

**Aus der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie  
der Universität Würzburg**

**Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. A. C. Kübler**

**Klinische und computertomographische Untersuchungen  
zur Einheilung von freien Knochentransplantaten im Unterkiefer  
des Schafmodells**

**Inaugural - Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der**

**Medizinischen Fakultät**

**der**

**Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von**

**Annika Stolke aus Hannover**

**Würzburg, August 2009**

**Referent:** Prof. Dr. med. Dr. med. dent. A.C. Kübler

**Koreferent:** Priv. Doz. Dr. rer. nat. U. Gbureck

**Dekan:** Prof. Dr. M. Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung:** 14. Dezember 2009

**Die Promovendin ist Ärztin**

Meinen Eltern

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
1.1. HISTORISCHER ÜBERBLICK ÜBER DEN EINSATZ VON KNOCHEN UND KNOCHENERSATZMATERIAL ZUR DEFEKTHEILUNG.....	2
1.2. UNTERKIEFERAUGMENTATION ZUR VORBEREITUNG FÜR ENOSSALE IMPLANTATE .....	3
1.3. MEMBRANÖSER UND ENCHONDRALER TRANSPLANTATKNOCHEN .....	5
1.4. OSTEOGENESE, OSTEOINDUKTION UND OSTEKONDUKTION .....	7
1.5. TRANSPLANTATLAGER .....	8
1.6. GUIDED BONE REGENERATION (GBR)/ GESTEUERTE KNOCHENREGENERATION .....	9
1.7. DAS PERIOST.....	10
1.8. DIE STABILE FIXIERUNG DES TRANSPLANTATES .....	10
1.9. KNOCHENERSATZMATERIALIEN (KEM).....	11
1.10. ZIEL DER UNTERSUCHUNG.....	12
<b>2. MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>13</b>
2.1. AUSWAHL DER VERSUCHSTIERE, TIERHALTUNG.....	13
2.2. VERSUCHSAUFBAU.....	14
2.3. OPERATION .....	15
2.3.1. Prämedikation.....	15
2.3.2. Narkose und Medikamente post-operativ.....	15
2.3.3. Entnahme des bikortikalen Knochenspans.....	16
2.3.4. Die Transplantation der Knochenspäne auf den Unterkiefer.....	18
2.4. MATERIALIEN .....	24
2.4.1. Materialien BioOss <sup>®</sup> , Geistlich-Pharma, Schweiz .....	24
2.4.2. Materialien Bio-Gide <sup>®</sup> , Geistlich-Pharma, Schweiz.....	24
2.5. EUTHANASIE DER TIERE UND FIXIERUNG DER KNOCHENPROBEN .....	25
2.6. GEWINNUNG DER KNOCHENPROBEN.....	25
2.7. KLINISCHE BEURTEILUNG DER TRANSPLANTATLAGER .....	26
2.8. PQCT.....	26
2.8.1. Technische Daten.....	27
2.8.2. Durchführung der Messung .....	29
2.8.3. Klinisch makroskopische Auswertung der QCT Bilder .....	30
2.8.4. Auswertung der QCT - Messung.....	30
2.9. HÄMATOXYLIN- UND EOSIN (HE)-FÄRBUNG .....	33
2.10. MIKROSKOPIE UND BILDAKQUISITION .....	33
<b>3. ERGEBNISSE</b> .....	<b>35</b>

3.1. MAKROSKOPISCHE BEURTEILUNG DER VOLUMENMINDERUNG DER TRANSPLANTATE ANHAND DER QCT-BILDER UND EINES KLINISCHEN SCORES .....	35
3.2. QCT-AUSWERTUNG.....	41
3.2.1. Die Knochendichte der Transplantatspongiosa .....	42
3.3. HE-AUSWERTUNG .....	51
3.3.1. Semiquantitative Auswertung der Anzahl der Trabekel im Transplantat.....	52
3.3.2. Semiquantitative Auswertung der Anzahl der GefäÙe im Transplantat .....	54
3.3.3. Semiquantitative Auswertung der knöchernen Verbindungen zwischen Transplantat und Transplantatlager.....	57
3.4. DESKRIPTIVE AUSWERTUNG DER HE-PRÄPARATE.....	59
3.4.1. Transplantation des kortikospongiösen Spans (Schraubenfixation (SF)).....	59
3.4.2. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers (SF+Anfrischen): .....	64
3.4.3. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexcision (SF+Periostexzision):	66
3.4.4. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran (SF+Membran).....	69
3.4.5. Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss® und der resorbierbaren Membran (SF+BioOss®+Membran): .....	72
<b>4. DISKUSSION.....</b>	<b>76</b>
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>90</b>
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>92</b>

## Abkürzungsverzeichnis

BLC	<i>Bone Lining Cells</i> / Osteozyten
BMD	<i>Bone Mineral Density</i> / Knochendichte
BMP	<i>Bone Morphogenic Protein</i> /Knochengestaltendes Protein
BMSC	<i>Bone Marrow Stem Cells</i> / Knochenmarkstammzellen
FGF	<i>Fibroblasts Growth Factor</i> / Fibroblastenwachstumsfaktor
GBR	<i>Guided Bone Regeneration</i> / gerichtete Knochenregeneration
GCSF	<i>Granulocyte Colony Stimulating Factor</i> /Granulozyten stimulierender Faktor
GF	Gesichtsfeld
HE	Hämatoxylin/Eosin Färbung
IL	Interleukin
IGF	<i>Insulinlike Growth Factor</i> /Insulinähnlicher Wachstumsfaktor
KEM	Knochenersatzmaterialien
MAI	Metabolischer Aktivitätsindex
PDGF	<i>Platelets Derived Growth Factor</i> / Thrombozytenderivatwachstumsfaktor
PFA	Paraformaldehyd
QCT	Quantitative Computertomographie
ROI	<i>Region of Interest</i> , Interessenregion
TGF- $\beta$	<i>Transforming Growth Factor</i> / transformierender Wachstumsfaktor
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> / Wachstumsfaktor des Gefäßendothels

## Nomenklatur der Transplantation

Autogen	Empfänger und Spender identisch
Allogen	genetisch differente Individuen, jedoch der gleichen Spezies angehörig
Xenogen	Individuen verschiedener Spezies
Alloplastisch	Ersatz körpereigenen Gewebes durch Fremdmaterial (w. z. B. Kunststoffe, Metall, Keramik etc.)

## 1. **Einleitung**

Beim Durchbruch der Milchzähne mit ca. 6 Monaten ist der Unterkiefer ein mit Spongiosa gefüllter Kompaktaschlauch, mit halb elliptischer Form, der basal dicker und gegen den Alveolarfortsatz dünner ist. Auf dem Basalbogen sitzt der Alveolarfortsatz mit den Zähnen.

Der Aufbau des Kieferkamms ist darauf abgestimmt, dass die Hauptkraft der Kaubelastung durch die Zähne aufgenommen und über den Zahnhalteapparat auf den benachbarten Knochen übertragen wird. Hierdurch wird Druckbelastung in Zugkräfte umgewandelt. Aufgrund seiner piezoelektrischen Eigenschaft bei Belastung lässt der Knochen durch die Zugkräfte elektrische Potenziale entstehen, die sich positiv auf die Knochenneubildung auswirken.

Fehlen diese positiven Stimuli, kommt es zu einem Übergewicht der Osteoklastenaktivität, die in eine Atrophie des Alveolarfortsatzes mündet. Sie setzt sich aus einer Druck- und Inaktivitätsatrophie zusammen. Dieser Vorgang spielt auch im zahnlosen Kiefer eine bedeutende Rolle. So ist nach dem Zahnverlust die Atrophie am größten, bleibt jedoch noch über Jahre mit einer abnehmenden Geschwindigkeit bestehen<sup>53</sup>. Cawood und Howell haben 1988 diese Veränderungen des Unterkiefers in einer nach ihnen benannten Klassifikation beschrieben<sup>18</sup>.

Daher ist, neben der Defektzonenstruktur bei Traumata, Tumoren, Infektionen und Fehlbildungen, der Knochenersatz und -erhalt bei atrophischen Vorgängen von steigendem Interesse, wenn man den sich wandelnden Altersaufbau unserer Gesellschaft berücksichtigt.

## 1.1. Historischer Überblick über den Einsatz von Knochen und Knochenersatzmaterial zur Defektheilung

Die Notwendigkeit eines Knochenersatzes und das Problem einer Defektheilung wurde schon früh erkannt, so dass schon im 17. Jahrhundert die ersten Anstrengungen gemacht wurden, einen Lösungsweg zu finden.

Durch Einlagerung von Materialien unterschiedlichsten Ursprungs wurde versucht, die knöchernen Regeneration zu fördern.

Die xenogene Implantation zur knöchernen Defektausheilung wurde bereits 1668 erstmals durch den Holländer Job Janszoon van Meekeren beschrieben<sup>67</sup>.

Er führte mit einem Stück Kalotte vom Hund eine Kranioplastik bei einem Soldaten mit traumatischem Defekt des Schädeldaches durch. Zur Therapie chronischer Osteomyelitiden implantierte Senn 1889 Rinderknochen, der mittels Salzsäure demineralisiert worden war, als Trägermaterial für Jodoform. Es zeigte sich sowohl ein positiver Effekt auf die Entzündung wie auch eine knöchernen Regeneration des Defektes (Senn 1889).

Maatz und Bauermeister stellten 1957 den „Kieler Knochenpan“ vor, bei dem es sich ebenfalls um ein xenogenes Knochenmaterial vom Kalb handelte, das durch Eiweißdenaturierung mittels Wasserstoffperoxid immunologisch inaktiviert wurde<sup>10</sup>. Dieses xenogene Material konnte relativ gute Erfolge aufweisen<sup>52; 65</sup>. Allerdings konnte durch das Verfahren die organische Matrix nicht vollständig entfernt werden. Deshalb wird der „Kieler Knochenpan“ heute wegen seiner potentiellen Antigenität und Infektiosität nicht mehr eingesetzt<sup>66; 79; 64 31</sup>.

Autogene Transplantate wurden von Walter 1820 in die rekonstruktive Chirurgie eingeführt. Er replantierte autogenen Knochen aus Schädelreparationen<sup>21</sup>. Die osteogenetische Potenz der im autogenen Knochentransplantat erhaltenen vitalen, periostalen Zellen zeigte 1867 Ollier<sup>58</sup>. Axhausen gelang 1908 der Nachweis, dass Zellen des Periostes und des Knochenmarks im Transplantat nach dessen Replantation vital bleiben und zur Knochenneubildung beitragen<sup>8</sup>. Damit war das autogene Knochentransplantat als Goldstandard in der Therapie von Knochendefekten etabliert und ist bis heute von keiner Alternative in der klinischen Anwendung abgelöst worden.



Die ersten Knochenersatzmaterialien, die routinemäßig erfolgreich verwendet wurden, waren nicht-reaktive Metalle aus rostfreiem Stahl, Tantalum und Vitallium. Stabile, hitzebehandelte Acrylpolymere wurden bald ebenso eingesetzt wie Methylmethacrylate (Knochenzement), Silikone und andere Kompositmaterialien<sup>71; 4</sup>.

Diese bioinerten Materialien wurden in den letzten Jahren zunehmend von bioaktiven Stoffen abgelöst, was der Bildung von Carbonathydroxylapatit auf der Materialoberfläche, das dem Knochenapatit sehr ähnlich ist, zugeschrieben wird. Zu diesen Materialien zählen bioaktive Glaskeramiken<sup>63</sup>, Kalziumphosphatmaterialien wie Hydroxylapatit<sup>35</sup>, Trikalziumphosphat, biphasische Kalziumphosphate<sup>55; 35; 45</sup>, ungesinterte Apatite sowie unterschiedlich plasmabeschichtete (Hydroxylapatit, amorphes Kalziumphosphat, Trikalziumphosphat, Tetrakalziumphosphat, Kalziumoxid) Metallimplantate aus Titan<sup>19; 12; 1</sup>. Weitere aktuelle Knochenersatzmaterialien sind Knochenabkömmlinge wie die demineralisierte Knochenmatrix, prozessierter Rinderknochen, humaner allogener Knochen aus der Knochenbank und korallines Material wie korallines Hydroxylapatit<sup>85</sup>.

Definitionsgemäß handelt es sich bei alloplastischen wie auch bei allogenen Materialien um Implantate ohne vitale Zellen<sup>82</sup>, die in Materialien mit osteokonduktiver und osteoinduktiver Wirkung unterteilt werden können.

Letztendlich haben neben dem autogenen Knochen als „Goldstandard“ nur allogenes und alloplastisches Knochenersatzmaterial zur Defektrekonstruktion Eingang in die klinische Routine gefunden.

## 1.2. Unterkieferaugmentation zur Vorbereitung für enossale Implantate

Bei ausgeprägten Defekten des Alveolarfortsatzes, wie sie bei zahnlosen Patienten oder z.B. nach radikaler Tumorchirurgie im Kieferbereich, durch Infektion, Trauma oder Fehlbildungen vorkommen können, ist eine enossale Implantatchirurgie durch die zu geringe Höhe, bzw die zu geringe Breite des Kieferkamms limitiert. Dies führt neben einer fehlenden Primärstabilität zu einer Gefährdung anatomischer Strukturen, z.B. des Nervus alveolaris inferior, oder der Gefahr einer pathologischen Fraktur.

