

Aus der Klinik für Zahnerhaltung und Präventivmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Pulparegeneration durch Stammzelltransplantation: Eine
systematische Auswertung und Metaanalyse

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Kimberley Jakusz
aus Hamburg

Datum der Promotion: 02.03.2018

Meiner Familie

*„Das Universum ist voller magischer Dinge,
die geduldig darauf warten, dass unser Geist schärfer wird.“*

– Eden Phillpotts

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGEN	7
1 ABSTRACTS	8
1.1 Abstract (Englisch)	8
1.2 Abstract (Deutsch)	9
2 EINLEITUNG	11
3 MATERIAL UND METHODEN	14
3.1 Literatursuche und Datenextraktion	14
3.2 Definieren der Auswahlkriterien	14
3.3 Evaluation systematischer Verzerrung	15
3.3.1 Selektions-Verzerrung (unvoreingenommene Behandlungszuteilung)	15
3.3.2 Performance-Verzerrung (unvoreingenommene Durchführung der Versuche)	16
3.3.3 Erkennungs-Verzerrung (unvoreingenommene Auswertung der Ergebnisse)	16
3.3.4 Reporting-Verzerrung (unvoreingenommene Berichterstattung)	16
3.3.5 Andere Verzerrungen	16
3.4 Tabellarisch registrierte Versuchsdaten	16
3.5 Kriterien für die quantitative Auswertung der Ergebnisse	18

4	ERGEBNISSE	20
4.1	Ergebnisse der Datenextraktion	20
4.1.1	Literatursuche anhand elektronischer Datenbanken	20
4.1.2	Angewandte Studiendesigns	20
4.1.3	Verwendete Tiermodelle	21
4.1.4	Defektschaffung innerhalb der Studien	21
4.1.5	Verwendete Trägermaterialien	23
4.1.6	Verwendete Stammzellen	23
4.1.7	Versuchsgruppen der einbezogenen Studien	23
4.2	Zusammenfassung der Ergebnisse	23
4.2.1	Ergebnisse der Pulparegeneration	25
4.2.2	Ergebnisse der Dentinregeneration	26
4.2.3	Ergebnisse der vaskulären Regeneration	27
4.2.4	Ergebnisse der neuronalen Regeneration	28
4.3	Verzerrungsrisiken	29
5	DISKUSSION	33
6	ZUSAMMENFASSUNG	37
7	LITERATURVERZEICHNIS	38
8	ANHANG	41
8.1	Suchsequenz Pubmed	41
8.2	Aussortierte Artikel	41

9	EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	54
10	ANTEILSERKLÄRUNG	55
11	LEBENS LAUF	56
12	PUBLIKATIONS LISTE	57
13	DANKSAGUNG	58

ABKÜRZUNGEN

β-TCP	Beta-Trikalziumphosphat
BS-1	Bandeiraea simplicifolia Lektin
CD	Prof. Dr. C. Dörfer (Klinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, Christian-Albrechts-Universität Kiel, Kiel, Deutschland)
CI	Konfidenzintervall
DPSC	Dentale Pulpastammzellen
FS	PD. Dr. Falk Schwendicke (Zahnerhaltung und Präventivzahnmedizin, Charité, Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Deutschland)
G-CSF	Granulozyten-stimulierender Faktor
Gdf11	Knochenmorphogenetisches Protein 11
KFE:	PD. Dr. Karim M. Fawzy El-Sayed (Klinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, Christian-Albrechts-Universität Kiel, Kiel, Deutschland)
KJ	Kimberley Jakusz (Zahnerhaltung und Präventivzahnmedizin, Charité, Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Deutschland)
pEGFP	p - Enhanced Green Fluorescent Protein
PGP9.5	Protein Gene Product 9.5
SDF-1	Stromal cell derived factor 1
SHED	Stammzellen aus extrahierten humanen Milchzähnen
SMD	standardisierte Mittelwertdifferenz

VORWORT

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in Tissue Eng Part B Rev./ 2015 Oct („Stem Cell Transplantation for Pulpal Regeneration: A Systematic Review.“)

1 ABSTRACTS

1.1 Abstract (Englisch)

Objectives: The conventional method for treating infected root canals is still the preparation, cleaning and complete disinfection of all canals before closing the tooth conservatively or prosthetically. In the future, we may consider the alternative treating method of transplanting stem cells into prepared root canals and thereby regrow new, functional pulpal tissue. There have already been multiple animal studies in which stem cell transplantation was used to regenerate pulpal, dentinal, neuronal or vascular tissue in root canals. The following review and meta-analysis systematically examines and compares these studies to demonstrate the state-of-the-art effectiveness of this treatment method in clinical animal trials.

Methods: Only studies in which the outcomes were evaluated both qualitatively and quantitatively were used. Also control trials of treatment without the use of stem cells had to be made. The following outcomes were defined: area of regenerated pulp tissue, area of regenerated dentin, area of regenerated capillaries and area of regenerated nervous tissue. The research was mainly performed using the electronic medical databases Pubmed and Embase. Additionally, professional journals were screened. Meta-analysis was applied by detecting standard mean differences and confidence intervals for the outcomes of studies. Also the risk of bias was evaluated according to SYRCLE's risk of bias.

Results: Of 1364 found articles, five fitted the defined criteria, including 64 animals. All included articles were published before July 2014. Root canals with stem cell treatment showed respectively more regenerated pulp tissue and regenerated dentin than canals with negative control treatment. Only one included study investigated the regeneration of vascular and nervous tissue inside the root canals. Both were significantly higher than in those canals without the use of stem cell transplantation. The risk of bias was generally high.

Conclusion: The transplantation of stem cells seems to promote the regeneration of the pulp-dentin-complex in clinical animal trials. Due to the limited amount of included studies with qualitative and quantitative evaluation, no further conclusions can be drawn at the time.

Abstracts

1.2 Abstract (Deutsch)

Einleitung: Neben der konventionellen Wurzelkanalbehandlung ist die Pulparegeneration durch Transplantation von Stammzellen zukünftig womöglich eine alternative Therapie irreversibel entzündeter oder devitaler Zähne. Es existiert bereits eine Vielzahl von Tierstudien, welche die positiven Auswirkungen der Stammzelltransplantation auf die Regeneration von Pulpagewebe, Dentin, neuronaler Innervation und Vaskularisation innerhalb des Wurzelkanals aufzeigen.

Methodik: Im Folgenden wurden jene Tierstudien systematisch untersucht, welche Stammzelltransplantation zur Regeneration von pulpaem Gewebe einsetzten. Diese Arbeit begrenzt sich dabei auf Studien, in welchen die Ergebnisse sowohl quantitativ ausgewertet als auch anhand von Kontrolldurchgängen ohne Applikation von Stammzellen belegt wurden. Es wurden folgende Ergebnisse definiert: die Fläche des regenerierten Pulpagewebes, die Menge an Kapillaren, die Fläche des regenerierten Dentins und die Menge an Nerven, jeweils bezogen auf die geschaffene Defektfläche. Die Studienrecherche wurde anhand der elektronischen Datenbanken PubMed und EMBASE durchgeführt. Zusätzlich wurde anhand von Querverweisen und händischer Suche in Fachzeitschriften nach weiteren Artikeln zum Thema gesucht. Es wurden nur Artikel einbezogen, die vor Juli 2014 veröffentlicht wurden. Eine Metaanalyse wurde durch die Berechnung von standardisierten Mittelwertsdifferenzen und 95%igen Konfidenzintervallen durchgeführt. Die Bewertung des Risikos für Verzerrung in Tierstudien nach SYRCLE wurde angewendet.

Ergebnisse: Von 1364 ausgewerteten Artikeln blieben fünf Studien mit insgesamt 64 Versuchstieren übrig, welche den Anforderungen dieser Arbeit entsprachen und in die quantitative Auswertung einbezogen werden konnten. Das Verzerrungsrisiko war allgemein hoch. Die Wurzelkanäle mit durchgeführter Stammzelltransplantation zeigten vergleichsweise mehr regeneriertes Pulpa- (SMD [95% CI]:2,28 [0,35-4,21]) und Dentingewebe (SMD: 6,91 [5,39-8,43]) pro geschaffener Defektfläche als die Wurzelkanäle ohne Intervention durch Stammzelltransplantation. Nur eine Studie untersuchte die Kapillaren und Nerven pro geschaffener Defektfläche und beides war signifikant höher in Wurzelkanälen mit Transplantation von Stammzellen als in Wurzelkanälen ohne Transplantation von Stammzellen.

Abstracts

Schlussfolgerung: Die Transplantation von Stammzellen scheint die Regeneration des Pulpa-Dentin-Komplexes in Tiermodellen zu fördern. Aufgrund der limitierten Anzahl qualitativer und quantitativer Daten reicht die derzeitige Evidenzebene nicht aus, um weitere Schlussfolgerungen zu ziehen.

2 EINLEITUNG

Die Vitalität eines Zahnes wird maßgeblich bedingt durch den Zustand seiner Pulpa. Die Zahnpulpa versorgt nicht nur das Dentin mit Sauerstoff und wichtigen Nährstoffen, sie ist auch verantwortlich für die Bildung von Tertiärdentin und beherbergt die sensiblen Nervenendigungen des Zahnes. Viele Faktoren wirken sich allerdings negativ auf den Erhalt der Zahnpulpa aus und somit auch auf die Prognose des Zahns (1). So können beispielsweise kariöse Läsionen soweit fortschreiten, dass Bakterien bis in die Pulpa vordringen und eine Entzündung des Gewebes hervorrufen können. Auch durch Fraktur, Trauma oder akzidentelle Eröffnung der Pulpa bei der Kariesexkavation kann es zu Entzündungsreaktionen der Pulpa kommen. Eine irreversible Pulpitis verursacht starke Schmerzen und kann im weiteren Verlauf mit Abszedierung und Fistelung verbunden sein. Die konventionelle Therapie stellt derzeit die dreidimensionale mechanische Eröffnung dar, die Reinigung und Desinfektion und der anschließende bakteriendichte Verschluss des Kanals und der Zahnkrone. Maßnahmen wie Pulpotomie und Pulpektomie mit anschließender Wurzelfüllung sind heutzutage die üblichen Verfahren, um einen irreversibel entzündeten Zahn zu erhalten. Derartige Eingriffe führen allerdings immer auch zu einer Schwächung des Zahnes. Zwar ist das restliche Gewebe der wurzelkanalbehandelten Zähne nicht trockener oder brüchiger als jenes von vitalen Zähnen, dennoch frakturieren sie häufiger aufgrund des großen internen Hartschubstanzverlustes (2-4). Hinzukommend wurde in der Vergangenheit gezeigt, dass die fehlende sensible Innervation der wurzelkanalbehandelten Zähne dazu führt, dass die Schmerzgrenze dieser Zähne doppelt so hoch liegt. Bei Überbelastung fehlt die reflektorische sensomotorische Rückkopplung. Auch diese Tatsache trägt zu der erhöhten Frakturhäufigkeit wurzelbehandelter Zähne bei (5). Häufig sind wurzelkanalbehandelte Zähne nur noch prothetisch zu verschließen, was die Behandlung für den Patienten verlängert und zu weiteren Komplikationen führen kann (6). Nicht selten werden im Verlauf weitere prothetische oder chirurgische Maßnahmen bis hin zur Extraktion des Zahnes notwendig. Es wäre daher wünschenswert, entzündetes oder bereits abgestorbenes Pulpagewebe durch neues, vitales und funktionsfähiges Gewebe zu ersetzen (7). In verschiedenen medizinischen Bereichen wurden bereits vielversprechende Studien durchgeführt, die Gewebe anhand von Stammzelltransplantation zu erhalten oder zu züchten versuchten (8-12). Meist wird

Einleitung

bei diesen Studien versucht, das lokale Mikromillieu so zu modulieren, dass die eingebrachten Stammzellen ein hohes induktives Potential erreichen (13, 14). Neben der Migration und der Proliferation des Gewebes, soll außerdem die Biosynthese von Extrazellulärmatrix-Bestandteilen angeregt werden (15). Die lokal eingebrachten Zellen wirken dann sowohl auf die Innervation (16), die Immunmodulation (17) und allgemeine Geweberegeneration (10). Um diese Aufgaben zu erfüllen, müssen die eingebrachten Zellen multipotent (18) und sensibel für die lokale parakrine Aktivität sein (9).

Die funktionelle Einheit des Pulpa-Dentin-Komplexes bildet sich während der Embryogenese aus der Neuralleiste des Ektomesenchyms (19). Um ihre Aufgabe der Zahn-Homöostase erfüllen zu können, ist sie stark vaskularisiert und innerviert. Viele heterogene Zelltypen, darunter auch Stammzellen, dienen dazu, ein Leben lang neue Odontoblasten zur Bildung von sekundärem und tertiärem Dentin bereitzustellen (20).

