

# 1. Einleitung

## Knochenersatzmaterialien

Eine spontane Ausheilung eines umfangreichen Knochendefektes führt häufig zu einem funktionell ungünstigen bindegewebigen Ersatz, da das den Defekt umgebende Bindegewebe schneller proliferiert als das Knochengewebe [5, 6, 9, 27, 28, 30, 36]. Um einen Knochendefekt zu rekonstruieren, werden häufig in der Implantologie, Parodontalchirurgie bzw. nach Tumor- oder zystischen Operationen Knochenersatzmaterialien verwendet. Der autologe spongiöse Knochen ist heute noch der goldene Standard, da er aktive Osteoblasten enthält. Die Knochenersatzmaterialien ersetzen jedoch die Transplantation von autologem Knochen, die Schmerzen, erhöhtes Infektionsrisiko und postoperative Beschwerden in sich birgt. Außerdem sind der Verfügbarkeit des gewinnbaren eigenen Knochens Grenzen gesetzt. Weiterhin umgeht man durch die Verwendung der Knochenersatzmaterialien dem Transfektionsrisiko und den hohen Kosten, bedingt durch den Einsatz des allogenen Knochens.

Grundsätzlich werden die Knochenersatzmaterialien wie folgt unterteilt:

- 1) Humane Knochenersatzmaterialien, die entweder autogen, also Eigenknochen oder allogen bzw. Spenderknochen sein können. Sie können aus dem Beckenkamm, Tibiaknochen oder Unterkiefer entnommen werden.
- 2) Xenogene Materialien haben tierischen Ursprung.
- 3) Alloplastische Materialien werden synthetisch hergestellt [123]. Bei den synthetischen Materialien stellen die bioaktiven Calciumphosphatkeramiken, Glaskeramiken und Gläser die wichtigsten Substanzgruppen dar.

Die bioaktiven Substanzen stimulieren die Freisetzung bestimmter Ionen wie Calcium, Phosphat und Fluoride. Die Verschiebung des pH-Wertes ins basische Milieu durch die freigesetzten Substanzen führt zur beschleunigten Differenzierung und Reifung der Osteoblasten und somit zur Einleitung der Knochenregeneration [54, 56, 57]. Ein solches Material ist Bioglas auf Silizium-Alkali-Basis. Neben der

Ionenfreisetzung bewirkt die entstehende Hydroxylapatitschicht auf der Oberfläche der Biogläser eine Zellstimulierung. Hydroxylapatit weist eine gewisse Löslichkeit und Repräzipitationsphänomen auf. Mittels Löslichkeit des Materials wird ein Ersatz des Bioglasses durch funktionelles Knochengewebe erreicht. Bioglas ist sehr gut applizierbar, und die Granulatform vergrößert die Oberfläche [122].

Durch die Reduktion des Natriumanteils und Keramisierung der Silikonphosphatgläser erhoffte man sich eine verbesserte Oberflächenstabilität und entwickelte somit Ceravital [119]. Im Vergleich zum kortikalen Knochen weisen jedoch sowohl Bioglas als auch Ceravital eine verringerte mechanische Stabilität auf [102, 120].

Erwünscht sind Biomaterialien, die zunächst eine Anhaftungsfläche für Osteoblasten darstellen und formbeständig sind, sich später jedoch rückstandslos resorbieren lassen, um ein neues Knochenwachstum zu ermöglichen [82]. Außerdem sollten sie Biokompatibilität und Atoxizität aufweisen. Sie sollten als Leitschiene für die Neubildung des eigenen Knochens dienen. Bei weniger degradierbaren Substanzen wie das hochkristalline Hydroxylapatit bildet sich an der Oberfläche eine calciumphosphatreiche Matrix, die frei von Kollagen ist und als Bindungsschicht fungiert [25, 100]. Die Bindungsschicht ähnelt der Lamellenstruktur des lamellären Knochens und ist ausreichend belastbar. Eine zu geringe Degradierbarkeit birgt jedoch die Gefahr in sich, dass die Knochenbildung schneller als der Materialabbau geschieht und der Materialabbau in seinem Prozess zunächst verlangsamt und anschließend gestoppt wird. Das verbleibende Gemisch aus Knochen und Implantatmaterial ist häufig mechanisch nicht genügend belastbar [121].

