel fand eine interne Knochenbildung statt. Aber auch bei Cerasorb<sup>®</sup> M konnte eine Knochenneubildung in den Partikeln beobachtet werden, wobei hier die Knochenneubildung eher in den kleineren Poren stattfand. Größere Poren waren bei Cerasorb<sup>®</sup> M nach sechs Monaten verhältnismäßig selten zu beobachten, dafür war häufig eine Desintegration in kleinere Partikel erkennbar.

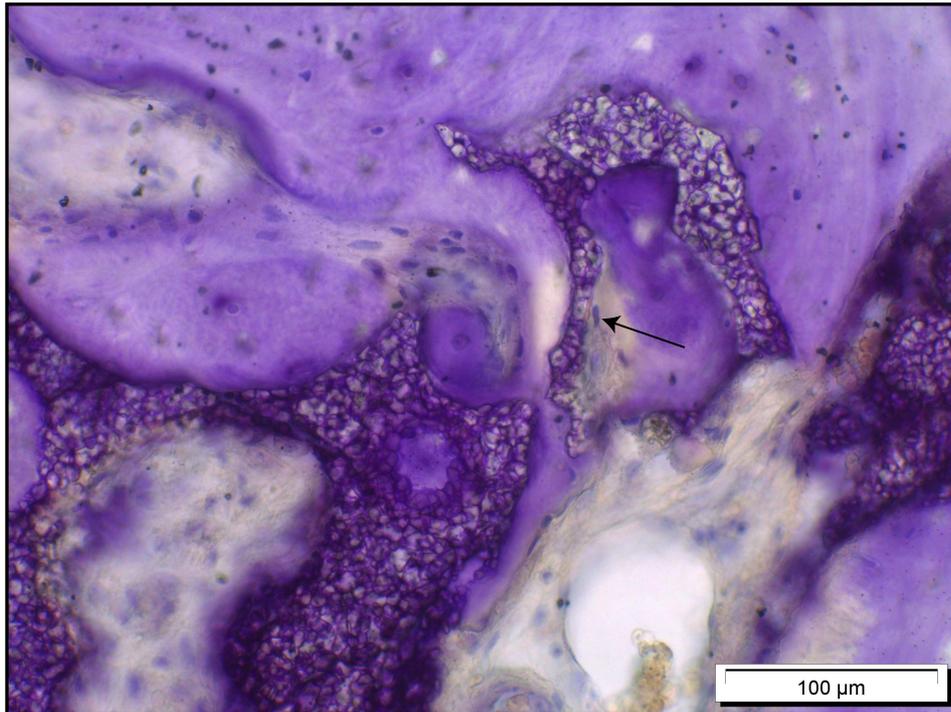
Vielorts konnte ein direkter Kontakt der Knochenersatzmaterialien zu knochenbildenden Zellen beobachtet werden (siehe Abbildungen 11 und 12).



**Abbildung 11: Gut osseointegrierter kleiner Cerasorb<sup>®</sup> M-Partikel**

Auf der Knochenoberfläche liegende Osteoblasten haben direkten Kontakt zum Knochenersatzmaterial.

Immunhistochemische BSP-Färbung, Vergrößerung: 200x



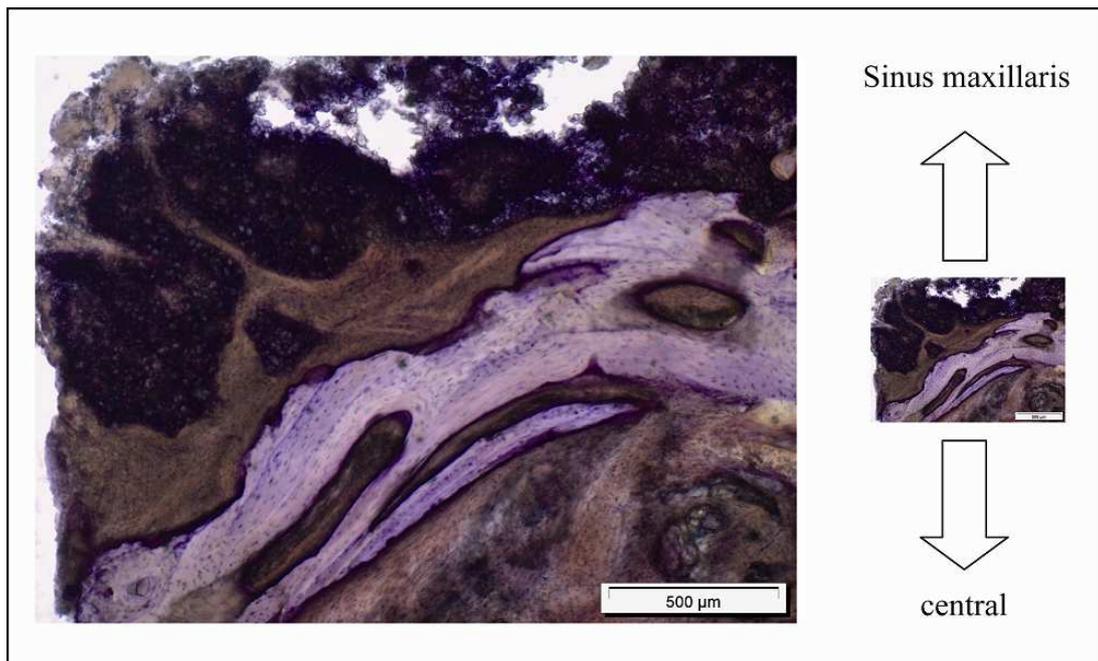
**Abbildung 12: Knochenanlagerung und direkter Zellkontakt am Knochen-Implantat-Interface am Beispiel von Ceros®**

Die Ceros®-Partikel weisen einen direkten Knochenkontakt mit interner Knochenbildung in den Poren (mittig im Bild) auf. Am Knochen-Implantat-Interface ist ein direkter Kontakt zu Osteoblasten erkennbar (siehe Pfeil).

Immunhistochemische ALP-Färbung, Vergrößerung: 200x

Im apikalen Abschnitt der Biopsien war in beiden Gruppen im Vergleich zum zentralen mehr Knochenersatzmaterial vorhanden.

Bei den Cerasorb® M-Patienten waren die Partikel im schleimhautfernen Anteil der apikalen Region größtenteils knöchern ummantelt und nur vereinzelt lose im Bindegewebe eingelagert. Die trabekulären Strukturen waren hier nicht so regelmäßig wie im zentralen Teil. Die schleimhautnahen Areale der Biopsie bestanden überwiegend aus noch nicht regenerierten Partikeln (siehe Abbildung 13). Einzelne Biopsien waren bis in die apikale Region mit nur wenigen Restpartikeln knöchern regeneriert.

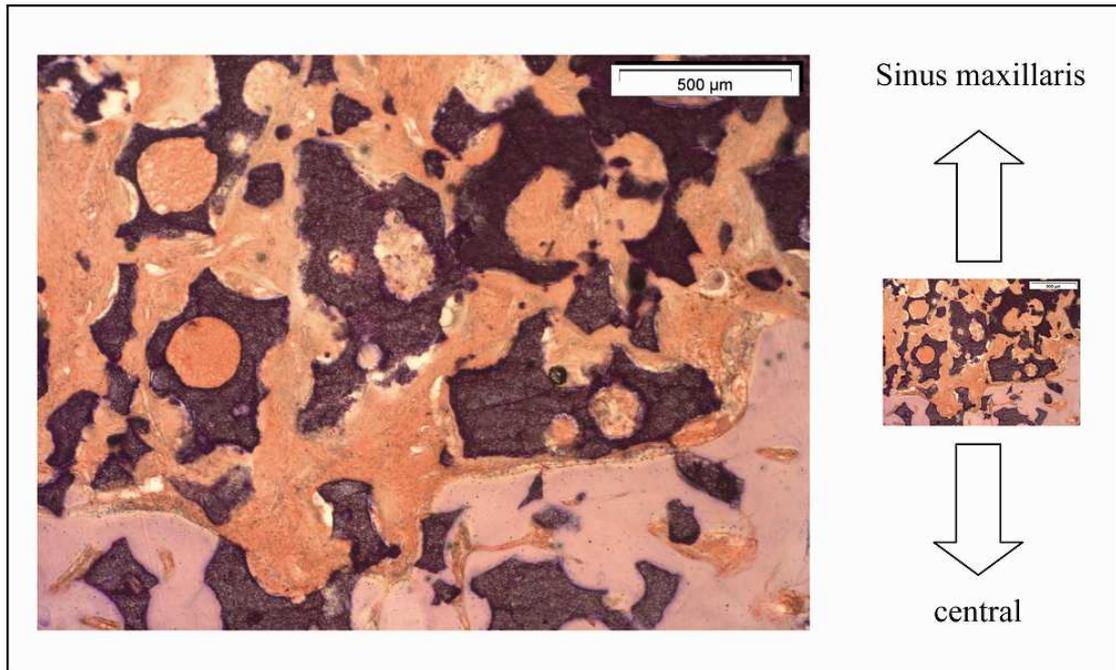


**Abbildung 13: Übersicht der apikalen Region einer Cerasorb® M-Biopsie mit unregelmäßigen Knochentrabekeln und noch nicht degradierten Partikeln**

Der in Richtung der Sinusschleimhaut gelegene Teil der Biopsie besteht überwiegend aus noch nicht umgebauten Partikeln. Die Granulate liegen recht kompakt nebeneinander und weisen kaum Spuren einer Desintegration auf. Darunter gelegenes Bindegewebe ist nicht vom Knochenmark abzugrenzen. Knochentrabekel mittig im Bild haben stellenweise Kontakt zum Knochenersatzmaterial (rechts oben im Bild).

Immunhistochemische OC-Färbung, Vergrößerung: 40x

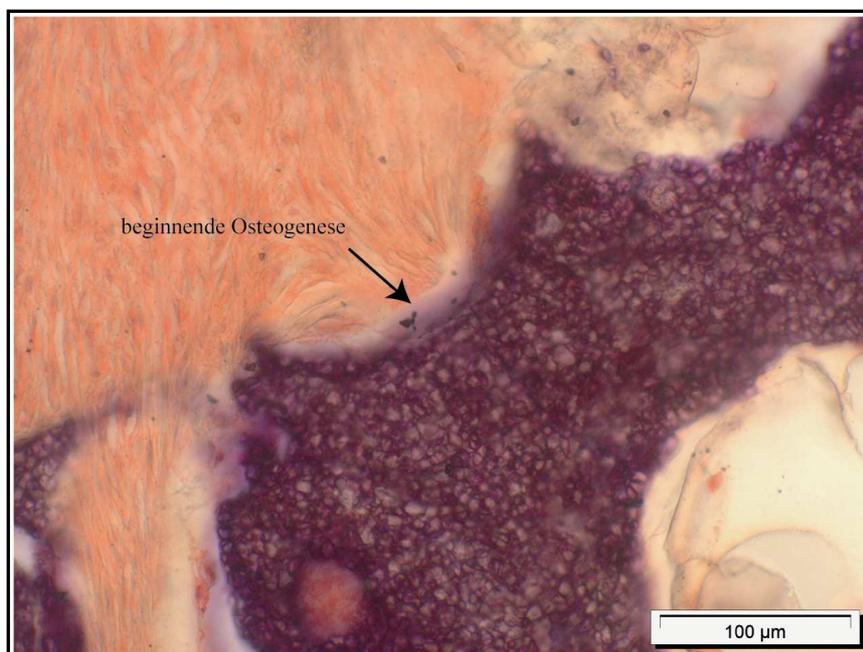
Die Restpartikel waren auch bei den Ceros®-Patienten im apikalen Abschnitt häufiger als zentral vorzufinden. Im schleimhautfernen Teil des apikalen Bereichs waren die Ceros®-Partikel gut in den Knochen eingebaut. Insgesamt schienen die Trabekel hier geordneter zu sein als bei den Cerasorb® M-Biopsien. In den schleimhautnahen Arealen waren die Partikel jedoch oft bindegewebig ummantelt, und auch in den Poren fand eine bindegewebige Regeneration statt (siehe Abbildung 14). Bei hoher Vergrößerung konnten hier vereinzelt die Anfänge einer knöchernen Regeneration beobachtet werden (siehe Abbildung 15).



**Abbildung 14: Apikale Region einer Ceros®-Biopsie**

Während Richtung zentral die Partikel gut osseointegriert sind, ist weiter apikal eine bindegewebige Ummantelung der Granulate erkennbar.

Immunhistochemische Col 1-Färbung, Vergrößerung: 40x



**Abbildung 15: Beginnende Knochenneubildung an einem Ceros®-Partikel in der apikalen Region**

An den Rändern des bindegewebig ummantelten Ceros®-Partikels ist eine beginnende Osteogenese erkennbar.

Immunhistochemische Col 1-Färbung, Vergrößerung: 200x

### 3.2.2 Histomorphometrie

Die Auswertung der morphometrischen Daten erfolgte innerhalb eines Knochenersatzmaterials zwischen den verschiedenen Regionen (apikal und zentral) und als Vergleich beider Knochenersatzmaterialien innerhalb einer Region. Für jeden Patienten wurde die prozentuale Zusammensetzung der Biopsie in beiden untersuchten Regionen separat ermittelt (siehe Tabelle VI und VII).

Für die Darstellung der prozentualen Zusammensetzung der vermessenen Areale wurden Box-and-whisker-plots gewählt. Die Box wird dabei durch die obere und untere Quartile begrenzt. Durch die Länge der Box ist der Interquartilabstand abzulesen. Als weiteres Quartil ist der Median in der Box eingezeichnet. Die Whisker geben die Extremwerte der Messreihe an. Ihre Länge beträgt maximal das 1,5fache des Interquartilabstandes. Die Werte, die außerhalb liegen, werden als milde (○) oder extreme (\*) Ausreißer dargestellt.

**Tabelle VI: Prozentuale Zusammensetzung der Cerasorb® M-Biopsien**

Nr.	apikal			zentral		
	Knochen	Partikel	fibröse Matrix	Knochen	Partikel	fibröse Matrix
1.	38,07	1,51	60,42	54,32	0,00	45,68
2.	36,35	3,45	60,21	41,06	1,87	57,08
3.	16,97	33,54	49,49	15,73	0,00	89,23
4.	39,10	42,54	18,36	42,39	4,19	53,42
5.	10,61	71,33	18,06	40,73	0,00	59,27
6.	33,71	27,91	28,38	41,34	0,00	58,66
7.	25,99	39,69	34,32	66,15	7,28	26,58
8.	54,57	8,76	36,67	30,01	0,28	69,71
9.	27,99	18,13	53,88	45,52	0,00	54,48
10.	30,30	24,54	45,16	31,65	0,00	68,35
11.	22,96	0,00	77,04	65,62	2,20	32,18
12.	46,98	10,01	43,01	57,97	0,00	42,03
13.	39,67	12,30	48,03	29,20	32,32	38,48
14.	28,54	22,54	48,92	25,79	0,08	74,12
15.	56,64	17,15	26,21	69,01	0,00	30,99
16.	32,31	7,25	60,44	39,87	0,00	60,13
17.	36,99	21,53	41,49	45,32	5,97	48,72
18.	21,79	32,95	45,27	29,81	1,04	69,16
19.	42,49	3,83	53,68	76,68	0,00	23,32
20.	24,40	23,08	52,51	30,31	0,00	69,69

Für jeden Patienten wurde der Anteil an Knochen, Knochenersatzmaterial (Partikel) und fibröser Matrix als Prozentangabe der Gesamtfläche ermittelt. Die Nummer der Biopsie entspricht der Patientenummer. N = 20

Tabelle VII: Prozentuale Zusammensetzung der Ceros<sup>®</sup>-Biopsien

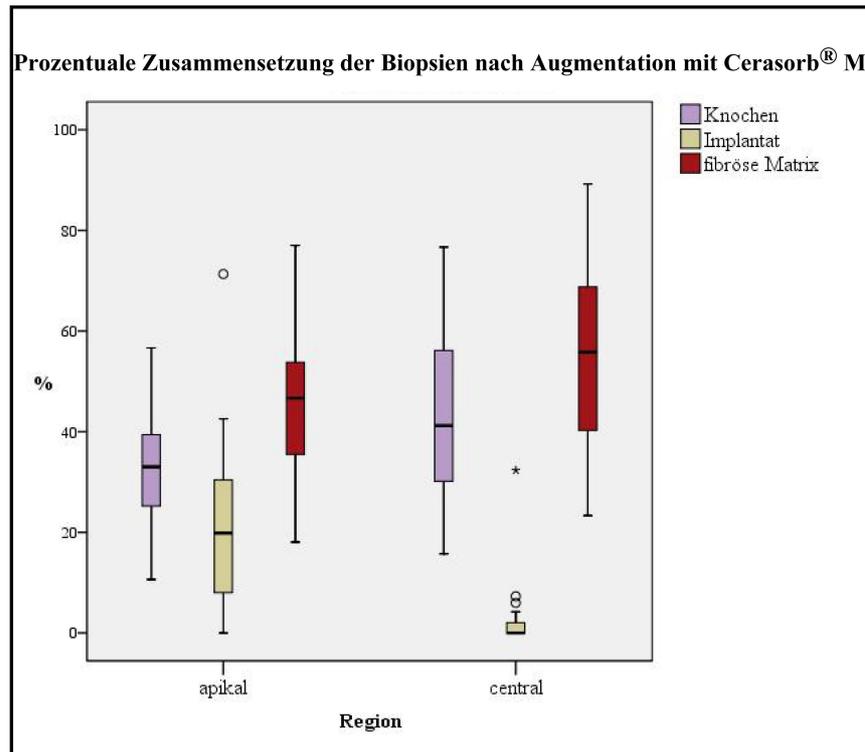
Nr.	apikal			zentral		
	Knochen	Partikel	fibröse Matrix	Knochen	Partikel	fibröse Matrix
21.	43,36	11,56	45,08	39,26	1,59	59,15
22.	40,96	4,13	54,91	39,59	0,00	60,41
23.	47,64	7,20	45,16	37,42	0,00	62,58
24.	37,75	13,11	49,14	41,88	10,00	48,13
25.	27,99	2,81	69,20	38,47	0,29	61,24
26.	29,27	31,24	39,49	27,76	1,18	71,06
27.	36,79	7,84	55,37	31,62	0,00	68,38
28.	22,33	35,77	41,90	44,61	0,82	54,57
29.	39,71	10,26	50,04	40,51	0,45	59,04
30.	36,58	4,28	59,14	22,53	0,00	77,47
31.	32,22	15,25	52,54	28,62	0,40	70,99
32.	44,63	8,11	47,27	44,33	0,00	55,67
33.	29,53	14,53	55,94	46,07	0,00	53,93
34.	19,50	33,25	47,25	36,46	11,62	51,92
35.	54,10	16,08	29,82	58,56	0,92	40,52
36.	33,98	34,13	31,89	24,10	0,21	75,69
37.	30,21	21,85	47,94	41,62	0,00	58,38
38.	38,28	8,06	53,66	52,44	0,00	47,56
39.	46,74	15,19	38,07	54,90	0,00	45,10
40.	40,63	20,05	39,32	46,31	0,00	53,69

Für jeden Patienten wurde der Anteil an Knochen, Knochenersatzmaterial (Partikel) und fibröser Matrix als Prozentangabe der Gesamtfläche ermittelt. Die Nummer der Biopsie entspricht der Patientenummer. N = 20

### 3.2.2.1 Histomorphometrie in der Cerasorb<sup>®</sup> M-Gruppe

Bei Cerasorb<sup>®</sup> M lag der Anteil von Knochen im apikalen Teil (nah der Schneiderschen Membran) bei  $33,3 \pm 11,7$  %. Die Implantatmenge in diesem Bereich betrug  $21,1 \pm 17,1$  %. Die fibröse Matrix, bestehend aus Knochenmarksräumen und Bindegewebe, nahm  $45,1 \pm 15,0$  % ein. In der zentralen Region war der knöcherner Anteil mit  $43,9 \pm 16,3$  % höher ( $p \leq 0,01$ ) und der des Implantates mit  $2,8 \pm 7,3$  % geringer ( $p \leq 0,01$ ) als im apikalen Teil. Beide Ergebnisse waren statistisch hochsignifikant. Die fibröse Matrix im zentralen Bereich hatte hier mit  $53,6 \pm 17,5$  % einen höheren Flächenanteil als in der apikalen Region. Der Mittelwert der Differenz aus zentraler und apikaler fibröser Matrix bestätigte, dass der Anteil zentral um 8,5 % höher war. Dieser Unterschied war jedoch nicht statistisch signifikant ( $p \geq 0,05$ ).