Die meisten Versuche auf dem Gebiet der Pulparegeneration durch Stammzelltransplantation wurden bisher als Tierexperimente durchgeführt, da es noch Zweifel an der Sicherheit und Effektivität derartiger Therapien und ethische Bedenken gibt. Um dennoch die experimentellen Ergebnisse aus diesen Versuchen auf die theoretische klinische Anwendung beim Menschen übertragen zu können, müssen sowohl die Versuchsdurchführung wie auch die Ergebnisse der Tierexperimente kritisch und systematisch bewertet werden, um Lücken in deren Allgemeingültigkeit zu entdecken und die dokumentierten Resultate zu überprüfen.

Um die Erfolgchancen einer solchen Therapie einschätzen zu können, müssen viele verschiedene Faktoren untersucht werden, die möglicherweise Einfluss auf den Behandlungserfolg haben können, wie die Art und Herkunft der Stammzellen, die verwendeten Trägermaterialien, eventuell beigemischte Wachstumsfaktoren zur Anregung der Regeneration und natürlich die Methode der Transplantation.

Im Folgenden werden die Studien, die bereits zu dem Thema der Pulparegeneration durch Stammzelltransplantation Versuche dokumentiert haben, zusammengefasst. Jede dieser Studien ist unabhängig durchgeführt worden, zudem unterschieden sich die Methoden und auch die Ergebnisse erheblich. Eine zusammenfassende Aussage über die Wahrscheinlichkeit des Erfolges der Pulparegeneration durch Stammzelltransplantation kann daher nur durch eine Metaanalyse gegeben werden. Sie dient als Werkzeug, die vorliegenden Daten aus unterschiedlichen Studien auf ihre Quantität und

Einleitung

Qualität zu gewichten und somit vergleichbar zu machen. Nicht nur der aktuelle wissenschaftliche Stand und die bisherigen Erfolgschancen auf dem Gebiet der Pulparegeneration durch Stammzelltransplantation werden durch diese Metaanalyse dargelegt, sondern auch eventuelle Schwachstellen bisher durchgeführter Versuche zu dem Thema. Die vorliegende Arbeit fasst alle bisher vorliegenden Daten zu diesem Thema zusammen und soll sowohl als Einblick in die zukunftsversierte Endodontologie dienen als auch als Wegweiser für neue Versuche auf dem Weg zur erfolgreichen Pulparegeneration.

3 MATERIAL UND METHODEN

Diese Studie richtet sich nach den Vorgaben des Systematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE) (21).

3.1 Literatursuche und Datenextraktion

Dem Thema dieses Reviews entsprechende Studien wurden durch die elektronischen Datenbanken PubMed, EMBASE und Cochrane identifiziert. Mit ihrer Hilfe wurde systematisch nach Artikeln zu dem Suchbegriff „Stammzelle“ in Verbindung mit dem zweiten Suchbegriff „Pulparegeneration“ im Titel oder im Abstract gesucht. Es wurde auch nach Synonymen dieser Begriffe gesucht, um schließlich eine möglichst große Menge an klinischen Studien zur Abwägung ihrer thematischen Relevanz einbeziehen zu können. Durch die Funktionen „AND“ und „OR“ der erweiterten Suchfunktion konnten die Begriffe miteinander verknüpft werden (siehe Appendix 1 – Suchsequenz).

Hinzukommend wurden stichprobenartig relevante Fachzeitschriften, darunter das Journal of Dental Research und das Journal of Endodontics, das Journal of Stem Cells und das Journal of Tissue Engineering, auf weitere passende Artikel durchsucht. Nach nicht publizierter Literatur wurde anhand der elektronischen Opengrey.eu Datenbank gesucht. Die Bibliografien bereits gefundener Artikel wurden nach Querverweisen auf weitere, möglicherweise ebenfalls relevante Artikel zum Thema durchgesehen. Alle einbezogenen Studien wurden zwischen November 1971 und Juli 2014, sowie in deutscher oder englischer Sprache publiziert. Alle Schritte zur Auswahl geeigneter Artikel wurden unabhängig von zwei Gutachtern (KJ und KFE) durchgeführt. Anschließend wurde ein dritter Gutachter (CD) konsultiert.

3.2 Definieren der Auswahlkriterien

Es wurden nur Artikel einbezogen, die den folgenden Kriterien entsprachen. Die Auswahl jener Kriterien erfolgte anhand der PICO-Strategie (Participants, Intervention, Control, Outcome).

Ausgewählt wurden Studien an Tieren, bei denen Stamm- bzw. Vorläuferzellen intraoral im Sinne einer Transplantation appliziert wurden, um eine mögliche Regeneration von Pulpagewebe untersuchen zu können. Die Menge des so regenerierten Gewebes sollte nicht nur qualitativ nachgewiesen, sondern auch quantitativ dargestellt worden sein.

Material und Methoden

Stammzellen sollten ohne jegliche Zugabe von Wachstumsfaktoren oder anderen wachstumsbeeinflussenden Substanzen eingebracht werden, um möglichst miteinander vergleichbare Ergebnisse in die Auswertung einbeziehen zu können. Klinische Studien, bei deren Versuchsdurchführung die Stammzellen nur in Kombination mit manipulativen Zusätzen transplantiert wurden, mussten von diesem Review ausgeschlossen werden.

Jede Studie sollte außer den Testgruppen zur Pulparegeneration auch mindestens eine Versuchsgruppe mit einer Negativkontrolle aufweisen. Als Negativkontrolle wurden nur Modelle ohne jegliche aktive Intervention durch Stammzellen oder andere das Wachstum fördernde oder hemmende Substanzen akzeptiert. In den Kontrollgruppen wurden folglich entweder nur neutrale Trägermaterialien oder nichts in die präparierten Pulpakammern eingebracht.

Es wurden ein Hauptresultat sowie drei Nebenresultate festgelegt. Als Hauptresultat wurde die quantitativ nachgewiesene Regeneration von neugebildetem Pulpagewebe definiert. Sie wurde gemessen als Masse an regeneriertem Gewebe bezogen auf die Fläche des amputierten Wurzelkanals. Die Regeneration von Dentin als zweites Resultat wurde gemessen als Masse an regeneriertem Dentin in Bezug auf die Defektfläche. Die Regeneration der Vaskularisation wurde gemessen als Masse der Kapillaren in Bezug auf die geschaffene Defektfläche und die neuronale Regeneration als Masse an neugebildeten Nerven in Bezug auf die geschaffene Defektfläche.

3.3 Evaluation systematischer Verzerrung

Die Qualität der Studien wurde durch die von SYRCLE empfohlenen Richtlinien zur Auswertung von klinisch experimentellen Studien untersucht.

3.3.1 Selektions-Verzerrung (unvoreingenommene Behandlungszuteilung): Es wurde nach einer randomisierten Gruppenzuweisung mit Sequenzgeneration gesucht. Diese randomisierte Zuweisung stellt sicher, dass die verschiedenen individuellen Abweichungen der Stichproben zufällig und ohne Voreingenommenheit verteilt sind und vergleichbare Ergebnisse liefern können. Grundlegende Versuchsparameter wie das Alter, das Geschlecht, das Gewicht und die Bedingungen der Aufzucht aller Versuchstiere wurden, wenn möglich, dokumentiert. Die Zuweisung der Versuchstiere in die Testgruppen musste vor Läsionsbildung und möglichst unter Verblindung der durchführenden Personen stattgefunden haben. Durch wissenschaftliche Mitarbeiter sollte nicht beeinflusst worden sein, welches Tier welcher Gruppe zugewiesen wurde.

Material und Methoden

3.3.2 Performance-Verzerrung (unvoreingenommene Durchführung der Versuche): Um vergleichbare Ergebnisse liefern zu können, mussten die Versuche unter gleichen Bedingungen durchgeführt werden. Die Unterbringung und Versorgung aller Versuchstiere innerhalb einer klinischen Studie mussten identisch sein. Abweichungen von diesen Bedingungen könnten die Ergebnisse der Untersuchung verfälschen. Alle an der Durchführung der klinischen Studien Beteiligten mussten frei von Voreingenommenheit sein.

3.3.3 Erkennungs-Verzerrung (unvoreingenommene Auswertung der Ergebnisse): Es wurde beurteilt, ob die Auswertung der Ergebnisse sowohl randomisiert als auch unter Unvoreingenommenheit aller Beteiligten stattfand. Die Gutachter durften beim Auswerten nicht wissen, welche gewonnenen Proben zu welchen Testgruppen gehörten. Andernfalls hätten persönliche Überzeugungen der Gutachter die Resultate beeinflussen können.

3.3.4 Reporting-Verzerrung (unvoreingenommene Berichterstattung): Wenn möglich wurden zusätzliche Daten angefordert, um alle erhältlichen Daten einbeziehen zu können. Auch wurde hierbei darauf geachtet, dass keine Exklusion wesentlicher Daten erfolgt war, indem die erzielten Resultate mit der Erwartungshaltung der durchführenden wissenschaftlichen Mitarbeiter verglichen wurden.

3.3.5 Andere Verzerrungen: Nach Beeinflussung der Resultate aufgrund industrieller Finanzierungen wurde gesucht und diese gegebenenfalls kontrolliert.

3.4 Tabellarisch registrierte Versuchsdaten

Die Daten aus den zugelassenen Artikeln wurden in einer geeigneten Tabelle gesammelt und abgeglichen. Das Aufstellen der Tabelle wurde unabhängig von zwei Beteiligten (KJ und KFE) und im Fall des Dissens durch Vermittlung eines dritten Gutachters (CD) durchgeführt. Anschließend wurden die Informationen aus den unabhängig aufgestellten Tabellen im Gespräch und wiederum durch Vermittlung des dritten Gutachters zusammengeführt. Zusätzlich verfügbare Daten zu den Versuchen wurden, wenn möglich, direkt bei den Autoren der Studien angefordert und in die Tabelle eingefügt.

Die randomisierte oder nicht randomisierte Zuteilung der Versuchstiere in Versuchsgruppen sowie die Durchführung im Parallel- oder im „Split-mouth“-Verfahren

Material und Methoden

wurden vermerkt. Das Parallelverfahren ist gekennzeichnet durch die Anwendung lediglich einer Testgruppe an einem Versuchstier, also entweder die Durchführung der Transplantation oder die Kontrolle ohne Transplantation. Im „Split-mouth“-Verfahren werden beide Verfahren, Stammzelltransplantation und Kontrolle, nebeneinander im selben Versuchstier durchgeführt und zum Beispiel quadrantenweise oder auf Ober- und Unterkiefer aufgeteilt.

Alle Informationen, die über die Versuchspopulation verfügbar waren, wurden vermerkt. Dazu gehören die Art und Anzahl der verwendeten Tiere, Alter und Gewicht sowie, wenn möglich, die Aufzuchtbedingungen. Außerdem wurde, wenn möglich, vermerkt, an welchen und an wie vielen Zähnen die Versuche durchgeführt wurden.

Es wurde festgehalten, wo und auf welche Weise die Defekte zur Versuchsdurchführung geschaffen und wie sie behandelt wurden. Es wurde außerdem untersucht, ob und anhand welcher Methode und mit welchen Materialien die Defekte nach Einbringung der Testsubstanzen verschlossen wurden.

Es wurde untersucht, mit welchen Trägermaterialien die Stammzellen in den einzelnen Studien eingebracht wurden und auf welche Weise diese Trägermaterialien vor Durchführung der Versuche behandelt wurden.

Des Weiteren wurde festgehalten, welche Versuchsgruppen in die jeweiligen Studien einbezogen wurden. Alle Versuchsgruppen pro Studie wurden tabellarisch aufgeführt. Es wurde vermerkt, welche Zellen und Trägermaterialien verwendet wurden. Hinzukommend wurde hier vermerkt, nach welchen Zeitabständen die jeweiligen Ergebnisse ausgewertet und dokumentiert wurden.

Sowohl das Herkunftsgewebe als auch die Verfahren zur Vorbereitung der verwendeten Stammzellen wurden dokumentiert. Die Stammzellen wurden entweder allogon von einem anderen Individuum derselben Spezies oder autogen von demselben Individuum gewonnen.

Daten zu den Ergebnissen wurden sowohl aus in den Studien enthaltenen Texten und Tabellen als auch aus den beigefügten Grafiken gewonnen und in die Tabelle eingefügt. Des Weiteren wurde in der Tabelle die Quantität der erzielten Ergebnisse dokumentiert. Hierzu wurden jeweils die Daten der Gruppen ausgewählt, die den längsten Versuchszeitraum und den größten Regenerationseffekt hatten. Die Ergebnisse wurden

Material und Methoden

für Haupt- und Nebenresultate mit Standardabweichungen angegeben, um ihre Varianz darzustellen und somit die Gewichtung der jeweiligen Studie innerhalb der durchzuführenden Meta-Analyse vornehmen zu können.

