

CharitéCentrum für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie

Charité Campus Virchow

Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie

Direktor: Univ. Prof. Dr. Dr. Bodo Hoffmeister

Habilitationsschrift

Knochenphysiologische Vorgänge bei der Defektheilung im Alveolarkamm

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Zahn,- Mund- und Kieferheilkunde

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
der Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. dent. Susanne Nahles geb. Heberer
geboren am 19.02.1975 in Merseburg

eingereicht im: April 2013

Dekanin: Prof. Dr. Annette Grütters-Kieslich

Gutachter:

1. Prof.Dr.Dr.H. Deppe/ TU München
2. Prof.Dr.Dr.A.Hemprich/ Universität Leipzig

1. Inhaltsverzeichnis

1. Inhaltsverzeichnis	2
2. Einleitung	4
2.1. Biologie des Knochens.....	5
2.2. Grundlagen der Knochenbildung	7
2.3. Molekularbiologische Grundlagen der osteoblastären Reifungslinie.....	10
2.4. Osteogenese der Defekt- oder Frakturheilung	12
3. Der Alveolarkamm	14
3.1. Dimensionsveränderungen des Alveolarkamms.....	14
3.2. Rekonstruktionsmöglichkeiten der Dimensionsveränderungen.....	15
3.3. Augmentative Verfahren	17
3.3.1. Allgemeiner Hintergrund	17
3.3.2. Humane Knochentransplantate.....	18
3.3.3. Synthetische und xenogene Knochenersatzmaterialien.....	19
3.3.4. Bio-Oss und Bio-Oss Collagen	20
4. Die Extraktionsalveole	21
4.1. Hintergrund	21
4.2. Heilungskaskaden der alveolären Heilung.....	21
4.3. Die augmentierte Extraktionsalveole.....	25
5. Zielstellung	30
6. Eigene Arbeiten	31
6.1. Vergleich der Knochenneuformationsrate von periostgedeckten oder membrangedeckten autologen Beckenkammtransplantaten bei extrem atrophierten Kiefern.....	31
6.2. Histomorphometrische Analyse der Knochenneuformationsrate von mit Bio-Oss Kollagen augmentierten Extraktionsalveolen nach sechswöchiger Einheilzeit.....	41
6.3. Bestimmung der Knochenneuformation in augmentierten und nicht augmentierten Extraktionsalveolen nach zwölfwöchiger Einheilzeit.....	50
6.4. Immunhistologische Analyse mesenchymaler Zellen der provisorischen Matrix von gefüllten und ungefüllten Extraktionsalveolen nach sechswöchiger Einheilzeit.....	59

6.5.	Knochenphysiologische Vorgänge in gefüllten und ungefüllten Extraktionsalveolen.....	69
7.	Diskussion.....	79
7.1.	Vergleich der Resorption- und Knochenneuformationsrate von periostgedeckten oder membrangedeckten autologen Beckenkammtransplantaten bei extrem atrophierten Kiefern.....	79
7.2.	Histomorphometrische Analyse der Knochenneuformationsrate von mit Bio-Oss augmentierten Extraktionsalveolen nach sechswöchiger Einheilzeit	83
7.3.	Bestimmung der Knochenneuformation in augmentierten und nicht augmentierten Extraktionsalveolen nach zwölfwöchiger Einheilzeit.....	86
7.4.	Immunhistologische Analyse mesenchymaler Zellen der provisorischen Matrix von gefüllten und ungefüllten Extraktionsalveolen nach sechswöchiger Einheilzeit.....	88
7.5.	Knochenphysiologische Vorgänge in gefüllten und ungefüllten Extraktionsalveolen.....	92
8.	Zusammenfassung	95
9.	Literatur	98
10.	Abkürzungsverzeichnis.....	112
11.	Danksagung	114
12.	Erklärung	115

2. Einleitung

Zahlreiche Langzeituntersuchungen belegen, dass sich dentale Implantate als sichere Methode zum Ersatz fehlender Zähne und als Basis für herausnehmbaren oder festsitzenden Zahnersatz durchgesetzt haben (Pikner et al. 2009, Mertens et al. 2012, Degidi et al. 2012). Eine besondere Herausforderung bei der Neuversorgung der betroffenen Patienten stellt dabei häufig die unterschiedlich ausgeprägte Atrophie der unbezahnten Kieferregionen dar. Aufgrund resorptiver Vorgänge nach Zahnverlust, Traumata, pathologischen Prozessen oder nach therapiebedingten radikalchirurgischen Maßnahmen bei Tumorgeschehen (Cheung et al. 2011) resultieren Formveränderungen des Knochens und damit Beeinträchtigungen in funktioneller und ästhetischer Sicht (Cheung et al. 2011). Da das knöchernen Lager die umliegenden Strukturen wie die Gingiva propria mit den supra- und intraalveolären Faserapparaten, das Muskelgewebe und intraorale Weichgewebe als Stützgewebe nachhaltig beeinflusst, bedarf es im Idealfall der vollständigen anatomischen und strukturellen Rekonstruktion der Knochenarchitektur (Artzi et al. 1993). Insbesondere in Vorbereitung prothetischer und implantologischer Therapieansätze ist es entscheidend, die horizontalen und vertikalen Dimensionen des Alveolarkamms wiederherzustellen, um dentalen Implantaten ein ausreichendes Knochenvolumen und damit stabile Langzeitprognosen zu gewährleisten (Zambon et al. 2011, Dym et al. 2012).

Die Regeneration von knöchernen Defekten bedingt einen hochkomplexen Reparaturprozess, der je nach Größe des Defektes der Selbstheilung unterliegt oder durch augmentative Verfahren unterstützt werden muss (Shirota et al. 1991, Wheeler et al. 1996).

2.1. Biologie des Knochens

Knochengewebe ist eine spezielle Form von Bindegewebe und setzt sich zusammen aus einer anorganisch mineralischen und einer organischen Phase. Der Hauptanteil der anorganischen Matrix besteht aus fast 90% Hydroxylapatit, weitere Anteile sind Kalziumphosphat und Karbonatapatit (Bonjour 2011). Innerhalb der organischen Matrix findet man größtenteils Kollagen Typ I (95 %), sowie weitere Proteine und Fette. Makroskopisch unterscheidet man zwei Strukturen des Knochens, die grenzenlos ineinander übergehen. Zunächst die **substantia compacta (syn. corticalis)** als kompakte periostbedeckte Knochenschicht mit konzentrisch angeordneten Lamellen (Osteone) und Havers'schen Kanälen (Welsch 2003) und die darunter liegende **substantia spongiosa**, welche durch flächig schwammartig angeordnete Trabekel gekennzeichnet ist (Welsch 2003). Die Anordnung dieser Trabekel erfolgt immer parallel in Richtung der größten Druck- und Biegebeanspruchung (Welsch 2003). Strukturell lassen sich verschiedene Zellarten des Knochens unterscheiden.

Osteoprogenitorzellen differenzieren sich aus pluripotenten Mesenchymzellen und sind teilungsaktive Vorläufer der Osteoblasten. Sie sind gekennzeichnet durch ein abgeflachtes Zytoplasma mit ovalem bis länglichem Kern. Zu finden sind diese meist im Endost oder Periost bzw. in der Kambiumschicht der Knochenhaut (Liebich 2004).

Osteoblasten sind spezialisierte nicht mehr teilungsfähige basophile Knochenzellen, die sich aus undifferenzierten Mesenchymzellen entwickeln und große Anteile der organischen Knochenmatrix synthetisieren. Dazu gehören Typ-I Kollagenfasern zu einem Prozentsatz von ca. 90 - 95 % und eine Grundsubstanz reich an Glykosamino- und Proteoglykanen mit einem Anteil von 5 - 10 % (Chondroitin-6 Sulfat, Chondroitin-

4 Sulfat, Keratansulfat) (Boskey et al. 1984). Sie besitzen im aktiven Zustand eine kubische Form mit einem runden Zellkern, sind etwa 22 - 30 μm groß und befinden sich auf endostealen oder periostalen Knochenoberflächen (Liebich 2004). Mit der Verringerung der Stoffwechselaktivität flachen die Zellen ab und entwickeln eine spindelige Form.

Die sogenannten **bone-lining cells** sind ruhende, flache, inaktive Osteoblasten, kommunizieren untereinander durch gap - junctions und können durch osteoinduktive Signale reaktiviert werden (Miller & Jee 1987, Chow et al. 1998, Eriksen 2010). Studien haben gezeigt, dass diese auf der Knochenoberfläche zu findenden Zellen positiv für alkalische Phosphatase und ICAM-1 (inzelluläres Adhäsionsmolekül 1) sind (Everts et al. 2002). Gleichzeitig wird diesen Zellen eine entscheidende Rolle beim Knochenremodelling zugesprochen. So wurde gezeigt, dass unter dem Einfluss von speziellen Enzymen (Matrix-Metalloproteasen) durch Verstoffwechslung von nichtmineralisiertem Kollagen der Knochenoberfläche die Knochenresorption eingeleitet wird und sie in den Resorptionslakunen nach Osteoklastentätigkeit die verbliebenen Kollagenanteile abbauen (Everts et al. 2002).

Osteozyten gehen aus Osteoblasten hervor, besitzen dendritische Ausläufer mit Mechanorezeptoren und haben einen großen, meist ovalen Kern. Sie sind an der Regulation des Phosphatmetabolismus beteiligt und sezernieren FGF-23 (fibroblast growth factor) (Bonewald 2011). Von verkalkter Knochensubstanz umgeben, liegen sie abgeflacht zwischen lamellären Knochenschichten (Liebich 2004).

Osteoklasten sind amöboid bewegliche mehrkernige große Zellen (20-100 μm), die aus hämatopoetischen Vorzellen des Knochenmarks entstehen (Schell et al. 2006). Lokalisiert sind sie an Knochenoberflächen, wo sie Reaktionszonen bilden, die sogenannten Howshipschen Lakunen, die Ausdruck des Abbaus interzellulärer

Knochensubstanz durch proteolytische Enzymaktivität sind (Schell et al. 2006). Osteoklasten besitzen eine dem Knochen aufliegende Vorderseite, die einen Faltsaum bildet (ruffled border), dort findet die rezeptorvermittelte Sekretion und Enzymaktivität statt (ATPase, TPPase, Zytochromoxidase etc.) (Liebich 2004). Neben lokalen parakrinen und autokrinen Faktoren wird die Osteoklastenaktivität durch Calcitonin und 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol (Vit. D₃) gehemmt, sowie durch Parathormon gefördert (Liebich 2004).

Auf- und Abbauvorgänge des Knochens (modelling/remodelling) werden durch das ausgeglichene Zusammenspiel von Osteoblasten- und Osteoklastenaktivität und durch physiologisch auf den Knochen einwirkende Kräfte beeinflusst (Frost 1994). Bei fehlenden Belastungsmomenten als mechanischer Reiz resultiert eine Verschiebung hinsichtlich erhöhter Osteoklastenaktivität, was mit einer vermehrten Resorption des Knochens verbunden ist und damit zu einer kontinuierlichen Volumenreduktion des Knochens führt. Dieser Prozess wurde als Gesetz der Transformation des Knochens vom Berliner Anatom und Chirurg Julius Wolff 1892 postuliert und hat bis heute Gültigkeit.

2.2. Grundlagen der Knochenbildung

Die Knochenbildung kann nach verschiedenen Mechanismen erfolgen:

1. desmale Ossifikation (direkte Ossifikation, osteogenesis membranacea)
2. chondrale Ossifikation (indirekte Ossifikation, osteogenesis cartilaginea)

Die Entstehung von desmalem Knochen ist gekennzeichnet durch die Proliferation von mesenchymalen Zellen über teilungsaktive Vorläuferzellen direkt zu

Osteoblasten (Franz-Odendaal 2011). Sie geht von sogenannten primären Ossifikationszentren des embryonalen Bindegewebes aus. Mesenchymale Bindegewebszellen immigrieren in den Defekt über die vaskulären Strukturen, lösen die Synthese der Knochenmatrix aus und differenzieren entlang der osteogenen Zellkaskade von Osteoprogenitorzellen zu stoffwechselaktiven Osteoblasten (Zomorodian et al. 2012). Diese exprimieren Hydroxylapatitkristalle und sind zuständig für die Bildung von Osteoiden, für die Synthese von Kollagen und die Steuerung der Mineralisation (Gawlitta et al. 2010). Die extrazellulär gebildeten Kollagenfasern werden in die Osteoide mit eingeschlossen und es entstehen Ossifikationskerne. Durch Verschmelzung der Ossifikationszentren entwickeln sich Knochenbälkchen, die untereinander verbunden sind und ein Gerüstwerk ausbilden. Für die desmale Knochenentwicklung ist ein mechanisch stabiles Vaskularisationsnetz essentiell (Claes et al. 2002, Bishoff et al. 2008). Es entsteht der Geflechtknochen, der mikroskopisch eine ungeordnete lamelläre Struktur von Kollagenfasern und Blutgefäßen sowie einen geringeren Grad der Mineralisierung aufweist. Diese Art der Knochenbildung ist vornehmlich im Bereich des Schädeldaches, um die Strukturen des Innenohrs, der Mandibula, der Maxilla und bei Teilen der Clavicula zu finden (Amir et al. 2006).

Im Gegensatz zur desmalen Ossifikation wird Knochengewebe bei der chondralen Ossifikation durch Mineralisation der Knorpelmatrix gebildet (Ignatius et al. 2011, Grimes et al. 2011). Dabei wird zusätzlich in die parallel ablaufenden Formen der perichondralen und enchondralen Ossifikation unterschieden. Die Knochenbildung bei der **perichondralen Form** beginnt von außen in der Diaphyse von langen Röhrenknochen und dehnt sich in Richtung der Epiphysen aus. Es entsteht eine Knochenmanschette, die die hypoxische Knorpelmatrix umschließt

und die Knorpelumwandlung durch Einsprießen von Gefäßen und begleitende Mesenchymzellen im Inneren des Knochens induziert. Das Perichondrium wird später zum Periost des Knochens. Bei der **enchondralen Ossifikation** wird die Knorpelmatrix vom Inneren her umgewandelt. Diese Form der Ossifikation spielt eine Rolle bei der Entstehung der substantia spongiosa im Inneren aller Röhrenknochen und der kurzen Knochen. Chondroblasten bilden den Faserknorpel. Sie produzieren Kollagen II und differenzieren zu Chondrozyten. Nach deren Zugrundegehen setzen sie Kalzium frei, welches die Kalzifizierung des Knorpels induziert. Aus den einsprießenden Mesenchymzellen des periostalen Bindegewebes differenzieren Blutzellen des Knochenmarks und Chondroklasten, die den Abbau des verkalkten Knorpelgewebes in der Resorptionszone bedingen. Des Weiteren entstehen Osteoblasten entlang der osteoblastären Entwicklungslinie, die in der Verknöcherungszone Osteoide bilden (Gawlitta et al. 2010). Man spricht von einem primären Ossifikationszentrum im Bereich des Knochenschaftes und einem sekundären Ossifikationszentrum im Bereich der Epiphysen (Yasui et al. 1997, Ignatius et al. 2011, Grimes et al. 2011).

Im Rahmen der enchondralen Knochenbildung gibt es eine weitere Form der Ossifikation. Die transchondroide Form bedeutet, dass ein Teil der Chondrozyten während der enchondralen Ossifikation nicht in den Lakunen zugrunde gehen und kalzifizieren, sondern eine Metaplasie zu osteogenen Zellen durchlaufen. Dabei synthetisieren sie Kollagen Typ I und bilden direkt neuen Knochen (Yasui et al. 1997, Furuta et al. 2007). Die Ursachen dieses Phänomens sind bis dato ungeklärt.

2.3. Molekularbiologische Grundlagen der osteoblastären Reifungslinie

Die Knochenneubildung erfolgt durch Differenzierungs- und Proliferationsmechanismen von osteogenen Zellen aus mesenchymalen Zellen innerhalb eines mesengenetischen Prozesses. Entscheidend ist die Erkenntnis, dass adulte humane mesenchymale Stammzellen pluripotente Zellen sind und zeitlebens zur Regeneration verschiedener mesenchymaler Gewebearten (Osteoblasten, Adipoblasten, Fibroblasten) dienen (Bruder et al. 1994). Der Begriff Stammzelle wurde Anfang des 20. Jahrhunderts von dem russischen Hämatologen Alexander A. Maximov geprägt. Er beschreibt erstmalig die Eigenschaft dieser Zellen zur Selbstreplikation auch über lange Ruhephasen hinweg und die Fähigkeit der Differenzierbarkeit in spezifische Gewebe. Hauptverantwortlich dafür sind Transkriptionsfaktoren, die die zeitlich anhängige Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen zu Osteozyten induzieren (Aubin et al. 1995, Franceschi et al. 2007). Dabei spielen zum einen BMP's (bone morphogenetic proteins) aus der Gruppe der Zytokine der TGF β Familie (transforming growth factor- β family) und auch sogenannte klassische osteoblastäre Marker wie beispielsweise Cbfa1, Osteonectin und Osteocalcin eine entscheidende Rolle (Aubin et al. 1995, Bruder et al. 1997).

Der Transkriptionsfaktor Cbfa1 (Core-binding-factor-alpha 1), auch bezeichnet als Runx2, AML3 oder PEBP2alphaA ist Mitglied der Runt-Domain Familie und wurde in den 90er Jahren erstmalig beschrieben (Ducy et al. 1997). Es handelt sich dabei um ein heterodimeres Protein, welche aus zwei verschiedenen Untereinheiten α (DNS-bindend) und β (nicht DNS-bindend) besteht. Die Alpha Untereinheit enthält eine Region, die als Runt domain bezeichnet wird und für die DNS Bindung und damit für die Transkriptionsaktivität essentiell ist (Otto et al. 1997). Es konnte gezeigt

werden, dass diesem Faktor eine zentrale Bedeutung hinsichtlich der Steuerung der Osteogenese zukommt (Ducy et al. 1997, Kim et al. 1999, Komori & Kishimoto 1998). Nach der stattgefundenen Determinierung der osteogenen Differenzierungslinie ist der Transkriptionsfaktor Cbfa1/Runx2 schon sehr früh in den mesenchymalen Zellen nachweisbar (Ducy et al. 1997). Komori et al. (2008) beschrieben zudem, dass dem Faktor die Expression von knochenzelltypischen Proteinen und Aktivierung der Promotoren bei der Differenzierung von Osteoblasten obliegt (Komori et al. 2008).

Osteonectin (SPARC, BM-40) ist ein extrazelluläres Matrixprotein, welches Kalzium und interstitielles Kollagen binden kann (Alford & Hankenson 2006, Swärd et al. 2012). Es wird entlang der osteoblastären Reifungslinie in Osteoprogenitorzellen, Präosteoblasten und Osteoblasten exprimiert, allerdings ist es auch in anderen Zelltypen wie in Fibroblasten, Endothelzellen und Chondrozyten nachweisbar (Reed & Sage 1996).