Insgesamt war also die Knochenneubildung in den sinusbodennahen Abschnitten (zentral) höher als in den schleimhautnahen. Auch die Partikeldegradation war bei Cerasorb<sup>®</sup> M im zentralen Anteil weiter vorangeschritten als apikal (siehe Abbildung 16).



**Abbildung 16: Prozentuale Zusammensetzung in der apikalen und zentralen Region nach Augmentation mit Cerasorb® M**

Der Anteil an Knochen in der zentralen Region war statistisch signifikant höher als apikal bei statistisch signifikant geringerem Restpartikelanteil. Die fibröse Matrix nahm zentral einen höheren Anteil ein. Diese Differenz war jedoch nicht statistisch signifikant.

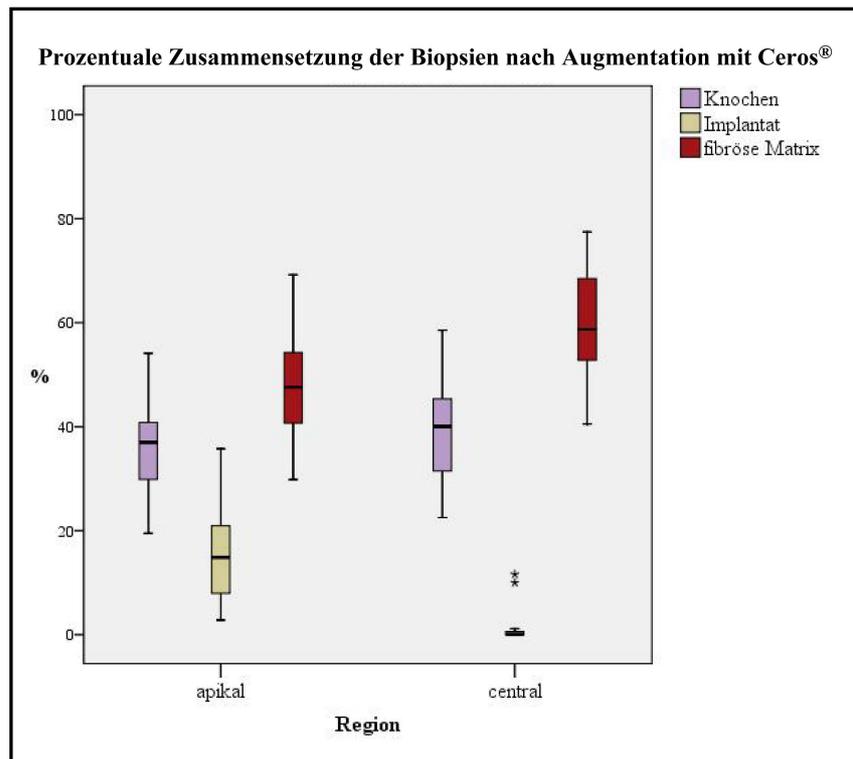
Milde (○) und extreme (\*) Ausreißer wurden einzeln vermerkt.

### 3.2.2.2 Histomorphometrie in der Ceros®-Gruppe

Bei den Ceros®-Patienten lag der Anteil an Knochen im apikalen Abschnitt bei  $36,3 \pm 8,5$  %, während die Restimplantatmenge  $16,0 \pm 10,4$  % betrug. Knochenmark und Bindegewebe nahmen apikal  $47,7 \pm 9,4$  % ein.

Der Implantatanteil im zentralen Bereich war mit  $1,3 \pm 3,3$  % statistisch hochsignifikant kleiner ( $p \leq 0,01$ ) als apikal. Dagegen war die Knochendichte mit  $39,5 \pm 9,8$  % zentral nicht statistisch signifikant höher ( $p \geq 0,05$ ) als im apikalen Bereich. Der Anteil an fibröser Matrix (Knochenmark und Bindegewebe) im zentralen Bereich lag mit  $59,2 \pm 10,3$  % statistisch hochsignifikant ( $p \leq 0,01$ ) über dem apikalen Wert.

Die messbare Dichte des neu gebildeten Knochens war bei Ceros<sup>®</sup> nicht abhängig von der Entfernung zum Sinusboden. Im Gegensatz dazu war die Partikeldegradation analog zum Cerasorb<sup>®</sup> M von dem Abstand zum Sinusboden abhängig. Statistisch signifikant höhere Anteile an fibröser Matrix in der zentralen Region deuteten auf große Knochenmarksräume hin (siehe Abbildung 17).



**Abbildung 17: Zusammensetzung der apikalen und zentralen Region nach Augmentation mit Ceros<sup>®</sup>**

Die Partikeldegradation in der zentralen Region war statistisch signifikant höher als apikal bei nur geringfügig höheren Knochendichten. Die fibröse Matrix nahm zentral einen statistisch signifikant höheren Anteil ein.

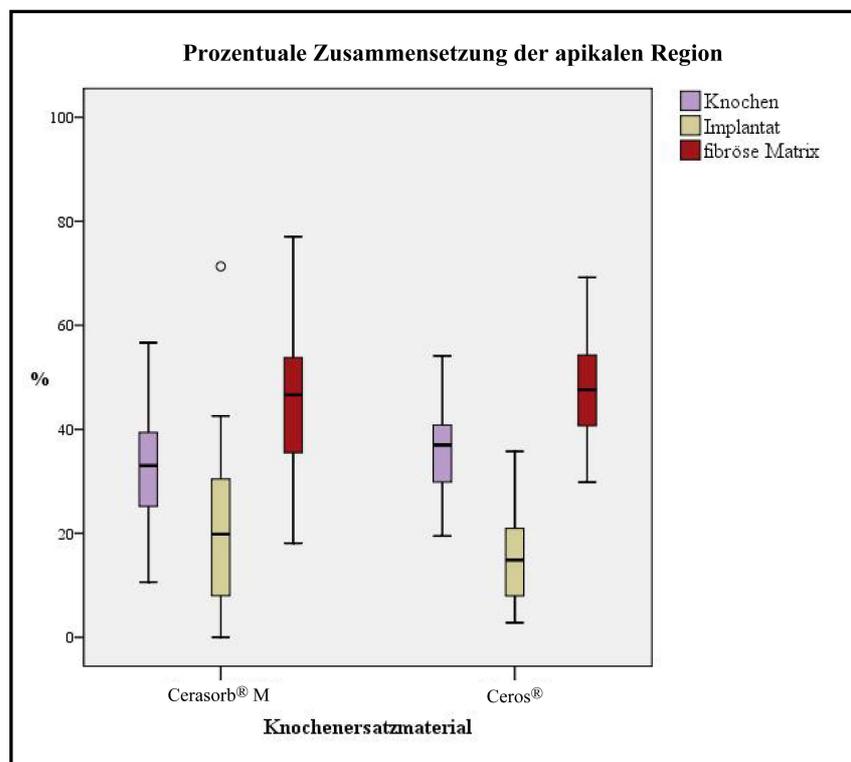
Extreme (\*) Ausreißer wurden einzeln vermerkt.

### 3.2.2.3 Histomorphometrischer Vergleich der verwendeten $\beta$ -TCP-Keramiken

Der Vergleich der Gruppen untereinander zeigte folgende Ergebnisse:

Der Anteil an Knochen in der apikalen Region war bei den Ceros<sup>®</sup>-Biopsien mit  $36,3 \pm 8,5$  % statistisch nicht signifikant größer ( $p \geq 0,05$ ) als bei den Cerasorb<sup>®</sup> M-Biopsien mit  $33,3 \pm 11,7$  %. Die Restpartikelmenge im apikalen Bereich war bei den Ceros<sup>®</sup>-Biopsien mit

16,0 ± 10,4 % kleiner als bei Cerasorb<sup>®</sup> M mit 21,1 ± 17,1 %. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant ( $p \geq 0,05$ ). Auffällig war jedoch die geringere Spannweite der Werte in der Ceros<sup>®</sup>-Gruppe. Bei Cerasorb<sup>®</sup> M war das Minimum an Restpartikeln in der apikalen Region zwar bei 0 %, das Maximum lag jedoch bei 71,3 %. Die Ceros<sup>®</sup>-Werte dagegen schwankten nur zwischen 2,8 % und 35,8 %. Die Spannweite der Werte war somit mit 33,0 % wesentlich kleiner als bei Cerasorb<sup>®</sup> M. Der Anteil an Knochenmark und Bindegewebe im apikalen Anteil war mit 45,0 ± 15,0 % bei Cerasorb<sup>®</sup> M statistisch nicht signifikant kleiner ( $p \geq 0,05$ ) als bei Ceros<sup>®</sup> mit 47,7 ± 9,4 % (siehe Abbildung 18).

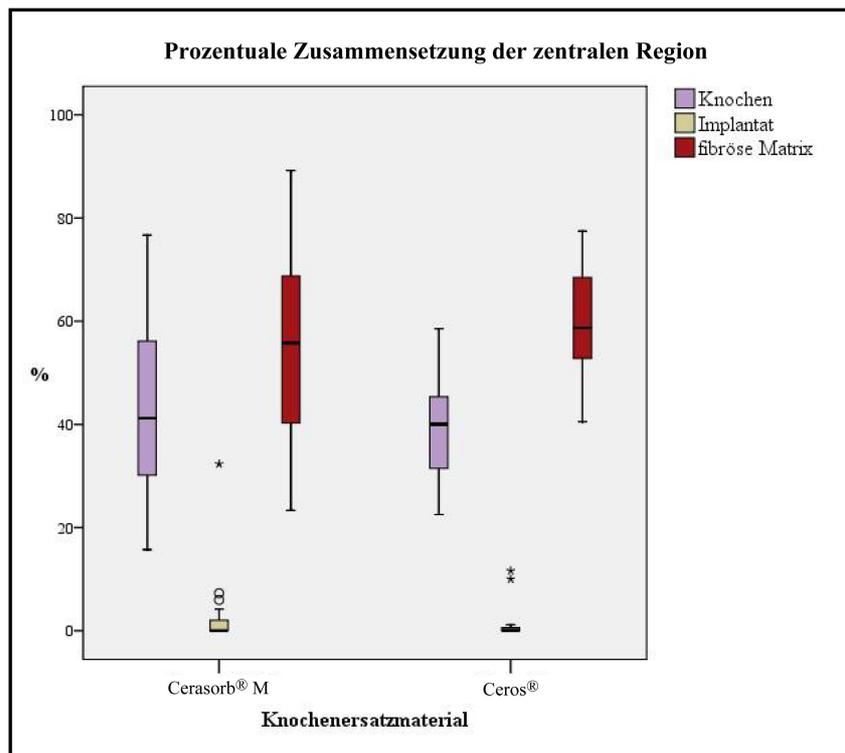


**Abbildung 18: Übersicht über die prozentualen Zusammensetzungen der apikalen Region bei Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup>**

Keine statistisch signifikanten Unterschiede in der prozentualen Zusammensetzung bei deutlich geringeren Spannweiten in den Werten der Ceros<sup>®</sup>-Gruppe. Besonders auffällig war das Maximum der Implantatmenge bei Cerasorb<sup>®</sup> M (markiert als milder Ausreißer).

Der Vergleich der zentralen Regionen ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied ( $p \geq 0,05$ ) in der Knochenmenge zwischen beiden Gruppen. Während der Anteil an neu gebildetem Knochen im zentralen Bereich bei Cerasorb<sup>®</sup> M bei 43,9 ± 16,3 % lag, war er bei Ceros<sup>®</sup> mit 39,5 ± 9,8 % nur geringfügig kleiner. Die Restpartikelmenge in der Cerasorb<sup>®</sup> M-Gruppe lag bei 2,8 ± 7,3 % und in der Ceros<sup>®</sup>-Gruppe bei 1,3 ± 3,3 %. Auch hier waren keine

statistisch signifikanten Unterschiede nachweisbar ( $p \geq 0,05$ ). Bei Berücksichtigung der Mediane lag der Anteil an Ceros<sup>®</sup> im zentralen Bereich mit 0,7 % nah am Cerasorb<sup>®</sup> M mit 0 %. Der Anteil an Knochenmark war bei Cerasorb<sup>®</sup> M mit  $53,6 \pm 17,5$  % statistisch nicht signifikant kleiner ( $p \geq 0,05$ ) als bei Ceros<sup>®</sup> mit  $59,2 \pm 10,3$  %. Besonders auffällig waren hier wieder die geringeren Spannweiten aller Werte bei Ceros<sup>®</sup> gegenüber Cerasorb<sup>®</sup> M (siehe Abbildung 19).



**Abbildung 19: Übersicht über die prozentualen Zusammensetzungen der zentralen Region bei Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup>**

Auffällig kleinere Spannweiten aller Werte bei Ceros<sup>®</sup> bei statistisch nicht signifikanten Differenzen zwischen den beiden Gruppen.

### 3.2.3 Immunhistologie

Bei allen Patienten konnten mittels Immunhistologie Marker der osteoblastischen Genese nachgewiesen werden. Die negativen Kontrollen mit gereinigten Antikörpern des Kaninchen- bzw. Mausserums wiesen keine positive immunohistochemische Färbung auf.



**Abbildung 20: Negativkontrolle**

Aufgrund der negativ verlaufenden Peroxidasereaktion ist keine rötliche Färbung erkennbar. Falsch positive Ergebnisse konnten somit ausgeschlossen werden.

Die Beurteilung der immunohistochemisch markierten Schnitte basierte auf einer ordinalen Bewertungsskala. Für jede Biopsie innerhalb der beiden Gruppen wurde für jeden Marker und jeden untersuchten Bestandteil (zelluläre Komponenten und Matrix) jeweils ein Wert der Intensität für die apikale und die zentrale Region ermittelt. Aufgrund dieser ordinalen Skala erfolgte die Gesamtauswertung dieser Ergebnisse rein deskriptiv unter Zuhilfenahme von Medianen. Eine Übersicht über alle ermittelten Intensitäten liefern die erstellten Häufigkeitsdiagramme (siehe Abbildung 21 – 24). Sie stellen die Häufigkeitsverteilungen der Intensität der Markerexpression innerhalb der bewerteten zellulären Komponenten und Matrixbestandteile dar. Jedes Diagramm stellt, gesondert für jedes Knochenersatzmaterial, die Expression für einen Marker (Col 1, ALP, OC und BSP) in einer untersuchten Region (zentral und apikal) dar.

**Tabelle VIII und IX: Mediane der Markerepression in den untersuchten Regionen (apikal und zentral)**

Die Berechnung der Mediane erfolgte für jedes Knochenersatzmaterial und jeden verwendeten Marker separat. Beurteilt wurde die Intensität der Markerepression in verschiedenen zellulären Komponenten sowie Matrixbestandteilen. Der Stichprobenumfang von 20 ergibt sich aus der Patientenzahl eines verwendeten Knochenersatzmaterials.

**Tabelle VIII: Mediane der Markerepression in der apikalen Region**

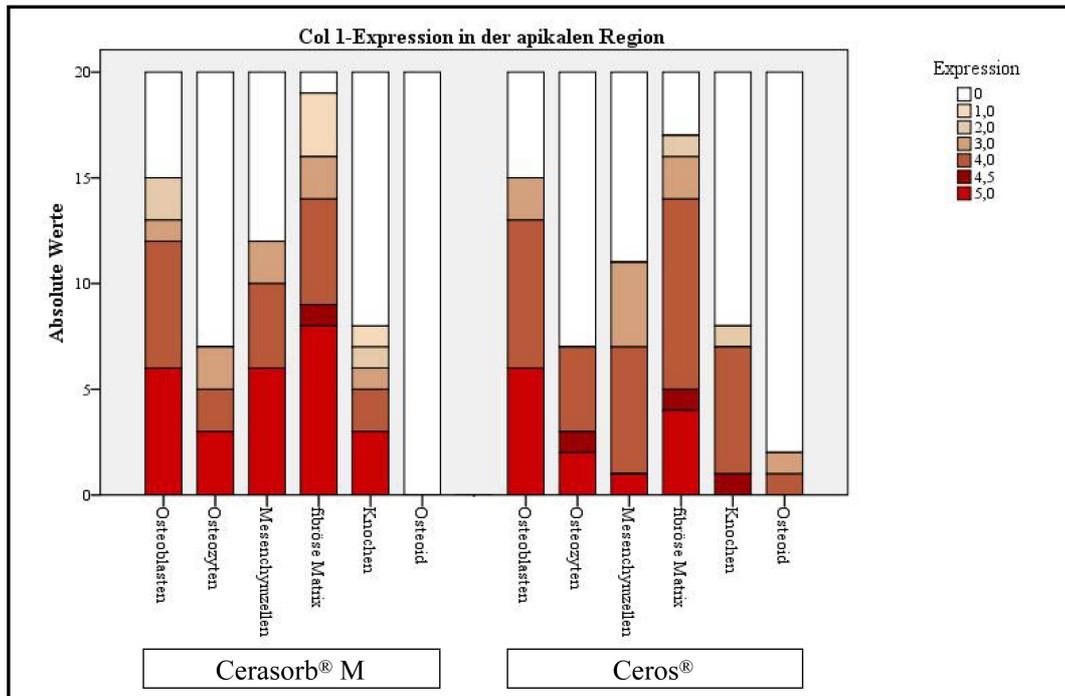
Marker	Implantat	Zelluläre Komponenten			Matrix		
		Osteoblasten	Osteozyten	Mesenchymzellen	fibröse Matrix	Knochen	Osteoid
Col1	Cerasorb® M	4	0	3,5	4	0	0
	Ceros®	4	0	3	4	0	0
ALP	Cerasorb® M	0	0	0	0	0	0
	Ceros®	0	0	0	0	0	0
OC	Cerasorb® M	0	0	0	2	0	0
	Ceros®	0	0	0	0	1	0
BSP	Cerasorb® M	4	0	0	5	0	0
	Ceros®	3,5	0	3,5	4	4	0

