

Diplomarbeit

**Die Wirkung von multipotenten
Knochenmarkszellen auf die Knochenregeneration
und die Osseointegration von Zahnimplantaten
nach Sinusbodenelevation unter besonderer
Berücksichtigung einer klinischen Pilotstudie.**

eingereicht von
Elisabeth HERFERT
Mat.Nr.: 9011111

zur Erlangung des akademischen Grades
Doktorin der Zahnheilkunde
(Dr. med. dent.)

an der
Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am
**Department für zahnärztliche Chirurgie und Röntgenologie der
Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde**

unter der Anleitung von
Univ.-Prof. DDr. Norbert JAKSE
Priv.-Doz. DDr. Michael PAYER

Ort, Datum

(Unterschrift)

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am

Unterschrift

Danksagungen

Mein Dank gilt:

Univ. Prof. DDr. Norbert JAKSE

Priv.-Doz. DDr. Michael PAYER

Mag. Stefan Tangl

Für die finanzielle Unterstützung der Studie:

Dentsply Friadent, Mannheim, Deutschland

Geistlich Pharma AG, CH-Wolhusen

Besonderer Dank gebührt meiner Familie, die in liebenswerter Weise immer für mich da ist !

Zusammenfassung

Die Bildung von neuem Knochen nach einer Kieferhöhlenaugmentation mit einer zellfreien Matrix benötigt lokale Progenitorzellen, welche sich in Osteoblasten differenzieren können.

Das Ziel dieser klinischen Pilotstudie war, den Effekt eines Knochenmarkpunktates vom Tibiakopf in Kombination mit dem bovinen Knochenmineral Bio Oss® auf die Knochenbildung nach Sinuslift beim Menschen zu untersuchen. Die Fragestellung, ob es eine nachweisbare Beschleunigung und Verbesserung der Knochenregeneration und der Osseointegration von Implantaten gibt, wurde klinisch, radiologisch und histomorphometrisch ausgewertet. Die histomorphometrische Auswertung der histologischen Schläffe von Knochenbiopsien erfolgte im Rahmen dieser Diplomarbeit.

Insgesamt wurden 12 Sinusbodenelevationen an 6 Patienten im Alter zwischen 43 und 70 Jahren durchgeführt. Das Durchschnittsalter betrug 58,2 Jahre. Dazu wurde ein Knochenmarksaspirat aus dem Tibiakopf entnommen und in derselben Sitzung bei der Augmentation dem bovinen Knochenersatzmaterial Bio-Oss® auf der Testseite zugefügt. Es wurden beidseitige Kieferaugmentationen im split-mouth Design (Testseite: Knochenersatzmatrix plus Knochenmarkspunktat aus dem Tibiakopf; Kontrollseite: nur Knochenersatzmatrix) durchgeführt. Drei und sechs Monate (im Rahmen der Implantation) nach der Augmentation wurden von jeweils beiden Seiten insgesamt 24 (6x2x2) Knochenbiopsien unter der Verwendung von Trepanbohrern entnommen. Diese wurden nach der Trenn-Dünnschliff-Methode nach Donath zu histologischen Präparaten verarbeitet und histomorphometrisch ausgewertet.

Der Anteil an neugebildeten Knochen in Relation zur gesamten Gewebsfläche zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen Test- und Kontrollseite ($P=0,664$), auch nicht im Vergleich der 3- und 6- Monatsbiopsien ($P= 0,765$).

Auch der prozentuelle Anteil der Oberfläche des Bio-Oss®, der von neu gebildetem Knochen überzogen ist, zeigt keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen Test- und Kontrollseite ($P=0.833$), sowie im Vergleich zwischen den 3- und 6- Monats Biopsien ($P=0,410$).

Diese Resultate zeigen, daß die Zugabe vom Knochenmarksaspirat aus dem Tibiakopf keine signifikante Beschleunigung und Verbesserung der Knochenregeneration bewirkte.

Abstract

Bone formation in a sinus grafted with a cell-free scaffold requires the presence of local progenitor cells that differentiate into osteoblasts.

The purpose of the study was to examine the effect of an unconcentrated tibial bone marrow aspirate in combination with bovine bone mineral (BioOss®) on bone formation after sinus graft. Bone marrow was harvested with an aspiration from tibial epiphysis. The mass and the speed of bone formation was evaluated by clinical, radiological and histomorphometric parameters. The histomorphometric analysis is topic of this diploma thesis.

A total of 12 sinuses were grafted in six patients between 43 and 70 years of age (average age of 58,2 years). Bone marrow aspirate was obtained from the tibial epiphysis in a chair side procedure and grafted in combination with bovine bone mineral BioOss® (test side). To allow the comparison to grafts with single use of bovine bone mineral BioOss® (control side) the study was performed in a split mouth design. After a healing period of three and six months (insertion of implants) 24 bone biopsies were taken from the grafted sinus regions by using trephine burrs. Biopsies were taken from both sides (6x2x2 biopsies). They were prepared according to the cutting-grinding technique of Donath.

There was no significant difference between test side and control side concerning neither new bone to tissue volume percentage ($p=0,664$) nor the chronological sequence between 3 and 6 months ($p=0,765$). There was also no significant difference between test side and control side concerning regarding neither the percentage of the surface of BioOss® covered with new bone ($p=0,8333$) nor the chronological sequence between 3 and 6 months ($p=0,410$). Sinus grafts with bovine bone mineral (BioOss®) combined with bone marrow aspirate from tibial epiphysis show no advantages over the use of bovine bone mineral (BioOss®) allone.

Inhaltsverzeichnis

DANKSAGUNGEN	II
ZUSAMMENFASSUNG	III
ABSTRACT	V
INHALTSVERZEICHNIS	VI
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VIII
TABELLENVERZEICHNIS	X
1 EINLEITUNG	1
1.1 VORBEMERKUNGEN	1
1.2 GRUNDLAGEN	4
1.2.1 <i>Anatomie und Physiologie des Sinus maxillaris</i>	4
1.2.2 <i>Der Sinuslift</i>	7
1.2.2.1 Indikation	7
1.2.2.2 Atrophieverhalten der Maxilla	8
1.2.2.3 Das Operationsprozedere	10
1.2.2.3.1 Der crestale Zugang (indirekter Sinuslift nach Summers)	10
1.2.2.3.2 <i>Der laterale Zugang (direkter Sinuslift nach O.H. Tatum)</i>	11
1.2.2.4 Komplikationen	12
1.2.2.5 Implantation während oder nach der Augmentation	12
1.2.2.6 Methoden zur Vergrößerung der vertikalen Dimension bei Alveolarfortsatzatrophie	13
1.2.2.6.1 Die externe Kieferkammaugmentation	13
1.2.2.6.2 Die interne Kieferkammaugmentation	13
1.2.2.6.3 Die Guided Bone Regeneration / Membrantechnik	13
1.2.2.6.4 Die Distraktionsosteogenese	14
1.2.3 <i>Knochenersatzmaterialien</i>	15
1.2.3.1 Autologer Knochen (Autograft)	16
1.2.3.2 Allogener Knochen (Allograft)	16
1.2.3.3 Xenogene Knochenersatzmaterialien (Xenografts)	17
1.2.3.3.1 <i>Das Augmentationsmaterial Bio-Oss®</i>	17
1.2.3.4 Alloplastische (synthetische) Knochenersatzmaterialien (Alloplasts)	18
1.2.4 <i>Knochenumbau, Remodelling</i>	19
1.2.4.1 Knochenzellen	19
1.2.4.2 Remodelling	19
1.2.4.3 Spontanheilung des Knochens	20
a) Die exsudative Phase (0. – 2. Tag)	20
b) Die unspezifische zelluläre Phase (2. – 7. Tag)	20
c) Die knochenspezifische zelluläre Phase (2. – 4. Woche)	21
d) Die Matrixbildung, Mineralisation	21

1.2.5	<i>Tissue engineering</i>	23
1.2.5.1	Zellen - Mesenchymale Stammzellen	23
1.2.5.2	Wachstumsfaktoren	24
1.2.5.3	Trägermaterial	25
1.2.6	<i>Plättchenreiches Plasma (PRP, Platelet Rich Plasma)</i>	25
2	METHODIK	26
2.1	STUDIENDESIGN	26
2.2	PATIENTENGUT	30
2.3	BIO-OSS®	31
2.4	DIE GEWINNUNG DES KNOCHENMARKASPIRATS	33
2.4.1	<i>Durchführung der Knochenmarksaspiration am Tibiakopf</i>	33
2.5	DIE SINUSBODENELEVATION	36
2.6	DIE CHIRURGISCHE PROBENENTNAHME UND IMPLANTATION	38
2.6.1	<i>Knochenbiopsie nach 3 Monaten</i>	38
2.6.2	<i>Knochenbiopsie nach 6 Monaten</i>	38
2.7	DIE CHIRURGISCHE FREILEGUNG DER IMPLANTATE	40
2.8	HERSTELLUNG DER HISTOLOGISCHEN PRÄPARATE	41
2.9	HISTOMORPHOMETRIE	43
2.9.1	<i>Die Herstellung digitalisierter Bilder von den histologischen Präparaten</i>	43
2.9.2	<i>Die Bearbeitung der digitalen Bilder</i>	43
2.9.3	<i>Histomorphometrie, die Auswertung der histologischen Präparate</i>	46
2.10	STATISTISCHE AUSWERTUNG	47
3	ERGEBNISSE	48
3.1	MITTELWERTE UND STANDARDABWEICHUNG	48
3.1.1	<i>Prozentsatz des neu gebildeten Knochens</i>	48
3.1.2	<i>Der Anteil der Kontaktfläche von Bio Oss® mit neu gebildetem Knochen</i>	50
3.2	STATISTISCHE AUSWERTUNG (MIXED MODELS ANOVA)	51
3.2.1	<i>Prozentsatz des neu gebildeten Knochens</i>	51
3.2.2	<i>Der Anteil der Kontaktfläche von Bio Oss® mit neu gebildetem Knochen</i>	52
3.3	AUSWERTUNG DER 3- UND 6- MONATS BIOPSIEN	53
3.3.1	<i>3 - Monats Biopsien</i>	53
3.3.2	<i>6 - Monats Biopsien</i>	56
3.4	VERGLEICH DER 3- UND 6- MONATS BIOPSIEN	59
4	DISKUSSION	61
5	LITERATURVERZEICHNIS	66

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: SINUS MAXILLARIS AUS AMERICAN ACADEMY OF OTOLARYNGOLOGY MAXILLARY SINUS VIEW, VON HTTP://WWW.DR-STUTZ.CH/SINUSLIFT.HTM , AM 16.10.2010	4
ABBILDUNG 2: RESORPTIONSKLASSEN DES OBERKIEFERS NACH FALLSCHÜSSEL AUS WATZEK G. ENOSSALE IMPLANTATE I. D. ORALEN CHIRURGIE. QUINTESSENZ VERLAGS-GMBH, 1993, BERLIN	8
ABBILDUNG 3: KLASSIFIZIERUNG DER KNOCHENQUALITÄT NACH LEKHOLM & ZARB	9
ABBILDUNG 4: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES CRESTALEN ZUGANGS BEI SINUSLIFT-OPERATIONEN SCHWENZER N, EHRENFELD M, ZAHNÄRZTLICHE CHIRURGIE BAND 3, THIEME; 2000	10
ABBILDUNG 5: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES LATERALEN ZUGANGS BEI SINUSLIFT-OPERATIONEN SCHWENZER N, EHRENFELD M, ZAHNÄRZTLICHE CHIRURGIE BAND 3, THIEME; 2000	11
ABBILDUNG 6: SCHEMA DER DIFFERENZIERUNG DER MESENCHYMALEN STAMMZELLEN MODIFIZIERT NACH HTTP://WWW.ABCAM.COM , AM 16.10.2010	24
ABBILDUNG 7: "SPLIT MOUTH" DESIGN AUS STUDIENBESCHREIBUNG	27
ABBILDUNG 8: BIOOss®, MIKROSKOPISCHE STRUKTUR UND GRANULAT AUS HTTP://WWW.GEISTLICH.DE/?DOM=10&RUB=275 , AM 16.10.2010	31
ABBILDUNG 9: MAKROPORÖSE MINERALSTRUKTUR VON BIOOss® (LINKS) UND MENSCHLICHEM KNOCHEN (RECHTS) IM VERGLEICH AUS HTTP://WWW.GEISTLICH.CH/?DOM=21&RUB=531 AM 24.10.2010	31
ABBILDUNG 10: VERGLEICH DER KONTAKTFLÄCHE VON NEU GEBILDETEM KNOCHEN MIT BIOOss® UND ANDEREN KNOCHENERSATZMATERIALIEN	32
ABBILDUNG 11: T-LOCK® AUS HTTP://WWW.ANGIOEDUPRO.COM/BIOPSY/INDEX.PHP?SEEK=357 , AM 16.10.2020	33
ABBILDUNG 12: TIBIAPUNKTION, VON LINKS OBEN: LOKALANÄSTHESIE, STICHINZISION, ASPIRATION MIT T-LOCK®, ASPIRATION, ASPIRAT INTRAOPERATIVE BILDER	34
ABBILDUNG 13: A SCHNITTFÜHRUNG, B PRÄPARATION DES LATERALEN KNOCHENFENSTERS, C ELEVIERTE SCHNEIDER'SCHE MEMBRAN, D EINBRINGEN VON BIOOss® MIT ASPIRAT - TESTSEITE, E BIOOss® U. ASPIRAT IN SITU, F BIOOss® - KONTROLLSEITE, G BIOGIDE® MEMBRAN, H WUNDVERSCHLUSS INTRAOPERATIVE BILDER	37
ABBILDUNG 14: PROBENENTNAHME MIT TREPANBOHRER INTRAOPERATIVE BILDER	38
ABBILDUNG 15: SETZEN DER IMPLANTATE, IMPLANTATPOSITION IM PANORAMARÖNTGEN INTRAOPERATIVE BILDER	40
ABBILDUNG 16: EINFOTOGRAFIERTER HISTOLOGISCHER SCHNITT U. SCHLIFF PRÄPARAT NACH GRAFISCHER BEARBEITUNG	45
ABBILDUNG 17: NEW BONE / TV BIOPSY %	49
ABBILDUNG 18: NEW BONE TO BIOOss® CONTACT BIOPSY %	50
ABBILDUNG 19: NEW BONE / TV %, DIE LINIEN VERBINDEN DIE GRUPPENMITTELWERTE DER JEWEILIGEN INDIVIDUEN	51
ABBILDUNG 20: NEW BONE TO BIOOss® CONTACT %, DIE LINIEN VERBINDEN DIE GRUPPENMITTELWERTE DER JEWEILIGEN INDIVIDUEN	52
ABBILDUNG 21: NEW BONE / TV BIOPSY % NACH 3 MONATEN AUF DER TESTSEITE	53

ABBILDUNG 22: NEW BONE TO BIOOSS® CONTACT BIOPSY % NACH 3 MONATEN AUF DER TESTSEITE_	53
ABBILDUNG 23: NEW BONE / TV BIOPSY % NACH 3 MONATEN AUF DER KONTROLLSEITE _____	54
ABBILDUNG 24: NEW BONE TO BIOOSS® CONTACT BIOPSY % NACH 3 MONATEN AUF DER KONTROLLSEITE _____	54
ABBILDUNG 25: NEW BONE / TV BIOPSY % NACH 6 MONATEN AUF DER TESTSEITE _____	56
ABBILDUNG 26: NEW BONE TO BIOOSS® CONTACT BIOPSY % NACH 6 MONATEN AUF DER TESTSEITE_	56
ABBILDUNG 27: NEW BONE / TV BIOPSY % NACH 6 MONATEN AUF DER KONTROLLSEITE; KA = KEINE AUSWERTUNG _____	57
ABBILDUNG 28: NEW BONE TO BIOOSS® CONTACT BIOPSY % NACH 6 MONATEN AUF DER KONTROLLSEITE _____	57
ABBILDUNG 29: NEW BONE / TV BIOPSY % MITTELWERTE DER TEST- UND KONTROLLSEITE NACH 3 UND 6 MONATEN _____	59
ABBILDUNG 30: NEW BONE / TV BIOPSY % NACH 3 UND 6 MONATEN _____	59
ABBILDUNG 31: NEW BONE TO BIOOSS® CONTACT BIOPSY % MITTELWERTE DER TEST UND KONTROLLSEITEN NACH 3 UND 6 MONATEN _____	60
ABBILDUNG 32: NEW BONE TO BIOOSS® CONTACT BIOPSY % NACH 3 UND 6 MONATEN _____	60

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: ZEITLICHER ABLAUF DER STUDIE _____	29
TABELLE 2: EINSCHLUSSKRITERIEN _____	30
TABELLE 3: AUSSCHLUSSKRITERIEN _____	30
TABELLE 4: MENGE AN GEWONNENEM KNOCHENASPIRAT PRO PATIENT _____	34
TABELLE 5: POSITION DER XIVE IMPLANTATE _____	39
TABELLE 6: FARBUORDNUNG DER UNTERSCHIEDLICHEN KNOCHENARTEN _____	44

1 Einleitung

1.1 Vorbemerkungen

Der atrophe Kieferkamm mit seinem geringen Knochenangebot und den mechanischen Gegebenheiten des ortständigen Knochens stellt für das Einbringen von Implantaten im zahnlosen seitlichen Oberkiefer häufig ein Hindernis dar.

Diese Knochendefekte müssen vor dem Einbringen von Implantaten mit Knochen oder Knochenersatzmaterialien wieder aufgebaut werden, damit den Implantaten eine ausreichende Primärstabilität gewährleistet werden kann. Dazu bedarf es einer Kieferkammhöhe von 10 mm und einer entsprechenden Kieferkammbreite, sodass das Implantat in seiner gesamten Zirkumferenz von 1-2 mm Knochen umgeben ist. Knochendefekte des Alveolarfortsatzes der Maxilla können durch Knochenabbau nach Zahnverlust, Trauma, Tumore, infolge vermehrter Belastung des Kieferknochens durch prothetischen Zahnersatz oder durch Altersatrophie verursacht sein. Metabolische, systemische und lokale Entzündungsfaktoren (Rauchen, Osteoporose,...) können die Alveolarkammatrophie noch beschleunigen. Die Rekonstruktion einer möglichst physiologischen Knochenstruktur des Kiefers und die Anpassung des Kieferknochens an die Erfordernisse eines Implantates hinsichtlich Form und Lage sind die Voraussetzungen um wieder eine vollständige Kaufunktion herstellen zu können.

Um eine bestehende Alveolarfortsatzatrophie zahnärztlich-chirurgisch zu korrigieren, sind in der Literatur eine Vielzahl an Möglichkeiten beschrieben. Dazu zählen die Distractionsosteogenese (Marchetti et al. 2007)((Erkut & Uckan 2006), die gesteuerte Knochenregeneration / Membrantechnik (Hämmerle et al. 2008; Simion et al. 2007), autogene Knochentransplantate (intraorale und extraorale Entnahmestellen) im Sinne einer Auflagerungsosteoplastik (Barone & Covani 2007) und die Sinusbodenelevation (G Watzek et al. 1998; Crespi et al. 2007).

Bei den Patienten dieser Studie wurde eine Anhebung des Kieferhöhlenbodens – ein Sinuslift – durchgeführt, um das vertikale Knochenangebot im posterioren

Oberkiefer zu verbessern, sodass Implantate mit einer ausreichenden Primärstabilität verankert werden konnten.

BOYNE und JAMES beschrieben 1980 erstmals den Sinuslift als präprothetische chirurgische Maßnahme (Boyne PJ 1980). Der Sinuslift gilt heute als Standardverfahren (Kaufman 2003) und wurde seit seiner Entwicklung mehrmals modifiziert (H. Tatum 1986; Browaeys et al. 2007). Als Goldstandard bei den Augmentationsmaterialien gilt der autologe Knochen aufgrund seines osteogenen Potentials (Jensen et al. 1998; Burchardt 1983). Als Nachteile des autologen Knochens gelten die begrenzte Verfügbarkeit, die erhöhte Belastung des Patienten durch den notwendigen Zweiteingriff, sowie die Resorption während der Einheilung des autologen Knochens (Zizelmann et al. 2007; Gerngross et al. 1982). Bei Knochenersatzmaterialien fehlen die Nachteile autologen Knochens (Pjetursson et al. 2008; Mordenfeld et al. 2010; Ferreira et al. 2009). Aufgrund der Zellfreiheit des Knochenersatzmaterials wirken diese bislang lediglich osteokonduktiv und es fehlt die Osteoinduktivität (Donath 1988; Al Ruhaimi 2001). Daher wird die Etablierung möglichst aller 3 Eckpfeiler des Tissue engineering angestrebt: Trägermaterial, Wachstumsfaktoren und Zellen. Im letzten Jahrzehnt wurden mehrere Verfahren zur Verbesserung der natürlichen Knochenregeneration entwickelt. Eines davon ist die Kombination von Knochenersatzmaterial mit in vitro expandierten osteoinduktiven Zellen (Meyer et al. 2006; R Schmelzeisen 2003; Springer, I.N., Nocini, P.F., Schlegel, K.A., De Santis, D., Park, J., Warnke, P.H., Terheyden, H., Zimmermann, R., Chiarini, L., Gardner, K., Ferrari, F. & Wiltfang 2006). Alle diese Arbeiten zeigen positive Effekte auf die Knochenregeneration. Der Nachteil liegt aber im dafür notwendigen „tissue engineering“, das zeit- und kostenintensiv ist.

Die Techniken des Gewebeersatzes entwickeln sich eindeutig vom osteokonduktiven Knochenersatz zum osteoinduktiven Transplantat (Akintoye et al. 2006). Dabei werden große Hoffnungen in die mesenchymalen Stammzellen gesetzt, die aufgrund ihrer Fähigkeit sich in Knochenzellen differenzieren zu können zukünftig eine wesentliche Rolle bei der geführten Gewebe-Regeneration darstellen (Srouji & Livne 2005; Haniffa et al. 2009; Gronthos et al. 2002).

