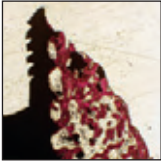


Eine experimentelle Pilotstudie zur lateralen Kammaugmentation mit knochenmorphogenetischem Protein-2 bei Hunden



Motofumi Yamashita, DDS¹/Myron Nevins, DDS²/Archie A. Jones, DDS³/
 John Schoolfield, MSc⁴/David L. Cochran, DDS, PhD⁵

Der Verlust von mehreren Zähnen im Seitenzahnbereich des Unterkiefers führt häufig dazu, dass der Alveolarkamm für eine prothetische Versorgung nicht mehr breit genug ist. Es gibt einige Verfahren für die Regenerierung von verloren gegangenen Knochen mit unterschiedlichen Ergebnissen. Um die Prognose zu verbessern, werden manchmal auch unterschiedliche Therapien kombiniert. In dieser experimentellen Studie mit Hunden wurde ein chronischer Defekt erzeugt. Anschließend kamen vier Therapien zum Einsatz: (1) Autotransplantat, (2) rekombinantes humanes knochenmorphogenetisches Protein-2 (rhBMP-2) in einem resorbierbaren Kollagenschwamm (ACS), (3) ACS, der eine Kollagen-Keramik-Matrix umgab, und (4) rhBMP-2 in ACS um die Kollagen-Keramik-Matrix. Zwei Metallschrauben dienten als Platzhalter. Nach zwei Monaten wurden die Metallpins entfernt und in den regenerierten Knochen wurde ein enossales Implantat inseriert. Zwei Monate später wurden die Tiere eingeschläfert und für die histologische Untersuchung Biopsate präpariert. Es wurden nur fünf Tiere verwendet und an jedem Tier alle vier Therapieformen untersucht. Bei dieser geringen Anzahl von Tieren und der beobachteten Variabilität konnten keine quantitativen Unterschiede zwischen den vier Therapieformen festgestellt werden. Alle Therapien führten zu neuem Knochenwachstum. In den Autotransplantat- und den rhBMP-2/ACS-Bereichen wurde dichter natürlicher Knochen gefunden. Die Behandlung mit Kollagen-Keramik-Matrix mit und ohne rhBMP-2 in ACS ergab restliche Keramikpartikel und große poröse Bereiche. An den Implantatoberflächen wurde eine unterschiedliche Knochenanlagerung beobachtet. Für die horizontale Knochenaugmentation im Seitenzahnbereich des Unterkiefers von Hunden können somit unterschiedliche Methoden angewandt werden. Mit rhBMP-2 in Kombination mit einem Kollagenträger, der nicht als Platzhalter diente, wurden in diesem Modell ähnliche neue Knochen dichtungen wie mit dem Autotransplantat erreicht. (Int J Par Rest Zahnheilkd 2010;30:437–449.)

¹ Vizedirektor, Funakoshi Research Institute of Clinical Periodontology, Fukuoka, Japan.

² Associate Clinical Professor, Harvard School of Dental Medicine, Boston, Massachusetts, USA.

³ Associate Professor, Department of Periodontics, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, Texas, USA.

⁴ Statistiker, Department of Academic Information Services, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, Texas, USA.

⁵ Professor und Leiter, Department of Periodontics, The University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas, USA.

Korrespondenz an: Dr. David L. Cochran, Department of Periodontics, MSC 7894, University of Texas Health Science Center at San Antonio, 7703 Floyd Curl Drive, San Antonio, TX 78229-3900, USA; Fax: +1-210-567-3643; E-Mail: cochran@uthscsa.edu

Die Effektivität der Osseointegration hängt davon ab, ob Knochen in ausreichender Menge und Beschaffenheit vorhanden ist, um den Implantatkörper aufzunehmen. In Bereichen mit einem guten Knochenangebot führt die Insertion von Implantaten zu prognostizierbaren Ergebnissen mit einer hohen Erfolgsrate¹. In unbezahnten Bereichen, die durch verschiedene Bedingungen, wie z. B. eine Parodontalerkrankung, eine mangelhafte Extraktionstechnik, Alter oder fehlende Funktion und Trauma beeinträchtigt sind, muss das Knochenvolumen aufgebaut werden. Die Alveolarkammaugmentation ist eine allgemein akzeptierte Methode für den Aufbau des resorbierten Kamms vor einer Implantatinsertion.

Es gibt unterschiedliche knöcherne Defekte, die grob in horizontale oder vertikale eingeteilt werden können. Zu den Transplantatmaterialien zählen Auto- sowie Allo- und Xenotransplantate und Alloplaste, die in Partikel- und Blockform verwendet werden. Die Verwendung von autogenem Knochen gilt zwar als Goldstandard, aber weil für die Entnahme ein zweiter Eingriffsbereich erforderlich ist, sind Komplikationen möglich. Zu den Risiken einer extraoralen Entnahme gehören Gangstörungen, Parästhesien, Blu-

tungen, Wunddehiszenzen und damit einhergehende Infektionen sowie im oralen Bereich unzureichende Materialmengen². Deshalb werden als Alternative für autogenen Knochen unterschiedliche Knochentransplantatmaterialien verwendet. Welches das optimale Material ist, ist allerdings noch nicht geklärt. Eine ideale biomimetische Alternative sollte dem autogenen Knochen ähnlich sein und eine gleichwertige Biokompatibilität haben. Sie sollte die Besiedlung mit Knochenvorläuferzellen erlauben und sich mineralisieren³. Außerdem muss das Material beim Eingriff leicht zu handhaben sein und im Implantatbereich verbleiben sowie innerhalb eines angemessenen Zeitraums resorbiert werden.

Rekombinantes humanes knochenmorphogenetisches Protein-2 (rhBMP-2), das mit einem resorbierbaren Kollagenschwamm (ACS) verwendet wird, wurde behördlich genehmigt. Seine osteoinduktiven Eigenschaften wurden in präklinischen Modellen und klinischen Versuchen umfassend nachgewiesen⁴⁻¹⁴. In mehreren Studien wurde die Effektivität von rhBMP-2 für die Augmentation des Alveolarkamms und den Sinuslift untersucht^{10, 11, 14-18}. In einer randomisierten kontrollierten klinischen Humanstudie, in der das Material verwendet wurde, um bukkale Knochenwanddefekte beinträchtiger Extraktionsalveolen zu regenerieren, zeigte sich eine solide Knochenneubildung¹⁹. Aus diesen und anderen Studien geht auch hervor, dass der Kollagenträger wegen der Weichgewebekompression nur begrenzt als Platzhalter fungieren kann^{9, 16, 17, 20}. Normalerweise hängt die Wirkung von Wachstumsfaktoren vom Trägermaterial ab. Es wurden unterschiedliche Träger für BMP untersucht. Kollagenschwämme, Hydroxylapatit und Beta-Trical-

ciumphosphat (β -TCP) gelten beispielsweise als effektive Träger^{9, 16, 20}. In einer neueren Studie wurde ein Kollagen-Keramik-Schwamm (Typ-1-Kollagen mit Bi-Phasen-Keramik aus 15 % Hydroxylapatit und 85 % β -TCP) als Füllmaterial in Kombination mit rhBMP-2/ACS für die Versteifung der Wirbelsäule von Kaninchen verwendet²¹. In der Studie wurde gezeigt, dass das rhBMP-2/ACS mit dem Kollagen-Keramik-Schwamm eine beständige Versteifung der Wirbelsäule bewirkte.