Osteocalcin, ein extracelluläres Ca^{2+} -haltiges Matrixprotein wird nur von aktiven Osteoblasten sezerniert und gilt als Marker der späten Knochenbildung. Dieses Protein steht direkt mit der Knochenmineralisation in Verbindung (Boskey et al. 1998, Lian et al. 1998), ist Vitamin K abhängig und wird durch 1,25(OH)VitD3 stimuliert.

Anhand der Abbildung 1 wird der Differenzierungsweg osteogener Zellen und der zeitliche Ablauf der Expression der beschriebenen Antikörper dargestellt.

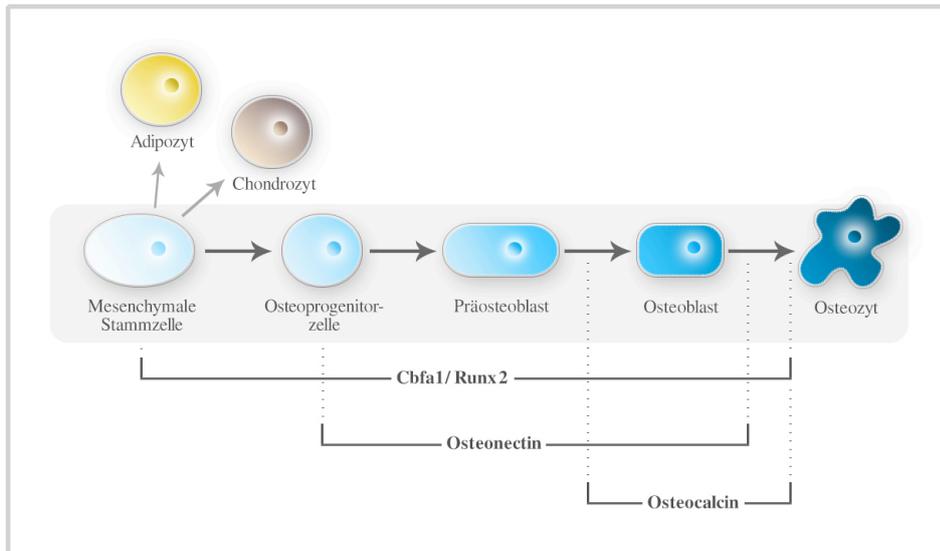


Abb.1 Osteogener Differenzierungsweg von der mesenchymalen Stammzelle zum Osteozyt

2.4. Osteogenese der Defekt- oder Frakturheilung

Eine spezielle Eigenschaft des Knochens ist die Regenerationsfähigkeit ohne Narbenbildung. Es kommt zu einer vollständigen Wiederherstellung in Struktur und Funktion, der Restitutio ad integrum (Cornell & Lane 1992). Die Defektheilung ist charakterisiert durch nebeneinander ablaufende Knochenaufbau- und abbauvorgänge (Einhorn 1998, Cho et al. 2002, Byrne et al. 2011). In Abhängigkeit der Größe des Defektes unterscheidet man bei jeder knöchernen Struktur zwei Arten der Fraktur- bzw. Defektheilung:

Bei der **primären** Heilung sind die ausreichend vaskularisierten Defektenden in anatomischer Stellung ohne Dislokation fixiert (Marsell & Einhorn 2011). Innerhalb der primären Form unterscheidet man die Kontakt- von der Spaltheilung. Kontaktheilung bedeutet, dass die Knochenkontaktflächen fugenlos adaptiert sind. Ohne sichtbare Kallusbildung kommt es zur Knochenneubildung durch direkten lamellären Knochenanbau und intrakortikalen Umbau der Havers'schen Kanäle (Jahagirdar & Scammel 2009, Giannoudis et al. 2011). Bei der Spaltheilung

migrieren Mesenchymalzellen in den Frakturspalt mit sich anschließendem Einwachsen von Kapillaren aus Periosteum und Endosteum. Nach der Differenzierung der Mesenchymzellen in Osteoblasten bildet sich primär Geflechtknochen und sekundär Lamellenknochen in Richtung des Frakturspalt (Jahagirdar & Scammel 2008).

Bei der **sekundären** Frakturheilung kommt es aufgrund der Kontinuitätsunterbrechung (> 0,5 mm Frakturspalt) und Ruptur der umliegenden Gefäße zur Entwicklung eines Hämatoms, welches sich durch die beginnende Thrombozytenaggregation und Aktivierung der lokal wirkenden Gerinnungskaskade (van-Willebrand Faktor) zum Blutkoagulum stabilisiert. Die Ausschüttung von molekularen Mediatoren (‘platelet-derived-growth-factor’ - PDGF; ‘transforming-growth-factor- β ’ - TGF- β) induzieren die Migration von neutrophilen Granulozyten, Mastzellen, Makrophagen, Endothelzellen, Fibroblasten und anderen chemotaktisch wirkenden Faktoren (Fazzalari 2011). Gleichzeitig bewirken lokale Entzündungsmediatoren (Interleukin-1, Interleukin-6) die Aktivierung der proteolytischen Enzymkaskaden, gefolgt von Vasodilatation und überschießender Kapillareinsprossung (Remedios 1999). Es schließt sich die Granulationsphase an, in der es schrittweise zur Immigration mesenchymaler Zellen und Proliferation des fibroblastenreichen Granulationsgewebes kommt (Philip et al. 2005, Bielby et al. 2007). Die mesenchymalen Vorläuferzellen differenzieren sich entsprechend ihrer Entwicklungskaskade in Fibro-, Chondro- oder Osteoblasten und organisieren das Fibringerüst im Frakturspalt (Marsell & Einhorn 2011). In einem Zeitraum von zwei bis drei Wochen entsteht zunächst der weiche Kallus. Nach der Mineralisierung der Grundsubstanz folgt dann die Bildung

von Geflechtknochen. Durch die Interaktion von Osteoblasten und Osteoklasten wird der Geflechtknochen in lamellären Knochen umgebaut und damit eine vollständige Konsolidierung erreicht (Giannoudis et al. 2011).

Die Phasen der Defektheilung sind auf jeden knöchernen Bereich im menschlichen Skelett übertragbar, so auch auf die zahntragenden Strukturen des Gesichtsschädels. Gehen Zähne zu Verlust, sei es aus traumatischen, kariogenen oder entzündlichen Ursachen, entsteht unmittelbar danach mit der Extraktionsalveole ein Defektmodell, deren intraalveolären Heilungskaskaden in den nächsten Abschnitten detailliert beschrieben werden. Wissenschaftlichen Untersuchungen zufolge weiß man auch um unweigerlich auftretende Dimensionsveränderungen im Bereich des Alveolarkamms nach Zahnextraktion, die ein klinisches Problem in der prothetischen Rehabilitation der Kieferabschnitte darstellen (Schropp et al. 2003).

3. Der Alveolarkamm

3.1. Dimensionsveränderungen des Alveolarkamms

Postextraktionelle resorptive Veränderungen finden sowohl in horizontaler als auch in vertikaler Dimension statt (Carlsson et al. 1967, Pietrovsky & Massler 1967, Atwood & Coy 1971, Schropp et al. 2003, Tallgren 2003, Cardaropoli et al. 2003, Fickl et al. 2008b). Verursacht durch Zahnverlust kann sich die Gesamthöhe des Alveolarkamms nach 2 Jahren belastungsfreier Zeit um 60 % verringern (Cawood & Howell 1998). Die Dimensionsveränderungen laufen im Unter- und Oberkiefer unterschiedlich ab. Diese Veränderungen sind besonders ausgeprägt an den bukkalen Alveolenwänden und finden zu 50 % in den ersten drei Monaten statt

(Schropp et al. 2003). Tan und Mitarbeiter deklarieren einen horizontalen Alveolarkammverlust von 29 – 63 % und einen vertikalen Verlust von 11 - 22 % innerhalb der ersten drei bis sechs Monate (Tan et al. 2012). Die typische Kieferatrophy (zentripetal verlaufend in der Maxilla, zentrifugal verlaufend in der Mandibula) bei nicht vorhandenem Restzahnbestand führt dabei zu einer transversalen Verschiebung der mandibulomaxillären Beziehung (Heberer et al. 2008). Die Gründe der resorptiven Veränderungen sind bis dato noch unklar. Hauptanliegen rekonstruierender Augmentationsmaßnahmen ist dabei die Wiederherstellung einer ausreichenden knöchernen Situation, sowohl in horizontaler als auch vertikaler Dimension, um Verankerungselemente wie beispielsweise dentale Implantate prothetisch ideal positionieren zu können.

3.2. Rekonstruktionsmöglichkeiten der Dimensionsveränderungen

In Abhängigkeit der Größe des Defektes umfasst die Knochenregeneration des Alveolarkamms und präimplantologische Vorbereitung verschiedene Konzepte, wie beispielsweise An- und Auflagerungsplastiken (Onlay-Technik, Le-Fort-Osteotomie- Technik, Distractionsosteogenese), sowie die gesteuerte Geweberegeneration (GTR-Verfahren) und Knochenregeneration (GBR-Verfahren) mit gegebenenfalls notwendig werdenden Kombinationen der chirurgischen Maßnahmen. Bei der Onlay-Technik werden vorwiegend autologe Transplantate bei vertikalen, horizontalen oder kombiniert horizontalen/vertikalen Alveolarfortsatzdefekten verwendet. Einsatzgebiet der Le-Fort-Osteotomie oder Sandwichtechnik ist die Interposition von Transplantaten zum Ausgleich sagittaler Diskrepanzen zwischen Ober- und Unterkiefer. Distractionsosteogenesen als weiteres Verfahren werden bei entwicklungsbedingten Dysgnathien aber auch zur

Korrektur möglicher atrophischer Veränderungen eingesetzt. Das Prinzip ist die gesteuerte Osteogenese durch eingesetzte Distraktoren in Kombination mit einer Weichgewebsvermehrung der bedeckenden Mucosa in sagittaler oder/und vertikaler Richtung (Hidding et al. 2000).

Als eine weitere Möglichkeit der Knochenregeneration stehen GTR und GBR Verfahren zur Verfügung. Ursprünglich wurden GTR-Verfahren in der Parodontologie zur Regeneration des Zahnhalteapparates eingesetzt. Erst später erweiterte man die Indikationsstellung mit der Möglichkeit zur Regeneration von Knochendefekten (GBR-Verfahren) (Rose & Rosenberg 2001, Bremm et al. 2004). Das Konzept der gesteuerten Geweberegeneration beinhaltet die Applikation einer Membran, die eine physikalische Barriere zwischen Weichgewebe und Knochengewebe schafft und damit das Einwachsen schneller generierender Zelltypen des Weichgewebes in das Augmentat verhindert (Linde et al. 1993). Gleichzeitig wird dadurch das Blutkoagulum stabilisiert und der gewonnene Platz genutzt, um die Fähigkeit der Mineralisierung des mesenchymalen Gewebes zu unterstützen (Zellin et al. 1996). Die Barrierefunktion kann sowohl von nicht resorbierbaren als auch von resorbierbaren Membranen übernommen werden. Nicht resorbierbare Membranen vornehmlich bestehend aus Polytetrafluorethylen (e-PTFE-Teflon) wurden aufgrund der einfachen Applikationsmöglichkeit bevorzugt bei ausgedehnten Augmentationsmaßnahmen eingesetzt (Misch 1993). In den letzten 10 - 15 Jahren hingegen rückten immer mehr resorbierbare kollagene Membranen in den Vordergrund. Der Vorteil dieser Membranen ist die rückstandslose Verstoffwechslung. Ein Zweiteingriff zur Entfernung derselbigen ist daher unnötig (Bunyaratavej & Wang 2001). Resorbierbare Membranen sind gut gewebeverträglich und permeabel für Gefäßeinsprossungen (Kozlovsky et al.

2009, Rothamel et al. 2012). Es konnte histologisch an einer porcinen Membran (Bio-Gide, Geistlich, Wolhusen, Schweiz) gezeigt werden, dass die Resorption ohne Beteiligung von Entzündungszellen funktioniert und die Barrierefunktion über einen Zeitraum von 4 - 8 Wochen gewährleistet wird. Ähnliche Beobachtungen wurden bereits in Tierstudien beschrieben (Owens & Yukna 2001). Ein weiterer erwähnenswörter Vorteil ist die Eigenschaft von kollagenen Membranen bei auftretenden Dehiszenzen nach augmentativen Verfahren. Im Gegensatz zu nicht resorbierbaren Membranen kann bei den kollagenen Membranen eine sekundäre Epithelialisierung stattfinden. Eine osteogene Regenerationsfähigkeit wird nicht nachhaltig behindert (Friedmann et al. 2001, Friedmann et al. 2002, Beitel et al. 2010). Inwieweit kollagene Membranen nach augmentativen Verfahren die Inkorporation von Transplantaten und die Revaskularisation des Augmentats positiv beeinflussen, ist bis dato ungeklärt und bedarf wissenschaftlicher Untersuchungen.

In der Implantologie werden kollagene Membranen oft in Verbindung mit augmentativen Verfahren zur Herstellung eines quantitativ optimalen Implantatlagers eingesetzt. Das nächste Kapitel gibt einen Überblick über die in augmentativen Verfahren derzeit zur Verfügung stehenden Transplantate und deren Wirkungsweisen.

3.3. Augmentative Verfahren

3.3.1. Allgemeiner Hintergrund

Humane Knochentransplantate oder Knochenersatzmaterialien, die in augmentativen Verfahren eingesetzt werden, sollten verschiedene Anforderungen

erfüllen:

- Osteogenese, Osteoinduktion, Osteokonduktion,
- Biokompatibilität
- Porösität

Als **Osteogenese** wird die Fähigkeit bezeichnet, neuen Knochen zu bilden. Bei der **Osteoinduktion** ist der Vorgang der Knochenneubildung durch Stimulierung der Differenzierung mesenchymaler Zellen in osteogene Zellen (Kenley et al. 1993) gekennzeichnet. Osteoinduktive Proteine (z.B. bone morphogenic proteins, Zytokine) steuern dabei komplexe Regulationsmechanismen und leiten die Zelldifferenzierung ein (Xiao et al. 2007). **Osteokonduktion** heißt, dass durch das Vorhandensein einer Leitstruktur das Einwachsen von Knochengewebe ermöglicht wird. Im Sinn eines Leitschieneneffektes wird dabei die Neogenese des Knochens durch die Proliferation von Blutgefäßen ermöglicht (Davies 2003, Zerbo et al. 2005). Autologe Transplantate verfügen über alle drei Eigenschaften. Knochenersatzmaterialien sollten wenigstens eine der drei Wirkungsweisen besitzen.

Hinsichtlich der Biokompatibilität wird von Knochenersatzmaterialien erwartet, dass diese nicht toxisch, teratogen oder kanzerogen sind. Des Weiteren sollten proinflammatorische Reaktionen oder Abstoßungsreaktionen unterbleiben. Die Porosität von Knochenersatzmaterialien hat einen Einfluss auf die Möglichkeit der Vaskularisation, wobei die Größe und die Interkonnektion der Poren entscheidend für Knochenumbauvorgänge sind (Eggli et al. 1988, Kirmeier et al. 2007).

3.3.2. Humane Knochentransplantate

Allgemein unterscheidet man verschiedene Arten von Knochentransplantaten.

Dabei stellt **autologer** Knochen als Transplantatmaterial aufgrund seiner biologischen Wertigkeit unumstritten bis dato den Goldstandard dar (Zijderveld et al. 2005, Artzi et al. 2005). Je nach der Ausdehnung der atrophischen Areale können durch Entnahme aus dem intraoralen (Kinn, Retromolar, Tuber) oder extraoralen Regionen (Ilium, Fibula) Transplantate gewonnen und in den Defektbereich eingebracht werden. Zahlreiche Studien belegen die erfolgreiche Integration autologer Transplantate infolge der aktiven Remodellierung (Nelson et al. 2006). Nachteilig diskutiert wird die begrenzte Verfügbarkeit, die Morbidität in der Spenderregion und das Resorptionsverhalten der Knochentransplantate post augmentationem (Nyström et al. 1995, Lundgren et al. 1997, Sbordone et al. 2011). Bei der Verwendung **allogener** Transplantate sind Empfänger und Spender von der gleichen Spezies aber nicht genetisch identisch (Misch et al 1993). Durch bestimmte Bearbeitungsmaßnahmen wie die Kryokonservierung, Lyophilisation und Deproteinisierung wird der allogene Knochen aufbereitet. Kritisch zu hinterfragen sind allerdings ethische Komponenten, sowie mögliche zelluläre und humorale Abstoßungsreaktionen und die Gefahr der Infektionsübertragung (Glass et al. 2008). Durch die Bereitstellung poröser Leitstrukturen im Sinn der Osteokonduktion wird die Wirkungsweise allogener Transplantate erklärt. Vorteil ist die ausreichende Verfügbarkeit und die Vermeidung der Morbidität der Entnahmestelle.

3.3.3. Synthetische und xenogene Knochenersatzmaterialien

Alloplastische Knochenersatzmaterialien sind biokompatible synthetisch hergestellte Materialien. Hierzu zählen Kalziumcarbonat, Trikalziumphosphat,

Hydroxylapatit, Bioglass sowie kalziumbeschichtete Polymere.

Xenogene Knochenersatzmaterialien sind tierischen Ursprungs (bovine, porcine) und wirken osteokonduktiv. Das theoretisch mögliche Übertragungsrisiko von Infektionskrankheiten ist der Literatur zufolge gering (Honig et al. 1999). Bekanntester Vertreter des xenogenen Ersatzmaterials derzeit auf dem Markt ist Bio-Oss (Geistlich, Biomaterials, Wolhusen, Schweiz). In einer wissenschaftlichen Stellungnahme der DGZMK aus dem Jahr 2006 wurde das Material Bio-Oss als unbedenklich für den Einsatz in der Parodontologie und Implantologie eingestuft.

3.3.4. Bio-Oss und Bio-Oss Collagen

Das Knochenersatzmaterial Bio-Oss ist ein Spongiosagranulat bovinen Ursprungs. Das durch chemische und physikalische Behandlung aufbereitete deproteinisierte Hydroxylapatit besitzt ein großmaschiges Porensystem ähnlich der humanen Spongiosa, welches positiv die Vaskularisierung und Migration von Osteoblasten beeinflusst (Yildirim et al. 2000). Bio-Oss Collagen besitzt zusätzlich einen 10 %-igen Kollagenanteil, der im Einheilungsprozeß vollständig abgebaut wird. Die Wirkungsweise des xenogenen Materials bei der Knochenregeneration ist osteokonduktiv (Schlegel et al. 2003). Die Anwendung des xenogenen Knochenersatzmaterials Bio-Oss in der oralen Chirurgie wurde in verschiedenen humanen- und Tierstudien dokumentiert (Berglundh et al. 1997, Piatelli et al. 1999, Arzti et al. 2000, Satori et al. 2003). Erste Indikationen waren dabei die Sinusbodenelevation (Piatelli et al. 1999), Auffüllung parodontaler Defekte vor Implantatversorgung und die Ridge-Preservation (Nemcovsky et al. 2002, Norton et al. 2003, Esposito et al. 2006). Ein weiteres Einsatzgebiet folgte mit der ‚Socket

preservation', welches die Auffüllung von Extraktionsalveolen mit dem Wunsch nach Dimensionsstabilität beschreibt. Es existieren dazu in der Literatur einige wenige humane Studien (Artzi et al. 2000, Artzi et al. 2001, Carmagnola et al. 2003, Molly et al. 2008, Cardaropoli et al. 2012). Um mögliche Wechselwirkungen, Einflüsse und damit die Effektivität von xenogenen Ersatzmaterialien in der Extraktionsalveole formulieren zu können, soll das folgende Kapitel zunächst einen Überblick über das allgemeine Prinzip der alveolären Heilung und deren wissenschaftlichen Hintergrund geben.