Im Falle des Auftretens von Interessenkonflikten, wie beispielsweise aufgrund industrieller Finanzierungsprojekte innerhalb der betroffenen Studien, wurde auch dies vermerkt.

3.5 Kriterien für die quantitative Auswertung der Ergebnisse und Metaanalyse

Das quantitativ beurteilte Versuchsergebnis war der Effekt in den behandelten Pulpakammern. Die Ergebnisse der Versuche wurden zu einer standardisierten Mittelwertdifferenz zusammengefasst. Das Konfidenzintervall wurde auf 95% festgelegt. Mindestens 95% der errechneten Mittelwertdifferenzen enthalten folglich den gesuchten Gesamtmittelwert. Im Falle von getrennten Effektschätzungen für Subgruppierungen innerhalb der Test- und Kontrollgruppen der einzelnen Studien wurden für diese Metaanalyse jene Versuchsgruppen unabhängig von zwei Beteiligten (KJ und KFE) ausgewählt, die am besten den aufgestellten Einschlusskriterien entsprachen. Die Metaanalyse wurde mittels Comprehensive Meta-Analysis 2.2.64 Software (Biostat, Englewood, NJ) durchgeführt. Zur Synthese wurde die „generic inverse-variance“-Methode, bei der die Gewichtung der jeweiligen Studie den Kehrwert der erwarteten Ergebnisse mit Streueffekt bildet, eingesetzt. Auf diese Weise wird sichergestellt, dass größer angelegte Studien mit folglich kleineren Standardfehlern eine größere Gewichtung in der Auswertung ihrer Ergebnisse bekommen als kleinere Studien, die aufgrund weniger Ergebnisse größere Standardfehler beinhalten. Die Heterogenität wurde durch Verwendung von Cochran's Q and I^2 – Statistiken (7) ausgewertet. Diese Methode hat den Vorteil, dass nicht die Größe der einbezogenen Studien und somit das Ausmaß der Heterogenität, sondern vielmehr der Effekt, den die Heterogenität auf die Ergebnisse hat, ins Gewicht fällt (22). Aufgrund der beträchtlichen Heterogenität der Studien ($I^2 > 50\%$) wurden „Random effect models“ für diese Metaanalyse verwendet. Da die Anzahl der Studien, die den strengen Einschlusskriterien entsprachen, so gering war, konnte keine Subgruppenanalyse durchgeführt werden. Aus demselben Grund musste auf die Durchführung einer Metaregressions-Analyse verzichtet werden, die Aufschluss darüber hätte geben können, inwiefern Moderatorvariablen Einfluss auf die

Material und Methoden

Ergebnisse hatten. Die Unvoreingenommenheit der Publikationen wurde anhand von funnel plots und anhand des Egger regression intercept Test ausgewertet (23).

Es lagen keine Hinweise auf Interessenkonflikte innerhalb der einbezogenen Studien vor. Alle fünf Studien wurden ausschließlich durch die Institute ihrer durchführenden Wissenschaftler finanziert.

4 ERGEBNISSE

4.1 Ergebnisse der Datenextraktion

4.1.1 Literatursuche anhand elektronischer Datenbanken

Die Literatursuche anhand der elektronischen Datenbank Pubmed lieferte 1063 Studien, welche die ausgewählten Suchbegriffe enthielten. Alle weiteren verwendeten Quellen ergaben zusätzliche 1067 Treffer. Nachdem alle Duplikate aussortiert waren, blieben 1364 Artikel zur weiteren Beurteilung übrig. Es konnten weitere 1272 Artikel ausgeschlossen werden, deren Titel oder Abstracts bereits darauf schließen ließen, dass die Studie nicht den angegebenen Einschlusskriterien entsprach. Zweiundneunzig der gefundenen Artikel wurden für die weitere Beurteilung in der Volltext-Variante angefordert und von zwei Beteiligten (KJ und KFE) unabhängig ausgewertet. Dabei konnten siebenundachtzig Artikel ausgeschlossen werden (siehe Appendix 2). Reviews und alle anderen Artikel, die keine klinisch-experimentellen Studien enthielten, konnten ausgeschlossen werden. Ebenfalls ausgeschlossen wurden Studien, die keine Stammzelltransplantation oder kein Modell zur Pulparegeneration enthielten sowie Studien, die keine quantitative Analyse des Regenerationseffekts oder keine Kontrollgruppe aufwiesen. Eine Studie wurde exkludiert, weil nur parodontal vorgeschädigte Zähne für die Versuche verwendet wurden (24). Ein weiterer Artikel wurde vom Autor zurückgezogen und daher ebenfalls exkludiert (25). Es blieben fünf klinisch-experimentelle Studien übrig, anhand derer dieses Review durchgeführt wurde (siehe Abbildung 1). Alle ausgewählten Studien wurden innerhalb des Zeitraumes der Jahre 2004 bis 2013 durchgeführt.

4.1.2 Angewandte Studiendesigns

Die histologische Auswertung der Versuchsproben wurde in einer (26) der fünf einbezogenen Studien ausdrücklich mit Verblindung des Gutachters durchgeführt. Des Weiteren wurde die Zuteilung der Versuchstiere in zwei Studien als randomisiert bezeichnet (26, 27). Eine verblindete Auswertung oder randomisierte Gruppenzuweisung wurde in den restlichen Studien nicht erwähnt. Alle Versuche der einbezogenen Studien wurden anhand eines Parallelverfahrens durchgeführt. Jedes Versuchstier wurde folglich nur einer Versuchsgruppe zugeteilt.

Ergebnisse

4.1.3 Verwendete Tiermodelle

Insgesamt wurden in den einbezogenen Studien 266 Zähne von 64 Tieren in die Versuche einbezogen. In allen Studien wurden Hunde als Versuchstiere verwendet, außer in einer (28), die Minischweine als Versuchstiere nannte. Die für die in-vivo-Versuche verwendeten Zähne variierten zwischen Inzisivi (27, 29, 30), Prämolaren (28) und Eckzähnen (26).

4.1.4 Defektschaffung innerhalb der Studien

Das Vorgehen der Defektschaffung für die Applikation der Stammzellen variierte in den einbezogenen Studien. Zwei Studien (27, 29) bedienten sich des Verfahrens der Pulpektomie mit Erweiterung des apikalen Foramens auf 0,6 mm bzw. 0,7 mm. In allen weiteren Studien wurde das Pulpagewebe lediglich partiell mit verschiedenen Ausdehnungen der Defekte entfernt (siehe Tabelle 1). Drei der einbezogenen Studien berichten, auf welche Weise die Defektkavität nach Einbringen der Stammzellen oder Kontrollpellets verschlossen wurden. In einer Studie (28) wurde zu diesem Zweck Zinkoxideugenol und Glasionomerezement verwendet. Die beiden anderen (26, 29) nutzten Zinkphosphatzement und einen Resin-Komposit (Clearfil, Kuraray Dental).



PRISMA 2009 Flussdiagramm

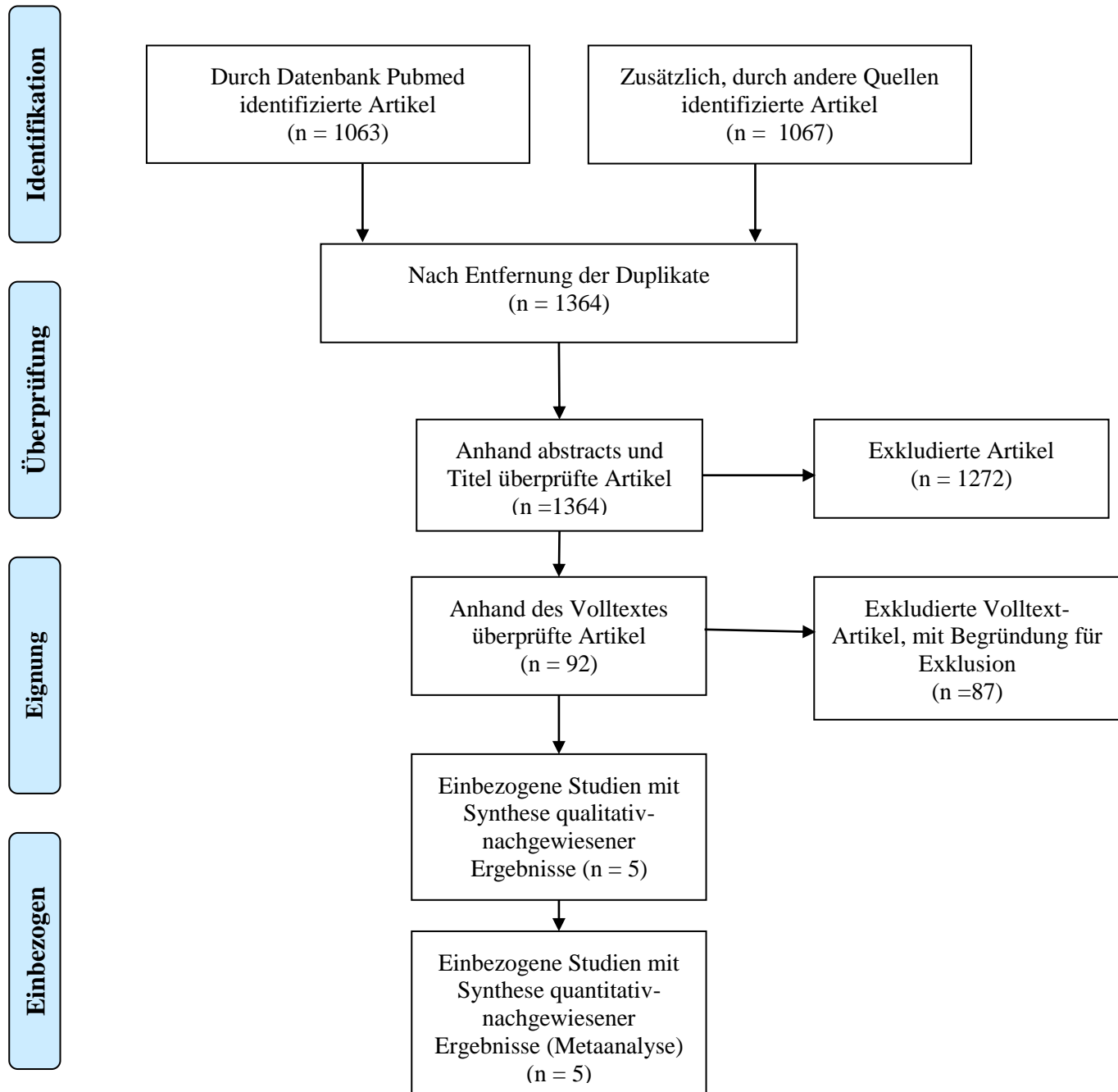


Abbildung 1: Flussdiagramm der Literatursuche

Ergebnisse

4.1.5 Verwendete Trägermaterialien

Alle in den einbezogenen Studien zur Verwendung kommenden Trägermaterialien dienten ausschließlich der besseren Applikation und Adaption der Stammzellen. Kein Träger hatte wachstumsfördernden oder anderweitig manipulativen Einfluss auf die Versuchsdurchführung. Eine Studie (30) kam ganz ohne die Verwendung eines Trägers aus. Die drei Studien desselben Autors (26, 27, 29) nannten verschiedene Kollagene als Träger. Darunter Atelocollagen, Kollagen I und Kollagen III. Die letzte Studie (28) verwendete β -Trikalzium-Phosphat.

4.1.6 Verwendete Stammzellen

In den ausgewählten klinischen Studien kamen Stammzellen aus adultem Pulpagewebe sowie in einer Studie (26) Stammzellen aus der Milchzahnpulpa zur Verwendung. Die verwendeten Stammzellen aus vier Studien waren allogener Herkunft, wurden also von einem anderen Individuum derselben Spezies gewonnen. Die Stammzellen aus zwei Studien waren autogener Herkunft (28, 30), stammten also von demselben Individuum. Weitergehend identifiziert wurden die Stammzellen in zwei Studien (26, 29) anhand von speziellen Oberflächenmarkern wie dem Thrombozyten-Endothelzellen-Adhäsionsmolekül CD31, dem Melanosomen-Adhäsions-Molekül CD146 und Endoglin.

4.1.7 Versuchsgruppen der einbezogenen Studien

Um in die statistische Auswertung der Ergebnisse der verschiedenen Studien möglichst vergleichbare Versuchsdaten einfließen zu lassen, wurden aus jeder Studie je eine Testgruppe und eine Kontrollgruppe ausgewählt, die am besten zu den aufgestellten Kriterien passten und den anderen Studien in der Durchführung der Versuche am ähnlichsten waren.

4.2 Zusammenfassung der Ergebnisse

Alle einbezogenen Studien führten eine histologische Untersuchung und Beurteilung der Quantität des regenerierten Gewebes in den geschaffenen Defekten durch. Drei Studien beurteilten die Pulparegeneration, zwei Studien die Dentinregeneration und eine Studie sowohl die vaskuläre als auch die neuronale Regeneration.