In einer tierexperimentellen Studie an Minipigs konnte bereits ein positiver osseinduktiver und osseokonduktiver Effekt durch Beimengung von

Knochenmarkszellen zu Knochenersatzmaterial nachgewiesen werden. In einem Splitmouth-Modell mit beidseitigem Sinuslift an Minipigs fanden Fürst und Mitarbeiter, auf der Seite auf der dem bovinen Knochenersatzmaterial Knochenmarkszellen beigemischt wurden, eine signifikant erhöhte Knochenneubildung entlang der Kieferhöhlenschleimhaut ($p < 0.009$) (Schneider'schen Membran) und im Zentrum der Knochenaufbauten ($p < 0.001$) im Vergleich zur Gegenseite, an der reines Knochenersatzmaterial verwendet wurde (Fuerst et al. 2004). Sowohl das Zentrum des Knochenaufbaus, als auch die Region entlang der Schneider'schen Membran sind durch ihre knochenferne Lage primär schlecht durchblutete Areale und von daher als „Problemzonen“ im Rahmen der Knochen-Heilphase nach Sinus-Lift Operationen anzusehen.

Eine vermehrte Knochenneubildung, durch den Einsatz von Stammzellen in diesen Bereichen wäre aus implantologischer Sicht wünschenswert. Bis dato gibt es noch keine Untersuchung am Menschen mit einem ähnlichen Erfolg wie im Tierversuch.

Daher war es Ziel dieser klinischen Pilotstudie zu prüfen, ob das Einbringen von mesenchymalen Stammzellen eines Knochenmarkpunktates vom Tibiakopf in eine Knochenersatzmatrix nach Sinuslift beim Menschen eine nachweisbare Beschleunigung und Verbesserung der Knochenregeneration ergibt. Dazu wurde ein Knochenmarksaspirat aus dem Tibiakopf entnommen und in derselben Sitzung bei der Augmentation dem bovinen Knochenersatzmaterial Bio-Oss® auf der Testseite zugefügt. Es wurden an 6 Patienten beidseitige Kieferaugmentationen im split-mouth Design (Testseite: Knochenersatzmatrix plus Knochenmarkspunktat aus dem Tibiakopf; Kontrollseite: nur Knochenersatzmatrix) durchgeführt. Drei und sechs Monate (im Rahmen der Implantation) nach der Augmentation wurden von jeweils beiden Seiten insgesamt 24 Biopsien entnommen und histomorphometrisch ausgewertet.

1.2 Grundlagen

1.2.1 Anatomie und Physiologie des Sinus maxillaris

Die paarig angelegte Kieferhöhle des Erwachsenen hat annähernd die Form einer dreiwandigen Pyramide, die mit ihrer Basis an der lateralen Nasenwand liegt und mit ihrer Spitze in den Bereich des Processus zygomaticus der Maxilla reicht.

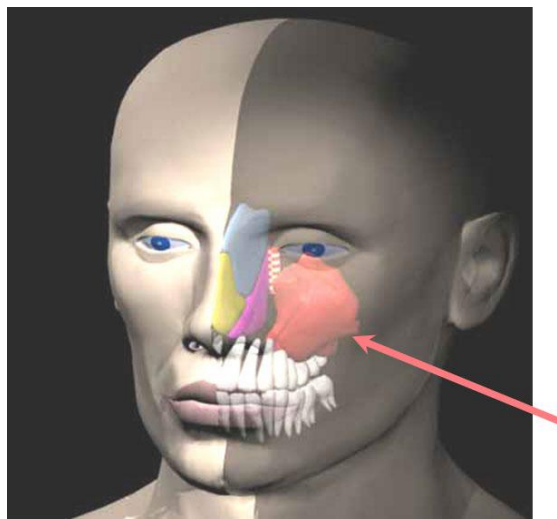


Abbildung 1: Sinus maxillaris

Im Inneren ist der Sinus maxillaris mit einem zilienträgenden respiratorischen Epithel ausgekleidet, welches am Hiatus maxillaris kontinuierlich in die Nasenschleimhaut übergeht. Durch die Zilien werden Flüssigkeiten und von den Becherzellen produzierter Schleim zur Selbstreinigung aus der Kieferhöhle transportiert. Die gesunde Kieferhöhlenschleimhaut hat eine Dicke von ca. 1 mm.

Der Hiatus maxillaris liegt nahe dem Dach an der medialen Kieferhöhlenwand und mündet unter der mittleren Nasenmuschel im Hiatus semilunaris. Von hier aus beginnt in der zwölften Embryonalwoche die Entwicklung der Kieferhöhle und schreitet besonders nach dem Durchbruch der bleibenden Dentition kontinuierlich bis ins Erwachsenenalter weiter voran.

Nach Abschluß ihres Wachstums hat die Kieferhöhle ein Volumen von etwa 12–15 cm³ erreicht. Dabei besitzt sie eine durchschnittliche Breite von 25–35 mm, eine Höhe von 36–45 mm und eine Länge von 38–45 mm.

Der Boden der Kieferhöhle liegt beim Erwachsenen ca. 1 cm unterhalb der Höhe des Nasenbodens und hat seinen tiefsten Punkt im Bereich des ersten Molaren. Seine Wurzeln und die der benachbarten Zähne sind nur durch eine dünne, manchmal durchlöchernte Knochenlamelle von der Kieferhöhle getrennt. Besonders bei jungen Erwachsenen findet man hier verschieden stark ausgebildete Septen (Underwood-Septen), die den Boden der Kieferhöhle in verschiedene Rezessi unterteilen (Underwood 1910). Diese Septen kommen relativ häufig vor (16–58%) und können in extremen Fällen die Kieferhöhle sogar in komplett voneinander getrennte Untereinheiten aufteilen. Sie laufen in der Regel von der medialen zur lateralen Wand der Kieferhöhle.

Die anteriore Ausdehnung des Sinus reicht gewöhnlich bis in den Bereich der Prämolaren und endet meistens leicht distal der Eckzahnregion.

Form und Größe variieren stark, auch innerhalb eines Individuums.

Die Funktion der Kieferhöhle ist bis heute nicht abschließend geklärt. Resonanzverstärkung für die Stimme, Beteiligung am Geruchssinn, Anfeuchtung und Erwärmung der eingeatmeten Luft oder Gewichtsreduktion des Schädels sind die hauptsächlich angenommenen Aufgaben des Sinus maxillaris (Blanton & Biggs 1969).

Die Pneumatisation der Kieferhöhle schreitet nach dem Zahnverlust weiter voran und dehnt sich dabei häufig bis in den Alveolarfortsatz aus. Zusätzlich führt der Alveolarkammabbau nach Zahnverlust zu weiterem Knochenverlust unterhalb des Sinusbodens, so dass gelegentlich nur noch papierdünne laterale und basale Knochenwände zurückbleiben können.

Nach verschiedenen operativen Eingriffen und entzündlichen Veränderungen kann es auch zu einer direkten Verbindung von Kieferhöhlenschleimhaut und Mundschleimhaut in umschriebenen Bereichen kommen.

Insgesamt ist der Knochen im Bereich des posterioren Oberkiefers stark spongiös und mit einer eher dünnen Kompakta versehen.

Die Blutversorgung des Sinus speist sich aus der Arteria infraorbitalis, der Arteria palatina major, der Arteria incisiva und der Arteria alveolaris posterior superior. Verschiedene Anastomosen der Arteria alveolaris posterior superior und der Arteria infraorbitalis verlaufen im Knochen der lateralen Kieferhöhlenwand und epiperiostal im Vestibulum.

Die intraossären Anastomosen verlaufen ca. 1,9 cm oberhalb des Alveolarkammes und werden beim Sinuslift als „Arteria anonyma“ häufig verletzt (Solar et al. 1999; Chanavaz 1990; van den Bergh et al. 2000).

Die Innervation des Sinus erfolgt über den Nervus maxillaris, welcher in der Fossa pterygopalatina aus dem Nervus trigeminus entspringend, rami superiores posteriores, rami superiores anteriores und einen ramus superior medius abgibt.

Es hat sich gezeigt, dass die Sinusbodenelevation keinen langfristig negativen Einfluss auf die Physiologie der Kieferhöhle hat (Timmenga et al. 2003).

1.2.2 Der Sinuslift

Der Sinuslift (Synonyme: Kieferhöhlenbodenaugmentation, Sinusbodenelevation) ist eine von zahlreichen Methoden der zahnärztlichen Chirurgie um ein zu geringes vertikales Knochenangebot der posterioren Maxilla zu korrigieren und eine adäquate implantatprothetische Versorgung zu ermöglichen.

TATUM beschrieb 1976 erstmals auf einer Implantologietagung in Alabama (USA) das Anheben der Schneider'schen Membran, um einen Hohlraum für die Augmentation zu schaffen und damit ein adäquates Knochenlager zur Implantatinsertion zur Verfügung zu stellen (H. J. Tatum 1977; H. Tatum 1986).

BOYNE & JAMES veröffentlichten diese Technik erstmals 1980 (Boyne PJ 1980). Seit damals gab es immer wieder Modifikationen der klassischen Technik.

1.2.2.1 Indikation

Aufgrund der engen räumlichen Beziehung der Maxilla zur Kieferhöhle führt die Atrophie des Oberkiefers nach Zahnverlust häufig zu einer derartigen Verringerung der vertikalen Höhe, sodass eine Implantation unmöglich wird (G. Raghoobar et al. 1993). Die Ursache für diesen Knochenmangel ist eine innere Alveolarkammatrophy durch Ausdehnung der Kieferhöhle.

Der Sinuslift ist dann indiziert, wenn das vertikale Knochenangebot im Oberkieferseitenzahnbereich weniger als **8-10 mm** beträgt (Jensen et al. 1998; ten Bruggenkate et al. 1998).

Bei ausreichend großem intermaxillärem Abstand, oder bei ungünstiger transversaler Lagebeziehung zwischen Ober- und Unterkiefer kann alternativ oder in Kombination eine Auf- und Anlagerungsosteoplastik indiziert sein. Bei geringem intermaxillärem Abstand ist ein Sinuslift angezeigt.

1.2.2.2 Atrophieverhalten der Maxilla

Am zahnlosen Kieferknochen, besonders an der Maxilla, kommt es durch Funktionsverlust zu einer Inaktivitätsatrophie und einer daraus resultierenden zentripetalen Resorption. Diese innere Alveolarkammatrophy wird durch metabolische und systemische Faktoren sowie lokale entzündliche Reize beschleunigt und führt zu einem Verlust von Knochenvolumen und Knochenqualität. Im Oberkiefer wird im Extremfall der gesamte Alveolarkamm resorbiert, so dass nur mehr eine dünne Lamelle zur Kieferhöhle erhalten bleibt (Koeck, B. Wagner 2004).

Dieses typische Atrophieverhalten des Processus alveolaris maxillae wurde von FALLSCHÜSSEL in Resorptionsklassen von 0-5 eingeteilt (Fallschüssel 1986):

- RKL 0 vollständig erhaltene, bezahnte Alveole
- RKL 1 mäßig breiter und hoher, abgerundeter Kieferkamm, der von stärkeren Resorptionsfolgen noch verschont blieb
- RKL 2 schmale und hohe Kieferkämme
- RKL 3 sehr scharfe und hohe Alveolarfortsätze
- RKL 4 breite, deutlich höhenreduzierte Kieferkämme
- RKL 5 stark atrophierter, flacher Processus alveolaris



Abbildung 2: Resorptionsklassen des Oberkiefers nach Fallschüssel

Neben einem ausreichenden Knochenangebot ist auch die Knochendichte eine wichtige Voraussetzung für die Stabilität endossaler Implantate. LEKHOLM und ZARB klassifizierten 1985 die Knochenqualität in vier Klassen:

I: homogener kompakter Knochen

II: dicker Kortex, dichter Kern

III: dünner Kortex, trabekulärer Kern, aber gute Festigkeit

IV: dünner Kortex, kaum Trabekel, schlechte Festigkeit

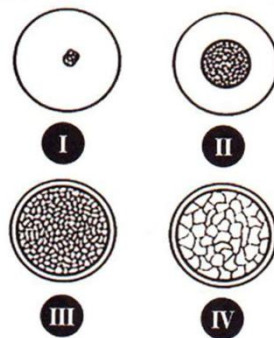


Abbildung 3: Klassifizierung der Knochenqualität nach Lekholm & Zarb

Die Maxilla ist größtenteils aus Knochen der Gruppe 3 und 4 aufgebaut, während man in der Mandibula vorwiegend Knochen der Gruppe 1 und 2 findet. Dies stellt für die Maxilla eine ungünstigere Voraussetzung für die Implantatinserktion und Erfolgsrate dar.

1.2.2.3 Das Operationsprozedere

Der Sinuslift kann über zwei verschiedene Zugänge erfolgen.

1.2.2.3.1 Der crestale Zugang (indirekter Sinuslift nach Summers)

Nach Darstellung des Alveolarfortsatzes erfolgt die Präparation eines Knochenkanals mittels zylindrischer Fräse an den Implantationsorten. Die weitere Aufbereitung erfolgt mit stufenförmigen konischen Kondensatoren in aufsteigendem Durchmesser. Diese werden nach kranial geklopft, wodurch der ortsständige Knochen nach cranial geschoben und die Schneider'sche Membran 2-3 mm angehoben wird. Der entstandene Hohlraum wird mit Eigenknochen oder Knochenersatzmaterial aufgefüllt. Es kann zur Sicherheit eine endoskopische Kontrolle erfolgen, um eine Perforation der Kieferhöhlenschleimhaut zu vermeiden. Am Ende werden die Implantate in das Bohrloch eingebracht. Voraussetzung für diesen Zugang ist eine Restknochenhöhe von mindestens 6 mm. Empfehlenswert ist diese Technik bei Einzelzahnimplantaten (Schwenzer, N Ehrenfeld 2000).

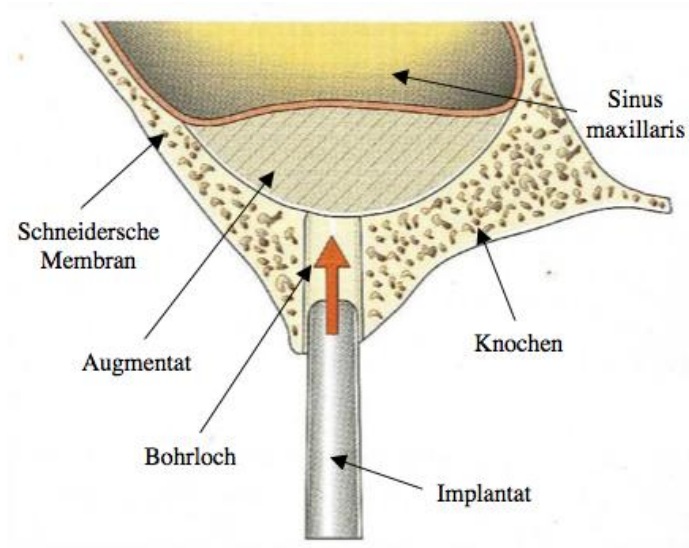


Abbildung 4: Schematische Darstellung des crestalen Zugangs bei Sinuslift-Operationen

1.2.2.3.2 Der laterale Zugang (direkter Sinuslift nach O.H.Tatum)

Tatum, Boyne und James beschrieben erstmals im Jahre 1980 die Sinusbodenelevation über ein Knochenfenster in der lateralen Sinuswand (H. Tatum 1986).

Die Inzision erfolgt entlang des Alveolarkamms an dessen höchstem Verlauf. Nach dem Setzen der vertikalen Entlastungsschnitte mesial und distal des Operationsgebietes, wird der Mukoperiostlappen stumpf abpräpariert und die buccale knöcherne Begrenzung des Sinus maxillaris dargestellt. Mit einem Rosenbohrer wird nun ein ovales Fenster in der gewünschten Ausdehnung präpariert und mit einem Diamantbohrer ausgedünnt. Dabei sollte die caudale Osteotomielinie 2-3 mm über dem Kieferhöhlenboden liegen und das Fenster 2-3 mm kleiner als der Augmentationsbereich sein. Dann wird mit gebogenen stumpfen Elevatorien die Schleimhaut innerlich unter strikter Vermeidung einer Perforation aus dem Recessus alveolaris abgelöst. Der Knochendeckel wird dann gemeinsam mit der Schneider'schen Membran nach oben innen in eine horizontale Position eingeschwenkt, wo er den neuen Sinusboden bildet. Der neu geschaffene Hohlraum wird mit Eigenknochen, Knochenersatzmaterial oder einem Gemisch aus beiden aufgefüllt. Der Wandverschluss erfolgt durch Zurückklappen des Mukoperiostlappens und dichtem Wundverschluss. In diesem Fall geht vom Periost ebenfalls eine osteogenetische Wirkung aus (Schwenzer, N Ehrenfeld 2000).

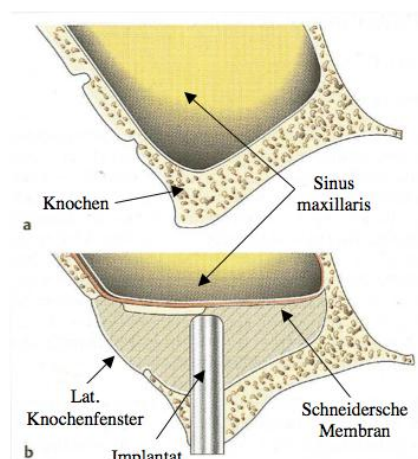


Abbildung 5: Schematische Darstellung des lateralen Zugangs bei Sinuslift-Operationen

1.2.2.4 Komplikationen

Die häufigste Komplikation, die beim Sinuslift auftreten kann, ist die Perforation der Schneider'schen Membran. Dies ist nur bei kleineren Defekten unproblematisch. Die Häufigkeit einer Ruptur wird mit 26-32 % angegeben. Weiters kann es zu Sinusitiden mit 2%, Wunddehiszenzen mit 6% und partiellen Transplantatverlusten mit 2% nach einer Kieferhöhlenbodenaugmentation kommen (Koeck, B. Wagner 2004).

1.2.2.5 Implantation während oder nach der Augmentation

Die notwendige Restknochenhöhe im Kieferhöhlenboden, die über ein ein- oder zweizeitiges Vorgehen bei der Implantation entscheidet, beträgt **3–5 mm**.

a) **einzeitig** (simultan):

Bei einem vertikalen Restknochenangebot von mehr als 3-5 mm, so dass eine primär stabile Implantatverankerung möglich ist.

b) **zweizeitig** (präimplantologisch):

Bei einem vertikalen Restknochenangebot von weniger als 3-5 mm ist eine sekundäre Implantation indiziert. Die Implantation erfolgt dann nach einer Einheilzeit von 4-8 Monaten in Abhängigkeit vom verwendeten Füllmaterial (Schwenzer, N Ehrenfeld 2000).

Die prothetische Versorgung erfolgt nach einer Einheilzeit von 3-4 Monaten.

1.2.2.6 Methoden zur Vergrößerung der vertikalen Dimension bei Alveolarfortsatzatrophie

1.2.2.6.1 Die externe Kieferkammaugmentation

Autogene Knochentransplantate aus intraoralen oder extraoralen Entnahmestellen werden im Sinne einer Auflagerungsosteoplastik am Alveolarkamm mit Schrauben fixiert. Diese Operation wird heute vorwiegend präimplantologisch ausgeführt, da es die funktionell besseren Ergebnisse liefert (Barone & Covani 2007).

Indikation: Stark atrophierte Alveolarfortsätze mit Vergrößerung des interokklusalen Abstandes.

1.2.2.6.2 Die interne Kieferkammaugmentation

Bei der Sinusbodenelevation erfolgt ein Anheben des KH-Bodens und eine interne, vertikale Augmentation des Sinus maxillaris durch Einlagerung von autogenem Knochen oder Knochenersatzmaterial in den Zwischenraum zwischen knöchernem Kieferhöhlenboden und elevierter Kieferhöhlenschleimhaut (G Watzek et al. 1998).

Indikation: Verringerung des vertikalen Knochenlagers im Oberkieferseitenzahnbereich mit geringem interokklusalem Abstand. Bedingt durch eine innere Atrophie durch Ausdehnung der Kieferhöhle nach Zahnverlust.

1.2.2.6.3 Die Guided Bone Regeneration / Membrantechnik

Der Knochendefekt wird durch eine Membran vollständig abgedeckt um das schnellwachsende Weichgewebe abzuhalten und eine ungestörte Knochenneubildung zu ermöglichen. Voraussetzung für die simultane Durchführung von Implantation und GBR ist, dass das Implantat zumindest zur Hälfte knöchern primärstabil verankert ist (Hämmerle et al. 2008; Simion et al. 2007).

Indikation: Der Membraneinsatz wird im OK bei einer vertikalen Knochenhöhe von weniger als 7-10 mm empfohlen (Koeck, B. Wagner 2004).

1.2.2.6.4 Die Distraktionsosteogenese

Das Prinzip basiert auf einer graduellen, mechanischen Verlängerung des Kallus im Osteotomiespalt mittels Distraktor (Erkut & Uckan 2006; Marchetti et al. 2007).

Indikation: Bei einem ausreichenden transversalen Knochenangebot von 5-6 mm und einem vertikalen Knochenangebot von 5-7 mm im teilbezahnten und vollständig zahnlosem Oberkiefer ist dieses Verfahren eine Alternative zur Auflagerungsplastik.

1.2.3 Knochenersatzmaterialien

Augmentationsmaterialien können durch verschiedene Wirkungsmechanismen, wie Osteogenese, Osteoinduktion und Osteokonduktion, zur Knochenneubildung beitragen (Hoexter 2002).

Die Osteogenese ist die Knochenneubildung durch Osteoblasten im Transplantat. **Osteoinduktive** Materialien sind in der Lage, die Knochenmatrixsynthese anzuregen, indem sie durch Expression von Knochenproteinen die Differenzierung mesenchymaler Stammzellen zu Osteoblasten induzieren.

Osteokonduktion ist die Fähigkeit eines Transplantats, als Leitstruktur für das Einsprossen von Gefäßen aus dem angrenzenden Knochenlager zu dienen und damit auch für die vom ortständigen Knochen ausgehende Knochenneubildung. Der neugebildete Knochen lagert sich dem Hartgewebe tapetenartig auf.

Je nach Lokalisation und Größe des Knochenverlustes ist die Wahl des Augmentationsmaterials unterschiedlich.