Zur Verbesserung der Ausgangssituation, wurden bisher autogene Knochentransplantate oder Knochenersatzmaterialien verwendet, um einen Unterkieferaufbau vorzunehmen.

Die autogene Knochentransplantation stellt dabei nach wie vor den „Goldstandard“ dar wobei Knochen im Vergleich zu anderen Gewebearten bei ungestörter Wundheilung ohne sichtbare Narbe verheilt. Denn Knochen ist ein dynamisches Gewebe, welches sich kontinuierlich im Prozess des Remodelings, der Regeneration und des Replacements befindet <sup>80</sup>.

Morphologisch kann autogener Knochen in eine dichte Knochenschicht, die Kompakta, und eine poröse Knochenschicht, die Spongiosa, eingeteilt werden. Die Porosität der Spongiosa bedingt eine schnelle Vaskularisation nach Transplantation, eine hohe Zelldichte und eine hohe Durchlässigkeit für lösliche Faktoren. Dies führt zu einem beschleunigten Einbau und Umbau des Spongiosatransplantates im neuen Transplantatlager. Kompaktatransplantate erfahren einen langsameren und wohl nie vollständigen Umbau <sup>30</sup>. Allerdings besitzt die Kompakta gegenüber der Spongiosa eine höhere mechanische Stabilität, was im mechanisch belasteten Transplantatlager von Bedeutung ist.

Es ist davon auszugehen, dass beim frei transplantierten autogenen Knochen die Mehrheit der zellulären Elemente ischämieinduziert stirbt oder nach Apoptoseinduktion zugrunde geht <sup>9</sup>.

Am widerstandsfähigsten gegenüber den ischämischen Bedingungen im freien Transplantat sind die mesenchymalen Stammzellen des Knochenmarks (bone marrow stem cells, BMSC) und die Vorläuferzellen der Endothelzellen. Diese Zellen können überleben und sind nach Proliferation und Differenzierung durch die veränderte Sauerstoffspannung, pH-Änderungen und Zytokinkaskaden für die Einheilung des autogenen Transplantates verantwortlich <sup>9</sup>.

Nachdem ein Knochentransplantat entnommen und transplantiert wurde, beginnen viele verschiedene biologische Prozesse, die auftreten, wenn das Transplantat in das Transplantatlager inkorporiert wird. Die Einheilung und Inkorporation beinhaltet auch eine Entzündungsreaktion, Revaskularisation, Osteokonduktion, Osteoinduktion Osteogenese und Umbauprozesse <sup>80</sup>. Der größte Anteil der biologischen Aktivität wird vom Transplantatlager getragen, da die meisten Osteozyten des Transplantates, wie bereits erwähnt, meist kurz nach der Entnahme des Transplantates zugrunde gehen.

Freier autogener Knochen kann je nach benötigter Menge und Indikation aus dem Kinn, dem Kieferwinkel, vom Tuber maxillae, aus der Kalotte, den Rippen, der Tibia oder aus dem Beckenkamm entnommen werden.

Die Knochenentnahme beim Patienten bedeutet nicht nur eine längere Operationszeit, sondern auch eine erhöhte Entnahmemorbidität, was zur zusätzlichen Belastung des Patienten führt.

Des Weiteren sind die Mikro- und Makrostruktur des autogenen Transplantates vor allem bezüglich der Biomechanik meist nicht identisch mit denen der Empfängerregion. Sie müssen erst durch langsame Umbauprozesse adaptiert werden.

In verschiedenen Untersuchungen wurde gezeigt, dass die Unterkieferaugmentation durch Anlagerungsosteoplastik häufig in teilweiser oder kompletter Resorption und in einer fehlenden Knochenverbindung des ortsständigen Knochens mit dem Onlay-Transplantat resultiert <sup>24</sup>.

### 1.3. Membranöser und enchondraler Transplantatknochen

In Hinblick auf die embryonale Entwicklung gibt es zwei Knochentypen, welche in Bezug auf die Transplantation kontrovers diskutiert werden. Membranöser Knochen ist zu finden in der Schädelkalotte, im Gesichtsschädel und dem Unterkieferknochen. Dieser Knochentyp besitzt jedoch noch zusätzliche enchondrale Komponenten. Er entsteht durch die intramembranöse Ossifikation, bei welcher embryonale mesenchymale Zellen direkt zu Osteoblasten differenzieren, die das kollagene Osteoid synthetisieren. Das Osteoid wird durch Mineralisation mit Calciumphosphat zu festem Knochen.

Der enchondrale Knochen ist in den langen Röhrenknochen des Skeletts zu finden, einschließlich der Rippen und der Darmbeinschaufeln. Die enchondrale Ossifikation der Knochen entsteht durch Bildung eines knorpeligen Gerüsts, welches ebenfalls dann durch Osteoidbildung und Mineralisation an Stabilität gewinnt.

Verschiedene Studien berichten, dass membranöse Knochentransplantate resistenter gegenüber atrophischen Vorgängen sind als enchondraler Knochen <sup>24,60</sup>. So zeigte Peer 1951, dass Transplantate vom Vomer, der Nase oder von ethmoidalem Knochen, die in Abdominalfett, subkutan oder intramuskulär, transplantiert worden waren, ihre

Knochenstruktur und das Volumen für bis zu 5 Jahren beibehielten, während Transplantate aus Rippen, Tibia oder Beckenkamm schon nach 6-8 Monaten in Bindegewebe umgebaut worden waren <sup>60</sup>. Andere Studien zeigen, dass eher die Mikroarchitektur, denn die embryonale Herkunft der Schlüssel zur Volumenerhaltung des Transplantates ist. So beweisen Buchman und Ozaki, dass eine statistisch größere Resorptionsrate sowohl in spongiösem Knochen von enchondraler, als auch von mesenchymaler Herkunft gegenüber desmalemen kortikalen Knochen besteht. Es lag jedoch kein signifikanter Unterschied in der Resorptionsrate von enchondralem gegenüber desmalemen kortikalen Knochen vor. Daher bescheinigten diese Autoren kortikalem Knochen eine bessere Onlay-Transplantateigenschaft gegenüber spongiösem Knochen, unabhängig von der embryonalen Herkunft <sup>13</sup>.

Nicht zu vernachlässigen ist auch, dass enchondraler Knochen auf Grund seines hohen Organisationsgrades und seiner funktionellen Ausrichtung dem Geflechtknochen membranöser Herkunft mechanisch überlegen ist. Der enchondrale Knochen gliedert sich in eine kortikale, äußere Schale und in ein trabekuläres, spongiöses Inneres. Die dichte und zellarme Kortikalis verleiht dem Knochen seine Stabilität, während die zellreiche Spongiosa mit den Trabekeln eine große Oberfläche besitzt und für die biologische Aktivität des Knochens verantwortlich ist. Die endostalen Flächen der Trabekel werden von Bone Lining Cells (BLC) gesäumt. In der Spongiosa ist das Knochenmark lokalisiert mit seinen mesenchymalen und hämatopoetischen Stammzellen, Osteoblasten und Osteoklasten, Gefäßen mit endothelialen Zellen, Fibroblasten und Fettzellen.

#### 1.4. Osteogenese, Osteoinduktion und Osteokonduktion

Die Osteogenese ist die Synthese von neuem Knochen durch differenzierte Knochenzellen in Abwesenheit von undifferenzierten Vorläuferzellen, die entweder dem Transplantat oder dem Transplantatlager entspringen. So können Zellen aus der Transplantatspongiosa und -kortikalis die Transplantation überleben und neuen Knochen synthetisieren, wobei spongiöser Knochen durch seine größere Oberfläche reichhaltiger ist an Osteoblasten und somit für die Osteogenese von größerer Bedeutung ist.

Osteoinduktion bezeichnet den Prozess, undifferenzierte mesenchymale Zellen chemotaktisch anzuziehen und vor Ort zur Differenzierung von Chondroblasten und Osteoblasten zu stimulieren. Diese Chemotaxis und Stimulation wird durch Wachstumsfaktoren induziert, die in der Transplantatmatrix lokalisiert sind, wie z.B. Bone Morphogenic Protein (BMP) -2, -3 und -7, welche zur Transforming Growth Faktor (TGF)- $\beta$  Familie gehören. Zusätzliche Wachstumsfaktoren sind der Platelet Derived Growth Factor (PDGF), Interleukin (IL), Fibroblast Growth Factor (FGF), Insulin-like Growth Factor (IGF), Granulocyte Colony Stimulating Factor (GCSF) und Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF).

Es sind drei Phasen der Osteoinduktion beschrieben: Chemotaxis, Mitose und Differenzierung. Ein chemischer Gradient während der Chemotaxis bewirkt die Stimulation von Knochen induzierenden Faktoren, welche die Migration von Zellen in die Region, wo sie benötigt werden, veranlassen. Diese Faktoren stimulieren die Mitogenese und Differenzierung der osteoblastären Vorläuferzellen, wodurch die Zellen in Knorpel differenzieren, revaskularisiert werden und dann durch Mineralisation neuen Knochen bilden.

Osteokonduktion bezeichnet den geordneten Prozess eines dreidimensionalen Einwachsens von Kapillaren, perivaskulärem Gewebe und mesenchymalen Zellen, das von dem Transplantatlager entlang des Transplantats stattfindet. Es handelt sich somit um eine Leitschienenfunktion.

Für eine erfolgreiche und schnelle Knochentransplantation hat die osteogenetische Aktivität des Transplantates und des Transplantatlagers die größte Bedeutung.

## 1.5. Transplantatlager

Die Osteogenität, Osteoinduktion und die Osteokonduktion ist durch die Anwesenheit und Kompetenz insbesondere mesenchymaler Stammzellen, Osteoprogenitorzellen, endothelialer Progenitorzellen und differenzierter Osteoblasten im Transplantatlager bestimmt. Fehlen diese Zellen, kommt es zum verzögerten oder gar fehlendem Einheilen des Transplantates in das Transplantatlager.

Weitere Faktoren, die die Inkorporation des Transplantates negativ beeinflussen können, sind die eingeschränkte Durchblutung, die Größe des Knochendefektes, eine vorausgegangene Infektion oder Bestrahlung, Immunsuppression, Denervation, Nikotinabusus oder Malnutrition, Diabetes, Medikamentengabe wie zum Beispiel Kortikosteroide oder nichtsteroidale Antiphlogistika (s. Tabelle Nr.1)

**Tabelle 1: Lokale und systemische Faktoren, welche die Transplantatinkorporation beeinflussen** <sup>41</sup>

<b>Faktor</b>	<b>Positiv</b>	<b>Negativ</b>
<b>Lokal</b>	Transplantatseitige gute Gefäßversorgung Große Oberfläche Mechanische Stabilität Mechanische Belastung Wachstumsfaktoren Elektrische Stimulation	Bestrahlung Tumor Mechanische Instabilität Lokale Knochenerkrankung Denervation Infektion
<b>Systemisch</b>	Wachstumshormone Thyroidale Hormone Somatomedine Vitamin A und D Insulin Parathyroidale Hormone	Kortikosteroide NSAR Chemotherapie Rauchen Sepsis Diabetes mellitus Malnutrition Metabolische Knochenerkrankung

Zusätzlich ist eine ausreichende Revaskularisierung des Transplantates ausgehend vom Transplantatlager für die erfolgreiche Einheilung notwendig.

Die äußere Fläche des kortikalen Knochens besitzt nach der Periostentfernung im Gegensatz zum endostalen Kompartiment keine Quelle für knochenbildende Zellen mehr. Eine Möglichkeit dies zu überbrücken ergibt die Perforation der Kortikalis des Transplantatlagers, um so den Zellen des endostalen Kompartiments den Zugang zum kortikal aufgelagerten Knochentransplantat zu ermöglichen.

De Carvalho et al. <sup>22</sup> konnten einen Vorteil der Kortikalisperforation nachweisen, während andere Studien hierfür keinen Hinweis fanden <sup>48, 23</sup>.

## 1.6. Guided Bone Regeneration / gesteuerte Knochenregeneration

Die Guided Bone Regeneration (GBR) ist ein Verfahren, das zur Regeneration parodontaler Defekte entwickelt wurde. Das Grundprinzip dieser Methode ist das Ermöglichen einer ungestörten Knochenneubildung durch das Abhalten schnell einwachsenden Granulationsgewebes durch eine Membran. Die Theorie der GBR beinhaltet, dass verschiedene Gewebetypen mit unterschiedlicher Wachstumsschnelligkeit in eine Wunde migrieren. Die unerwünschten Gewebearten, die der Chirurg ausschließen möchte, sind solche nicht-osteogenetischen Ursprungs wie z.B. das Granulations- oder Bindegewebe oder Epithelgewebe<sup>23</sup>.

Durch das Abhalten der nicht-osteogenetischen Zellen durch eine Membran, sollen osteogenetische Zellen aus dem Alveolarkamm bevorzugt in den Raum unterhalb der Membran migrieren, proliferieren und sich dort differenzieren.