Ergebnisse

Tabelle 1: Versuchsverfahren der einbezogenen Studien

<u>Studie</u>	<u>Verblindung; Randomisierung; Verfahren</u>	<u>Tiermodell</u>	<u>Defekt</u>	<u>Trägermaterial</u>	<u>Gruppen</u>	<u>Stammzellen</u>
Iohara et al. 2009 (26)	Keine; keine; parallel	54 Eckzähne; 18 Hunde	Partielle Pulpektomie (1mm unter Schmelz-Zement-Grenze)	Gemisch aus Kollagen Typ I & III (1:1)	(1) CD31-/CD146-Stammzellen (2) CD31+/CD146 - Stammzellen (3) Kein Pellet (4) Nur Trägermaterial (5) CD31-/CD146-Stammzellen (6) CD31+/CD146 - Stammzellen (7) Nur Trägermaterial (8) CD31-/CD146-Stammzellen (9) CD31+/CD146 - Stammzellen (10) Nur Trägermaterial (Versuchszeitraum Gruppen 1-4 14 Tage, Gruppen 5-7 30 Tage, Gruppen 8-10 60 Tage)	Primäre Pulpazellen; allogene
Iohara et al. 2013 (27)	Keine; Randomisierung; parallel	72 Inzisivi; 18 Hunde	Pulpektomie, apikales Foramen erweitert auf 0,6 mm	Atelokollagen; Kollagen	(1) DPSC/G-CSF/Atelokollagen (2) Ganze Pulpazellen/G-CSF (3) DPSC (4) Ganze Pulpazellen (5) G-CSF (6) Kollagen (Versuchszeitraum 14 Tage)	DPSC; allogene
Zheng et al. (28)	Verblindung; Randomisierung; parallel	56 Prämolare; 7 Minischweine	Defekt (3-4mm Durchmesser)	β-TCP	(1) Ca(OH) ₂ (2) β-TCP (3) DPSC/β-TCP (Versuchszeitraum 16 Wochen)	DPSC; autogen
Nakashima et al. (30)	Keine; keine; parallel	24 Inzisivi, 6 Hunde	Pulpotomie	Kein Träger	(1) Gdf11-Pellets (2) pEGFP-Pellets (3) keine Transplantation (Versuchszeitraum 3 Monate)	DPSC; autogen

Ergebnisse

Iohara et al. 2011 (29)	Keine; keine; parallel	60 Inzisivi, 15 Hunde	Pulpektomie; Erweiterung des apikalen Foramens auf 0,7mm	Gemisch aus Kollagen Typ I & III	(1) pulpale CD105+ Stammzellen/ SDF-1 (2) adipöse CD105+ Stammzellen/ SDF-1 (3) ganze Pulpazellen/S DF-1 (4) nur SDF-1 (5) nur pulpale CD105+ Stammzellen (6) nur Trägermaterial (7) pulpale CD105+ Stammzellen/ SDF-1 (8) pulpale CD105+ Stammzellen/ SDF-1, adipöse CD105+ Stammzellen/ SDF-1 und ganze Pulpazellen/S DF-1 (9) normale Zähne (Versuchszeitraum Gruppe 1-6 14 Tage, Gruppe 7 28 Tage, Gruppe 8 90 Tage)	DPSC und ganze Pulpazellen; allogene
-------------------------	------------------------	-----------------------	--	----------------------------------	---	--------------------------------------

4.2.1 Ergebnisse der Pulparegeneration

Um die Ergebnisse auswerten zu können, wurden aus den Proben Schnitte hergestellt, welche in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt wurden. Zusätzlich wurden digitale Bildbearbeitungsverfahren angewendet, um die Effekte der Stammzelltransplantation sichtbar zu machen. Die angegebenen Daten der ersten Studie (27) sind Mittelwerte mit Standardabweichungen von fünf Messungen. Um mehr Sicherheit zu erlangen, wurde das Experiment dreimal wiederholt. Die anderen beiden Studien zur Bestimmung von Pulparegeneration (26, 29) verwendeten zur Auswertung ebenfalls histologische Schnitte. Zur Bestimmung der Menge an regeneriertem Gewebe bezogen auf die geschaffene Defektfläche wurden die Umriss des neugebildeten Gewebes auf einer Bildschirmanzeige nachgezogen und der entsprechende Flächeninhalt dieser Umriss innerhalb des Pulpakanaldefekts berechnet. Die letzte

Ergebnisse

Studie von Iohara et al. (26) beinhaltete leider keine quantitative Darstellung der Pulparegeneration ohne Verwendung von Stammzellen. Als Kontrollgruppe musste daher die Versuchsgruppe mit CD31+/CD146- Stammzellen dienen (siehe Tabelle 2). Es wurde anschließend berechnet, welche Gewichtung und damit welche Aussagekraft und Zuverlässigkeit die einzelnen Studienergebnisse haben. Hinzukommend wurde die Heterogenität berechnet und mit einem Wert von 1.19 angegeben (siehe Abbildung 2). Die Zusammenfassung der Daten aus den drei Studien zur Pulparegeneration, mit insgesamt sieben verwendeten Versuchstieren und 23 behandelten Pulpakammern in Test- und Kontrollgruppe, ergab eine signifikant größere Pulparegeneration nach Applikation der Stammzellen als in den Kontrollgruppen ohne Stammzellen.

Tabelle 2: Ergebnisse der Pulparegeneration

<u>Studie</u>	<u>Pulparegeneration</u> Masse an regenerierter Pulpa/Defektfläche (in %)	
	Anzahl der Versuche N; Durchschnittswert \pm SD	Anzahl der Kontrollen N; Durchschnittswert \pm SD
Iohara et al. 2009 (26)	CD31-/CD146- 6; 121,1 \pm 17,2	CD31+/CD146- 6; 57,2 \pm 7,9
Iohara et al. 2013 (27)	DPSC 12; 13,5 \pm 5,5	Kollagen 12; 9,6 \pm 2,9
Iohara et al. 2011 (29)	CD105+ 5; 9,81 \pm 3,8	Kollagen 5, 4,3 \pm 1,6

4.2.2 Ergebnisse der Dentinregeneration

Die Daten aus den zwei Studien (28, 30), die gezielt die Dentinregeneration beurteilten, wiesen zusammen fünf, beziehungsweise drei Versuchstiere und 29 bzw. 21 behandelte Defekte auf. Auch zum Nachweis von Dentinregeneration wurden histologische Schnitte der Ergebnisproben hergestellt. Die Masse an regeneriertem Dentin wurde für jede Probe gemessen als prozentuale Menge bezogen auf den zuvor geschaffenen Defekt. Die Umrisse des reparativen Tertiärdentins wurden digital nachgezogen und der entsprechende Flächeninhalt innerhalb des geschaffenen Defekts bestimmt. Aus den Ergebnissen wurde ein Durchschnittswert mit Standardabweichung errechnet, welcher in mm² angegeben wurde. Für die Kontrollgruppe der Studie von Nakashima et al. (30) ohne jegliche Transplantation

Ergebnisse

wurde kein quantitativer Nachweis der Dentinregeneration angegeben. Um die Kontrolle dennoch in diese Metaanalyse einbeziehen zu können, wurde für die Kontrollgruppe keine Dentinregeneration angenommen. Die Standardabweichung wurde auf 0,0001 festgelegt. Die Auswirkung, die diese Annahme auf die Statistik dieser Arbeit hat, wurde untersucht, indem eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt wurde (siehe Tabelle 3). Die größere Gewichtung liegt hier trotz der höheren Standardabweichungen bei der Studie von Zeng et al. (28), da diese eine höhere Anzahl von Versuchen durchführte. Die Heterogenität ergab einen Wert von 5.51 (siehe Abbildung 2). Die Regeneration nach Zugabe von Stammzellen war auch hier signifikant höher als in den Kontrollgruppen und die Werte zugunsten der Stammzelltransplantation verbesserten sich sogar bei Auslassen der durch die Gutachter imputierten Daten.

Tabelle 3: Ergebnisse der Dentinregeneration

<u>Studie</u>	<u>Dentinregeneration</u>	
	Masse an regeneriertem Dentin/Defektfläche (in %) oder tubuläres Tertiärdentin (in mm ²)	
	Anzahl der Versuche N; Durchschnittswert ± SD	Anzahl der Kontrollen N; Durchschnittswert ± SD
Zheng et al. 2012 (28)	DPSC/β-TCP 24; 81,4 ± 7,3	β-TCP 16; 34,6 ± 4,5
Nakshima et al. 2004 (30)	pEGFP-Pellets 5; 0,32 ± 0,077	Keine Transplantation 2; 0

4.2.3 Ergebnisse der vaskulären Regeneration

Nur eine Studie (27) untersuchte gezielt die vaskuläre Regeneration innerhalb des zuvor geschaffenen Defektes. Zu diesem Zweck wurden histologische Proben und mikroskopische Digitalaufnahmen der histologischen Präparate angefertigt. Die Masse an regeneriertem vaskulären Gewebe im geschaffenen Defekt, die auf die Färbung mit BS-1 Lektin positiv reagierte, wurde gemessen. Das ganze Experiment wurde zur Verifikation der Ergebnisse dreimal wiederholt. Die standardisierte Mittelwertdifferenz ergab hier 5.10. Da nur eine Studie den Aspekt der Revaskularisation betrachtete, war keine Berechnung der Heterogenität möglich (siehe Abbildung 2). Die Revaskularisation war nachgewiesen höher mit Stammzelltransplantation.

Ergebnisse

Tabelle 4: Ergebnisse der vaskulären Regeneration

<u>Studie</u>	<u>Vaskuläre Regeneration</u> Kapillaren/Defektfläche (in %)	
	Anzahl der Versuche N; Durchschnittswert \pm SD	Anzahl der Kontrollen N; Durchschnittswert \pm SD
Iohara et al. 2013 (27)	DPSC 12; 3,1 \pm 0,2	Kollagen 12; 1,8 \pm 0,3

4.3.3 Ergebnisse der neuronalen Regeneration

In derselben Studie (27) wurde auch die neuronale Regeneration separat untersucht. Das Verhältnis an positiv PGP9.5- gefärbtem neuronalen Gewebe im Defekt wurde anhand von 310 μ m x 240 μ m Ausschnitten der histologischen Präparate gemessen. Mikroskopische Digitalaufnahmen wurden angefertigt und beurteilt. Es wurden fünf Messungen durchgeführt. Da auch hier nur eine Studie einbezogen werden konnte, lag die Gewichtung bei 100% und eine Berechnung der Heterogenität war nicht möglich (siehe Abbildung 2). Auch hier wiesen die Gruppen mit Stammzelltransplantation eine höhere neuronale Regeneration auf als die Kontrollgruppen.

Tabelle 5: Ergebnisse der neuronalen Regeneration

<u>Studie</u>	<u>Neuronale Regeneration</u> Nerven/Defektfläche (in %)	
	Anzahl der Versuche N; Durchschnittswert \pm SD	Anzahl der Kontrollen N; Durchschnittswert \pm SD
Iohara et al. 2013 (27)	DPSC 12; 1,5 \pm 0,2	Kollagen 12; 0,1 \pm 0,1