4. Die Extraktionsalveole

4.1. Hintergrund

Ist ein Zahn aufgrund von ausgeprägten Substanzdefekten, akuten, chronischen Entzündungsprozessen oder frakturbedingten Veränderungen nicht mehr erhaltungsfähig, muss er operativ entfernt werden. Dabei kommt es zur vollständigen Durchtrennung des parodontalen Ligaments (Al-Harbi 2010).

Das so verbliebene Zahnfach unterliegt dann dem komplexen Vorgang der Wundheilung mit nacheinander ablaufenden chronologischen Phasen (Amler 1969).

4.2. Heilungskaskaden der alveolären Heilung

1. – 3. Tag

Direkt nach Entfernung des Zahnes füllt sich die Alveole durch Kompromittierung der Gefäße mit Blut. Die Koagulation des Blutes wird induziert durch Thrombozytenadhärenz und chemotaktische Faktoren. Das Blutkoagulum

bestehend aus Erythrozyten und Thrombozyten, füllt die gesamte Alveole aus und löst damit den Beginn der Heilungskaskade aus (Boyne 1966, Amler 1969, Evian 1982, Cardaropoli et al. 2003). Im weiteren Heilungsprozess kommt es im Zentrum des Koagulums durch die Hämolyse zur Auflösung des Koagulums, Lymphozyten und neutrophile Granulozyten sind nachweisbar (Amler 1969).

4. – 7. Tag

Innerhalb der ersten Woche findet die initiale zelluläre Organisation des Koagulums statt und es folgt die Bildung eines Fibrinnetzes. Anhand von verschiedenen humanen und tierischen Untersuchungen wurde gezeigt, dass das Koagulum in der proliferativen Phase durch Granulationsgewebe ersetzt wird und die Angiogenese beginnt (Boyne 1966, Amler 1969). Granulationsgewebe besteht aus proliferierten kapillären Blutgefäßen, Kollagenfasern, Fibroblasten und Leukozyteninfiltraten (neutrophile Leukozyten, Makrophagen und Lymphozyten) (Trombelli et al. 2008). Erste Anzeichen von Knochenneuformation an den lateralen Bereichen der Alveole sind dokumentiert (Boyne 1966). Amler (1969) beschreibt diese auch in der apicalen Region der Extraktionsalveole. Derzeit lassen sich nur allgemeine Aussagen über die intraalveoläre initiale Heilung formulieren, da in den bisherigen histologischen Analysen detailliertere Angaben über die Zellart- und -anzahl fehlen.

2. – 4. Woche

Zu diesem Zeitpunkt kommt es zur Reorganisation des Granulationsgewebes und Inseln von Geflechtknochen sind nachweisbar (Devlin & Sloan 2002, Ahn & Shin 2008, Trombelli et al. 2008). Anteile von etwa 15 % neuem Knochengewebe sind

beschrieben (Ahn & Shin 2008), ansonsten sind keine metrischen Angaben zu Knochenneuformationsraten für diesen Zeitraum in der Literatur zu finden. Innerhalb der Alveole wird das Granulationsgewebe zunehmend durch eine fibröse Matrix ersetzt (Amler 1969, Evian et al. 1982). Diese Matrix wurde erstmalig in einer caninen Studie als provisorische Matrix beschrieben (Cardaropoli et al. 2003) und besteht aus mesenchymalen Zellen, die in faserartiges Bindegewebe eingebettet sind. Wie bereits im vorherigen Kapitel erwähnt, sind mesenchymale Stammzellen pluripotente Zellen und können sich in verschiedene mesenchymale Gewebearten differenzieren (Bruder et al. 1994), so auch in osteogenes Gewebe. Die Identifizierung der mesenchymalen Zellen mittels Transkriptionsfaktoren würde somit Rückschlüsse auf ein mögliches osteogenes Potential in der Alveole zulassen. In der Studie von Cardaropoli und Mitarbeiter wurden allerdings keine immunhistologischen Nachweise durchgeführt. Des Weiteren ließen sich aufgrund der geringen Alveolenanzahl nur allgemeine Aussagen treffen, interindividuelle Unterschiede waren dabei nicht erfassbar. Erstmals zeigt sich in einer humanen Studie von 2002 mittels immunhistologischer Analyse unter Verwendung der monoklonalen Antikörper Cbfa1/Runx2, SB-10 und SB-20 eine starke Expression von Cbfa1/Runx2, vor allem im Randbereich der Alveole. Folglich könnte man schlussfolgern, dass osteogene Zellen in der provisorischen Matrix vorhanden sind (Devlin & Sloan 2002). Welches Reifestadium diese Zellen besitzen, lässt sich anhand dieser verwendeten Transkriptionsfaktoren nicht eruieren. Außerdem ist die Aussagekraft dieser Studienergebnisse eingeschränkt, da nur drei Alveolen von drei Tumorpatienten untersucht wurden und deshalb mögliche Einflussfaktoren nicht einzuschätzen sind (Devlin & Sloan 2002).

5. – 8. Woche

Es kommt zu einer zunehmenden Knochenneuf ormation, bestehend aus Geflechtknochen und Lamellenknochen innerhalb der Alveole. Verschiedene Autoren beschreiben diesen Zeitraum der extraktionellen Wundheilung als Phase der höchsten Knochenneuf ormationsrate (Amler 1969, Evian 1982, Trombelli 2008). Diese vorhandenen Studien gehen aber nicht auf nähere Informationen wie individuelle Unterschiede der Zellzahl und Potenz der Zellen ein. Es fehlen Angaben zur Beteiligung vaskulärer Strukturen und damit Schlussfolgerungen zur zeitlich beeinflussten Regenerationsfähigkeit. Amler (1969) zeigte an seinen Biopsien, dass nach 40 Tagen Ausheilzeit die Alveole zu zwei Dritteln mit Knochen gefüllt und der epitheliale Abschluss erreicht ist. Metrische detaillierte Angaben zu diesem Zeitpunkt sind dabei nicht dokumentiert. Das entspricht den Beobachtungen von Cardaropoli et al. (2003) unter Berücksichtigung der physiologischen Umbauraten an tierischen Alveolen. Er gab an, dass die Knochenneuf ormation von apical beginnt und in caninen Alveolen nach 30 Tagen (entspricht etwa 45 Tage im humanen Präparat) etwa zwei Drittel einnimmt. Die Typisierung der Zellen innerhalb der provisorischen Matrix fehlt bislang vollständig, lediglich Trombelli et al. hat in der aktiven Zone an der Oberfläche des sich neu formierenden Knochen gezeigt, dass die Anzahl positiv gefärbter Zellen für Osteocalcin zu diesem Zeitpunkt am größten ist (Trombelli et al. 2008). Ob die Anzahl der osteogenen Zellen oder der Gefäße einen Einfluss auf die Rate der Knochenneuf ormation hat, steht bis dato aus. Die Betrachtung der gesamten Alveole ist entscheidend, zumal Studien gezeigt haben, dass große interindividuelle Unterschiede im Anteil der provisorischen Matrix existieren (Trombelli et al. 2008). Des Weiteren fehlen in der Literatur detaillierte Angaben,

die abklären, inwieweit das Alter und Geschlecht der Patienten sowie die Kieferregion beeinflussend auf die interindividuellen Varianzen wirken.

9. – 12. Woche

In diesem Zeitraum wird meist der Verschluss der Alveole mittels einer Hartgewebsbrücke erreicht (Amler 1969, Evian 1982). Neben Anteilen von Geflechtknochen mit primären Osteonen sind auch Bereiche von Lamellenknochen nachweisbar (Evian et al. 1982, Trombelli et al. 2008). Des Weiteren berichten Autoren über eine Abnahme der Gefäßdichte und Rückgang der Osteoblastenaktivität (Trombelli et al. 2008).

Im folgenden Kapitel werden nun die zeitlichen Heilungsverläufe der gefüllten Alveolen besprochen.

4.3. Die augmentierte Extraktionsalveole

Um die Auswirkungen resorptiver Vorgänge kontrollieren zu können, diskutieren Autoren seit einigen Jahren augmentative Verfahren der Extraktionsalveolen (socket preservation) (Artzi et al. 2000, Artzi et al. 2001, Carmagnola et al. 2003, Gholami et al. 2012, Araújo & Lindhe 2011, Cardaropoli et al. 2012). Diese strukturellen Veränderungen kompensieren zu können, würde gerade im ästhetisch sichtbaren Bereich (Frontzahnregion) zu einem vorhersagbarem Ergebnis nach Zahnimplantation mit besserer Einschätzung der Therapiedauer führen (Horváth et al. 2012). Überlegungen zur Möglichkeit der Sofortimplantation als Resorptionsschutz wurden durch verschiedene humane und tierexperimentelle Studien widerlegt (Botticelli et al. 2004, Araújo et al. 2005, 2006)

Aus diesem Grund werden verschiedene Verfahren zum Strukturerhalt der Alveole diskutiert. Manche Autoren präferieren den Einsatz von resorbierbaren Membranen und plastischer Deckung ohne weitere augmentative Verfahren im Sinn der GTR-Technik (Lekovic et al. 1998), andere wollen durch Einbringen von Fremdmaterial post extractionem einen positiven Einfluss auf den Kieferkammerhalt erreichen (Dies et al. 1996, Serino et al. 2008). Es fehlen in diesen Studien allerdings die metrischen Kontrollen der Dimensionsveränderungen. Meist handelt es sich nur um klinische Einschätzungen. Die Arbeitsgruppe um Cardaropoli et al. dokumentierte erstmals bei mit Bio-Oss gefüllten und mit einer kollagenen Membran abgedeckten humanen Alveolen anhand von Situationsabformungen und Gipsmodellherstellung nach vier Monaten geringere Resorptionen in horizontaler und vertikaler Dimension als bei den ungefüllten Alveolen (Cardaropoli et al. 2012). Ähnliche Beobachtungen wurden auch in Tierstudien beschrieben (Araújo & Lindhe 2005, 2009). Fickl et al. zeigte an Hunden, dass die Resorptionstendenz in augmentierten Alveolen ohne Lappenbildung geringer ist als bei gefüllten Alveolen nach plastischer Deckung (Fickl et al. 2008). Neben den Dimensionsveränderungen ist der Aspekt der möglichen Wechselwirkung des Fremdmaterials in der Alveole während der Wundheilung von wissenschaftlicher Bedeutung.

1. Tag – 4 Wochen

Mit der initialen Heilung der augmentierten Alveole befassen sich bis dato nur canine Studien (Araújo et al. 2010a,b). Es handelt sich dabei um histologische Analysen von mit Bio-Oss Collagen augmentierten Alveolen und β -TCP gefüllten Alveolen. Kritisch zu betrachten ist die Anzahl von lediglich fünf caninen Alveolen in

beiden Studien. Die folgenden Ausführungen sollen somit erste Einschätzungen zum Grundverständnis des alveolären Heilungsverlaufs augmentierter Alveolen geben, aber die Frage bleibt, inwieweit die Aussagen repräsentativ sind. Es kommt zunächst zur initialen Bildung eines Koagulums. Darin finden sich Anteile des jeweiligen Ersatzmaterials, die umlagert sind von polymorphonukleären Leukozyten. Anschließend kommt es zur Bildung eines Fibrinnetzes am dritten Tag. Gefäßneubildung und Entzündungszellen meist in Form mononukleärer Leukozyten, sowie einige wenige Anteile von mesenchymalen Zellen sind nach einer Woche beschrieben. An der Oberfläche der Alveolenwände und an den Bio-Oss und auch β -TCP Partikeln sind Osteoklasten histologisch nachweisbar. Neben vaskulären Strukturen finden sich auch Bereiche von neu gebildetem Geflechtknochen im Bereich der Alveolenwände. 2 Wochen post extractionem und augmentationem zeigte sich im zentralen und marginalen Bereich der Alveole vorwiegend provisorische Matrix mit einzelnen Bio-Oss Partikeln oder β -TCP Partikeln. Araújo beschreibt Entzündungszellen vornehmlich in der Nähe der Bio-Oss Partikel und β -TCP Partikel. Knochenneubildungsraten von 15 – 30 % werden nach 4 Wochen Heilzeit in der Bio-Oss-Collagen Studie angegeben. Der Anteil der Entzündungszellen verringert sich im Zeitverlauf bis zu 4 Wochen. Im Vergleich beider Augmentationsmaterialien ist die Knochenneubildungsrate um 15 % geringer bei den β -TCP gefüllten Alveolen. Demzufolge wird von einer verzögerten Heilung bei der Verwendung dieses resorbierbaren Trikalziumphosphats ausgegangen.

5. – 12. Woche

Wenige humane Untersuchungen untersuchen die alveoläre Heilung ab diesem

Zeitpunkt (Scheyer et al. 2012, Canullo et al. 2012, Brownfield & Weltman 2012). So zeigte eine Studie von Scheyer et al. von 2012 bei allogenen augmentierten humanen Alveolen nach sechs Wochen Bereiche von Geflechtknochen ohne quantitative Angaben. Eine weitere Untersuchung von Canullo et al. (2012) untersuchte in fünf Biopsien, gefüllt mit einem Hydroxylapatit, anhand histologischer und immunhistochemischer Verfahren das Zusammenspiel von Angiogenese und Osteogenese nach 8 Wochen und 16 Wochen Ausheilzeit. Dabei zeigte er zum einen, dass selbst bei fünf Biopsien große Varianzen in der Knochenneuformationsrate zu verzeichnen sind und zum anderen dass nach 8 Wochen Zeichen einer Osteogenese und Angiogenese nachweisbar sind. Gleichzeitig wird ein Rückgang der osteogenen und vaskulären Potenz im zeitlichen Verlauf beschrieben. Entzündungszellen sind zu keinem Zeitpunkt zu beobachten. In einer weiteren Studie von Brownfield und Weltman (2012) zeigen histomorphometrische und radiologische Daten, dass die allogene Augmentation von Extraktionsalveolen nach einer Beobachtungszeit von 10 Wochen keinen Unterschied in der Knochenneuformation gegenüber ungefüllten Alveolen aufweist (Brownfield & Weltman 2012).

ab 12. Woche

Ab diesem Zeitpunkt sind verschiedene humane Studien zu augmentierten Alveolen in der Literatur beschrieben (Diès et al. 1996, Artzi et al. 2000, Froum et al. 2002, Carmagnola et al. 2003, Beck & Mealey 2010, Kutkut et al. 2012, Wood & Mealey 2012). Dabei beschäftigen sich diese vornehmlich mit dem xenogenen Material Bio-Oss zur Augmentation der Alveolen. (Carmagnola et al. 2003, Artzi et al. 2000, 2001, Lee et al. 2009). Carmagnola zeigte in einer histologischen

Untersuchung von Alveolen, die 7 Monate post extractionem und augmentationem analysiert wurden, dass 40 % der Bio-Oss Partikel in Kontakt zu neu gebildetem Knochen waren (Carmagnola et al. 2003). Artzi et al. untersuchten Bio-Oss gefüllte Alveolen nach neun Monaten Einheilzeit und dokumentierten Knochenneuformationsraten von etwa 80 % mit neu formiertem Knochen um die Bio-Oss Partikel (Artzi et al. 2000). Den osteokonduktiven Effekt von Bio-Oss bestätigen auch Lee und Mitarbeiter in einer weiteren Studie, die vergleichend gefüllte Alveolen mit Bio-Oss und allogenen Materialien nach 4 bis 6 Monaten Beobachtungszeit auswerteten. Dabei zeigte sich eine signifikant höhere Knochenapposition an dem xenogenen Material (Lee et al. 2009).

Einzig die Arbeitsgruppe um Cardaropoli analysierte den Einfluss von Bio-Oss Collagen auf die postextraktionelle Heilung nach 4 Monaten in einer humanen Studie. Dabei zeigen sich große Bereiche von neu gebildetem Knochen mit inkorporierten Bio-Oss Partikeln ohne Entzündungszeichen (Cardaropoli et al 2012). Im Unterschied zum reinen Bio-Oss, welches in den bereits zitierten Studien eingesetzt wurde, hat Bio-Oss Collagen einen zusätzlichen 10 %-igen porcinen Kollagenanteil. Es resultiert dadurch im Augmentationsmaterial ein geringerer Anteil von Bio-Oss Partikeln und folglich ein vergrößerter interstitieller Raum. Gleichzeitig werden dem Material dadurch eine Verbesserung der Vernetzung der Spongiosapartikel und eine bessere Zelladhäsion zugesprochen (Araújo & Lindhe 2008).

Anhand der beschriebenen Ausführungen für die unterschiedlichen Zeitpunkte wird ersichtlich, dass weiterhin offene Fragen für das Einheilverhalten der gefüllten als auch ungefüllten Alveolen bestehen.

Mögliche Einflüsse des Knochenersatzmaterials auf die Knochenneuformationsrate, die Entwicklung des osteogenen Differenzierung innerhalb der provisorischen Matrix und auf das Vaskularisierungspotential sind aber von großem klinischem Interesse, um etwaige Therapieansätze im Zeitmanagement der Implantatsetzung überdenken zu können.

5. Zielstellung

Zielstellung der Arbeiten ist die Untersuchung und Beschreibung von knochenphysiologischen Vorgängen bei regenerativen Prozessen der Defektheilung des Alveolarkamms.

Mit histomorphometrischen und immunhistologischen Untersuchung werden am Kieferknochen und im speziellen Modell der Extraktionsalveole die zeitlichen Heilungskaskaden analysiert und gezeigt, ob etwaige Faktoren wie GBR- und augmentative Verfahren die Knochenneuformation beeinflussen.

6. Eigene Arbeiten

Die vorliegende kumulative Habilitationsschrift umfasst Untersuchungen zu knochenphysiologischen Vorgängen bei regenerativen Prozessen der Defektheilung des Alveolarkamms. Die Ergebnisse dieser Studien sind als Originalarbeiten in zahnmedizinischen Zeitschriften veröffentlicht worden.

6.1. Vergleich der Knochenneuformationsrate von periostgedeckten oder membrangedeckten autologen Beckenkammtransplantaten bei extrem atrophierten Kiefern

Heberer S, Rühle B, Krekeler L, Schink T, Nelson JJ, Nelson K. A prospective randomized split-mouth study comparing iliac onlay grafts in atrophied edentulous patients: covered with periosteum or a bioresorbable membrane. *Clinical Oral Implants Res* 2009; 20(3): 319-26.