Ziel dieser Studie war es, an einem Hundemodell die Knochenneubildung bei der Kammaugmentation und anschließend um enossale Dentalimplantate in standardisierten knöchernen Defekten zu untersuchen, die mit rhBMP-2 in ACS und einer Kollagen-Keramik-Matrix behandelt wurden. Die Knochenaugmentation wurde in vivo mit Messschiebern gemessen und histologisch untersucht.

Material und Methode

Im Unterkiefer von fünf Hunden wurden je vier Defekte bei dem Eingriff für die Zahnextraktion erzeugt (zwei links, zwei rechts), sodass an jedem Hund vier Therapieformen untersucht werden konnten. Bei einem anschließenden Eingriff wurden die Augmentationsmaterialien inseriert. Später erfolgte ein dritter Eingriff, bei dem in jeden der vier experimentellen Bereiche bei jedem Hund ein Dentalimplantat inseriert wurde.

Implantatdesign und -oberflächen

Bei den enossalen Implantaten handelte es sich um schraubenförmige Zylinder, die gedeckt einheiltten und aus kommerziell reinem Titan Grad 4 bestanden. Der äußere Durchmes-

ser mit Gewinde betrug 3,3 mm und die Gesamtlänge 8 mm. Die Implantate hatten eine sandgestrahlte, grobkörnige (0,25 bis 0,5 μ m Korund Korn) sowie eine mit Salz- und Schwefelsäure geätzte (SLA) Oberfläche. Somit hatte jedes Implantat zwei Rauigkeitsstufen, 2 bis 4 μ m und 20 bis 40 μ m.

Studientiere

Für diese Studie wurden fünf Foxhoundrüden verwendet. Sie waren etwa zwei Jahre alt und wogen etwa 34 kg. Sie hatten keine Herzwürmer und befanden sich in Quarantäne. Die Tiere wurden in einem für Labortiere bestimmten, zweckmäßigen Raum gehalten und erhielten ein Standard-Laborfutter. Das experimentelle Protokoll wurde vom Institutional Animal Care and Use Committee of the University of Texas Health Science Center in San Antonio genehmigt.

Chirurgisches Vorgehen

Extraktion

Die Extraktionen im Unterkiefer erfolgten in Vollnarkose und unter sterilen Bedingungen in einem Operationssaal. Als Prämedikation wurde eine Thiopental-Na-Lösung (0,4 ml/kg Körpergewicht; Abbott Laboratories) intravenös gegeben. Die Hunde wurden auf eine Heizmatte gelegt und intubiert. Dann wurden sie mit 1,5 % bis 2 % Isofluron (Aerane, Ohmeda Carbide) anästhesiert und während des Eingriffs mit einem EKG überwacht.

Im Anschluss an krevikuläre Inzisionen wurden bukkale und linguale Lappen gelöst. Dann wurden zwei Prämolare (PM2 und PM3) sowie der erste Molar (M1) extrahiert. Vor der Extraktion wurden die

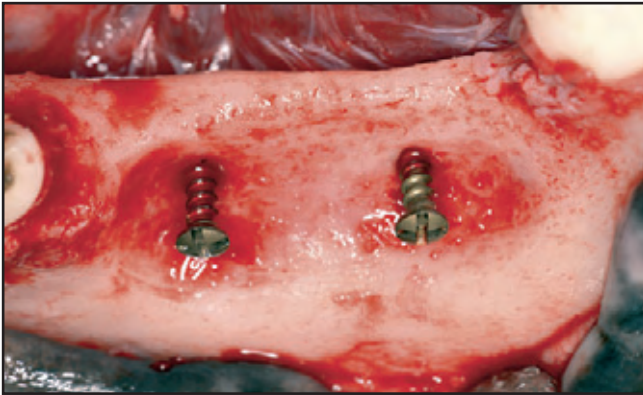


Abb. 1a Klinisches Foto: Ein typischer Defekt, der im Seitenbereich des Unterkiefers erzeugt wurde. In jeder Therapieform wurden in die dünne linguale Knochenwand zwei Metallpins inseriert, die den bukkalen Lappen über dem Knochentransplantat abstützten.

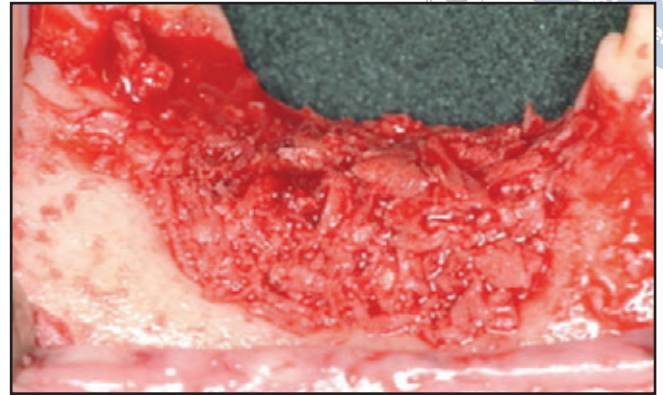


Abb. 1b Autogene Chips aus derselben Unterkieferseite wurden über den Metallpins und um sie herum platziert.

Zähne sektioniert, um einer Zahnfraktur vorzubeugen. An den verbliebenen Nachbarzähnen wurde der Zahnstein entfernt. Dann wurde ein Defekt von 20 x 10 x 5 mm erzeugt, indem im Bereich des PM2, PM3 und M1 die bukkale Knochenwand entfernt wurde. Die Wundränder wurden adaptiert und der Verschluss erfolgte mit Einzelknopfnähten. Nach der Extraktion erhielten die Hunde sieben bis 14 Tage Nassfutter. Nach sieben bis 10 Tagen wurden die Tiere kurz betäubt, damit die Fäden entfernt und die Zähne noch einmal gereinigt werden konnten.

Kammaugmentation

12 Wochen nach der Zahnextraktion wurde bei allen Hunden unter den gleichen Operationsbedingungen wie bei der Extraktion die Augmentation durchgeführt. Dabei kamen vier verschiedene Techniken zur Anwendung. Die Zuteilung der unterschiedlichen Augmentationsverfahren erfolgte statistisch nach dem Zufallsprinzip.