Ergebnisse

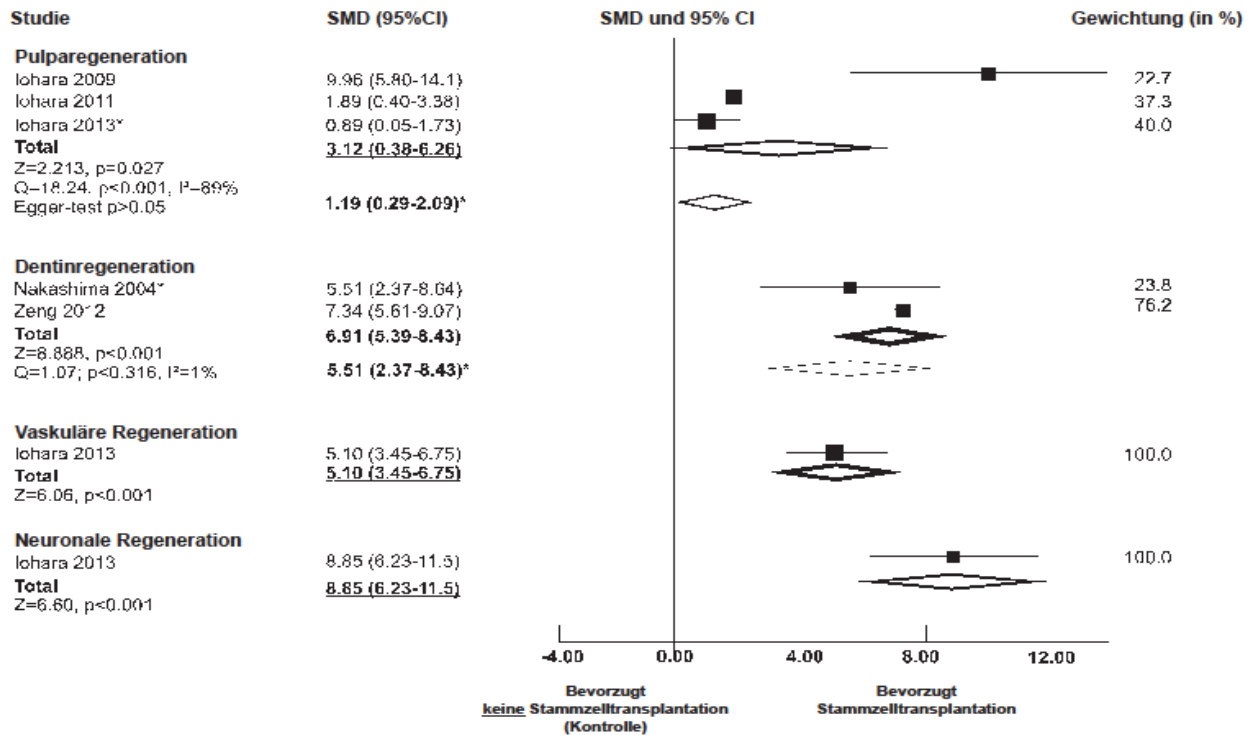


Abbildung 2: Meta-Analyse für die Pulparegeneration, Dentinregeneration, vaskuläre und neuronale Regeneration nach Stammzelltransplantation oder Kontrollversuchen. Die Abbildung zeigt Studiendaten, standardisierte Mittelwertdifferenzen, 95%iges Konfidenzintervall und relative Gewichtung der Studien. Bei mehr als zwei zu evaluierenden Studien wurde die Heterogenität durch Cochran's Q und I² Statistik ausgewertet, die Publikationsverzerrung durch den Egger-Test. Für die vaskuläre und die neuronale Regeneration wurden fehlende Werte aus Kontrollgruppen hinzugefügt. Eine Auslassung dieser nachträglich imputierten Werte würde die Effektschätzung sinken lassen, die statistische Relevanz allerdings nicht beeinflussen.

4.3 Verzerrungsrisiken

Das Risiko der durch fehlerhafte Untersuchungsmethoden verursachten Verzerrung der Resultate war in allen einbezogenen Studien hoch (siehe Tabelle 6). Die Selektionsverzerrung, welche Stichprobenverzerrung bei der Gruppenzuweisung darstellt, wurde zur näheren Beurteilung in die Teilbereiche der Sequenzgeneration, Angabe grundlegender Versuchscharakteristika und die verschleierte Gruppenzuweisung aufgeteilt. Die Haltung der Versuchstiere wurde in keiner der

Ergebnisse

Studien sicher als randomisiert bezeichnet. Auch fand keine Verblindung des durchführenden oder auswertenden Personals statt. Nur eine Studie (28) gab an, die Ergebnisse randomisiert ausgewertet zu haben. Die Schwundverzerrung, also das Risiko des Verlustes von Versuchsdaten über den Zeitraum der Studie, war ebenfalls in allen fünf Studien hoch. Es war bei der Durchführung dieser Studie nicht mehr eindeutig nachzuvollziehen, ob und welche Daten in den einzelnen Studien verloren gegangen sein könnten. Eine selektive Berichterstattung mit einer Reporting-Verzerrung konnte in zwei Studien (27, 30) ausgeschlossen werden. Die anderen drei Studien liefern keine genauen Hinweise zum Ausschluss einer Reporting-Verzerrung. Nach anderweitigen Quellen einer möglichen Ergebnisverzerrung wurde gesucht, es wurden allerdings keine gefunden.

Ergebnisse

Tabelle 6: Das Verzerrungsrisiko (Teil 1)

Studie	Selektions-Verzerrung (Stichprobenverzerrung)		
	<i>Sequenzgenerati on</i>	<i>Grundlegende Charakteristika</i>	<i>Verschleierte Gruppenzuweisung</i>
(26)	Nein	Ja	Nein
(29)	Nein	Ja	Nein
(27)	Ja	Ja	Unklar
(30)	Nein	Ja	Nein
(28)	Ja	Ja	Nein
	Performance-Verzerrung		
	<i>Randomisierte Unterbringung</i>	<i>Verblindung</i>	
(26)	Unklar	Nein	
(29)	Unklar	Nein	
(27)	Unklar	Nein	
(30)	Unklar	Nein	
(28)	Unklar	Nein	
	Erkennungs-Verzerrung		
	<i>Randomisierte Auswertung der Ergebnisse</i>	<i>Verblindung</i>	
(26)	Nein	Nein	
(29)	Nein	Nein	
(27)	Nein	Nein	
(30)	Nein	Nein	
(28)	Ja	Nein	

Ergebnisse

Tabelle 6: Das Bias- Risiko (Teil 2)

	<u>Schwund-Verzerrung</u>
	<i>Unvollständige Ergebnisdokumentation</i>
(26)	Unklar
(29)	Unklar
(27)	Unklar
(30)	Unklar
(28)	Unklar
	<u>Reporting-Verzerrung</u>
	<i>Selektive Berichterstattung</i>
(26)	Unklar
(29)	Unklar
(27)	Nein
(30)	Nein
(28)	Unklar
	<u>Andere Verzerrungen</u>
	<i>Andere Verzerrungsquellen</i>
(26)	Nein
(29)	Nein
(27)	Nein
(30)	Nein
(28)	Nein

5 DISKUSSION

Die biologische Regeneration von funktionsfähigem Pulpagewebe ist ein langersehntes Ziel in der regenerativen Endodontologie (8, 31). Die bisherigen Bemühungen, die Wirksamkeit dieser Regeneration von pulpaem Gewebe zu beweisen, beruhen meistens nur auf der qualitativen histologischen Beurteilung der Versuchsergebnisse. Nur sehr wenige Studien nahmen quantitative Beurteilung vor, bei denen die Menge des experimentell regenerierten Gewebes gemessen, ausgewertet und dokumentiert wurde. Die Herausforderung der quantitativen Auswertung des regenerierten Gewebes besteht unter anderem in der genauen Definition der zu untersuchenden Parameter. Die Funktionseinheit des Pulpa-Dentin-Komplexes weist mehrere verschiedene komplexe Gewebetypen auf. Es reicht daher auch nicht aus, nur die Menge des gebildeten Gewebes nachzuweisen. Es muss auch untersucht werden, ob und in welchem quantitativen Umfang sich funktionsfähige neuronale und vaskuläre Zellen neben Hartgewebestrukturen regeneriert haben. Es wurde in dieser Arbeit der aktuelle wissenschaftliche Stand der quantitativ-nachweisbaren Wirksamkeit von biologischer Pulparegeneration durch Stammzelltransplantation untersucht.

Es sollten nur mit Vorsicht und unter Vorbehalt Rückschlüsse aus den Ergebnissen dieser Arbeit gezogen werden, da die Anzahl und die Qualität der einbezogenen Studien gering ist. Keine der einbezogenen Tierstudien führte Fallzahlberechnungen durch, weshalb die statistische Aussagekraft limitiert sein kann. Bei der Wahl der Versuchstiere unterscheiden sich die Studien, da vier Studien Hunde wählten und eine Studie Minischweine (28). Auch die Eigenschaften und Morphologien der geschaffenen Defekte waren sehr unterschiedlich in den Studien, so reichten sie von Pulpakammerdefekten (28) bis zu partiellen (26) und kompletten Wurzelkanalaufbereitungen mit unterschiedlich weiten apikalen Foramenerweiterungen (27, 29, 30). Es existiert hinzukommend kein verlässlicher Hinweis darauf, welche dieser Methoden am geeignetsten ist, um die Pathophysiologie der menschlichen Pulpa am besten nachzustellen. Des Weiteren fehlen Split-mouth Modelle, bei denen Versuch und Negativkontrolle im selben Versuchstier durchgeführt werden, um interindividuelle Variabilität zu umgehen. Könnten alle Versuchsgruppen zeitgleich am selben Organismus durchgeführt werden, wären die Bedingungen, unter denen die Tests durchgeführt werden, vergleichbarer (32). Es bestünde in diesem Fall hingegen die

Diskussion

Gefahr, dass sich inkorrekte statistische Werte aufgrund des individuellen Milieus des Versuchsumfeldes häufen, was wiederum eine reduzierte statistische Variation zufolge hätte. Eine Randomisierung der Versuchsdurchführung wurde nur in zwei der einbezogenen Studien (27, 28) erwähnt, eine Verblindung der Gutachter sogar nur in einer der einbezogenen Studien (28). Schließlich unterlagen alle einbezogenen Studien einem hohen Verzerrungsrisiko für Selektion, Durchführung, Auswertung und Berichterstattung.

Alle Studien verwendeten vorab isolierte, allogene Stammzellen bis auf eine Studie (30), welche autologe Stammzellen für die Regeneration verwendete. Alle verwendeten Stammzellen wurden aus dem Pulpagewebe adulter Tiere isoliert, außer die Stammzellen einer Studie, welche aus Milchzähnen gewonnen wurden (28). Die Verwendung von verschiedenen Stammzellen in zwei Studien (26, 29) trägt zur Heterogenität dieser Versuche bei, wobei nicht bewiesen ist, ob diese Tatsache Auswirkung auf die jeweiligen Eigenschaften oder das jeweilige regenerative Potential der Zellen hat.

Die Wahl der verwendeten Trägermaterialien für das Einbringen der Zellen in die Gewebsdefekte hat großen Einfluss auf das regenerierte Gewebe und somit auch auf die Resultate (33). Im Optimalfall soll der Träger das Mikromilieu, in dem die Stammzellen natürlicherweise vorkommen, mitsamt aller physikalischen Eigenschaften und anatomischen Strukturen nachahmen. Dazu gehören nicht nur die richtigen Strukturproteine und Adhäsionsmoleküle. Der Träger muss auch die entsprechende Porengröße aufweisen, um die Zielfindung, Differenzierung und korrekte phänotypische Ausprägung der Stammzellen herbeizuführen, ohne dabei die Interaktionen zwischen Zellen und Matrix zu stören (34, 35). Jede Veränderung der Trägergeometrie, der Porengröße, der Elastizität oder anderen mechanischen Eigenschaften sowie der chemischen Zusammensetzung oder der Abbaugeschwindigkeit der Träger kann großen Einfluss auf das regenerative und reparative Potential der Stammzellen haben (31, 36). Die Wahl des Trägermaterials erfolgte in den einbezogenen Studien mit Hinblick auf die Art des experimentellen Defektes. So wurde in Studien mit einer Pulpakappung mineralisiertes β -Tricalciumphosphat (β -TCP) verwendet, in Fällen einer partiellen oder kompletten Aufbereitung des Wurzelkanals wurden Zellpellets ohne Träger verwendet oder die Stammzellen wurden anhand von verschiedenen Kollagengemischen als Träger in die Defekte eingebracht. Keiner der Träger wurde vor

Diskussion

der Durchführung der Versuche auf seine Eigenschaften und Zell-Beeinflussung suffizient überprüft. Aus diesem Grund besteht die Möglichkeit, dass sie Zelleigenschaften wie Proliferationsrate oder Differenzierung der Stammzellen in den Versuchen auf unbekannt Weise beeinflussen (37).

Aufgrund der Komplexität des Pulpagewebes kann derzeit kein universell reproduzierbares, generelles Ergebnis einer Pulparegeneration durch Stammzelltransplantation erzielt werden. Es lässt sich allerdings feststellen, dass die neuronale Reinnervation und Revaskularisation wichtige Rollen bei der erfolgreichen Pulparegeneration spielen (38). Diese Studie unterscheidet zwischen vier verschiedenen Ergebnissen: der kompletten Pulparegeneration, regeneriertem Dentin, Kapillarenregeneration pro Defektfläche und Neuronenregeneration pro Defektfläche. Leider waren keine weiteren ausreichend geeigneten Studien vorhanden, um Rückschlüsse auf die neuronale oder vaskuläre Regeneration zu ziehen. Alle Ergebnisse wurden auf die zuvor beschriebene Art spezifisch oder unspezifisch histologisch untersucht. Um eine vollständige und funktionelle Pulparegeneration zu beweisen, wären allerdings hinzukommend thermische und elektrische Test notwendig. Diese könnten womöglich zeigen, ob und auf welche Weise das regenerierte Gewebe auf verschiedene Reize reagiert. Außerdem könnte nachgewiesen werden, ob zum Beispiel auch eine erfolgreiche Regeneration der A δ -Fasern stattgefunden hat, welche Schmerzreize weiterleiten und somit auch wichtig sind für eine reflektorische Entlastung der Zähne bei Überbelastung. Ein Pulsoximeter oder eine Laser-Doppler-Flowmetrie könnten mit hoher Sensibilität und Spezifität Hinweise auf die Revaskularisation geben (39). Ein negatives Ergebnis eines Vitalitätstests würde sehr wahrscheinlich mit einer nekrotischen Pulpa korrelieren. Bei einem Vitalitätstest wird dem zu untersuchenden Zahn ein sensibler Reiz wie beispielsweise Kälte oder elektrische Spannung gegeben und der Patient gibt eine positive Rückmeldung, sobald er diesen Reiz spürt. Dennoch lässt sich sehr schlecht durch derartig subjektive Vitalitätsprüfungen auf den tatsächlichen histologischen Zustand der Pulpa schließen (39). Der Vollständigkeit halber sollten also in Zukunft zur Bewertung einer Pulparegeneration zusätzlich zu allen herkömmlichen histologischen Untersuchungsverfahren zusätzliche Tests zur Beurteilung der funktionsfähigen Reinnervation und Revaskularisation durchgeführt werden.