Resorbierbare Materialien, wie z. B. verschiedene Calciumphosphate, werden nach einer bestimmten Zeit vom körpereigenen Gewebe ersetzt [43]. Die stimulierende Wirkung auf die Knochenregeneration und die schnelle Resorption sind vor allem vor einer dentalen Implantation wünschenswert [96, 124, 139, 148], so dass der neu entstandene Knochen keinen Restpartikel enthält und eine Fremdkörperreaktion im Implantatbett verhindert wird [80]. Zur Entwicklung solcher Materialien ist auf ihre notwendige Beständigkeit und Stabilität während der Resorptionsphase zum Ersatz des körpereigenen Gewebes besonders zu achten. Weiterhin sollte die Resorptionsrate mit der Reparaturrate des eigenen Gewebes korrelieren. Dies ist

vom Zustand, Alter und von der Art des Gewebes abhängig. Das Material sollte metabolisch und atoxisch abbaubar sein [146], um postoperative Beschwerden zu verhindern.

Sie lösen eine bestimmte biologische Reaktion aus, die zur unmittelbaren knöchernen Bindung zwischen dem Implantat und dem umgebenden Gewebe führt [57].

Die bereits durchgeführten Versuche zeugen von einer Vielfalt der qualitativen und quantitativen Wirkungsweisen der synthetischen Knochenmaterialien. Aus den bisherigen Untersuchungen ging hervor, dass BG 45s5 oder Ceravital das Knochenwachstum beschleunigen, wobei der Einsatz von BG 55s aufgrund des hohen Siliziumanteils nur verzögert oder keine Knochenbindung verursacht. Bekannt ist allerdings, dass zu schnell resorbierbare Keramiken eine Fremdkörperreaktion auslösen können, die wiederum eine Ausheilung des Knochens verhindert [38].

## **Implantate**

Durch die ständig wachsenden Ansprüche der Menschen an die Ästhetik und Funktionalität haben Zahnimplantate in den letzten 30 Jahren an Bedeutung gewonnen. Die Standardindikation besteht in der Versorgung des zahnlosen Kiefers und der verkürzten Zahnreihe, der Pfeilervermehrung und des Einzelzahnimplantats. Demzufolge sind auch die Anforderungen an die wissenschaftlichen Untersuchungen der zahnärztlichen Implantate gestiegen.

Hinsichtlich der Wechselwirkung mit dem umgebenden Gewebe werden die enossalen Implantatmaterialien in biotolerante, bioinerte und bioaktive Substanzen eingeteilt. Die biotoleranten Materialien bilden eine bindegewebige Distanzschicht und führen somit zu einer Distanzosteogenese. Die bioinerten Substanzen wie z.B. Titan, Aluminiumoxid ( $Al_2O_3$ ) und Zirkonium, führen ohne die trennende Bindegewebsschicht zu einer Kontaktosteogenese. Schließlich bilden die bioaktiven Materialien, wie die Glaskeramiken und Hydroxylapatite, eine Verbundosteogenese, da sie eine physikalisch-chemische Verbindung mit dem Knochen eingehen und somit eine stabile funktionelle Einheit darstellen.

Die Biomaterialforschung betrachtet vor allem die Wechselwirkung zwischen Material und Gewebe, das biodynamische und biomechanische Verhalten und die Materialentwicklung. In der Regel kommt es nach der Implantation zu einem Ionenkonzentrationsausgleich zwischen der Extrazellulärflüssigkeit und des Implantates. Anschließend adsorbieren Plasmaproteine auf den Implantatoberflächen. Die Zusammensetzung der Plasmaproteinschicht ist abhängig vom Implantatmaterial und dessen Oberfläche. Der Proteinfilm kompensiert die Oberflächenladung und sorgt für ihr Gleichgewicht. Die Reaktionsschicht dient als Anhaftungsfläche spezifischer Zellsysteme [40, 48, 140]. Die Materialzusammensetzung bestimmt die Knochenregenerationsgeschwindigkeit. Reparative Prozesse durchlaufen eine Wundheilungskaskade. Dies beinhaltet eine Besiedlung der Implantatoberflächen durch osteogene Zellen [61]. Faktoren wie Biomaterialeigenschaften [37, 115], anatomische Gegebenheiten [24] und Zustand des Implantatbetts [13] beeinträchtigen die Osteokonduktion, die wiederum für die Besiedlung der Implantatoberflächen durch osteogene Zellen verantwortlich ist [23].