Neben der Art des Knochenersatzmaterials spielt auch die Beschaffenheit des umgebenden Gewebes eine entscheidende Rolle. Von einem ersatzstarken Lager spricht man bei einem Defekt, der von orthotopem Gewebe (in diesem Fall Knochen) umgeben ist. Eine Osteoreparation kann hier sowohl durch Osteokonduktion, -stimulation oder -induktion erfolgen. Beim Sinus maxillaris sind die Voraussetzungen für eine erfolgreiche Knochenregeneration sehr günstig durch die Entstehung eines dreiwandigen knöchernen Hohlraumes.

Ein ersatzschwaches Lager liegt bei einem Defekt vor, der durch heterotopes Gewebe (z.B. Muskulatur, Bindegewebe) begrenzt ist. Eine Osteoreparation kann hier nur durch Induktion erfolgen (Schroll & G Watzek 1997).

1.2.3.1 Autologer Knochen (Autograft)

Körpereigener Knochen gilt mit seinen osteogenetischen, osteoinduktiven und osteokonduktiven Eigenschaften als Goldstandard unter den Augmentationsmaterialien. Es besteht kein Infektionsrisiko für den Patienten durch einen anderen Spender. Auch eine immunologische Transplantatabstoßung ist nicht möglich. Allerdings ist bei extraoralen Entnahmestellen ein Zweiteingriff notwendig.

Enoral steht nur eine begrenzte Menge an Knochen zur Verfügung. Eine mögliche Entnahmestelle hierfür ist im Oberkiefer der retromolare Bereich. Im Unterkiefer kann Knochen sowohl von retromolar, vom Kieferwinkel und interforaminal von der Symphyse mit einem entsprechenden Sicherheitsabstand zu den Wurzeln der Unterkieferfront und zum Foramen mentale gewonnen werden.

Bei der Integration von autologem Knochen wird das gesamte Transplantat resorbiert und sukzessive wieder neu aufgebaut. Zu Beginn des in mehreren Phasen verlaufenden Einheilungsprozesses erfolgt die kapilläre Einsprossung aus dem umliegenden ortständigen Knochengewebe. Danach wird das Transplantat nach und nach durch Osteoklasten abgebaut, und mithilfe von Osteoblasten wird neuer Knochen gebildet (Koeck, B. Wagner 2004).

1.2.3.2 Allogener Knochen (Allograft)

Beim allogenen Transplantat gehören Spender und Empfänger der gleichen Spezies an, sind aber genetisch nicht identisch. Es besteht das Risiko einer Infektion durch den möglichen Erregertransfer vom Donor auf den Rezipienten. Gewonnen wird allogenes Knochengewebe aus Leichen.

Durch Einfrierung bei -70°C verliert das Gewebe seine Antigeneigenschaften, da die Zellmembranen zerstört werden (Lyophilisierung). Das immunologische Sensibilitätsrisiko sinkt. Zusätzlich kann allogener Knochen autoklaviert werden, um das Infektionsrisiko so gering wie möglich zu halten. Der Knochen ist danach allerdings lediglich osteokonduktiv wirksam.

Nach dem Einbringen des lyophilisierten Knochens folgt wiederum der Abbau des Transplantats durch die Aktivität der Osteoklasten, anschließend wird körpereigener Knochen aufgebaut (Koeck, B. Wagner 2004).

1.2.3.3 Xenogene Knochenersatzmaterialien (Xenografts)

Bei xenogenen Knochenersatzmaterialien sind Spender und Empfänger weder genetisch identisch, noch gehören sie derselben Spezies an. Ein Beispiel für xenogene Augmentationsmaterialien ist das bovine Augmentationsmaterial Bio-Oss®. Auch hier erfolgt die Aufbereitung zur Minimierung des Infektionsrisikos durch Lyophilisierung und Autoklavierung. Xenografts haben osteokonduktive Eigenschaften und üben mit ihrer mikroporösen Struktur ihre Funktion als Leitschienen für körpereigenen Knochen aus (Koeck, B. Wagner 2004). Die meisten xenogenen Augmentationsmaterialien werden nur sehr langsam resorbiert.

Da in dieser Studie das xenogene Augmentationsmaterial Bio-Oss® Verwendung findet, wird an dieser Stelle genauer darauf eingegangen:

1.2.3.3.1 Das Augmentationsmaterial Bio-Oss®

Bio-Oss® ist ein Produkt der Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Schweiz.

Herstellung: Bio-Oss® wird aus Extremitätenknochen australischer Rinder hergestellt. Die organischen Bestandteile werden entfernt, so dass eine aus Kalziumverbindungen bestehende Knochenstruktur übrig bleibt. Diese Rinder werden prä- und post mortem einem Gesundheitstest unterzogen. Zur Entfernung der Proteine und Inaktivierung potentieller BSE (= Bovine spongiforme Enzephalopathie)-Erreger wird mit hohen Temperaturen und alkalischen Lösungen gearbeitet. Zum Schluss wird Bio-Oss® sterilisiert und doppelt steril verpackt (Geistlich Biomaterials 2010).

Eigenschaften und Anwendung: Es handelt sich hierbei um ein xenogenes

Augmentationsmaterial. Bio-Oss® hat eine hoch poröse Struktur und erhält dadurch eine große innere Oberfläche. Es ist als kleines (Partikelgröße 0,25-1mm) oder großes Granulat (1-2mm) erhältlich. Bio-Oss® wirkt osteokonduktiv und wird sehr langsam abgebaut, es dient als Leitstruktur für den umgebenden Eigenknochen und wird von diesem ummantelt. Es kann sowohl als alleiniges Knochenersatzmaterial als auch in Kombination mit autologem Knochen und Stammzellen verwendet werden. Vor dem Einbringen in das Augmentationsgebiet wird es mit physiologischer Kochsalzlösung oder Blut angefeuchtet (Geistlich Biomaterials 2010).

1.2.3.4 Alloplastische (synthetische) Knochenersatzmaterialien (Alloplasts)

Zu den alloplastischen Augmentationsmaterialien zählen z.B. Trikalziumphosphat, Hydroxylapatit und Bioglas. Sie werden synthetisch oder halbsynthetisch hergestellt.

Hydroxylapatit wird synthetisch hergestellt, ist osteokonduktiv wirksam und wird kaum resorbiert. Bei den Trikalziumphosphaten (TCP) unterscheidet man α -TCP und β -TCP, zwei verschiedene kristalline Gitterformen, die hinsichtlich ihrer Resorptionszeit unterschiedlich sind. Auch Bioglas wird synthetisch hergestellt und ist ein osteokonduktives Knochenersatzmaterial. Die Resorptionsrate ist ähnlich gering wie bei Hydroxylapatit (Koeck, B. Wagner 2004).

1.2.4 Knochenumbau, Remodelling

1.2.4.1 Knochenzellen

Die eigentlichen Knochenzellen entwickeln sich aus Vorläuferzellen, pluripotenten Stammzellen, sogenannten Osteoprogenitorzellen (Horch 2003). Diese sind mesenchymaler Herkunft und befinden sich das gesamte Leben lang an den äußeren und inneren Knochenoberflächen (Junqueira & Carneiro 2005)

ost.

Diese Vorläuferzellen differenzieren sich bei Bedarf in **Osteoblasten**, die mit ihrer Fähigkeit, glykoproteinhaltige Knochenmatrix (**Osteoid**, Grundsubstanz) zu sezernieren hauptsächlich an der Neubildung von Knochen beteiligt sind. Anschließend mauern sie sich als **Osteozyten** in die Knochenmatrix ein und dienen dann dem Erhalt des Knochens oder bedecken als Deckzellen (lining cells) lückenlos die Knochenoberfläche. Die Osteozyten bleiben untereinander und mit den Osteoblasten über feine Zytoplasmfortsätze verbunden zur Verbreitung von Nährstoffen und Abfallprodukten. Wenn sich die Deckzellen zurückziehen, geben sie den Platz frei für ihre Gegenspieler, die Osteoklasten. **Osteoklasten** sind vielkernige Riesenzellen, die fähig sind, Knochensubstanz abzubauen. Sie entstehen durch Verschmelzung von mononukleären Vorläuferzellen. Sie haften an der mineralisierten Knochenoberfläche und erzeugen durch Mineralauflösung und enzymatischer Aufspaltung der Kollagenfibrillen die typischen Resorptionslakunen, auch Howship'sche Lakunen genannt (Schroll & G Watzek 1997).

1.2.4.2 Remodelling

Knochengewebe wird durch Resorption und Apposition ständig umgebaut. Es kommt durch das Zusammenspiel von Osteoblasten und Osteoklasten zuerst zur Resorption des bestehenden Knochens. Das Signal für die Osteoklasten, wann und wo Knochen resorbiert werden soll, wird scheinbar von Osteozyten gegeben, die durch Apoptose zugrunde gehen. Parallel dazu kommt es zu

Knochenneubildung durch Osteoblasten. Dieser ständige Umbau wird als **Remodelling** bezeichnet. So kann Knochen nach Verletzungen seine anatomisch korrekte Form und Funktion wieder einnehmen. Überwiegt der Knochenabbau durch Osteoklasten resultiert Knochenverlust, überwiegt der Knochenaufbau, resultiert ein Zuwachs an Knochengewebe. Remodelling ist von der vaskulären Versorgung des Knochens abhängig (Horch 2003).

1.2.4.3 Spontanheilung des Knochens

Die knöcherne Frakturspaltheilung, die Einheilung von Knochentransplantaten und Ersatzmaterialien, sowie die knöcherne Einheilung von Implantaten laufen grundsätzlich nach denselben biologischen Heilungsvorgängen ab.

a) Die exsudative Phase (0. – 2. Tag)

In den knöchernen Defekt blutet es aus dem Knochenmark ein und es entsteht das **Koagulum** als die erste und wichtigste Voraussetzung der spontanen Knochenheilung. Es stabilisiert durch Gerinnungsfaktoren und andere Proteine wie Fibronectin bereits in den ersten Stunden die Wunde mechanisch.

Es enthält neben Antikörpern auch unspezifische humorale Abwehrstoffe (Horch 2003).

b) Die unspezifische zelluläre Phase (2. – 7. Tag)

In dieser Phase findet die Entzündungsreaktion statt. **Thrombozyten** des Koagulums setzen Wachstumsfaktoren (wie z.B. TGF- β , IGF, PDGF) frei, durch die Granulozyten und Makrophagen ins Wundgebiet angelockt werden und Granulationsgewebe bilden. In weiterer Folge findet auch die Einsprossung von Gefäßen (Angiogenese) und die Ausbildung eines Kollagenfasengerüsts statt. Für den Aufbau/die Heilung von Knochen ist eine adäquate Gefäßversorgung Voraussetzung. An der angiogenetischen Erschließung des Knochens ist der

Faktor VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) maßgeblich beteiligt (Koeck, B. Wagner 2004).

c) Die knochenspezifische zelluläre Phase (2. – 4. Woche)

Nach einigen Tagen wandern **Knochenstammzellen** aus den eröffneten Anteilen der Knochenmarkshöhle in die Knochenwunde ein. Signalmoleküle wie das *Bone Morphogenetic Protein (BMP)* leiten die Differenzierung der mesenchymalen Vorläuferzellen zu Osteoprogenitorzellen ein, welche über Präosteoblasten zu Osteoblasten heranreifen. BMP werden auch in das Interstitium sezerniert, das die knochenspezifische Differenzierung weiterer Zellen fördert (osteogenes Stroma). Die Osteoblasten verankern sich mechanisch mit den Knochenbälkchen und Kollagenfasernetz der Umgebung. Wenn mechanische Ruhe herrscht, beginnen sie mit der Ausschüttung knochenspezifischer Matrixproteine, dem **Osteoid**. **Mechanische Ruhe** im Gebiet der Wundheilung ist neben dem Koagulum die zweite wichtige Grundvoraussetzung der Knochenheilung (Horch 2003).

d) Die Matrixbildung, Mineralisation

Das gebildete Osteoid wird unter Vermittlung durch Osteoblasten mineralisiert, und es entsteht im Zeitraum von 1-3 Tagen **Geflechtknochen** (Kollagenfibrillen sind hier willkürlich angeordnet). Die Knochenbildung beginnt bevorzugt an bestehenden osteokonduktiven Oberflächen. Daher wächst spontan der meiste Knochen auf die bestehenden Knochenoberflächen am Defektrand (Horch 2003). Die Verkalkung durch Kalzium erfolgt in Form von Hydroxylapatitkristallen, wobei die Kristalle entlang der Kollagenfasern eingelagert werden. Die Kraftlinien der Zug-, Scher- und Druckbelastungen bestimmen die Ausrichtungen der Knochen trabekel (Koeck, B. Wagner 2004).

Die Bildung von **Lamellenknochen** erfolgt etwa 10 Tage nach der Ablagerung der Knochenmatrix. Hier sind die Kollagenfibrillen in einzelnen Schichten angeordnet, deren Ausrichtung sich von Schicht zu Schicht ändert (Schroll & G Watzek 1997).

Man unterscheidet bei der Einheilung eines Knochentransplantates drei

Abschnitte:

1. **Incorporation**
2. **Replacement**
3. **Remodelling/Resorption**

Ad Inkorporation:

In den ersten 1-2 Wochen postoperativ findet zunächst eine initiale Entzündungsreaktion (=Immunreaktion des Körpers) statt. Osteoklasten bauen nekrotischen Knochen ab, Blutgefäße beginnen in das Transplantat vom Lagerknochen ausgehend einzusprossen.

In den darauffolgenden vier Monaten wird das Transplantat durch die Aktivierung von Wundheilungs- und Wachstumsfaktoren, interstitiellen Stammzellen und Osteoblasten von Knochen um- und durchwachsen. Es entsteht ein **Transplantat-Geflechtknochenkomplex**.

Ad Replacement:

In dieser Phase vom 4.-12. Monat postoperativ wird der Geflechtknochen durch **lamellären Knochen** ersetzt. Am Anfang dieser Phase sollte die Implantatsetzung erfolgen.

Ad Remodelling/Resorption:

Ab dem 12. Monat postoperativ erfolgt die **strukturelle Adaptation** des lamellären Knochens an lokale Bedürfnisse und Belastungen durch Umbau- und Resorptionsvorgänge. Dieses physiologische Turnover erfolgt zeitlebens.

Einflußfaktoren auf die Einheilung eines Transplantates:

- Vitalität, Durchblutung und regenerative Kapazität des Empfängerknochens
- Ausmaß der Fläche des unmittelbaren Kontakts zwischen Transplantat und Empfänger
- Stabilität des Kontaktes zwischen Transplantat und Empfängerbett

1.2.5 Tissue engineering

Unter Tissue-engineering versteht man die in-vitro- oder in-vivo-Herstellung biologischer Ersatzgewebe zur Rekonstruktion und Regeneration von zerstörten oder erkrankten Geweben. Die drei Grundpfeiler des Tissue engineering bestehen aus der Bereitstellung von Zellen (Matrixproduktion), aus dem Trägermaterial (Osteokonduktion) und den Signalmolekülen (Osteoinduktion).

1.2.5.1 Zellen - Mesenchymale Stammzellen

Für das Tissue engineering werden Zellen benötigt, die sich unter bestimmten Bedingungen differenzieren können und Matrix produzieren. Nach ihrer Gewinnung aus Biopsien werden sie isoliert und in vitro unter optimalen Wachstumsbedingungen expandiert.

Mesenchymale Stammzellen sind nicht differenzierte Zellen, deren spätere Funktion noch nicht feststeht. Sie befinden sich im Knochenmark, im Periost und im Muskelgewebe und durch ihre Multipotenz können sie sich in Zellen verschiedener Zelllinien differenzieren (Pittenger 1999; A. Caplan 1990). Mögliche Differenzierungen sind Osteoblasten, Chondroblasten, Myoblasten, Stromazellen, Fibroblasten, Adipozyten oder dermale Zellen (siehe Abbildung 6).

Mesenchymale Stammzellen können auf verschiedenen Wegen gewonnen werden, beispielsweise aus dem Periost (Schimming 2004), aus dem Knochenmark (Meijer et al. 2007) oder auch aus einer Knochenbiopsie. Sie können isoliert und kultiviert werden, ohne ihr osteogenetisches Potenzial zu verlieren (Bruder et al. 1998).

Durch ihre Fähigkeit Wachstumsfaktoren bilden und sezernieren zu können, sind sie für die Induktion der Regeneration und des Wachstums des Gewebes verantwortlich. Sie haben den Vorteil gegenüber Osteoblasten, daß sie auch bei niedrigen O₂-Partialdrücken proliferieren. Verbessert sich die Sauerstoffversorgung, differenzieren die Zellen aus (Fehrer et al., 2007).

Sie sind auf das Vorhandensein eines extrazellulären Gerüsts angewiesen, eines Trägermaterials, das ihnen als Leitschiene bei der Gewebeproduktion dient.

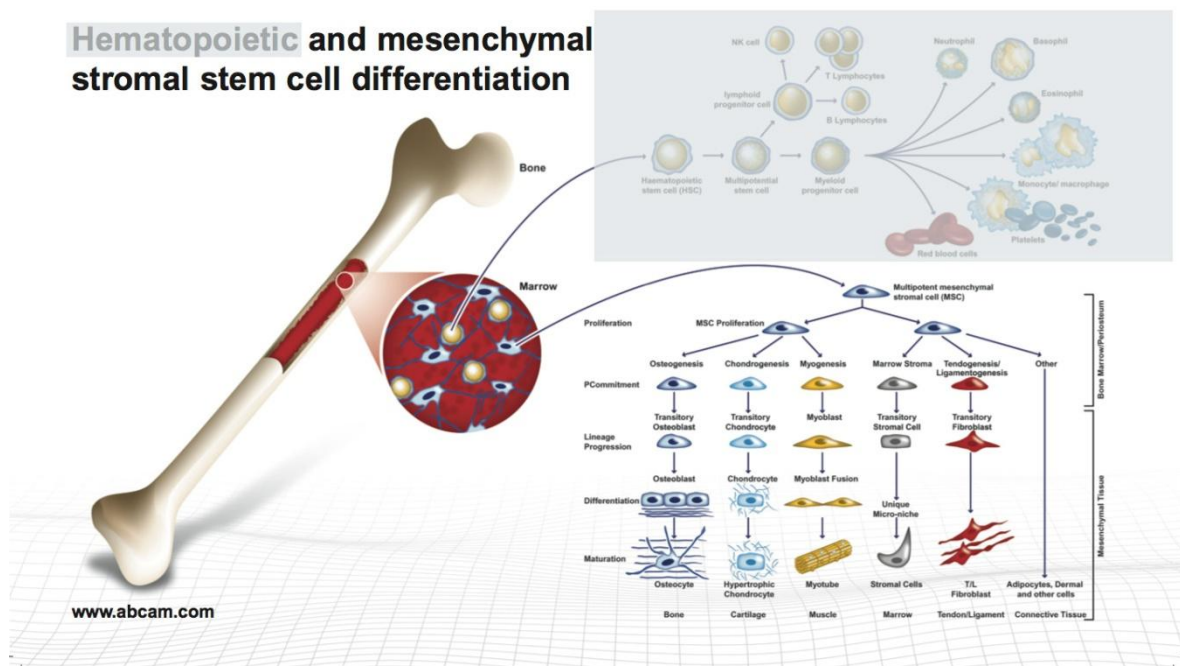


Abbildung 6: Schema der Differenzierung der mesenchymalen Stammzellen

1.2.5.2 Wachstumsfaktoren

Wachstumsfaktoren sind Eiweißkörper, die von Zellen gebildet werden und als Signal zu den umgebenden Zellen übertragen werden. Es werden auf diesem Weg die notwendigen Informationen ausgetauscht, die bei der Regelung intrazellulärer Prozesse eine Rolle spielen. Die Wachstumsfaktoren können Zellteilung, Proliferation und Differenzierung steuern und somit einen Regenerationsprozess in Gang setzen. Wachstumsfaktoren, die eine osteoinduktive Wirkung haben sind unter anderem die Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) (Axelrad et al. 2007; Groeneveld & Burger 2000). Was die Arbeit mit den Wachstumsfaktoren noch schwierig gestaltet, sind die hohen Konzentrationen an Wachstumsfaktoren die für eine Osteoinduktion nötig sind, und im weiteren die Aufrechterhaltung dieser hohen Konzentrationen im Gewebe. (A. I. Caplan 2007; Boyne et al. 1997).

1.2.5.3 Trägermaterial

Das Trägermaterial soll die transplantierten Zellen bei der Orientierung, Proliferation und Differenzierung leiten. Nachdem die Zellvermehrung abgeschlossen ist bzw. die gewünschte Differenzierung eingeleitet ist, können die Zellen direkt in den Gewebsdefekt eingebracht werden oder auf einen passenden Träger aufgebracht werden.

Verwendung finden sowohl natürliche als auch künstlich hergestellte Zellcarrier. Trägermaterialien für Osteoblasten sind beispielsweise bovines entproteiniertes Knochenmineral Bio-Oss® (Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Schweiz), Polylactid-Polyglykolid Fleece Ethisorb® (Ethicon, Hamburg), Hydroxylapatit/ Tricalcium (TCP)- Keramiken (Zimmer Inc., Warsaw, IN) und Korallen (Frios® Algipore®, Dentsply Friadent, Deutschland).

1.2.6 Plättchenreiches Plasma (PRP, Platelet Rich Plasma)

Thrombozyten enthalten eine Vielzahl von Modulatoren und Wachstumsfaktoren, die die initiale Wundheilung stimulieren. Unter anderem finden sich in den Thrombozyten osteoinduktive und die Angiogenese fördernde Faktoren wie TGF- β (Transforming Growth Factor β), IGF (Insulin Like Growth Factor) und PDGF (Platelet Derived Growth Factor). Mit Hilfe dieser autogenen Thrombozytenkonzentrate, die durch Zentrifugieren von patienteneigenem Vollblut hergestellt werden, wurde versucht eine verstärkte Knochenneubildung zu erreichen. Bis jetzt wurde keine signifikante Verbesserung durch PRP nachgewiesen (Norbert Jakse et al. 2003a; Fürst et al. 2003; You et al. 2007; Döri et al. 2007; S. Sauerbier et al. 2009).