Diskussion

Die Tatsache, dass vier der fünf einbezogenen Studien von derselben Forschergruppe durchgeführt wurden, könnte zusätzliche Auswirkungen auf die Generalisierbarkeit der durch sie erzielten Ergebnisse haben (26, 27, 29, 30). Obwohl die Versuchsproben mit transplantierten Stammzellen eine bessere Regenerationsrate aufwiesen als die Kontrollproben, bleibt die klinische Relevanz dieser Ergebnisse unklar. Darüber hinaus erhöht das eigenmächtige Hinzufügen von Daten für Kontrollgruppen, wie es hier für eine Studie (30) stattgefunden hat, die Ungenauigkeit der Werte, obwohl eine Sensitivitätsanalyse zeigte, dass die Ergebnisse dadurch nicht ausschlaggebend verändert wurden. Es bedarf zukünftig weiterer experimenteller Tierstudien, welche eindeutig definierte Methoden und quantitative Ergebnisse zur Pulparegeneration durch Stammzelltransplantation aufweisen sollten. Anschließend sollten diese Studien erneut durch eine Metaanalyse gewichtet und ausgewertet werden, um schließlich weitere aussagekräftigere Ergebnisse und Prognosen zur Regeneration von Pulpagewebe für zukünftige Therapieoptionen zur Verfügung zu stellen.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Die Ergebnisse der einbezogenen Studien lassen vermuten, dass durch Applikation von Stammzellen eine biologische Regeneration des Pulpa-Dentin-Komplexes in intraoralen Tiermodellen umsetzbar ist. Dennoch basiert dieses Erkenntnis auf einer sehr kleinen Anzahl von einbezogenen Studien, welche sich stark in ihrem Versuchsdesign unterscheiden. Auch die Intervention durch Stammzellen und die Wahl der Kontrollgruppen unterschieden sich maßgeblich. Das Verzerrungsrisiko war allgemein sehr hoch. Aus diesen Gründen sollten diese Ergebnisse nur unter Vorbehalt interpretiert werden. Zukünftige Studien auf diesem Gebiet sollten akzeptierte und standardisierte Methoden anwenden. Es sollten mehrere klar definierte quantitative Endpunktparameter untersucht werden, welche eine optimale Regeneration und physiologische Funktionsfähigkeit der Pulpa beweisen. Optimal wären zur Vervollständigung intraorale Versuche zur Pulparegeneration durch Stammzelltransplantation an Menschen. Die durch derartige Versuche erzielten Ergebnisse sollten umfangreich sowohl histologisch als auch anhand anderer physiologischer Funktionsfähigkeitsuntersuchungen belegt werden. Die angewandten Methoden sollten vergleichbar und jederzeit reproduzierbar sein. Die derzeitige Evidenzebene lässt keine weiteren Schlussfolgerungen zu.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Setzer FC, Kim S. Comparison of long-term survival of implants and endodontically treated teeth. *Journal of dental research*. 2014;93(1):19-26.
2. Sedgley CM, Messer HH. Are endodontically treated teeth more brittle? *Journal of endodontics*. 1992;18(7):332-5.
3. Papa J, Cain C, Messer HH. Moisture content of vital vs endodontically treated teeth. *Endodontics & dental traumatology*. 1994;10(2):91-3.
4. Howe CA, McKendry DJ. Effect of endodontic access preparation on resistance to crown-root fracture. *Journal of the American Dental Association (1939)*. 1990;121(6):712-5.
5. Randow K, Glantz PO. On cantilever loading of vital and non-vital teeth. An experimental clinical study. *Acta odontologica Scandinavica*. 1986;44(5):271-7.
6. Ray HA, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *International endodontic journal*. 1995;28(1):12-8.
7. Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *Journal of endodontics*. 2005;31(10):711-8.
8. Rosa V, Zhang Z, Grande RH, Nor JE. Dental pulp tissue engineering in full-length human root canals. *Journal of dental research*. 2013;92(11):970-5.
9. Psaltis PJ, Zannettino AC, Worthley SG, Gronthos S. Concise review: mesenchymal stromal cells: potential for cardiovascular repair. *Stem cells (Dayton, Ohio)*. 2008;26(9):2201-10.
10. Monsarrat P, Vergnes JN, Nabet C, Sixou M, Snead ML, Planat-Benard V, Casteilla L, Kémoun P. Concise review: mesenchymal stromal cells used for periodontal regeneration: a systematic review. *Stem cells translational medicine*. 2014;3(6):768-74.
11. Fawzy El-Sayed KM, Paris S, Becker ST, Neuschl M, De Buhr W, Salzer S, Wulff A, Elrefai M, Darhous MS, El-Masry M, Wiltfang J, Dörfer CE. Periodontal regeneration employing gingival margin-derived stem/progenitor cells: an animal study. *Journal of clinical periodontology*. 2012;39(9):861-70.
12. Fawzy El-Sayed KM, Mekhemar MK, Beck-Broichsitter BE, Bahr T, Hegab M, Receveur J, Heneweer C, Becker ST, Wiltfang J, Dörfer CE. Periodontal regeneration employing gingival margin-derived stem/progenitor cells in conjunction with IL-1 α -hydrogel synthetic extracellular matrix. *Journal of clinical periodontology*. 2015;42(5):448-57.
13. Ilic D, Polak J. Stem cell based therapy--where are we going? *Lancet (London, England)*. 2012;379(9819):877-8.
14. Shin L, Peterson DA. Human mesenchymal stem cell grafts enhance normal and impaired wound healing by recruiting existing endogenous tissue stem/progenitor cells. *Stem cells translational medicine*. 2013;2(1):33-42.
15. Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. *Periodontology 2000*. 2012;59(1):203-27.
16. Wu Y, Chen L, Scott PG, Tredget EE. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem cells (Dayton, Ohio)*. 2007;25(10):2648-59.
17. Shi Y, Hu G, Su J, Li W, Chen Q, Shou P, Xu C, Huang Y, Zhu Z, Huang X, Han X, Xie N, Ren G. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression and tissue repair. *Cell research*. 2010;20(5):510-8.
18. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop Dj, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent

- mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-7.
19. Mao JJ, Prockop DJ. Stem cells in the face: tooth regeneration and beyond. *Cell stem cell*. 2012;11(3):291-301.
 20. Kim SG, Zheng Y, Zhou J, Chen M, Embree MC, Song K, Jiang N, Mao JJ. Dentin and dental pulp regeneration by the patient's endogenous cells. *Endodontic topics*. 2013;28(1):106-17.
 21. Hooijmans CR, Rovers MM, de Vries RB, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC medical research methodology*. 2014;14(43):43.
 22. Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Statistics in medicine*. 2002;21(11):1539-58.
 23. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ (Clinical research ed)*. 1997;315(7109):629-34.
 24. Park JY, Jeon SH, Choung PH. Efficacy of periodontal stem cell transplantation in the treatment of advanced periodontitis. *Cell transplantation*. 2011;20(2):271-85.
 25. Yang X, Zhang S, Pang X, Fan M. Pro-inflammatory cytokines induce odontogenic differentiation of dental pulp-derived stem cells. *Journal of cellular biochemistry*. 2012;113(2):669-77.
 26. Iohara K, Zheng L, Ito M, Ishizaka R, Nakamura H, Into T, Matsushita K, Nakashima M. Regeneration of dental pulp after pulpotomy by transplantation of CD31(-)/CD146(-) side population cells from a canine tooth. *Regenerative medicine*. 2009;4(3):377-85.
 27. Iohara K, Murakami M, Takeuchi N, Osako Y, Ito M, Ishizaka R, Utunomiya S, Nakamura H, Matsushita K, Nakashima M. A novel combinatorial therapy with pulp stem cells and granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration. *Stem cells translational medicine*. 2013;2(7):521-33.
 28. Zheng Y, Wang XY, Wang YM, Liu XY, Zhang CM, Hou BX, Wang SL. Dentin regeneration using deciduous pulp stem/progenitor cells. *Journal of dental research*. 2012;91(7):676-82.
 29. Iohara K, Imabayashi K, Ishizaka R, Watanabe A, Nabekura J, Ito M, Matsushita K, Nakamura H, Nakashima M. Complete pulp regeneration after pulpectomy by transplantation of CD105+ stem cells with stromal cell-derived factor-1. *Tissue engineering Part A*. 2011;17(15-16):1911-20.
 30. Nakashima M, Iohara K, Ishikawa M, Ito M, Tomokiyo A, Tanaka T, Akamine A. Stimulation of reparative dentin formation by ex vivo gene therapy using dental pulp stem cells electrotransfected with growth/differentiation factor 11 (Gdf11). *Human gene therapy*. 2004;15(11):1045-53.
 31. Albuquerque MT, Valera MC, Nakashima M, Nor JE, Bottino MC. Tissue-engineering-based strategies for regenerative endodontics. *Journal of dental research*. 2014;93(12):1222-31.
 32. Antczak-Bouckoms AA, Tulloch JF, Berkey CS. Split-mouth and cross-over designs in dental research. *Journal of clinical periodontology*. 1990;17(7 Pt 1):446-53.
 33. Kolind K, Leong KW, Besenbacher F, Foss M. Guidance of stem cell fate on 2D patterned surfaces. *Biomaterials*. 2012;33(28):6626-33.
 34. Chen FM, Wu LA, Zhang M, Zhang R, Sun HH. Homing of endogenous stem/progenitor cells for in situ tissue regeneration: Promises, strategies, and translational perspectives. *Biomaterials*. 2011;32(12):3189-209.

Literaturverzeichnis

35. Chen FM, Zhang J, Zhang M, An Y, Chen F, Wu ZF. A review on endogenous regenerative technology in periodontal regenerative medicine. *Biomaterials*. 2010;31(31):7892-927.
36. Tevlin R, McArdle A, Atashroo D, Walmsley GG, Senarath-Yapa K, Zielins ER, Paik KJ, Longaker MT, Wan DC. Biomaterials for craniofacial bone engineering. *Journal of dental research*. 2014;93(12):1187-95.
37. Sundelacruz S, Kaplan DL. Stem cell- and scaffold-based tissue engineering approaches to osteochondral regenerative medicine. *Seminars in cell & developmental biology*. 2009;20(6):646-55.
38. Zhang W, Yelick PC. Vital pulp therapy-current progress of dental pulp regeneration and revascularization. *International journal of dentistry*. 2010;2010:856087.
39. Gopikrishna V, Pradeep G, Venkateshbabu N. Assessment of pulp vitality: a review. *International journal of paediatric dentistry*. 2009;19(1):3-15.