Als Membranen kommen entweder nichtresorbierbare Polytetrafluorethylenfolien oder resorbierbare kollagene Membranen zur Anwendung. Die nichtresorbierbaren Folien, im Gegensatz zu den resorbierbaren Membranen, müssen in einer Zweitoperation entfernt werden. Sie können somit länger vor Ort belassen werden, um so die Invagination des Transplantates durch Granulationsgewebe zu verhindern.

Nicht resorbierbare Membranen gelten als stabiler und blocken den Raum für eine Knochenneubildung zuverlässiger als resorbierbare Membranen.

Eine Voraussetzung für den Erfolg einer gerichteten Knochenregeneration ist die stabile Fixation der Membran. Dahling et al.<sup>20</sup>, Kostopoulos und Karring berichteten, dass eine in den behandelten Knochendefekt kollabierte Membran die Knochenneubildung verhinderte, da der benötigte Raum für die Knochenneubildung durch die Membran verlegt wurde.

Kleinere Knochendefekte können nur durch eine Membran abgedeckt werden. Größere Defekte sollten mit Knochen oder Knochenersatzmaterialien aufgefüllt werden, um das Volumen des Blutkoagels zu reduzieren und so die nachfolgende knöcherne Regeneration zu erleichtern<sup>43</sup>.

## 1.7. Das Periost

Osteoprogenitorzellen, welche in Osteoblasten differenzieren, befinden sich im Knochenmark, dem Endost und der inneren Kambiumschicht des Periostes. Das Periost besteht aus einer äußeren vaskulären, der mittleren fibrösen und eine inneren osteogenetischen oder Kambiumschicht. Die Beteiligung des Periosts an der Frakturheilung und auch der Transplantation und die daraus resultierende Notwendigkeit der Erhaltung des Periosts wurden schon früh erkannt.

Burstein et al.<sup>15</sup> hatten an einem Hunderippentransplantat herausgefunden, dass der Erhalt des Periostes signifikant eine kortikale und trabekuläre Knochenneubildung unterstützt gegenüber denen, welche von Periost befreit wurden. Zusätzlich beeinflusst die Periosterhaltung die Transplantatrevaskularisation positiv. Die äußere vaskuläre Schicht kommuniziert dabei intensiv mit den trabekulären und kortikalen Kompartimenten des Transplantates. Eine Osteoklastenaktivität ist außerdem bei Erhalt des Periosts reduziert, so dass eine frühe Resorption des Transplantates vermindert wird. Burstein zog daraus den Schluss, dass der Erhalt des Periosts von klinischer Bedeutung sei, in Bezug auf die Aufrechterhaltung des Volumens und das Überleben des Transplantates.

Durch ein akzidentelles oder operatives Trauma oder andere mechanische Stimuli, kann die Knochenregeneration von der periostalen Kambiumschicht ausgelöst werden<sup>86</sup>.

## 1.8. Die stabile Fixierung des Transplantates

Die sorgfältige Präparation des Transplantates, die akribische Einhaltung der Grundprinzipien der Chirurgie und die vorsichtige Benutzung und Kühlung der Bohrer, zur Vermeidung von durch Überhitzung bedingten Nekrosen, sind essentiell für den Erfolg der Knochen transplantation zur Unterkieferaugmentation. Es muss die Osteogenität des kortikospongiösen Transplantates durch eine Reduzierung der Entnahme/Implantationszeit, die Aufbewahrung in abdeckbaren Gefäßen und Hydratation des Transplantates bewahrt werden.

Während der Frakturheilung fördert eine Kompression der Knochenfragmente die Frakturheilung. Eine exakte Reposition mit schmalen Frakturspalt und eine stabile Osteosynthese führen zu einer primären Frakturheilung. Die Vorteile einer exakten



Reposition mit Osteosynthese schließen eine frühe Belastungs- oder Übungsstabilität und auch eine effizientere Knochenheilung mit ein <sup>80</sup>.

Um eine erfolgreiche Transplantation zu gewährleisten, muss sowohl auf den adäquaten Oberflächenkontakt des Transplantates, als auch auf die Vermeidung von Interposition von Gewebe geachtet werden <sup>41</sup>. Einige Studien zeigen auf, dass eine stabile Fixierung des Transplantates die Überlebensrate des Transplantates verbessert und dass es zur geringeren Atrophie des Transplantates kommt im Vergleich mit Onlays ohne, bzw. nur mit Drahtfixierung <sup>61; 44; 47</sup>.

Ebenso bewirkt eine stabile Fixierung des Transplantates eine Verbesserung der schnellen Revaskularisation und eine beschleunigte primäre Knochenheilung <sup>80</sup>.

## 1.9. Knochenersatzmaterialien

Knochenersatzmaterialien (KEM) sind durch ihre Biokompatibilität, ihre Fähigkeit zur Zelladhärenz, ihre Platzhalterfunktion und ihre Fähigkeit zur Integration in das Wirtsgewebe charakterisiert. Sie können allein, als Gemische und als Trägermatrices für mesenchymale Stammzellen oder osteoblastäre Zellen Verwendung finden.

Das in diesem Versuch verwendete BioOss<sup>®</sup> ist ein KEM xenogener Herkunft. Es handelt sich um ein aus Rinderspongiosa produziertes Hydroxylapatit, welches durch thermische und chemische Behandlung (Pyrolyse) von allen organischen Bestandteilen befreit wurde. Die ursprüngliche Mineralstruktur wird dabei weitgehend erhalten.

BioOss<sup>®</sup> besitzt eine der humanen Spongiosa ähnliche Mikro- und Makrostruktur mit einer spezifischen Oberfläche von ca. 8 m<sup>2</sup>/g. Es gilt als nicht mehr resorbierbar und bleibt nach Implantation formstabil. Es hat eine osteokonduktive Wirkungsweise auf die Knochenregeneration <sup>70</sup>, was die Leitschieneffunktion für einwandernde knochenbildende Zellen betrifft.

### 1.10. Ziel der Untersuchung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, verschiedene Konditionierungen des Transplantates und des Transplantatlagers miteinander zu vergleichen, um so eine optimale Methode zur Unterkieferaugmentation als Voraussetzung für eine Implantation im atrophischen Unterkiefer zu erarbeiten.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Auswahl der Versuchstiere, Tierhaltung

Als Versuchstiere wurden 16 weibliche Merinowollschafe ausgewählt, die 3-4 Jahre alt waren, mit einem Gewicht zwischen 65 und 95 kg.

Das Merinoschaf ist ein geeignetes Tiermodell, da es eine ähnliche Größe und ein ähnliches Gewicht wie der Mensch aufweist. Ebenfalls besteht eine Ähnlichkeit in der trabekulären Struktur des Beckenknochens zwischen Schaf und Mensch<sup>26,59,81</sup>.

Der Schafknochen ist bezüglich des Knochenstoffwechsels vergleichbaren Bedingungen unterworfen wie der humane Knochen<sup>29,81</sup>. Es kann von einer sehr ähnlichen Knochenregenerationsrate ausgegangen werden, welche beim Menschen bei 2,0 - 3,0  $\mu\text{m}/\text{Tag}$  liegt und vom metabolischen Aktivitätsindex (MAI) abhängt (Mensch 1,0)<sup>39</sup>. Bei den Schafen ist mit einer täglichen Knochenneubildungsrate zwischen 1,0 und 2,5  $\mu\text{m}$  zu rechnen. Kleinere Versuchstiere wie Ratten besitzen dagegen einen MAI von ca. 5,15, was bei regenerativen Prozessen einen zu berücksichtigenden Zeiträffereffekt bewirkt. Der MAI und damit die Knochenneubildungsrate ist von der Anzahl differenzierungsfähiger mesenchymaler Stammzellen abhängig, d.h. je mehr Stammzellen im Transplantat oder -lager einer Spezies vorhanden sind desto höher liegt der MAI<sup>46</sup>.

Versuchstechnische Vorteile ergeben sich zusätzlich daraus, dass Schafe relativ leicht und anspruchslos in Herden zu halten sind<sup>38</sup>.

Als Herdentiere wurden diese in einem 20 x 10 m großem Gehege gehalten, ausgelegt mit Stroh (innen) und mit Erde (außen). Die Tiere wurden mit Heu und teilweise Trocken-, bzw. Kraftfutter gefüttert. Unter Berücksichtigung des Herdentriebes der Schafe wurde vermieden, die Schafe einzeln zu halten. So standen die Schafe zu keinem Zeitpunkt, außer zur OP-Vorbereitung, alleine.

## 2.2. Versuchsaufbau

Die Tierversuche erfolgten in Kooperation der Kliniken für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Universität zu Köln, dem Institut für Anatomie der Universität zu Köln, dem Institut für Kreislaufforschung der deutschen Sporthochschule Köln und dem Institut für experimentelle Medizin der Universität zu Köln. Die Tiere wurden im Institut für experimentelle Medizin der Universität zu Köln untergestellt und operiert.

Die 16 Tiere wurden in 4 Gruppen mit je 4 Tieren eingeteilt. Die Einheilzeitperioden betragen 4, 8, 12 und 16 Wochen (s. Tab. 2).

**Tabelle 2: Gruppenverteilung und Einheilzeitpunkte**

Gruppe 1	4 Wochen
Gruppe 2	8 Wochen
Gruppe 3	12 Wochen
Gruppe 4	16 Wochen

Die Tiere wurden zu den entsprechenden postoperativen Einheilzeitpunkten euthanasiert.

In jeder Gruppe wurden 6 verschiedene Augmentationsverfahren und Modifikationen des knöchernen Transplantatlagers angewendet.

## 2.3. Operation

### 2.3.1. Prämedikation

Zur Prämedikation wurde den Schafen ein venöser Zugang in einen der Vorderläufe gelegt und um die korrekte intravenöse Lage zu verifizieren die Durchgängigkeit der Braunüle mit 0,9% NaCl- Lösung überprüft. Anschließend erfolgte in 5ml-Schritten die Applikation von 2 %-Disoprivan (Propofol® 2 %, Astra Zeneca, Grafenau, Schweiz), bis die Tiere anästhesiert waren, jedoch die Spontanatmung noch nicht sistierte. Nach Vertiefung der Narkose im Operationssaal wurden die Tiere intubiert und kontrolliert beatmet (s. Abb. 1).

### 2.3.2. Narkose und Medikamente post-operativ

Die Narkose wurde aufrechterhalten durch die kontinuierliche inhalative Applikation von Isofluran und Sauerstoff, sowie die intravenöse Applikation von Disoprivan 2% (Propofol® 2 %, Astra Zeneca, Grafenau, Schweiz) und Midazolam (Ratiopharm GmbH, Ulm Deutschland).

Die Schafe erhielten zusätzlich eine perioperative Antibiotikaphylaxe intramuskulär mit Penicillindihydrostreptomycin, (antiMedica GmbH, Deutschland) während der Operation, sowie mindestens 3 Tage postoperativ.

Zeigten die Tiere postoperativ Anzeichen einer Entzündungsreaktion, erfolgte die Fortführung der Therapie mit Antibiotika.

Eine Analgesie intraoperativ und bis 3 Tag postoperativ wurde mit Rimadyl® (Pfizer GmbH, Deutschland) erreicht.

Die Ausleitung der Narkose wurde durch das schrittweise Ausschleichen des Disoprivans 2 % beendet.

Alle Prozeduren wurden unter strengen aseptischen Kautelen und tierärztlicher Überwachung durchgeführt.