- Autotransplantat: Apikal und distal zum zweiten Molar wurde aus der bukkalen Oberfläche des Unterkiefers autogener Knochen entnommen. Dazu wurde ein Kortikalisbereich markiert, aus dem die Kortikalis und Spongiosa entnommen wurden. Der autogene Knochen wurde in den Defekt inseriert, um den Kamm wieder aufzubauen. In jedem augmentierten Defekt dienten zwei schraubenförmige Pins als Platzhalter (Abb. 1).
- rhBMP-2/ACS: rhBMP-2 (0,43 mg/ml) wurde mit einer Spritze auf einen Kollagen-Typ-I-Schwamm (Infuse, Medtronic) gegeben. Nach 15 Minuten wurde die Kollagenplatte geschnitten, dreifach gefaltet und so geformt, dass sie genau in den Defekt passte. Das Transplantat wurde mit zwei Pins fixiert, die hier und in den übrigen Bereichen auch als Referenzmarkierung dienten (Abb. 2a).
- rhBMP-2/ACS/Matrix: Eine Kollagen-Keramik-Schwamm-Matrix in der entsprechenden Größe (Typ-1-Kollagen mit Bi-Phasen-Keramik



Abb. 2a Defektbereich, der mit rhBMP-2/ACS behandelt wurde. Die Mitte des Schwamms wurde über den Bereich gelegt. Der obere und untere Teil wurden in den Defekt gefaltet, sodass drei Transplantatschichten entstanden.

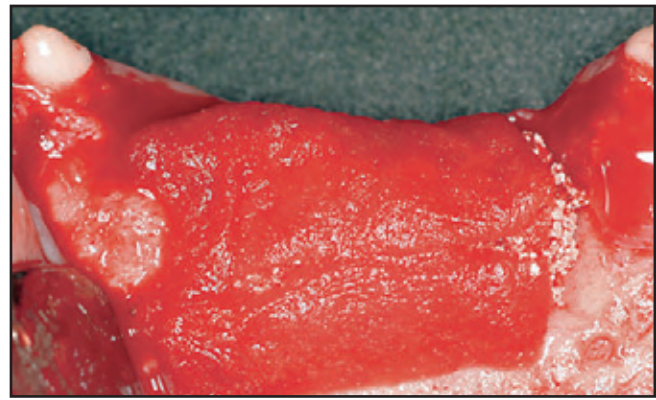
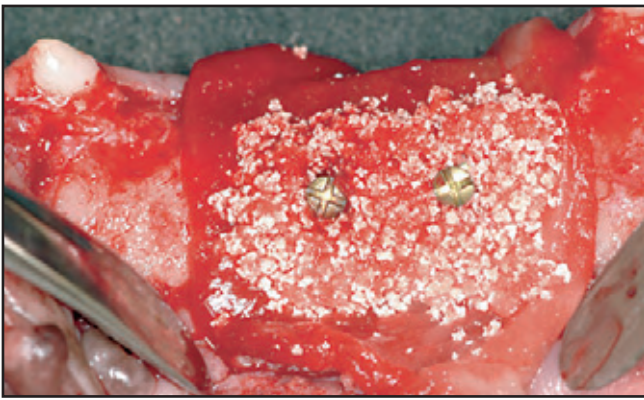


Abb. 2b und 2c Klinische Fotos: Das Kollagen (mit und ohne rhBMP-2) wird in den Defekt inseriert. (links) Ähnlich wie bei Abb. 2a wurde die Mitte des Schwamms über den Defektbereich gelegt. Dann wurde ein Stück von der Kollagen-Keramik-Matrix abgeschnitten und in den Defekt gelegt, um den augmentierten Kamm zu verbreitern. (rechts) Der obere und untere Teil des Kollagenschwamms wurde anschließend über die Matrix gefaltet, sodass über der Matrix zwei äußere Schichten des Kollagenschwamms lagen.

aus 15 % Hydroxylapatit und 85 % β -TCP; Mastergraft Matrix, Medtronic) wurde für jeden Defekt zurechtgeschnitten und geformt. Dann wurde rhBMP-2/ACS um das Transplantat gelegt und mit zwei Pins in dem Defekt fixiert (Abb. 2b und 2c).

- ACS/Matrix: Das Matrixtransplantat wurde in der entsprechenden Größe für jeden Defekt zurechtgeschnitten und geformt. Dann wurde ACS um das Transplantat gelegt und mit zwei Pins in dem Defekt fixiert.

Implantatinsertion

Acht Wochen nach dem Augmentationseingriff wurden unter den gleichen kontrollierten Operationsbedingungen gedeckte enossale Titanimplantate inseriert. Die bukkalen und lingualen Lappen wurden gelöst. Der unbezahnte Knochenkamm wurde chirurgisch abgeflacht und vor der Implantatinsertion wurden die Metallpins entfernt. Anschließend wurde zwischen den Schraubenlöchern in jeden der vier Bereiche ein Dentalimplantat in den augmentierten Knochen inseriert. Die linguale Seite des Implantats wurde

gegen den verbliebenen natürlichen Knochen des lingualen Alveolar-knochens platziert. Die Implantatosteotomie erfolgte mit rotierenden Instrumenten mit der empfohlenen Drehzahlreduzierung bei 500/min unter Spülung mit gekühlter Salzlösung. Die Osteotomiebereiche wurden mit einem 2,2-mm- und dann einem 2,8-mm-Spiralbohrer präpariert. In diese Bereiche wurden die Implantate nach Herstelleranweisung manuell eingeklopft (Abb. 3). Die Lappen wurden zurückverlegt und vernäht. Die Fäden wurden nach 10 bis 14 Tagen entfernt.

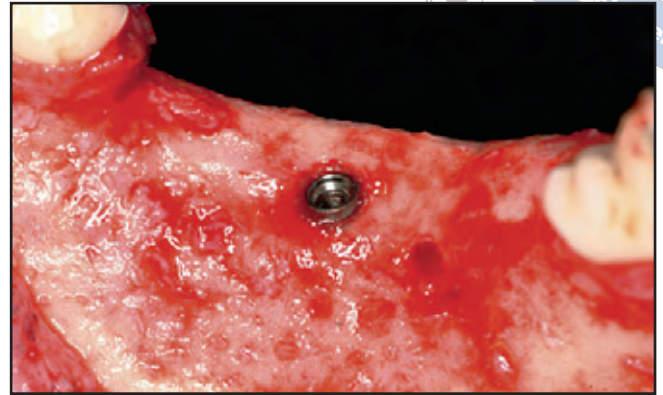
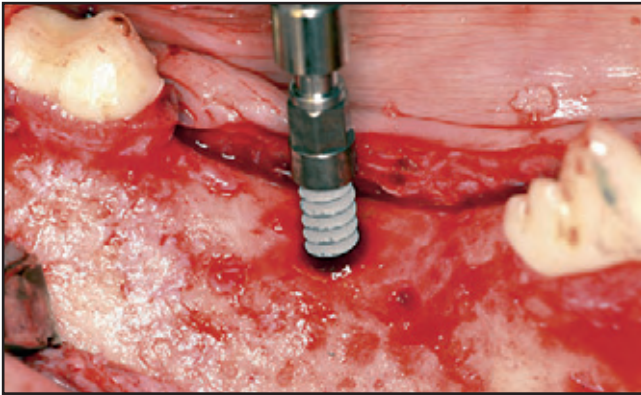


Abb. 3a und 3b (links) 2 Monate nach der Augmentation wurde das gedeckte Implantat inseriert. (rechts) Anschließend befand sich der Implantatkopf auf der Höhe des Knocheniveaus. Die beiden Metallpins waren entfernt worden, das Implantat wurde dazwischen inseriert.