Zusammenfassung

In dieser prospektiven Studie wurden bei 14 Patienten mit extremer Alveolarkammatrophie im Oberkiefer monokortikale Transplantate vom Beckenkamm aufgelagert. Dabei wurde im split-mouth Design in der einen Kieferhälfte eine porcine resorbierbare Membran zur Abdeckung des Transplantates (MT) verwandt und auf der anderen Seite erfolgte eine reine Periostabdeckung (PT). Nach drei Monaten Einheilzeit wurde anhand der zur Fixation des Transplantates verwendeten Osteosyntheseschrauben mit Hilfe eines digitalen Messschiebers die Resorptionsrate gemessen. Im Rahmen der Implantatinsertion wurden Biopsien gewonnen und histomorphometrisch die Knochenneuformationsrate bestimmt.

Die Ergebnisse zeigen keinen signifikanten Unterschied in der Resorptionrate

zwischen beiden Transplantatabdeckungen. Insgesamt wurde eine Knochenneuformationsrate von durchschnittlich 48 % in der MT- Gruppe und 43 % in der PT- Gruppe gemessen. Statistisch gesehen, gab es ebenfalls keinen signifikanten Unterschied in der Knochenneuformationsrate zwischen der MT- und PT- Gruppe.

Die Studie lässt den Schluss zu, dass eine Membranabdeckung autologer Knochentransplantate keinen signifikanten Zuwachs an Knochenneuformation bedingt und diese ebenfalls keinen Einfluss auf die initiale Resorption hat.

Heberer S, Rhe B, Krekeler L, Schink T, Nelson JJ, Nelson K. A prospective randomized split-mouth study comparing iliac onlay grafts in atrophied edentulous patients: covered with periosteum or a bioresorbable membrane. *Clinical Oral Implants Res* 2009; 20(3): 319-26.

Heberer S, Rhe B, Krekeler L, Schink T, Nelson JJ, Nelson K. A prospective randomized split-mouth study comparing iliac onlay grafts in atrophied edentulous patients: covered with periosteum or a bioresorbable membrane. *Clinical Oral Implants Res* 2009; 20(3): 319-26.

Heberer S, Rhe B, Krekeler L, Schink T, Nelson JJ, Nelson K. A prospective randomized split-mouth study comparing iliac onlay grafts in atrophied edentulous patients: covered with periosteum or a bioresorbable membrane. *Clinical Oral Implants Res* 2009; 20(3): 319-26.

Heberer S, Rhe B, Krekeler L, Schink T, Nelson JJ, Nelson K. A prospective randomized split-mouth study comparing iliac onlay grafts in atrophied edentulous patients: covered with periosteum or a bioresorbable membrane. *Clinical Oral Implants Res* 2009; 20(3): 319-26.

Heberer S, Rhe B, Krekeler L, Schink T, Nelson JJ, Nelson K. A prospective randomized split-mouth study comparing iliac onlay grafts in atrophied edentulous patients: covered with periosteum or a bioresorbable membrane. *Clinical Oral Implants Res* 2009; 20(3): 319-26.

Heberer S, Rhe B, Krekeler L, Schink T, Nelson JJ, Nelson K. A prospective randomized split-mouth study comparing iliac onlay grafts in atrophied edentulous patients: covered with periosteum or a bioresorbable membrane. *Clinical Oral Implants Res* 2009; 20(3): 319-26.

Heberer S, Rhe B, Krekeler L, Schink T, Nelson JJ, Nelson K. A prospective randomized split-mouth study comparing iliac onlay grafts in atrophied edentulous patients: covered with periosteum or a bioresorbable membrane. *Clinical Oral Implants Res* 2009; 20(3): 319-26.

Heberer S, Rhe B, Krekeler L, Schink T, Nelson JJ, Nelson K. A prospective randomized split-mouth study comparing iliac onlay grafts in atrophied edentulous patients: covered with periosteum or a bioresorbable membrane. *Clinical Oral Implants Res* 2009; 20(3): 319-26.

6.2. Histomorphometrische Analyse der Knochenneuformationsrate von mit Bio- Oss Kollagen augmentierten Extraktionsalveolen nach sechswöchiger Einheilzeit

Aus der vorangegangenen Untersuchung ergibt sich, dass eine Membranabdeckung keinen signifikanten Einfluss auf die Knochenneuformation bei Augmentation von Alveolarkammdefekten mit autologen Transplantaten darstellt. Die Defektheilung in Extraktionsalveolen ist Bestandteil der nachfolgenden Untersuchung. Analysiert wurde die Knochenneuformationsrate in mit xenogenem Knochenersatzmaterial augmentierten Extraktionsalveolen.

Heberer S, Al-Chawaf B, Hildebrand D, Nelson JJ, Nelson K. Histomorphometric analysis of extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after a 6-week healing period: A prospective study. *Clinical Oral Implants Res* 2008; 19 (12): 1219-25.

Zusammenfassung

In die Studie involviert waren 16 Patienten, bei denen 17 nicht erhaltungswürdige Zähne extrahiert wurden. Anschließend wurden diese Alveolen ohne Bildung eines Mukoperiostlappens und ohne Membranabdeckung mit Bio-Oss Collagen augmentiert. Nach einer Einheilzeit von sechs Wochen wurden im Rahmen der Implantation aus den Alveolen Biopsien gewonnen und histomorphometrisch analysiert. Dabei wurde die Knochenneuformationsrate, der vorhandene Bio-Oss Anteil und der Bindegewebsanteil jeweils im coronalen und apicalen Anteil der Alveole bestimmt. Alle Biopsien waren frei von Entzündungszellen. Die Ergebnisse zeigen eine durchschnittliche Knochenneuformationsrate von 28 % (9 – 57 %) und einen

Bio-Oss Anteil von durchschnittlich 11 % (3 – 31 %). Es besteht ein signifikanter Unterschied in der Knochenneuformationsrate zwischen dem apicalen und coronalen Bereich der Alveole ($P=0.02$) mit durchschnittlich höheren apicalen Knochenneuformationsraten. Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Knochenneuformationsrate nach sechswöchiger Einheilzeit eine große Variationsbreite zeigt und vom apicalen Bereich der Extraktionsalveole ausgeht.

Heberer S, Al-Chawaf B, Hildebrand D, Nelson JJ, Nelson K. Histomorphometric analysis of extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after a 6-week healing period: A prospective study. *Clinical Oral Implants Res* 2008; 19 (12): 1219-25.

Heberer S, Al-Chawaf B, Hildebrand D, Nelson JJ, Nelson K. Histomorphometric analysis of extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after a 6-week healing period: A prospective study. *Clinical Oral Implants Res* 2008; 19 (12): 1219-25.

Heberer S, Al-Chawaf B, Hildebrand D, Nelson JJ, Nelson K. Histomorphometric analysis of extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after a 6-week healing period: A prospective study. *Clinical Oral Implants Res* 2008; 19 (12): 1219-25.

Heberer S, Al-Chawaf B, Hildebrand D, Nelson JJ, Nelson K. Histomorphometric analysis of extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after a 6-week healing period: A prospective study. *Clinical Oral Implants Res* 2008; 19 (12): 1219-25.

Heberer S, Al-Chawaf B, Hildebrand D, Nelson JJ, Nelson K. Histomorphometric analysis of extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after a 6-week healing period: A prospective study. *Clinical Oral Implants Res* 2008; 19 (12): 1219-25.

Heberer S, Al-Chawaf B, Hildebrand D, Nelson JJ, Nelson K. Histomorphometric analysis of extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after a 6-week healing period: A prospective study. *Clinical Oral Implants Res* 2008; 19 (12): 1219-25.

Heberer S, Al-Chawaf B, Hildebrand D, Nelson JJ, Nelson K. Histomorphometric analysis of extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after a 6-week healing period: A prospective study. *Clinical Oral Implants Res* 2008; 19 (12): 1219-25.

6.3. Bestimmung der Knochenneuf ormation in augmentierten und nicht augmentierten Extraktionsalveolen nach zwölfwöchiger Einheilzeit

Mit der vorangestellten Studie konnte gezeigt werden, dass die Knochenneuf ormationsrate in Extraktionsalveolen nach einer Einheilzeit von 6 Wochen sich im apicalen und coronalen Bereich unterscheidet. Unter Berücksichtigung großer interindividueller Unterschiede beginnt die Verknöcherung der Alveole von apical. In der nachfolgenden Untersuchung werden nicht augmentierte und mit Bio-Oss Collagen augmentierte Extraktionsalveolen nach einer Einheilzeit von 12 Wochen histomorphometrisch untersucht.

Heberer S, Al-Chawaf B, Jablonski C, Nelson JJ, Lage H, Nelson K. Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: a prospective clinical study. *Int J Oral & Maxillofac Implants* 2011; 26(2): 385-92.

Zusammenfassung

Bei 25 Patienten wurden 39 Zähne extrahiert. Anschließend wurden randomisiert 20 Alveolen mit Bio-Oss Collagen augmentiert und 19 Alveolen der Selbstheilung überlassen. Alle Extraktionsalveolen waren vierwandig. Nach einer Einheilzeit von 12 Wochen wurden im Rahmen einer Implantation Probenbiopsien entnommen und histomorphometrisch analysiert. Die durchschnittliche Knochenneuf ormationsrate in den ungefüllten Extraktionsalveolen betrug 44 % (3 – 79 %) und in den gefüllten Alveolen 25 % (8 – 41 %). Es gab einen signifikanten Unterschied in der

Knochenneufbildungsrate zwischen den augmentierten und nicht augmentierten Alveolen, sowie zwischen den apicalen und coronalen Bereichen.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Knochenneufbildungsrate in den mit Bio-Oss Collagen gefüllten Extraktionsalveolen geringer war als in den ungefüllten. Gleichzeitig konnte gezeigt werden, dass unabhängig vom Augmentationsverfahren innerhalb der Biopsien große Varianzen in Knochenneufbildungsraten gefunden wurden. Bei allen Extraktionsalveolen ging die Knochenneufbildung von apical aus und war bei einigen Alveolen auch nach 3- monatiger Heilzeit noch nicht abgeschlossen.

Heberer S, Al-Chawaf B, Jablonski C, Nelson JJ, Lage H, Nelson K. Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: a prospective clinical study. *Int J Oral & Maxillofac Implants* 2011; 26(2): 385-92.

Heberer S, Al-Chawaf B, Jablonski C, Nelson JJ, Lage H, Nelson K. Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: a prospective clinical study. *Int J Oral & Maxillofac Implants* 2011; 26(2): 385-92.

Heberer S, Al-Chawaf B, Jablonski C, Nelson JJ, Lage H, Nelson K. Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: a prospective clinical study. *Int J Oral & Maxillofac Implants* 2011; 26(2): 385-92.

Heberer S, Al-Chawaf B, Jablonski C, Nelson JJ, Lage H, Nelson K. Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: a prospective clinical study. *Int J Oral & Maxillofac Implants* 2011; 26(2): 385-92.

Heberer S, Al-Chawaf B, Jablonski C, Nelson JJ, Lage H, Nelson K. Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: a prospective clinical study. *Int J Oral & Maxillofac Implants* 2011; 26(2): 385-92.

Heberer S, Al-Chawaf B, Jablonski C, Nelson JJ, Lage H, Nelson K. Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: a prospective clinical study. *Int J Oral & Maxillofac Implants* 2011; 26(2): 385-92.

Heberer S, Al-Chawaf B, Jablonski C, Nelson JJ, Lage H, Nelson K. Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: a prospective clinical study. *Int J Oral & Maxillofac Implants* 2011; 26(2): 385-92.

6.4. Immunhistologische Analyse mesenchymaler Zellen der provisorischen Matrix von gefüllten und ungefüllten Extraktionsalveolen nach sechswöchiger Einheilzeit

Die vorgestellten Arbeiten analysieren die Knochenneuf ormation in der Extraktionsalveole nach bestimmten Zeiträumen in augmentierten und nicht augmentierten Alveolen. Neben der Knochenneuf ormation zeigten die histomorphometrischen Analysen auch variierende Mengen an provisorischer Matrix, also Bindegewebe mit mesenchymalen Zellen. Diese mesenchymale Zellen sind multipotent und haben die Fähigkeit zur Selbstreplikation und Differenzierbarkeit in verschiedene Gewebe, beispielsweise Knochengewebe.

Heberer S, Wustlich A, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Osteogenic potential of mesenchymal cells embedded in the provisional matrix after a 6- week healing period in augmented and non-augmented extraction sockets: an immunohistochemical prospective pilot study in humans. *Clinical Oral Implants Res* 2012; 23(1): 19-27.

Zusammenfassung

In der folgenden Untersuchung soll das osteogene Potential der provisorischen Matrix von sechswöchigen gefüllten und ungefüllten Extraktionsalveolen immunhistologisch bestimmt werden. In die Untersuchung wurden 25 Patienten mit 47 Zahnalveolen eingeschlossen. Nach der Zahnentfernung wurden die Alveolen randomisiert mit dem xenogenen Material Bio-Oss Collagen aufgefüllt oder der Selbstheilung überlassen. Nach sechs Wochen wurden im Rahmen der Implantation Biopsien gewonnen und immunhistologisch untersucht.

Es wurden jeweils im coronalen und apicalen Bereich der nicht augmentierten sowie augmentierten Alveole die Zellen der provisorischen Matrix evaluiert. Alveolen mit einem Anteil von mehr als 50 % an provisorischer Matrix wurden in die Bewertung einbezogen. Mit Hilfe immunhistochemischer Verfahren unter Nutzung der monoklonalen Antikörpern Cbfa1/Runx2, Osteonectin und Osteocalcin wurden die in der Matrix vorhandenen Zellen analysiert. Von den 47 Extraktionsalveolen waren zu dem Zeitpunkt 17 bereits vollständig knöchern durchbaut, sodass die Auswertung an 30 verbliebenen Alveolen (21 nicht augmentiert, 9 augmentiert) erfolgte.

In der provisorischen Matrix lag der Durchschnitt von Cbfa1/Runx2 positiven Zellen bei 73 %, von Osteonectin positiven Zellen bei 64 % und 22 % der Zellen zeigten sich auf Osteocalcin positiv. Die statistische Auswertung ergab keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der positiven Zellen für alle drei Antikörper und dem Augmentationsverfahren.

Die Ergebnisse zeigen, dass nach sechs Wochen die provisorische Matrix der Alveole ein hohes osteogenes Potential aufweist und entlang der Differenzierungskaskade von Osteoprogenitorzellen bis hin zu Osteoblasten alle osteogenen Entwicklungsstufen zu finden sind. Die Augmentation der Alveole mit Bio-Oss Collagen hatte keinen Einfluss auf das osteogene Potential.

Heberer S, Wustlich A, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Osteogenic potential of mesenchymal cells embedded in the provisional matrix after a 6-week healing period in augmented and non-augmented extraction sockets: an immunohistochemical prospective pilot study in humans. *Clinical Oral Implants Res* 2012; 23(1): 19-27.

Heberer S, Wustlich A, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Osteogenic potential of mesenchymal cells embedded in the provisional matrix after a 6-week healing period in augmented and non-augmented extraction sockets: an immunohistochemical prospective pilot study in humans. *Clinical Oral Implants Res* 2012; 23(1): 19-27.

Heberer S, Wustlich A, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Osteogenic potential of mesenchymal cells embedded in the provisional matrix after a 6-week healing period in augmented and non-augmented extraction sockets: an immunohistochemical prospective pilot study in humans. *Clinical Oral Implants Res* 2012; 23(1): 19-27.

Heberer S, Wustlich A, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Osteogenic potential of mesenchymal cells embedded in the provisional matrix after a 6-week healing period in augmented and non-augmented extraction sockets: an immunohistochemical prospective pilot study in humans. *Clinical Oral Implants Res* 2012; 23(1): 19-27.

Heberer S, Wustlich A, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Osteogenic potential of mesenchymal cells embedded in the provisional matrix after a 6-week healing period in augmented and non-augmented extraction sockets: an immunohistochemical prospective pilot study in humans. *Clinical Oral Implants Res* 2012; 23(1): 19-27.

Heberer S, Wustlich A, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Osteogenic potential of mesenchymal cells embedded in the provisional matrix after a 6-week healing period in augmented and non-augmented extraction sockets: an immunohistochemical prospective pilot study in humans. *Clinical Oral Implants Res* 2012; 23(1): 19-27.

Heberer S, Wustlich A, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Osteogenic potential of mesenchymal cells embedded in the provisional matrix after a 6-week healing period in augmented and non-augmented extraction sockets: an immunohistochemical prospective pilot study in humans. *Clinical Oral Implants Res* 2012; 23(1): 19-27.

Heberer S, Wustlich A, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Osteogenic potential of mesenchymal cells embedded in the provisional matrix after a 6-week healing period in augmented and non-augmented extraction sockets: an immunohistochemical prospective pilot study in humans. *Clinical Oral Implants Res* 2012; 23(1): 19-27.

6.5. Knochenphysiologische Vorgänge in gefüllten und ungefüllten Extraktionsalveolen

In der vorangehenden Untersuchung wurde das osteogene Potential von gefüllten und ungefüllten sechswöchigen Extraktionsalveolen untersucht. Die Grundlage einer ungestörten Heilung in einer Extraktionsalveole ist neben der osteogenen Differenzierung auch die Angiogenese. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der physiologischen Zusammenhänge der Osteogenese und Angiogenese in der provisorischen Matrix nach unterschiedlichen Zeitpunkten.

Nahles S, Nack C, Gratecap K, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Bone physiology in human grated and non-grafted extraction sockets - an immunohistochemical study. Clin Oral Implants Res 2012, in press

Zusammenfassung

Es wurden innerhalb der Studie 65 Extraktionsalveolen von 33 Patienten untersucht. Nach der Entfernung der nicht erhaltungswürdigen Zähne wurden die Alveolen randomisiert entweder mit Bio-Oss Collagen augmentiert oder der Selbstheilung überlassen. Zum Zeitpunkt der Implantation, entweder nach 4 oder 12 Wochen wurden aus den Alveolen Probebiopsien gewonnen und immunhistologisch untersucht. Zur Evaluation des osteogenen Differenzierungsgrades wurden die monoklonalen Antikörper Cbfa1/Runx2 und Osteocalcin verwandt. Zur Darstellung des endothelialen Potentials wurde der Antikörper CD31 eingesetzt. In den Biopsien wurde die Zelldichte der mesenchymalen Zellen gemessen und anschließend untersucht, ob das Augmentationsverfahren zum einen Einfluss auf die Anzahl der

osteogenen Zellen hat und zum anderen, ob es Unterschiede in der regionalen Verteilung (coronal/apical) gab. Ein weiterer Parameter dieser Untersuchung war das Alter der Patienten und dessen mögliche Relevanz auf die osteogene und vaskuläre Potenz.