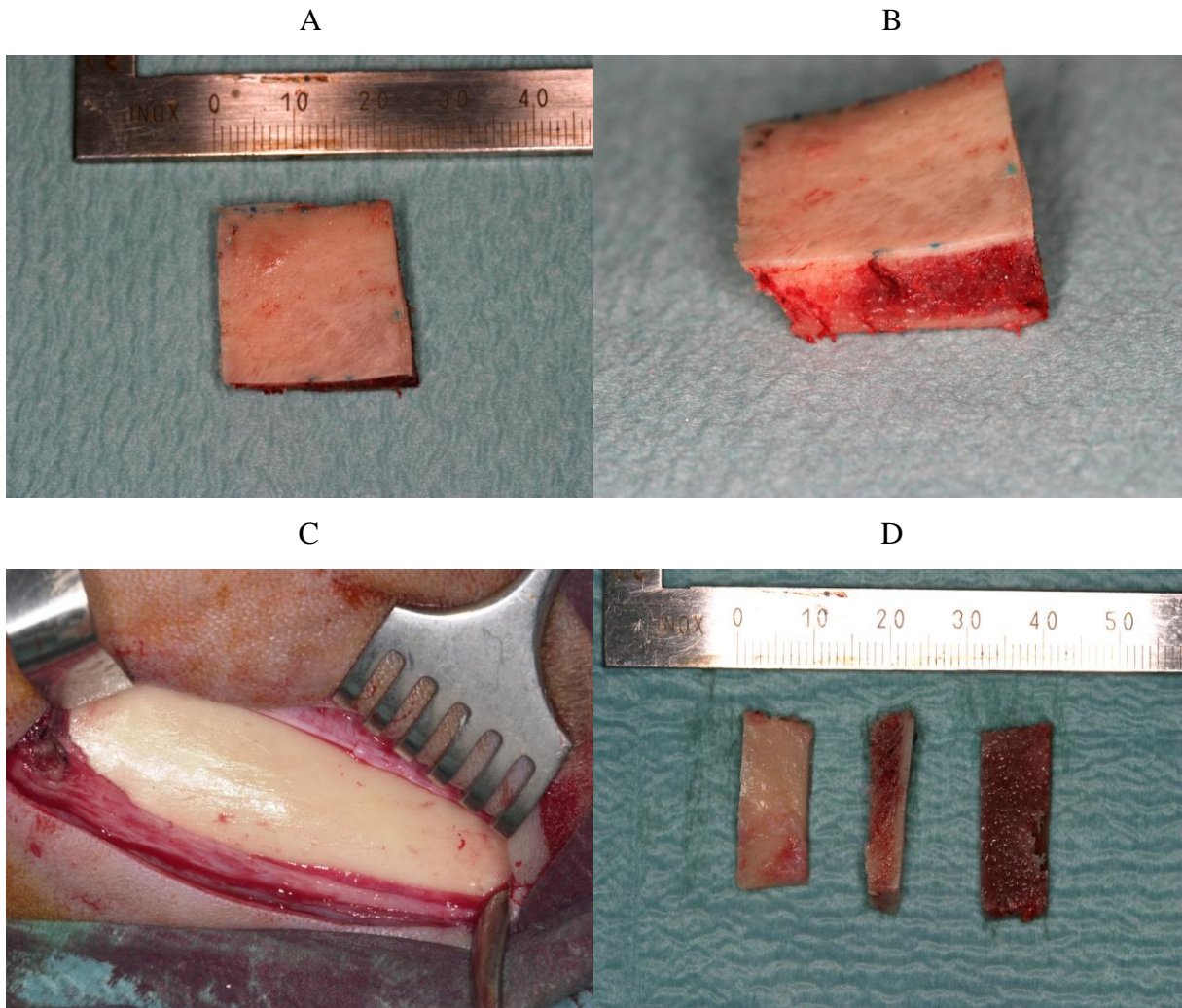


Abbildung 1: Schaf intubiert, OP-Gebiet rasiert und desinfiziert

### 2.3.3. Entnahme des bikortikalen Knochenspans

Die Schafe wurden auf dem Operationstisch in Bauchlage gebracht, die Extremitäten längs ausgelagert und mit Klettverschlussbändern fixiert. Die Beckenregion wurde geschoren, dann rasiert und mit Cutasept F (Bodechemie, Hamburg) Hautdesinfektion (gefärbt) desinfiziert. Große Tücher dienten der sterilen Abdeckung des Schafes. Im Bereich der Crista iliaca wurde mit einem Lokalanästhetikum, Xylocain 1% mit Adrenalin, infiltriert, um eine Blutarmut im Operationsgebiet zu erreichen.

Daraufhin folgte ein ca. 6 cm langer Hautschnitt entlang der Crista iliaca. Das darunter liegende Fett und Muskelgewebe wurde bis zur Darmbeinschaukel präpariert, Blutungen mittels bipolarer Koagulation gekautert oder mit Vicryl® 4-0 (Ethicon, Norderstedt, Deutschland) ligiert. Es folgte die Spaltung des Periostes des Os iliacum entlang der Crista und die sowohl dorsal- als auch ventralseitige Abpräparation vom Knochen. Eine ca. 2 x 1,5 cm große Schablone wurde mittels Overholt auf dem dorsalen medialen Beckenknochen fixiert, mit Methylen-Blau eingezeichnet und wieder entfernt. Der bikortikale Beckenspan wurde entlang der Markierung osteotomiert. Der bikortikale Span wurde nun mit Stich- und Pendelsäge (wassergekühlt) und, bei Bedarf, mit Hammer und gebogenem Meißel herausgelöst (s. Abb. 2/A). Die Blutstillung erfolgte bei Bedarf mit Knochenwachs. Der Defekt wurde vierschichtig mit resorbierbarem Nahtmaterial (Vicryl® 2-0 und 0) verschlossen. Aluminiumspray diente postoperativ im Bereich der unbehaarten Haut dem Schutz vor Sonnenstrahlen.



**Abbildung 2: (A) entnommener bikortikaler Knochenspan aus dem Beckenknochen des Schafes in der Aufsicht, (B) Bikortikales Becken in der Schrägsicht, (C) OP-Situs lateraler Unterkiefer mit Zugang von extraoral, (D) Monokortikale Beckenspäne zur Transplantation**

#### 2.3.4. Die Transplantation der Knochenspäne auf den Unterkiefer

Die Region des Unterkiefers wurde beidseits geschoren und rasiert, danach mit Cutasept<sup>®</sup>F Hautdesinfiziens (gefärbt) (Bodechemie, Hamburg) desinfiziert und mit sterilen Tüchern abgedeckt.

Zur Vorbereitung der Transplantation wurde der entnommene 2 x 1,5 cm bikortikale Beckenspan in sechs monokortikale, gleichgroße Späne von 1 x 1,5 cm geteilt und in einer sterilen Metallschale zwischengelagert (s. Abb. 2/D).

Die Augmentation des Unterkiefers erfolgte durch einen Hautschnitt entlang des Corpus mandibulae, vom Kieferwinkel bis zum vorderen Drittel des Unterkiefers. Es wurde bis zur Unterkieferbasis präpariert, der Musculus masseter teilweise vom Unterkiefer gelöst, das Periost gespalten und vom Unterkieferknochen abpräpariert (s. Abb. 2/C).

Auf den so exponierten Unterkieferkörper wurden jeweils drei monokortikale Beckenknochenspäne mit einem Abstand von jeweils 0,5 bis 1cm hintereinander augmentiert (s. Abb. 3). Dabei war die Transplantatspongiosaseite direkt dem Unterkieferkörper aufgelagert. Der kortikale Anteil des Transplantates bildete die von Unterkieferknochen abgewandte Oberfläche. Insgesamt konnten pro Schaf sechs monokortikale Späne auf beide Seiten des Kiefers aufgebracht werden.

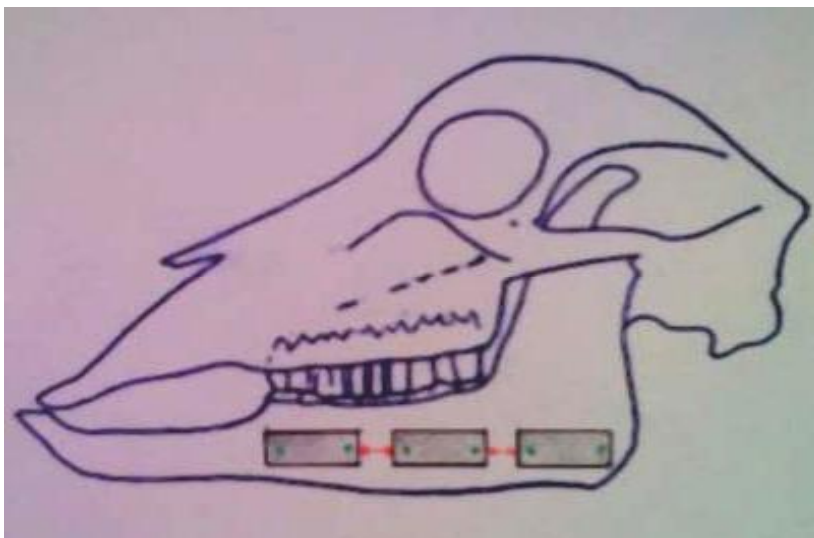


Abbildung 3: Schemazeichnung Schafkopf (blau) mit aufgelagerten Transplantaten (schwarz) mit Minischrauben fixiert (grün), im Abstand von ca 0,5-1 cm (rot)

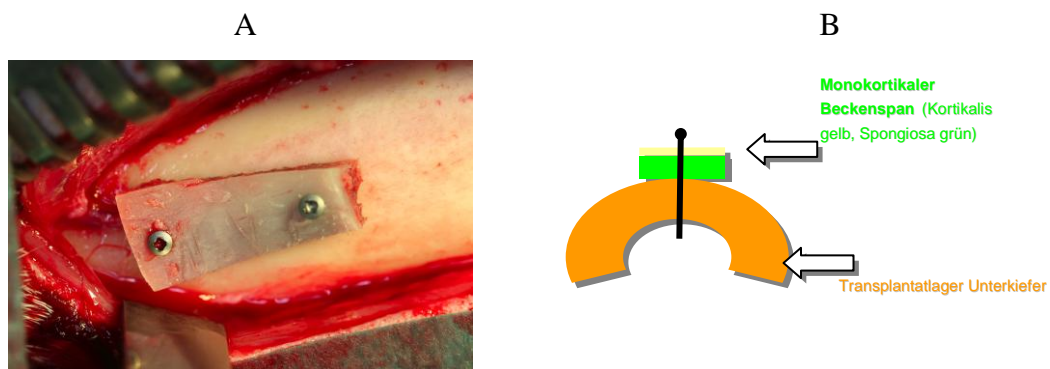


#### 2.3.4.1. Konditionierung des Transplantatlagers

Es wurden für die auf den Unterkiefer aufgebrachten Beckenknochenspäne folgende Konditionierungen des Transplantatlagers gewählt:

##### *1. Transplantation des kortikospongiösen Spans ohne Konditionierung des Transplantatlagers:*

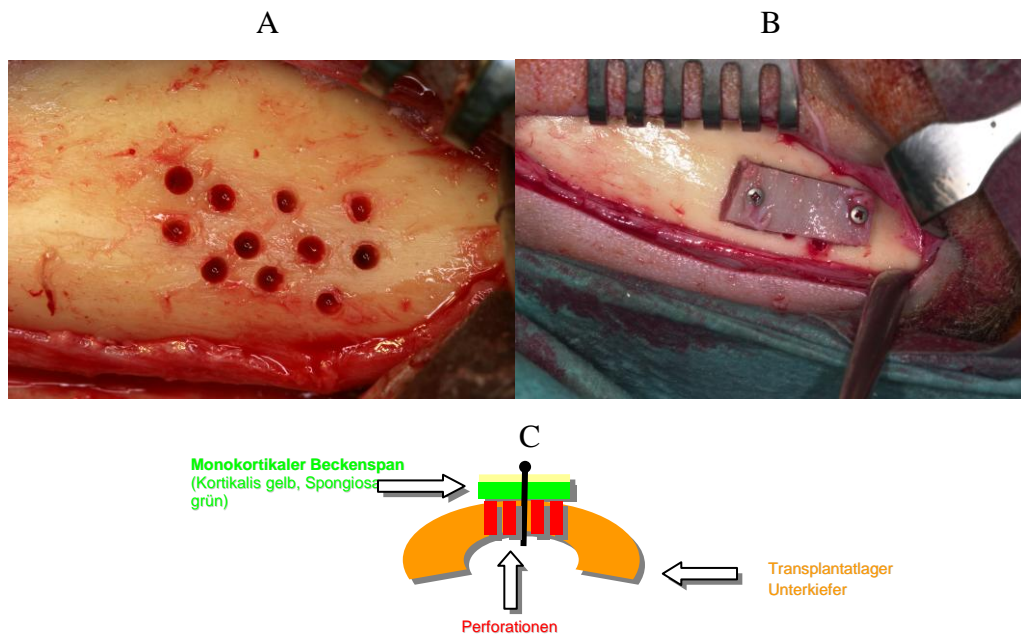
Der Span wurde mit zwei Minischrauben (Schraubenfixation (SF), die jeweils an den äußeren Enden des Transplantats platziert waren, am Unterkiefer spongiosaseitig befestigt. Die Minischraubenköpfe wurden in der Transplantatkortikalis versenkt (s. Abb. 4).



**Abbildung 4: Schraubenfixation des Transplantates auf dem lateralen Unterkiefer, (A) Intraoperativer Situs, (B) Schema**

##### *2. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers (SF+Anfrischen):*

Vor dem Aufbringen des Transplantates wie unter 1. geschildert, erfolgte die Perforation des Transplantatlagers des Unterkieferknochens, d.h. die Kortikalis des Unterkieferknochens wurde mittels kleinem Rosenbohrer (wassergekühlt) mehrmals aufgebohrt, um die Spongiosaräume zu eröffnen (s. Abb. 5).



**Abbildung 5: Schraubenfixation des Transplantates auf dem lateralen Unterkiefer mit Perforation des Transplantatlagers (A). Intraoperativer Situs mit Perforationen der Kortikalis des Unterkiefers, (B) Schraubenfixiertes Transplantat am lateralen Unterkiefer, (C) Schema**

### 3. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision

(*SF+Periostexzision*):

Die Fixierung des Transplantates erfolgte wie unter 1. beschrieben. Zusätzlich wurde das Periost über der Transplantatregion vollständig entfernt, um eine osteoinduktive Wirkung des Periosts zu verhindern<sup>88</sup> (s. Abb. 6).