**Tabelle IX: Mediane der Markerepression in der zentralen Region**

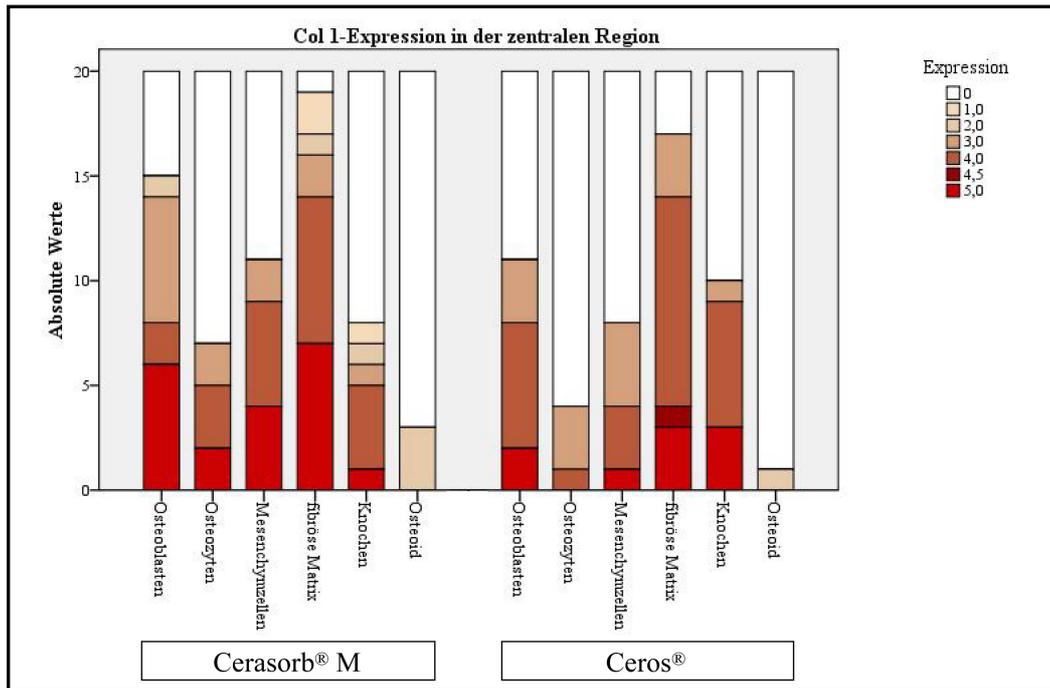
Marker	Implantat	Zelluläre Komponenten			Matrix		
		Osteoblasten	Osteozyten	Mesenchymzellen	fibröse Matrix	Knochen	Osteoid
Col1	Cerasorb® M	3	0	3	4	0	0
	Ceros®	3	0	0	4	1,5	0
ALP	Cerasorb® M	0	0	0	0	0	0
	Ceros®	0	0	0	0	0	0
OC	Cerasorb® M	0	0	0	2	1,5	0
	Ceros®	0	0	0	0	1,5	0
BSP	Cerasorb® M	4	0	0	4	0	0
	Ceros®	0	0	3,5	4	0	0

**Abbildung 21-24: Häufigkeiten der Markerexpressionen in den zellulären Bestandteilen sowie der Matrix**

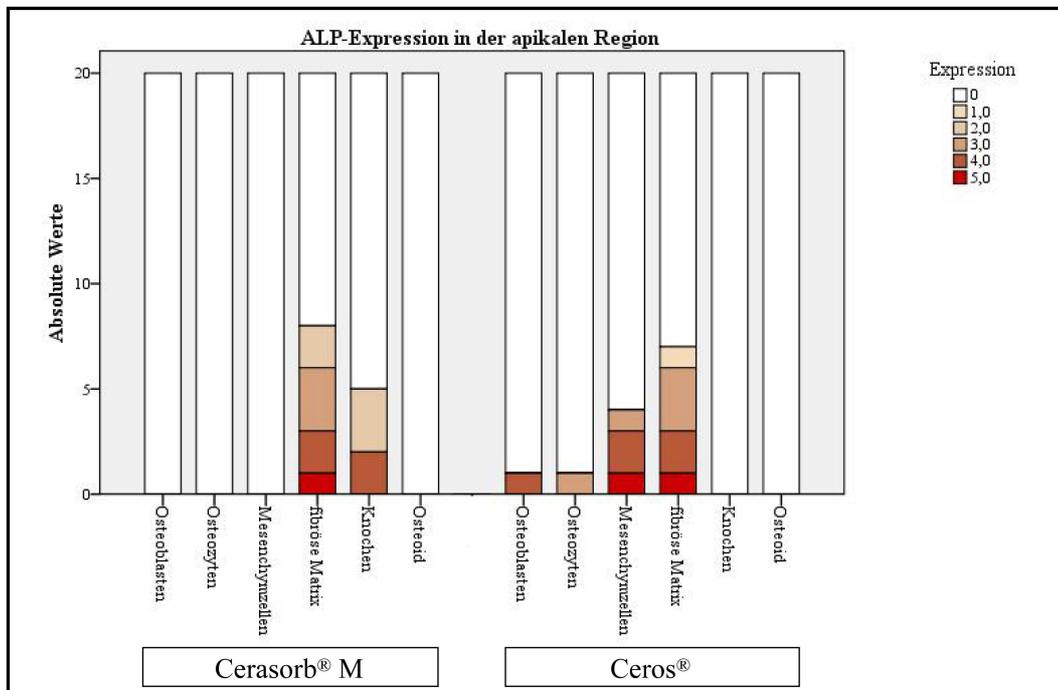
Die gestapelten Balkendiagramme stellen die Häufigkeit der Expression, geordnet nach ihrer Intensität von 0 bis 5, dar, so dass die Farbe der Balken dabei die Stärke der Färbung im histologischen Bild symbolisiert. N = 20



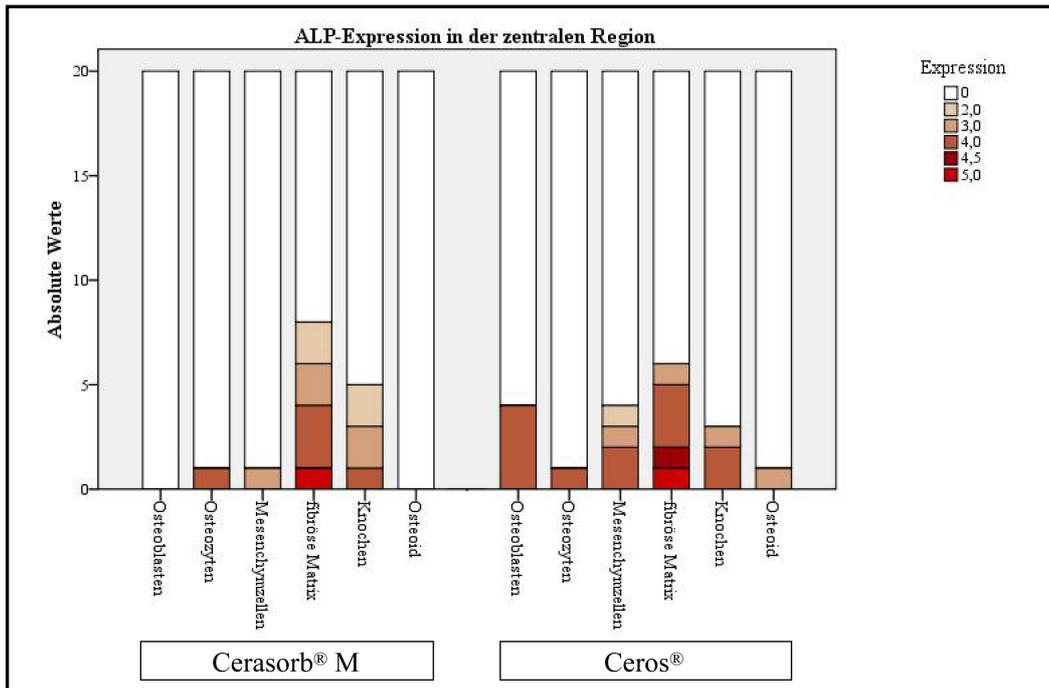
**Abbildung 21a: Häufigkeiten der Expression von Col 1 in der apikalen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisierung sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial**



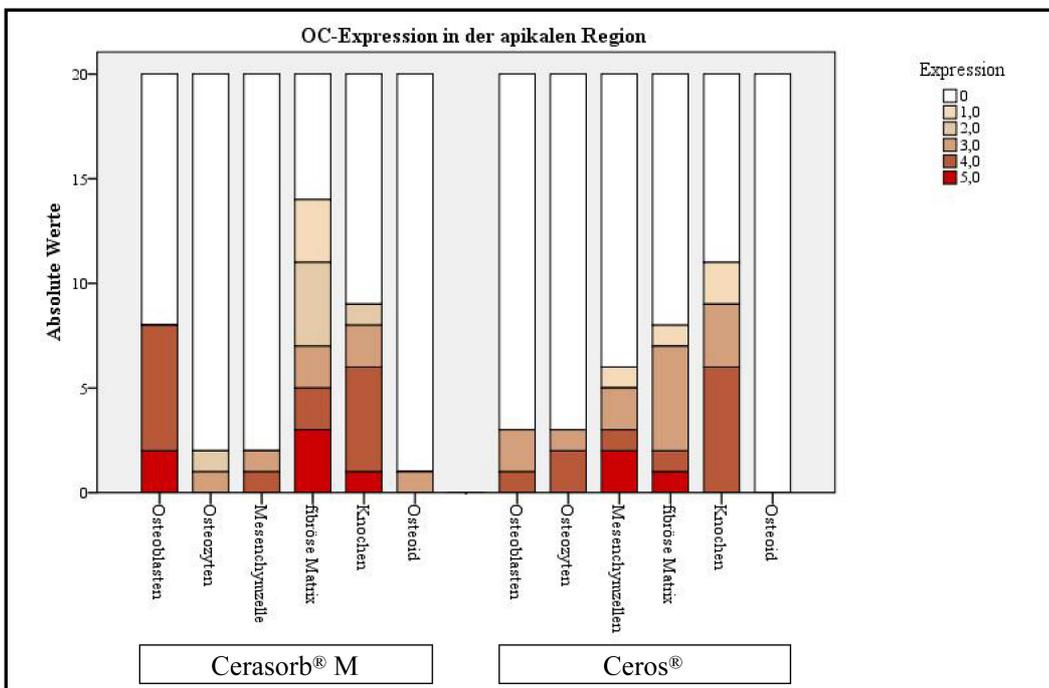
**Abbildung 21b:** Häufigkeiten der Expression von Col 1 in der zentralen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisation sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial



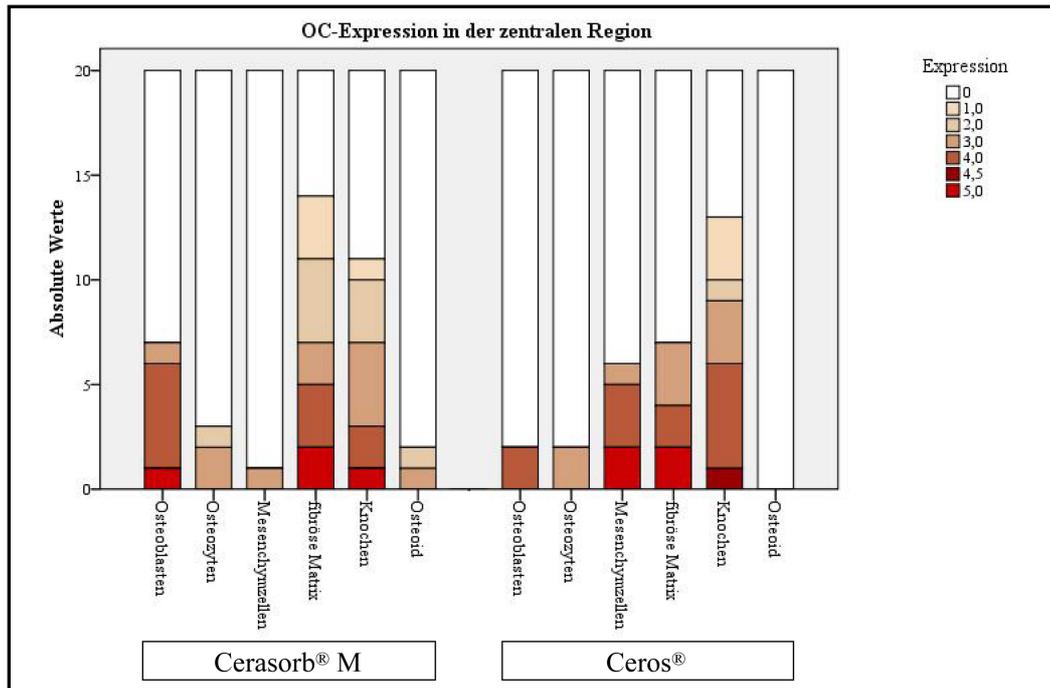
**Abbildung 22a:** Häufigkeiten der Expression von ALP in der apikalen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisation sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial



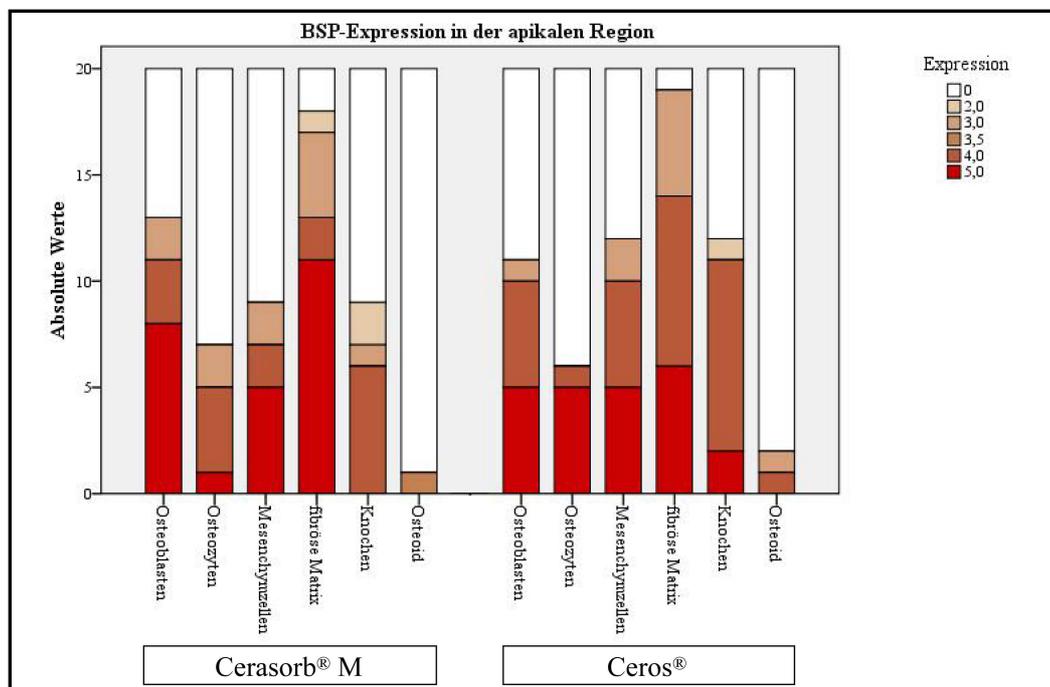
**Abbildung 22b:** Häufigkeiten der Expression von ALP in der zentralen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisation sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial



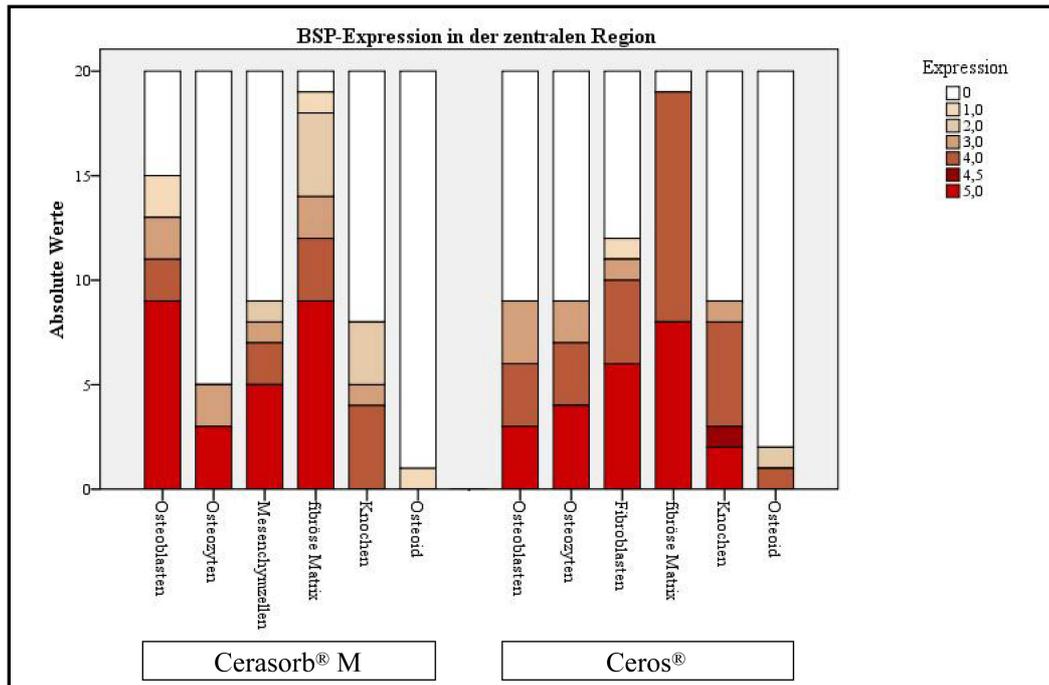
**Abbildung 23a:** Häufigkeiten der Expression von OC in der apikalen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisation sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial



**Abbildung 23b:** Häufigkeiten der Expression von OC in der zentralen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zellokalisierung sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial



**Abbildung 24a:** Häufigkeiten der Expression von BSP in der apikalen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zellokalisierung sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial



**Abbildung 24b:** Häufigkeiten der Expression von BSP in der zentralen Region, dargestellt in Abhängigkeit von der Gewebe- und Zelllokalisation sowie vom verwendeten Knochenersatzmaterial

### 3.2.3.1 Immunhistologie bei Cerasorb® M

Als Marker der Osteogenese wurden in der vorliegenden Studie jeweils zwei Marker der frühen und der späten Phase der Knochenbildung verwendet. Col 1 ist ein Marker der Proliferation und der ECM-Bildung. ALP wird während der postproliferativen Phase gebildet. OC und BSP sind Marker der Mineralisation.

**Col1** als Marker der Proliferation und extrazellulären Matrixbildung wurde bei Cerasorb® M im apikalen Bereich moderat bis stark von den Osteoblasten exprimiert (Median = 4). Auch die mesenchymalen Zellen zeigten hier eine moderate Expression (Median = 3,5). Es fand also in diesem Bereich eine Proliferation der osteoblastischen Zellen statt. Osteozyten sezernierten dagegen kaum Col 1. Bei ihnen konnte nur vereinzelt eine starke Expression nachgewiesen werden, wobei es sich um relativ junge Osteozyten handelte. Eine moderate bis starke Expression von Col 1 wurde ebenfalls in der fibrösen Matrix nachgewiesen (Median = 4),

besonders in enger Nachbarschaft zu den Osteoblasten und Präosteoblasten. Auch in der apikalen knöchernen Matrix konnte Col 1 vereinzelt nachgewiesen werden.

Im zentralen Anteil war die nachgewiesene Expression von Col 1 in den zellulären Komponenten etwas geringer als apikal. Die Osteoblasten und mesenchymalen Zellen sezernierten weniger Col 1 (Median = 3), wobei im Knochenmark auch hier eine moderate Färbung (Median = 4) erkennbar war. Der Nachweis in der zentralen knöchernen Matrix war hier wie auch in der apikalen Region nur vereinzelt möglich. Im Osteoid konnten wenige positive Reaktionen auf Col 1 nachgewiesen werden.