In der ersten postimplantären Minute werden Blutplättchen freigesetzt. Es kommt zu einer Fibrinvernetzung. Folglich werden in der ersten Stunde proteolytische Enzyme wie die Kollagenasen und nach ca. drei Stunden chemotaktische Faktoren der Fibroblasten produziert. Auf der sich nun gebildeten Plasmaproteinschicht heften sich, wie bereits erwähnt, die Mesenchymzellen an. Nach 14 bis 28 Tagen regenerieren sich die ortsspezifischen Zellen wie Osteoblasten, Osteoklasten, chondroide Zellen und hämatopoetisches Gewebe [46, 99]. Die aktiven Osteoblasten leiten die Osteogenese ein. Sie produzieren die Knochenmatrix und das Osteoid. Nach einer Kollagenbildung folgt die Mineralisation. Die aktive Phase der Osteoblasten ist im Körper durch den Anstieg der Konzentration der alkalischen Phosphatase feststellbar. Nach der Sezernierung von Prokollagen (Kollagen Typ I) und Proteoglykanen wandeln sich die Osteoblasten in Osteozyten um und lagern sich im Kollagen-Grundsubstanz-Gemisch ein. Nun beginnen neue Osteoblasten, ihre Aufgabe fortzusetzen. Osteoblasten sezernieren Osteocalcin und sorgen für die Akkumulation von Calcium und Phosphaten. Auf diese Weise kommt es zur Mineralisation des Osteoids.

In der Regel gibt es 4 verschiedene Implantat-Gewebe-Reaktionen:

- I. Das toxische Material nekrotisiert das umgebende Gewebe
- II. Das Material ist bioinert und wird vom fibrösen Bindegewebe unterschiedlicher Dicke umgeben.
- III. Das Material ist bioaktiv und geht eine direkte Verbindung mit dem Umgebungsgewebe ein.
- IV. Das Material löst sich auf und wird vom umgebenden Gewebe ersetzt.

Eine weitere Klassifikation ist bezüglich der Implantat-Gewebe-Verbindung zu benennen:

- a) morphologische Fixierung: nicht poröse inerte Materialien wie  $AL_2O_3$  und Zirkoniumoxid ( $ZrO_2$ ) verbinden sich mit dem umgebenden Gewebe durch das Einwachsen des Knochens in die oberflächlichen Unebenheiten.
- b) biologische Fixierung: poröse Implantate wie poröses Hydroxylapatit beschichtete Metallimplantate gehen eine physikochemische Verbindung mit dem Knochen ein.
- c) bioaktive Fixierung: oberflächenreaktive wie bioaktive Glaskeramiken verbinden sich chemisch direkt mit dem umgebenden Knochen.
- d) resorbierbare Keramiken oder Glaspartikel werden allmählich durch Knochen ersetzt [51].

Die Reaktionsfähigkeit des Implantats beeinflusst die Stärke der Bindung mit dem umgebenden Gewebe bzw. die Trennschicht zwischen dem Implantat und Gewebe. Ein Verlust vom Implantat wird meist in Fällen I und II beobachtet, wenn die Verbindung nicht auf chemischer oder biologischer Basis ist. In solchen Fällen entstehen bewegende Kräfte, die zu einer Zunahme der fibrösen Kapsel führen. Die auftretenden Mikrobewegungen beeinträchtigen die Funktion des Implantats oder des neu entstandenen Gewebes. Wenn jedoch das fibröse Bindegewebe zwischen dem Implantat wie  $AL_2O_3$  und das umgebende Gewebe sehr dünn ist [19, 64] und es sich dabei um eine mechanisch feste Passung handelt, kann die Implantation klinisch durchaus erfolgreich sein. Weiterhin ist der unmittelbar benachbarte Knochen vom inerten Implantat strukturell geschwächt. Als Grund sind die lokalisierten Nekrosen zu benennen, die durch den Stress und die Kräfteeinwirkung während der Implantation erzeugt werden. Obwohl die Mikroporen der Implantatoberfläche die Materialstabilität herabsetzen, dennoch vergrößern sie die

Bindeflächen zwischen Implantat und dem Knochen und erhöhen somit den Bewegungswiderstand. Die Porengröße sollte im Durchschnitt nicht unter 100 bis 150 µm liegen, damit auch das vaskuläre Gewebe in den Poren eindringen und für die Durchblutung sorgen kann [51].

„Bioaktive Keramiken“ [45, 58, 141, 142] gehen eine mechanisch starke Bindung mit dem umgebenden Knochen ein [45, 48, 57-60, 70, 78, 84, 138, 142, 143, 147]. Charakteristisch für die bioaktiven Keramiken ist die zeitabhängige kinetische Modifikation der Implantatoberfläche [45, 58]. Dies leitet die Bildung einer biologisch aktiven Hydroxylcarbonatapatitschicht ein, die zu einem Knochenverbund führt. Die Hydroxylcarbonatapatitschicht entspricht chemisch und strukturell der Mineralschicht des Knochens. Unter den bioaktiven Materialien unterscheiden sich der Zeitpunkt, die Stärke und der Mechanismus des Verbunds. Ebenso variabel ist auch die Verbundzonendicke. Bioaktive Substanzen gehen einen physikochemischen Verbund mit dem umgebenden Gewebe ein. Der entstehende Verbund widersteht den einwirkenden mechanischen Kräften [53, 55, 57, 147] und weist eine größere Stärke auf als der Verbund der zwischen inerten Implantatmaterialien und Knochengewebe zu finden ist [51].