Die Auswertung erfolgte an 25 vierwöchigen Alveolen (13 nicht augmentiert, 12 augmentiert) und 40 zwölfwöchigen Alveolen (19 nicht augmentiert, 21 augmentiert). Nach 4 Wochen wurde durchschnittlich ein Anteil von 56 % Cbfa1/Runx2 positiven Zellen und 21 % Osteocalcin positiven Zellen gemessen. Ein durchschnittlicher CD31 Score von 5 wurde dokumentiert. Nach 12 Wochen waren durchschnittlich 61 % Cbfa1 positiv, 9 % Osteocalcin positiv und es fand sich ein durchschnittlicher CD31 Score von 3. Statistisch gesehen, hatte das Augmentationsverfahren und die Region keinen Einfluß auf die gemessene Zelldichte in der Alveole. Es bestand eine Korrelation zwischen dem Alter des Patienten und der Angiogenese nach 12 Wochen. Das angiogene Potential nahm signifikant ab.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass nach 4 Wochen eine höhere Osteoblastenaktivität zu finden ist als nach 12 Wochen. Während der frühen Phase der Knochenneuf ormation ist das aktive Zentrum der osteoblastären Reifung im apicalen Bereich zu finden, während es sich in der späten Phase (nach 12 Wochen) in den coronalen Bereich verlagert. Mit der Veränderung des osteoblastären Aktivitätszentrums verändert sich in gleicher Weise die Vaskularisation. Der Vaskularisationsgrad innerhalb der Alveole ist mit zunehmendem Alter geringer. Daraus ergibt sich die Schlußfolgerung, dass bei älteren Patienten die Angiogenese in der späten extraktionellen Heilungsphase vermindert ist. Das Augmentationsverfahren hat keinen Einfluss auf die Angiogenese nach 4 oder 12 Wochen Einheilzeit.

Nahles S, Nack C, Gratecap K, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Bone physiology in human grated and non-grafted extraction sockets - an immunohistochemical study. Clin Oral Implants Res 2012, in press

Nahles S, Nack C, Gratecap K, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Bone physiology in human grated and non-grafted extraction sockets - an immunohistochemical study. Clin Oral Implants Res 2012, in press

Nahles S, Nack C, Gratecap K, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Bone physiology in human grated and non-grafted extraction sockets - an immunohistochemical study. Clin Oral Implants Res 2012, in press

Nahles S, Nack C, Gratecap K, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Bone physiology in human grated and non-grafted extraction sockets - an immunohistochemical study. Clin Oral Implants Res 2012, in press

Nahles S, Nack C, Gratecap K, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Bone physiology in human grated and non-grafted extraction sockets - an immunohistochemical study. Clin Oral Implants Res 2012, in press

Nahles S, Nack C, Gratecap K, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Bone physiology in human grated and non-grafted extraction sockets - an immunohistochemical study. Clin Oral Implants Res 2012, in press

Nahles S, Nack C, Gratecap K, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Bone physiology in human grated and non-grafted extraction sockets - an immunohistochemical study. Clin Oral Implants Res 2012, in press

Nahles S, Nack C, Gratecap K, Lage H, Nelson JJ, Nelson K. Bone physiology in human grated and non-grafted extraction sockets - an immunohistochemical study. Clin Oral Implants Res 2012, in press

7. Diskussion

7.1. Vergleich der Resorption- und Knochenneuformationsrate von periostgedeckten oder membrangedeckten autologen Beckenkammtransplantaten bei extrem atrophierten Kiefern

Verschiedene wissenschaftlich fundierte Studien haben gezeigt, dass zur prothetisch funktionellen Wiederherstellung von extrem atrophierten Bereichen des Alveolarkamms Augmentationen mit autologen Beckenkammtransplantaten oft das Mittel der Wahl sind (Wheeler et al. 1996, Nelson et al. 2006, Mertens et al. 2012). Beschrieben sind aber auch Resorptionstendenzen dieser autologen Transplantate bei fehlender Belastung und den damit verbundenen Komplikationen (Donovan et al. 1993). Durch die Verwendung von Membranen verspricht man sich einen Erhalt des Knochenvolumens, da durch die Barrierefunktion ein Einwachsen von Bindegewebe verhindert werden soll (Camargo et al. 2000, Taguchi et al. 2005). Des Weiteren schreibt Taguchi zusätzlich der resorbierbaren porcinen Membran Bio-Gide osteokonduktive Eigenschaften mit Förderung der Osteoblastenaktivität zu (Taguchi et al. 2005).

Bislang existieren aber in der Literatur keine humanen Studien, die den Nutzen von Membranen in Verbindung mit autologen Knochentransplantaten aufzeigen. Lediglich in Tierstudien wurde der Einsatz von nicht resorbierbaren Membranen auf die Resorption beschrieben (Jensen et al. 1995, Jardini et al. 2005). Während bei einigen Autoren eine verbesserte Regenerationsfähigkeit bei Verwendung von nicht resorbierbaren Membranen nach Augmentation autologer Kalottentransplantate diskutiert wurde (Jardini et al. 2005), zeigen andere Autoren keinen Unterschied in der Prävention der Resorption (Jensen et al. 1995). Ein Beweis eines möglichen

positiven Einflusses auf die Knochenneuformationsrate und Verhinderung einer Resorptionstendenz konnte demzufolge bis dato bei Verwendung von Beckenkammtransplantaten in humanen Untersuchungen noch nicht dargestellt werden. Diese Fragestellung war somit Bestandteil der vorliegenden Untersuchung. Es sollte die Resorptionsrate und Knochenneuformationsrate im split-mouth Modell zwischen einer reinen Periostabdeckung und Abdeckung mittels resorbierbarer Membran bei Patienten nach Beckenkammtransplantation evaluiert werden.

Es ist bekannt, dass die Resorptionrate in den ersten sechs Monaten post augmentationem am größten ist und von der kortikalen Dicke sowie der Dichte des Knochenmaterials beeinflusst wird (Lundgren et al. 1997). Die in der vorliegenden Studie verwendeten Knochentransplantate wurden alle vom oberen Rand der medianen vorderen Beckenschaufel entnommen. Blocktransplantate dieser Region zeichnen sich neben einem spongiösen Anteil auch durch einen zirkulären kortikalen Anteil aus (Sjöström et al. 2007, De Bruyn et al. 2011, Nelson et al. 2006). In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass nicht die embryonale Herkunft des Knochens entscheidend für die Resorptionrate ist, sondern die kortikalen Anteile beeinflussend auf das Volumen der Transplantate wirken (Ozaki & Buchmann 1998). Der kortikale Knochen besitzt im Gegensatz zum spongiösen Knochen keine Trabekel und auch der Knochenumbau erfolgt nach anderen Mechanismen. Beim kortikalen Knochen entstehen durch tunnelierend arbeitende Osteoklasten Resorptionskavitäten, Osteoblasten verschiedener Reifungsstadien folgen und initiieren die Bildung neuen Knochens. Beim trabekulären Knochen hingegen beginnen die Resorptionserscheinungen an den Grenzflächen zwischen dem Knochenmark und den Trabekeln. Studien zufolge, dauert die Revaskularisation kortikaler Transplantate als essentielle Voraussetzung für den

Knochenumbauprozess länger als die von spongiösen Transplantaten (Parfitt 2004). Es konnte jedoch auch gezeigt werden, dass die Umbaurate im kortikalen Knochen doppelt so schnell funktioniert wie im trabekulären Knochen (Parfitt 2004).

Um die Resorptionstendenz der Beckenkammtransplantate zu berücksichtigen, werden in der Literatur verschiedene Modelle des zeitlichen Managements der Implantatsetzung diskutiert. Manche Autoren präferieren die Sofortimplantation simultan zur Augmentation (Nyström et al. 2004, van der Meij et al. 2005). Dabei gilt es aber verschiedene erhöhte Risiken, wie Wunddehiszenzen mit sich anschließendem Totalverlust des Augmentates und der Implantate oder Infektionen in dem Bereich zu berücksichtigen (Chiapasco et al. 2006). Des Weiteren ist meist die optimale Positionierung des Augmentates und der Implantate aus prothetischer Sicht eine Herausforderung. Obwohl bereits einige wenige Studien gezeigt haben, dass verkürzte Einheilzeiten von 3 - 4,5 Monaten ausreichend sind (Pinholt 2003, Nelson et al. 2006), um langfrisitig gute Erfolge bei der Implantation zu erreichen, werden in der Literatur bei der verzögerten Implantation post augmentationem meist Einheilzeiten autologer Beckenkammtransplantate von mindestens 4 - 6 Monaten beschrieben (Sjöström et al. 2007, De Bruyn et al. 2011, Mertens et al. 2012). Dabei verspricht man sich nach dieser Zeit die knöcherne Regeneration und Integration des Implantates verbunden mit einer höheren Stabilität desselbigen durch einen verbesserten Kontakt zwischen Implantatoberfläche und vitalem Knochen (Rasmusson et al. 1999). Alle in der vorliegenden Studie untersuchten Transplantate zeigten aber bereits nach drei Monaten eine klinisch sichtbare revaskularisierte kortikale Oberfläche. Histologisch konnten diese Ergebnisse untermauert werden. Eine initiale Resorption war nachweisbar, diese war aber mit durchschnittlich 1,2 mm

für beide Verfahren als gering einzustufen. Ein Unterschied zwischen Membran- und Periostabdeckung konnte nicht gefunden werden.

Das Periost besteht aus Fibroblasten, Osteoblasten und mesenchymalen Zellen, die die Eigenschaft haben, in verschiedene Gewebearten proliferieren zu können (Ellender et al. 1988, De Bari et al. 2006, Bei et al. 2012). Autoren behaupten auch, das Periost fördert die Quantität der Knochenneuf ormation (Song et al. 2002, Philip et al. 2005). In der vorliegenden Studie wurde die Knochenneuf ormationsrate der membrangedeckten und periostgedeckten Transplantate histologisch untersucht. Des Weiteren wurde die Knochenneuf ormation im apicalen oder coronalen Bereich der jeweiligen Biopsie gemessen. Die Ergebnisse zeigten keinen Unterschied zwischen beiden Methoden, aber sowohl bei der Periostabdeckung und auch bei der membrangedeckten Seite wurde eine höhere Knochenneuf ormationsrate im apicalen Bereich gegenüber dem coronalen Bereich gemessen. Folglich ist die gefäßreiche Periostabdeckung nicht hauptverantwortlich für die Knochenregeneration. Die Revaskularisierung des Augmentates und damit der Remodellierungsprozess scheint somit vom ortständigen Knochen auszugehen. Gleichzeitig war anhand der Klinik und der Histologien ersichtlich, dass eine Einheilzeit von 3 Monaten ausreichend ist, um von einer ausreichenden Revaskularisierung zu sprechen. Des Weiteren scheint die Art des entnommenen Transplantates und die Verkürzung der Einheilzeit auf 3 Monate einen positiven Einfluss auf die Resorptionstendenz zu haben.

7.2. Histomorphometrische Analyse der Knochenneufbildungsrate von mit Bio-Oss augmentierten Extraktionsalveolen nach sechswöchiger Einheilzeit

Anhand der vorliegenden Studie wurde die Knochenneufbildungsrate von augmentierten Extraktionsalveolen nach sechs Wochen Einheilzeit evaluiert. Dieser Zeitpunkt wurde gewählt, da verschiedene Autoren in ihren histologischen Studien bei ungefüllten Alveolen von einem initialen Schub an Knochenneufbildung in der Alveole innerhalb der ersten sechs Wochen sprechen. Meist handelt es sich allerdings um beschreibende histologische Untersuchungen ohne quantitative Angaben des sich neu formierten Knochens (Boyne 1966, Amler 1969, Evian et al. 1982).

Die vorliegende Studie sollte nun aufzeigen, inwieweit eine Augmentation die Knochenneufbildungsrate in der Alveole innerhalb der ersten sechs Wochen beeinflusst. Als Augmentationsmaterial wurde dazu das xenogene Material Bio-Oss Collagen eingesetzt. Man weiß um die osteokonduktive Wirkung dieses Knochenersatzmaterials (Schlegel et al. 2000). Die Arbeitsgruppe um Araújo et al. untersuchte das Heilungsverhalten von mit Bio-Oss und Bio-Oss Collagen augmentierten Alveolen nach verschiedenen Zeitpunkten in caninen Alveolen. Während im initialen Stadium der postextraktionellen Heilung nach Augmentation Zeichen einer verzögerten Wundheilung im Vergleich zu ungefüllten Alveolen dokumentiert wurden (Araújo et al. 2010), konnte man in einer weiteren Studie nach drei Monaten nachweisen, dass die Bio-Oss-Partikel großflächig von neu gebildetem Knochen inkorporiert waren (Araújo et al. 2008). Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigen nach 6 Wochen post extractionem und

augmentationem eine Knochenneuformationsrate mit durchschnittlich etwa 25 %, damit fällt diese im Vergleich zu einer Studie mit ungefüllten Alveolen zum ähnlichen Zeitpunkt etwas geringer aus (Trombelli et al. 2008). Anzeichen für eine verzögerte Wundheilung nach sechs Wochen konnten in den humanen Alveolen nicht gefunden werden, da in keiner der Biopsien Entzündungszellen vorhanden waren.

Histologische Studien an augmentierten Alveolen mit quantitativen Aussagen zu diesem Zeitpunkt existieren bis dato nicht. Letztlich findet man nur Untersuchungen mit längeren Zeitverläufen. Aber auch bei Studien, die einen Nachuntersuchungszeitraum von 4 Monaten post extractionem und augmentationem mit Bio-Oss Kollagen oder von 7 Monaten nach reiner Bio-Oss Augmentation wählten, werden mit durchschnittlich etwa 25 - 27 % Knochenneuformation in der Alveole ähnliche Werte wie in der vorliegenden Studie dokumentiert (Cardaropoli et al. 2012, Carmagnola et al. 2003). Folglich scheint sich der Anteil an Knochengewebe nach initialem Anstieg ab einem Punkt über die Zeit nicht mehr zu verändern.

Als ein weiteres Ergebnis zeigt die vorliegende Studie, dass die interindividuellen Knochenneuformationsraten der Alveolen stark variieren. Auch die Anteile mit provisorischer Matrix (mesenchymale Zellen, eingebettet in faserartiges Bindegewebe) sind von Alveole zu Alveole sehr verschieden. So zeigten sich nicht nur histologisch sondern auch klinisch Alveolen, die bereits nach sechs Wochen vollständig verknöchert waren. Bei anderen Alveolen war die Knochenneuformation vornehmlich im apicalen Bereich nachweisbar, andere bestanden fast vollständig aus provisorischer Matrix. Die Variabilität wurde auch von Trombelli und Mitarbeiter bei nicht augmentierten Alveolen beschrieben (Trombelli et al. 2008). Als Gründe werden

individuelle Faktoren vermutet, die beeinflussend auf die physiologische Umbaurate wirken, aber dazu fehlen bis dato fundierte wissenschaftliche Ergebnisse.

Im Vergleich zeigen die Alveolen im apicalen Bereich signifikant höhere Knochenneuformationsraten als im coronalen Bereich. Daraus ist zu schlussfolgern, dass die initiale Heilung und damit Knochenneuformation von apical ausgeht. Ähnliche Beobachtungen wurden auch von anderen Autoren berichtet (Amler 1969, Evian 1982). In der Literatur wurde ebenfalls diskutiert, inwieweit das periodontale Ligament einen Einfluss auf die Knochenneubildung hat (Todo 1968 a,b). Es entstand die Vermutung, dass diese entscheidend an der knöchernen Regeneration bei der alveolären Heilung beteiligt sind. Andere Studien hingegen widerlegten diese Hypothese und zeigten keinen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des periodontalen Ligaments und der Knochenneuformationsrate (Lin et al. 1994, Cardaropoli et al. 2005). In der vorliegenden, nun ersten humanen Studie konnte ebenfalls kein Hinweis dazu gefunden werden. Bei allen Patienten wurde nach der Extraktion die Alveole sorgfältig kürettiert, somit wurde das periodontale Ligament vollständig entfernt und kann damit nicht entscheidend an der knöchernen Ausheilung der Alveole beteiligt sein.

Schlussfolgernd ist zu sagen, die knöcherne Regeneration der Alveole geht von apical aus. Im Vergleich zu Studien an ungefüllten Alveolen fällt die Knochenneuformationsrate mit durchschnittlich 10 % etwas geringer aus. Da aber zum einen große interindividuelle Unterschiede in den Knochenneuformationsraten bestehen und zum anderen histologisch kein Anhalt für endzündliche Prozesse vorliegt, kann man daraus ableiten, dass sich Bio-Oss Collagen nicht negativ auf die Knochenneuformation in der Alveole nach 6 Wochen Einheilzeit auswirkt.

7.3. Bestimmung der Knochenneuf ormation in augmentierten und nicht augmentierten Extraktionsalveolen nach zwölfwöchiger Einheilzeit

In dieser Studie wurde die Knochenneuf ormationsrate im Vergleich zwischen gefüllten und ungefüllten Alveolen nach zwölf Wochen Einheilzeit untersucht. Während bei den augmentierten Alveolen eine Knochenneuf ormation von etwa 25 % dokumentiert wurde, lag diese bei den nicht augmentierten Alveolen um etwa 10 -15 % höher. Bis dato existieren in der Literatur keine Studien, die den direkten Vergleich zwischen gefüllten und ungefüllten Alveolen zum gleichen Zeitpunkt nach 12 Wochen untersuchen.

Betrachtet man zunächst nur die Ergebnisse der Knochenneuf ormationsrate der ungefüllten Alveolen, so finden sich nach 3 Monaten Beobachtungszeit vergleichbare Werte in anderen Studien (Trombelli et al. 2008, Brownfield & Weltman 2012). Lediglich eine Untersuchung beschreibt eine höhere Knochenneuf ormation nach 3 Monaten (Ahn & Shin 2008). In dieser Studie wurde das Heilungsverhalten von parodontal geschädigten Alveolen mit dem von intakten Alveolen histomorphometrisch verglichen. Bei näherer Betrachtung der Studie ist zu berücksichtigen, dass lediglich 3 intakte Alveolen in die Auswertung mit einbezogen wurden. Die vorliegende Studie und als auch die bereits zitierten Studien nach 6 als auch nach 12 Wochen dokumentieren große interindividuelle Unterschiede zwischen den verschiedenen Gewebetypen (Trombelli et al. 2008). Folglich ist die Aussagekraft der Studie von Ahn & Shin (2008) nur als bedingt einzustufen.

Die Knochenneuf ormationsrate in den gefüllten Alveolen lag in der vorliegenden Untersuchung bei etwa 25 %. Damit war die Knochenneuf ormationsrate in den augmentierten Alveolen aus der vorherigen Untersuchung nach sechs Wochen vergleichbar zu den Ergebnissen dieser Studie. Die Arbeitsgruppen um Carmagnola

und um Caradopoli zeigen nach jeweils 4 Monaten post augmentationem zu den erwähnten Werten keinen Unterschied (Camagnola et al. 2003, Cardaropoli et al. 2012). Die Ergebnisse unterstützen die bereits aufgestellte These, dass im Verlauf des hier untersuchten Heilungszeitraumes die Knochenneuformationsrate nicht weiter zunimmt und sich eher die osteogene Differenzierung oder Reifung des Gewebes anschließt.