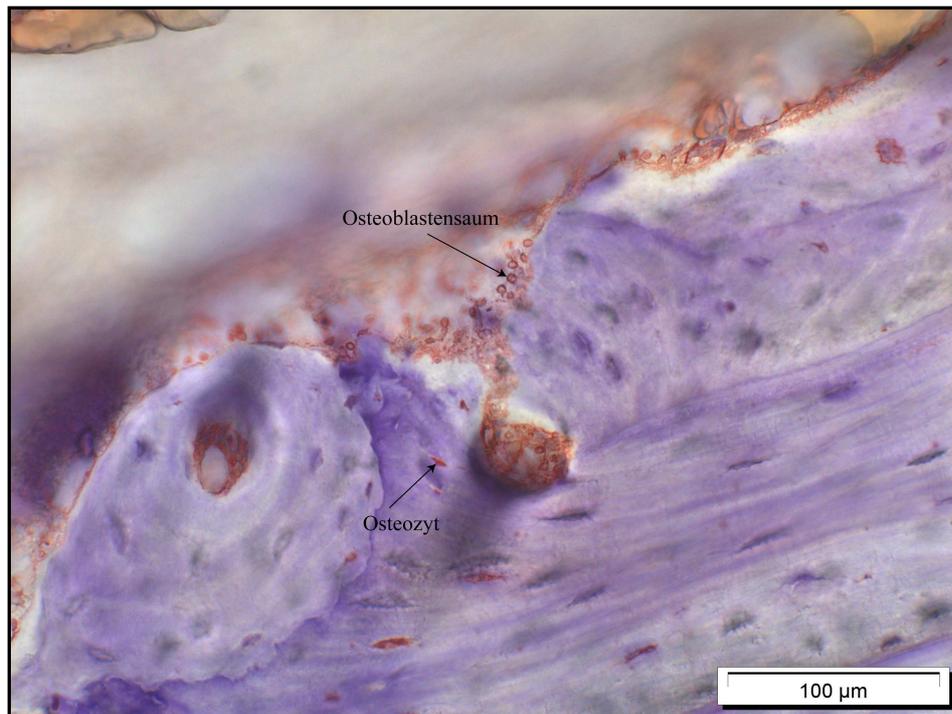
**ALP** als Marker der postproliferativen Phase konnte weder im apikalen noch im zentralen Bereich in zellulären Bestandteilen nachgewiesen werden. Vereinzelt Expressionen in der fibrösen Matrix und im Knochen wiesen keine Abhängigkeit von der untersuchten Region auf.

**OC** als Marker der Mineralisation konnte überwiegend in den Osteoblasten und ihrer Nachbarschaft nachgewiesen werden (siehe Abbildung 25). Während die Osteoblasten im apikalen Bereich bei acht Patienten OC moderat bis stark exprimierten, war bei den Osteozyten und mesenchymalen Zellen kaum eine Expression nachweisbar. Milde bis moderate positive Reaktionen in den fibrösen Arealen (Median = 2) und in vielen Knochenbereichen der apikalen Region sprachen für eine Mineralisation.

Der Nachweis von OC in den zentralen zellulären Komponenten korrelierte mit den Daten der apikalen Region. OC wurde von Osteoblasten gebildet und war auch hier in ihrer direkten Nachbarschaft der fibrösen Matrix vorhanden. In der knöchernen Matrix der zentralen Region war vermehrt OC nachweisbar. Bei über der Hälfte der Biopsien fand eine OC-Expression im Knochen statt (Median = 2), was auf Mineralisationszentren in diesem Gebiet hindeutete.

**BSP** als weiterer Marker der Mineralisation wurde, wie auch OC, überwiegend von den Osteoblasten sezerniert. Im apikalen Bereich wurde BSP moderat bis stark exprimiert (Median = 4) und war auch hier in enger Nachbarschaft zu den Zellen in der fibrösen Matrix nachweisbar (siehe Abbildung 26). Während in einigen Biopsien die Osteoblasten kein BSP exprimierten, war die immunhistochemische Reaktion in 90 % der Fälle in der fibrösen Matrix positiv. Reife Osteozyten bildeten kein BSP, und auch die mesenchymalen Zellen reagierten überwiegend negativ, wobei vereinzelt auch eine starke Expression nachgewiesen werden konnte. In der knöchernen Matrix der apikalen Region konnte in einem Drittel der Fälle eine moderate Expression von BSP nachgewiesen werden.

Auch im zentralen Bereich wurde BSP von den Osteoblasten moderat bis stark gebildet (Median = 4). In ihrer näheren Umgebung konnte hier in der fibrösen Matrix tendenziell etwas weniger BSP (Median = 4) nachgewiesen werden als apikal (Median = 5). Der Nachweis in Osteozyten und Mesenchymzellen war dem der apikalen Region entsprechend. Die bei 40 % der Cerasorb<sup>®</sup> M-Biopsien positive Reaktion in der knöchernen Matrix der zentralen Region bestätigte das Vorhandensein von Mineralisationszentren.



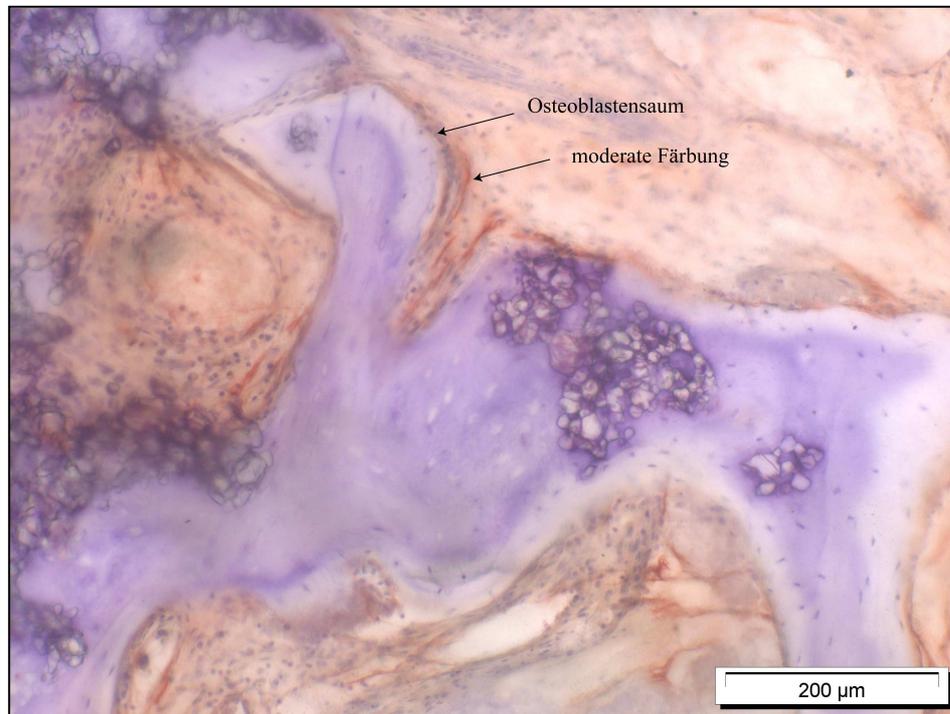
**Abbildung 25: Immunhistochemische Färbung von OC einer Cerasorb<sup>®</sup> M-Biopsie**

Während die Osteoblasten auf der Knochenoberfläche verstärkt OC exprimierten, reagierten nur vereinzelte oberflächlich gelegene Osteozyten positiv auf den Antikörper gegen OC.

Immunhistochemische OC-Färbung, Vergrößerung: 200x

Zusammenfassend kann für Cerasorb<sup>®</sup> M festgestellt werden, dass der Marker für Proliferation und ECM-Bildung verstärkt in der apikalen Region nachweisbar war. Die positiven Col 1-Färbungen der Osteoblasten und mesenchymalen Zellen zeigten eine Proliferation der osteogenen Zellen, und die moderate Expression in der fibrösen Matrix bestätigte eine ECM-Bildung. Mit der immunhistochemischen ALP-Färbung waren nur wenige Nachweise möglich. Die Marker der Mineralisation waren überwiegend in den Osteoblasten und der fibrösen Matrix erkennbar. Sowohl OC als auch BSP bestätigten in beiden untersuchten Regionen

Mineralisationszentren. Die Expression von OC war in den zentralen Bereichen des Knochens verstärkt.



**Abbildung 26: BSP-Expression in der zentralen Region einer Cerasorb® M-Biopsie**

Die moderate Färbung der mesenchymalen Matrix ist besonders in der Nähe der Osteoblasten erkennbar. Die zellulären Bestandteile weisen keine positive Färbung auf. Besonders gut erkennbar ist der zelluläre Kontakt zum  $\beta$ -TCP.

Immunhistochemische BSP-Färbung, Vergrößerung: 200x

### 3.2.3.2 Immunhistologie bei Ceros®

**Col 1** wurde als Marker der Proliferation vermehrt in den Osteoblasten und mesenchymalen Zellen exprimiert. Während Osteoblasten Col 1 im apikalen Bereich moderat bis stark exprimierten (Median = 4), reagierten reife Osteozyten negativ auf diesen Marker. In mesenchymalen Zellen war Col 1 moderat (Median = 3) nachweisbar (siehe Abbildung 27). Eine moderate bis starke Expression konnte ebenfalls in der fibrösen Matrix nachgewiesen werden, besonders in der Nähe von Osteoblasten und mesenchymalen Zellen. Auch in der apikalen knöchernen Matrix konnte Col 1 vereinzelt nachgewiesen werden.

Im zentralen Bereich wurde Col 1 in den zellulären Komponenten deutlich geringer exprimiert. Während apikal in 15 von 20 Biopsien Col 1 in Osteoblasten gebildet wurde, waren es zentral mit elf Biopsien und einem Median von 3 deutlich weniger. Ein wesentlicher Unterschied war auch die überwiegend negative Expression in mesenchymalen Zellen. Hier konnte nur noch vereinzelt eine moderate Färbung nachgewiesen werden, wobei 60 % der zentralen mesenchymalen Zellen kein Col 1 exprimierten. Das Knochenmark der zentralen Region wies wiederum eine dem apikalen Teil entsprechende moderate bis starke Färbung auf (Median = 4). In der knöchernen Matrix war Col 1 bei der Hälfte der untersuchten Biopsien moderat bis stark nachweisbar (Median = 1,5).

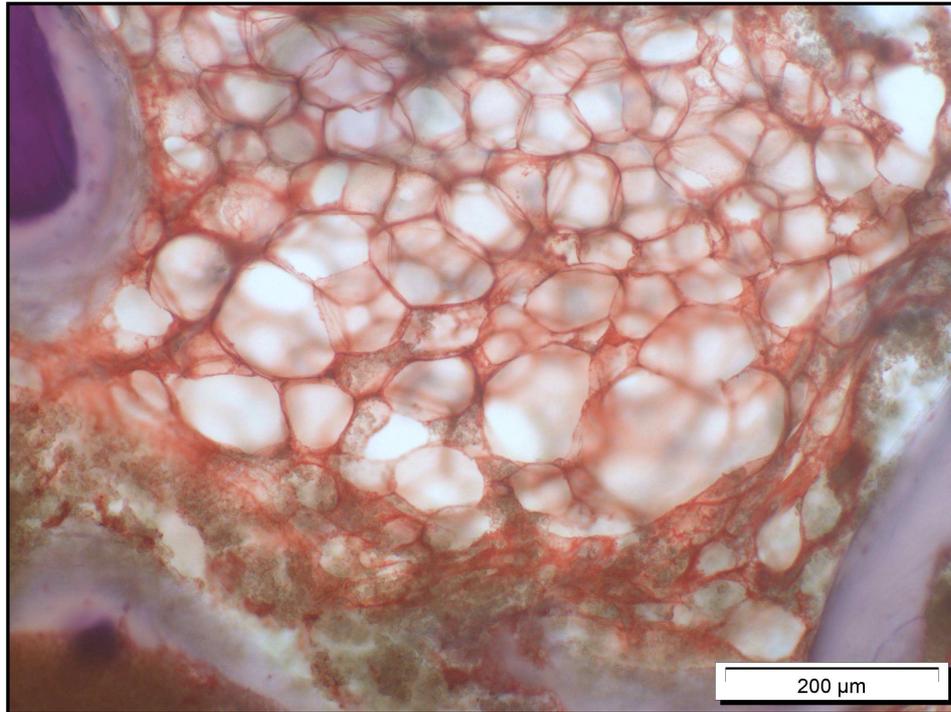


**Abbildung 27: Moderate bis starke Expression von Col 1 in der apikalen Region bei mesenchymalen Zellen**

Immunhistochemische Col 1-Färbung, Vergrößerung: 200x

Die **ALP** war im apikalen Bereich lediglich vereinzelt in mesenchymalen Zellen und dem umliegenden Bindegewebe nachweisbar, was darauf hindeutete, dass hier Zellen der osteoblastischen Zelllinie proliferierten. Im zentralen Bereich wurde die ALP vereinzelt auch in Osteoblasten und der knöchernen Matrix exprimiert.

**OC** als Marker der Mineralisation wurde in den zellulären Komponenten beider untersuchten Regionen insgesamt wenig sezerniert. In einzelnen Biopsien fand jedoch in mesenchymalen Zellen und der fibrösen Matrix eine moderate bis starke OC-Expressionen statt. In der knöchernen Matrix war OC in beiden Arealen nachweisbar, wobei eine etwas stärkere Expression zentral auf eine verstärkte Mineralisation in diesem Bereich hindeutete.



**Abbildung 28: Starke positive Färbung der fibrösen Matrix auf BSP in der zentralen Region**  
Immunhistochemische BSP-Färbung, Vergrößerung: 200x

Als weiterer Marker der Mineralisation wurde **BSP** im apikalen Bereich moderat von Osteoblasten und mesenchymalen Zellen sezerniert (Median = 3,5). Die Osteozyten wiesen im Mittel keine Expression auf, wobei vereinzelt auch eine starke Reaktion nachgewiesen werden konnte. In der fibrösen sowie der knöchernen Matrix der apikalen Region wurde BSP moderat bis stark gebildet (Median = 4).

Im zentralen Bereich war deutlich weniger BSP in den Osteoblasten nachweisbar. Hier waren es vermehrt die Osteozyten, die positiv auf BSP reagierten. Bei neun Biopsien war in den Osteozyten der zentralen Region eine moderate bis starke Färbung zu beobachten. Während in der fibrösen Matrix auch hier eine moderate Expression stattfand (siehe Abbildung 28), lag der Median der BSP-Expression in der knöchernen Matrix mit 0 deutlich unter dem apikalen Wert. Der Vergleich der Häufigkeiten der Expression in der knöchernen Matrix wies jedoch nur

geringe Unterschiede auf. Während im apikalen Bereich 55 % der Biopsien eine moderate bis starke Färbung auf BSP zeigten, waren es zentral noch 45 %.

Bei den Ceros<sup>®</sup>-Biopsien bestätigte die Col 1-Expression im apikalen und zentralen Bereich eine voranschreitende Proliferation und ECM-Bildung. Während im apikalen Bereich die Marker der frühen Knochenbildung (Col 1 und ALP) eher zellulär und vor allem in den mesenchymalen Zellen nachweisbar waren, waren es im zentralen Bereich eher die Osteoblasten und Matrixbestandteile wie Knochen und Knochenmark, die positiv reagierten.

Die Marker der Mineralisation bestätigten in beiden untersuchten Bereichen andauernde Mineralisationsprozesse. Während OC vermehrt zentral nachweisbar war, wurde BSP als weiterer Marker der Mineralisation etwas stärker apikal in den Osteoblasten und der knöchernen Matrix sezerniert.

### **3.2.3.3 Immunhistologischer Vergleich der verwendeten $\beta$ -TCP-Keramiken**

Die Expressionsmuster der osteogenen Marker wiesen bei beiden Knocheneratzmaterialien folgende Gemeinsamkeiten auf:

- Col 1, OC und BSP konnten sowohl in den zellulären als auch in den Matrixbestandteilen nachgewiesen werden, wobei Osteoid als einzige Komponente nur minimal reagierte.
- Während mesenchymale Zellen und Osteoblasten im Verlauf der Osteogenese vermehrt Col 1 und nicht kollagene Matrixproteine sezernierten, bildeten Osteozyten nur vereinzelt Marker, was auf ihren Reifezustand zurückzuführen ist.
- Die hier verwendeten osteogenen Marker konnten besonders in direkter Nachbarschaft zu Osteoblasten und Mesenchymzellen nachgewiesen werden.
- Der Nachweis von ALP in den Biopsien war aufgrund der minimalen Anfärbung der Schnitte nicht zufriedenstellend.

Es soll nochmals darauf hingewiesen werden, dass die Differenzierung der Zellen aufgrund ihrer Morphologie erfolgte. Durch die Dicke der Schnitte und der damit verbundenen Überlagerung waren Überschneidungen innerhalb der Expressionsmuster möglich.

Aus dem Vergleich der immunhistologischen Daten von Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup> konnte folgendes festgestellt werden:

Aus dem immunhistochemischen Nachweis von Col 1 war erkennbar, dass sich die Osteogenese im apikalen Bereich beider Knochenersatzmaterialien in einem früheren Stadium befand als zentral. Die stärkere Expression in Osteoblasten und mesenchymalen Zellen in den apikalen Bereichen deutete auf eine verstärkte Knochenneubildung hin. In der zentralen Region der Ceros<sup>®</sup>-Biopsien war Col 1 auch im Knochen nachweisbar, was wiederum auf andauernde Knochenan- bzw. -umbauprozesse hindeutete.

Als Marker der postproliferativen Phase war die ALP nur selten in den untersuchten Biopsien nachweisbar.

OC als Marker der späten Knochenbildung und Mineralisation wurde verstärkt im zentralen Knochenanteil exprimiert, was bei beiden Knochenersatzmaterialien in diesem Bereich eine weiter vorangeschrittene Knochenbildung bestätigte.

Die Ergebnisse für BSP, dem zweiten Marker der Mineralisation, deuteten auf Mineralisationsvorgänge in beiden Bereichen hin. Während beim Cerasorb<sup>®</sup> M apikal und zentral ähnliche Expressionsmuster für BSP gefunden wurden, unterschieden sich diese bei den Ceros<sup>®</sup>-Biopsien. Die BSP-Bildung in den Osteoblasten und der knöchernen Matrix war hier apikal stärker als zentral ausgeprägt.

## 4. Diskussion

Die Knochenersatzmaterialien in der zahnärztlichen Implantologie sollen augmentative Maßnahmen vereinfachen und das Risiko der Entnahmemorbidität bei Eigenknochentransplantaten einschränken (Buser *et al.*, 1998; Zijdeveld *et al.*, 2005). In der modernen Zahnmedizin ist daher die Verwendung von Knochenersatzmaterialien eine bevorzugte Therapiemaßnahme (von Arx *et al.*, 2001). Idealerweise sollte ein Knochenersatzmaterial als Leitschiene für die Knochenneubildung fungieren und analog zur Knochenablagerung resorbiert werden (Ohgushi *et al.*, 1990; Yaszemski *et al.*, 1996; Wheeler, 1997; von Arx *et al.*, 2001; Peters und Reif, 2004; Zijdeveld *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2007). Bei augmentativen Maßnahmen wie der Sinusbodenelevation ist das Resorptionsverhalten von besonderem Interesse. Das Knochenersatzmaterial erfüllt hier während der Knochenneubildung eine Platzhalterfunktion (Orsini *et al.*, 2004; Jensen *et al.*, 2006), die die angehobene Schneidersche Membran unterstützt. Eine zu schnelle Resorption kann zum Kollaps der Membran und damit zu einem verminderten Knochenangebot führen (Buser *et al.*, 1996; Buser *et al.*, 1999). Andererseits erscheint eine relativ schnelle Degradation des Materials wünschenswert, um eine Osseointegration des Implantates (Wheeler, 1997; Zijdeveld *et al.*, 2005) und ein ungestörtes Remodeling des Knochens (Yaszemski *et al.*, 1996; Zerbo *et al.*, 2004; Palm *et al.*, 2006) zu ermöglichen.