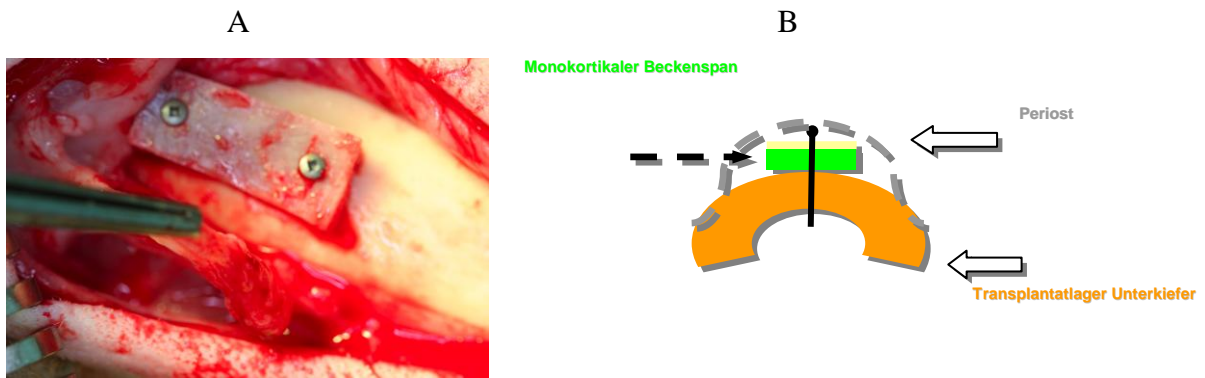


Abbildung 6: Schraubenfixation des Transplantates auf dem lateralen Unterkiefer mit Exzision des bedeckenden Periostes (Pinzettenspitze). (A) Intraoperativer Situs, (B) Schema

#### 4. Transplantation des kortikospongösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran (SF+Membran):

Das Transplantat wurde wie unter 1. besprochen befestigt und anschließend mit einer resorbierbaren kollagenen Membran (Bio-Gide, Geistlich Pharma AG, Schweiz) abgedeckt. Die Befestigung der Membran erfolgte mit Mikroschrauben ca. 1 mm von den Transplantatecken entfernt am Unterkiefer. Dieser Methode liegt das Prinzip der „Guided Bone Regeneration“ zugrunde<sup>23</sup> (s. Abb. 7).

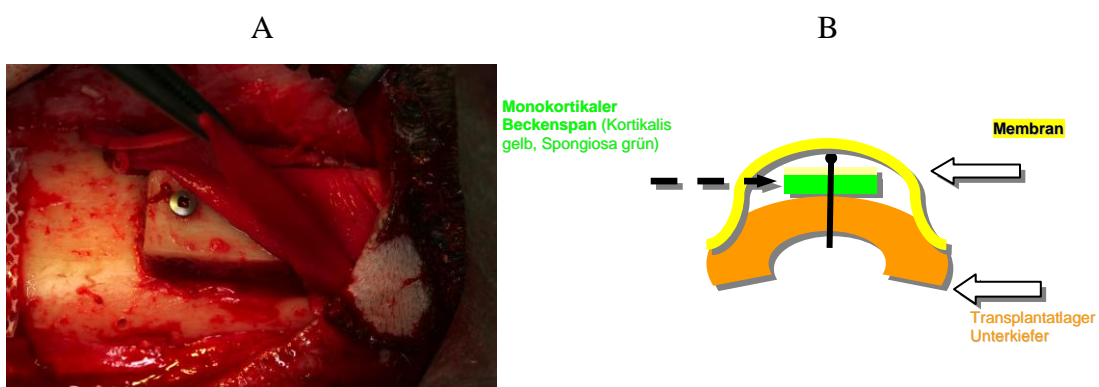
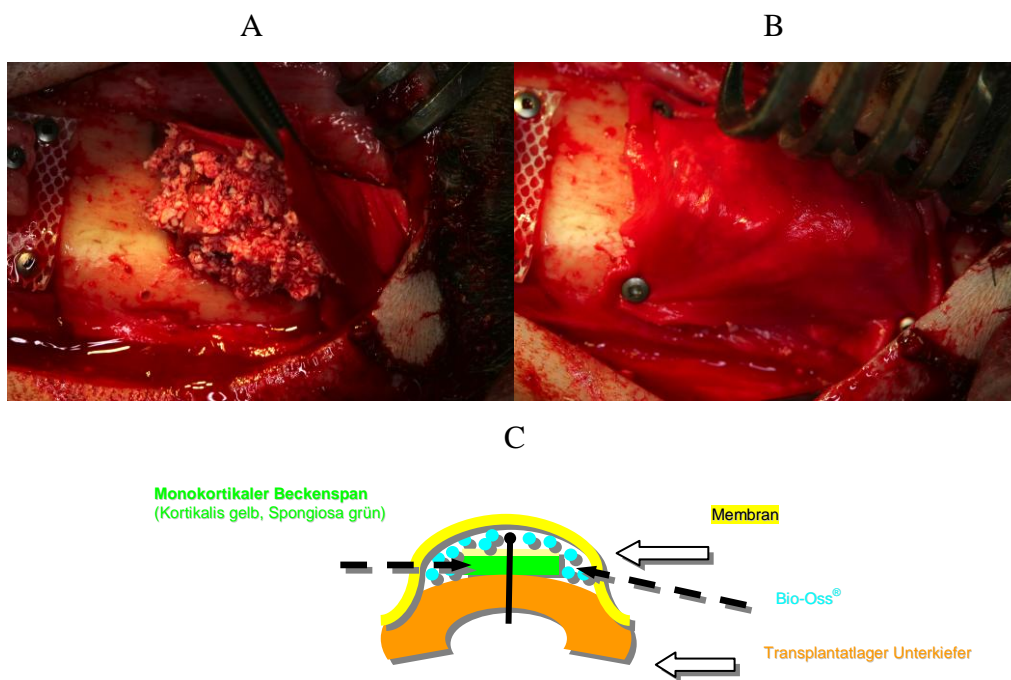


Abbildung 7: Schraubenfixation des Transplantates auf dem lateralen Unterkiefer mit Membranabdeckung (A) Intraoperativer Situs, (B) Schema

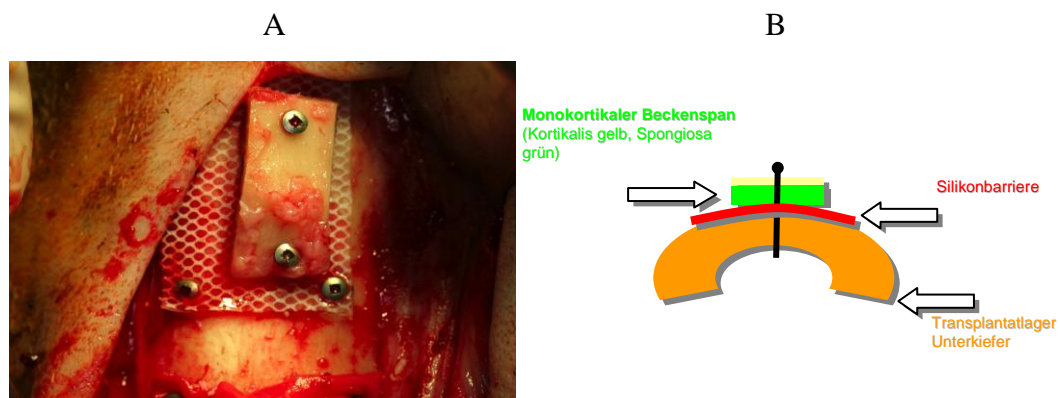
5. Transplantation des kortikospongösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran (SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran):

Die Fixierung des Transplantates erfolgte wie unter 1. beschrieben, desweiteren wurde auf das Transplantat das Knochenersatzmaterial BioOss<sup>®</sup> (Geistlich Pharma AG, Schweiz) aufgebracht. Zusätzlich wurde der augmentierte Knochenspan und das augmentierte KEM mit einer resorbierbaren Membran (BioGide, Geistlich Pharma AG, Schweiz), wie in Punkt 4 beschrieben, abgedeckt (s. Abb. 8).



**Abbildung 8:** Schraubenfixation des Transplantates auf dem lateralen Unterkiefer mit Bio-Oss<sup>®</sup>- und Membranabdeckung (A) Intraoperativer Situs, (B) Membran über dem Transplantat und der Bio-Oss<sup>®</sup>- Abdeckung fixiert, (C) Schema

6. *Transplantation des kortikospongösen Spans und zusätzlicher Sperre (SF+Sperre):*  
 Zwischen der Empfängerregion des Unterkiefers und dem Transplantat erfolgte die Befestigung einer nicht permeablen Sperre aus Silikon auf dem Unterkiefer mittels 4 Minischrauben, um einen Einfluss des Transplantatlagers auf die Einheilung zu verhindern. Anschließend wurde auf diese Silikonmembran ein monokortikaler Span wie in Punkt 1 beschrieben mittels Minischrauben augmentiert (s. Abb. 9).



**Abbildung 9: Schraubenfixation des Transplantates auf dem lateralen Unterkiefer mit Silikonbarriere (A) Intraoperativer Situs, (B) Schema**

Nach der Transplantation wurde die Wunde dreischichtig mit Vicryl® 4-0 und 2-0 (Ethicon, Norderstedt, Deutschland) verschlossen und ebenfalls mit Aluminiumspray vor Sonneneinstrahlung geschützt.

## 2.4. Materialien

### 2.4.1. Materialien BioOss<sup>®</sup>, Geistlich-Pharma, Schweiz

Bei BioOss<sup>®</sup> handelt es sich um ein aus Rinderspongiosa produziertes und somit xenogenes Hydroxylapatit, welches durch thermische und chemische Behandlung (Pyrolyse) von allen organischen Bestandteilen befreit wurde. Dabei wird die ursprüngliche Mineralstruktur weitgehend erhalten. Gemäß seiner bovinen Herkunft hat BioOss<sup>®</sup> variable Porengrößen von mehreren hundert µm. BioOss<sup>®</sup> besitzt eine der humanen Spongiosa ähnliche Makro- und Mikrostruktur mit einer großen spezifischen Oberfläche von ca. 8 m<sup>2</sup> / g, wodurch eine gute Adhärenz der Zellen begünstigt wird. Durch die poröse Struktur stellt es ein ideales Material zur Osteokonduktion dar und die Neoangionese wird gefördert. Es wird als nicht mehr resorbierbares Material eingestuft und bleibt nach der Implantation formstabil. Die ursprünglichen Eigenschaften der natürlichen Mineralstruktur bleiben unverändert. Seine Wirkungsweise bei der Knochenregeneration ist osteokonduktiv<sup>70</sup>.

### 2.4.2. Materialien Bio-Gide<sup>®</sup>, Geistlich-Pharma, Schweiz

Diese resorbierbare Membran ist eine Kollagenmembran aus Schweinekollagen, welches gereinigt und im Doppelblister mittels Y-Strahlung sterilisiert wird. Die zweischichtige Membran besteht aus Kollagen Typ I und III ohne weitere chemische Zusätze oder Kreuzvernetzungen. Die eine Lage besteht aus einer porösen Oberfläche, welche das Einwachsen von knochenbildenden Zellen erlaubt. Diese Seite der Membran sollte zum Knochen hin positioniert werden. Die zweite Lage besteht aus einer dichteren Oberfläche, welche zum Weichgewebe hin liegen sollte und das Einwachsen von fibrösem Bindegewebe in den Knochendefekt verhindern soll.

## 2.5. Euthanasie der Tiere und Fixierung der Knochenproben

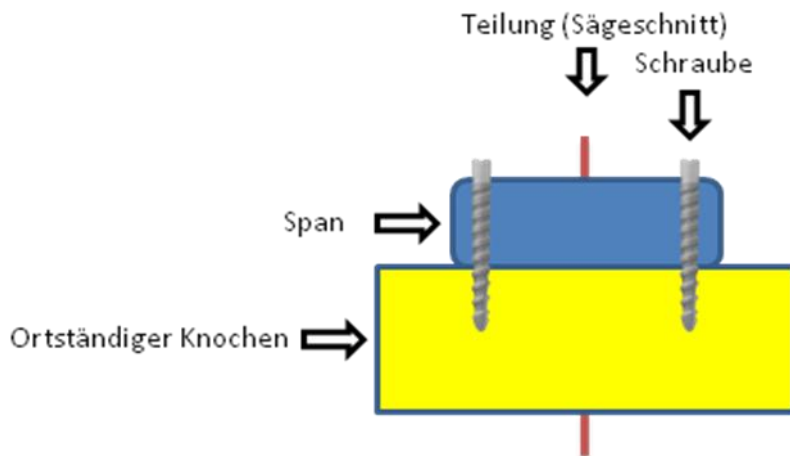
Die Schafe wurden für die Euthanasie mit einer venösen Verweilkanüle punktiert, über die Disoprivan 2% appliziert wurde, bis die Schafe anästhesiert waren, aber die Spontanatmung noch nicht sistierte. Daraufhin wurden 5 ml Liquemin<sup>®</sup> (25000 IE Heparin-Natrium) (Roche, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) intravenös appliziert, um einer Blutgerinnung post mortem entgegenzuwirken. Nach Rückenlagerung auf dem Operationstisch erfolgte das Applizieren von 40 ml Narcoren<sup>®</sup> (Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) bis zum Eintritt des Herzstillstandes.

Nach Feststellung des Todes der Tiere durch den Veterinärmediziner, wurde der Kopf der Tiere vom Rumpf getrennt und die großen Halsgefäße präpariert. In die Karotiden wurden zentralvenöse Katheter eingebracht und mit Nähten befestigt.