Einschläferung

16 Wochen nach der Knochenaugmentation wurden die Tiere eingeschläfert und Blockbiopsate entnommen. Das Einschläfern erfolgte mit einer Überdosis intravenösem Natrium-Pentobarbital (100 mg/kg Körpergewicht). Die Unterkiefersegmente mit den Implantaten wurden herausgeschnitten und für die histologische Analyse in eine Lösung mit 4 % Formaldehyd und 1 % Calciumchlorid gegeben.

Histologische Präparation

Die Biopsate wurden in einer aufsteigenden Äthanolreihe dehydriert und in Methylmethacrylat eingebettet. Mit einer Diamantsäge wurden bei geringer Geschwindigkeit und unter Kühlung dekalzifizierte Schnitte von etwa 500 µm Dicke angefertigt. Von der ungefähren Mitte jedes Implantats wurden mit einem Trennschleifsystem (Exakt) zwei bukkolinguale Schnitte mit einer endgültigen Dicke von 80 µm hergestellt. Die Schnitte wurden mit Toluidinblau und basischem Fuchsin eingefärbt und histomorphometrisch untersucht.

Messung der Breite des augmentierten Kieferkamms

Die Kammbreite wurde nach der Erzeugung des Defekts mit einem Messschieber gemessen. Die Breite des augmentierten Kieferkamms wurde nach dem Einschläfern gemessen. Beide Messungen erfolgten etwa 4 mm unterhalb des Alveolarkamms in der Mitte des Defekts. Die beiden Pins dienten dabei als Referenz. Die Differenz ergab die Augmentationsbreite (ARW).

Histometrische Analyse

Mit einem Lichtmikroskop, das mit einer hochauflösenden Digitalkamera verbunden und an einen Monitor angeschlossen war, wurden die Schnitte untersucht. Mit einer Morphometrie-Software (ImageJ 1.40, Research Service Branch, NIH) wurden die folgenden Parameter gemessen.

Knochen-Implantat-Kontakt (BIC)

Der Umfang der Osseointegration zwischen der Oberfläche jedes Implantats und dem augmentierten

Knochen wurde in mm als Knochen-Implantat-Kontakt-Abstand angegeben. Der prozentuale Anteil des BIC wurde als lineare Messung der Länge des kontaktierenden Knochens auf eine standardisierte Länge des Implantats von der ersten bis zur sechsten Windung berechnet. Für die bukkale und linguale Fläche jedes Implantats wurden separate Messungen durchgeführt.

Knochendichte (BD)

In dieser Studie wurde auch die Dichte des regenerierten Knochens gemessen. Die BD-Messung erfolgte in vier Untersuchungsbereichen: oberer Bereich, bukkal und lingual sowie unterer Bereich, bukkal und lingual. Jeder Untersuchungsbereich erstreckte sich 1 mm von der Implantatoberfläche aus horizontal. Der vertikale Abstand erstreckte sich vom Knochenkamm des ersten BIC bis zum Ende des zylindrischen Implantats. Die Knochendichte wurde als prozentualer Anteil des Knochenbereichs am gesamten gemessenen Untersuchungsbereich ausgedrückt. Die histometrischen Analysen wurden von einem der Autoren, der nicht an der chirurgi-

Tabelle 1 ARW (mm) nach 16 Wochen

Transplantat	Hund					Ø ± SA
	1	2	3	4	5	
Autotransplantat	4	4	5	4,5	5,5	4,6 ± 0,7
rhBMP-2/ACS	4	3,5	2,5	4,5	7	4,3 ± 1,7
rhBMP-2/ACS/Matrix	4	5	6	5	5,5	5,1 ± 0,7
ACS/Matrix	7	5	8	4	5,5	5,9 ± 1,6
Gesamt						5,0 ± 1,3

ARW = augmentierte Kammbreite; SA = Standardabweichung.

schen Behandlung beteiligt war, verblindet durchgeführt. Alle histometrischen Messungen wurden mithilfe eines Nummerierungssystems in eine Tabelle übertragen, um sicherzustellen, dass die Verblindung während der Datenerhebung und der statistischen Analyse gewährleistet war.

Datenanalyse

Für die Werte zu jedem Paar histologischer Schnitte der Implantatbereiche wurden die Durchschnittswerte errechnet, um für jeden Implantatbereich einen einzigen repräsentativen Wert für den BIC, den % BIC und die BD im Untersuchungsbereich zu erhalten. Neben den BD-Werten für jeden Untersuchungsbereich wurde der Durchschnittswert der BD für bukkal, lingual und alle Untersuchungsbereiche berechnet. Die Durchschnittswerte der Behandlungsgruppen wurden für die Messungen errechnet, die von Interesse waren. Für jede Messung wurde eine mixed-ANOVA durchgeführt, um Tests für die unterschiedlichen Behandlungen in den Implantatbereichen zu haben, während gleichzeitig die Variabilität zwischen den Tieren berücksichtigt wurde. Wenn die F-Tests zur Auswirkung der

Behandlung des Implantatbereichs statistisch signifikante Unterschiede ergaben, wurden Student t-Tests mit Bonferroni-Korrektur durchgeführt, um Behandlungsunterschiede zwischen den einzelnen Defekten zu ermitteln. Ergebnisse mit $P < 0,05$ galten als statistisch signifikant. Da es sich hier um eine Pilotstudie handelte, wurde vor den Experimenten keine Power-Analyse durchgeführt. Allerdings erfolgte auf der Grundlage der Pilotergebnisse eine retrospektive Power-Analyse, um den Stichprobenumfang zu ermitteln, der notwendig gewesen wäre, um signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zu entdecken, die mit einem Autotransplantat und mit rhBMP-2/ACS behandelt worden waren.

Ergebnisse

Klinische Befunde

Alle Defekte heilten ohne Komplikationen ab, und es wurden Implantate inseriert. Auch die Implantate heilten alle komplikationslos ein. Die Röntgenanalyse der histologischen Blöcke zeigte einen guten BIC und keine periimplantäre Radioluzenz (keine Daten gezeigt).

Augmentationsbreite-(ARW)-Messung

Bei der Breite des augmentierten Kamms gab es keine signifikanten Mittelwertdifferenzen zwischen den vier Behandlungsgruppen ($F = 1,55$, $P = 0,25$). Bei der ARW gab es große Unterschiede zwischen den einzelnen Implantatarealen. Sie reichten von 2,5 bis 8 mm. Die durchschnittliche Zunahme betrug insgesamt $5,0 \pm 1,3$ mm (Tabelle 1).