2 Methodik

2.1 Studiendesign

Ziel der klinischen Pilotstudie war es zu prüfen, ob das Einbringen von mesenchymalen Stammzellen aus dem Tibiakopf in eine Knochenersatzmatrix nach Sinuslift beim Menschen eine nachweisbare Beschleunigung und Verbesserung der Knochenregeneration ergibt. Dazu wurde ein Knochenmarksaspirat aus dem Tibiakopf entnommen und in derselben Sitzung bei der Augmentation dem bovinen Knochenersatzmaterial Bio-Oss ® auf der Testseite zugefügt. Der beiseitige Sinuslift wurde an 6 Patienten im split-mouth Design durchgeführt (Hujoel & Loesche 1990):

- Testseite: Knochenersatzmatrix plus Knochenmarkspunktat aus dem Tibiakopf
- Kontrollseite: nur Knochenersatzmatrix

Die beidseitige Sinusbodenaugmentation ist ein bewährtes Untersuchungsmodell, um unterschiedliche Augmentationsmaterialien zu vergleichen (R Haas et al. 1998; Norbert Jakse, Tangl, Gilli, Berghold, Martin Lorenzoni, A. Eskici, Robert Haas & Christof Pertl 2003b).

Drei und sechs Monate (im Rahmen der Implantation) nach der Augmentation wurden von jeweils beiden Seiten eine Knochenbiopsie (insgesamt 24 Biopsien) entnommen und histomorphometrisch ausgewertet.

Die durchgeführte Studie hat folgende Fragestellungen geprüft:

- die Wirkung eines Knochenmarkpunktates in einer Knochenersatzmatrix auf die Knochenregeneration - zeitlich und qualitativ
- die Wirkung eines Knochenmarkpunktates aus der Tibia auf die Osseointegration von Zahnimplantaten
- die Wirkung eines Knochenmarkpunktates aus der Tibia auf die Volumenstabilität von Knochenaufbauten (durch CT und Panoramaröntgen)
- quantitative und qualitative Untersuchung eines Teiles des Knochenmarkpunktates (ca. 2 ml)

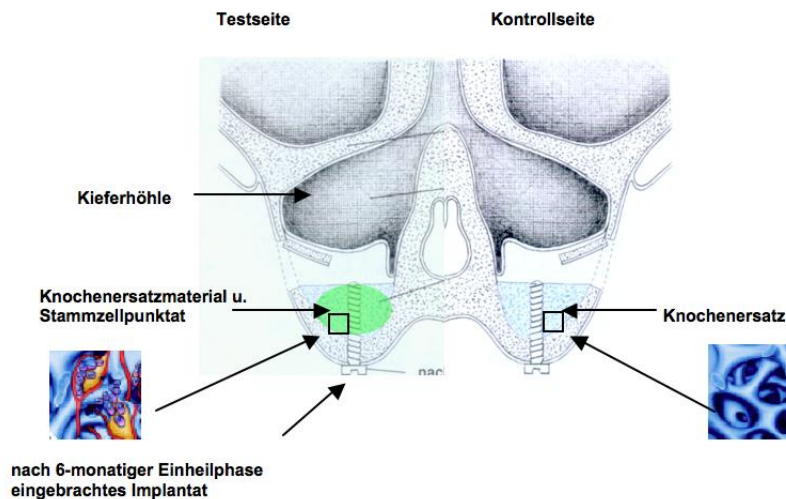


Abbildung 7: "split mouth" Design

Die einzelnen Fragestellungen wurden klinisch, radiologisch und histomorphometrisch evaluiert.

1. Klinische Untersuchungen zur Evaluierung der Knochenregeneration und Osseointegration der Implantate:

- Messung des Insertionstorques beim Setzen der Implantate
- Beurteilung der Stabilität der eingeeheilten Implantate mittels **Periotest®**:
 - 1) 6 Monate nach Implantation (bei Implantatfreilegung)
 - 2) 9 Monate nach Implantation
 - 3) 12 Monate nach Implantation

2. Radiologische Untersuchungen

Panoramaröntgen (Standarduntersuchungen im Rahmen der Implantattherapie):

- vor der Augmentation (Sinuslift) zur Therapieplanung
- unmittelbar nach der Augmentation (Sinuslift) als postoperative Kontrolle
- vor der Implantation (6 Monate nach Augmentation) zur Implantatplanung
- unmittelbar nach der Implantation zur postoperativen Kontrolle
- 3 Monate nach der Implantation zur Verlaufskontrolle
- 6 Monate nach der Implantation (bei Implantat-Freilegung) zur Verlaufskontrolle

Computertomographie (Eingriffsplanung und volumetrische Vermessung der Knochenaufbauten):

- Dental/NNH - CT prä-OP (Sinuslift) – Standard-Untersuchung vor Kieferaufbauten
- Dental/NNH - CT unmittelbar post-OP – zur volumetrischen Vermessung der Knochenaufbauten – Ausgangslage
- Dental/NNH – CT 12 Monate nach Augmentation zur volumetrischen Vermessung der Knochenaufbauten – Beurteilung der Resorptionstendenz

3. Histologische Untersuchungen

- histomorphometrische Auswertung aller gewonnenen Biopsien
- auszuwertende Parameter:
 - 1) Prozentsatz an neugebildetem Knochen im Knochenaufbau als Maß für die Osseoinduktivität
 - 2) Kontaktfläche zwischen neugebildetem Knochen und Knochenersatzmaterial als Maß für die Osseokonduktivität
 - 3) zeitlicher Verlauf der Knochenneubildung über die Auswertung der 3-Monats und 6-Monats Biopsien

4. Statistische Auswertung

Statistischer Vergleich der erhobenen Ergebnisse von Test- und Kontrollseite mittels ANOVA-Test

Die histomorphometrische Auswertung der Biopsien wurde im Rahmen dieser Diplomarbeit durchgeführt und beschrieben.

Eine genaue Übersicht des zeitlichen Ablaufs der Studie zeigt die folgende Tabelle

Zeitlicher Ablauf in Monaten																			
Therapie/Untersuchung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Stammzellengewinnung																			
Knochenmarksaspiration (Tibia)	x																		
Zelldifferenzierung (Qualitätskontrolle) Univ.-Klinik f. Orthopädie	x																		
bds. Sinuslift Stammzellapplikation auf Testseite	x																		
Knochenbiopsie I bds. in der augmentierten Region				x															
Knochenbiopsie II und Implantation bds. in der augmentierten Region + Messung von Insertionstorque							x												
Periotest																			
bei Implantatfreilegung												x							
weitere															x			x	
Panoramarröntgen																			
vor Augmentation (Sinuslift)	x																		
nach Augmentation (Sinuslift)	x																		
vor Implantation (6 Mon. nach Augm.)							x												
nach Implantation							x			x									
vor Implantatfreilegung												x							
OK Dental- u. NNH - CT																			
vor Augmentation (Sinuslift)	x																		
nach Augmentation (Sinuslift)			x									x							
Histologische Untersuchungen																			
histomorphometrische Auswertung der Biopsien - 3 u. 6 Monate nach Augmentation				x			x												
Monate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19

Tabelle 1: Zeitlicher Ablauf der Studie, die Zeitpunkte der Biopsien sind blau unterlegt

2.2 Patientengut

An dieser Studie nahmen 6 Patienten (3 Frauen, 3 Männer) im Alter zwischen 43 und 70 Jahren teil. Das Durchschnittsalter betrug 58,2 Jahre. Die Patienten waren alle in einem unauffälligen Allgemeinzustand.

Sämtliche Operationen wurden an der Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde Graz, Department für orale Chirurgie, durchgeführt.

Alle 6 Patienten erfüllten die zahnärztlichen Einschlusskriterien. Sie wiesen alle beidseits fehlende Zähne im seitlichen Oberkiefer, sowie eine symmetrische hochgradige Kieferatrophie (Restkieferkammhöhe < 5 mm) auf.

Es wurde für alle die Indikation für eine beidseitige 2-zeitige Sinusbodenaugmentation (Sinuslift) gestellt, sodaß sie in die Studie inkludiert wurden.

Einschlusskriterien
männlich und weiblich
Alter zwischen 20 und 70 Jahren
Unauffälliger Allgemeinzustand
Beidseits fehlende Zähne im seitlichen Oberkiefer
Symmetrische hochgradige Kieferatrophie (Restkieferkammhöhe < 5 mm)
Indikation für beidseitige 2-zeitige Sinusbodenaugmentation (Sinuslift)

Tabelle 2: Einschlusskriterien

Ausschlusskriterien
Asymmetrische Restknochenhöhe (keine Vergleichbarkeit der Seiten)
Konsumierende Allgemeinerkrankungen und Therapien, die das Einheilen des Knochenaufbaues und der Implantate negativ beeinflussen oder verhindern könnten
Schlechter Parodontalstatus (CPITN > 2)

Tabelle 3: Ausschlusskriterien

2.3 Bio-Oss®

Als Augmentationsmaterial für die Sinusbodenaugmentation wurde das bovine Knochenersatzmaterial Bio-Oss® der Firma Geistlich (Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Schweiz) verwendet.



Abbildung 8: BioOss®, mikroskopische Struktur und Granulat

Bio-Oss® wird aus dem mineralischen Anteil von Knochen australischer Rinder hergestellt. Als Grund für die gute Knochenregeneration mit Bio-Oss® gilt seine hohe Ähnlichkeit zum menschlichen Knochen. Die stark poröse Struktur von Bio-Oss® bietet viel Platz für die Einsprossung von Blutgefäßen und dem Aufbau von neuem Knochen.

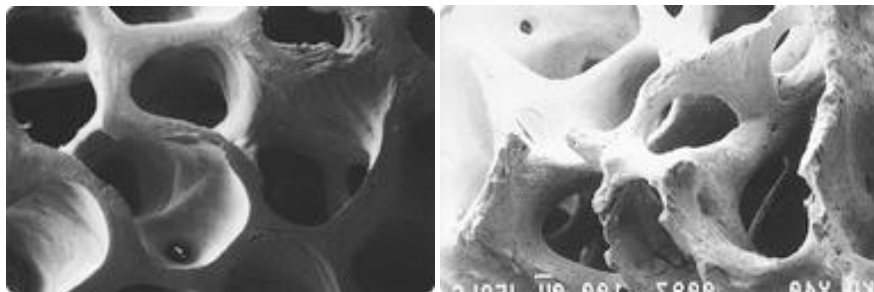


Abbildung 9: Makroporöse Mineralstruktur von BioOss® (links) und menschlichem Knochen (rechts)

Daraus resultiert eine große Kontaktfläche zwischen Bio-Oss® und neu gebildetem Knochen wie Weibrich et al. zeigen konnten (Weibrich et al. 2000).

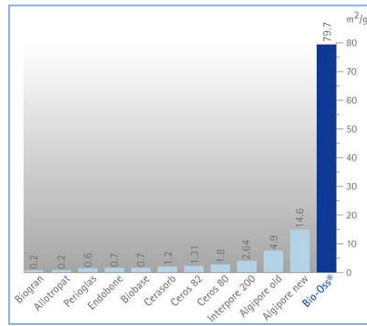


Abbildung 10: Vergleich der Kontaktfläche von neu gebildetem Knochen mit BioOss® und anderen Knochenersatzmaterialien

2.4 Die Gewinnung des Knochenmarkspirats

Die häufigste Art der Gewinnung von mesenchymalen Stammzellen war bislang die Yamshidi Punktion am Beckenkamm (Fuerst et al. 2004; Laino et al. 2006).

In den letzten Jahren etablierte sich die Entnahme von Knochenmarksaspirat bzw. Substantia spongiosa aus dem Tibiakopf (Nöller 1957; N Jakse et al. 2001).

Die Entnahme am Tibiakopf kann in lokaler Anästhesie ambulant durchgeführt werden. Neben der geringeren Belastung für den Patienten zeigt diese Methode auch eine deutlich geringere Inzidenz von Komplikationen. (Kirmeier et al. 2007)

Im Rahmen dieser Studie konnte die Knochenmarksaspiration aus dem Tibiakopf in der gleichen Sitzung mit der beidseitigen Sinusbodenaugmentation ambulant durchgeführt werden.

2.4.1 Durchführung der Knochenmarksaspiration am Tibiakopf

Die Patienten erhielten intraoperativ eine intravenöse Gabe von Fortecortin® 40mg und Neodolpasse®.

Nach sterilem Waschen und Abdecken des Op-Gebietes erfolgte eine Lokalanästhesie. Für die Lokalanästhesie wurde Scandonest® (Fa. Septodont, Deutschland). Danach wurde eine Stichinzision medial der Tuberositas tibiae unter Schonung des Pes anserinus durchgeführt. Nach Durchtrennung des Periosts wurde der Trokar der Knochenmark-Biopsienadel eingedreht. Es wurde dazu eine T-Lock® Knochenmark-Biopsienadel der Firma Angiotech (Gainsville, USA) verwendet.



Abbildung 11: T-Lock®

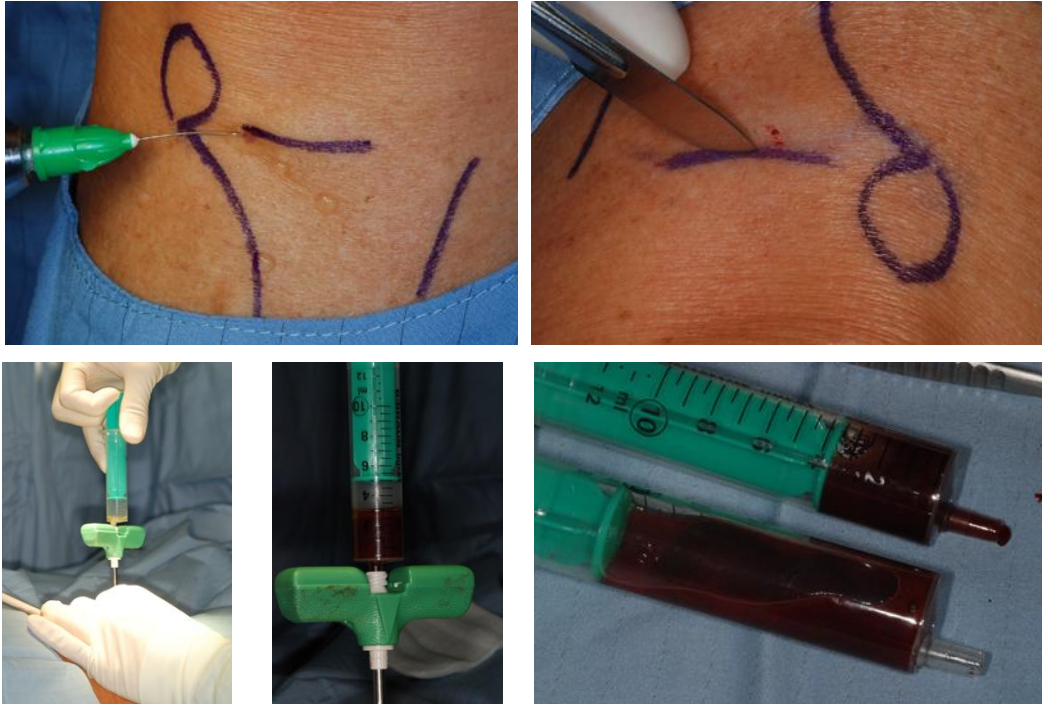


Abbildung 12: Tibiapunktion, von links oben: Lokalanästhesie, Stichinzision, Aspiration mit T-Lock®, Aspiration, Aspirat

Nach Einbringen der Nadel wurde mittels einer aufgesetzten 10ml-Spritze das Knochenmarksaspirat gewonnen. Im Mittel konnten 10.4 ml Gewebe aspiriert werden. Für die Augmentation wurden im Mittel 8 ml, für die Qualitätskontrolle an der Univ.-Klinik für Orthopädie Graz im Mittel 3.1 ml des Aspirats bereitgestellt. Zur Verhinderung einer extrakorporalen Gerinnung wurde jeweils eine entsprechende Menge Heparin zugesetzt. Verwendet wurde Heparin 5000 U/ml der Firma Biochrom (Berlin, Deutschland).

Patient	Aspirat ml	Heparin 1000U/ml	Aspirat ml Qualitätskontrolle	Heparin 1000U/ml Qualitätskontrolle
1	7	0.4	4	1
2	8	1	3.5	1
3	6	2	2	k.A.
4	11	k.A.	k.A.	k.A.
5	9	1	3	1
6	7	k.A.	k.A.	k.A.

Tabelle 4: Menge an gewonnenem Knochenaspirat pro Patient

Nach Entfernung der Biopsienadel erfolgte ein schichtweiser Wundverschluß mit Vicryl® 4.0 und Dafilon® 4.0 als Nahtmaterial. Danach wurde ein steriler Druckverband angelegt.

Im Anschluss erfolgte die beidseitige Sinusbodenaugmentation.

Alle Patienten wurden für den nächsten Tag zur postoperativen Kontrolle bestellt.

2.5 Die Sinusbodenelevation

Die Sinusbodenelevation wurde bei allen Patienten über einen lateralen Zugang durchgeführt.

Es hat keine präoperative Medikation der Patienten stattgefunden. Nach Applikation eines Lokalanästhetikums (Ultracain® dental forte, Fa. Sanofi-Aventis, Österreich) erfolgte ein Kieferkammschnitt mit einer vertikalen Entlastung mesial in der Eckzahnregion und distal im Tuberbereich. Es folgte die stumpfe Abpräparation eines Mucoperiostallappens mit dem Freer. Die Befestigung des mobilen Mucoperiostallappens erfolgte durch eine Haltenaht. Mithilfe von Rosenbohrer und Diamantkugelbohrer wurde die bukkale Kieferhöhlenwand gefenstert und ein lateraler Zugang zur Kieferhöhle geschaffen.

Es folgte die Mobilisierung der Kieferhöhlenschleimhaut mit Sinuselevatorien unter strikter Vermeidung von Perforationen.

Der so entstandene extrasinusoidale Raum wurde entsprechend dem Studienprotokoll augmentiert. An der Testseite wurde das mit Knochenmarksaspirat versetzte Bio-Oss® (im Mittel 2 Gramm) eingebracht, an der Kontrollseite wurde nur Bio-Oss® (im Mittel 2 Gramm) verwendet. Die Seitenzuteilung wurde per Losentscheid randomisiert.

Die Knochenfenster wurden mit einer BioGide® Membran (Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Schweiz) abgedeckt. Es folgte der dichte und spannungsfreie Wundverschluss mit nichtresorbierbaren Fäden (Dafilon® 4.0, B. Braun Medical AG, Stempbach, Schweiz) mittels Einzelknopfnähten.

Allen Patienten wurde postoperativ ein Antibiotikum (Ospexin® 1000mg 3x1 oder Dalacin C® 300mg 3x1), sowie ein Antiphlogistikum (Seractil forte® 400mg 3x1 bzw bei Bedarf) verschrieben. Weiters wurden alle Patienten über das postoperative Verhalten (Schonung, Hygiene, Kühlen, Kontrolltermine) aufgeklärt. Die Nähte wurden zwischen 7 und 10 Tagen postoperativ entfernt.

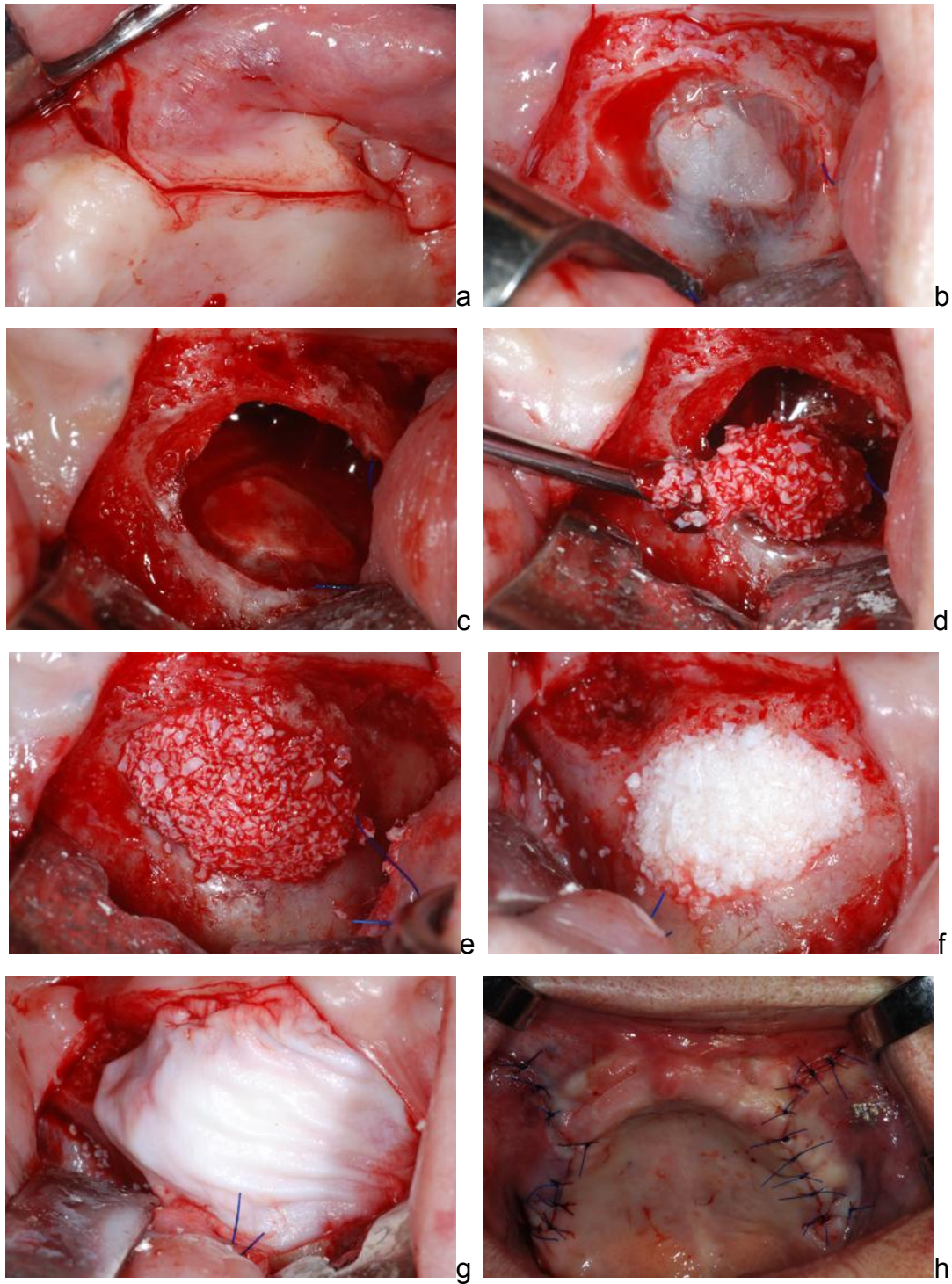


Abbildung 13: a Schnittführung, b Präparation des lateralen Knochenfensters, c elevierte Schneider'sche Membran, d Einbringen von BioOss® mit Aspirat - Testseite, e BioOss® u. Aspirat in situ, f BioOss® - Kontrollseite, g Biogide® Membran, h Wundverschluss

2.6 Die chirurgische Probenentnahme und Implantation

2.6.1 Knochenbiopsie nach 3 Monaten

Drei Monate nach dem Knochenaufbau wurden beidseits aus dem Augmentationsgebiet Knochenbiopsien entnommen.