Der abgesetzte Kopf des Schafes wurde mittels einer Pumpe zunächst mit 0,9%iger NaCl-Lösung (5 l) gespült, bis die Kochsalzlösung annähernd klar zurücklief. Durch Perfusion mit 4 %-iger Paraformaldehydlösung (PFA) (5 l, pH 7,4) wurde das Gewebe fixiert.

## 2.6. Gewinnung der Knochenproben

Mittels submandibulärem Schnitt und Präparation bis auf den Ramus mandibulae wurden die Transplantatlager freigelegt und klinisch beurteilt, bevor eine Unterkieferspaltung mittels Stichsäge von caudal vorgenommen wurde. Die Transplantate wurden im Verbund mit ihrem Transplantatlager einzeln herausgesägt. Anschließend wurden die Einzelproben bestehend aus einem einzelnen Beckenkammtransplantat und dem ortsständigen Transplantatlager (Unterkieferknochen) in der Mitte quer - senkrecht zur Oberfläche – geteilt. Die geteilten Proben wurde für die weitere histologische Aufarbeitung und Untersuchungen unterschiedlich fixiert: eine Probenhälfte wurde mit PFA 4%, die andere Hälfte der Probe mit Formalin 7% immersionsfixiert. Die in PFA 4% fixierten Proben wurden mit EDTA für 3-4 Wochen entkalkt und Histologisch ausgewertet Die formalinfixierten Knochenproben wurden der Quantifizierung mittels quantitativer Computertomografie (CT) zugeführt (Abb.10).



**Abbildung 10:** Skizze zur Gewinnung zweier Anteile der augmentierten Unterkieferprobe (Span – blau, ortständiger Knochen – gelb); Trennung der Probe auf Höhe der roten Linie. Linker Teil zur Formalin- Immersionsfixierung (pQCT); rechter Teil zur Entkalkung.

## 2.7. Klinische Beurteilung der Transplantatlager

Makroskopisch wurde die Atrophierate nach dem Herauspräparieren der Proben aus dem Verbund zunächst anhand des Abstandes der Transplantatkortikalis zum Minischraubenkopf bestimmt (s. Kap. 3.1). Keine Atrophie (Score = 0) lag vor, wenn die Transplantatkortikalis mit dem Schraubenköpfchen abschloss. Bei einem Score von 1 war das Transplantat bis zur Hälfte der Minischraube atrophiert, ein Score von 2 zeigte eine vollständige Atrophie, gleichbedeutend mit einem Freiliegen der Minischrauben bei totalem Verlust des kortikospongiösen Transplantates.

## 2.8. pQCT

Der Mineralsalzgehalt und die Knochendichte der Unterkieferknochenproben wurden mit dem Computertomograph XCT Research Bone Scanner M, der Firma Stratech Medizintechnik GmbH, Pforzheim, gemessen.



### 2.8.1. Technische Daten

Die mittlere Röhrenenergie betrug 37 keV mit einer Energieverteilung von 18 keV (nach Filterung).

Der Knochenscanner (maximale axiale Weglänge: 170mm, zentrale Durchtrittsöffnung: 50mm) basierte auf dem Translations-Rotationsprinzip mit einem Schnitt.

Ein Detektorgehäuse mit 12 Detektoren umkreiste das zu messende Präparat. Nach jedem Scan wurde das Messsystem um  $13^\circ$  gedreht (der Winkel zwischen zwei Projektionen beträgt  $1^\circ$ ). Nach den 15 CT-Scanprojektionen ergaben sich somit 180 Winkelschnitte, die für die Berechnung des CT-Bildes ausgewertet wurden.

Beim CT-Scan wurde die Probe horizontal platziert und der Messstrahl durchquerte den Knochen quer zur Knochenachse. Die Qualitätsmessungen erfolgten mittels eines Standardphantoms. Durch einen Übersichtsscan (Scout View) der kompletten Unterkieferprobe wurde die spätere Scanposition bestimmt. Beim Übersichtsscan wurde die Unterkieferprobe mit 1mm dicken Schnitten komplett abgescannt (Scangeschwindigkeit: 15mm/s). Die Referenzlinie, die zur exakten Wiederfindung des Messortes der verschiedenen Unterkieferaugmentationsproben diente, wurde 0,2µm distal der Schnittgrenze der Unterkieferproben gesetzt, von dort aus wurden die Scanebenen festgelegt. Als Positionierhilfe wurde ein Diodenlaser mit  $< 1\text{mW}$  verwendet.

Die Ortsdosisleistung betrug bei 58 kV und 220 µA und Cer Filter bei eingeschalteter Röntgenstrahlung beim Scoutview mit ca. 40 cm Abstand 6,0 µSv/h und in ca. 1m Abstand 2,2 µSv/h. Beim CT- Scan wurde die Ortsdosisleistung in ca. 40 cm Abstand mit 0,06 µSv/h und in ca. 1 m Abstand mit 0,02 µSv/h angegeben.

Die Knochendichte wurde in fünf 1 mm dicken Schnitten in der Probe, 0,2µm distal der mittleren Teilungsebene in einem Abstand von 0,5mm bestimmt. Die Messgeschwindigkeit lag bei 5mm/s und die Auflösung bei einer Voxelgröße von  $0,1\text{mm}^2$ .

Die Knochenmineraldichte wurde aus der Schwächung der Röntgenstrahlung beim Durchgang durch das durchstrahlte Gewebe bestimmt. Um eine quantitative Aussage über den Knochenmineralgehalt machen zu können, wurde der Computertomograph vor der Messung mit Knochenmineralstandards kalibriert.

Die Reproduzierbarkeit des benutzten Gerätes wird vom Hersteller mit einem Variationskoeffizienten von  $\leq 0,7\%$  angegeben. Die Messgenauigkeit des Gerätes beträgt 2 bis 3 %.

Die Bilddatenanalyse erfolgte mit der Software XCT 5.50 Research + M des Herstellers.

Zur Auswertung der gemessenen Daten wurde der Knochen zuerst von den Weichteilen getrennt (Konturmodus). Die Trennung erfolgte anhand der Dichte der einzelnen Bildpunkte. Als Schwellenwert wurde eine Dichte von  $220\text{mg}/\text{cm}^3$  festgelegt. Alle Voxel, die eine geringere Dichte als der Schwellenwert hatten wurden als Weichteil eingestuft und entfernt. Bildpunkte, die eine höhere Dichte besaßen, wurden als Knochen erkannt. Mit dem Abschälmodus wurden anschließend Kortikalis und Spongiosa bestimmt.

Es wurden die gesamte Knochendichte („bone mineral density“, BMD,  $\text{mg}/\text{cm}^3$ ) und die gesamte Fläche ( $\text{mm}^2$ ) des Schnittes berechnet. Außerdem wurde sowohl für die Spongiosa (BMD tra) als auch für die Kortikalis/Subkortikalis (BMD kor) jeweils die Knochendichte und Fläche gemessen.

Röntgenröhre:	Hochspannung 50kV, Anodenstrom $< 0.3\text{mA}$ , mittlere Röntgenenergie 37 keV, Energieverteilung nach Filterung 18 keV (FWHM)
Detektoren:	12 Halbleiterdetektoren mit Verstärker
Positionierhilfe:	Diodenlaser $< 1\text{mW}$
Computer:	DOS- kompatibler Computer mit hochauflösendem Farbmonitor
Mechanik:	Translation - Rotations Prinzip
Rotationswinkel:	$186^\circ$
Messgeschwindigkeit:	max. 40 mm/sec
Auflösung:	70-500 $\mu\text{m}$
Max. axiale Weglänge:	170 mm
Zentrale Durchtrittsöffnung:	50 mm
Gewicht:	$< 45\text{ kg}$
Abmessungen B*H*T:	550mm*620mm*930mm
Stromversorgung:	100-240 V, 50-60 Hz, 100 W

### 2.8.2. Durchführung der Messung

Die Kalibrierung des Computertomographen erfolgte mit dem Standardphantom (Cone Phantom) 0,550 1/cm und auch zwischen den Messungen wurde in regelmäßigen Abständen anhand dieses Phantoms die Qualität der Messungen überprüft.

Die Knochenprobe wurde in einem formalingefülltem 50 ml Tube positioniert, mit dem Unterkieferknochen parallel zur Horizontalen ausgerichtet und der zu messende Bereich distal der Fassvorrichtung so gelagert, dass der Messstrahl das Transplantat mit dem Unterkiefer quer zur Knochenachse durchquerte (Abb.11).

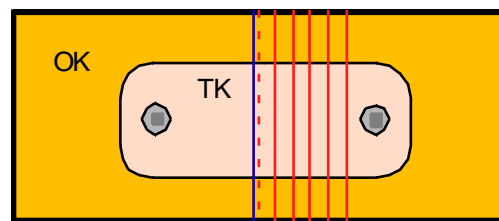


Abbildung 11: Skizze lateraler Unterkiefer in der Aufsicht, Probe als Ganzes. gelb Unterkieferkortikalis (OK, ortsständiger Knochen), rosa Transplantatkortikalis (TK), rund Imbusschrauben, blau Osteotomielinie (links zur Entkalkung in PFA, rechts zur QCT in Formalin), rot CT-Schnittebenen, rot gestrichelt Referenzlinie

Mit Hilfe des Positionierungslasers wurde das proximale Ende der Probe markiert und der Scoutview (Oberflächenscan) gestartet. Beim Scoutview wurde die Probe mäanderförmig abgescant und der Messstrahl dabei quer durch die Probe geführt. Man erhielt ein farblich codiertes digitales Rasterbild, mit hellen knochendichten und dunklen Weichteilanteilen, falls vorhanden. Anhand dieses Scoutviews wurden die 5 Schnittlinien mit einem Abstand von 0,5 mm positioniert, die möglichst am distalen Ende der Probe lagen. Diese Position entsprach der ungefähren Mitte des Gesamttransplantates, jedoch mit Abstand zur Sägekante, um eventuelle Veränderungen durch das Auseinandersägen der Knochenproben auszusparen.

Nach Positionierung der Schnittebenen wurde der CT-Scan gestartet. Der Scan erfolgte in proximaler Richtung. Der Messstrahl durchquerte die Probe ebenfalls quer zur Knochenachse, das Meßsystem drehte sich jedoch nach jedem Laserscan um 12°. Da der Winkelabstand der Detektoren relativ zur Quelle 1,0° betragen hatte, ergaben sich nach 15 CT-Scanpositionen 180 Winkelschnitte, die für die Berechnung des CT- Bildes ausgewertet wurden.

### 2.8.3. **Klinisch makroskopische Auswertung der QCT Bilder**

Zur Beurteilung der Volumenminderung der Transplantate wurden auch die QCT-Bilder herangezogen. Hierzu wurde die Volumenminderung in fünf Stadien eingeteilt:

0= Keine Volumenminderung. Es sind keine Resorptionsvorgänge an den Transplantaten makroskopisch sichtbar. Das Transplantat wirkt kompakt und nicht höhengemindert.

1= geringe Volumenminderung. Das Transplantat weist Resorptionsvorgänge an den cranialen Ecken auf. Es wirkt abgerundet.

2= mäßige Volumenminderung. Nun werden Resorptionsvorgänge deutlich. Das Transplantat wirkt stark abgerundet und insgesamt vermindert. Die Transplantatkortikalis wirkt dem Transplantatbett angenähert.

3= starke Volumenminderung. Das Transplantat ist nur noch als Erhebung auf dem Transplantatbett zu erkennen. Es hat seine ursprüngliche Form und Größe verloren.

X= Transplantatverlust. Es ist kein Transplantat mehr vorhanden. Die Probe schließt mit der Empfängerkortikalis ab.