Histologische Untersuchung des bukkalen augmentierten Knochens

Autotransplantatbereiche

Fünf Implantate wurden in Bereiche inseriert, die mit einem Autotransplantat augmentiert worden waren (Abb. 4a). Im Allgemeinen war der Knochen dicht. Das Remodeling war ausgezeichnet und es wurden nur noch wenige restliche Transplantatpartikel beobachtet. Alle fünf Bereiche zeigten eine gute bukkale Kammmform, die bis an das obere Ende des Implantats reichte.

rhBMP-2/ACS-Bereiche

Fünf Implantate wurden in Bereiche inseriert, die mit rhBMP-2/ACS augmentiert worden waren (Abb. 4b). Im Allgemeinen zeigten die Bereiche eine ausgezeichnete Knochenregeneration. Der Knochen war dicht und reif und es lagen Haversche Systeme vor. Drei Bereiche zeigten sehr dichten bukkalen Knochen, also kompakten Knochen, der dem natürlichen Knochen ähnelte. Zwei Bereiche zeigten dünnen Knochen. Dies lag aber vermutlich an der Implantatangulation.

rhBMP-2/ACS/Matrix-Bereiche

Fünf Implantate wurden in Bereiche inseriert, die mit rhBMP-2/ACS/Matrix augmentiert worden waren (Abb.

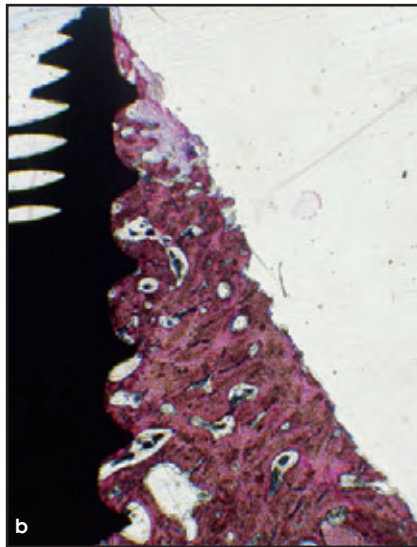
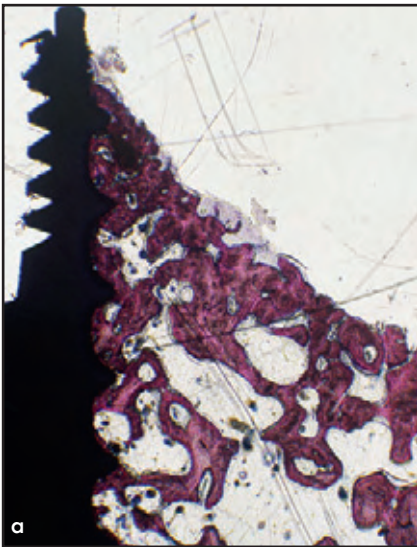


Abb. 4a und 4b Zwei verschiedene histologische Schnitte (a) eines Autotransplantat- und (b) eines rhBMP-2/ACS-Bereichs (Vergrößerung x 10).

Abb. 4c Histologischer Schnitt eines rhBMP-2/ACS/Matrix-Bereichs (Vergrößerung x 10).

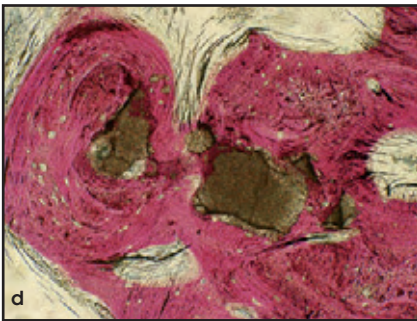


Abb. 4d (oben) Höhere Vergrößerung eines Kollagen-Keramik-Partikels im regenerierten Knochen (Vergrößerung x 100).

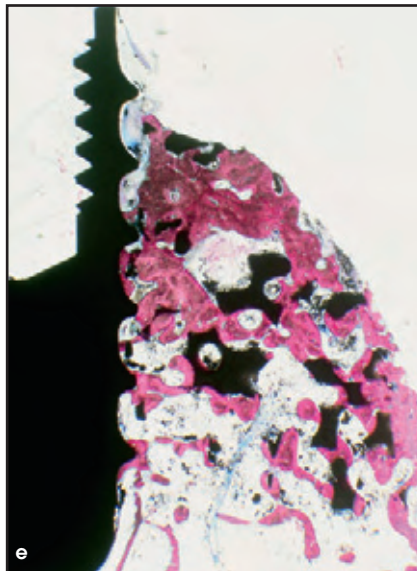


Abb. 4e (rechts) Geringere Vergrößerung eines ACS/Matrix-Bereichs (Vergrößerung x 10). Der Knochenabbau unterhalb des Implantatkopfs fällt auf.

4c). Nach 16 Wochen lagen im bukkalen Knochen aller Bereiche noch restliche Matrixpartikel vor, die direkt in den neugebildeten Faser- und Lamellenknochen integriert waren (Abb. 4d). Im Allgemeinen zeigte der neue Knochen um die Matrix ein gutes Remodeling. In einem Be-

reich wurde an der bukkalen Implantatoberfläche sehr dünner Knochen beobachtet. Auch dies lag wahrscheinlich an der Implantatregulation.

ACS/Matrixbereiche

Fünf Implantate wurden in Bereiche

insetiert, die mit ACS/Matrix augmentiert worden waren (Abb. 4e). Nach 16 Wochen lagen im bukkalen Knochen noch große Matrixpartikel und mehr Reste vor als in den Bereichen, die mit rhBMP-2/ACS/Matrix behandelt worden waren. Allerdings zeigten drei Berei-

che neugebildeten Knochen, der bis zum oberen Ende des Implantats reichte.

Histologische Analyse der Untersuchungsbereiche

Autotransplantatbereiche

Die Implantatoberfläche und der Knochenbereich waren fast vollständig von Knochen bedeckt. Das Remodeling hatte begonnen und ein Großteil des neuen Knochens war durch Lamellenknochen ersetzt.

rhBMP-2/ACS-Bereiche

In diesen Bereichen war die Implantatoberfläche fast vollständig von reifem Knochen bedeckt. Der neugebildete Knochen war fast vollständig durch Lamellenknochen ersetzt und es waren Haversche Systeme zu sehen.

rhBMP-2/ACS/Matrix-Bereiche

Die Implantatoberfläche war fast vollständig von Knochen bedeckt. Es war ein Knochenremodeling zu erkennen, aber es lagen auch noch Bereiche mit Faserknochen vor. Auch kleine Mengen Lamellenknochen sowie restliche Matrixpartikel waren zu erkennen. Die BD war hoch.

ACS/Matrixbereiche

Auch hier war die Implantatoberfläche fast vollständig von Knochen bedeckt. Es war ein Remodeling zu erkennen, aber bei dem Knochen handelte es sich meist um unreifen Faserknochen. In dem neugebildeten Knochen wurden viele Matrixpartikel beobachtet. Um die Matrixpartikel hatte sich kein Bindegewebe gebildet, und der regenerierte Knochen stand in direktem Kontakt zu den Partikeln.

Histometrische Analyse

Zwischen den Tieren ebenso wie zwischen den Bereichen bei den einzelnen Tieren wurden signifikante Unterschiede beobachtet. Dass so große Unterschiede zwischen den Hunden festgestellt wurden und die jeweilige Therapieform nur in fünf Bereichen getestet wurde, trug dazu bei, dass es für den Vergleich der durchschnittlichen Behandlungsergebnisse keine ausreichende statistische Signifikanz für alle Analysen gab. Bei der Untersuchung der Querschnittsdaten der Gewebereaktionen wurden bestimmte Trends erkennbar, auch wenn sie nicht statistisch signifikant waren.