In der vorliegenden Studie wurde bei den zu augmentierten Alveolen das xenogene Material Bio-Oss Collagen eingesetzt. Aus der Literatur ist bekannt, Bio-Oss resorbiert im Zeitverlauf nicht oder nur in geringem Maß (Diés et. al. 1996, Tapety et al. 2004). Sind Resorptionserscheinungen beschrieben, dann folgen sie dem physiologischen Muster des normalen Umbauprozesses durch Osteoklasten (Tapety et al. 2004). Da in der vorliegenden Studie der Anteil an dokumentierten Bio-Oss Partikel prozentual vergleichbar zu denen in Studien mit kürzeren und längeren Nachuntersuchungszeiträumen ist (Carmagnola et. al. 2003, Cardaropoli et al. 2012), bestätigt sich die sehr geringe Resorptionstendenz. Zumal wurden weder in der Studie nach sechs Wochen noch nach 12 Wochen Einheilzeit Osteoklasten auf der Oberfläche der Bio-Oss Partikel gefunden. Entzündungszeichen konnten ebenfalls zu keinem der beschriebenen Zeitpunkte beobachtet werden. Histologisch bestand zwar ein Unterschied in der Knochenneuformationsrate, aber Zeichen einer gestörten Inkorporation des Augmentationsmaterials waren nicht nachweisbar. Bei klinischer Beurteilung der Ergebnisse wird ersichtlich, die Summe der Knochenneuformationsrate der gefüllten Alveole und der Anteil an festen Bestandteilen in Form des Augmentationsmaterials entsprechen zahlenmäßig der gesamten Knochenneuformationsrate der ungefüllten Alveolen. Ob diese Platzhalterfunktion auch zum langfristigen Volumenerhalt der Extraktionsalveole

beiträgt so wie es bereits in Tierstudien beschrieben wurde (Rothamel et al. 2007, Fickl et al. 2008a,b), ist bis dato ungeklärt.

7.4. Immunhistologische Analyse mesenchymaler Zellen der provisorischen Matrix von gefüllten und ungefüllten Extraktionsalveolen nach sechswöchiger Einheilzeit

Die bisher vorgestellten Studien zeigten große interindividuelle Unterschiede in der Rate der Knochenneubildungen. Gleichzeitig fand man in den Histologien unterschiedlich große Bereiche an provisorischer Matrix. Manche Biopsie bestanden fast vollständig aus provisorischer Matrix, andere zum gleichen Zeitpunkt entnommene Histologien hatten nur sehr geringe Anteile an provisorischer Matrix. Das augmentative Verfahren und die unterschiedlich gemessene Zelldichte der provisorischen Matrix hatte keinen Einfluss auf den Reifegrad des Gewebes in der Alveole. Die Gründe für diese Varianzen sind bis dato noch nicht bekannt. Vermutet werden individuelle, die Knochenphysiologie beeinflussende Faktoren.

Die vorliegende Studie sollte nun die Identität der mesenchymalen Zellen in der provisorischen Matrix klären. Um deren osteogenes Potential zu bestimmen, wurde hierzu Cbfa1/Runx2 verwendet, da es bereits sehr früh in den mesenchymalen Zellen zu finden ist und eine zentrale Rolle bei der Steuerung der desmalen Osteogenese spielt. Cbfa1/Runx2 ist aber auch am chondralen Wachstum beteiligt (Komori & Kishimoto 1998, Franceschi et al. 2007). Die Arbeitsgruppe um Chao und Inoue konnte in einer Untersuchung aus dem Jahr 2003 anhand von biophysikalischer Stimulation der Frakturheilung im Tiermodell zeigen, dass im Alveolarkamm Heilungsprozesse anhand der desmalen Ossifikation stattfinden (Chao & Inoue 2003). Bestätigt wurden diese Aussagen auch von Hasegawa et al. in einer

humanen Studie (Hasegawa et al. 2012). Cbfa1/Runx2 ist in allen osteogenen Zellen unabhängig des osteogenen Differenzierungsgrades nachweisbar (Komori et al. 1998, Franceschi et al. 2007). Aus diesem Grund gelingt es mit Cbfa1/Runx2 osteogene Zellen nachzuweisen, jedoch erlaubt es keine Aussagen über den Reifegrad der osteogenen Zellen. Hierzu wurden zwei weitere Antikörper verwendet. OSN (Sparc) wird entlang der Osteoblastenlinie in reifen Osteoprogenitorzellen bis hin zu Osteoblasten exprimiert, aber auch in Endothelzellen, Fibroblasten, Chondrozyten und glatten Muskelzellen sekretiert (Reed & Sage 1996). Osteocalcin, welches als weiterer Antikörper in dieser Studie eingesetzt wurde, gilt seit langem als hochspezifischer Marker für Osteoblasten (Price et al. 1980, Termine et al. 1981). Die in dieser Studie verwendeten drei Antikörper dienen folglich zum einen dem Nachweis osteogener Zellen in der provisorischen Matrix und zum anderen erlauben sie die Differenzierung des Reifegrades der mesenchymalen Zellen innerhalb der osteoblastären Differenzierungskaskade.

Innerhalb der provisorischen Matrix der vorliegenden Studie waren sowohl in den gefüllten als auch in den ungefüllten Alveolen zwei Drittel der mesenchymalen Zellen immunoreaktiv für Cbfa1/Runx2. Infolgedessen weist die provisorische Matrix nach 6 Wochen ein hohes osteogenes Potential auf. Mehr als die Hälfte der mesenchymalen Zellen waren OSN (Sparc) positiv und der Anteil der OC positiven Zellen lag zwischen 10 – 20 %. Auch hier zeigte sich kein Unterschied zwischen den augmentierten und nicht augmentierten Alveolen. Zu diesem Zeitpunkt sind demnach unterschiedliche Reifungsgrade entlang der osteoblastären Reifungslinie in der Alveole zu finden. In der Literatur finden sich nur wenige Untersuchungen, die sich mit dem osteogenen Potential der provisorischen Matrix beschäftigen. Trombelli et al. (2008) verwenden in ihrer beschreibenden Untersuchung an ungefüllten

Alveolen die Marker BMP-7 und Osteocalcin. BMP-7 ist auch beschrieben als osteogenes Protein-1 und wird entlang der osteoblastären Zelllinie im frühen Stadium exprimiert (Itoh et al. 2001, Chen et al. 2004). Ohne quantitative Aussagen konnte anhand der verwendeten Antikörper gezeigt werden, dass osteogene Zellen in der provisorischen Matrix vorhanden sind. Untersucht wurden aber nur die Bereiche der provisorischen Matrix, die sich direkt am Übergang zum neu formierten Knochen darstellten. Die restlichen Anteile der provisorischen Matrix wurden nicht berücksichtigt und analysiert. Eine weitere Arbeitsgruppe um Devlin und Sloan untersuchte in der frühen Phase die alveoläre Heilung an ungefüllten Alveolen immunhistologisch mit Cbfa1/Runx2 und zwei weiteren Proteinen SB-10 und SB-20. Bei diesen handelt es sich um monoclonale Antikörper (Bruder et al. 1997), die frühzeitig in humanen mesenchymalen Zellen exprimiert werden. Nach zwei Wochen wurden positive Zellen für die drei Antikörper nicht nur im zentralen Bereich der Alveole nachgewiesen, sondern auch im periodontalen Ligament. Auch in dieser Studie wurden keine metrischen Analysen durchgeführt. Anhand der Ergebnisse entstand erneut die Vermutung, dass diese Fasern verantwortlich für die Knochenneuf ormation in der Alveole seien. Ähnliche Ausführungen wurden wie bereits erwähnt auch von anderen Autoren beschrieben (Todo 1968 a,b). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie und weitere Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen können diese Vermutung nicht bestätigen (Lin et al. 1994, Cardaropoli et al. 2005). Es fehlen in der Studie von Devlin und Sloan (2002) quantitative Aussagen der Zellverteilung, außerdem wurden insgesamt nur drei Alveolen von Patienten mit Tumorerkrankung in der Mundhöhle untersucht. Mögliche Einflüsse beim Heilungsverhalten aufgrund der Tumorerkrankung sind dabei nicht auszuschließen.

Erstmalig wurde in der vorliegenden Studie das osteogene Potential in verschiedenen Regionen innerhalb der Alveole bestimmt. Die Ergebnisse zeigen nach sechs Wochen im apicalen Bereich eine höhere Anzahl positiver Zellen für alle Antikörper als im coronalen Bereich. Demnach ist das osteogene Potential und der Reifegrad der mesenchymalen Zellen im apicalen Bereich zu diesem Zeitpunkt höher. Diese Aussagen decken sich mit Untersuchungen anderer Autoren, die beschrieben haben, dass die Knochenneuf ormation von apical ausgeht (Amler 1969, Ahn & Shin 2008, Trombelli et al. 2008).

In der vorliegenden Untersuchung wurden ungefüllte und mit Bio-Oss Collagen gefüllte Alveolen hinsichtlich des osteogenen Potentials miteinander verglichen. Wie bereits erwähnt, fand sich kein Unterschied hinsichtlich der Anzahl der Cbfa1/Runx2 positiven Zellen bei beiden Gruppen. Für die beiden anderen Transkriptionsmoleküle konnte ebenfalls keine entscheidende Differenz festgestellt werden. Folglich scheint sich das Knochenersatzmaterial Bio-Oss Collagen nicht negativ auf die osteogene Differenzierung der mesenchymalen Zellen innerhalb der provisorischen Matrix auszuwirken. Bis dato findet man in der Literatur nur Tierstudien mit dem Hintergrund der immunhistologischen Analyse des osteogenen Potentials von Bio-Oss. Tapety et al. (2004) untersucht im Tiermodell Ratte Bio-Oss gefüllten Knochendefekte mit alkalische Phosphatase (ALP), Osteocalcin und EDI (anti-rats macrophages). Unter der Berücksichtigung der physiologischen Umbaurate zwischen tierischem und menschlichem Organismus (Vignery & Baron 1980, Pearce et al. 2007), beobachtete er bereits nach drei Tagen große Mengen an ALP-positiven Osteoblasten und nach fünf Tagen bereits beginnende Knochenneuf ormation. Entzündungszellen in Form von Makrophagen ließen sich nicht nachweisen. Das deckt sich auch mit den Aussagen der vorliegenden Studie.

In einer Tierstudie am Hund hingegen spricht die Arbeitsgruppe um Araújo von einer initial verzögerten Heilung nach Augmentation von Bio-Oss Collagen nach zweiwöchiger Einheilzeit (Araújo et al. 2009). Beschrieben werden in den Histologien neben Anteilen von provisorischer Matrix, wenige Bereiche von Knochenneuf ormation. Des Weiteren berichten sie von Entzündungszellen an den Partikeloberflächen des Knochenersatzmaterials. Die Histologien der vorliegenden Studie zeigen zum Zeitpunkt sechs Wochen weder in den gefüllten noch in den ungefüllten Alveolen Entzündungszellen. Hinsichtlich der unterschiedlichen physiologischen Umbaurate zwischen Mensch und Tier kann man deshalb vermuten, dass wenn eine Fremdkörperreaktion auf das Knochenersatzmaterial in der heilenden Alveole bestehen sollte, diese möglicherweise zu einem früheren Zeitpunkt als sechs Wochen nachweisbar wäre.

7.5. Knochenphysiologische Vorgänge in gefüllten und ungefüllten

Extraktionsalveolen

In dieser Studie wurde das osteogene und angiogene Potential der provisorischen Matrix in gefüllten und ungefüllten Alveolen nach vier und zwölf Wochen verglichen. Verwendet wurden dabei die Antikörper Cbfa1/Runx2 und Osteocalcin zur Bestimmung des osteogenen Potentials sowie CD31 für das vaskuläre Potential. Die Ergebnisse nach 4 Wochen post extractionem zeigten, dass unabhängig von dem Augmentationsverfahren durchschnittlich etwa 60 % der mesenchymalen Zellen in der Alveole Cbfa1/Runx2 positiv waren. Das entspricht auch der Anzahl der Cbfa1/Runx2 positiven Zellen, die nach 12 Wochen dokumentiert wurden. Zu beiden Zeitpunkten wurden hohe Varianzen in der Anzahl der Cbfa1/Runx2 positiven Zellen in den augmentierten und nicht augmentierten Alveolen gefunden. So fanden sich

Alveolen, die nur 10 % positive Zellen aufwiesen, andere Alveolen zeigten über 90 % positive Zellen. Die bereits für andere Zeitpunkte beschriebenen interindividuellen Varianzen durch die vorliegenden Studien und Untersuchungen anderer Autoren (Trombelli et al. 2008) scheinen somit augmentations- und zeitunabhängig zu sein.

Osteocalcin wurde auch in dieser Studie als zweiter osteogener Differenzierungsmarker eingesetzt. In den nach vier Wochen entnommenen Biopsien zeigte sich, dass eine von fünf mesenchymalen Zellen Osteocalcin positiv waren, folglich sind zu diesem frühen Zeitpunkt der alveolären Heilung etwa 20 % reife Osteoblasten. Gleichzeitig konnte man zeigen, dass apical signifikant mehr Zellen Osteocalcin positiv waren als coronal. Nach zwölf Wochen post extractionem wurde hinsichtlich der Osteocalcin positiv angefärbten Zellen ein deutlicher Rückgang vermerkt. Es wurden nur noch Werte um die 7 % für den apicalen und 11 % für den coronalen Bereich gemessen. Das Augmentationsverfahren zeigte auch hier keinen Einfluss. Daraus lässt sich vermuten, dass sich die Aktivität der Osteoblasten über die Zeit verändert. Nach einem Aktivitätsschub der Osteoblasten zum frühen Zeitpunkt nach vier Wochen, scheinen einige Osteoblasten in ein inaktives Stadium überzugehen. Man weiß um die Eigenschaft von osteoblastären Zellen, den sogenannten bone-lining-cells, dass sie von einem aktiven Stadium in ein inaktives Stadium und umgekehrt differieren können (Chow et al. 1998, Eriksen 2010). Des Weiteren wird diesen Zellen eine Aufgabe in der homöostatischen Regulation des Knochenstoffwechsels zugesprochen, dennoch sind die genauen Regulationsmechanismen dieser Zellen bis dato unerforscht. Alles in allem kann man anhand der vorliegenden Ergebnisse vermuten, dass die höchste osteoblastäre Aktivität bereits in den ersten vier Wochen post extractionem stattfindet.

Neben dem osteoblastären Potential wurde in dieser Studie das angiogene Potential untersucht. Aus der Literatur weiß man, Endothelzellen wirken beeinflussend auf die Stimulation der osteoblastären Entwicklung (Fuchs et al. 2007, 2009, Ishida et al. 2010). Die vorliegenden Ergebnisse zeigen anhand eines Scores wesentlich mehr CD31 positive Zellen nach vier Wochen als nach 12 Wochen. Während nach vier Wochen mehr CD31 positive Zellen apical gezählt wurden, war nach zwölf Wochen der größere Anteil in der coronalen Region nachweisbar. Im Zusammenhang mit den Resultaten der osteogenen Differenzierungsmarker lässt sich daraus schlußfolgern: die Veränderung des angiogenen Potentials korreliert mit einer Veränderung der Osteoblastenaktivität. Je höher das angiogene Potential war, desto mehr Osteoblasten waren nachweisbar. Dieses lässt sich sowohl im regionalen Bereich der Alveole als auch im zeitlichen Verlauf der postextraktionellen Heilung nachweisen. Mit steigendem Alter des Patienten wurden weniger CD31 positive Zellen nach 12 Wochen dokumentiert. Bereits Aronson und Mitarbeiter hatten in Tierstudien zeigen können, dass sich das Potential der Angiogenese und Osteogenese in älteren Organismen verringert (Aronson et al. 2001, Aronson 2004). Evidenzbasierte humane Studien fehlten bis dato.

Ein weiterer Fokus der vorliegenden Studie war der Vergleich zwischen den gefüllten und ungefüllten Alveolen zwischen den beiden Zeitpunkten. Es wurde kein signifikanter Unterschied nach 4 und nach 12 Wochen in der Anzahl der osteogenen Zellen und der CD31 positiven Zellen gefunden. Demnach hat das Augmentationsverfahren mit Bio-Oss Kollagen weder zu dem frühen Zeitpunkt nach 4 Wochen als auch nach 12 Wochen einen Einfluß auf die Osteogenese und Angiogenese post extractionem.

8. Zusammenfassung

Die Kenntnis knochenphysiologischer Zusammenhänge im Bereich des Alveolarkamms ist von entscheidender Bedeutung, um etwaige implantologische Therapiekonzepte nach Verlust von Zähnen und den damit verbundenen Hart- und Weichgewebsverlusten etablieren zu können. Sind die resultierenden knöchernen Defekte von einem bestimmten Ausmaß, ist nach wie vor die Augmentation von autologen Transplantaten der Goldstandard in der Implantattherapie. Neben den osteoinduktiven, osteogenetischen und osteokonduktiven Eigenschaften der autologen Transplantate und der damit verbundenen positiven Vorhersagbarkeit des augmentativen Verfahrens weiß man um den Nachteil der zeitbedingten Resorption. In der Literatur werden aus diesem Grund verschiedene Möglichkeiten der Verringerung der Resorptionstendenz diskutiert. Im Rahmen einer Studie konnte gezeigt werden, dass autologe Beckenkammtransplantate bei großen Defekten sowohl mit Periostabdeckung als auch mit einer porcinen resorbierbaren Membranabdeckung nach 3 Monaten vollständig eingeeilt sind. Es konnte weiterhin herausgearbeitet werden, die zusätzliche Verwendung von Membranen bietet keinen Vorteil gegenüber der Periostabdeckung in Hinsicht auf die Rate der Knochenneuf ormation.