### 2.8.4. **Auswertung der QCT - Messung**

In jedes CT Bild wurden, falls vorhanden, vier Regions of Interest (ROI) gelegt (s. Abb.12):

TRA\_TRA = Trabekulärer Knochen des Transplantats

KOR\_TRA = Kortikalis des Transplantats

KOR\_ORT = Kortikalis des Ortständigen Knochens (hier Unterkiefer)

KALLUS = Kallus, welcher sich um das Transplantat herum gebildet hat

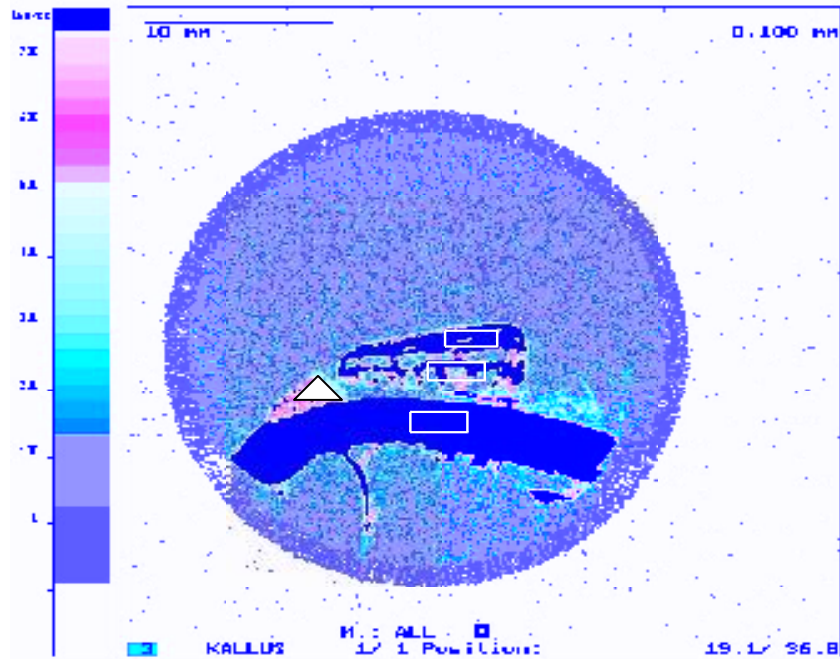


Abbildung 12: Schema der Regions of Interest (ROIs) an der Unterkieferprobe im CT-Querschnitt oben Transplantatkortikalis (KorTra) Mitte Transplantatspongiosa (TraTra), unten Kortikalis des Transplantatlagers (KorOrt/ Unterkiefer), links Kallus (Dreieck)

Die Messparameter wurden wie folgt eingestellt:

Schwellenwert für kalkulierte Knochendichte:

Threshold Bone Density (THBD)  $\text{mg}/\text{cm}^3$  0

(Dieser Schwellenwert beträgt  $0 \text{ mg}/\text{cm}^3$ , da entweder nur kortikaler oder nur trabekulärer Knochen gemessen wurde)

Filter 1: mit Filter, 2: ohne Filter 1

Prozentualer Flächenanteil für die Spongiosafläche für Abschälmodus 1 und 20:

(TRAB\_A\_REA) 99%

Kontourmodus (CONT\_MODE) 1

Schwellenwertalgorithmus, hier werden Knochen und Weichteile entsprechend der Dichte unterschieden.

Abschälmodus (Peelmode) 1

Kortikalis und Spongiosa werden durch Bestimmung der Flächenverhältnisse unterschieden. Hier 30% Kortikalis und 70 % Spongiosa.

Schwellenwert für die Aufteilung in hohe und niedrige Dichte:

(HIST\_CUTTH) mg/cm<sup>3</sup> 89,835

Schwellenwert für Kortikale Knochendichte (CORTBD) :

Threshold Kortikalis (THCT) mg/cm<sup>3</sup> 150

Trennmodus (CORTMODE) 1

Alle Bildpunkte, die eine geringere Dichte als der Schwellenwert haben, werden entfernt.

Dichte und Massenwerte:

TOT\_CNT Gesamtmasse (mg). Der Wert bezieht sich auf die Mineralmasse einer Scheibe von 1mm Dicke

TOT\_DEN Gesamtdichte (mg/cm<sup>3</sup>)

Mit Hilfe dieser Einstellungen und Werte wurde die totale Knochendichte (TOT\_DEN) in den einzelnen ROIs ermittelt, die fünf Werte einer ROI wurden gemittelt und die Standardabweichung errechnet. Werte weit außerhalb der Range der übrigen Werte, wurden nicht mit in die Auswertung einbezogen. Die Werte der Gruppen wurden abermals gemittelt und die Standardabweichungen errechnet.

## 2.9. Hämatoxylin- und Eosin (HE)-Färbung

Die Kombination der beiden Farbstoffe Hämatoxylin (blau) und Eosin (rot) ist die Basisfärbung zur morphologischen Untersuchung von Gewebe. Bei dieser Färbemethode färben sich die Zellkerne blau und die meisten Zytoplasmabestandteile rosa bis rot.

Die mineralisierten PFA-fixierten Knochenproben wurden mit 10 %-iger Ameisensäure entkalkt. Zur Entwässerung der Proben erfolgte die Immersion in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70%, 96%, 100%), die Einbettung in Paraffin und der Zuschnitt der Proben in 10 µm Schichtdicke mit einem Mikrotoms der Firma Leica RM 2255. Darauf folgte das Aufziehen der Schnitte auf gläserne Objektträger.

Die Schnitte wurden dann für 10 Minuten in Xylol deparaffiniert, gefolgt von einer Immersion in einer absteigenden Alkoholserie (100, 96, 70%) für jeweils 5 Minuten. Nun folgte das Spülen der Proben in Aqua destillata für 5 Minuten und die Inkubation in Hämatoxylin - Lösung für 10 Minuten. Danach wurden die Proben für weitere 10 Minuten in Leitungswasser getaucht, um die Nuclei blau zu färben. Bei Raumtemperatur folgte die Inkubation der Proben für 5-10 Min. in Eosin-Lösung. Dann wurden die Proben in einer aufsteigenden Alkohollösung (70, 96, 100 %) wieder dehydriert und in Xylol getaucht und abschließend für 5 Minuten inkubiert.

## 2.10. Mikroskopie und Bildakquisition

Das Lichtmikroskop Leica DFC Camera der Firma Leica Microsystems Inc. diente der Analyse und dem Vergleich der einzelnen HE gefärbten Schnitte. Die histologischen Untersuchungen wurden an einem Leica-Mikroskop akquiriert und gespeichert. Das Mikroskop war mit einer Leica Twain Modul für DC 500 High Resolution Digitalkamera verbunden, welches mit einem FireWire Interface benutzt wurde. Pro Operationsverfahren und Tier wurden 2 Schnitte angefertigt, miteinander verglichen und ausgewertet. Bei einer 50-fachen Vergrößerung wurde ein 2mm- Raster mit 10 x 10 Quadraten (Seitenlänge 0,2 mm) über das Präparat gelegt und, wenn möglich, 3

Gesichtsfelder ausgezählt. Mit in die Auswertung einbezogen wurden die Anzahl der Trabekel, die Anzahl der Gefäße, die Anzahl der Knochenbrücken zwischen Spender und Empfänger (Interfaces), die Dichteverteilung von Bone Lining Cells (BLC, 0=keine, 1=wenige, 2=mäßig viele, 3=viele), die Ausbildung von Knochenneubildungszonen (Kallus) und die subjektive Erscheinung des Präparats. Aus den 3 Auszählungen wurden jeweils die Mittelwerte berechnet.



### 3. **Ergebnisse**

Alle Tiere überlebten die operativen Prozeduren bis zum Zeitpunkt der Euthanasie und Probenentnahme nach vier, acht, zwölf und sechzehn Wochen. Zwei Infektionsfälle konnten in der BioOss<sup>®</sup> - Gruppe nach vier und acht Wochen beobachtet werden. Trotz gestörter Einheilung der Transplantate konnten die QCT Messungen auch in diesen Fällen vorgenommen werden.

Ein weiterer Infekt ohne Probenverlust zeigte sich nach sechzehn Wochen in dieser Gruppe.

#### 3.1. **Makroskopische Beurteilung der Volumenminderung der Transplantate anhand der QCT-Bilder und eines klinischen Scores**

Nach 16 Wochen wurde eine ausgeprägte Atrophie der Transplantate bei allen Konditionierungsgruppen bis auf der Gruppe mit der BioOss<sup>®</sup> - Auflagerung beobachtet. Diese Gruppe zeigte weder nach 4 noch nach 16 Wochen eine auffällige Atrophie (s. Abb. 13)

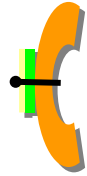

















	4 Wochen	Score	16 Wochen	Score
		0,3		2
		0,6		2
		1		2
		0,6		2
		0		0
		0,3		1,6

Abbildung 13: Klinische Beurteilung der Einheilung der kortikospongösen Transplantate nach 4 und 16 Wochen. Die Atrophie steigt mit höheren *Score*-Werten. Links schematisch die unterschiedlichen Konditionierungen (Sc= Score)

Nach vier Wochen wiesen alle sechs Gruppen keine oder nur eine geringe Volumenminderungen der Transplantate auf (Abb. 14-19/A).

Nach acht Wochen fiel eine zunehmende Atrophie der Transplantate in der Gruppe mit dem kortikospongiöser Span allein (s. Abb. 14/B), der Gruppe kortikospongiöser Span mit Perforation des Transplantatlagers (s. Abb. 15/B), der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span und zusätzlicher Periostexzision (s. Abb. 16/B) und der Gruppe mit zusätzlicher Sperre auf (s. Abb. 19/B). In der Gruppe des mit Auflagerung einer resorbierbaren Membran um das Transplantat war zu beobachten, dass es zu keiner oder nur einer geringen Volumenminderung gekommen war (s. Abb. 17/B). Gleiches konnte auch in der Gruppe mit dem kortikospongiöser Span plus BioOss<sup>®</sup> festgestellt werden (s. Abb. 18/B). Lediglich die geringfügige Abnahme der Trabekeldichte hatte zu einer Einstufung in die geringfügige Volumenminderung“ geführt. An Höhe büßten die Proben hier nicht ein.

Nach zwölf Wochen waren deutlichere Unterschiede zu sehen: Während sich die Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein eine „mäßige Volumenminderung“ aufwies (s. Tabelle 2, Abb. 14/C), zeigte die Gruppe mit der zusätzlichen Perforation des Transplantatlagers eine „starke Volumenminderung“ (s. Abb 15/C). Auch die Gruppe mit der zusätzlichen Periostexzision war in diese Kategorie einzuordnen (s. Abb. 16/C), während die Gruppe mit zusätzlicher resorbierbarer Membran stark variierte, was mit einer deplazierten Kollagenmembran zu erklären war (s. Tab. 2). Die Gruppe mit dem kortikospongiösen Span, umgeben von BioOss<sup>®</sup> und zusätzlicher resorbierbaren Membran war zu diesem Zeitpunkt von jeglicher Volumenminderung verschont geblieben (s. Abb. 18/C).

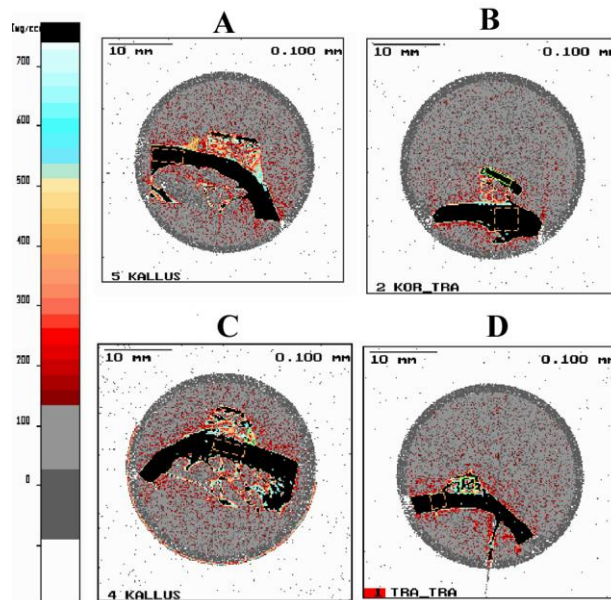
Nach sechzehn Wochen zeigte sich ein noch deutlicheres Bild als nach zwölf Wochen. In der Gruppe mit der zusätzlichen Periostexzision sowie der Gruppe mit zusätzlicher resorbierbarer Membran war es sogar zur kompletten Resorption des Transplantates gekommen (s. Abb. 16/D und Tab. 2). In der Gruppe mit zusätzlicher resorbierbarer Membran war dieses Phänomen durch den Membranverlust zu erklären. Lediglich die Gruppe mit der BioOss<sup>®</sup>-Applikation waren alle bis auf ein Präparat von der Volumenminderung verschont geblieben (s. Abb. 18/D). Dieser Einzelfall war mit einem Kollagenmembranverlust mit nachfolgender Deplatierung des BioOss<sup>®</sup>-Partikel zu erklären (s. HE-Auswertung).