Nach Gabe eines Lokalanästhetikums (Ultracain® dental forte, Fa. Sanofi-Aventis, Österreich) erfolgte ein Kieferkammschnitt mit einer mesialen und distalen vertikalen Entlastung. Die Mucoperiostallappen wurden mittels Freer stumpf abpräpariert. Zur Gewinnung der Biopsien wurde ein Trepanbohrer mit 3 mm Innendurchmesser verwendet. Danach erfolgte ein dichter Wundverschluß mittels Einzelknopfnähten und nicht resorbierbarer Naht (Dafilon® 4.0). Es wurden insgesamt 12 (6x2) Biopsien gewonnen. Diese verblieben sowohl für den Transport als auch für die histologische Einbettung in den Trepanbohrern. Nach Fixierung der Biopsien in einer neutral gepufferten Formalinlösung erfolgte der Transport nach Wien zur Herstellung der histologischen Präparate.

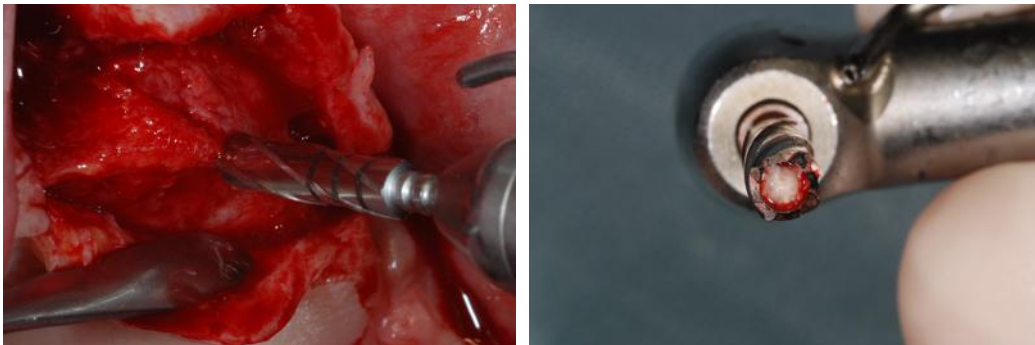


Abbildung 14: Probenentnahme mit Trepanbohrer

2.6.2 Knochenbiopsie nach 6 Monaten

Nach einer Einheilzeit von 6 Monaten wurde unter Lokalanästhesie (Ultracain® dental forte, Fa. Sanofi-Aventis, Österreich) aus jedem Augmentationsgebiet mit einem Trepanbohrer von 3 mm Innendurchmesser nochmals eine Probe entnommen. Das Procedere der Knochenbiopsie war dasselbe wie 3 Monate

zuvor. Die Entnahmestellen wurden zu beiden Zeitpunkten so gewählt, dass sie im Zentrum des Augmentates und an einer der zukünftigen Implantat-Insertionsstellen lagen.

Es wurden nochmals insgesamt 12 Biopsien gewonnen.

In derselben Sitzung wurden beidseits zwischen 6 – 8 **Xive® Implantate** (Dentsply Friadent, Mannheim, Deutschland) in die prothetisch erforderlichen Positionen eingebracht (siehe nachfolgende Tabelle). Insgesamt wurden 44 Implantate gesetzt.

Pos.	Pat. 1	Pat. 2	Pat. 3	Pat. 4	Pat. 5	Pat. 6
12				T: 3,8/13	T: 3,8/13	K: 3,8/13
13	T: 3,4/13	T: 3,8/13	K: 3,4/11		T: 3,8/13	
14		T: 3,8/11	K: 3,8/11	T: 3,8/11		K: 3,8/13
15	T: 3,8/13	T: 4,5/13			T: 4,5/13	
16	T: 3,8/13	T: 4,5/13	K: 3,8/9,5	T: 3,8/11	T: 4,5/13	K: 4,5/11
17				T: 3,8/11		K: 3,8/13
22		K: 3,8/11		K: 3,8/11	K: 3,8/13	T: 3,8/13
23	K: 3,4/13		T: 3,4/11			
24		K: 3,8/13	T: 3,8/11	K: 3,8/11	K: 3,8/13	T: 3,8/13
25	K: 3,8/13	K: 3,8/13			K: 3,8/13	
26	K: 3,8/13	K: 4,5/13	T: 3,8/11	K: 3,8/11	K: 4,5/13	T: 3,8/11
27				K: 3,8/11		T: 4,5/13

Tabelle 5: Position der Xive Implantate; Durchmesser/Länge; T=Testseite, K=Kontrollseite

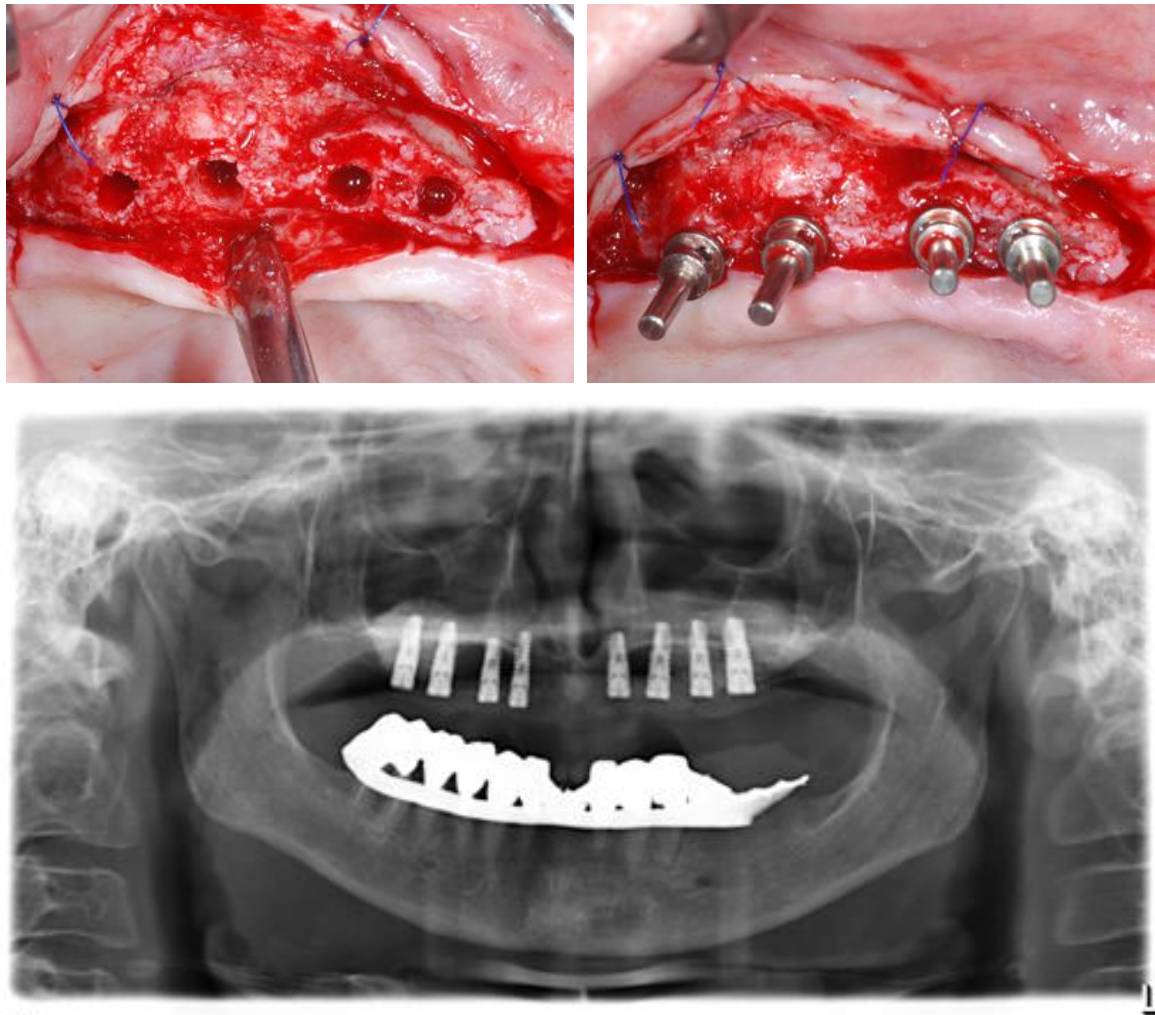


Abbildung 15: Setzen der Implantate, Implantatposition im Panoramaraöntgen

2.7 Die chirurgische Freilegung der Implantate

Sechs Monate nach der Implantation erfolgte die Freilegung der Implantate in Lokalanästhesie und die prothetische Versorgung.

2.8 Herstellung der histologischen Präparate

Die Herstellung der histologischen Präparate erfolgte an der Abteilung für Orale Chirurgie an der Bernhard Gottlieb Universitätszahnklinik in Wien.

Die Präparate wurden alle nach exakt demselben Verfahren hergestellt:

Das Knochengewebe mit dem Bohrzylinder wurde in einer neutral gepufferten Formalinlösung fixiert und nach Wien geschickt.

Dort angekommen erfolgte zuerst die Entwässerung mithilfe einer festgelegten, ansteigenden Alkohol-Reihe: 40% → 70% → 80% → 96% → 3 x 100% Alkohol (1 x gebraucht, 2 x neu).

Zum Einbetten der Präparate wurde der lichthärtende Kunststoff Technovit® 7200 VLC (Kulzer & Co., Wehrheim, Deutschland) verwendet. Mit Technovit® lassen sich transparente Kunststoffblöcke für lichtmikroskopische Untersuchungen herstellen, die sich für die Herstellung von Dünnschliff-Präparaten bestens eignen. Zum Aushärten des Kunststoffs wurde ein EXAKT® Lichtpolymerisationsgerät verwendet (EXAKT Apparatebau, Norderstedt, Deutschland).

Jedes Präparat wurde in einem Einbettgefäß mit Technovit 7200® und Benzoylperoxyd vollständig bedeckt. Mit wassergekühltem Vakuum und Licht wurde der Kunststoff auspolymerisiert.

Die Herstellung von unentkalkten Knochenschliffpräparaten erfolgte mit der Trenn-Dünnschliff-Technik nach DONATH (Donath 1988):

Als erstes wurden Röntgenbilder von den Kunststoff-Blöcken angefertigt, um exakt die Mitte des Präparats bestimmen zu können.

Die Blöcke wurden nach Bestimmung der Mitte mit einer Präzisionssäge (EXAKT E 300, EXAKT Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) halbiert, die überstehenden Kunststoffreste weggetrimmt. Anschließend wurde das Präparat mit seiner „region of interest“ parallel auf eine Trägerplatte fixiert.

Das Nassschleifsystem (EXAKT 400 CS micro grinding system, EXAKT Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) wurde verwendet um die Blöcke planparallel zu schleifen. Es folgte die Trocknung und Politur der Präparate.

Zur Fixation der Schliffe am Objektträger wurde Technovit Präzisionskleber® (Kulzer & Co., Wehrheim, Deutschland) eingesetzt. Es folgte eine Reduktion der Dicke der Präparate mit einem Trennschleifsystem auf 250 µm Dicke.

Die Präparate wurden unter Kontrolle mittels Lichtmikroskop bis auf eine Dicke von 30 µm verjüngt und dem Färbeprozess zugeführt.

Die Färbung nach LEVAI-LACZKO

Zur Färbung nach Levai-Laczko werden 2 Lösungen verwendet:

- Lösung A: Azur II, Methylenblau, Na₂CO₃ (je 1% in Aqua dest.) im Verhältnis 1:1:2.
- Lösung B: Pararosanilin (1% in Aqua dest.).

Färbevorgang:

Die Präparate wurden in 30 % Wasserstoffperoxid (H₂O₂) unter ständiger Bewegung 5 Minuten lang geätzt. Anschließend wurden sie mit Leitungswasser gründlich gespült. Das Entkalken der Oberfläche erfolgte mit 1%iger Essigsäure für 30 Sekunden. Nun wurden die Präparate für 20 Minuten mit Lösung A gefärbt. Danach wurde mit Lösung B für 5 Sekunden gefärbt. Zwischen diesen Schritten wurden die Präparate immer gründlich mit Leitungswasser gespült und trocken gepresst.

Die gewonnenen Schnittpräparate konnten nun mithilfe eines computergesteuerten Mikroskoptisches zur weiteren Bearbeitung am PC einfotografiert werden.

2.9 Histomorphometrie

2.9.1 Die Herstellung digitalisierter Bilder von den histologischen Präparaten

Für die histomorphometrische Auswertung wurden die Schliffpräparate mit einem Lichtmikroskop (NIKON® Mikrophot-FXA, Tokyo, Japan) und einer digitalen Kamera (NIKON® digital camera DXM 1200, Tokyo, Japan) fotografiert. Es wurde die Objektvergrößerung Plan 2 verwendet. Die Auflösung der Bilder betrug 452 Pixel pro Millimeter.

Mittels einem automatischen Mikroskoptisch wurden die Präparate mäanderförmig und überlappend in das Programm Lucia G 4.71® (Laboratory Imaging, Prag, Tschechische Republik) einfotografiert. Die circa 30 so entstandenen Einzelbilder wurden zu einem vollständigen Bild des histologischen Präparates zusammengesetzt. Danach wurden die Bilder in das Anwenderprogramm Photoshop 7.0® (Firma Adobe Systems Inc., San Jose, California, USA) importiert und konnten mit Hilfe der Software bearbeitet werden.

2.9.2 Die Bearbeitung der digitalen Bilder

Die gesamten Gewebekomponenten der Biopsie innerhalb des Trepanbohrers wurden als „region of interest“ definiert. Dazu wurde mit der Software Photoshop 7.0® eine Maske über das Bild projiziert und die Bereiche außerhalb der „region of interest“ wurden somit aus der Auswertung ausgegrenzt. Danach wurden die unterschiedlichen Arten des Knochens, bzw Knochenersatzmaterials bearbeitet. Im Bild fanden sich Anteile von ortständigem Knochen, von Bio-Oss® und von neugebildetem Knochen. Die drei Gewebearten wurden mit Hilfe des Linienzeichners umrandet und mit der Farbfüllfunktion des Programms in vordefinierten Farben eingefärbt. Vorgegeben waren die Farben wie folgt:

Ortsständiger Knochen (Lamellenknochen)	Blau
Neugebildeter Knochen (Geflechtknochen)	Rot
Bio-Oss® (Knochenersatzmaterial)	Gelb

Tabelle 6: Farbuordnung der unterschiedlichen Knochenarten

Um die korrekte Differenzierung der verschiedenen Gewebe und die Genauigkeit des Zeichnens zu gewährleisten wurde während der Bearbeitung permanent eine Kontrolle mittels Lichtmikroskop und Originalschliffpräparat durchgeführt.

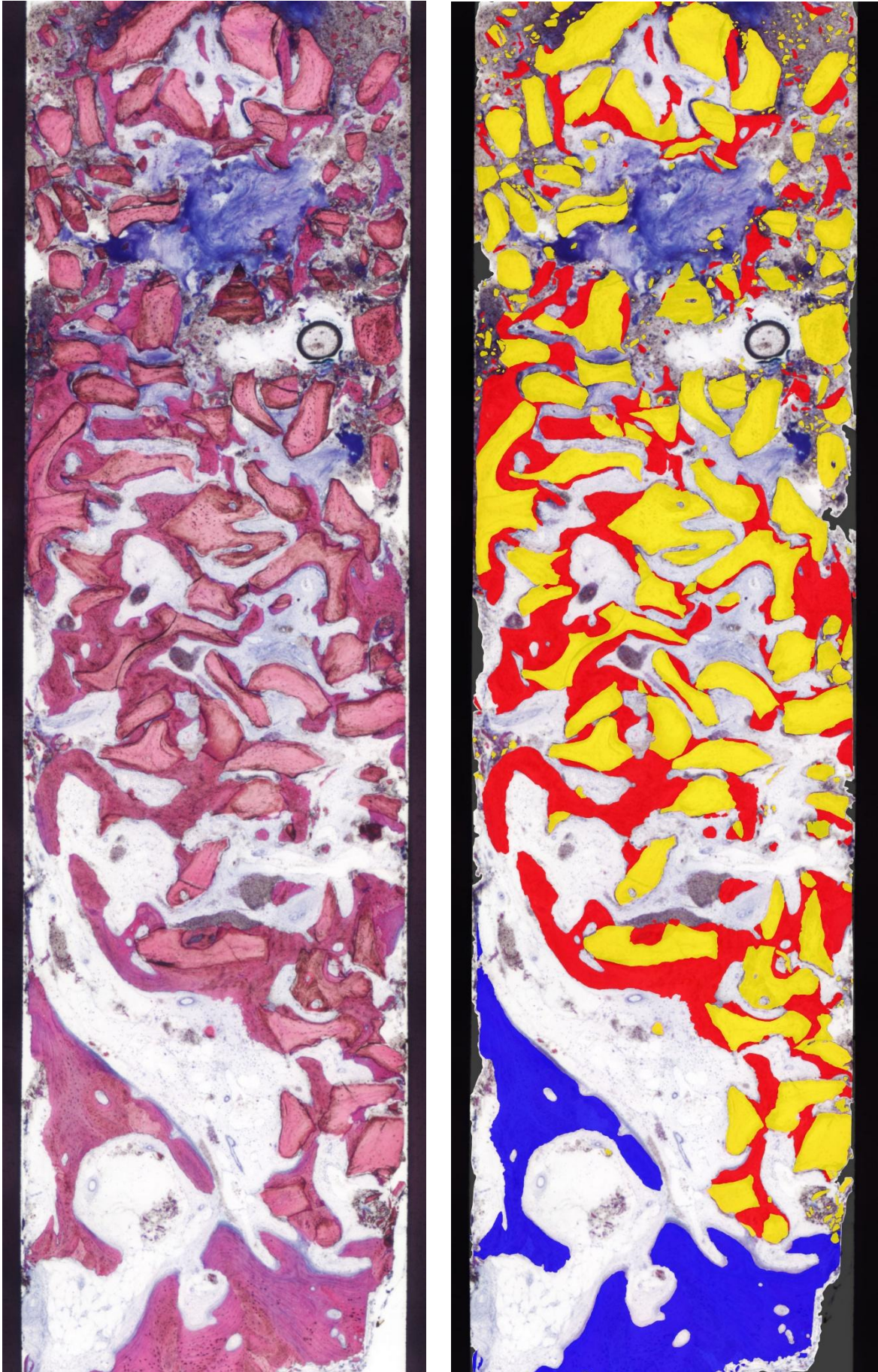


Abbildung 16: einfotografierter histologischer Schnitt u. Schliff Präparat nach grafischer Bearbeitung

2.9.3 Histomorphometrie, die Auswertung der histologischen Präparate

Durch die Anfärbung der unterschiedlichen Gewebearten mit den entsprechenden Farben war die Voraussetzung für die Vermessung der Flächen der einzelnen Anteile gegeben. Die Knochenbiopsie, die vor der Berechnung als „region of interest“ maskiert wurde, setzte sich aus folgenden 4 Flächen zusammen:

Die Flächen des neu gebildeten Knochens, des ortständigen Knochens sowie die Flächen des Bio-Oss® und die Flächen des übrigen Gewebes dazwischen wurden in mm² ermittelt.

Als zweites Maß wurden die Längen der Oberfläche des Bio-Oss® in mm ermittelt. Es wurde zum einen die Kontaktfläche zwischen Bio-Oss® und neu gebildetem Knochen gemessen und zum anderen die Länge der gesamten Oberfläche des Bio-Oss®.

Danach wurden folgende Parameter berechnet:

1. Der flächenmäßige Anteil (in %) des neu gebildeten Knochens an der gesamten Gewebefläche (New Bone / Tissue Volume Biopsy %)
2. Der Anteil (in %) der Oberfläche des Bio-Oss®, der mit neu gebildetem Knochen in Kontakt steht (New Bone to Bio-Oss® Contact Biopsy %)

Die Ergebnisse der Biopsien wurden nach Zeitpunkt der Entnahme und nach Herkunft von der Test- oder Kontrollseite zusammengefasst und der Mittelwert errechnet. Dieselben Werte wurden für jeden Patienten einzeln gerechnet. Diese Ergebnisse flossen in die Statistik ein.

2.10 Statistische Auswertung

Zuerst wurden von allen ermittelten Flächen und Längen Mittelwerte und Standardabweichungen errechnet.

Die statistische Auswertung musste anschließend mehrere Anforderungen erfüllen:

Aufgrund des Splitmouth Designs wurde zwischen Test- und Kontrollseite der Patienten verglichen. Gleichzeitig wurde an 2 Zeitpunkten eine Biopsie entnommen und somit mehrere Messungen bei der gleichen Person durchgeführt.

Zur statistischen Auswertung wurde das Mixed-Models-ANOVA-Verfahren mit Messwiederholung angewandt.

Verglichen wird die Test- mit der Kontrollgruppe. Korrelierte Fehler durch Messungen am gleichen Individuum (=Messwiederholung) werden durch einen „Zufallsfaktor Patient“ berücksichtigt.