Vergleichend mit dem autogenen Knochen als früherem Goldstandard sollte ein ideales Knochenersatzmaterial nicht nur biokompatibel sein, sondern möglichst auch einen positiven Einfluss auf die Knochenneubildung haben (Neo *et al.*, 1998; Jensen *et al.*, 2006). Die Eigenschaft von Knochenersatzmaterialien, eine Verbindung mit dem umliegenden Gewebe einzugehen, wird von einigen Autoren als Bioaktivität bezeichnet (Ohgushi *et al.*, 1990). Im Idealfall sollte diese Bindung größtenteils aus neu gebildeten Knochen bestehen (Artzi *et al.*, 2004; Peters und Reif, 2004). Die Neubildung von Knochen beinhaltet die Differenzierung und Proliferation von Zellen der osteoblastischen Zelllinie in enger Nachbarschaft zum Knochenersatzmaterial (Ohgushi *et al.*, 1990; Ducheyne und Qiu, 1999). Osteoblasten synthetisieren und sezernieren während ihrer Differenzierung Col 1 und weitere, nicht kollagene, Proteine, die als Marker der Osteogenese genutzt werden können (Aubin, 1998; Neo *et al.*, 1998). Als Marker der frühen Stadien der osteoblastischen Differenzierung gelten Col 1 und ALP, während OC und BSP von vollständig differenzierten Osteoblasten sezerniert werden und bei der extrazellulären Matrixmineralisation mitwirken (Aubin, 1998; Buser *et al.*, 1999).

Die Untersuchung von Knochenersatzmaterialien erfordert somit geeignete Verfahren, die neben der Quantifizierung der Knochenneubildung und der Restpartikelmenge eine Charakterisierung der Gewebsantwort ermöglichen.

Ziel der Studie war es, die knöcherne Regeneration nach Sinusbodenaugmentation mit zwei hochporösen  $\beta$ -TCP-Keramiken zu untersuchen, wobei das Degradations- und Resorptionsverhalten der beiden Präparate und ihr Einfluss auf die Knochenneubildung von besonderem Interesse waren. Bei den verwendeten Keramiken handelte es sich um die klinisch angewandten Granulate Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup>.

Die Untersuchung der 40 Patiententibiopsien erfolgte histologisch, histomorphometrisch und immunhistologisch. Die histologischen Schnitte lieferten dabei eine Übersicht des augmentierten Gebietes. Ihre Auswertung sollte Aufschluss über das Verhalten der Granulate *in vivo* geben und eine Betrachtung des Knochen-Implantat-Interfaces ermöglichen. Das Degradationsverhalten der Partikel und die Dichte des neu gebildeten Knochens konnten anhand der histomorphometrischen Daten ermittelt werden. Die Immunhistologie diente der Charakterisierung der Zell- und Gewebsreifung. Sie ergänzte die histomorphometrischen Ergebnisse. Da ein universeller Marker für alle Stadien der osteoblastischen Differenzierung nicht existiert (Zreiqat *et al.*, 1996) und zudem das Stadium der Knochenneubildung von besonderem Interesse für die Implantatinsertion erscheint, wurde die Gewebsantwort semi-quantitativ, anhand verschiedener Marker, untersucht.

#### 4.1 Studiengestaltung

Von besonderem Interesse war die praxisnahe Gestaltung der Studie, um klinisch relevante Aussagen treffen zu können und diese mit tierexperimentellen Daten sowie *in-vitro*-Studien zu vergleichen. Die Entnahme der Biopsien erfolgte nach einer Einheilphase von sechs Monaten simultan mit der Pilotbohrung bei Implantatinsertion. Die Dauer der Einheilphase entspricht dabei dem gängigen Verfahren der zweizeitigen Sinusbodenaugmentation (Wiltfang *et al.*, 2003; Strietzel, 2004). Somit stellten die gewonnenen Daten den Zustand der knöchernen Regeneration bei Implantatinsertion dar.

Die Patientenauswahl erfolgte aus dem Patientenstamm einer niedergelassenen Praxis. In die Studie fanden Patienten Einschluss, die sich mit dem Wunsch nach einer Implantation bei insuffizientem Knochenangebot in der posterioren Maxilla vorstellten und bei denen eine

Indikation zur Sinusbodenaugmentation bei zweizeitiger Implantation bestand. Auf Kontrollgruppen wurde in dieser Studie aus ethischen Gründen verzichtet. Diese sind zudem für den Vergleich zweier Knochenersatzmaterialien nicht zwingend erforderlich und gegebenenfalls durch Daten aus tierexperimentellen Studien zu ersetzen.

## 4.2 Klinische Ergebnisse

Die chirurgischen Eingriffe verliefen in beiden Gruppen komplikationslos. Bei den Sinusbodenaugmentationen kam es bei keinem der 40 Patienten zu Perforationen der Kieferhöhlenschleimhaut und auch postoperative Komplikationen, wie Sinusitiden oder Wundheilungsstörungen, wurden nicht beobachtet. Dieses positive Ergebnis kann auf die Patientenauswahl zurückzuführen sein, denn sowohl Raucher als auch anamnestisch auffällige Patienten wurden nicht mit in die Studie einbezogen.

Während in vielen Studien der Verlust von Granulaten nach Augmentation häufig als Komplikation erwähnt wird (Horch *et al.*, 2006; Palm *et al.*, 2006), ließen die postoperativen Kontrollen weder bei Cerasorb<sup>®</sup> M noch bei Ceros<sup>®</sup> austretendes Augmentationsmaterial erkennen. Die Morphologie des Defektes bei der Sinusbodenaugmentation scheint eine ideale Voraussetzung für einen dichten und stabilen Verschluss der Granulate zu bieten.

Für die gute Anwendbarkeit beider Knochenersatzmaterialien spricht die Überlebensrate der Implantate. Von den insgesamt 122 gesetzten Implantaten (55 bei Cerasorb<sup>®</sup> M und 67 bei Ceros<sup>®</sup>) kam es nur bei drei Patienten zu jeweils einem Implantatverlust. Dies entspricht einer Gesamtüberlebensrate von 97,6 % (98,19 % bei Cerasorb<sup>®</sup> M und 97,01 % bei Ceros<sup>®</sup>). Die in der Literatur vorgefundenen Angaben der Überlebensrate von Implantaten nach Sinusbodenaugmentation schwanken aufgrund der Heterogenität der Studien und der damit verbundenen Einfluss nehmenden Faktoren (Graziani *et al.*, 2004). Die Auswertung von 30 prospektiven und retrospektiven Studien ergab eine durchschnittliche Verlustrate von 7 – 8 % bei einem Beobachtungszeitraum von zwei bis fünf Jahren (Strietzel, 2004). Ferner konnte in einer weiteren retrospektiven Studie ein Verlustmaximum zwischen dem vierten und sechsten Monat nach Implantation, also während der Einheil- bzw. prothetischen Versorgungsphase, beobachtet werden (Tetsch und Tetsch, 2006). Die Überlebensraten der Implantate in der vorliegenden Studie sind somit vergleichbar mit den in der Literatur vorgefundenen Angaben, wobei der relativ kurze Beobachtungszeitraum mit in Betracht gezogen werden muss. Ein

direkter Vergleich der Überlebensraten der Implantate ist nur bedingt möglich, da die Ceros<sup>®</sup>-Patienten, aufgrund der zeitlich versetzten Augmentation gegenüber den Cerasorb<sup>®</sup> M-Patienten, bis zum Ablauf der Studie insgesamt kürzer beobachtet wurden.

Ergänzend zu der Überlebensrate können die entnommenen Biopsien als positives Ergebnis für die knöcherne Regeneration gewertet werden. Während die vor der Augmentation gemessene Restknochenhöhe 1 – 3 mm betrug, konnten nach sechs Monaten Biopsien von 8 – 12 mm Länge in beiden Patientengruppen entnommen werden. In der retrospektiven Studie von Tetsch und Tetsch lag der durchschnittliche Höhengewinn nach Sinusbodenelevation in der Molarenregion bei 9,1 – 9,7 mm (Tetsch und Tetsch, 2006). Trotz der fehlenden röntgenologischen Vermessung korrelieren diese Daten mit der Länge der entnommenen Biopsien in unserer Studie.

### 4.3 Diskussion der histologischen Ergebnisse

Die ausgezeichnete Biokompatibilität (Ohgushi *et al.*, 1990; Ohsawa *et al.*, 2000; Artzi *et al.*, 2004), die  $\beta$ -TCP in vielen Studien nachgewiesen wurde, kann in dieser Studie für beide Keramiken bestätigt werden. Es waren keinerlei entzündliche Prozesse in der näheren Umgebung der Granulate erkennbar, und die verbleibenden Partikel waren größtenteils knöchern ummantelt. Vielerorts waren Zellen der osteoblastischen Zelllinie im direkten Kontakt zum Knochenersatzmaterial erkennbar. Auch die interne Knochenbildung in beiden Präparaten sprach für eine exzellente Biokompatibilität.

Die Biopsien beider Gruppen enthielten den ortsständigen Knochen sowie die augmentierten Bereiche. Während nahe des Sinusbodens (zentral)  $\beta$ -TCP durch neu gebildeten Knochen ersetzt wurde, waren weiter entfernt (apikal) noch Granulate erkennbar. Die am weitesten apikal gelegenen Partikel wiesen kaum eine knöcherne Integration auf. Während bei Cerasorb<sup>®</sup> M apikal überwiegend Knochenersatzmaterial erkennbar war, waren im apikalen Abschnitt bei einigen Ceros<sup>®</sup>-Patienten bindegewebig ummantelte Granulate erkennbar. Bei starker Vergrößerung der histologischen Schnitte konnte auch hier eine beginnende Osteogenese nachgewiesen werden. Diese Beobachtungen stimmen mit den Ergebnissen anderer Autoren überein (von Arx *et al.*, 2001; Zerbo *et al.*, 2005). Zerbo und Kollegen konnten mit einer immunhistochemischen Markierung der mesenchymalen Zellen an den  $\beta$ -TCP-Granulaten beweisen, dass es sich hierbei überwiegend um Präosteoblasten handelt (Zerbo *et al.*, 2005). Verantwortlich für die starke bindegewebige Reaktion in den schleimhautnahen Bereichen könnte die kantige Morphologie der Ceros<sup>®</sup>-Partikel sein. Die Nähe zur Schneiderschen

Membran in diesem Bereich spricht für eine Reaktion der Schleimhaut auf die darunter liegenden Granulate. Des Weiteren war dieses Verhalten bei keinem Patienten in den zentralen Anteilen der Biopsie zu beobachten. Als mögliche Ursachen dieser bindegewebigen Proliferation kommen auch unerkannte Perforationen sowie respiratorisch bedingte Mikrobewegungen der Schleimhaut in Betracht, die verstärkend auf Relativbewegungen durch Kaukraftübertragung vom Alveolarkamm wirken können. Nicht erkannte intraoperative Perforationen bei Augmentation können aufgrund der Erfahrung des Operateurs ausgeschlossen werden. Durch Mikrobewegung der Schleimhaut kann einerseits der apikale Anteil relativ zum Rest verschoben werden, andererseits können die kantigen Ceros<sup>®</sup>-Granulate die Schleimhaut verletzen. Eine relative Verschiebung bei Cerasorb<sup>®</sup> M kann dagegen aufgrund der abgerundeten Granulate keine Verletzung bewirken. Eine bindegewebige Ummantelung von Ceros<sup>®</sup>-Partikeln konnte bereits in einer tierexperimentellen Studie beobachtet werden (von Arx *et al.*, 2001). Die laterale Augmentation im Unterkiefer eingebrachter Defekte mit Ceros<sup>®</sup> führte trotz der Abdeckung mit einer Membran und deren Fixierung mit Schrauben zu einer Instabilität der Granulate. Als Folge dieser Mikrobewegungen waren große Teile der Granulate und auch die Fixationsschrauben selbst bindegewebig ummantelt.

In den histomorphometrischen Daten war dieses Verhalten nicht erkennbar, da in der vorliegenden Studie keine Differenzierung von Bindegewebe und Knochenmark erfolgte. Um die Reaktion der Schleimhaut auf die Ceros<sup>®</sup>-Partikel zu vermeiden, scheint es empfehlenswert, die Schleimhaut in weiteren Studien unabhängig von ihrer Dicke konsequent mit einer Membran abzudecken. Ob jedoch dadurch Mikrobewegungen vermieden werden können, ist in Anbetracht der Ergebnisse von von Arx eher kritisch zu bewerten (von Arx *et al.*, 2001).

#### 4.4 Diskussion der histomorphometrischen Daten

Die histomorphometrischen Ergebnisse dieser Studie bestätigen beiden  $\beta$ -TCP-Präparaten ein gutes osteokonduktives Verhalten.  $\beta$ -TCP wirkt als Platzhalter und bildet ein Gerüst für einwachsenden Knochen. (Buser *et al.*, 1998; Koepp *et al.*, 2004; Zerbo *et al.*, 2004; Zerbo *et al.*, 2005; Horch *et al.*, 2006) Der Vergleich der histomorphometrischen Daten in den beiden vermessenen Regionen lässt beim Cerasorb<sup>®</sup> M eindeutig eine Korrelation zwischen Knochenneubildung und Abstand zum ortsständigen Knochen erkennen. Während der prozentuale Anteil an Knochen in den sinusbodennahen Regionen  $43,9 \pm 16,3$  % betrug, waren es nah der Sinusschleimhaut  $33,3 \pm 11,7$  %. Mit größerem Abstand zum ortsständigen Knochen

nahm die Knochenneubildung um 10,6 % ab. Auffällig war auch die statistisch hochsignifikante Differenz der Partikeldegradation. Während apikal noch  $21,1 \pm 17,1$  % Cerasorb<sup>®</sup> M vorhanden war, waren es in der Nähe des ortständigen Knochens  $2,8 \pm 7,4$  %. Die Partikeldegradation nahm also mit zunehmendem Abstand zum Sinusboden ab. Die Ergebnisse weisen auf ein gutes osteokonduktives Verhalten hin und unterstützen die Annahme, dass sich die Partikeldegradation und die Knochenneubildung gegenseitig beeinflussen (Ducheyne und Cuckler, 1992; Ducheyne und Qiu, 1999).

Die prozentuale Zusammensetzung der verschiedenen Areale bei den Ceros<sup>®</sup>-Biopsien unterschied sich von denen der Cerasorb<sup>®</sup> M-Biopsien. Während die Restpartikelmenge im apikalen Bereich ( $16,0 \pm 10,4$  %) statistisch signifikant höher war als zentral ( $1,3 \pm 3,3$  %), war die Knochenneubildung im zentralen Bereich mit  $39,5 \pm 9,8$  % lediglich um 3,2 % höher als im schleimhautnahen Bereich. Als mögliche Ursache dieser geringen Differenz könnte ein fehlendes osteokonduktives Verhalten angesehen werden. Gegen diese Annahme spricht jedoch der statistisch signifikant höhere Anteil an Restgranulat im apikalen Bereich und die zentral auffällig geordnete trabekuläre Struktur des spongiösen Knochens. Während neu gebildeter Knochen geflechtartig angeordnet ist, deutet Lamellenknochen auf eine ausgereifte Knochenstruktur hin (Yaszemski *et al.*, 1996). Durch mechanische Adaptation und Knochenumbauvorgänge kann die Knochendichte reduziert werden, so dass morphometrisch weniger Knochen gemessen werden kann (Eggli *et al.*, 1988; Koepf *et al.*, 2004). Geringere Knochendichten führen also nicht zwangsläufig zu einer verminderten Knochenqualität (Davies, 2003). Des Weiteren spricht gerade der hohe knöcherne Anteil in der apikalen Region für eine weit vorangeschrittene Knochenbildung. In einer nicht augmentierten posterioren Region des Oberkiefers ist die Knochendichte mit 38 – 40 % annähernd gleich den mit Ceros<sup>®</sup> augmentierten Bereichen (Tadjoedin *et al.*, 2002). Somit kann auch beim Ceros<sup>®</sup> ein osteokonduktives Verhalten angenommen werden, auch wenn die morphometrischen Daten keine statistisch signifikanten Unterschiede in der neu gebildeten Knochenmenge erkennen ließen.

Der Vergleich der histomorphometrischen Daten mit anderen Studien ist aufgrund der unterschiedlichen Rahmenbedingungen schwierig. Beim Vergleich tierexperimenteller Daten mit humanen klinischen Studien darf nicht außer Acht gelassen werden, dass die auf den Defekt wirkenden Kräfte nicht unbedingt den physiologischen Zustand widerspiegeln (Artzi *et al.*, 2004). Zudem ist die Regeneration von  $\beta$ -TCP abhängig von der Größe des Defektes, dem Implantationsort, dem individuellen osteogenen Potential und den Materialeigenschaften (Horch *et al.*, 2006). Das individuelle osteogene Potential musste bereits innerhalb dieser Studie

unberücksichtigt bleiben, da die beiden Biomaterialien an unterschiedlichen Patienten eingesetzt wurden und kein Split-mouth-Design vorlag. Unter diesem Gesichtspunkt sind auch die histomorphometrischen und immunhistologischen Daten dieser Studie und die Vergleichbarkeit der Materialien miteinander zu werten.

Beim Vergleich der Ergebnisse dieser Studie mit den in der Literatur vorgefundenen Daten muss zudem berücksichtigt werden, dass es sich hierbei um eine Mischung aus  $\beta$ -TCP mit autogenem Knochen im Verhältnis 4:1 handelte. Dies entspricht einer gängigen Behandlungsmaßnahme bei der Augmentation größerer Defekte (Horch *et al.*, 2006), jedoch nicht der üblichen Voraussetzung in Studien. Die Verwendung von Kortikalischips kann die Knochenneubildung mit beeinflussen. So bilden die Späne einerseits ein osteokonduktives Agglomerat und setzen andererseits simultan zur Resorption Wachstumsfaktoren frei (Merten *et al.*, 2003).

Die Angaben über die Restpartikelmenge nach Sinusbodenaugmentation schwanken in der Literatur zwischen 8 und 44 % nach sechs bis acht Monaten (Zerbo *et al.*, 2001; Szabo *et al.*, 2005; Suba *et al.*, 2006). Artzi und Kollegen untersuchten lateral entnommene Knochenbiopsien zwölf Monate nach Sinusbodenaugmentation mit Cerasorb<sup>®</sup> und fanden eine Restpartikelmenge von 27,9 bis 23,2 % in Abhängigkeit von der Tiefe der vermessenen Areale (Artzi *et al.*, 2005). Durch die unterschiedlichen Techniken der Morphometrie ist ein direkter Vergleich der Daten zwar nicht möglich, dennoch kann aufgrund der Lokalisation der Biopsieentnahme davon ausgegangen werden, dass die gewonnenen Biopsien den apikalen Anteil mit umfassten. Die Verwendung von Cerasorb<sup>®</sup> M (mit einer höheren Porosität als Cerasorb<sup>®</sup>) in der vorliegenden Studie resultiert in einer beschleunigten Regeneration (Knabe *et al.*, 2008c), wird jedoch durch das unterschiedliche Verhältnis von  $\beta$ -TCP und autogenem Knochen (1:1 bei Artzi und 4:1 in der vorliegenden Studie) beeinflusst. Beide Studien zeigen, dass weder bei Implantatinsertion noch sechs Monate danach von einer vollständigen Partikeldegradation nach Augmentation mit  $\beta$ -TCP ausgegangen werden kann. Die höhere Porosität der in dieser Studie verwendeten Keramik bewirkt jedoch deutlich kürzere Resorptionszeiten im Vergleich zum Cerasorb<sup>®</sup>. Während in der Studie von Artzi nach zwölf Monaten noch durchschnittlich ein Partikelanteil von 25,3 % zu finden war, waren es bei Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup> nach sechs Monaten lediglich 21,1 % bzw. 16,0 %.

Eine vollständige Resorption der  $\beta$ -TCP-Präparate ist nach ca. zwei Jahren zu erwarten (Merten *et al.*, 2001; Wiltfang *et al.*, 2003; Artzi *et al.*, 2004).