8 ANHANG

8.1 Suchsequenz Pubmed

Search ("stem cell") OR "stem cells") OR "progenitor cells") OR "progenitor cell") OR "stem/progenitor cell") OR "stem/progenitor cells") OR "stem progenitor cell") OR "precursor cell") OR "precursor cells") OR "precursor stem cells") OR "pluripotent stem cells") OR "pluripotent stem cell") OR "pluripotent cell") OR "pluripotent cells") OR "multipotent cells") OR "multipotent cell") OR "multipotent stem cell") OR "multipotent stem cells") OR "omnipotent stem cells") OR "omnipotent stem cell") OR "omnipotent cell") OR "omnipotent cells") OR "totipotent cells") OR "totipotent cell") OR "totipotent stem cell") OR "totipotent stem cells") OR "embryonic stem cells") OR "embryonic stem cell") OR "embryonic cell") OR "embryonic cells") OR "undifferentiated cell") OR "alkaline phosphatase positive cell") OR "alkaline phosphatase positive cells") OR "ips cells") OR "ips cell") OR "ips") OR "MSCs") OR "MSC") OR "reserve cell") OR "mother cell") OR "mother cells") OR "vegetative cells") OR "vegetative cell") OR "unspecialized cells") OR "unspecialized cell") OR "somatic cells") OR "somatic cell") OR "parent cell") OR "mesenchymal stem cell") OR "mesenchymal stem cells") OR "mesenchymal cell") OR "mesenchymal cells")) AND (((((((((((("pulp progress") OR "pulp curing") OR "pulp cure") OR "pulp mending") OR "pulp regrowth") OR "pulp healing") OR "pulp tissue") OR "pulp treatment") OR "pulp therapy") OR "pulp regeneration") OR "pulp"))

8.2 Aussortierte Artikel

Number	Study	Reason for exclusion
1	Abe S, Hamada K, Miura M, Yamaguchi S (2012). Neural crest stem cell property of apical pulp cells derived from human developing tooth. <i>Cell biology international</i> 36(10):927-936.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
2	Al-Hazaimeh N, Beattie J, Yang X, Duggal M (2012). Vasculogenic differentiation of dental pulp stromal cells in vitro and in vivo. <i>Cell and tissue research</i> .	Ectopic transplantation (subcutaneous)
3	Almushayt A, Narayanan K, Zaki AE, George A (2006). Dentin matrix protein 1 induces cytodifferentiation	No stem cell transplantation

Anhang

	of dental pulp stem cells into odontoblasts. <i>Gene therapy</i> 13(7):611-620.	
4	Alongi DJ, Yamaza T, Song Y, Fouad AF, Romberg EE, Shi S <i>et al.</i> (2010). Stem/progenitor cells from inflamed human dental pulp retain tissue regeneration potential. <i>Regenerative medicine</i> 5(4):617-631.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
5	Ballini A, De Frenza G, Cantore S, Papa F, Grano M, Mastrangelo F <i>et al.</i> (2007). In vitro stem cell cultures from human dental pulp and periodontal ligament: new prospects in dentistry. <i>International journal of immunopathology and pharmacology</i> 20(1):9-16.	Review
6	Blitz N, Serota KS (1995). Rehabilitation of the endodontically treated tooth: exploding the myths, defining the future. <i>Oral health</i> 85(12):19-24; quiz 24.	Review
7	Chen B, Sun HH, Wang HG, Kong H, Chen FM, Yu Q (2012). The effects of human platelet lysate on dental pulp stem cells derived from impacted human third molars. <i>Biomaterials</i> 33(20):5023-5035.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
8	Choung HW, Lee JH, Lee DS, Choung PH, Park JC (2013). The role of preameloblast-conditioned medium in dental pulp regeneration. <i>Journal of molecular histology</i> 44(6):715-721.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
9	Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, Zhang Z, Miyazawa M, Shi S <i>et al.</i> (2008). Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. <i>Journal of endodontics</i> 34(8):962-969.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
10	d'Aquino R, De Rosa A, Laino G, Caruso F, Guida L, Rullo R <i>et al.</i> (2009). Human dental pulp stem cells: from biology to clinical applications. <i>Journal of experimental zoology Part B, Molecular and</i>	Review

Anhang

	<i>developmental evolution</i> 312b(5):408-415.	
11	Dangaria SJ, Ito Y, Luan X, Diekwisch TG (2011). Successful periodontal ligament regeneration by periodontal progenitor preseeding on natural tooth root surfaces. <i>Stem cells and development</i> 20(10):1659-1668.	No stem cell transplantation
12	Galler KM, Cavender AC, Koeklue U, Suggs LJ, Schmalz G, D'Souza RN (2011). Bioengineering of dental stem cells in a PEGylated fibrin gel. <i>Regenerative medicine</i> 6(2):191-200.	Ectopic transplatation (subcutaneous)
13	Glick M (2009). Stem cell research and oral health. <i>Journal of the American Dental Association (1939)</i> 140(5):512, 514.	Review
14	Goldberg M, Smith AJ (2004). Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: A biological basis for repair and tissue engineering. <i>Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists</i> 15(1):13-27.	Review
15	Gotlieb EL, Murray PE, Namerow KN, Kuttler S, Garcia-Godoy F (2008). An ultrastructural investigation of tissue-engineered pulp constructs implanted within endodontically treated teeth. <i>Journal of the American Dental Association (1939)</i> 139(4):457-465.	No stem cell transplantation
16	Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i> 97(25):13625-13630.	Ectopic transplantation (dorsal surface)
17	Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A <i>et al.</i> (2002). Stem cell properties of human dental pulp stem cells.	Ectopic transplantation (subcutaneous)

Anhang

	<i>Journal of dental research</i> 81(8):531-535.	
18	Gronthos S (2011). The therapeutic potential of dental pulp cells: more than pulp fiction? <i>Cytotherapy</i> 13(10):1162-1163.	Review
19	Guo W, Gong K, Shi H, Zhu G, He Y, Ding B <i>et al.</i> (2012). Dental follicle cells and treated dentin matrix scaffold for tissue engineering the tooth root. <i>Biomaterials</i> 33(5):1291-1302.	No quantitative analysis
20	Harichane Y, Dimitrova-Nakov S, Poliard A, Goldberg M, Kellermann O (2010). P43-implantation of odontoblast progenitors in the rat molar pulp leads to the formation of reparative osteodentin. <i>Bulletin du Groupement international pour la recherche scientifique en stomatologie & odontologie</i> 49(3):109-110.	No pulpal regeneration model
21	Harichane Y, Hirata A, Dimitrova-Nakov S, Granja I, Goldberg A, Kellermann O <i>et al.</i> (2011). Pulpal progenitors and dentin repair. <i>Advances in dental research</i> 23(3):307-312.	No stem cell transplantation
22	He J (2006). Recent advances and future directives in pulp biology. <i>Practical procedures & aesthetic dentistry : PPAD</i> 18(1):49-50, 52.	Review
23	Huang GT, Yamaza T, Shea LD, Djouad F, Kuhn NZ, Tuan RS <i>et al.</i> (2010). Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. <i>Tissue engineering Part A</i> 16(2):605-615.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
24	Hung CN, Mar K, Chang HC, Chiang YL, Hu HY, Lai CC <i>et al.</i> (2011). A comparison between adipose tissue and dental pulp as sources of MSCs for tooth regeneration. <i>Biomaterials</i> 32(29):6995-7005.	No pulpal regeneration model
25	Iohara K, Nakashima M, Ito M,	No quantitative analysis

Anhang

	Ishikawa M, Nakasima A, Akamine A (2004). Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. <i>Journal of dental research</i> 83(8):590-595.	
26	Iohara K, Murakami M, Nakata K, Nakashima M (2014). Age-dependent decline in dental pulp regeneration after pulpectomy in dogs. <i>Experimental gerontology</i> 52(39-45).	Missing "no stem cells" control
27	Ishizaka R, Iohara K, Murakami M, Fukuta O, Nakashima M (2012). Regeneration of dental pulp following pulpectomy by fractionated stem/progenitor cells from bone marrow and adipose tissue. <i>Biomaterials</i> 33(7):2109-2118.	Missing "no stem cells" control
28	James D (2010). Stem cell visits. <i>British dental journal</i> 209(6):263.	Review
29	Ji YM, Jeon SH, Park JY, Chung JH, Chung YH, Chung PH (2010). Dental stem cell therapy with calcium hydroxide in dental pulp capping. <i>Tissue engineering Part A</i> 16(6):1823-1833.	No quantitative analysis
30	Jing W, Wu L, Lin Y, Liu L, Tang W, Tian W (2008). Odontogenic differentiation of adipose-derived stem cells for tooth regeneration: necessity, possibility, and strategy. <i>Medical hypotheses</i> 70(3):540-542.	No pulpal regeneration model
31	Jung HS, Lee DS, Lee JH, Park SJ, Lee G, Seo BM <i>et al.</i> (2011). Directing the differentiation of human dental follicle cells into cementoblasts and/or osteoblasts by a combination of HERS and pulp cells. <i>Journal of molecular histology</i> 42(3):227-235.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
32	Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D, Stukart-Parsons GC, Gomes Massironi SM, Pereira LV <i>et al.</i> (2006). Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells	No pulpal regeneration model

Anhang

	expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. <i>Cells, tissues, organs</i> 184(3-4):105-116.	
33	Khan FR, Ahmad T, Badruddin N (2011). Stem cells and tissue engineering in dentistry--a myth or reality. <i>JPMA The Journal of the Pakistan Medical Association</i> 61(6):619.	Review
34	Kim J, Park JC, Kim SH, Im GI, Kim BS, Lee JB <i>et al.</i> (2014). Treatment of FGF-2 on stem cells from inflamed dental pulp tissue from human deciduous teeth. <i>Oral diseases</i> 20(2):191-204.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
35	Kodonas K, Gogos C, Papadimitriou S, Kouzi-Koliakou K, Tziapas D (2012). Experimental formation of dentin-like structure in the root canal implant model using cryopreserved swine dental pulp progenitor cells. <i>Journal of endodontics</i> 38(7):913-919.	No quantitative analysis
36	Kuo TF, Lin HC, Yang KC, Lin FH, Chen MH, Wu CC <i>et al.</i> (2011). Bone marrow combined with dental bud cells promotes tooth regeneration in miniature pig model. <i>Artificial organs</i> 35(2):113-121.	No pulpal regeneration model
37	Lacerda-Pinheiro S, Jegat N, Septier D, Priam F, Bonnefoix M, Bitard J <i>et al.</i> (2006). Early in vivo and in vitro effects of amelogenin gene splice products on pulp cells. <i>European journal of oral sciences</i> 114 Suppl 1(232-238; discussion 254-236, 381-232.	No stem cell transplantation
38	Lacerda-Pinheiro S, Marchadier A, Donas P, Septier D, Benhamou L, Kellermann O <i>et al.</i> (2008). An In vivo Model for Short-Term Evaluation of the Implantation Effects of Biomolecules or Stem Cells in the Dental Pulp. <i>The open dentistry journal</i> 2(67-72.	No quantitative analysis
39	Lacerda-Pinheiro S, Dimitrova-Nakov S, Harichane Y, Souyri M, Petit-	No pulpal regeneration model

Anhang

	<p>Cocault L, Legres L <i>et al.</i> (2012). Concomitant multipotent and unipotent dental pulp progenitors and their respective contribution to mineralised tissue formation. <i>European cells & materials</i> 23(371-386).</p>	
40	<p>Laino G, Graziano A, d'Aquino R, Pirozzi G, Lanza V, Valiante S <i>et al.</i> (2006). An approachable human adult stem cell source for hard-tissue engineering. <i>Journal of cellular physiology</i> 206(3):693-701.</p>	Ectopic transplantation (subcutaneous)
41	<p>Lee JH, Lee DS, Choung HW, Shon WJ, Seo BM, Lee EH <i>et al.</i> (2011). Odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells induced by preameloblast-derived factors. <i>Biomaterials</i> 32(36):9696-9706.</p>	Ectopic transplantation (subcutaneous)
42	<p>Lei G, Yan M, Wang Z, Yu Y, Tang C, Wang Z <i>et al.</i> (2011). Dentinogenic capacity: immature root papilla stem cells versus mature root pulp stem cells. <i>Biology of the cell / under the auspices of the European Cell Biology Organization</i> 103(4):185-196.</p>	Ectopic transplantation (renal capsules)
43	<p>Liao J, Al Shahrani M, Al-Habib M, Tanaka T, Huang GT (2011). Cells isolated from inflamed periapical tissue express mesenchymal stem cell markers and are highly osteogenic. <i>Journal of endodontics</i> 37(9):1217-1224.</p>	Ectopic transplantation (subcutaneous)
44	<p>Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A (2011). Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. <i>Journal of endodontics</i> 37(2):133-138.</p>	No pulpal regeneration model
45	<p>Mao JJ, Giannobile WV, Helms JA, Hollister SJ, Krebsbach PH, Longaker MT <i>et al.</i> (2006). Craniofacial tissue engineering by stem cells. <i>Journal of</i></p>	Review

Anhang

	<i>dental research</i> 85(11):966-979.	
46	Mao JJ (2009). Stem cells and dentistry. <i>Journal of dental hygiene : JDH / American Dental Hygienists' Association</i> 83(4):173-174.	Review
47	Mohamadreza BE, Khorsand A, Arabsolghar M, Paknejad M, Ghaedi B, Rokn AR <i>et al.</i> (2012). Autologous Dental Pulp Stem Cells in Regeneration of Defect Created in Canine Periodontal Tissue. <i>The Journal of oral implantology.</i>	No pulpal regeneration model
48	Nakashima M (1990a). An ultrastructural study of the differentiation of mesenchymal cells in implants of allogeneic dentine matrix on the amputated dental pulp of the dog. <i>Archives of oral biology</i> 35(4):277-281.	No stem cell transplantation
49	Nakashima M (1990b). The induction of reparative dentine in the amputated dental pulp of the dog by bone morphogenetic protein. <i>Archives of oral biology</i> 35(7):493-497.	No stem cell transplantation
50	Nakashima M, Mizunuma K, Murakami T, Akamine A (2002). Induction of dental pulp stem cell differentiation into odontoblasts by electroporation-mediated gene delivery of growth/differentiation factor 11 (Gdf11). <i>Gene therapy</i> 9(12):814-818.	No stem cell transplantation
51	Nakashima M, Reddi AH (2003). The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. <i>Nature biotechnology</i> 21(9):1025-1032.	Review
52	Nakashima M, Tachibana K, Iohara K, Ito M, Ishikawa M, Akamine A (2003). Induction of reparative dentin formation by ultrasound-mediated gene delivery of growth/differentiation factor 11. <i>Human gene therapy</i> 14(6):591-597.	No stem cell transplantation
53	Nakashima M (2005). Tissue engineering in endodontics.	Review