Die höhere Teststärke der ANOVA mit Messwiederholung zeigt sich darin, dass in der Regel die freie Variation der Werte einer Person zu verschiedenen Zeiten kleiner ist als die freie Variation zwischen den Werten verschiedener Personen.

Das ANOVA Verfahren ist für diese Studie das wünschenswerte Design, da die Effekte in der Variation innerhalb derselben Personen aufgedeckt werden, die auf das Treatment zurückgeführt werden können.

Der Vergleich der beiden Entnahmestellen und der beiden Biopsiezeitpunkte wurde auf Signifikanz überprüft. Die Nullhypothese $H(0)$ besagt, dass kein Unterschied zwischen den beiden Methoden besteht. $P \leq 0,05$ wurde als signifikant angesehen. Die Alternativhypothese bestätigt einen Unterschied zwischen den Methoden.

3 Ergebnisse

3.1 Mittelwerte und Standardabweichung

3.1.1 Prozentsatz des neu gebildeten Knochens: Gegenüberstellung Kontrollseite – Testseite

Die Menge an neu gebildetem Knochen (New Bone) relativ betrachtet zur gesamten Gewebsfläche (Tissue Volume) im Augmentationsareal. Der randständige Knochen wurde von der Auswertung ausgeschlossen. Es folgt die getrennte Auswertung von Test und Kontrollseite. Der Prozentsatz an neu gebildetem Knochen gilt als Maß für die Osseoinduktivität.

Testseite: Es wurden 12 Biopsien ausgewertet. Der Anteil des neu gebildeten Knochens beträgt durchschnittlich 11,09% mit einer Standardabweichung von $\pm 9,17$.

Kontrollseite: Es wurden 11 Biopsien ausgewertet (in einem Präparat war das Augmentationsgebiet nicht enthalten; es besteht ausschließlich aus altem Knochengewebe und es ist kein Augmentationsmaterial sichtbar).

Im Mittel beträgt der Anteil des neu gebildeten Knochens 9,89% mit einer Standardabweichung von $\pm 4,46$.

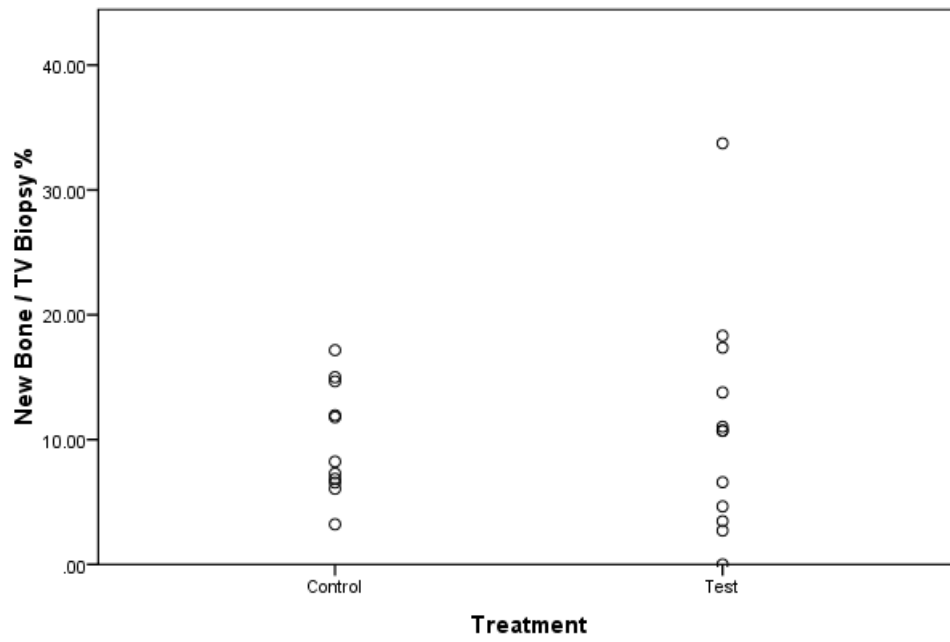


Abbildung 17: New Bone / TV Biopsy %

3.1.2 Der Anteil der Kontaktfläche von Bio Oss® mit neu gebildetem Knochen (%)

Prozentueller Anteil der Oberfläche des Bio-Oss®, welcher von neu gebildetem Knochen bedeckt ist. Es folgen die getrennt erstellten Ergebnisse der Test- und Kontrollseite.

Die Kontaktfläche zwischen dem neu gebildeten Knochen und dem Bio-Oss® gilt als Maß für die Osseokonduktivität.

Testseite: Es wurden 12 Biopsien ausgewertet. Durchschnittlich sind 16,96% mit einer Standardabweichung von $\pm 14,70$ der Bio-Oss® Oberfläche mit neu gebildetem Knochen bedeckt.

Kontrollseite: Es wurden 11 Biopsien ausgewertet. Im Mittel werden 16,35 % mit einer Standardabweichung von $\pm 10,84$ des Bio-Oss® von neu gebildetem Knochen bedeckt.

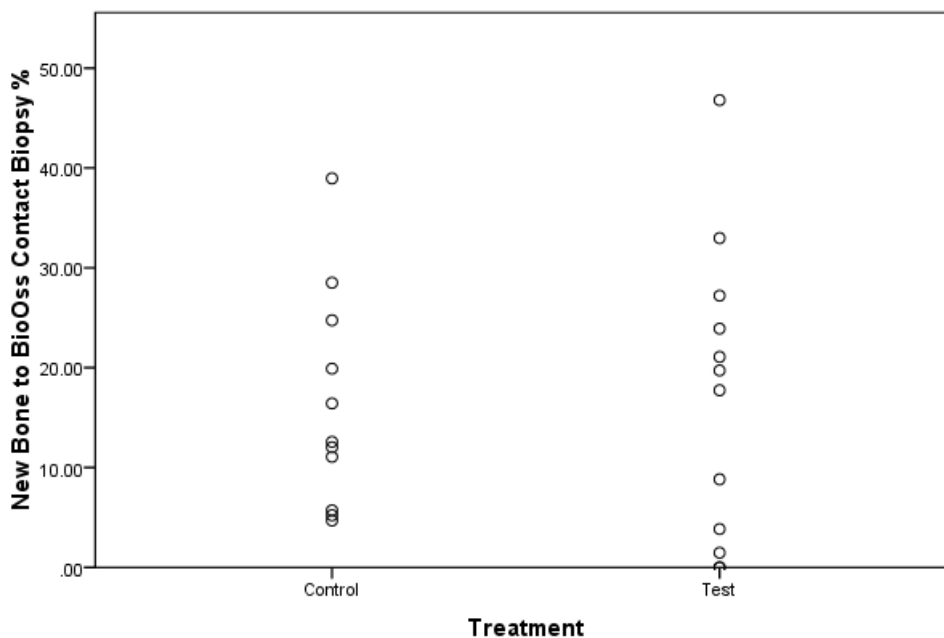


Abbildung 18: New Bone to BioOss® Contact Biopsy %

3.2 Statistische Auswertung (Mixed Models ANOVA)

Verglichen wird die Test- mit der Kontrollgruppe. Korrelierte Fehler durch Messungen am gleichen Individuum (=Messwiederholung) werden durch einen „Zufallsfaktor Patient“ berücksichtigt.

3.2.1 Prozentsatz des neu gebildeten Knochens

Der Anteil an neuem Knochen in Relation zur gesamten Gewebsfläche zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen Test und Kontrollseite ($P=0,664$).

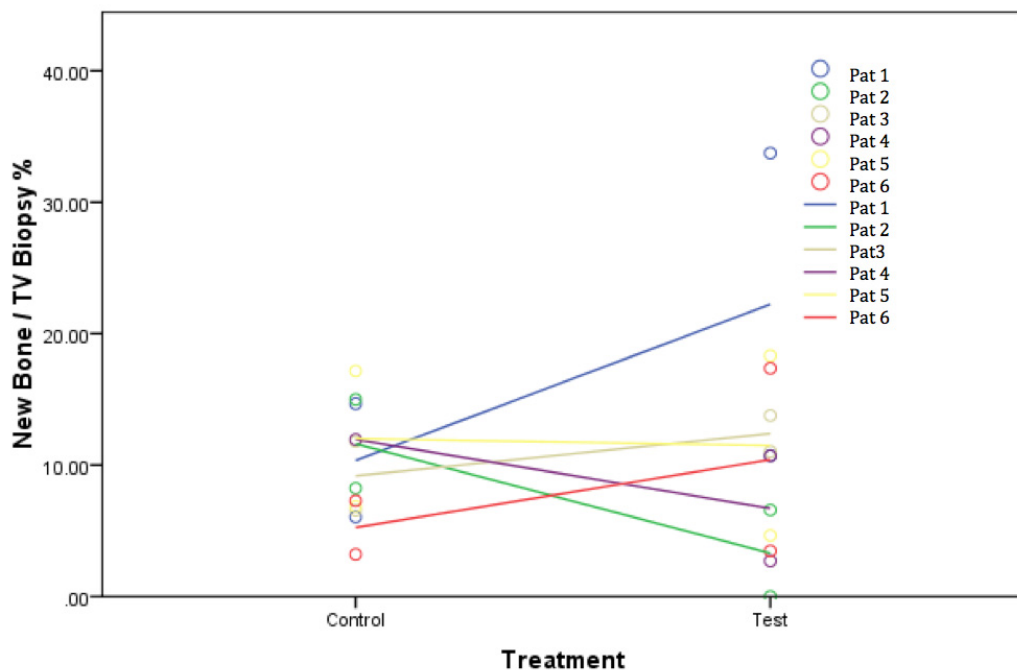


Abbildung 19: New Bone / TV %, die Linien verbinden die Gruppenmittelwerte der jeweiligen Individuen

3.2.2 Der Anteil der Kontaktfläche von Bio Oss® mit neu gebildetem Knochen (%)

Auch der prozentuelle Anteil der Oberfläche des Bio-Oss®, der von neu gebildetem Knochen überzogen ist, zeigt keinen statistisch signifikanten Unterschied ($P=0.833$).

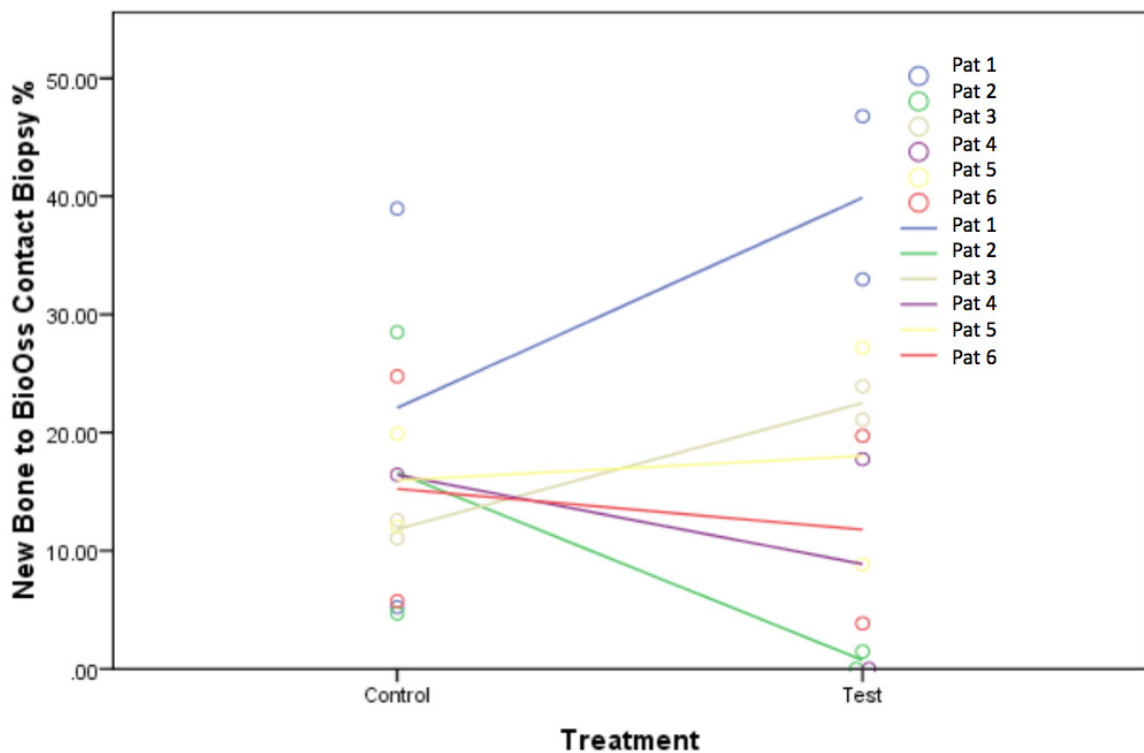


Abbildung 20: New bone to BioOss® Contact%, die Linien verbinden die Gruppenmittelwerte der jeweiligen Individuen

3.3 Auswertung der 3- und 6- Monats Biopsien

3.3.1 3 - Monats Biopsien

Testseite: Es wurde 6 Biopsien ausgewertet.

New Bone/TV Biopsy %: Im Mittel finden sich 10,36% neu gebildeter Knochen mit einer Standardabweichung von $\pm 11,83$.

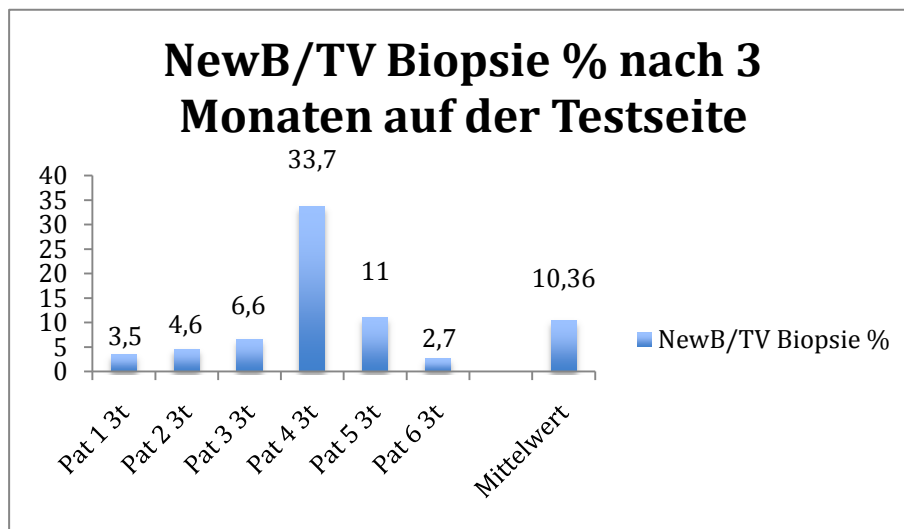


Abbildung 21: New Bone / TV Biopsy % nach 3 Monaten auf der Testseite

New Bone to Bio-Oss® Contact Biopsy%: Es sind durchschnittlich 13,67% $\pm 17,93$ des Bio-Oss® mit neuem Knochen bedeckt.

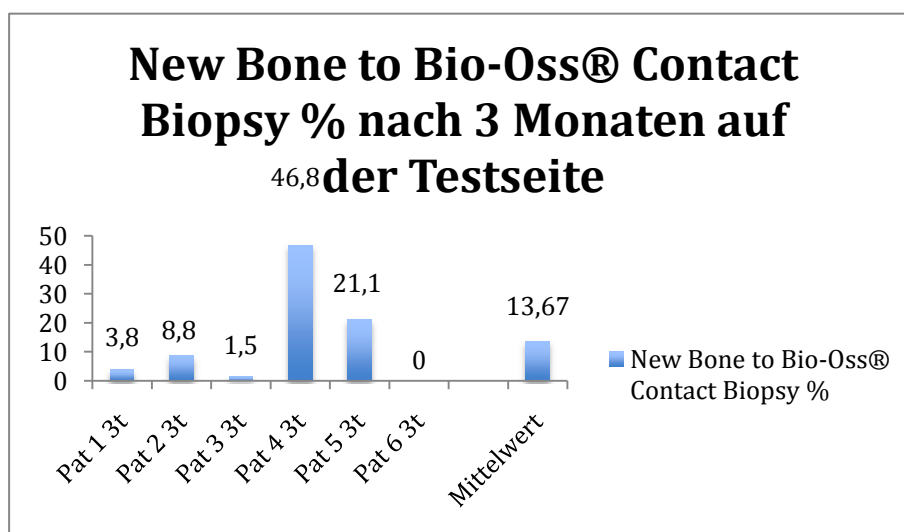


Abbildung 22: New Bone to BioOss® Contact Biopsy % nach 3 Monaten auf der Testseite

Kontrollseite: Es wurde ebenfalls 6 Biopsien ausgewertet.

New Bone/TV Biopsy %: Im Mittel finden sich 9,45% neu gebildeter Knochen mit einer Standardabweichung von $\pm 4,15$.

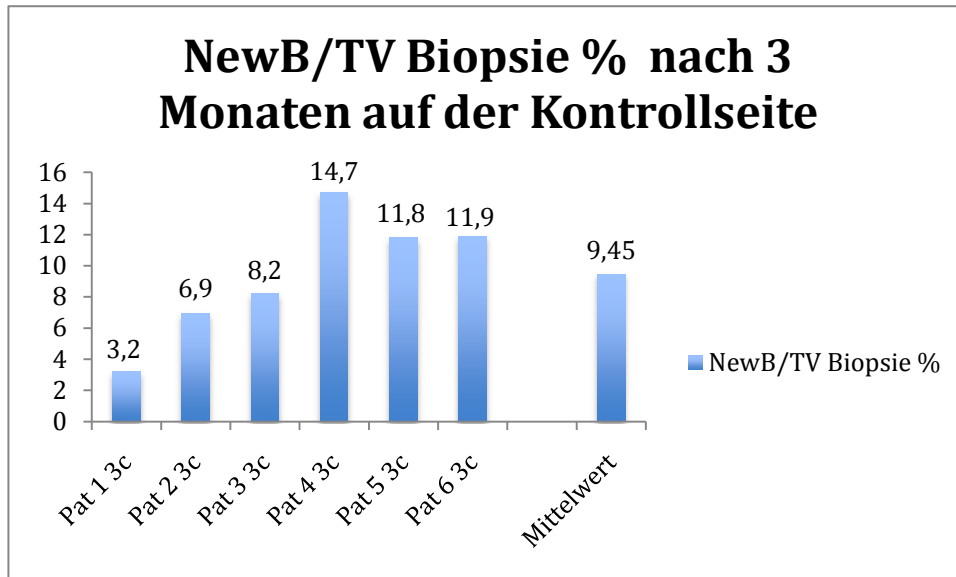


Abbildung 23: New Bone / TV Biopsy % nach 3 Monaten auf der Kontrollseite

New Bone to Bio-Oss® Contact Biopsy%: Es sind durchschnittlich 15,06% $\pm 12,52$ des Bio-Oss® mit neuem Knochen bedeckt.

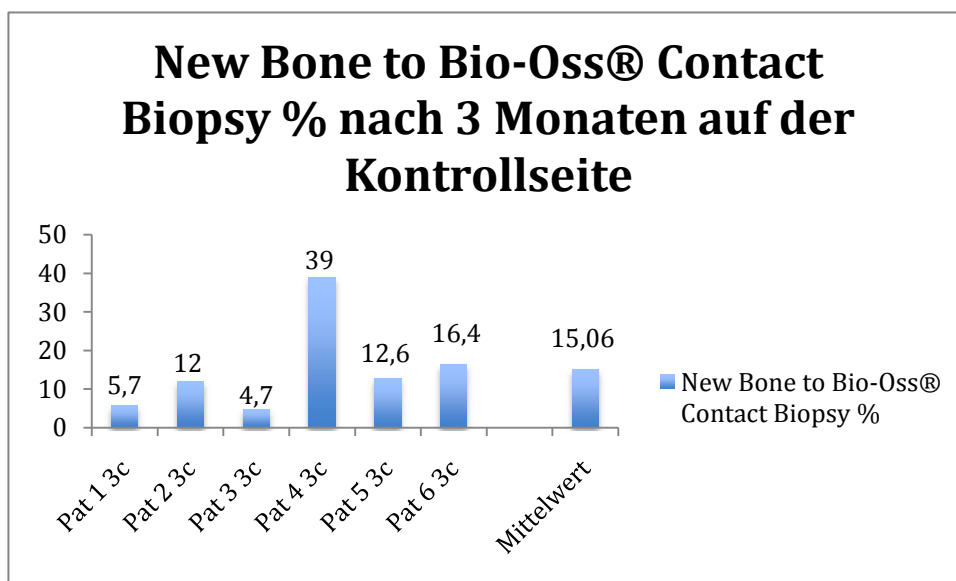


Abbildung 24: New Bone to BioOss® Contact Biopsy % nach 3 Monaten auf der Kontrollseite

Zwischen der Test und der Kontrollseite findet sich nach 3 Monaten kein statistisch signifikanter Unterschied; $P=0,398$.

3.3.2 6 - Monats Biopsien

Testseite: Es wurde 6 Biopsien ausgewertet.

New Bone/TV Biopsy %: Im Mittel finden sich 11,81% neu gebildeter Knochen mit einer Standardabweichung von $\pm 6,62$.

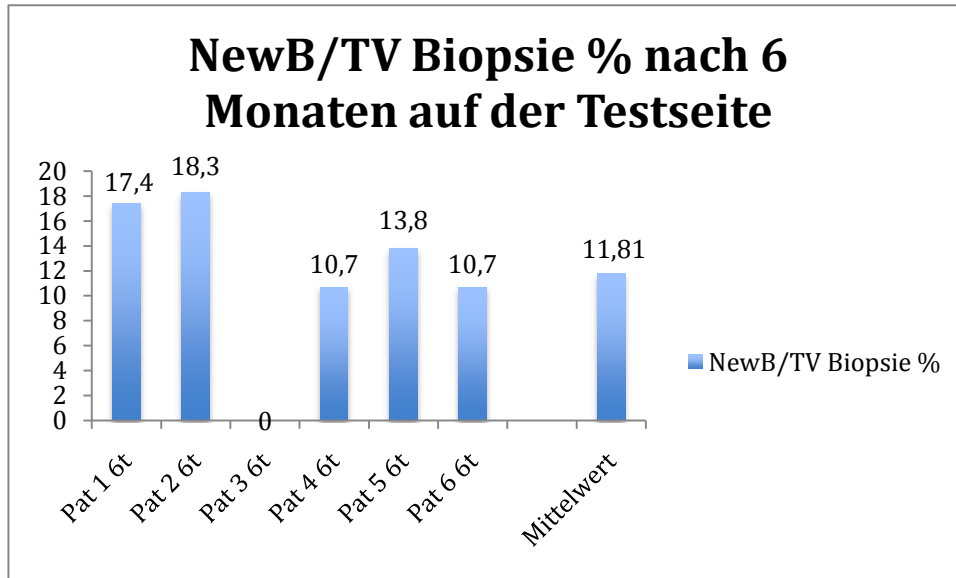


Abbildung 25: New Bone / TV Biopsy % nach 6 Monaten auf der Testseite

New Bone to Bio-Oss® Contact Biopsy%: Es sind durchschnittlich 20,26% $\pm 11,32$ des Bio-Oss® mit neuem Knochen bedeckt.