Das Defektmodell der Extraktionsalveole war Bestandteil weiterer Untersuchungen. Nach der Extraktion von Zähnen resultiert ein unweigerlicher Verlust von Knochen in vertikaler und horizontaler Dimension. Es existieren in der Literatur dazu verschiedene Konzepte des Zeitmanagements der Implantatsetzung. Um funktionellen und ästhetischen Ansprüchen der implantprothetischen Rehabilitation in Bereichen extrahierter Zähne gerecht zu werden, wurde der zeitliche Heilungsverlauf in der Alveole beschrieben. Gleichzeitig wurde evaluiert, ob eine Augmentation der

Alveole einen Einfluss auf die Geweberegeneration hat. Der Fokus der beiden ersten Untersuchungen lag auf der metrischen Analyse der Knochenneuf ormation in der Alveole. Es zeigten sich große interindividuelle Varianzen bezüglich der Knochenneuf ormationsraten innerhalb der Alveolen. Im apicalen Bereich ist die Rate der Knochenneuf ormation gegenüber der coronalen Region größer. Folglich geht die initiale Knochenneuf ormation von apical aus. In einer zweiten Untersuchung wurde der Zeitraum 12 Wochen gewählt und die Knochenneuf ormation zwischen gefüllten und ungefüllten Alveolen verglichen. Es wurde ein signifikanter Unterschied in der Knochenneuf ormation dokumentiert. Im Vergleich zur Literatur wurde aber auch belegt, dass sich die Knochenneuf ormationsrate bei den gefüllten Alveolen nach sechs und 12 Wochen nicht unterschied. Folglich findet nach der ersten initialen Neuf ormation von Knochen innerhalb der ersten sechs Wochen im weiteren zeitlichen Heilungsverlauf nur noch eine Reifung des Knochens statt. Anhand der vorgestellten Untersuchungen wurde auch gezeigt, dass zu beiden Zeitpunkten neben großen Varianzen in der Knochenneuf ormation auch verschieden große Anteile an provisorischer Matrix dokumentiert wurden. Die provisorische Matrix wird beschrieben als mesenchymale Zellen, die in faserartiges Bindegewebe eingebettet sind. Die Analyse des osteogenen und angiogenen Potentials dieser provisorischen Matrix nach 4, 6 und 12 Wochen war Bestandteil der folgenden Untersuchungen. Es wurden augmentierte und nicht augmentierte Alveolen in die Untersuchungen einbezogen. Dabei wurden immunhistochemische Verfahren eingesetzt. Mit den verwendeten Antikörpern konnte ein hohes osteogenes Potential der provisorischen Matrix zu jedem untersuchten Zeitpunkt nachgewiesen werden. Die osteoblastäre Aktivität geht von apical aus. Nach vier Wochen ist diese am ausgeprägtesten und nimmt bis zum Zeitpunkt 12 Wochen ab. Das angiogene Potential verhält sich dazu

konform. Das Augmentationsmaterial zeigte zu keinem Zeitpunkt der Untersuchungen einen Einfluss, weder auf das osteogene noch auf das angiogene Potential der provisorischen Matrix.

Zusammenfassend ist zu sagen: nach den ersten vier bis sechs Wochen findet ein Schub an Knochenneuf ormation statt, anschließend erfolgt nur noch eine Reifung der osteogenen Zellen. Zu jedem Zeitpunkt sowohl bei den festen knöchernen Bestandteilen als auch bei den Anteilen der provisorischen Matrix existieren große interindividuelle Variationsbereiche. Das Augmentationsmaterial Bio-Oss Collagen wirkte sich dabei weder nachteilig auf die Knochenneuf ormation noch auf das osteogene oder vaskuläre Potential aus. Klinisch gesehen gilt es daher zu berücksichtigen, dass eine Implantation bereits nach 4 - 6 Wochen suffizient möglich ist.

9. Literatur

Ahn JJ, Shin HI. Bone tissue formation in extraction sockets from sites with advanced periodontal disease: a histomorphometric study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008 Nov-Dec;23(6):1133-8.

Alford AI, Hankenson KD. Matricellular proteins: Extracellular modulators of bone development, remodeling, and regeneration. *Bone*. 2006 Jun;38(6):749-57.

Al-Harbi SH. Minimizing trauma during tooth removal: a systematic sectioning approach. *Eur J Esthet Dent*. 2010 Autumn;5(3):274-87.

Amir LR, Becking AG, Jovanovic A, Perdijk FB, Everts V, Bronckers AL. Formation of new bone during vertical distraction osteogenesis of the human mandible is related to the presence of blood vessels. *Clin Oral Implants Res*. 2006 Aug;17(4):410-6.

Amler MH. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1969 Mar;27(3):309-18.

Araújo MG, Liljenberg B, Lindhe J. Beta-Tricalcium phosphate in the early phase of socket healing: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 2010 Apr 1;21(4):445-54.

Araújo MG, Liljenberg B, Lindhe J. Dynamics of Bio-Oss Collagen incorporation in fresh extraction wounds: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 2010 Jan;21(1):55-64.

Araújo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*. 2005 Feb;32(2):212-8.

Araújo MG, Lindhe J. Ridge preservation with the use of Bio-Oss collagen: A 6-month study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 2009 May;20(5):433-40.

Araújo MG, Lindhe J. Ridge alterations following tooth extraction with and without flap elevation: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 2009 Jun;20(6):545-9.

Araújo MG, Lindhe J. Socket grafting with the use of autologous bone: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 2011 Jan;22(1):9-13.

Araújo MG, Sukekava F, Wennstrom JL, Lindhe J. Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*. 2005 Jun;32(6):645-52.

Araújo MG, Sukekava F, Wennstrom JL, Lindhe J. Tissue modeling following implant placement in fresh extraction sockets. *Clin Oral Implants Res*. 2006 Dec;17(6):615-24.

Araújo MG, Wennstrom JL, Lindhe J. Modelling of the buccal and lingual bone walls of fresh extraction sites following implant installation. *Clin Oral Implants Res.* 2006 Dec;17(6):606-14.

Aronson J. Modulation of distraction osteogenesis in the aged rat by fibroblast growth factor. *Clin Orthop Relat Res.* 2004 Aug(425):264-83.

Aronson J, Gao GG, Shen XC, McLaren SG, Skinner RA, Badger TM, et al. The effect of aging on distraction osteogenesis in the rat. *J Orthop Res.* 2001 May;19(3):421-7.

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

Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: histomorphometric evaluations at 9 months. *J Periodontol.* 2000 Jun;71(6):1015-23.

Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets: 2. Histochemical observations at 9 months. *J Periodontol.* 2001 Feb;72(2):152-9.

Artzi Z, Tal H, Moses O, Kozlovsky A. Mucosal considerations for osseointegrated implants. *J Prosthet Dent.* 1993 Nov;70(5):427-32.

Atwood DA, Coy WA. Clinical, cephalometric, and densitometric study of reduction of residual ridges. *J Prosthet Dent.* 1971 Sep;26(3):280-95.

Aubin JE, Liu F, Malaval L, Gupta AK. Osteoblast and chondroblast differentiation. *Bone.* 1995 Aug;17(2 Suppl):77S-83S.

Beck TM, Mealey BL. Histologic analysis of healing after tooth extraction with ridge preservation using mineralized human bone allograft. *J Periodontol.* 2010 Dec;81(12):1765-72.

Bei K, Du Z, Xiong Y, Liao J, Su B, Wu L. BMP7 can promote osteogenic differentiation of human periosteal cells in vitro. *Mol Biol Rep.* 2012 Sep;39(9):8845-51.

Beitlitum I, Artzi Z, Nemcovsky CE. Clinical evaluation of particulate allogeneic with and without autogenous bone grafts and resorbable collagen membranes for bone augmentation of atrophic alveolar ridges. *Clin Oral Implants Res.* 2010 Nov;21(11):1242-50.

Berglundh T, Lindhe J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1997 Apr;8(2):117-24.

Bielby R, Jones E, McGonagle D. The role of mesenchymal stem cells in maintenance and repair of bone. *Injury*. 2007 Mar;38 Suppl 1:S26-32.

Bischoff DS, Zhu JH, Makhijani NS, Kumar A, Yamaguchi DT. Angiogenic CXC chemokine expression during differentiation of human mesenchymal stem cells towards the osteoblastic lineage. *J Cell Biochem*. 2008 Feb 15;103(3):812-24.

Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res*. 2011 Feb;26(2):229-38.

Bonjour JP. Calcium and phosphate: a duet of ions playing for bone health. *J Am Coll Nutr*. 2011 Oct;30(5 Suppl 1):438S-48S.

Boskey AL, Gadaleta S, Gundberg C, Doty SB, Ducey P, Karsenty G. Fourier transform infrared microspectroscopic analysis of bones of osteocalcin-deficient mice provides insight into the function of osteocalcin. *Bone*. 1998 Sep;23(3):187-96.

Boskey AL, Posner AS. Bone structure, composition, and mineralization. *Orthop Clin North Am*. 1984 Oct;15(4):597-612.

Botticelli D, Berglundh T, Lindhe J. Hard-tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *J Clin Periodontol*. 2004 Oct;31(10):820-8.

Boyne PJ. Osseous repair of the postextraction alveolus in man. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1966 Jun;21(6):805-13.

Bremm LL, Sallum AW, Casati MZ, Nociti FH, Sallum EA. Guided tissue regeneration in Class II furcation defects using a resorbable polylactic acid barrier. *Am J Dent*. 2004 Dec;17(6):443-6.

Brownfield LA, Weltman RL. Ridge preservation with or without an osteoinductive allograft: a clinical, radiographic, micro-computed tomography, and histologic study evaluating dimensional changes and new bone formation of the alveolar ridge. *J Periodontol*. 2012 May;83(5):581-9.

Bruder SP, Fink DJ, Caplan AI. Mesenchymal stem cells in bone development, bone repair, and skeletal regeneration therapy. *J Cell Biochem*. 1994 Nov;56(3):283-94.

Bruder SP, Horowitz MC, Mosca JD, Haynesworth SE. Monoclonal antibodies reactive with human osteogenic cell surface antigens. *Bone*. 1997 Sep;21(3):225-35.

Bunyaratavej P, Wang HL. Collagen membranes: a review. *J Periodontol*. 2001 Feb;72(2):215-29.

Byrne DP, Lacroix D, Prendergast PJ. Simulation of fracture healing in the tibia: mechanoregulation of cell activity using a lattice modeling approach. *J Orthop Res*. 2011 Oct;29(10):1496-503.

Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Nedic M, Vasilic N, Wolinsky LE, et al. A controlled re-entry study on the effectiveness of bovine porous bone mineral used in

combination with a collagen membrane of porcine origin in the treatment of intrabony defects in humans. *J Clin Periodontol.* 2000 Dec;27(12):889-96.

Canullo L, Heinemann F, Gedrange T, Biffar R, Kunert-Keil C. Histological evaluation at different times after augmentation of extraction sites grafted with a magnesium-enriched hydroxyapatite: double-blinded randomized controlled trial. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Sep 24.

Cardaropoli D, Tamagnone L, Roffredo A, Gaveglione L, Cardaropoli G. Socket preservation using bovine bone mineral and collagen membrane: a randomized controlled clinical trial with histologic analysis. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2012 Aug;32(4):421-30.

Cardaropoli G, Araujo M, Hayacibara R, Sukekava F, Lindhe J. Healing of extraction sockets and surgically produced - augmented and non-augmented - defects in the alveolar ridge. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol.* 2005 May;32(5):435-40.

Cardaropoli G, Araujo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2003 Sep;30(9):809-18.

Carlsson GE, Bergman B, Hedegard B. Changes in contour of the maxillary alveolar process under immediate dentures. A longitudinal clinical and x-ray cephalometric study covering 5 years. *Acta Odontol Scand.* 1967 Jun;25(1):45-75.

Carmagnola D, Adriaens P, Berglundh T. Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss. *Clin Oral Implants Res.* 2003 Apr;14(2):137-43.

Cawood JI, Howell RA. A classification of the edentulous jaws. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1988 Aug;17(4):232-6.

Chao EY, Inoue N. Biophysical stimulation of bone fracture repair, regeneration and remodelling. *Eur Cell Mater.* 2003 Dec 31;6:72-84; discussion -5.

Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors.* 2004 Dec;22(4):233-41.

Cheung LK, Hariri F, Chua HD. Alveolar distraction osteogenesis for oral rehabilitation in reconstructed jaws. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2011 Aug;19(4):312-6.

Chiapasco M, Zaniboni M, Boisco M. Augmentation procedures for the rehabilitation of deficient edentulous ridges with oral implants. *Clin Oral Implants Res.* 2006 Oct;17 Suppl 2:136-59.

Cho TJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Differential temporal expression of members of the transforming growth factor beta superfamily during murine fracture healing. *J Bone Miner Res.* 2002 Mar;17(3):513-20.

Chow JW, Wilson AJ, Chambers TJ, Fox SW. Mechanical loading stimulates bone formation by reactivation of bone lining cells in 13-week-old rats. *J Bone Miner Res.* 1998 Nov;13(11):1760-7.

Claes L, Eckert-Hubner K, Augat P. The effect of mechanical stability on local vascularization and tissue differentiation in callus healing. *J Orthop Res.* 2002 Sep;20(5):1099-105.

Cornell CN, Lane JM. Newest factors in fracture healing. *Clin Orthop Relat Res.* 1992 Apr(277):297-311.

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

De Bari C, Dell'Accio F, Vanlauwe J, Eyckmans J, Khan IM, Archer CW, et al. Mesenchymal multipotency of adult human periosteal cells demonstrated by single-cell lineage analysis. *Arthritis Rheum.* 2006 Apr;54(4):1209-21.

De Bruyn H, Bouvry P, Collaert B, De Clercq C, Persson GR, Cosyn J. Long-Term Clinical, Microbiological, and Radiographic Outcomes of Brånemark Implants Installed in Augmented Maxillary Bone for Fixed Full-Arch Rehabilitation. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2013 Feb;15(1):73-82.

Degidi M, Nardi D, Piattelli A. 10-Year Follow-Up of Immediately Loaded Implants with TiUnite Porous Anodized Surface. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2012 Dec;14(6):828-38.

Devlin H, Sloan P. Early bone healing events in the human extraction socket. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002 Dec;31(6):641-5.

Dies F, Etienne D, Abboud NB, Ouhayoun JP. Bone regeneration in extraction sites after immediate placement of an e-PTFE membrane with or without a biomaterial. A report on 12 consecutive cases. *Clin Oral Implants Res.* 1996 Sep;7(3):277-85.

Donovan MG, Dickerson NC, Hellstein JW, Hanson LJ. Autologous calvarial and iliac onlay bone grafts in miniature swine. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993 Aug;51(8):898-903.

Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell.* 1997 May 30;89(5):747-54.

Dym H, Huang D, Stern A. Alveolar bone grafting and reconstruction procedures prior to implant placement. *Dent Clin North Am.* 2012 Jan;56(1):209-18, x.

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

Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res.* 1998 Oct(355 Suppl):S7-21.

Ellender G, Feik SA, Carach BJ. Periosteal structure and development in a rat caudal vertebra. *J Anat.* 1988 Jun;158:173-87.

Eriksen EF. Cellular mechanisms of bone remodeling. *Rev Endocr Metab Disord.* 2010 Dec;11(4):219-27.

Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: a Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2006 Sep-Oct;21(5):696-710.

Everts V, Delaisse JM, Korper W, Jansen DC, Tigchelaar-Gutter W, Saftig P, et al. The bone lining cell: its role in cleaning Howship's lacunae and initiating bone formation. *J Bone Miner Res.* 2002 Jan;17(1):77-90.

Evian CI, Rosenberg ES, Coslet JG, Corn H. The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in humans. *J Periodontol.* 1982 Feb;53(2):81-5.

Fazzalari NL. Bone fracture and bone fracture repair. *Osteoporos Int.* 2011 Jun;22(6):2003-6.

Fickl S, Zuhr O, Wachtel H, Bolz W, Huerzeler M. Tissue alterations after tooth extraction with and without surgical trauma: a volumetric study in the beagle dog. *J Clin Periodontol.* 2008 Apr;35(4):356-63.

Fickl S, Zuhr O, Wachtel H, Stappert CF, Stein JM, Hurzeler MB. Dimensional changes of the alveolar ridge contour after different socket preservation techniques. *J Clin Periodontol.* 2008 Oct;35(10):906-13.

Franceschi RT, Ge C, Xiao G, Roca H, Jiang D. Transcriptional regulation of osteoblasts. *Ann N Y Acad Sci.* 2007 Nov;1116:196-207.

Franz-Odendaal TA. Induction and patterning of intramembranous bone. *Front Biosci.* 2011;16:2734-46.

Friedmann A, Strietzel FP, Marezki B, Pitaru S, Bernimoulin JP. Observations on a new collagen barrier membrane in 16 consecutively treated patients. Clinical and histological findings. *J Periodontol.* 2001 Nov;72(11):1616-23.

Friedmann A, Strietzel FP, Marezki B, Pitaru S, Bernimoulin JP. Histological assessment of augmented jaw bone utilizing a new collagen barrier membrane compared to a standard barrier membrane to protect a granular bone substitute material. *Clin Oral Implants Res.* 2002 Dec;13(6):587-94.

Frost HM. Wolff's Law and bone's structural adaptations to mechanical usage: an overview for clinicians. *Angle Orthod.* 1994;64(3):175-88.

Froum S, Cho SC, Rosenberg E, Rohrer M, Tarnow D. Histological comparison of healing extraction sockets implanted with bioactive glass or demineralized freeze-dried bone allograft: a pilot study. *J Periodontol.* 2002 Jan;73(1):94-102.

Fuchs S, Hofmann A, Kirkpatrick C. Microvessel-like structures from outgrowth endothelial cells from human peripheral blood in 2-dimensional and 3-dimensional co-cultures with osteoblastic lineage cells. *Tissue Eng.* 2007 Oct;13(10):2577-88.

Fuchs S, Jiang X, Schmidt H, Dohle E, Ghanaati S, Orth C, et al. Dynamic processes involved in the pre-vascularization of silk fibroin constructs for bone regeneration using outgrowth endothelial cells. *Biomaterials.* 2009 Mar;30(7):1329-38.

Furuta N, Yoshioka I, Fukuizumi T, Tominaga K, Nishihara T, Fukuda J. Morphological features of cartilage observed during mandibular distraction in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007 Mar;36(3):243-9.

Gawlitta D, Farrell E, Malda J, Creemers LB, Alblas J, Dhert WJ. Modulating endochondral ossification of multipotent stromal cells for bone regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* 2010 Aug;16(4):385-95.

Gholami GA, Najafi B, Mashhadiabbas F, Goetz W, Najafi S. Clinical, histologic and histomorphometric evaluation of socket preservation using a synthetic nanocrystalline hydroxyapatite in comparison with a bovine xenograft: a randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Oct;23(10):1198-204.

Giannoudis PV, Jones E, Einhorn TA. Fracture healing and bone repair. *Injury.* 2011 Jun;42(6):549-50.

Glass Y, Eickholz P, Nentwig GH, Dannewitz B. Glossar der Grundbegriffe für die Praxis: Knochenersatz- und -aufbaumaterialien. *Parodontologie.* 2008;19(4):465-74.

Grimes R, Jepsen KJ, Fitch JL, Einhorn TA, Gerstenfeld LC. The transcriptome of fracture healing defines mechanisms of coordination of skeletal and vascular development during endochondral bone formation. *J Bone Miner Res.* 2011 Nov;26(11):2597-609.

Hasegawa T, Miwa M, Sakai Y, Nikura T, Lee SY, Oe K, et al. Mandibular hematoma cells as a potential reservoir for osteoprogenitor cells in fractures. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012 Mar;70(3):599-607.

Heberer S, Hohl M, Semper W, Willer J, K. N. Rehabilitation von Patienten mit extrem atrophierten Kiefern mittels Implantatinsertion nach Augmentation von autologem Beckenkammknochen. *Stomatologie* 2008;105:57-62.