BIC

Nach 16 Wochen Einheilung ergaben sich für die bukkale Oberfläche des Implantats folgende Durchschnittswerte: Der prozentuale BIC betrug für ACS/Matrix 68,0 % \pm 19,0 % und für rhBMP-2/ACS 87,5 % \pm 6,6 %, ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($F = 2,03$, $P = 0,16$). Nach demselben Zeitraum ergaben sich für die linguale Oberfläche folgende Durchschnittswerte: Der prozentuale BIC betrug für ACS/Matrix 85,1 % \pm 6,7 % und für rhBMP-2/ACS/Matrix 91,1 % \pm 5,0 %, ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($F = 0,69$, $P = 0,57$). Bei einem der Hunde konnte der prozentuale BIC für die Autotransplantat- und rhBMP-2/ACS-Bereiche nicht gemessen werden. Die vollständigen Ergebnisse sind in Tabelle 2 aufgeführt.

BD

Nach 16 Wochen Einheilung wurden weder für die einzelnen Untersuchungsbereiche noch für alle Untersuchungsbereiche zusammengefasst bei der prozentualen BD signifikante Unterschiede bei

Tabelle 2 % BIC der behandelten Bereiche nach 16 Wochen ($\bar{x} \pm$ Standardabweichung)

Parameter	Autotransplantat	rhBMP-2/ACS	rhBMP-2/ACS/Matrix	ACS/Matrix
Bukkale Fläche	85,7 ± 8,2	87,5 ± 6,6	74,0 ± 15,3	68,0 ± 19,0
Linguale Fläche	87,2 ± 5,1	88,9 ± 6,3	91,1 ± 5,0	85,1 ± 6,7

BIC = Knochen-Implantat-Kontakt.

Tabelle 3 % BD in den UB der behandelten Bereiche nach 16 Wochen ($\bar{x} \pm$ Standardabweichung)

UB	Autotransplantat	rhBMP-2/ACS	rhBMP-2/ACS/Matrix	ACS/Matrix
Bukkale gesamt	56,9 ± 8,8	66,9 ± 11,3	51,6 ± 12,1	59,2 ± 14,0
Bukkale oben	66,5 ± 15,6	70,7 ± 12,3	55,2 ± 17,4	68,3 ± 11,3
Bukkale unten	47,3 ± 19,3	63,0 ± 10,3	48,1 ± 10,7	50,1 ± 17,3
Lingual gesamt	78,5 ± 12,5	68,4 ± 12,8	64,1 ± 10,8	69,4 ± 13,0
Lingual oben	85,4 ± 7,9	77,3 ± 14,8	74,7 ± 13,4	77,4 ± 16,6
Lingual unten	71,5 ± 18,9	59,6 ± 16,8	53,5 ± 8,5	61,4 ± 16,2
All UBs	67,7 ± 6,0	66,0 ± 11,4	57,9 ± 10,2	64,3 ± 11,5

BD = Knochendichte; UB = Untersuchungsbereich.

den Durchschnittswerten ermittelt. Alle F-Tests ergaben $P > 0,30$. Die Durchschnittswerte der BD in den bukkalen Untersuchungsbereichen reichten von 47,3 % ± 19,3 % in den Autotransplantatbereichen bukkal unten bis 70,7 % ± 12,3 % in den rhBMP-2/ACS-Bereichen bukkal oben. Die Durchschnittswerte der BD in den lingualen Untersuchungsbereichen reichten von 53,5 % ± 8,5 % in den rhBMP-2/ACS/Matrix-Bereichen lingual unten bis 85,4 % ± 7,9 % in den Autotransplantatbereichen lingual oben. Bei einem der rhBMP-2/ACS-Bereiche konnte die BD in den bukkalen Untersuchungsbereichen nicht gemessen werden. Die vollständigen Ergebnisse sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Diskussion

Der offensichtliche Vorteil der Verwendung von nicht autogenen Knochen-Transplantatmaterialien liegt darin, dass kein zusätzlicher Operationsbereich für die Entnahme von autogenem Knochen erforderlich ist. Kommerziell erhältlich sind unterschiedliche biologische und synthetische Knochenersatzmaterialien und ein biologischer Mediator (Wachstumsfaktor), die für Knochenaugmentationsverfahren untersucht wurden. In der vorliegenden Studie wurden vier Augmentationsverfahren und die Osseointegration von gedeckt eingehielten Dentalimplantaten untersucht, die in die augmentierten Bereiche inseriert worden waren. Alle Therapieformen wurden im Unterkiefer von Hunden untersucht. Die Osseointegration der Implantate erfolgte während einer Einheilungszeit von

zwei Monaten nach der Kammaugmentation. Alle Implantate zeigten einen direkten Kontakt der Implantatoberfläche mit großen Knochenbereichen, in denen ein Remodeling und Osteone nahe der Implantatoberfläche beobachtet wurden. In den histologischen Beobachtungen zeigte der augmentierte Knochen in den rhBMP-2/ACS-Bereichen eine fast reife Regeneration. Dies ist vielleicht damit zu erklären, dass rhBMP-2 die Differenzierung fördert. Durch diese Kombination aus Trägermaterial und Wachstumsfaktor wird die Einsprossung von Vorläuferzellen gefördert. Die rekrutierten Zellen können sich anschließend in knochenbildende Zellen differenzieren. Es konnten unterschiedliche Trends festgestellt werden, beim BIC und bei der BD gab es jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den vier Therapieformen. Das war wohl auf die geringe Anzahl von Tieren und Implantatbereichen in dieser Pilotstudie zurückzuführen. Außerdem wurde in diesem Experiment die Einheilung zwei Monate nach der Implantatinserion untersucht. Da die Heilung ein dynamischer Prozess ist, hätten diese Ergebnisse zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Implantatinserion vermutlich anders ausfallen können.

Der BIC an der bukkalen Seite zeigte, dass alle vier Behandlungsgruppen einen hohen prozentualen BIC-Mittelwert erreicht hatten, der 68,0 % bis 87,5 % betrug. Für den prozentualen BIC gab es an den bukkalen Oberflächen keine signifikanten Mittelwertdifferenzen zwischen dem Autotransplantat und den übrigen drei Augmentationsmaterialien (rhBMP-2/ACS, rhBMP-2/ACS/Matrix, ACS/Matrix). Damit wird die statistische Hypothese nicht widerlegt, nach der das durchschnittliche Osseointegrationsni-