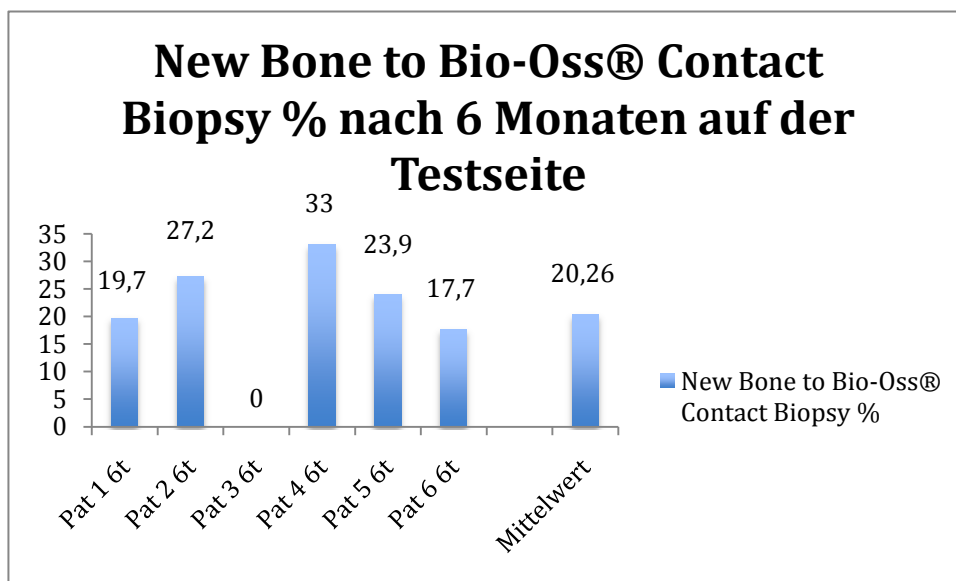


Abbildung 26: New Bone to BioOss® Contact Biopsy % nach 6 Monaten auf der Testseite

Kontrollseite: Es wurde 5 Biopsien ausgewertet.

New Bone/TV Biopsy %: Im Mittel finden sich 10,41% neu gebildeter Knochen mit einer Standardabweichung von $\pm 5,25$.

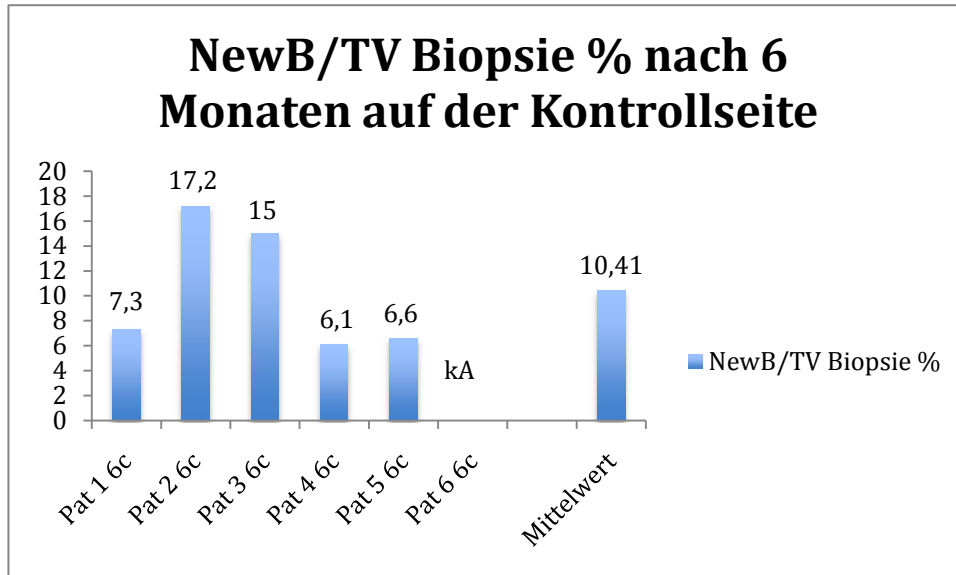


Abbildung 27: New Bone / TV Biopsy % nach 6 Monaten auf der Kontrollseite; kA = keine Auswertung

New Bone to Bio-Oss® Contact Biopsy%: Es sind durchschnittlich 17,89% $\pm 9,63$ des Bio-Oss® mit neuem Knochen bedeckt.

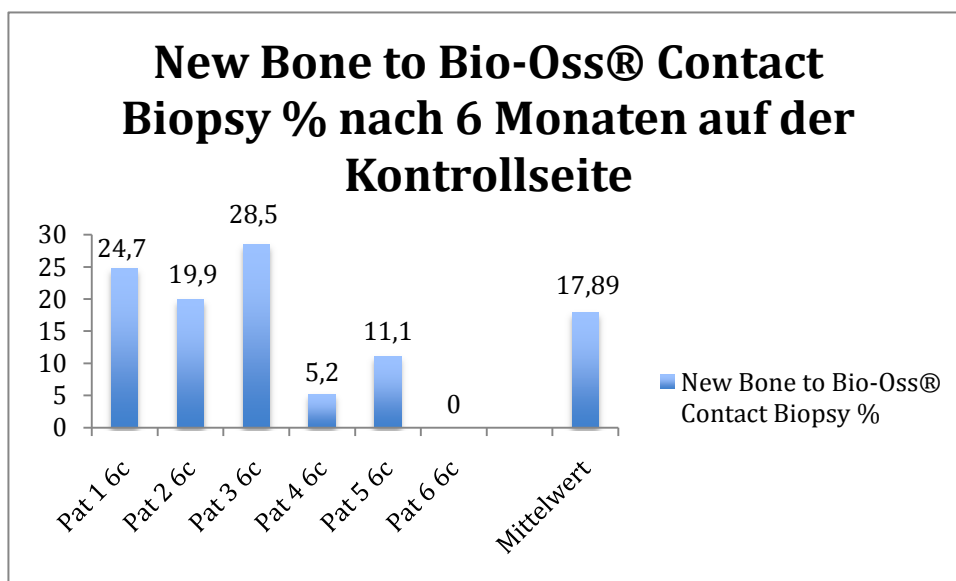


Abbildung 28: New Bone to BioOss® Contact Biopsy % nach 6 Monaten auf der Kontrollseite

Zwischen der Test und der Kontrollseite findet sich nach 6 Monaten kein statistisch signifikanter Unterschied; $P=0,874$.

3.4 Vergleich der 3 - und 6 - Monats Biopsien

Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den 3- und 6- Monats Biopsien bezüglich des Anteils an neuem Knochen in Relation zum gesamten Gewebe (Tissue Volume), $P=0,765$.

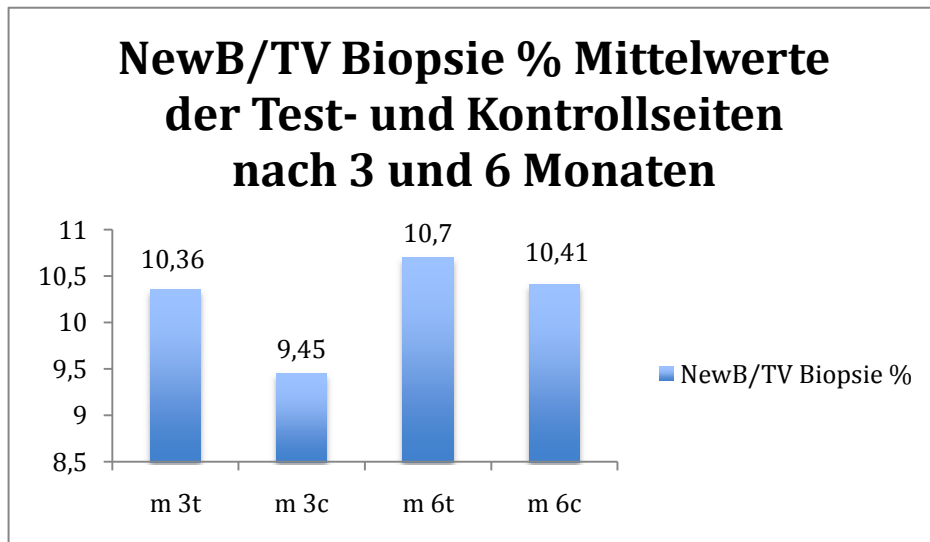


Abbildung 29: New Bone / TV Biopsy % Mittelwerte der Test- und Kontrollseite nach 3 und 6 Monaten

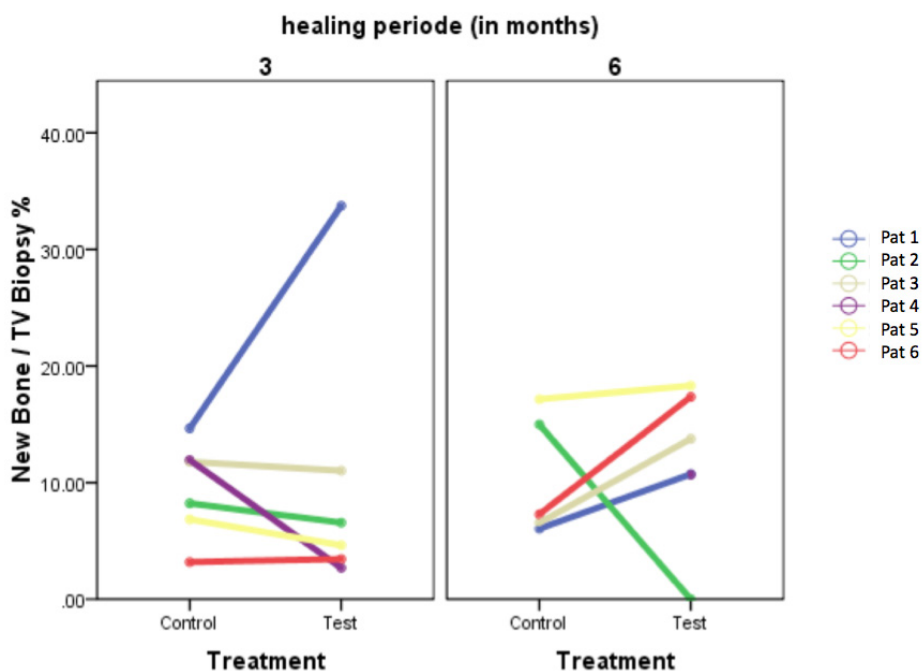


Abbildung 30: New Bone / TV Biopsy % nach 3 und 6 Monaten

Es zeigt sich auch kein signifikanter Unterschied zwischen den 3- und 6- Monats Biopsien bezüglich der Kontaktfläche zwischen neuem Knochen und Bio-Oss®, P=0,410.

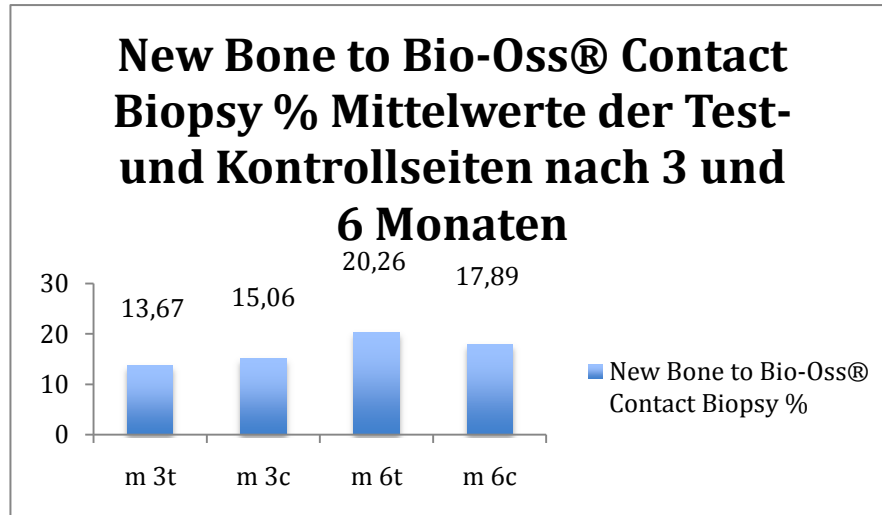


Abbildung 31: New Bone to BioOss® Contact Biopsy % Mittelwerte der Test und Kontrollseiten nach 3 und 6 Monaten

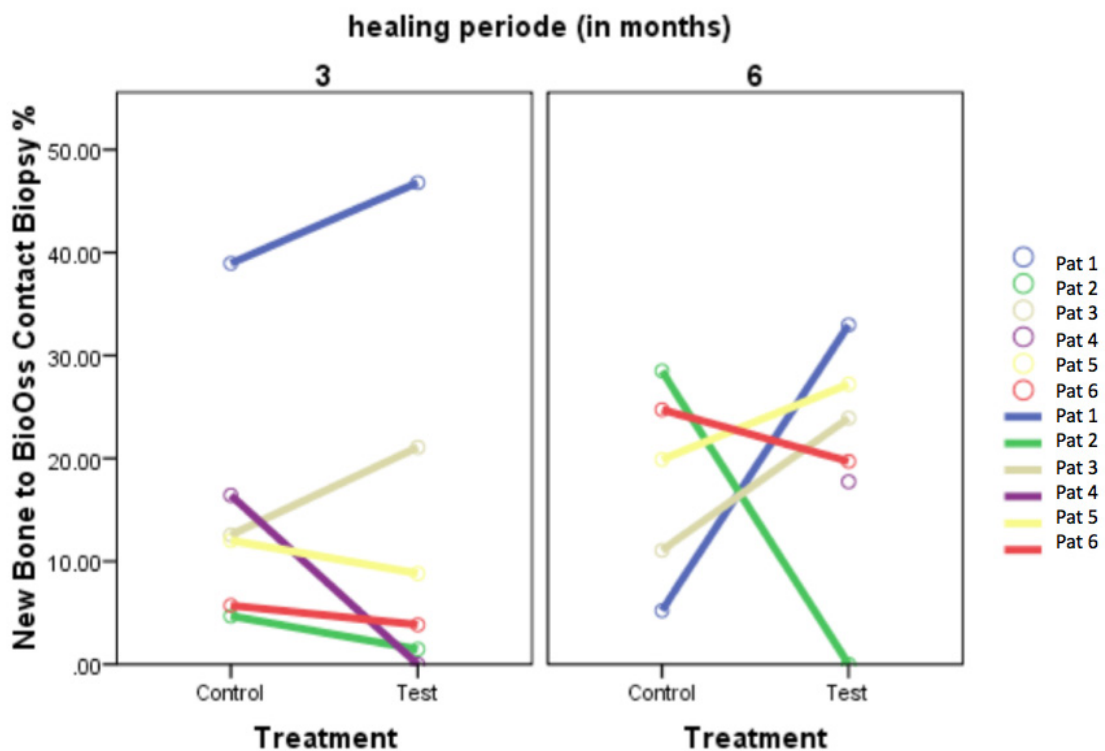


Abbildung 32: New Bone to BioOss® Contact Biopsy % nach 3 und 6 Monaten

4 Diskussion

Die Therapie der hochgradigen Atrophie der posterioren Maxilla mittels Sinusbodenaugmentation stellt heute ein vorhersagbares Routineverfahren dar (Esposito et al. 2006), wobei generell autologer Knochen als Goldstandard und Maßstab bei Augmentationsmaterialien gilt (Aghaloo & Moy 2007). Mit autologem Knochen werden Vorläuferzellen und damit Wachstumsfaktoren transplantiert, womit eine osteoinduktive und osteokonduktive Wirkung auf den Lagerknochen erzielt wird. Durch die osteoinduktive Potenz des autologen Knochens ist seine Einheilzeit im Gegensatz zu Knochenersatzmaterialien verkürzt. Eigenknochen hat außerdem die höchste Bioakzeptanz, wodurch Abstoßungsreaktionen nahezu unmöglich sind. Als Nachteil des autologen Knochens gelten die beschränkte Verfügbarkeit und eine höhere Belastung des Patienten durch den für die Gewinnung des Transplantates nötigen Zweiteingriff (Younger, E. M. 1989; Kirmeier et al. 2007). Als Alternativen haben sich neben dem allogenen Knochentransplantat xenogene Knochenersatzmaterialien etabliert. Diese Materialien wirken lediglich osteokonduktiv, da sie zellfrei sind und sie benötigen lokale Stammzellen, die sich in Osteoblasten differenzieren können.

Die Knochenneubildung in Bereichen, die nur mit Knochenersatzmaterial augmentiert wurden, hängt von den biologischen Eigenschaften der Zellen des umgebenden intakten Knochens ab (Muschler & Midura 2002). Das Zentrum des Transplantates und die Region entlang der Schneiderschen Membran gelten aufgrund ihrer knochenfernen Lage und der damit verbundenen schlechteren Vaskularisierung als Problemzonen der Knochenheilphase (Kübler 1997). Dasselbe gilt für das autologe Knochentransplantat. Durch die schlechtere Versorgung des Transplantates in den Problemzonen, und den damit niedrigeren Sauerstoffpartialdrücken gehen ein Großteil der mit dem Knochentransplantat eingebrachten Osteoblasten zu Grunde (Zizelmann et al. 2007). Fehrer beschreibt in ihrer Arbeit, dass im Gegensatz dazu mesenchymale Stammzellen aus dem Knochenmark eine höhere Toleranz gegenüber der lokalen Hypoxie aufweisen. Diese proliferieren bei niedrigen Sauerstoffpartialdrücken und sezernieren Faktoren wie VEGF (Vaso- endothelialer Wachstumsfaktor). Verbessert sich die Sauerstoffversorgung differenzieren die Zellen aus (Fehrer et al. 2007). Daher

wird die Etablierung aller drei Eckpfeiler des tissue engineering (Trägermaterial, Wachstumsfaktoren und Zellen) angestrebt.

Das Ziel dieser Studie war die Evaluierung, ob das Einbringen von Knochenmarksaspirat mit mesenchymalen Stammzellen aus dem Tibiakopf in eine Knochenersatzmatrix (BioOss®) bei der Sinusbodenaugmentation beim Menschen eine nachweisbare Verbesserung und Beschleunigung der Knochenregeneration bewirkt. Dazu wurde im Split Mouth Design (Hujoel & Loesche 1990) ein Vergleich gegenüber reinem Knochenersatzmaterial durchgeführt. Es konnte weder in der Menge an neu gebildetem Knochen, noch im zeitlichen Verlauf der Knochenneubildung ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse decken sich nicht mit der bisherigen Literatur über den positiven osteoinduktiven Effekt von mesenchymalen Stammzellen bei der Knochenregeneration (Jäger et al. 2010; McAllister et al. 2009; Sebastian Sauerbier, Kerstin Stubbe, et al. 2010; Soltan et al. 2007).

Erste klinische Studien am Menschen führten Schmelzeisen, Schimming und Zizelmann durch (Zizelmann et al. 2007; R Schmelzeisen 2003; Schimming 2004). In diesen Studien wurde das augmentierte Gewebe in vitro durch tissue engineering gezüchtet. Dadurch handelte es sich zum Zeitpunkt der Augmentation bei den Zellen in diesen Geweben bereits um ausdifferenzierte Osteoblasten.

Schmelzeisen implantierte Knochenchips aus Polymerflies und Osteoblasten. Es fand sich nach vier Monaten genug lamellerer Knochen, um Implantate primär stabil fixieren zu können (R Schmelzeisen 2003). Schimming bestätigte die Ergebnisse an einem größeren Patientengut und wies die Knochenneubildung nach 3 Monaten histologisch nach (Schimming 2004). Zizelmann beurteilte die Volumenstabilität von autologen Knochentransplantaten im Vergleich zu mittels tissue engineering hergestellten artifiziellen Knochentransplantaten. Mit einer Resorptionstrate von 29% nach 3 Monaten war der autologe Knochen dem künstlich hergestellten Knochentransplantat mit einer Resorptionrate von 90% überlegen (Zizelmann et al. 2007).

Fürst verwendete 2004 in einer tierexperimentellen Studie an Minipigs mesenchymale Stammzellen. Diese wurden dazu in vitro expandiert und mit Knochenersatzmaterial vermischt augmentiert. Es konnte ein positiver osseinduktiver und -konduktiver Effekt der Kombination von mesenchymalen Stammzellen mit bovinem Knochenersatzmaterial nachgewiesen werden (Fuerst

et al. 2004). In einer gleichen Arbeit an 12 Patienten bestätigte Fürst 2009 die Ergebnisse auch am Menschen (Fuerst et al. 2009). Die Nachteile der klassischen „in vitro tissue enegineering“ Verfahren liegen in der Notwendigkeit eines präoperativen Eingriffs zur Gewinnung des Zellmaterials und im hohen Zeit- und Kostenaufwand. Daher haben sie sich bislang in der klinischen Anwendung nicht durchgesetzt und es wurden sogenannte „chair side“ Verfahren entwickelt (Wongchuensoontorn et al. 2009; Sebastian Sauerbier, Andres Stricker, et al. 2010). Dieses Verfahren ermöglicht die Gewinnung und Augmentation von Stammzellen in einer Sitzung. Die Grundlage dazu waren mehrere Arbeiten, die zeigten dass im Knochenmarksaspirat das mittels einer Punktion aus dem Beckenkamm des Patienten gewonnen wurde, genügend Stammzellen enthalten sind um eine Knochenregeneration zu gewährleisten.