Anhang

	<i>Australian endodontic journal : the journal of the Australian Society of Endodontology Inc</i> 31(3):111-113.	
54	Nakashima M, Iohara K (2011). Regeneration of dental pulp by stem cells. <i>Advances in dental research</i> 23(3):313-319.	No quantitative analysis
55	Okamoto Y, Sonoyama W, Ono M, Akiyama K, Fujisawa T, Oshima M <i>et al.</i> (2009). Simvastatin induces the odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells in vitro and in vivo. <i>Journal of endodontics</i> 35(3):367-372.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
56	Park JY, Jeon SH, Chung PH (2011). Efficacy of periodontal stem cell transplantation in the treatment of advanced periodontitis. <i>Cell transplantation</i> 20(2):271-285.	Periodontal model
57	Ravindran S, Song Y, George A (2010). Development of three-dimensional biomimetic scaffold to study epithelial-mesenchymal interactions. <i>Tissue engineering Part A</i> 16(1):327-342.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
58	Rosa V, Zhang Z, Grande RH, Nor JE (2013). Dental pulp tissue engineering in full-length human root canals. <i>Journal of dental research</i> 92(11):970-975.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
59	Schmalz G, Galler KM (2011). Tissue injury and pulp regeneration. <i>Journal of dental research</i> 90(7):828-829.	Review
60	Shi S, Bartold PM, Miura M, Seo BM, Robey PG, Gronthos S (2005). The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. <i>Orthodontics & craniofacial research</i> 8(3):191-199.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
61	Shimizu A, Nakakura-Ohshima K, Noda T, Maeda T, Ohshima H (2000). Responses of immunocompetent cells in the dental pulp to replantation during the regeneration process in rat molars. <i>Cell and tissue research</i>	No pulpal regeneration model

Anhang

	302(2):221-233.	
62	Song JS, Stefanik D, Damek-Poprawa M, Alawi F, Akintoye SO (2009). Differentiation and regenerative capacities of human odontoma-derived mesenchymal cells. <i>Differentiation; research in biological diversity</i> 77(1):29-37.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
63	Srisuwan T, Tilkorn DJ, Al-Benna S, Abberton K, Messer HH, Thompson EW (2013). Revascularization and tissue regeneration of an empty root canal space is enhanced by a direct blood supply and stem cells. <i>Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology</i> 29(2):84-91.	No pulpal regeneration model
64	Stevens A, Zuliani T, Olejnik C, LeRoy H, Obriot H, Kerr-Conte J <i>et al.</i> (2008). Human dental pulp stem cells differentiate into neural crest-derived melanocytes and have label-retaining and sphere-forming abilities. <i>Stem cells and development</i> 17(6):1175-1184.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
65	Takeda T, Tezuka Y, Horiuchi M, Hosono K, Iida K, Hatakeyama D <i>et al.</i> (2008). Characterization of dental pulp stem cells of human tooth germs. <i>Journal of dental research</i> 87(7):676-681.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
66	Tziafas D, Alvanou A, Panagiotakopoulos N, Smith AJ, Lesot H, Komnenou A <i>et al.</i> (1995). Induction of odontoblast-like cell differentiation in dog dental pulps after in vivo implantation of dentine matrix components. <i>Archives of oral biology</i> 40(10):883-893.	No quantitative analysis
67	Vakhrushev IV, Antonov EN, Popova AV, Konstantinova EV, Karalkin PA, Kholodenko IV <i>et al.</i> (2012). Design of tissue engineering implants for bone tissue regeneration of the basis of new generation polylactoglycolide scaffolds and	Ectopic transplantation (subcutaneous)

Anhang

	<p>multipotent mesenchymal stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED cells). <i>Bulletin of experimental biology and medicine</i> 153(1):143-147.</p>	
68	<p>Wang J, Liu X, Jin X, Ma H, Hu J, Ni L <i>et al.</i> (2010). The odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells on nanofibrous poly(L-lactic acid) scaffolds in vitro and in vivo. <i>Acta biomaterialia</i> 6(10):3856-3863.</p>	Ectopic transplantation (subcutaneous)
69	<p>Wang Y, Zhao Y, Jia W, Yang J, Ge L (2013). Preliminary study on dental pulp stem cell-mediated pulp regeneration in canine immature permanent teeth. <i>Journal of endodontics</i> 39(2):195-201.</p>	No quantitative analysis
70	<p>Wei F, Song T, Ding G, Xu J, Liu Y, Liu D <i>et al.</i> (2013). Functional tooth restoration by allogeneic mesenchymal stem cell-based bio-root regeneration in swine. <i>Stem cells and development</i> 22(12):1752-1762.</p>	No pulpal regeneration model
71	<p>Wu G, Deng ZH, Fan XJ, Ma ZF, Sun YJ, Ma DD <i>et al.</i> (2009). Odontogenic potential of mesenchymal cells from hair follicle dermal papilla. <i>Stem cells and development</i> 18(4):583-589.</p>	Ectopic transplantation (renal capsules)
72	<p>Xiao L, Tsutsui T (2013). Human dental mesenchymal stem cells and neural regeneration. <i>Human cell</i> 26(3):91-96.</p>	Review
73	<p>Xu L, Tang L, Jin F, Liu XH, Yu JH, Wu JJ <i>et al.</i> (2009). The apical region of developing tooth root constitutes a complex and maintains the ability to generate root and periodontium-like tissues. <i>Journal of periodontal research</i> 44(2):275-282.</p>	Ectopic transplantation (subrenal)
74	<p>Yamamura T (1985). Differentiation of pulpal cells and inductive influences of various matrices with reference to pulpal wound healing. <i>Journal of dental research</i> 64 Spec</p>	Review

Anhang

	No(530-540.	
75	Yang KC, Wang CH, Chang HH, Chan WP, Chi CH, Kuo TF (2012a). Fibrin glue mixed with platelet-rich fibrin as a scaffold seeded with dental bud cells for tooth regeneration. <i>Journal of tissue engineering and regenerative medicine</i> 6(10):777-785.	No pulpal regeneration model
76	Yang X, Zhang S, Pang X, Fan M (2012b). Pro-inflammatory cytokines induce odontogenic differentiation of dental pulp-derived stem cells. <i>Journal of cellular biochemistry</i> 113(2):669-677.	Retracted
77	Yen AH, Sharpe PT (2008). Stem cells and tooth tissue engineering. <i>Cell and tissue research</i> 331(1):359-372.	Review
78	Young CS, Kim SW, Qin C, Baba O, Butler WT, Taylor RR <i>et al.</i> (2005). Developmental analysis and computer modelling of bioengineered teeth. <i>Archives of oral biology</i> 50(2):259-265.	No pulpal regeneration model
79	Yu J, Deng Z, Shi J, Zhai H, Nie X, Zhuang H <i>et al.</i> (2006). Differentiation of dental pulp stem cells into regular-shaped dentin-pulp complex induced by tooth germ cell conditioned medium. <i>Tissue engineering</i> 12(11):3097-3105.	Ectopic transplantation (renal capsules)
80	Yu J, Wang Y, Deng Z, Tang L, Li Y, Shi J <i>et al.</i> (2007). Odontogenic capability: bone marrow stromal stem cells versus dental pulp stem cells. <i>Biology of the cell / under the auspices of the European Cell Biology Organization</i> 99(8):465-474.	Ectopic transplantation (renal capsules)
81	Yu J, Jin F, Deng Z, Li Y, Tang L, Shi J <i>et al.</i> (2008). Epithelial-mesenchymal cell ratios can determine the crown morphogenesis of dental pulp stem cells. <i>Stem cells and development</i> 17(3):475-482.	Ectopic transplantation (renal capsules)
82	Yuan GH, Yang GB, Wu LA, Chen Z,	No pulpal regeneration model

Anhang

	Chen S (2010). Potential Role of Dentin Sialoprotein by Inducing Dental Pulp Mesenchymal Stem Cell Differentiation and Mineralization for Dental Tissue Repair. <i>Dental hypotheses</i> 1(2):69-75.	
83	Zhang C, Chang J, Sonoyama W, Shi S, Wang CY (2008). Inhibition of human dental pulp stem cell differentiation by Notch signaling. <i>Journal of dental research</i> 87(3):250-255.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
84	Zhang W, Abukawa H, Troulis MJ, Kaban LB, Vacanti JP, Yelick PC (2009). Tissue engineered hybrid tooth-bone constructs. <i>Methods (San Diego, Calif)</i> 47(2):122-128.	No pulpal regeneration model
85	Zhang W, Ahluwalia IP, Literman R, Kaplan DL, Yelick PC (2011). Human dental pulp progenitor cell behavior on aqueous and hexafluoroisopropanol based silk scaffolds. <i>Journal of biomedical materials research Part A</i> 97(4):414-422.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
86	Zhou J, Shi S, Shi Y, Xie H, Chen L, He Y <i>et al.</i> (2011). Role of bone marrow-derived progenitor cells in the maintenance and regeneration of dental mesenchymal tissues. <i>Journal of cellular physiology</i> 226(8):2081-2090.	Ectopic transplantation (subcutaneous)
87	Zhu X, Zhang C, Huang GT, Cheung GS, Dissanayaka WL, Zhu W (2012). Transplantation of dental pulp stem cells and platelet-rich plasma for pulp regeneration. <i>Journal of endodontics</i> 38(12):1604-1609.	Nominal scale (0/1 for pulpal regeneration)

9 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

„Ich, Kimberley Jakusz, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Pulparegeneration durch Stammzelltransplantation: Eine systematische Auswertung und Metaanalyse“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung

10 ANTEILSERKLÄRUNG

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Kimberley Jakusz hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Fawzy El-Sayed KM, Jakusz K, Jochens A, Dörfer C, Schwendicke F, Stem Cell Transplantation for Pulpal Regeneration: A Systematic Review, Tissue Eng Part B Rev., 2015

Beitrag im Einzelnen:

Auswahl der Suchkriterien, Literaturrecherche zum Thema „Stammzelltransplantation“ in Verbindung mit „Pulparegeneration“, Selektion der relevanten Studien, tabellarische Zusammenfassung aller relevanten Daten (Methoden, Ergebnisse, etc), systematische Auswertung und Beurteilung der einbezogenen Daten

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

11 LEBENS LAUF

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

12 Publikationsliste

Publikation 1: K. Fawzy El-Sayed, K. Jakusz, A. Jochens, C. Dörfer, F. Schwendicke
Stem Cell Transplantation for Pulpal Regeneration: A Systematic Review, Tissue
Engineering. Part B, Reviews, 2015.

Danksagung

13 DANKSAGUNG

An erster Stelle danke ich Priv.-Doz. Dr. Falk Schwendicke, Dr. Karim Fawzy und Prof. Dr. Sebastian Paris dafür, mich mit dem Thema dieser Arbeit betraut zu haben. Ihre kontinuierliche Unterstützung sowohl bei Fragen zu fachlichen oder formalen Inhalten als auch ihre konstruktive Durchsicht aller Teilschritte dieser Arbeit waren mir eine große Hilfe. Ich kann Ihnen nicht genug danken für ihre Geduld und ihr Vertrauen in mich.

Außerdem danke ich Herrn Arne Jochens, der mich in die Grundlagen der Statistik und der Metaanalyse einführte und darüber hinaus bei der Erstellung der Diagramme dieser Arbeit half.

Von ganzem Herzen danke ich meinen Eltern Rolf und Susann Jakusz, die mich fortwährend Selbstvertrauen lehren, zur Zielstrebigkeit ermutigen, und ohne deren liebevolle Hilfsbereitschaft, Geduld und Verständnis ich diese Arbeit nicht hätte antreten können.

Auch meinen besten Freunden Julia und Jan-Christopher möchte ich dafür danken, dass sie mich immer unterstützen.

Nicht zuletzt danke ich Dr. Melanie Elger für all ihre Hilfe und die Vorbildfunktion, die sie in meinem Leben eingenommen hat, und dem gesamten Praxisteam der Zahnarztpraxis für Kinder und Jugendliche in Bergedorf.