Entscheidend für eine erfolgreiche Osseointegration ist die ausreichende Primärstabilität der Implantate (Neukam und Esser, 2000). Diese Primärstabilität ist vom Implantatsystem, d. h. der

Form und Beschaffenheit der Implantate und der Implantatlänge abhängig (Lindenmuller und Lambrecht, 2006). Dabei sind der ortsständige Knochen und der zentrale Bereich im augmentierten Sinus ausschlaggebend für die Stabilität. Denn analog zu der Forderung des einzeitigen Vorgehens bei Implantation kann davon ausgegangen werden, dass bei einer Knochenhöhe von über 5 mm eine ausreichende Primärstabilität gängiger Implantatsysteme zu erwarten ist (Jensen *et al.*, 1998; van den Bergh *et al.*, 2000; Wiltfang *et al.*, 2003). Somit stellt eine noch nicht vollständig knöchern umgebaute apikale Region keinen Hindernisgrund für eine Implantatinsertion dar. Die hohe zelluläre Aktivität und die bereits vorangeschrittene Osteogenese können sich positiv auf die Osseointegration der Implantate auswirken (Wheeler, 1997).

Die histomorphometrischen Daten geben Aufschluss über das Degradationsverhalten der Partikel und die Dichte des neu gebildeten Knochens. Sie sollten allerdings nicht als absolute Werte betrachtet werden, sondern lediglich im Zusammenhang mit der Betrachtung der histologischen Schnitte. Aufgrund der fehlenden Differenzierung von Knochenmark und Bindegewebe wurden z.B. bindegewebige Ummantelungen der Partikel nicht mit erfasst. Diese Differenzierung ist aufgrund der Morphologie im histologischen Bild schlecht durchführbar.

Zudem sind der Morphometrie eines histologischen Schnittes Grenzen gesetzt. So kann man besonders anhand der großen Spannweiten der Daten in der Cerasorb<sup>®</sup> M-Gruppe erkennen, dass bei der Vermessung kleinster Partikel, bedingt durch den Zerfall der Granulate, die Messgenauigkeit abnimmt.

#### **4.5 Diskussion der immunhistologischen Daten**

Die Auswertung der immunhistochemischen Färbungen erfolgte rein deskriptiv unter Zuhilfenahme der Mediane und Häufigkeitsverteilungen.

Die osteogenen Marker konnten vermehrt in mesenchymalen Zellen und Osteoblasten sowie in enger Nachbarschaft dieser Zellen nachgewiesen werden. Reife Osteozyten sind dagegen aufgrund ihrer Funktion als regulierende Zellen nicht an der Knochenneubildung beteiligt und exprimieren keine osteogenen Marker (Zerbo *et al.*, 2005). Die Expression der osteogenen Marker entspricht somit der zellulären Aktivität und verändert sich mit dem Reifegrad des Knochens (Röser *et al.*, 2000).

Für die immunhistologische Untersuchung der Biopsien steht eine Vielzahl an Antikörpern zur Verfügung. Kollagen Typ 1 ist der Hauptbestandteil der Knochenmatrix, welcher durch Osteoblasten, mesenchymale Zellen und Fibroblasten synthetisiert wird (Reis *et al.*, 1996; Neo *et al.*, 1998). Es bildet eine Leitstruktur für die nicht kollagenen Matrixproteine, die die Mineralisation in Gang setzen und kontrollieren (Ohsawa *et al.*, 2000). Col 1 ist somit kein osteoblastenspezifischer Marker, aber dennoch ein wichtiger Bestandteil der Osteogenese. Die immunhistologische Auswertung aller Biopsien zeigte besonders bei den Osteoblasten, den mesenchymalen Zellen und im Bindegewebe eine positive Reaktion. Vereinzelt konnte Col 1 auch in der mineralisierten Knochenmatrix nachgewiesen werden. Wahrscheinlich handelte es sich hierbei um neu gebildeten Knochen, da Col 1 eher nicht in der Knochenmatrix markiert werden kann (Röser *et al.*, 2000).

Auffällig ist, dass im Osteoid kaum Marker nachgewiesen werden konnten. Aufgrund der Dicke der Schnitte ist jedoch eine Überlagerung denkbar, die gerade an der Oberfläche des Knochens eine Zuordnung der Expression erschwert. Osteoblasten, Osteoid aber auch knöchernen Matrix und Knochenmark mit mesenchymalen Zellen treffen an dieser Stelle zusammen. Auch bei der Differenzierung der Zellen aufgrund ihrer Morphologie im histologischen Bild kann es zu Überlagerungen kommen (Neo *et al.*, 1996; Neo *et al.*, 1998). Somit erscheint die Untersuchung verschiedener zellulärer Komponenten und Matrixbestandteile, wie es in dieser Studie der Fall war, notwendig, um ein möglichst vollständiges Expressionsmuster zu erhalten.

ALP, OC und BSP werden im Gegensatz zu Col 1 von vielen Autoren als osteoblastenspezifisch betrachtet (Strauss *et al.*, 1990; Pockwinse *et al.*, 1992; Röser *et al.*, 2000). Diese Marker können jedoch auch vereinzelt in anderen Zellen nachgewiesen werden. So können OC (Sato *et al.*, 1998) und BSP (Röser *et al.*, 2000) unter bestimmten Umständen schon von Präosteoblasten sezerniert werden. Nicht nur die mesenchymalen Zellen zeigten in unserer Studie eine positive Reaktion, sondern auch die fibröse und mineralisierte Matrix. Besonders in enger Nachbarschaft zu den Osteoblasten konnte eine vermehrte Expression von BSP im Mesenchym nachgewiesen werden. Die immunhistologische Auswertung der ALP war insgesamt nicht zufriedenstellend und sollte in weiteren Studien durch Optimierung der Konzentration oder ggf. Antikörperwechsel verbessert werden.

Die Expression der Marker ergänzt, wenn auch nur richtungweisend, die histomorphometrischen Daten und bestätigt beiden Präparaten eine sehr gute Biokompatibilität sowie knochenanlagerndes Verhalten. Die in direkter Nachbarschaft zu beiden Knochenersatzmaterialien exprimierten Marker deuten auf eine andauernde Osteogenese hin.

Während in den apikalen Arealen beider  $\beta$ -TCP-Präparate eher Col 1 als Marker der Proliferation von mesenchymalen Zellen und Osteoblasten sezerniert wurde, waren es zentral vermehrt Marker der Mineralisation (OC und BSP). Diese Ergebnisse bestätigen beiden  $\beta$ -TCP-Präparaten zentral eine weiter vorgeschrittene Osteogenese als apikal und somit ein osteokonduktives Verhalten. Besonders auffällig war die Korrelation der immunhistologischen Daten mit der Histomorphometrie. Analog zu der statistisch signifikant höheren Knochendichte bei den Cerasorb<sup>®</sup> M-Biopsien im zentralen Bereich, konnte hier vermehrt OC nachgewiesen werden. Die Expression der Mineralisationsmarker bei Ceros<sup>®</sup> wiederum deutete, entsprechend der gleichen Knochendichten apikal und zentral, auf Mineralisationszentren in beiden Arealen hin. Während OC vermehrt zentral nachweisbar war, wurde BSP stärker in den Osteoblasten und der knöchernen Matrix apikal sezerniert. Zusammen mit der Expression von Col 1 in der fibrösen und knöchernen Matrix der zentralen Region sprechen diese Ergebnisse für eine weit vorgeschrittene Mineralisation apikal und ein Remodeling des Knochens zentral. Die immunhistologischen Daten bestätigen Ceros<sup>®</sup> ein etwas besseres osteokonduktives Potential im Vergleich zu Cerasorb<sup>®</sup> M.

#### 4.6 Unterschiede bei der Verwendung von Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup>

Beide  $\beta$ -TCP-Keramiken werden als Granulate mit einer Porosität von 60 – 65 % und einem interkonnektierenden Porensystem angeboten. Bei einer Phasenreinheit von 95 – 99 % (Angaben der Hersteller) können nur vereinzelt Spuren anderer Calciumphosphat-Phasen nachgewiesen werden. Unterschiede zwischen Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup> sind die Partikelgrößen von 1 – 2 mm bei Cerasorb<sup>®</sup> M und 0,7 – 1,4 mm bei Ceros<sup>®</sup> und die sowohl klinisch als auch im histologischen Bild erkennbare Morphologie. Die Größe der Granulate bestimmt die Größe der intergranulären Zwischenräume und beeinflusst somit die Gesamtporosität des Augmentats. Durch die Verwendung eines Gemisches mit autogenen Knochenspänen kann über die Gesamtporosität keine Aussage getroffen werden, da die Späne den intergranulären Raum mit ausfüllen. Zudem kann nur bei kugelförmigen Granulaten davon ausgegangen werden, dass die intergranulären Räume proportional zum Durchmesser der Granulate größer werden. Dies wäre annähernd bei den Cerasorb<sup>®</sup> M-Granulaten der Fall, jedoch nicht bei Ceros<sup>®</sup>. Die kantigen Ceros<sup>®</sup>-Partikel können sich aufgrund ihrer polygonalen Geometrie unterschiedlich zusammenlagern, so dass der intergranuläre Raum nicht vorhersehbar ist. Nicht nur die Porosität sondern auch die Größe der Granulate kann das Resorptionsverhalten mit beeinflussen. Bohner

und Baumgart leiten in einem theoretischen Modell her, dass die Resorption umgekehrt proportional zum Durchmesser der Granulate ist. Bei resorbierbaren Knochenersatzmaterialien nimmt die Größe der Granulate jedoch resorptionsbedingt mit der Zeit ab. Diese Abnahme ist wiederum von der Mikro- und Makrostruktur des Materials abhängig (Bohner und Baumgart, 2004).

Aufgrund der unterschiedlichen  $\beta$ -TCP-Keramiken, die in dieser Studie eingesetzt wurden, gibt es mehrere Faktoren, die das Resorptionsverhalten mit beeinflussen können. Obwohl histomorphometrisch keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden konnten, war das Resorptionsverhalten der beiden Keramiken unterschiedlich. Während Ceros<sup>®</sup>-Partikel nach sechs Monaten eine gute Integrität aufwiesen, war das Cerasorb<sup>®</sup> M vielerorts in kleinere Teile zerfallen. Somit ist die Resorption sicherlich von der Mikro- und Makrostruktur abhängig, äußert sich jedoch nicht unbedingt in einer unterschiedlichen Restpartikelmenge, sondern vielmehr im Resorptions- und Verteilungsmuster.

Betrachtet man die histologischen Bilder der entnommenen Biopsien und vergleicht diese mit den REM-Bildern der Granulate, so liegt die Vermutung nahe, dass die Resorption der Cerasorb<sup>®</sup> M-Partikel an den Verbindungsstellen der Primärpartikel beginnt, während Ceros<sup>®</sup> von den Makroporen her resorbiert wird. Ersteres stimmt mit den Feststellungen einiger Autoren überein, dass die Verbindungen bei zusammen gesinterten Partikeln zuerst aufgelöst werden (Lu *et al.*, 2002; Peters und Reif, 2004). Dabei ist der Zerfall in kleinere Partikel von der Dicke der Verbindungsstelle abhängig (Peters und Reif, 2004). Cerasorb<sup>®</sup> M-Granulate zerfallen somit schneller in die Primärpartikel, während bei Ceros<sup>®</sup> die Integrität der Partikel lange erhalten bleibt. Die größeren Ceros<sup>®</sup>-Partikel werden somit über einen längeren Zeitraum gleichmäßig resorbiert und zerfallen erst sehr spät in kleinere Partikel. Der hohe Anteil an Makroporen fördert dabei die Zellmigration und damit die Knochenneubildung nach Augmentation (Bohner und Baumgart, 2004). Die stetige Resorption der Ceros<sup>®</sup>-Granulate resultiert in einem besseren osteokonduktivem Verhalten und korreliert mit den histomorphometrischen und immunhistologischen Daten. Das Vorhandensein kleiner Partikel beim Cerasorb<sup>®</sup> M spiegelt die Reibegeräusche bei der Biopsieentnahme wider. Während mit Ceros<sup>®</sup> augmentierte Gebiete bei Pilotbohrung keine Besonderheiten aufwiesen, war bei Cerasorb<sup>®</sup> M eine Reibung der kleinen Partikel wahrnehmbar.

Die Beobachtungen in dieser Studie zur Biodegradation der Partikel unterstützen die Annahme, dass es sich um eine Kombination mehrerer Prozesse handelt (Lu *et al.*, 2002). Es konnte einerseits ein Abbau der Knochenersatzmaterialien in Abwesenheit von phagozytierenden Zellen beobachtet werden, der auf chemisch-physikalische Lösungsprozesse schließen lässt,

andererseits aber auch eine Desintegration in kleinere Partikel. Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen anderer Autoren überein (Eggli *et al.*, 1988; Yamada *et al.*, 1997a; Peters und Reif, 2004; Jensen *et al.*, 2007). Eine direkte Beteiligung der Osteoklasten am Abbau der  $\beta$ -TCP-Keramik (Eggli *et al.*, 1988) konnte jedoch nicht beobachtet werden. Das Fehlen von Osteoklasten in direkter Nachbarschaft zu den  $\beta$ -TCP-Partikeln kann auch mit der relativ schnellen Degradation und der damit verbundene  $\text{Ca}^{2+}$ -Erhöhung zusammen hängen (Yamada *et al.*, 1997a). Aussagen über die Beteiligung von Osteoklasten an der Resorption der Keramik sollten kritisch hinterfragt werden, da ihr Vorhandensein nicht unbedingt bedeutet, dass sie aktiv am Abbau beteiligt sind (Yamada *et al.*, 1997b). Während einige Autoren kleinere Partikel in phagozytierenden Zellen nachweisen konnten (Suba *et al.*, 2006), konnte dieses in der vorliegenden Studie nicht beobachtet werden.

Die aus dieser Studie gewonnenen Daten bestätigen sowohl Cerasorb<sup>®</sup> M als auch Ceros<sup>®</sup> eine gute klinische Anwendbarkeit bei der zweizeitigen Sinusbodenaugmentation. Obwohl histomorphometrisch keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen wurden, konnte aufgezeigt werden, dass die Granulate *in vivo* unterschiedlich reagieren.

Die Morphologie der Partikel hat Einfluss auf die knöchernen Regeneration und das Resorptionsverhalten des Augmentats. Die kantigen Ceros<sup>®</sup>-Partikel boten mit nur geringen Spannweiten morphometrisch die stetigeren Ergebnisse. Die geordneten trabekulären Strukturen wiesen auf eine gute knöchernen Regeneration hin. Zusätzlich war die Knochendichte in der apikalen Region nach Augmentation mit Ceros<sup>®</sup> höher als bei Cerasorb<sup>®</sup> M bei geringerer Restpartikelmenge. Zusammen mit der gut knöchernen durchbauten zentralen Region sprechen die Ergebnisse für eine etwas bessere Regeneration der Ceros<sup>®</sup>-Partikel. Der kompaktere Aufbau bei Ceros<sup>®</sup> in Verbindung mit der hohen Porosität bietet eine Leitschiene für die knöchernen Regeneration nach Augmentation. Im Widerspruch dazu steht jedoch die teilweise bindegewebige Ummantelung der Partikel nahe der Schneiderschen Membran. Eine leichte Abrundung der Kanten könnte die Verwendung von Ceros<sup>®</sup> optimieren.

Beide  $\beta$ -TCP-Keramiken wiesen nach sechs Monaten keine vollständige knöchernen Regeneration auf. Dennoch schienen die vorhandenen Restpartikel die Osseointegration der Implantate nicht zu stören. Dieses wurde auch in anderen Studien bestätigt (Zijderveld *et al.*, 2005). Aufgrund des relativ kurzen Beobachtungszeitraumes wäre es wünschenswert, Biopsieentnahmen auch nach längeren Liegezeiten vorzunehmen, um diese Ergebnisse zu ergänzen.

#### 4.7 Folgerungen für $\beta$ -TCP als Knochenersatzmaterial

Obwohl viel in die Forschung nach einem idealen Knochenersatzmaterial investiert wurde, gibt es dieses zurzeit noch nicht (Velich *et al.*, 2004). Anforderungen an ein optimales Knochenersatzmaterial sind neben der ausreichenden Verfügbarkeit eine hohe Erfolgsrate, fehlendes Infektionsrisiko mit Ausschluss der Übertragung von pathogenen Krankheitserregern, ein fehlendes Allergisierungspotential und keine Entnahmemorbidität. Des Weiteren sollte ein osteoinduktives und -konduktives Verhalten sowie eine ausreichende Stabilität bei vollständiger Resorption vorliegen (Horch und Pautke, 2006).

Die Wahl des passenden Knochenersatzmaterials sollte immer vor dem Hintergrund der angewandten augmentativen Maßnahme erfolgen. Viele *in vivo* und *in vitro* Studien belegen, dass die Verwendung und der Erfolg der Augmentationsmaterialien von ihrer Anwendung abhängig sind. So muss ein Knochenersatzmaterial, das für die Sinusbodenaugmentation gut geeignet ist nicht unbedingt die gleichen Ergebnisse bei lateralen Augmentationen liefern (von Arx *et al.*, 2001). Auch der von vielen Autoren als „Goldstandard“ bezeichnete autogene Knochen kann unter bestimmten Bedingungen insuffiziente Ergebnisse bieten. Nach Onlay-grafting mit autogenen Beckenkammtransplantaten traten marginale Resorptionen von bis zu 50 % auf (Johansson *et al.*, 1999). Gerade bei der Verwendung von autogenem Knochen muss mit berücksichtigt werden, dass sich nicht jeder Knochen bei Transplantation gleich verhält (Horch und Pautke, 2006). Während spongiöser Knochen eine hohe osteoinduktive Potenz aufweist und nach Revaskularisation das appositionelle Knochenwachstum fördert, muss kompakter Knochen erst durch Osteoklasten abgebaut werden, bevor Knochen angelagert wird (Yaszemski *et al.*, 1996).

Bei Berücksichtigung der oben aufgeführten Kriterien und der in beiden Gruppen gewonnenen Daten, kann  $\beta$ -TCP eine gute klinische Anwendbarkeit bestätigt werden. Die synthetische Herstellung ermöglicht eine uneingeschränkte Verfügbarkeit bei fehlender Pathogenität. Ein gutes osteokonduktives Verhalten konnte in der vorliegenden Studie für beide Präparate nachgewiesen werden und die entnommenen Biopsien sprechen für eine ausreichende Stabilität im augmentierten Bereich.

Die Forderung nach einer vollständigen Resorption bei Implantatinsertion in einem für den Patienten klinisch akzeptablen Zeitraum wird jedoch nicht erfüllt. Im Wesentlichen lässt sich eine Steigerung der Löslichkeit über zwei Wege erreichen: durch Veränderung der chemischen Zusammensetzung und durch Erhöhung der spezifischen Oberfläche, d.h. der Porosität (Peters und Reif, 2004; Tadic und Epple, 2004). Die Möglichkeit das Resorptionsverhalten von  $\beta$ -TCP-

Keramiken durch Erhöhung der Porosität zu verbessern, scheint ausgeschöpft. Mit einem neuartigen Herstellungsverfahren ist es zwar möglich,  $\beta$ -TCP-Gerüste mit 90 %iger Porosität herzustellen, allerdings erscheint ihre Anwendung bei knochenbauenden Maßnahmen fragwürdig. In einer tierexperimentellen Studie überzeugten diese Gerüste durch sehr gute Osteokonduktivität und hohe Knochenneubildung. Dieser Versuch wurde jedoch *subcutan* durchgeführt, wodurch die Gerüste keine „tragende“ Funktion, wie sie beim Knochenaufbau benötigt wird, hatten (Liu *et al.*, 2007). Eine Porosität über 85 % kann aufgrund der geringen Festigkeit nicht klinisch eingesetzt werden (Bohner und Baumgart, 2004). Daher konzentriert sich die Forschung auf die Weiterentwicklung von Knochenersatzmaterialien, die trotz guter Stabilität und Osteokonduktivität schnell resorbiert werden können (Sun *et al.*, 2006). Als viel versprechend für die Anwendung bei Augmentationen gelten die Calcium-Alkali-Orthophosphate, die aus einer kristallinen Phase und einem geringen amorphen Anteil bestehen. Die Hauptkristallphase besteht aus  $\text{Ca}_2\text{KNa}(\text{PO}_4)_2$ , während der amorphe Anteil entweder aus Magnesium-Kaliphosphat oder Siliziumphosphat besteht. Die Calcium-Alkali-Orthophosphate üben *in vitro* einen stimulierenden Effekt auf die osteoblastische Differenzierung und Proliferation aus und haben somit einen positiven Einfluss auf die Osteogenese (Knabe *et al.*, 2007b). In einer tierexperimentellen Studie konnte ihre Eignung als Knochenersatzmaterial bei lateraler Unterkieferkamm- und Sinusbodenaugmentation nachgewiesen werden (Gildenhaar *et al.*, 2007; Knabe *et al.*, 2007a; Knabe *et al.*, 2008a; Knabe *et al.*, 2008b; Knabe und Ducheyne, 2008; Knabe *et al.*, 2009). Als Degradationszeit für Granulate mit der Hauptkristallphase  $\text{Ca}_2\text{KNa}(\text{PO}_4)_2$  sind vier bis acht Monate je nach Lokalisation anzusetzen, was ideale Voraussetzungen für eine zweizeitige Sinusbodenaugmentation bietet.