Gangji setzte 2004 erfolgreich autologes Knochenmarksaspirat zur Behandlung von Hüftkopfnekrosen ein und er erreichte einen Rückgang des nekrotischen Volumens und der Schmerzen (Gangji et al. 2004). Ähnliche Ergebnisse fanden Hernigou 2002 bei seinem Therapieversuch von 189 Hüftkopfnekrosen (P. Hernigou & Beaujean 2002), Sauerbier bei Sinuslifts an Schafen (Sebastian Sauerbier, Kerstin Stubbe, et al. 2010) und Soltan bei der Verwendung von allogenen Knochenblocks mit Knochenmarksaspiraten zur Korrektur von knöchernen Defekten an Maxilla und Mandibula (Soltan et al. 2007). Bei all diesen Arbeiten wurde ein Knochenmarkskonzentrat verwendet, das mit dem BMAC® (Bone Marrow Aspirate Concentrate) Verfahren hergestellt wurde. Hermann wies nach, dass das mit dem Harvest BMAC® Verfahren hergestellte Knochenmarkskonzentrat seine funktionelle Aktivität behält (Hermann et al. 2008). Es handelt sich dabei um ein zeit- und kostengünstiges Verfahren zur Gewinnung einer hohen Zellanzahl bei geringem Aspirationsvolumen. Eindeutige Vorteile der Methode sind die in lokaler Anästhesie durchführbare minimalinvasive Punktion, die geringere Morbidität der Patienten, die schnellere initiale Knocheneubildung im Gegensatz zur Verwendung von reinem Knochenersatzmaterial. Dieses Verfahren ist für alle Patienten geeignet, bei denen keine Kontraindikationen für chirurgische Eingriffe bestehen. Trotzdem ist eine Beckenkammbiopsie ein nicht zu unterschätzender Eingriff.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Aspirat aus dem Tibiakopf in lokaler Anästhesie entnommen. Die Methode dazu entwickelte sich an der Abteilung für

orale Chirurgie der Medizinischen Universität Graz (N Jakse et al. 2001). Neben der geringeren Belastung für den Patienten ist die Morbidität deutlich niedriger gegenüber anderen Verfahren (Kirmeier et al. 2007). Es wurde die Punktion bei allen sechs Patienten komplikationslos durchgeführt. Im Mittel wurden acht Milliliter Knochenmarkspunktat dem Bioersatz beigemischt und augmentiert. Wie weiter oben schon berichtet zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Testseite mit Knochenmarksaspirat und der Kontrollseite mit Bioersatz alleine. Warum eine verbesserte Knochenregeneration auf der Testseite mit zusätzlich eingebrachten Knochenmarkspunktat im Gegensatz zu den zitierten Arbeiten ausblieb, liegt vielleicht in der augmentierten Menge des Knochenmarksaspirats. Bei dieser Arbeit wurden im Mittel 8,1 ml Aspirat augmentiert. Bei den Studien mit Knochenmarkskonzentrat wurden 60 ml Aspirat aus dem Beckenkamm gewonnen und konzentriert. In einem Milliliter appliziertem Konzentrat ist damit ein Vielfaches an mesenchymalen Stammzellen gegenüber dem Tibia Aspirat enthalten. Hernigou zeigte in zwei Arbeiten, dass der Erfolg der Knochenregeneration von der Anzahl und Vitalität der eingebrachten Stammzellen abhängt (P. Hernigou & Beaujean 2002; P. Hernigou et al. 2005). Suzuki verglich in einer Arbeit von 2001 bei 23 Patienten mit rheumatoider Arthritis die Anzahl und die Vitalität von mesenchymalen Stammzellen zwischen Knochenmarksbiopsien vom Tibiakopf und vom Beckenkamm. Die durchschnittliche Anzahl von mesenchymalen Stammzellen aus dem Knochenmarkaspirat der Tibia war signifikant geringer als aus dem Beckenkamm. Auch die Alkalische Phosphatase Aktivität als Mass für die Vitalität der Stammzellen war im Knochenmark der Tibia signifikant geringer (Suzuki et al. 2001). Zu denselben Ergebnissen kam Myun-Whan beim Vergleich von Knochenmarksaspiraten aus dem Tibiakopf und dem Beckenkamm. Im Aspirat der Tibia waren signifikant weniger mesenchymale Stammzellen als im Aspirat des Beckenkamms enthalten. Beim Versuch die Zellen zu kultivieren waren alle Proben aus dem Beckenkamm erfolgreich wogegen die Proben aus der Tibia alle erfolglos waren (Myun-Whan et al. 2007).

Es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten zu klären, ob ein konzentriertes Aspirat aus dem Tibiakopf ähnliche osteoinduktive Potenz entfalten kann, wie ein Knochenmarkskonzentrat aus dem Beckenkamm. In Zukunft werden „chair side“ Verfahren mit ihren Vorteilen eventuell routinemäßig Anwendung finden, wodurch

invasive Eingriffe zur Knochen- und Zellgewinnung mit ihren Komplikationen seltener werden könnten.

5 Literaturverzeichnis

- Aghaloo, T.L. & Moy, P.K., 2007. Which Hard Tissue Augmentation Techniques Are the Most Successful in Furnishing Bony Support for Implant Placement ? *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 22(0), pp.49-73.
- Akintoye, S.O. et al., 2006. Skeletal site-specific characterization of orofacial and iliac crest human bone marrow stromal cells in same individuals. *Bone*, 38(6), pp.758-68. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16403496>.
- Al Ruhaimi, K. a, 2001. Bone graft substitutes: a comparative qualitative histologic review of current osteoconductive grafting materials. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 16(1), pp.105-14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11280355>.
- Axelrad, T.W., Kakar, S. & Einhorn, T. a, 2007. New technologies for the enhancement of skeletal repair. *Injury*, 38 Suppl 1, pp.S49-62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17383486>.
- Barone, A. & Covani, U., 2007. Maxillary alveolar ridge reconstruction with nonvascularized autogenous block bone: clinical results. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 65(10), pp.2039-46. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17884536>.
- Bergh, J.P. van den et al., 2000. Anatomical aspects of sinus floor elevations. *Clinical oral implants research*, 11(3), pp.256-65. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11168217>.
- Blanton, P.L. & Biggs, N.L., 1969. Eighteen hundred years of controversy: the paranasal sinuses. *The American journal of anatomy*, 124(2), pp.135-47. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4886838>.
- Boyne PJ, J.R., 1980. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *Journal of Oral Surgery*, 38(8), pp.613-616.
- Boyne, P., Marx & Nevins, Triplett, Lazaro, Lilly, Alder, Nummikoski, 1997. A Feasibility Study Evaluating rhBMP-2/Absorbable Collagen Sponge for Maxillary Sinus Floor Augmentation. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, 17(1), pp.11-25.

- Browaeys, H., Bouvry, P. & De Bruyn, H., 2007. A literature review on biomaterials in sinus augmentation procedures. *Clinical implant dentistry and related research*, 9(3), pp.166-77. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17716261>.
- Bruder, S.P. et al., 1998. The Effect of Implants Loaded with Autologous Mesenchymal Stem Cells on the Healing of Canine Segmental Bone Defects The Effect of Implants Loaded with Autologous Mesenchymal Stem Cells on the Healing of Canine Segmental Bone Defects *. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 80, pp.985-996.
- Bruggenkate, C.M. ten et al., 1998. Short (6-mm) nonsubmerged dental implants: results of a Multicenter clinical trial of 1 to 7 years. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 13(6), pp.791-8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9857589>.
- Burchardt, H., 1983. The biology of bone graft repair. *Clinical orthopaedics and related research*, (174), pp.28-42. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6339139>.
- Caplan, A.I., 2007. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *Journal of cellular physiology*, 213(2), p.341–347. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.21200/full>.
- Caplan, A., 1990. Cell delivery and tissue regeneration. *Journal of Controlled Release*, 11(1-3), pp.157-165. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/016836599090129H>.
- Chanavaz, M., 1990. Maxillary sinus: anatomy, physiology, surgery, and bone grafting related to implantology—eleven years of surgical experience (1979-1990). *The Journal of oral implantology*, 16(3), p.199. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2098563>.
- Crespi, R. et al., 2007. Calvarial versus iliac crest for autologous bone graft material for a sinus lift procedure: a histomorphometric study. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 22(4), pp.527-32. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17929512>.
- Donath, K., 1988. Die Trenn-Dünnschliff-Technik zur Herstellung histologischer Präparate von nicht schneidbaren Geweben und Materialien. *Der Präparator*, 34, pp.197-206.

- Döri, F. et al., 2007. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intra-bony defects treated with a natural bone mineral and a collagen membrane. *Journal of clinical periodontology*, 34(3), pp.254-61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17257158>.
- Erkut, S. & Uckan, S., 2006. Alveolar distraction osteogenesis and implant placement in a severely resorbed maxilla: A clinical report. *The Journal of prosthetic dentistry*, 95(5), p.340–343. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022391306001818>.
- Esposito, M. et al., 2006. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: a Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 21(5), pp.696-710. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17066630>.
- Fallschüssel, G., 1986. Untersuchungen zur Anatomie des zahnlosen Oberkiefers. *Zeitschrift für Zahnärztliche Implantologie*, 2, p.64–72. Available at: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Untersuchungen+zur+Anatomie+des+zahnlosen+Oberkiefers.#0>.
- Fehrer, C. et al., 2007. Reduced oxygen tension attenuates differentiation capacity of human mesenchymal stem cells and prolongs their lifespan. *Aging cell*, 6(6), pp.745-57. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17925003>.
- Ferreira, C.E. a et al., 2009. A clinical study of 406 sinus augmentations with 100% anorganic bovine bone. *Journal of periodontology*, 80(12), pp.1920-7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19961375>.
- Fuerst, G. et al., 2009. Are culture-expanded autogenous bone cells a clinically reliable option for sinus grafting? *Clinical oral implants research*, 20(2), pp.135-9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19077153>.
- Fuerst, G. et al., 2004. Bone formation following sinus grafting with autogenous bone-derived cells and bovine bone mineral in minipigs: preliminary findings. *Clinical oral implants research*, 15(6), pp.733-40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15533135>.
- Fürst, G. et al., 2003. Sinus grafting with autogenous platelet-rich plasma and bovine hydroxyapatite. A histomorphometric study in minipigs. *Clinical oral implants research*, 14(4), pp.500-8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12869013>.

- Gangji, V. et al., 2004. Treatment of Osteonecrosis of the Femoral Head with Implantation of Autologous Bone Marrow. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 86(6), p.1153-1160. Available at: <http://www.ejbs.org/cgi/content/abstract/86/6/1153>.
- Geistlich Biomaterials, 2010. BioOss®, pp. <http://www.geistlich.de/?dom=1017&rub=2040>. Available at: <http://www.geistlich.de/?dom=1017&rub=2040>.
- Gerngross, H. et al., 1982. Komplikationen an der Entnahmestelle autologer Spongiosatransplantate. *Aktuelle Traumatologie*, 3, p.146. Available at: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Komplikationen+an+der+Entnahmestelle+autologer+Spongiosatransplantate#0>.
- Groeneveld, E.H. & Burger, E.H., 2000. Bone morphogenetic proteins in human bone regeneration. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, 142(1), pp.9-21. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10633215>.
- Gronthos, S. et al., 2002. Stem Cell Properties of Human Dental Pulp Stem Cells. *Journal of Dental Research*, 81(8), pp.531-535. Available at: <http://jdr.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/154405910208100806>.
- Haas, R, Donath, K. & Födinger, M., G, 1998. Bovine hydroxyapatite for maxillary sinus grafting: comparative histomorphometric findings in sheep. *Clinical Oral Implants*, 9, pp.107-116. Available at: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/119126051/abstract>.
- Haniffa, M. a et al., 2009. Mesenchymal stem cells: the fibroblasts' new clothes? *Haematologica*, 94(2), pp.258-63. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2635401&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>.
- Hermann, P.C. et al., 2008. Concentration of bone marrow total nucleated cells by a point-of-care device provides a high yield and preserves their functional activity. *Cell transplantation*, 16(10), pp.1059-69. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18351022>.
- Hernigou, P. & Beaujean, F., 2002. Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 405, pp.14-23. Available at:

- http://journals.lww.com/corr/Abstract/2002/12000/Treatment_of_Osteonecrosis_With_Autologous_Bone.3.aspx.
- Hernigou, P. et al., 2005. Percutaneous Autologous Bone-Marrow Grafting for Nonunions: Influence of Number and Concentration of Progenitor Cells. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 87(7), p.1430. Available at: <http://www.ejbs.org/cgi/content/abstract/87/7/1430>.
- Hoexter, D.L., 2002. Bone regeneration graft materials. *Journal of Oral Implantology*, 28(6), p.290–294. Available at: [http://www.joionline.org.pinnacle.allenpress.com/doi/pdf/10.1563/1548-1336\(2002\)028%3C0290%3ABRGM%3E2.3.CO%3B2](http://www.joionline.org.pinnacle.allenpress.com/doi/pdf/10.1563/1548-1336(2002)028%3C0290%3ABRGM%3E2.3.CO%3B2).
- Horch, H., 2003. *Zahnärztliche Chirurgie*, München, Jena: Urban & Fischer Verlag, München, Jena.
- Hujoel, P. & Loesche, W., 1990. Efficiency of split-mouth designs. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 17(10), p.722–728. Available at: <http://deepblue.lib.umich.edu/handle/2027.42/71402>.
- Hämmerle, C.H.F. et al., 2008. Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: a report of twelve consecutive cases. *Clinical oral implants research*, 19(1), pp.19-25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17956571>.
- Jakse, N et al., 2001. A modified technique of harvesting tibial cancellous bone and its use for sinus grafting. *Clinical oral implants research*, 12(5), pp.488-94. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11564109>.
- Jakse, Norbert et al., 2003a. Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep. *Clinical oral implants research*, 14(5), pp.578-83. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12969361>.
- Jakse, Norbert et al., 2003b. Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep. *Clinical oral implants research*, 14(5), pp.578-83. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12969361>.
- Jensen, O.T. et al., 1998. Report of the Sinus Consensus Conference of 1996. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 13 Suppl, pp.11-45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9715571>.
- Junqueira, L. & Carneiro, J., 2005. *Histologie* 6th ed. M. Gratzl, ed., Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.

- Jäger, M. et al., 2010. Bridging the gap: Bone marrow aspiration concentrate reduces autologous bone grafting in osseous defects. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, pp.1-8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20740672>.
- Kaufman, E., 2003. Maxillary sinus elevation surgery: an overview. *Journal of esthetic and restorative dentistry : official publication of the American Academy of Esthetic Dentistry ... [et al.]*, 15(5), pp.272-82; discussion 283. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14620658>.
- Kirmeier, R. et al., 2007. Harvesting of cancellous bone from the proximal tibia under local anesthesia: donor site morbidity and patient experience. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 65(11), pp.2235-41. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17954319>.
- Koeck, B. Wagner, W., 2004. *Implantologie*, Urban & Fischer Verlag, München, Jena.
- Kübler, N.R., 1997. Osteoinduktion und -reparation (Osteoinduction and bone restoration). *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*, 1(1), pp.2-25.
- Laino, G. et al., 2006. An approachable human adult stem cell source for hard-tissue engineering. *Journal of cellular physiology*, 206(3), pp.693-701. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16222704>.
- Marchetti, C. et al., 2007. Alveolar distraction osteogenesis for bone augmentation of severely atrophic ridges in 10 consecutive cases: a histologic and histomorphometric study. *Journal of periodontology*, 78(2), pp.360-6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17274727>.
- McAllister, B.S., Haghghat, K. & Gonshor, A., 2009. Histologic evaluation of a stem cell-based sinus-augmentation procedure. *Journal of periodontology*, 80(4), pp.679-86. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19335089>.
- Meijer, G.J. et al., 2007. Cell-based bone tissue engineering. *PLoS medicine*, 4(2), p.e9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17311467>.
- Meyer, U. et al., 2006. Cell-based bone reconstruction therapies-principles of clinical approaches. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 21(6), pp.899-906. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17190299>.

- Mordenfeld, A. et al., 2010. Histological and histomorphometrical analyses of biopsies harvested 11 years after maxillary sinus floor augmentation with deproteinized bovine and autogenous bone. *Clinical oral implants research*, pp.961-970. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20497443>.
- Muschler, G.F. & Midura, R.J., 2002. Connective tissue progenitors: practical concepts for clinical applications. *Clinical orthopaedics and related research*, (395), pp.66-80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11937867>.
- Myun-Whan, A. et al., 2007. Effect of Bone Marrow Cell Collection Techniques and Donor Site Locations on In-vitro Growth of Bone Forming Cells. In *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2006*. Springer, p. 3295–3298. Available at: <http://www.springerlink.com/index/M283P2V0244756MW.pdf>.
- Nöller, H.-G., 1957. Eine einfache Methode der intravitale Knochenmarkpunktion bei der Ratte. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 264(6), pp.651-653. Available at: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:No+Title+Avail#0>.
- Pittenger, M.F., 1999. Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells. *Science*, 284(5411), pp.143-147. Available at: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.284.5411.143>.
- Pjetursson, B.E. et al., 2008. A systematic review of the success of sinus floor elevation and survival of implants inserted in combination with sinus floor elevation. *Journal of clinical periodontology*, 35(8 Suppl), pp.216-40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18724852>.
- Raghoobar, G. et al., 1993. Augmentation of the maxillary sinus floor with autogenous bone for the placement of endosseous implants: a preliminary report. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 51(11), p.1198–1203. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278239110802885>.
- Sauerbier, S. et al., 2009. In Vivo Comparison of Hard Tissue Regeneration with Human Mesenchymal Stem Cells Processed with Either the FICOLL Method or the BMAC Method. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 16(2), p.215–223. Available at: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/ten.tec.2009.0269>.
- Sauerbier, Sebastian et al., 2010. In Vivo Comparison of Hard Tissue Regeneration with Human Mesenchymal Stem Cells Processed with Either

- the FICOLL Method or the BMAC Method. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 16(2), pp.215-223.
- Sauerbier, Sebastian et al., 2010. Mesenchymal stem cells and bovine bone mineral in sinus lift procedures--an experimental study in sheep. *Tissue engineering. Part C, Methods*, 16(5), pp.1033-9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20050809>.
- Schimming, R., 2004. Tissue-engineered bone for maxillary sinus augmentation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62(6), pp.724-729. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278239104001454>.
- Schmelzeisen, R, 2003. Making bone: implant insertion into tissue-engineered bone for maxillary sinus floor augmentation—a preliminary report. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 31(1), pp.34-39. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010518202001634>.
- Schroll, K. & Watzek, G, 1997. Zahnärztliche Chirurgie Band 2. In Wien München Bern: Wilhelm Maudrich, Wien München Bern, pp. 272-292.
- Schwenzer, N Ehrenfeld, M., 2000. *Zahnärztliche Chirurgie Band 3*, Thieme, Berlin, Heidelberg.
- Simion, M. et al., 2007. Vertical ridge augmentation by expanded-polytetrafluoroethylene membrane and a combination of intraoral autogenous bone graft and deproteinized anorganic bovine bone (Bio Oss). *Clinical oral implants research*, 18(5), pp.620-9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17877463>.
- Solar, P. et al., 1999. Blood supply to the maxillary sinus relevant to sinus floor elevation procedures. *Clinical Oral Implants Research*, 10(1), p.34–44. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1600-0501.1999.100105.x/abstract>.
- Soltan, M. et al., 2007. Bone block allograft impregnated with bone marrow aspirate. *Implant dentistry*, 16(4), pp.329-39. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18091160>.
- Springer, I.N., Nocini, P.F., Schlegel, K.A., De Santis, D., Park, J., Warnke, P.H., Terheyden, H., Zimmermann, R., Chiarini, L., Gardner, K., Ferrari, F. & Wiltschko, J., 2006. Two techniques for the preparation of cell-scaffold constructs suitable for sinus augmentation: steps into clinical application. *Tissue Engineering*, 12, pp.2649-2656.

- Srouji, S. & Livne, E., 2005. Bone marrow stem cells and biological scaffold for bone repair in aging and disease. *Mechanisms of ageing and development*, 126(2), pp.281-7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15621208>.
- Suzuki, Y. et al., 2001. Stromal cell activity in bone marrow from the tibia and iliac crest of patients with rheumatoid arthritis. *Journal of bone and mineral metabolism*, 19(1), p.56–60. Available at: <http://www.springerlink.com/index/WFCE0GBJ1RQHVNWE.pdf>.
- Tatum, H., 1986. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dental clinics of North America*, 30(2), pp.207-29. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3516738>.
- Tatum, H.J., 1977. Sinus lift procedure. *The Journal of oral implantology*, p.Lecture presented to Alabama Implant Study Group,.
- Timmenga, N.M. et al., 2003. Maxillary sinus floor elevation surgery. A clinical, radiographic and endoscopic evaluation. *Clinical oral implants research*, 14(3), pp.322-8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12755782>.
- Underwood, A.S., 1910. An inquiry into the anatomy and pathology of the maxillary sinus. *Journal of Anatomy and Physiology*, 44, pp.354-369. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1289237/>.
- Watzek, G et al., 1998. Treatment of patients with extreme maxillary atrophy using sinus floor augmentation and implants: preliminary results. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 27(6), pp.428-34. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9869281>.
- Weibrich, G. et al., 2000. Bestimmung der Größe der spezifischen Oberfläche von Knochenersatzmaterialien mittels Gasadsorption. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*, 4(3), pp.148-152. Available at: <http://www.springerlink.com/openurl.asp?genre=article&id=doi:10.1007/s100060050187>.
- Wongchuensoontorn, C. et al., 2009. Application of a new chair-side method for the harvest of mesenchymal stem cells in a patient with nonunion of a fracture of the atrophic mandible--a case report. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 37(3), pp.155-61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19155179>.

- You, T.-M. et al., 2007. The effect of platelet-rich plasma on bone healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss: a pilot study in the dog tibia. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 103(4), pp.e8-12. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17275366>.
- Younger, E. M., C.M.W., 1989. Morbidity at bone graft donor sites. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 3(3), pp.192-195.
- Zizelmann, C. et al., 2007. Bone formation after sinus augmentation with engineered bone. *Clinical oral implants research*, 18(1), pp.69-73. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17224026>.