veau von Implantaten, die in drei unterschiedlich transplantierte Bereiche inseriert werden, äquivalent zu Bereichen ist, die mit einem Autotransplantat behandelt wurden. Daraus lässt sich allerdings nicht folgern, dass die vier Behandlungen zu einer äquivalenten Osseointegration führten, weil die Anzahl der analysierten Bereiche gering war und für die Querschnittsdaten nur ein einziger Zeitpunkt untersucht wurde. Der höchste prozentuale BIC-Mittelwert der Gruppen wurde auf den bukkalen Oberflächen der rhBMP-2/ACS-Bereiche erreicht (87,5 %). Der zweithöchste prozentuale BIC war der Durchschnittswert für das Autotransplantat (85,7 %). Dieses Ergebnis ist vielleicht darauf zurückzuführen, dass das rhBMP-2 die Population von Knochenvorläuferzellen stimuliert. Auch die prozentualen BIC-Werte für die linguale Oberflächen der Autotransplantat- (87,2 %) und rhBMP-2/ACS-Bereiche (88,9 %) waren relativ hoch. Die Analyse des benachbarten natürlichen Knochens zeigt, dass in den Autotransplantat- und rhBMP-2/ACS-Bereichen eine ähnliche Osseointegration erreicht wurde. Im Gegensatz dazu lagen die Durchschnittswerte für den prozentualen BIC in den rhBMP-2/ACS/Matrix- (74,0 %) und ACS/Matrix-Bereichen an den bukkalen Flächen etwa 17 % niedriger als die Werte an den linguale Flächen (91,1 % bzw. 85,1 %). Möglicherweise beeinflussten die Matrixpartikel das Ausmaß der Osseointegration.

In einer früheren Studie mit Hunden verzeichneten von Arx et al.¹⁸ für Implantate, die in einem zweizeitigen Verfahren inseriert worden waren, einen niedrigeren BIC als in der vorliegenden Studie. In jener Studie wurde der BIC von nicht gedeckelt einheilenden Implantaten untersucht, die eine mit Titanplasma-

spray beschichtete Oberfläche hatten. Sie wurden in vorher augmentierte Bereiche inseriert. Es wurden vier Transplantattechniken mit drei unterschiedlichen Knochenmaterialien getestet und mit natürlichem Knochen verglichen. Der BIC betrug in jener Studie 59 % bis 75 %. Es ist allerdings beachtenswert, dass von den Ergebnissen der vorliegenden Studie die BIC-Mittelwerte der Bukkalseite beim Autotransplantat (85,7 %) und bei rhBMP-2/ACS (87,5 %) mehr als 10 % über den BIC-Mittelwerten für die Bereiche mit natürlichem Knochen in der früheren Studie (73,7 %) lagen. Der höhere BIC in dieser Studie könnte auf den Unterschied zwischen den Titanplasma-spray-beschichteten Oberflächen und den SLA-Oberflächen zurückzuführen sein. Möglicherweise führten auch die Augmentationsverfahren in der vorliegenden Studie zu einer höheren Knochendichte, was wiederum die Ursache für den höheren BIC sein könnte. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass autogener Knochen und rhBMP-2/ACS als Transplantatmaterial ähnlich effektiv sind.

Die BD an den bukkalen Seiten zeigte, dass in den vier Behandlungsgruppen bei der durchschnittlichen prozentualen BD in den Untersuchungsbereichen ein breites Spektrum erreicht wurde (47,3 % bis 70,7 %). Beim Vergleich der vier Behandlungsgruppen in Bezug auf den gesamten, den oberen und den unteren bukkalen Bereich wurden allerdings keine signifikanten Mittelwertdifferenzen festgestellt. Auch hier war es aufgrund der großen Unterschiede zwischen den Hunden und der geringen Anzahl der Stichproben schwierig, mit der ANOVA Mittelwertdifferenzen zu ermitteln. Um z. B. einen Unterschied zwischen Autotransplantat und

rhBMP-2/ACS für die BD im gesamten bukkalen Bereich ermitteln zu können, wäre eine Stichprobenanzahl von 34 Bereichen (17 pro Behandlung) notwendig gewesen, um mit dem F-Test mit der ANOVA bei einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit von 0,05 und einer Power von 80 % eine Behandlungswirkung ermitteln zu können.

Die höchsten Durchschnittswerte für die BD in den gesamten, den oberen und unteren bukkalen Bereichen in den vier Behandlungsgruppen erreichte rhBMP-2/ACS. Im gesamten bukkalen Bereich war die durchschnittliche BD bei rhBMP-2/ACS um 10 % höher als beim Autotransplantat. Beim Vergleich der gesamten bukkalen und lingualen Bereiche war der BD-Mittelwert für rhBMP-2/ACS im gesamten bukkalen Bereich (66,9 %) ähnlich wie im gesamten lingualen Bereich (natürlicher Knochen) (68,4 %). In den übrigen Gruppen hingegen lag der BD-Mittelwert auf der Basis des gesamten bukkalen Bereichs mindestens 10 % unter dem Mittelwert des gesamten lingualen Bereichs. Die durchschnittliche BD in der rhBMP-2/ACS/Matrix-Gruppe lag mehr als 10 % niedriger als die übrigen Gruppenmittelwerte im oberen bukkalen Untersuchungsbereich. Das lag vor allem an der schlechten Reaktion bei einem Hund, bei dem auch ein weiterer Implantatbereich in Bezug auf die bukkalen Werte erfolglos präpariert wurde.

In dieser Studie wurde die BD außerhalb der Untersuchungsgebiete nicht untersucht. In beiden Matrixbereichen (rhBMP-2/ACS/Matrix und ACS/Matrix) wurden im augmentierten Knochen restliche Matrixpartikel beobachtet, nicht aber in den Untersuchungsbereichen. Das ist vielleicht damit zu erklären, dass die Implantatinsertion das periimplantäre Knochenremo-

deling nahe der Implantatoberfläche stimuliert. Außerdem kann die Knochenbildung auch durch die Häufigkeit der Knochenstimulation beeinflusst werden²². Bei einem zweizeitigen Verfahren wird die Knochenbildung sowohl bei der Kammaugmentation als auch bei der Implantatinsertion stimuliert. Die Stimulierung durch die Implantatinsertion kann die Resorption der Matrixpartikel weiter beschleunigen und den neugebildeten Knochen im periimplantären Untersuchungsbereich stimulieren. Auch bei der Implantatosteotomie können Transplantatpartikel entfernt werden. Beim anschließenden Knochenremodeling an der Implantatoberfläche können Transplantatpartikel verschwinden, die sich in unmittelbarer Nähe befinden.