Hidding J, Zoller JE, Lazar F. [Micro- and macrodistraction of the jaw. A sure method of adding new bone]. *Mund Kiefer Gesichtschir.* 2000 Sep;4 Suppl 2:S432-7.

Honig JF, Merten HA, Heinemann DE. Risk of transmission of agents associated with Creutzfeldt-Jakob disease and bovine spongiform encephalopathy. *Plast Reconstr Surg.* 1999 Apr;103(4):1324-5.

Horvath A, Mardas N, Mezzomo LA, Needleman IG, Donos N. Alveolar ridge preservation. A systematic review. *Clin Oral Investig*. 2012 Jul 20.

Lasella JM, Greenwell H, Miller RL, Hill M, Drisko C, Bohra AA, et al. Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. *J Periodontol*. 2003 Jul;74(7):990-9.

Ignatius A, Ehrnthaller C, Brenner RE, Kreja L, Schoengraf P, Lisson P, et al. The anaphylatoxin receptor C5aR is present during fracture healing in rats and mediates osteoblast migration in vitro. *J Trauma*. 2011 Oct;71(4):952-60.

Ishida K, Matsumoto T, Sasaki K, Mifune Y, Tei K, Kubo S, et al. Bone regeneration properties of granulocyte colony-stimulating factor via neovascularization and osteogenesis. *Tissue Eng Part A*. 2010 Oct;16(10):3271-84.

Itoh F, Asao H, Sugamura K, Heldin CH, ten Dijke P, Itoh S. Promoting bone morphogenetic protein signaling through negative regulation of inhibitory Smads. *EMBO J*. 2001 Aug 1;20(15):4132-42.

Jahagirdar R, Scammell BE. Principles of fracture healing and disorders of bone union. *Surgery* 2009;27(2):64-9.

Jardini MA, De Marco AC, Lima LA. Early healing pattern of autogenous bone grafts with and without e-PTFE membranes: a histomorphometric study in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005 Dec;100(6):666-73.

Jensen OT, Greer RO, Jr., Johnson L, Kassebaum D. Vertical guided bone-graft augmentation in a new canine mandibular model. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1995 May-Jun;10(3):335-44.

Kenley RA, Yim K, Abrams J, Ron E, Turek T, Marden LJ, et al. Biotechnology and bone graft substitutes. *Pharm Res*. 1993 Oct;10(10):1393-401.

Kim IS, Otto F, Zabel B, Mundlos S. Regulation of chondrocyte differentiation by Cbfa1. *Mech Dev*. 1999 Feb;80(2):159-70.

Kirmeier R, Payer M, Lorenzoni M, Wegscheider WA, Seibert FJ, Jakse N. Harvesting of cancellous bone from the proximal tibia under local anesthesia: donor site morbidity and patient experience. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007 Nov;65(11):2235-41.

Komori T. Regulation of bone development and maintenance by Runx2. *Front Biosci*. 2008;13:898-903.

Komori T, Kishimoto T. Cbfa1 in bone development. *Curr Opin Genet Dev*. 1998 Aug;8(4):494-9.

Kozlovsky A, Aboodi G, Moses O, Tal H, Artzi Z, Weinreb M, et al. Bio-degradation of a resorbable collagen membrane (Bio-Gide) applied in a double-layer technique in rats. *Clin Oral Implants Res.* 2009 Oct;20(10):1116-23.

Kutkut A, Andreana S, Kim HL, Monaco E, Jr. Extraction socket preservation graft before implant placement with calcium sulfate hemihydrate and platelet-rich plasma: a clinical and histomorphometric study in humans. *J Periodontol.* 2012 Apr;83(4):401-9.

Lee DW, Pi SH, Lee SK, Kim EC. Comparative histomorphometric analysis of extraction sockets healing implanted with bovine xenografts, irradiated cancellous allografts, and solvent-dehydrated allografts in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009 Jul-Aug;24(4):609-15.

Lekovic V, Camargo PM, Klokkevold PR, Weinlaender M, Kenney EB, Dimitrijevic B, et al. Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioabsorbable membranes. *J Periodontol.* 1998 Sep;69(9):1044-9.

Lian JB, Stein GS, Stein JL, van Wijnen AJ. Osteocalcin gene promoter: unlocking the secrets for regulation of osteoblast growth and differentiation. *J Cell Biochem Suppl.* 1998;30-31:62-72.

Liebich HG. Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis: Schattauer Verlag 2004.

Lin WL, McCulloch CA, Cho MI. Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. *Anat Rec.* 1994 Dec;240(4):492-506.

Linde A, Alberius P, Dahlin C, Bjurström K, Sundin Y. Osteopromotion: a soft-tissue exclusion principle using a membrane for bone healing and bone neogenesis. *J Periodontol.* 1993 Nov;64(11 Suppl):1116-28.

Lundgren S, Nystrom E, Nilson H, Gunne J, Lindhagen O. Bone grafting to the maxillary sinuses, nasal floor and anterior maxilla in the atrophic edentulous maxilla. A two-stage technique. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1997 Dec;26(6):428-34.

Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury.* 2011 Jun;42(6):551-5.

Mertens C, Steveling HG, Stucke K, Pretzl B, Meyer-Baumer A. Fixed implant-retained rehabilitation of the edentulous maxilla: 11-year results of a prospective study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2012 Dec;14(6):816-27.

Miller SC, Jee WS. The bone lining cell: a distinct phenotype? *Calcif Tissue Int.* 1987 Jul;41(1):1-5.

Misch CE, Dietsch F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent.* 1993 Fall;2(3):158-67.

Misch CM. Resorbable or non-resorbable membranes: where, why, and how. *Dent Implantol Update*. 1993 Jun;4(6):49-51.

Molly L, Vandromme H, Quiryne M, Schepers E, Adams JL, van Steenberghe D. Bone formation following implantation of bone biomaterials into extraction sites. *J Periodontol*. 2008 Jun;79(6):1108-15.

Nelson K, Ozyuvaci H, Bilgic B, Klein M, Hildebrand D. Histomorphometric evaluation and clinical assessment of endosseous implants in iliac bone grafts with shortened healing periods. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006 May-Jun;21(3):392-8.

Nemcovsky CE, Artzi Z, Moses O, Gelernter I. Healing of marginal defects at implants placed in fresh extraction sockets or after 4-6 weeks of healing. A comparative study. *Clin Oral Implants Res*. 2002 Aug;13(4):410-9.

Norton MR, Odell EW, Thompson ID, Cook RJ. Efficacy of bovine bone mineral for alveolar augmentation: a human histologic study. *Clin Oral Implants Res*. 2003 Dec;14(6):775-83.

Nystrom E, Ahlqvist J, Gunne J, Kahnberg KE. 10-year follow-up of onlay bone grafts and implants in severely resorbed maxillae. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2004 Apr;33(3):258-62.

Nystrom E, Legrell PE, Forssell A, Kahnberg KE. Combined use of bone grafts and implants in the severely resorbed maxilla. Postoperative evaluation by computed tomography. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1995 Feb;24(1 Pt 1):20-5.

Otto F, Thornell AP, Crompton T, Denzel A, Gilmour KC, Rosewell IR, et al. *Cbfa1*, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. *Cell*. 1997 May 30;89(5):765-71.

Owens KW, Yukna RA. Collagen membrane resorption in dogs: a comparative study. *Implant Dent*. 2001;10(1):49-58.

Ozaki W, Buchman SR. Volume maintenance of onlay bone grafts in the craniofacial skeleton: micro-architecture versus embryologic origin. *Plast Reconstr Surg*. 1998 Aug;102(2):291-9.

Parfitt AM. Osteonal and hemi-osteonal remodeling: the spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. *J Cell Biochem*. 1994 Jul;55(3):273-86.

Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater*. 2007;13:1-10.

Philip SJ, Kumar RJ, Menon KV. Morphological study of rib regeneration following costectomy in adolescent idiopathic scoliosis. *Eur Spine J*. 2005 Oct;14(8):772-6.
129. Phillips AM. Overview of the fracture healing cascade. *Injury*. 2005 Nov;36 Suppl 3:S5-7.

Piattelli M, Favero GA, Scarano A, Orsini G, Piattelli A. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999 Nov-Dec;14(6):835-40.

Pietrokovski J, Massler M. Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *J Prosthet Dent*. 1967 Jan;17(1):21-7.

Pikner SS, Grondahl K, Jemt T, Friberg B. Marginal bone loss at implants: a retrospective, long-term follow-up of turned Branemark System implants. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2009 Mar;11(1):11-23.

Pinholt EM. Branemark and ITI dental implants in the human bone-grafted maxilla: a comparative evaluation. *Clin Oral Implants Res*. 2003 Oct;14(5):584-92.

Price PA, Lothringer JW, Nishimoto SK. Absence of the vitamin K-dependent bone protein in fetal rat mineral. Evidence for another gamma-carboxyglutamic acid-containing component in bone. *J Biol Chem*. 1980 Apr 10;255(7):2938-42.

Rasmusson L, Stegersjo G, Kahnberg KE, Sennerby L. Implant stability measurements using resonance frequency analysis in the grafted maxilla: a cross-sectional pilot study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 1999;1(2):70-4.

Reed MJ, Sage EH. SPARC and the extracellular matrix: implications for cancer and wound repair. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1996;213 (Pt 1):81-94.

Remedios A. Bone and bone healing. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1999 Sep;29(5):1029-44.

Rose LF, Rosenberg E. Bone grafts and growth and differentiation factors for regenerative therapy: a review. *Pract Proced Aesthet Dent*. 2001 Nov-Dec;13(9):725-34; quiz 36, 1-2.

Rothamel D, Schwarz F, Fienitz T, Smeets R, Dreiseidler T, Ritter L, et al. Biocompatibility and biodegradation of a native porcine pericardium membrane: results of in vitro and in vivo examinations. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012 Jan-Feb;27(1):146-54.

Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro Cornaglia A, Tesesi P, Cattaneo V. Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Implants Res*. 2003 Jun;14(3):369-72.

Sbordone C, Sbordone L, Toti P, Martuscelli R, Califano L, Guidetti F. Volume changes of grafted autogenous bone in sinus augmentation procedure. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011 Jun;69(6):1633-41.

Schell H, Lienau J, Epari DR, Seebeck P, Exner C, Muchow S, et al. Osteoclastic activity begins early and increases over the course of bone healing. *Bone*. 2006 Apr;38(4):547-54.

Scheyer ET, Schupbach P, McGuire MK. A histologic and clinical evaluation of ridge preservation following grafting with demineralized bone matrix, cancellous bone chips, and resorbable extracellular matrix membrane. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2012 Oct;32(5):543-52.

Schlegel KA, Fichtner G, Schultze-Mosgau S, Wiltfang J. Histologic findings in sinus augmentation with autogenous bone chips versus a bovine bone substitute. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003 Jan-Feb;18(1):53-8.

Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003 Aug;23(4):313-23.

Serino G, Rao W, Iezzi G, Piattelli A. Polylactide and polyglycolide sponge used in human extraction sockets: bone formation following 3 months after its application. *Clin Oral Implants Res.* 2008 Jan;19(1):26-31.

Shirota T, Ohno K, Michi K, Tachikawa T. An experimental study of healing around hydroxylapatite implants installed with autogenous iliac bone grafts for jaw reconstruction. *J Oral Maxillofac Surg.* 1991 Dec;49(12):1310-5.

Sjöström M, Sennerby L, Nilson H, Lundgren S. Reconstruction of the atrophic edentulous maxilla with free iliac crest grafts and implants: a 3-year report of a prospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2007 Mar;9(1):46-59.

Song HR, Puri A, Lee JH, Park HB, Ra DK, Kim GS, et al. Spontaneous bone regeneration in surgically induced bone defects in young rabbits. *J Pediatr Orthop B.* 2002 Oct;11(4):343-9.

Sward P, Frobell R, Englund M, Roos H, Struglics A. Cartilage and bone markers and inflammatory cytokines are increased in synovial fluid in the acute phase of knee injury (hemarthrosis)--a cross-sectional analysis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2012 Nov;20(11):1302-8.

Taguchi Y, Amizuka N, Nakadate M, Ohnishi H, Fujii N, Oda K, et al. A histological evaluation for guided bone regeneration induced by a collagenous membrane. *Biomaterials.* 2005 Nov;26(31):6158-66.

Tallgren A. The continuing reduction of the residual alveolar ridges in complete denture wearers: a mixed-longitudinal study covering 25 years. 1972. *J Prosthet Dent.* 2003 May;89(5):427-35.

Tan WL, Wong TL, Wong MC, Lang NP. A systematic review of post-extraction alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Feb;23 Suppl 5:1-21.

Tapety FI, Amizuka N, Uoshima K, Nomura S, Maeda T. A histological evaluation of the involvement of Bio-Oss in osteoblastic differentiation and matrix synthesis. *Clin Oral Implants Res.* 2004 Jun;15(3):315-24.

Termine JD, Kleinman HK, Whitson SW, Conn KM, McGarvey ML, Martin GR. Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. *Cell*. 1981 Oct;26(1 Pt 1):99-105.

Todo H. Healing mechanism of tooth extraction wounds in rats. I. Initial cellular response to tooth extraction in rats studied with 3H-thymidine. *Arch Oral Biol*. 1968 Dec;13(12):1421-7.

Todo H. Healing mechanism of tooth extraction wounds in rats. II. Histochemical observations on hydrolytic and oxidative enzymes in tooth extraction wounds in the rat. *Arch Oral Biol*. 1968 Dec;13(12):1429-43.

Trombelli L, Farina R, Marzola A, Bozzi L, Liljenberg B, Lindhe J. Modeling and remodeling of human extraction sockets. *J Clin Periodontol*. 2008 Jul;35(7):630-9.

van der Meij EH, Blankestijn J, Berns RM, Bun RJ, Jovanovic A, Onland JM, et al. The combined use of two endosteal implants and iliac crest onlay grafts in the severely atrophic mandible by a modified surgical approach. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2005 Mar;34(2):152-7.

Vignery A, Baron R. Dynamic histomorphometry of alveolar bone remodeling in the adult rat. *Anat Rec*. 1980 Feb;196(2):191-200.

Wheeler SL, Holmes RE, Calhoun CJ. Six-year clinical and histologic study of sinus-lift grafts. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996 Jan-Feb;11(1):26-34.

Wood RA, Mealey BL. Histologic comparison of healing after tooth extraction with ridge preservation using mineralized versus demineralized freeze-dried bone allograft. *J Periodontol*. 2012;83(3):329-36.

Xiao YT, Xiang LX, Shao JZ. Bone morphogenetic protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007 Oct 26;362(3):550-3.

Yasui N, Sato M, Ochi T, Kimura T, Kawahata H, Kitamura Y, et al. Three modes of ossification during distraction osteogenesis in the rat. *J Bone Joint Surg Br*. 1997 Sep;79(5):824-30.

Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss in combination with venous blood. A histologic and histomorphometric study in humans. *Clin Oral Implants Res*. 2000 Jun;11(3):217-29.

Zambon R, Mardas N, Horvath A, Petrie A, Dard M, Donos N. The effect of loading in regenerated bone in dehiscence defects following a combined approach of bone grafting and GBR. *Clin Oral Implants Res*. 2012 May;23(5):591-601.

Zellin G, Hedner E, Linde A. Bone regeneration by a combination of osteopromotive membranes with different BMP preparations: a review. *Connect Tissue Res*. 1996;35(1-4):279-84.

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

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

Zomorodian E, Baghaban Eslaminejad M. Mesenchymal stem cells as a potent cell source for bone regeneration. *Stem Cells Int*. 2012; (98):3-53.

10. Abkürzungsverzeichnis

AML3	acute myeloid leukemia 3 protein
ALP	alkalische Phosphatase
ATPase	Adenosintriphosphatase
BMP	bone morphogenetic protein
BM-40	basement-membrane protein 40
Ca	Kalzium
Cbfa1/Runx 2	Core binding factor alpha subunit 1/ Runt-related transcription factor 2
CD31 (PECAM-1)	platelet endothelial cell adhesion molecule-1
DGZMK	Deutsche Gesellschaft für Zahn-Mund-und Kieferheilkunde
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EDI	anti rats macrophages
FGF-23	fibroblast growth factor
GBR	guided bone regeneration
GTR	guided tissue regeneration
mm	Millimeter
MSC	mesenchymale Stammzellen
µm	Mikrometer
MT	Transplantat mit Membranabdeckung
OC	Osteocalcin
OSN	Osteonectin
PDGF	platelet-derived growth factor
PEBP2	polyomavirus enhancer binding protein 2

PT	Transplantat mit Periostabdeckung
PTFE	Polytetrafluorethylen
SPARC	secreted protein acidic and rich in cysteine
TCP	Tricalciumphosphat
TGF	transforming growth factor
TPPase	Thiaminpyrophosphatase
z.B.	zum Beispiel
%	Prozent

11. Danksagung

Herrn Univ. Prof. Dr. Dr. Bodo Hoffmeister (Direktor der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Navigation und Robotik, Charité) danke ich für das Interesse und die Unterstützung bei der Erstellung meiner Arbeit.

Frau Prof. Dr. Katja Nelson (Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Universität Freiburg) gilt mein ganz besonderer Dank, da sie mich an die Faszination des wissenschaftlichen Arbeitens herangeführt hat und mich sowohl in meiner klinischen als auch wissenschaftlichen Entwicklung immer unterstützt und gefördert hat. Ihre hohe wissenschaftliche Kompetenz, ihr menschlicher Stil und ihre konstruktive Kritik waren und sind sehr prägend für mich und haben entscheidend für den erfolgreichen Abschluss dieser Arbeit beigetragen.

Mein herzlicher und aufrichtiger Dank gilt meiner Kollegin Dr. Claudia Nack für die unermüdliche Hilfe beim Endnote und Adobe. Frau Nadine Kaczmarek danke ich besonders für ihr außergewöhnliches organisatorisches Talent und die mentale Unterstützung.

Frau Dr. Bärbel Rühle möchte ich danken, weil sie auch in schwierigen Phasen immer die richtigen Worte findet.

Mein weiterer Dank gilt Frau U. Kruse-Boitschenko (MTA, Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Navigation und Robotik, Charité) für die unkomplizierte Unterstützung bei den wissenschaftlichen Experimenten. Ich möchte auch stellvertretend Herrn A. Wustlich und K. Gratecap als Doktoranden für die Erhebung der Daten und deren Auswertung danken.

Mein besonders herzlicher Dank gilt Frau Dipl. Math. Gerda Siebert, die mir das Verständnis für statistischen Fragestellungen und Datenauswertungen beigebracht hat und nicht müde wurde, etwaige Lösungsansätze immer wieder zu diskutieren und mir nahe zu bringen.

Ganz besonders danke ich meinen lieben Eltern, die mir den Weg geebnet haben, um dieses Ziel zu erreichen.

Nicht zuletzt gilt mein innigster Dank meinem Mann und meinem Sohn, die in liebevoller Geduld meine Ideen mittragen, mich darin unermüdlich bestärken und einfach da sind.

12. Erklärung**§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité**

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/ Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Datum