Eine osteoinduktive Eigenschaft konnte  $\beta$ -TCP in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden. Die histomorphometrischen Daten zeigen eine vom Sinusboden ausgehende knöcherne Regeneration, die ein rein konduktives Verhalten bestätigt.

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, dass es sich bei  $\beta$ -TCP sicherlich nicht um ein optimales Knochenersatzmaterial handelt, jedoch um eines mit einer guten klinischen Anwendbarkeit bei der Sinusbodenaugmentation. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup> gute klinische Resultate bei zweizeitiger Sinusbodenaugmentation. Weitere Studien mit längeren Beobachtungszeiträumen sowie unterschiedlichen Indikationsstellungen, wie z. B. der lateralen Augmentation, sollten folgen.

Es konnte aufgezeigt werden, dass die beiden eingesetzten Präparate trotz gleicher chemischer Zusammensetzung *in vivo* unterschiedlich reagieren. Somit stellt die Morphologie der Granulate einen wichtigen auf die Knochenneubildung und Partikeldegradation Einfluss nehmenden Faktor dar. Bei der Entwicklung weiterer Knochenersatzmaterialien sollte dieses Wissen zur Optimierung der Materialeigenschaften genutzt werden.

## 5. Zusammenfassung

Synthetische Knochenersatzmaterialien fungieren beim Knochenaufbau als Leitschiene für einwandernde Zellen und einwachsende Gefäße. Diese osteokonduktive Eigenschaft ist der wichtigste Aspekt der knöchernen Regeneration. Idealerweise sollte ein Knochenersatzmaterial simultan zur Knochenneubildung resorbiert werden. Nur auf diese Weise kann ein ausreichendes Knochenangebot bei vollständiger Resorption gewährleistet werden. Neben der chemischen Zusammensetzung der Materialien nimmt auch die Porosität der Granulate einen wichtigen Einfluss auf ihre Degradation und die Knochenneubildung nach Augmentation.

Ziel dieser Studie war es, unter Verwendung zweier hochporöser  $\beta$ -TCP-Keramiken weitere auf die Partikeldegradation und die Knochenneubildung Einfluss nehmende Faktoren zu erörtern. Dabei sollten Unterschiede in der Reaktion *in vivo* herausgearbeitet, aber auch Gemeinsamkeiten aufgezeigt werden.

Untersucht wurden die klinisch angewandten Granulate Cerasorb<sup>®</sup> M und Ceros<sup>®</sup> bei der zweizeitigen Sinusbodenaugmentation. Die Augmentation erfolgte mit einer Mischung aus  $\beta$ -TCP und autogenen Knochenspänen im Verhältnis 4:1. In die Studie wurden insgesamt 40 Patienten einbezogen, von denen 20 Cerasorb<sup>®</sup> M und weitere 20 Ceros<sup>®</sup> als  $\beta$ -TCP erhielten. Nach einer Einheilphase von sechs Monaten erfolgte die Entnahme der Biopsien im Zuge der Implantatbettauflbereitung. Die Einbettung der Proben in einer Mischung aus MMA und BMA erlaubte eine immunhistochemische Färbung der Schnitte mit Antikörpern gegen Col 1, ALP, OC und BSP aufgrund der bestehen bleibenden Antigenität. Die Auswertung dieser Schnitte erfolgte histologisch, histomorphometrisch und immunhistologisch. Für die Histomorphometrie wurden die Schnitte in drei Bereiche eingeteilt: den ortsständigen Knochen, den zentralen Anteil der Biopsie und den apikalen. Der zentrale war der nahe des ehemaligen Sinusbodens und der apikale der an der Schneiderschen Membran gelegene Teil der Biopsie. Für jedes Teilgebiet wurden jeweils der knöcherne Anteil, der Weichgewebsanteil (inklusive Knochenmark) und das Restaugmentat prozentual ermittelt. Die immunhistologische Auswertung wurde semi-quantitativ durchgeführt und basierte auf einer Skala, die die Stärke der Färbung und die Verteilung der angefärbten Marker mit einbezog.

Alle chirurgischen Eingriffe verliefen komplikationslos. Nach sechs Monaten konnten in beiden Gruppen Biopsien mit einer Länge von 8 – 12 mm entnommen werden. Die knöcherne Regeneration in den augmentierten Bereichen variierte in Abhängigkeit von der Lokalisation innerhalb der Biopsie. Während im zentralen Bereich die  $\beta$ -TCP-Granulate größtenteils durch

neu gebildeten Knochen ersetzt wurden, war apikal in beiden Gruppen Restaumentat vorhanden. In der Ceros<sup>®</sup>-Gruppe war dieses in der Nähe der Sinusschleimhaut bindegewebig ummantelt, weiter zentral jedoch gut knöchern integriert. Die Ceros<sup>®</sup>-Partikel hatten im histologischen Bild eine kantige Struktur und ihre Morphologie war wie die eines Naturschwammes mit Poren. Cerasorb<sup>®</sup> M war dagegen aus kleinen kugeligen Primärpartikeln aufgebaut, die traubenförmig zu größeren Partikeln zusammengelagert waren. In Abhängigkeit vom Fortschritt der Resorption waren große und kleine Cerasorb<sup>®</sup> M-Partikel, jedoch auch einzelne kugelige Primärpartikel erkennbar. Die histomorphometrischen Ergebnisse bestätigten, dass bei Cerasorb<sup>®</sup> M sowohl die Knochenneubildung als auch die Partikeldegradation mit Abstand zum ortsständigen Knochen (Sinusboden) abnahmen. Der Anteil an neu gebildetem Knochen im apikalen Bereich war mit 33,3 % geringer als zentral (43,9 %), während der Restanteil an Cerasorb<sup>®</sup> M apikal mit 21,1 % deutlich über dem zentralen Wert (2,8 %) lag. Beide Differenzen waren statistisch hochsignifikant. Bei den Ceros<sup>®</sup>-Biopsien war die Restaumentatmenge apikal mit 16,0 % ebenfalls statistisch hochsignifikant größer als zentral (1,3 %). Der Anteil an neu gebildetem Knochen in der apikalen Region war im Verhältnis dazu mit 36,3 % nur geringfügig kleiner als zentral (39,5 %). Immunhistochemisch konnte bei den Cerasorb<sup>®</sup> M-Biopsien Col 1 als Marker der Proliferation und ECM-Bildung verstärkt im apikalen Bereich nachgewiesen werden, während die Marker der Mineralisation (OC und BSP) in beiden Bereichen Mineralisationszentren anzeigten. Bei Ceros<sup>®</sup> dagegen bestätigten Col 1 und ALP im apikalen und zentralen Bereich eine voranschreitende Proliferation. Während apikal diese Marker der frühen Knochenneubildung eher von mesenchymalen Zellen exprimiert wurden, waren es zentral vermehrt Osteoblasten und Matrixbestandteile, die positiv reagierten. Mineralisationsmarker waren in beiden Bereichen nachweisbar.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass Knochenersatzmaterialien trotz gleicher chemischer Zusammensetzung unterschiedlich *in vivo* reagieren können. Ausschlaggebend für dieses Verhalten ist die Morphologie der Partikel. Die kompaktere Struktur der Ceros<sup>®</sup>-Granulate bleibt lange stabil und wird stetig von den Makroporen her resorbiert, während bei Cerasorb<sup>®</sup> M die Resorption an den Verbindungsstellen der Primärpartikel („necks“) beginnt.

Beide  $\beta$ -TCP-Präparate zeigen eine hervorragende Biokompatibilität sowie ein osteokonduktives Verhalten. Ihre Degradationsmuster resultieren jedoch in einem unterschiedlichen osteokonduktivem Potential. Der apikal höhere Knochenanteil bei Ceros<sup>®</sup> im Vergleich zu Cerasorb<sup>®</sup> M bestätigt, dass eine lange bestehen bleibende Stabilität der Granulate die Osteokonduktivität positiv beeinflusst. Die auffällig geordnete trabekuläre Struktur im zentralen Anteil der Ceros<sup>®</sup>-Biopsien und die geringe Knochendichte in diesem Bereich bestätigen ein

bereits weit vorangeschrittenes Remodelling in diesem Bereich. Die Morphologie der Ceros<sup>®</sup>-Granulate übt somit zentral einen positiveren Einfluss auf die Regeneration aus, während apikal die kantige Struktur zu einer Reaktion der Schneiderschen Membran und zu einer bindegewebigen Ummantelung der Granulate führt.

Die klinischen Resultate sind insgesamt zufrieden stellend und bestätigen beiden Präparaten eine gute klinische Anwendbarkeit bei der zweizeitigen Sinusbodenaugmentation. Die Forderung einer vollständigen Resorption bei Implantation wird jedoch von beiden Präparaten nicht erfüllt.

## 6. Literaturverzeichnis

Artzi Z, Weinreb M, Givol N, *et al.*: Biomaterial resorption rate and healing site morphology of inorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate in the canine: a 24-month longitudinal histologic study and morphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 19 (3) (2004), 357-68.

Artzi Z, Kozlovsky A, Nemcovsky CE, Weinreb M: The amount of newly formed bone in sinus grafting procedures depends on tissue depth as well as the type and residual amount of the grafted material. *J Clin Periodontol* 32 (2) (2005), 193-9.

Aubin JE: Advances in the osteoblast lineage. *Biochem Cell Biol* 76 (6) (1998), 899-910.

Aubin JE: Osteogenic Cell Differentiation. In: JE Aubin (Ed.): Bone engineering. Toronto, Kanada: em squared inc. 2000, pp. 19-30.

Belser UC, Mericske-Stern R, Bernard JP, Taylor TD: Prosthetic management of the partially dentate patient with fixed implant restorations. *Clin Oral Implants Res* 11 (Suppl 1) (2000), 126-45.

Berube P, Yang Y, Carnes DL, Stover RE, Boland EJ, Ong JL: The effect of sputtered calcium phosphate coatings of different crystallinity on osteoblast differentiation. *J Periodontol* 76 (10) (2005), 1697-709.

Bohner M: Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements. *Injury* 31 (Suppl 4) (2000), 37-47.

Bohner M: Physical and chemical aspects of calcium phosphates used in spinal surgery. *Eur Spine J* 10 (Suppl 2) (2001), 114-21.

Bohner M, Baumgart F: Theoretical model to determine the effects of geometrical factors on the resorption of calcium phosphate bone substitutes. *Biomaterials* 25 (17) (2004), 3569-82.

Brugnami F, Caleffi C: Prosthetically driven implant placement. How to achieve the appropriate implant site development. *Keio J Med* 54 (4) (2005), 172-8.

Bucholz RW, Carlton A, Holmes R: Interporous hydroxyapatite as a bone graft substitute in tibial plateau fractures. *Clin Orthop Relat Res* 240 (1989), 53-62.

Buser D, Dula K, Belser U, Hirt HP, Berthold H: Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. 1. Surgical procedure in the maxilla. *Int J Periodontics Restorative Dent* 13 (1) (1993), 29-45.

Buser D, Dula K, Belser UC, Hirt HP, Berthold H: Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. II. Surgical procedure in the mandible. *Int J Periodontics Restorative Dent* 15 (1) (1995), 10-29.

Buser D, Dula K, Hirt HP, Schenk RK: Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes: a clinical study with 40 partially edentulous patients. *J Oral Maxillofac Surg* 54 (4) (1996), 420-32; 32-3.

Buser D, Hoffmann B, Bernard JP, Lussi A, Mettler D, Schenk RK: Evaluation of filling materials in membrane--protected bone defects. A comparative histomorphometric study in the mandible of miniature pigs. *Clin Oral Implants Res* 9 (3) (1998), 137-50.

Buser D, Dula K, Hess D, Hirt HP, Belser UC: Localized ridge augmentation with autografts and barrier membranes. *Periodontol 2000* 19 (1999), 151-63.

Buser D, Ingimarsson S, Dula K, Lussi A, Hirt HP, Belser UC: Long-term stability of osseointegrated implants in augmented bone: a 5-year prospective study in partially edentulous patients. *Int J Periodontics Restorative Dent* 22 (2) (2002), 109-17.

Davies JE: In vitro modeling of the bone/implant interface. *Anat Rec* 245 (2) (1996), 426-45.

Davies JE: Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 67 (8) (2003), 932-49.

Del Fabbro M, Testori T, Francetti L, Weinstein R: Systematic review of survival rates for implants placed in the grafted maxillary sinus. *Int J Periodontics Restorative Dent* 24 (6) (2004), 565-77.

den Boer FC, Wippermann BW, Blokhuis TJ, Patka P, Bakker FC, Haarman HJ: Healing of segmental bone defects with granular porous hydroxyapatite augmented with recombinant human osteogenic protein-1 or autologous bone marrow. *J Orthop Res* 21 (3) (2003), 521-8.

Dorozhkin SV, Epple M: Die biologische und medizinische Bedeutung von Calciumphosphaten. *Angewandte Chemie* 114 (17) (2002), 3260-77.

Ducheyne P, Cuckler JM: Bioactive ceramic prosthetic coatings. *Clin Orthop Relat Res* 276 (1992), 102-14.

Ducheyne P, Qiu Q: Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials* 20(23-24) (1999), 2287-303.

Eggl PS, Muller W, Schenk RK: Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two different pore size ranges implanted in the cancellous bone of rabbits. A comparative histomorphometric and histologic study of bony ingrowth and implant substitution. *Clin Orthop Relat Res* (1988) 232,127-38.

Eisig SB, Ho V, Kraut R, Lalor P: Alveolar ridge augmentation using titanium micromesh: an experimental study in dogs. *J Oral Maxillofac Surg* 61 (3) (2003), 347-53.

El-Ghannam A, Ducheyne P, Shapiro IM: Formation of surface reaction products on bioactive glass and their effects on the expression of the osteoblastic phenotype and the deposition of mineralized extracellular matrix. *Biomaterials* 18 (4) (1997), 295-303.

Franceschi RT: The developmental control of osteoblast-specific gene expression: role of specific transcription factors and the extracellular matrix environment. *Crit Rev Oral Biol Med* 10 (1) (1999), 40-57.

Ganz SD, Valen M: Predictable synthetic bone grafting procedures for implant reconstruction: part two. *J Oral Implantol* 28 (4) (2002), 178-83.

Garber DA, Belser UC: Restoration-driven implant placement with restoration-generated site development. *Compend Contin Educ Dent* 16 (8) (1995), 796-804.

Gildenhaar R, Berger G, Lehmann E, *et al.*: A comparative study of the biodegradability of calcium-alkali-orthophosphate ceramics in vitro and in vivo. *Key Engineering Materials* (2007), 330-2; 63-6.

Graziani F, Donos N, Needleman I, Gabriele M, Tonetti M: Comparison of implant survival following sinus floor augmentation procedures with implants placed in pristine posterior maxillary bone: a systematic review. *Clin Oral Implants Res* 5 (6) (2004) 1, 677-82.

Groeneveld EH, van den Bergh JP, Holzmann P, ten Bruggenkate CM, Tuinzing DB, Burger EH: Histomorphometrical analysis of bone formed in human maxillary sinus floor elevations grafted with OP-1 device, demineralized bone matrix or autogenous bone. Comparison with non-grafted sites in a series of case reports. *Clin Oral Implants Res* 10 (6) (1999), 499-509.

Gross UM, Strunz V: Surface staining of sawed sections of undecalcified bone containing alloplastic implants. *Stain Technol* 52 (4) (1977), 217-9.

Hantschick M, Stosiek P: Cold acetone fixation and methacrylate embedding. A suitable method for routine processing of bone marrow biopsies. *Pathol Res Pract* 194 (2) (1998), 111-21.

Hollinger JO, Brekke J, Gruskin E, Lee D: Role of bone substitutes. *Clin Orthop Relat Res* 324 (1996), 55-65.

Horch HH, Pautke C: [Regeneration instead of reparation: a critical review of the autogenous bone transplant as "golden standard" of reconstructive oral surgery]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 10 (4) (2006), 213-20.

Horch HH, Sader R, Pautke C, Neff A, Deppe H, Kolk A: Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws. *Int J Oral Maxillofac Surg* 35 (8) (2006), 708-13.

Jensen OT, Shulman LB, Block MS, Iacono VJ: Report of the Sinus Consensus Conference of 1996. *Int J Oral Maxillofac Implants* 13 (Suppl) (1998), 11-45.

Jensen SS, Aaboe M, Pinholt EM, Hjorting-Hansen E, Melsen F, Ruyter IE: Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. *Int J Oral Maxillofac Implants* 11 (1) (1996), 55-66.

Jensen SS, Broggin N, Hjorting-Hansen E, Schenk R, Buser D: Bone healing and graft resorption of autograft, anorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate. A histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Implants Res* 17 (3) (2006), 237-43.

Jensen SS, Yeo A, Dard M, Hunziker E, Schenk R, Buser D: Evaluation of a novel biphasic calcium phosphate in standardized bone defects: a histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Implants Res* 18 (6) (2007), 752-60.

Johansson B, Wannfors K, Ekenback J, Smedberg JI, Hirsch J: Implants and sinus-inlay bone grafts in a 1-stage procedure on severely atrophied maxillae: surgical aspects of a 3-year follow-up study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 14 (6) (1999a), 811-8.

Johansson CB, Röser K, Bolind P, Donath K, Albrektsson T: Bone-tissue formation and integration of titanium implants: an evaluation with newly developed enzyme and immunohistochemical techniques. *Clin Implant Dent Relat Res* 1 (1) (1999b), 33-40.

Kalk WW, Raghoobar GM, Jansma J, Boering G: Morbidity from iliac crest bone harvesting. *J Oral Maxillofac Surg* 54 (12) (1996), 1424-9; 30.

Kaptein ML, Hoogstraten J, de Putter C, de Lange GL, Blijdorp PA: Dental implants in the atrophic maxilla: measurements of patients' satisfaction and treatment experience. *Clin Oral Implants Res* 9 (5) (1998), 321-6.

Kenley RA, Yim K, Abrams J, *et al.*: Biotechnology and bone graft substitutes. *Pharm Res* 10 (10) (1993), 1393-401.

Knabe C, Berger G, Gildenhaar R, *et al.*: Effect of rapidly resorbable calcium phosphates and a calcium phosphate bone cement on the expression of bone-related genes and proteins in vitro. *J Biomed Mater Res A* 69 (1) (2004), 145-54.

Knabe C, Kraska B, Koch C, Gross U, Zreiqat H, Stiller M: A method for immunohistochemical detection of osteogenic markers in undecalcified bone sections. *Biotech Histochem* 81 (1) (2006), 31-9.