Es wurden unterschiedliche Träger für BMP untersucht, darunter β -TCP, ACS, Polylactidsäure-Polymer und verschiedene bovine und humane Knochen-Allotransplantate⁴. Dabei können ACS und β -TCP als effektive Trägermaterialien für BMP betrachtet werden^{9, 20}. Die Verwendung von rhBMP-2/ACS in Extraktionsalveolen für die Ridge Preservation und den Sinuslift hat bereits effektive Ergebnisse gezeigt. Ein Nachteil des Kollagenträgers (ACS) ist allerdings, dass er keine Platzhalterfunktion hat. Barboza et al.¹⁶ untersuchten die Auswirkung von rhBMP-2/ACS auf die Kammaugmentation bei chronischen Klasse-III-Defekten bei Hunden. Die Ergebnisse zeigten 12 Wochen nach dem Eingriff, dass nach der Insertion von rhBMP-2/ACS eine eingeschränkte Augmentation (0,8 mm) stattgefunden hatte. Bei der Kombination von rhBMP-2/ACS mit Hydroxylapatit hingegen zeigte sich eine klinisch relevante Kammaugmentation (5,5 mm). In der vorliegenden Studie dienten zwei Schrauben-Pins dazu, dem Ge-



webekollaps vorzubeugen. In manchen der rhBMP-2/ACS-Bereiche waren die Pins vollständig bedeckt. Die Ergebnisse der klinischen Messungen 4 mm unterhalb des Kamms (was der Mitte des Implantats entsprach) zeigten, dass es keine signifikanten Mittelwertdifferenzen zwischen den vier Behandlungsgruppen gab (4,3 bis 5,9 mm). Der Mittelwert von 4,3 mm für die augmentierte Kammbreite in den rhBMP-2/ACS-Bereichen war ein günstiges klinisches Ergebnis für ein Trägermaterial ohne Platzhalterfunktion. Bei diesem Modell konnten die beiden Pins für ausreichend Platz sorgen. Es ist nicht bekannt, ob Pins allein bei der Knochenaugmentation oder bei Läsionen in anderen Zusammenhängen eine ausreichende Platzhalterfunktion haben.

Schlussfolgerungen

Aus den Ergebnissen können folgende Schlüsse gezogen werden:

- Mit gedeckt einheilenden Implantaten mit einer rauen Titanoberfläche, die in regenerierten Knochen inseriert wurden, wurde bei allen Transplantatmaterialien ein hoher prozentualer BIC-Mittelwert erreicht.
- Für die beiden Osseointegrationsparameter (BIC und BD) wurden an der bukkalen Implantatseite am augmentierten Knochen bei den vier verschiedenen Materialien keine statistisch signifikanten Mittelwertdifferenzen festgestellt. Außerdem gab es auch bei der Kammbreite (ARW) bei den vier Therapieformen keine signifikanten Mittelwertdifferenzen. Dies ist eventuell darauf zurückzuführen, dass nur eine geringe Anzahl von Tieren und Implantaten in dieser Pilotuntersuchung verwendet wurden.

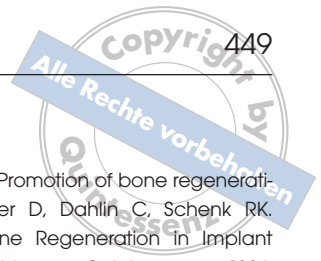
- Die Knochenregeneration mit vier unterschiedlichen Transplantatmaterialien (Autotransplantat, rhBMP-2/ACS, rhBMP-2/ACS/Matrix und ACS/Matrix) führte zur Knochenneubildung. Durch die Verwendung von Pins wurde in den vier Behandlungsgruppen eine ausreichende regenerierte Knochenbreite (4,3 bis 5,9 mm) erreicht.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei folgenden Mitarbeitern der Abteilung für Parodontologie, die diese Studie und die Erstellung des Manuskripts unterstützt haben: Sonja Bustamante, Judy Doerr, Madge Cluck und Dolores Garza. Ihre Arbeit verdient unsere Wertschätzung. Diese Studie wurde von Medtronic unterstützt.

Literatur

1. Jones AA, Buser D, Schenk R, Wozney J, Cochran DL. The effect of rhBMP-2 around endosseous implants with and without membranes in the canine model. *J Periodontol* 2006;77:1184–1193.
2. Marx RE, Giannobile WV, Koka S, Moy PK. The first descriptions of bone morphogenetic protein in the dental literature. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006;21:148–153.
3. Winn SR, Uludag H, Hollinger JO. Carrier systems for bone morphogenetic proteins. *Clin Orthop Relat Res* 1999;(367 suppl):S95–106.
4. Cochran DL, Wozney JM. Biological mediators for periodontal regeneration. *Periodontol* 2000 1999;19:40–58.
5. Hanisch O, Tatakis DN, Boskovic MM, Rohrer MD, Wikesjö UM. Bone formation and reosseointegration in peri-implantitis defects following surgical implantation of rhBMP-2. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12:604–610.



6. Schwartz Z, Somers A, Mellonig JT, et al. Addition of human recombinant bone morphogenetic protein-2 to inactive commercial human demineralized freeze-dried bone allograft makes an effective composite bone inductive implant material. *J Periodontol* 1998;69:1337-1345.
7. Cochran DL, Schenk R, Buser D, Wozney JM, Jones AA. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulation of bone formation around endosseous dental implants. *J Periodontol* 1999;70:139-150.
8. King GN, King N, Hughes FJ. The effect of root surface demineralization on bone morphogenetic protein-2-induced healing of rat periodontal fenestration defects. *J Periodontol* 1998;69:561-570.
9. Kim CS, Kim JI, Kim J, et al. Ectopic bone formation associated with recombinant human bone morphogenetic proteins-2 using absorbable collagen sponge and beta tricalcium phosphate as carriers. *Biomaterials* 2005;26:2501-2507.
10. Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997;17:11-25.
11. Boyne PJ, Lilly LC, Marx RE, et al. De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63:1693-1707.
12. Howell TH, Fiorellini J, Jones A, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997;17:124-139.
13. Nevins M, Kirker-Head C, Nevins M, Wozney JA, Palmer R, Graham D. Bone formation in the goat maxillary sinus induced by absorbable collagen sponge implants impregnated with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996;16:8-19.
14. Cochran DL, Jones AA, Lilly LC, Fiorellini JP, Howell H. Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in oral applications including the use of endosseous implants: 3-year results of a pilot study in humans. *J Periodontol* 2000;71:1241-1257.
15. Wikesjö UM, Sorensen RG, Wozney JM. Augmentation of alveolar bone and dental implant osseointegration: Clinical implications of studies with rhBMP-2. *J Bone Joint Surg Am* 2001;83-A suppl 1 (Pt 2):S136-145.
16. Barboza EP, Duarte ME, Geolás L, Sorensen RG, Riedel GE, Wikesjö UM. Ridge augmentation following implantation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in the dog. *J Periodontol* 2000;71:488-496.
17. Sigurdsson TJ, Nguyen S, Wikesjö UM. Alveolar ridge augmentation with rhBMP-2 and bone-to-implant contact in induced bone. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2001;21:461-473.
18. von Arx T, Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Higginbottom FL, Buser D. Lateral ridge augmentation and implant placement: An experimental study evaluating implant osseointegration in different augmentation materials in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16:343-354.
19. Fiorellini JP, Howell TH, Cochran D, et al. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. *J Periodontol* 2005;76:605-613.
20. Pang EK, Im SU, Kim CS, et al. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-4 dose on bone formation in a rat calvarial defect model. *J Periodontol* 2004;75:1364-1370.
21. Kraiwattapanong C, Boden SD, Louis-Ugbo J, Attallah E, Barnes B, Hutton WC. Comparison of Healos/bone marrow to INFUSE (rhBMP-2/ACS) with a collagen-ceramic sponge bulking agent as graft substitutes for lumbar spine fusion. *Spine* 2005;30:1001-1007.
22. Schenk RK. Promotion of bone regeneration. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK. *Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry*. Chicago: Quintessence, 1994: 72-96.