Die Implantatoberfläche leitet zum größten Teil die Knochenneubindung ein. Zur Erzielung eines besseren osteogenen Verbundes, vor allem im spongiösen Knochen, werden die Implantatoberflächen mit Calciumphosphat beschichtet. Die Erfolgsrate ist im kompakten Knochen im Vergleich zum spongiösen Knochen deutlich erhöht [79]. Eine trennende Bindegewebsschicht würde Mikrobewegungen und Bakterieneinwanderung ermöglichen, die als ungünstige Bedingungen für die Einheilung eines Implantates gelten [33].

Bei einer Reihe von Implantaten mit poröser Metalloberfläche und dem damit verbundenen vergrößerten Feld für die Korrosion bestand die Gefahr der Ioneneinwanderung ins Gewebe und dessen Schädigung [10]. Um dieses Problem zu vermeiden, wurden Metallimplantate mit bioaktiver Calciumphosphatbeschichtung entwickelt [31]. Hydroxylapatit beschleunigt die Knochenneubildung an seiner Oberfläche [31, 43].

Inzwischen hat sich das Titan als das gängigste Implantatmaterial durchgesetzt. Seine Gewebefreundlichkeit beruht auf der vorhandenen Oxidschicht, die das Implantat vom umgebenden Bindegewebe trennt und somit eine direkte

Knochenbindung ermöglicht [14, 125]. Die Passivierungsschicht ist durch Beschichtungsverfahren der Implantatoberfläche in ihrer Dichte und Dicke verstärkbar. Dadurch verkürzt sich die Einheilungszeit [33]. Die direkte Knochenverbindung gewährleistet die primäre Stabilisierung des Implantates und dessen Scherfestigkeit [33, 42].

Entscheidend für die direkte Verbindung zwischen Knochen und Implantat ist die mikromorphologische Oberflächenstruktur des Implantates [11, 62, 88]. Die sogenannte Osteoinduktivität wird sehr wahrscheinlich von der Mikrorauigkeit und Porosität der Oberfläche positiv beeinflusst. Weiterhin bietet die raue Oberfläche bestimmter Implantate ein vergrößertes Gebiet für eine Knochenanlagerung. Außerdem fördert die Rauigkeit die Osteoblastenanlagerung, ihre Differenzierung, Proliferation und folglich die kollagene Matrixproduktion [42, 75, 90, 101, 105, 126]. Die Mikrorauigkeit beeinflusst das Freisetzen von Zytokinen und Wachstumsfaktoren [12, 75, 91, 126]. Von den genannten Faktoren ist die Primärstabilität eines Implantates abhängig. Für den Langzeiterfolg spielen weiterhin die Biokompatibilität des Materials [130, 134], das schonende chirurgische Vorgehen [34, 35], die ungestörte Einheilphase [49] und die Knochenqualität und -quantität des Empfängers [89] eine große Rolle.

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluß verschiedener Knochenersatzmaterialien und Implantatoberflächen auf das Verhalten von Knochenzellen in vitro untersucht. Hierbei kamen Rattenzellkultur und humane Osteoblasten zum Einsatz. Die Einflüsse der unterschiedlichen Implantatwerkstoffe und Knochenersatzmaterialien auf das Wachstumsverhalten der angezüchteten Osteoblasten wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten beurteilt. Das In-vitro-Verfahren ermöglicht eine kostengünstige und zeitsparende Analyse. Die primären biologischen Prozesse eines Implantatmaterials sind darin zu überprüfen [26, 92]. Zellkultursysteme ermöglichen, Mechanismen der Osteogenese nachzuahmen. Somit kann der Einfluss von neuen Implantatmaterialien auf die initialen biologischen Prozesse der Osteogenese untersucht werden [106]. Dies ermöglicht die Einschränkung der tierexperimentellen Testung und Einsparung entsprechender Kosten. In-vitro-Studien bieten ferner den Vorteil, unter genau definierten

Bedingungen die Zellsubstratwechselwirkung zu beobachten und anhand eines Elektronenmikroskops diese bildlich darstellen zu können [65].