Knabe C, Berger G, Gildenhaar R, *et al.*: Effect of rapidly resorbable calcium-alkali-orthophosphate bone substitute materials on osteogenesis and osteoblastic phenotype expression in vivo. Transactions 32nd Annual Meeting of the Society for Biomaterials, 18-21 April 2007a, Chicago, Illinois, USA, p. 262.

Knabe C, Houshmand A, Berger G, *et al.*: Effect of rapidly resorbable bone substitute materials on the temporal expression of the osteoblastic phenotype in vitro. *J Biomed Mater Res A* 84 (4) (2007b), 856-68.

Knabe C, Berger G, Gildenhaar R, *et al.*: Effect of a rapidly resorbable calcium-alkali-orthophosphate bone substitute material on bone formation and osteoblastic phenotype expression in vivo. Transactions 54th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, 2-5 March 2008a, San Francisco, California, USA, p. 112.

Knabe C, Berger G, Gildenhaar R, *et al.*: Effect of rapidly resorbable calcium-alkali-phosphate bone substitute materials on bone formation and osteoblastic phenotype expression in vivo. Transactions 8th World Biomaterials Congress, 28 May-1 June 2008b, Amsterdam, Netherlands, p. 35.

Knabe C, Ducheyne P: Cellular response to bioactive ceramics. In: Kokubo T (Ed.): Handbook of Bioceramics and their applications. Cambridge, Great Britain, Woodhead Publishing Inc., 2008, p.133-64.

Knabe C, Koch C, Rack A, Stiller M: Effect of beta-tricalcium phosphate particles with varying porosity on osteogenesis after sinus floor augmentation in humans. *Biomaterials* 29 (14) (2008c), 2249-58.

Knabe C, Berger G, Gildenhaar R, *et al.*: Effect of rapidly resorbable calcium-alkali-orthophosphate bone grafting materials on osteogenesis after sinus floor augmentation in sheep. Transactions 35th Annual Meeting of the Society for Biomaterials, 22-25 April 2009, San Antonio, Texas, USA, p. 29.

Koepp HE, Schorlemmer S, Kessler S, *et al.*: Biocompatibility and osseointegration of beta-TCP: histomorphological and biomechanical studies in a weight-bearing sheep model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 70 (2) (2004), 209-17.

Krebsbach PH, Kuznetsov SA, Bianco P, Robey PG: Bone marrow stromal cells: characterization and clinical application. *Crit Rev Oral Biol Med* 10 (2) (1999), 165-81.

Lindenmuller IH, Lambrecht JT: [Sinus floor elevation and implantation--a retrospective study]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 116 (2) (2006), 142-9.

Liu G, Zhao L, Cui L, Liu W, Cao Y: Tissue-engineered bone formation using human bone marrow stromal cells and novel beta-tricalcium phosphate. *Biomed Mater* 2 (2) (2007), 78-86.

Lu J, Descamps M, Dejou J, *et al.*: The biodegradation mechanism of calcium phosphate biomaterials in bone. *J Biomed Mater Res* 63 (4) (2002), 408-12.

Merten HA, Wiltfang J, Grohmann U, Hoenig JF: Intraindividual comparative animal study of alpha- and beta-tricalcium phosphate degradation in conjunction with simultaneous insertion of dental implants. *J Craniofac Surg* 12 (1) (2001), 59-68.

Merten HA, Gruber RM, Nitsch A, Ludwig A: Evaluation oralchirurgischer Augmentationsmaterialien - Ein tierexperimentell-histomorphologischer Vergleich. *Implantologie* 11 (2003), 215-36.

Misch CE, Judy KW: Classification of partially edentulous arches for implant dentistry. *Int J Oral Implantol* 4 (2) (1987), 7-13.

Nakahara H, Goldberg VM, Caplan AI: Culture-expanded periosteal-derived cells exhibit osteochondrogenic potential in porous calcium phosphate ceramics in vivo. *Clin Orthop Relat Res* 276 (1992), p. 291-8.

Neo M, Nakamura T, Ohtsuki C, Kokubo T, Yamamuro T: Apatite formation on three kinds of bioactive material at an early stage in vivo: a comparative study by transmission electron microscopy. *J Biomed Mater Res* 27 (8) (1993), 999-1006.

Neo M, Voigt CF, Herbst H, Gross UM: Analysis of osteoblast activity at biomaterial-bone interfaces by in situ hybridization. *J Biomed Mater Res* 30 (4) (1996), 485-92.

Neo M, Herbst H, Voigt CF, Gross UM: Temporal and spatial patterns of osteoblast activation following implantation of beta-TCP particles into bone. *J Biomed Mater Res* 39 (1) (1998a), 71-6.

Neo M, Voigt CF, Herbst H, Gross UM: Osteoblast reaction at the interface between surface-active materials and bone in vivo: a study using in situ hybridization. *J Biomed Mater Res* 39 (1) (1998b), 1-8.

Neukam FW, Esser E: [Implantology]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 4 (Suppl 1) (2000), 249-56.

Ohgushi H, Okumura M, Tamai S, Shors EC, Caplan AI: Marrow cell induced osteogenesis in porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate: a comparative histomorphometric study of ectopic bone formation. *J Biomed Mater Res* 24 (12) (1990), 1563-70.

Ohsawa K, Neo M, Matsuoka H, *et al.*: The expression of bone matrix protein mRNAs around beta-TCP particles implanted into bone. *J Biomed Mater Res* 52 (3) (2000), 460-6.

Ong JL, Hoppe CA, Cardenas HL, *et al.*: Osteoblast precursor cell activity on HA surfaces of different treatments. *J Biomed Mater Res* 39 (2) (1998), 176-83.

Orsini G, Ricci J, Scarano A, *et al.*: Bone-defect healing with calcium-sulfate particles and cement: an experimental study in rabbit. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 68 (2) (2004), 199-208.

Owen TA, Aronow M, Shalhoub V, *et al.*: Progressive development of the rat osteoblast phenotype in vitro: reciprocal relationships in expression of genes associated with osteoblast proliferation and differentiation during formation of the bone extracellular matrix. *J Cell Physiol* 143 (3) (1990), 420-30.

Palm F, Hilscher C, Kind M: Einsatz einer neuen synthetischen, phasenreinen  $\beta$ -TCP Keramik in der Mund- Kiefer- und Gesichtschirurgie - Eine offene Studie mit n = 121 Patienten. *Implantologie Journal* 4 (2006), 6-11.

Peters F, Reif D: Functional Materials for Bone Regeneration from Beta-Tricalcium Phosphate. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik* 35 (4) (2004), 203-7.

Pockwinse SM, Wilming LG, Conlon DM, Stein GS, Lian JB: Expression of cell growth and bone specific genes at single cell resolution during development of bone tissue-like organization in primary osteoblast cultures. *J Cell Biochem* 49(3) (1992), 310-23.

Reis SA, Voigt C, Muller-Mai C, Herbst H, Bisson S, Gross U: Procollagen alpha 1(I) transcripts in cells near the interface of coralline implants in rats, detected by in situ hybridization. *Clin Oral Implants Res* 7 (3) (1996), 253-60.

Richter EJ: Implantologie in der Zahnheilkunde: DGZMK (2005). (Assesed January 10, 2009 at <http://www.dgzmk.de>)

Rohanizadeh R, Padrines M, Bouler JM, Couchourel D, Fortun Y, Daculsi G: Apatite precipitation after incubation of biphasic calcium-phosphate ceramic in various solutions: influence of seed species and proteins. *J Biomed Mater Res* 42 (4) (1998), 530-9.

Röser K, Johansson CB, Donath K, Albrektsson T: A new approach to demonstrate cellular activity in bone formation adjacent to implants. *J Biomed Mater Res* 51 (2) (2000), 280-91.

Sato M, Yasui N, Nakase T, *et al.*: Expression of bone matrix proteins mRNA during distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res* 3 (8) (1998) 1, 1221-31.

Schepers E, de Clercq M, Ducheyne P, Kempeneers R: Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. *J Oral Rehabil* 18 (5) (1991), 439-52.

Schlegel KA, Neukam FW: Implantologie. In: Reichart PA, Hausamen J-E, Becker J, Neukam FW, Schliephake H and Schmelzeisen R (Eds.): Curriculum Zahnärztliche Chirurgie, Berlin, Deutschland, Quintessenz Verlags-GmbH, 2002, pp. 389-477.

Schliephake H, Kage T: Enhancement of bone regeneration using resorbable ceramics and a polymer-ceramic composite material. *J Biomed Mater Res* 56 (1) (2001), 128-36.

Schultze-Mosgau S: Hart- und Weichgewebedefizite. In: Neukam FW, Wichmann M and Wiltfang J (Eds.): Zahnärztliche Implantologie unter schwierigen Umständen. Stuttgart, Deutschland, Georg Thieme Verlag KG, 2007, pp. 2-15.

Sodek J, Cheifetz S: Molecular regulation of osteogenesis. In: JE Aubin (Ed.): Bone engineering. Toronto, Kanada: em squared inc. (2000), pp. 31-43.

Steffen T, Stoll T, Arvinte T, Schenk RK: Porous tricalcium phosphate and transforming growth factor used for anterior spine surgery. *Eur Spine J* (10 (Suppl 2 (2001), 132-40.

Strauss PG, Closs EI, Schmidt J, Erfle V: Gene expression during osteogenic differentiation in mandibular condyles in vitro. *J Cell Biol* 10 (4) (1990) 1, 1369-78.

Stricker A, Voss PJ, Gutwald R, Schramm A, Schmelzeisen R: Maxillary sinus floor augmentation with autogenous bone grafts to enable placement of SLA-surfaced implants: preliminary results after 15-40 months. *Clin Oral Implants Res* 14 (2) (2003), 207-12.

Strietzel F: [Sinus floor elevation and augmentation. Evidence-based analysis of prognosis and risk factors]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 8 (2) (2004), 93-105.

Suba Z, Takacs D, Matusovits D, Barabas J, Fazekas A, Szabo G: Maxillary sinus floor grafting with beta-tricalcium phosphate in humans: density and microarchitecture of the newly formed bone. *Clin Oral Implants Res* 17 (1) (2006), 102-8.

Sun H, Wu C, Dai K, Chang J, Tang T: Proliferation and osteoblastic differentiation of human bone marrow-derived stromal cells on akermanite-bioactive ceramics. *Biomaterials* 27 (33) (2006), 5651-7.

Szabo G, Suba Z, Hrabak K, Barabas J, Nemeth Z: Autogenous bone versus beta-tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevations (2- and 3-dimensional computed tomographic, histologic, and histomorphometric evaluations): preliminary results. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16 (5) (2001), 681-92.

Szabo G, Huys L, Coulthard P, *et al.*: A prospective multicenter randomized clinical trial of autogenous bone versus beta-tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevation: histologic and histomorphometric evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants* (20 (3)2005), 371-81.

Tadic D, Epple M: A thorough physicochemical characterisation of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone. *Biomaterials* 25 (6) (2004), 987-94.

Tadjoedin ES, de Lange GL, Lyaruu DM, Kuiper L, Burger EH: High concentrations of bioactive glass material (BioGran) vs. autogenous bone for sinus floor elevation. *Clin Oral Implants Res* 13 (4) (2002), 428-36.

Tatum H, Jr.: Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am* 30 (2) (1986), 207-29.

Tetsch J, Tetsch P: Langzeitergebnisse dentaler Implantationen nach Sinusbodenelevationen Eine retrospektive Studie von 1291 Implantaten aus einem zwölfjährigem Zeitraum. *Z Zahnärztl Impl* 22 (2006),64.

van den Bergh JP, ten Bruggenkate CM, Disch FJ, Tuinzing DB: Anatomical aspects of sinus floor elevations. *Clin Oral Implants Res* 11 (3) (2000), 256-65.

Velich N, Nemeth Z, Toth C, Szabo G: Long-term results with different bone substitutes used for sinus floor elevation. *J Craniofac Surg* 5 (1) (2004) 1, 38-41.

von Arx T, Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Buser D: Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. A histologic and histomorphometric pilot study in the canine mandible. *Clin Oral Implants Res* 12 (3) (2001), 260-9.

Watzek G, Mailath-Pokorny G: Spezielle chirurgische Verfahren bei anatomisch schwierigen Situationen. In: Schwenzer N and Ehrenfeld M (Eds.): Zahn-, Mund, Kieferheilkunde, Stuttgart, Thieme (2000), pp.146-54.

Welsch U: Obere Luftwege. In: Sobotta Lehrbuch Histologie, Urban & Fischer in Elsevier (2005), pp.307 - 11.

Wheeler SL: Sinus augmentation for dental implants: the use of alloplastic materials. *J Oral Maxillofac Surg* 55 (11) (1997), 1287-93.

Wiltfang J, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Nkenke E, Zimmermann R, Kessler P: Sinus floor augmentation with beta-tricalciumphosphate (beta-TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? *Clin Oral Implants Res* 14 (2) (2003), 213-8.

Winkler S: Implant site development and alveolar bone resorption patterns. *J Oral Implantol* 28 (5) (2002), 226-9.

Xiao YT, Xiang LX, Shao JZ: Bone morphogenetic protein. *Biochem Biophys Res Commun* (2007) 362(3),550-3.

Yamada S, Heymann D, Bouler JM, Daculsi G: Osteoclastic resorption of calcium phosphate ceramics with different hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate ratios. *Biomaterials* 18 (15) (1997a), 1037-41.

Yamada S, Heymann D, Bouler JM, Daculsi G: Osteoclastic resorption of biphasic calcium phosphate ceramic in vitro. *J Biomed Mater Res* 37 (3 (1997b)), 346-52.

Yamamichi N, Itose T, Neiva R, Wang HL: Long-term evaluation of implant survival in augmented sinuses: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 28 (2) (2008), 163-9.

Yaszemski MJ, Payne RG, Hayes WC, Langer R, Mikos AG: Evolution of bone transplantation: molecular, cellular and tissue strategies to engineer human bone. *Biomaterials* 17 (2) (1996), 175-85.

Zahnimplantologie auf dem Vormarsch: Qualitätssicherung ist wichtig. DGI - Deutsche Gesellschaft für Implantologie im Zahn-,Mund- und Kieferbereich e.V. (2008) (Assesed January 10, 2009 at <http://www.dgi-ev.de/scripts/show.aspx?content=/shop/home/ueberuns/news2008/News5&bodyid=news>)

Zerbo IR, Bronckers AL, de Lange GL, van Beek GJ, Burger EH: Histology of human alveolar bone regeneration with a porous tricalcium phosphate. A report of two cases. *Clin Oral Implants Res* 12 (4) (2001), 379-84.

Zerbo IR, Zijdeveld SA, de Boer A, *et al.*: Histomorphometry of human sinus floor augmentation using a porous beta-tricalcium phosphate: a prospective study. *Clin Oral Implants Res* 15 (6) (2004), 724-32.

Zerbo IR, Bronckers AL, de Lange G, Burger EH: Localisation of osteogenic and osteoclastic cells in porous beta-tricalcium phosphate particles used for human maxillary sinus floor elevation. *Biomaterials* 26 (12) (2005), 1445-51.

Zhang H, Lewis CG, Aronow MS, Gronowicz GA: The effects of patient age on human osteoblasts' response to Ti-6Al-4V implants in vitro. *J Orthop Res* 22 (1) (2004), 30-8.

Zijdeveld SA, Zerbo IR, van den Bergh JP, Schulten EA, ten Bruggenkate CM: Maxillary sinus floor augmentation using a beta-tricalcium phosphate (Cerasorb) alone compared to autogenous bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Implants* 20 (3) (2005), 432-40.

Zreiqat H, Markovic B, Walsh WR, Howlett CR: A novel technique for quantitative detection of mRNA expression in human bone derived cells cultured on biomaterials. *J Biomed Mater Res* 33 (4) (1996), 217-23.

Zreiqat H, Howlett CR: Titanium substrata composition influences osteoblastic phenotype: In vitro study. *J Biomed Mater Res* 47 (3) (1999), 360-6.

**Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## Veröffentlichungen

Knabe C, Berger G, Gildenhaar R, Koch C, Jonscher S, Bednarek A, Rack A, Ducheyne P, Stiller M: Effect of a rapidly resorbable calcium-alkali-orthophosphate bone substitute material on bone formation and osteoblastic phenotype expression in vivo. Transactions 54th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, March 2 – 5, 2008, San Francisco, California, USA, p. 112.

Stiller M, Gildenhaar R, Knabe C, Jörn D, Houshmand A, Bednarek A, Koch C, Spitzer A, Müller-Mai C, Berger G: Entwicklung von schnell resorbierbaren Knochenzementen für die zahnärztliche Implantologie, Kieferchirurgie und die Unfallchirurgie - werkstoffwissenschaftliche und tierexperimentelle Untersuchungen (Ergebnisdarstellung eines durch die EU geförderten Vorhabens). 8. Symposium des Arbeitskreises Biokeramik, Gemeinschaftsausschuss Hochleistungskeramik Deutsche Keramische Gesellschaft e. V., Deutsche Gesellschaft für Materialkunde e. V., 27.11.2008, Berlin.

Jörn D, Houshmand A, Gildenhaar R, Ploska U, Knabe C, Stiller M, Bednarek A, Koch C, Hoffmeister B, Berger G: Entwicklung und Charakterisierung schnell resorbierbarer alkalihaltiger Calciumphosphatzemente für die Traumatologie und Tumorchirurgie. Poster 59. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, 3. – 6. Juni 2009, Wien, Österreich

Knabe C, Berger G, Gildenhaar R, Houshmand A, Müller-Mai C, Bednarek A, Koch C, Jörn D, Stiller M: Effect of resorbable calcium-alkali-orthophosphate bone substitute cements on osteogenesis after implantation in the rabbit femur. Transactions 36th Annual Meeting of the Society for Biomaterials, April 2010, Seattle, Washington, USA, im Druck.

**Erklärung**

„Ich, Alina Bednarek, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Vergleichende Untersuchungen unterschiedlicher Tricalciumphosphatpartikulate zur Kieferkammaugmentation – eine histomorphometrische und immunhistochemische Studie“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

## **Danksagung**

Frau PD Dr. Christine Knabe danke ich für die Vergabe dieses interessanten Dissertationsthemas und die sehr gute Betreuung während der gesamten Promotionszeit. Besonders bedanken möchte ich mich für die intensive Förderung und das Ermöglichen der Mitarbeit an wissenschaftlichen Projekten der Charité Universitätsmedizin Berlin.

Herrn PD Dr. Dr. Michael Stiller danke ich für die chirurgische Betreuung der Promotion, seine stete Diskussionsbereitschaft sowie die rege Unterstützung der Dissertation.

Herrn Dr. Christian Koch danke ich für die Einführung in die Histomorphometrie und die Immunhistologie.

Mein herzlichster Dank gilt Frau Annekathrin Kopp für die Einführung in die immunhistochemischen Färbungen, die kompetente Betreuung im Labor sowie ihren kritischen Blick und ihre Diskussionsbereitschaft.

Weiterhin danke ich Frau Irene Schwarz für die Hilfe im Umgang mit dem Analysis-Programm sowie Herrn Dr. Herbert Renz für die Behebung verschiedenster EDV-Probleme.

Den Unternehmen Curasan und Mathys danke ich für das zur Verfügung stellen der Informationen über Materialeigenschaften sowie die freundliche Überlassung der REM-Bilder.

Ich danke Herrn PD Dr. Dr. Werner Hopfenmüller für die kompetente Diskussion der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Frau Beate Lion danke ich für die Unterstützung bei allen organisatorischen Aspekten der Dissertation.

Allen Mitarbeitern der Abteilung für experimentelle Zahnheilkunde der Charité möchte ich für die angenehme Zusammenarbeit danken.

Zum Schluss möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, die mich während der gesamten Promotion sehr unterstützt hat. Ein ganz besonderer Dank gilt dabei meinem Lebensgefährten Martin.