**Tabelle 3: Volumenminderung der Transplantate anhand der QCT-Bilder**

(Kort: kortikospongiöser Span (KS), Perf: KS + Peforation des Transplantatlager, PerX: KS + Periostexzision, RMem: KS + resorbierbare Membra, BioOss<sup>®</sup>: KS + BioOss<sup>®</sup>, Sperre: KS+ Silikonmembran)

Einheit-zeit (Wo)	Kort	Perf	PerX	RMem	BioOss <sup>®</sup>	Sperre
4	0	1	1	1	0	1
4	0	1	0	1	0	0
4	0	0	1	1	infiziert	1
8	2	1	2	0	1	2
8	1	1	1	1	1	2
8	2	2	2	1	infiziert	2
12	2	3	3	1	0	3
12	1	3	3	3	0	3
12	2	3	2	2	0	3
16	2	2	3	1	0	3
16	3	3	x	x	2	3
16	3	3	3	3	0	3

Score: 0= keine Volumenminderung,  
 1= geringfügige Volumenminderung,  
 2= mäßige,  
 3= starke,  
 x= Transplantatverlust oder vollständige Resorption



**Abbildung 14:** QCT Bilder der Gruppe mit Schraubenfixation (SF) eines kortikospongiösen Spans (A) 4 Wochen, (B) 8 Wochen, (C) 12 Wochen, (D) 16 Wochen. Beachte die Größenabnahme im Verlauf des 16-wöchigen Beobachtungszeitraumes

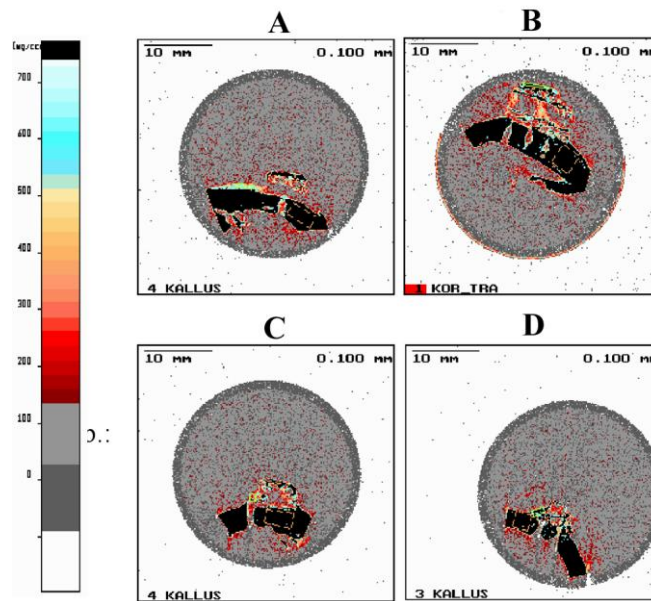


Abbildung 15: QCT Bilder Gruppe mit SF und Perforation des Transplantatlagers, (A) 4 Wochen, (B) 8 Wochen, (C) 12 Wochen, (D) 16 Wochen. Beachte die deutlich sichtbaren Perforationskanäle im Bereich des Transplantatlagers (Unterkiefer)

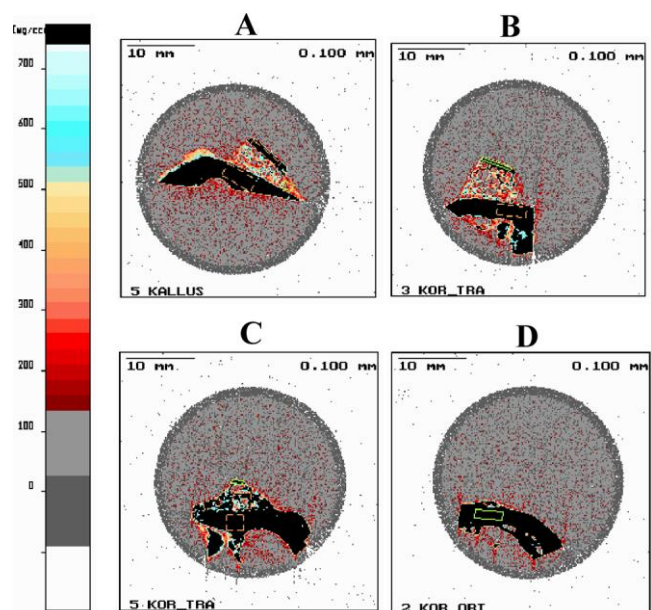


Abbildung 16: QCT Bilder der Gruppe mit SF und Periostexcision (A) 4 Wochen, (B) 8 Wochen, (C) 12 Wochen, (D) 16 Wochen. Beachte den kompletten Transplantatverlust nach 16 Wochen

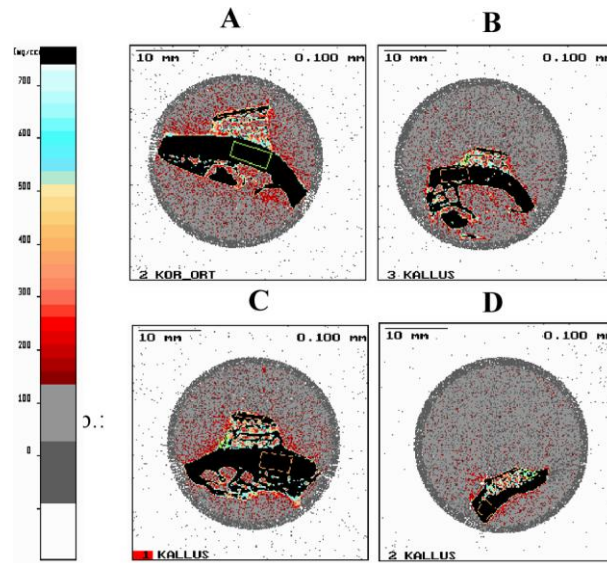


Abbildung 17: QCT Bilder Gruppe mit SF und Unlagerung einer resorbierbaren Membran (A) 4 Wochen, (B) 8 Wochen, (C) 12 Wochen, (D) 16 Wochen. Beachte den Transplantaterhalt nach 16 Wochen

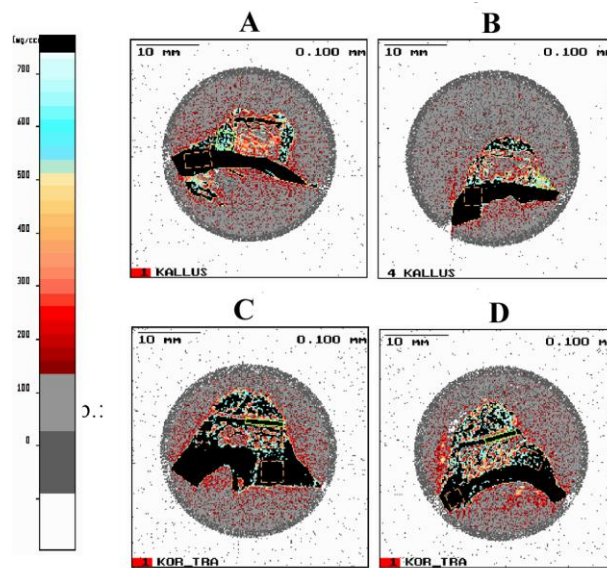
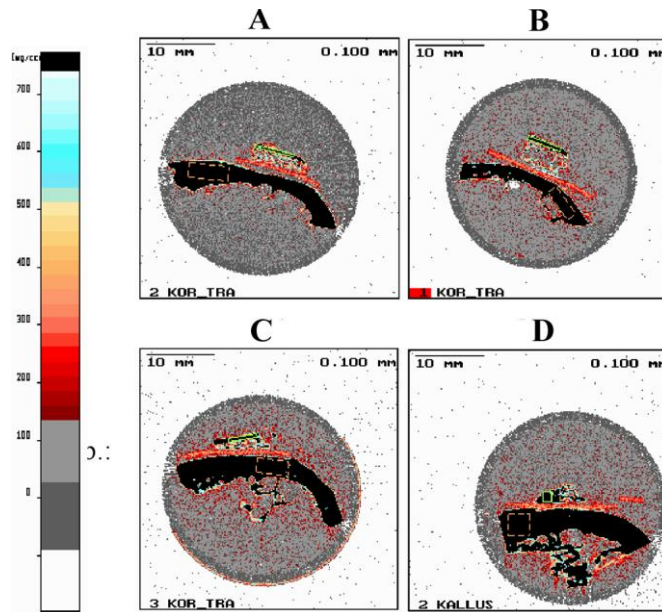


Abbildung 18: QCT Bilder der Gruppe mit SF und Bio-Oss® (A) 4 Wochen, (B) 8 Wochen, (C) 12 Wochen, (D) 16 Wochen. Beachte die additive Größenzunahme bis hin zur 16. Beobachtungswoche





**Abbildung 19: QCT Bilder der Gruppe mit SF und Zwischenlagerung einer Silikonbarriere (A) 4 Wochen, (B) 8 Wochen, (C) 12 Wochen, (D) 16 Wochen. Beachte die rote Barriere zwischen Transplantat und Transplantatlager, sowie die komplette Atrophie des Transplantates nach 16 Wochen**

### 3.2. QCT-Auswertung

Insgesamt wurden die Proben von sechzehn Schafen ausgewertet. Dabei lag die Gruppengröße pro Zeitintervall bei vier Schafen.

Mit Hilfe der QCT konnte die Knochendichte der Proben analysiert werden.

Zunächst erfolgte die Auswertung der ersten Region of Interest (ROI):

### 3.2.1. **Messung der ersten Region of Interest: Die Knochendichte der Transplantatspongiosa**

Die Ergebnisse sind in Abb. 20 dargestellt.

#### *1. Transplantation des kortikospongiösen Spans (Schraubenfixation (SF)):*

Vier Wochen postoperativ zeigte sich eine mittlere Knochendichte der Transplantatspongiosa (bone mineral density/BMD) von  $317 \text{ mg/cm}^3$ , welche im Verlauf kontinuierlich anstieg, bei zwölf Wochen ihren Höhepunkt erreichte und bis zur sechzehnten Woche bei  $603 \text{ mg/cm}^3$  stagnierte.

#### *2. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers (SF+Anfrischen):*

Hier zeigte sich nach vier Wochen ein ähnlicher Ausgangswert wie in der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein. Die BMD der Transplantatspongiosa stieg jedoch nach acht postoperativen Wochen auf Werte um  $500 \text{ mg/cm}^3$  an und wies im weiteren Verlauf keine deutlichen Änderungen der Dichtewerte auf.

#### *3. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexcision (SF+Periostexzision):*

Anfänglich zeigten sich in dieser Gruppe keine Veränderungen in den Dichtewerten. Zwölf Wochen postoperativ jedoch erfolgte ein deutlicher Anstieg der BMD auf  $561 \text{ mg/cm}^3$ . Die Werte fielen jedoch nach sechzehn Wochen wieder ab.

#### *4. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran (SF+Membran)*

In dieser Gruppe zeigten sich nach vier Wochen Einheitliche Werte von  $370 \text{ mg/cm}^3$ , die im Verlauf kontinuierlich anstiegen und nach zwölf Wochen ihr Maximum erreichten ( $592 \text{ mg/cm}^3$ ). Nach sechzehn Wochen Einheitliche sank die BMD deutlich auf  $437 \text{ mg/cm}^3$  ab.



*5. Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran (SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran):*

In dieser Gruppe zeigte sich ein linearer Anstieg der BMD-Werte über den Beobachtungszeitraum: beginnend mit Dichtewerten um  $336 \text{ mg/cm}^3$ , stieg die Knochendichte der Transplantatspongiosa auf über  $450 \text{ mg/cm}^3$  an. Zwölf Wochen postoperativ erreichten sie den Höchstwert bei  $605 \text{ mg/cm}^3$ , gefolgt von einem Abfall der Dichte nach sechzehn Wochen auf  $527 \text{ mg/cm}^3$ .

*6. Transplantation des kortikospongiösen Spans und zusätzlicher Sperre (SF+Sperre):*

Ein ähnliches Muster wie in der Gruppe mit der Entfernung des Periostes wurde hier deutlich. Nach einem initialen Abfall der Werte acht Wochen nach der Operation, erfolgte ein deutlicher Anstieg nach zwölf Wochen und ein zusätzlicher Anstieg der Dichtewerte auf  $508 \text{ mg/cm}^3$  nach sechzehn Wochen.

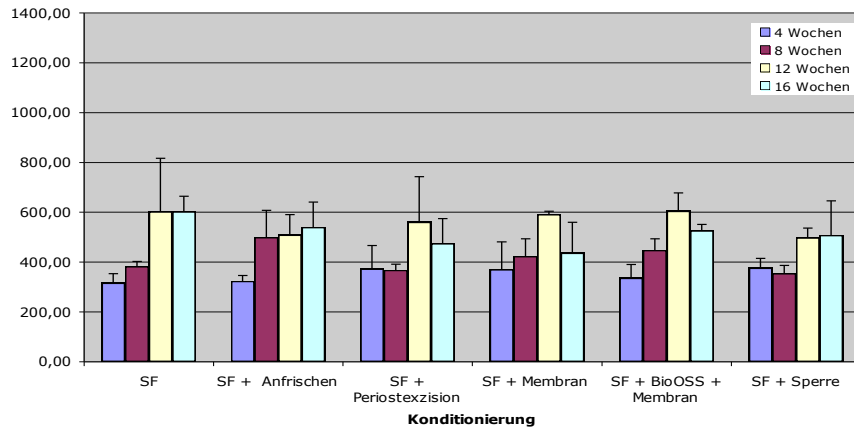
Vier Wochen postoperativ war bei allen sechs Operationsverfahren eine Knochenmineralisationsdichte der Transplantatspongiosa zwischen  $300$  und  $400 \text{ mg/cm}^3$  gemessen worden.

Nach acht Wochen erfolgte lediglich bei der Gruppe mit der Perforation des Transplantatlagers ein deutlicher Anstieg.

Ein deutlicher Anstieg war nach zwölf Wochen der Einheilungsphase zu beobachten: die Gruppen mit dem kortikospongiösen Span allein, mit zusätzlicher resorbierbarer Membran und die Gruppe mit dem Span und zusätzlicher BioOss<sup>®</sup>-Applikation erreichten Dichtewerte um die  $600 \text{ mg/cm}^3$ . Die Gruppen mit dem kortikospongiösen Span und Perforation des Transplantatlagers, mit zusätzlicher Sperre und zusätzlicher Periostexzision stiegen auf Werte um  $500 \text{ mg/cm}^3$  an.

Sechzehn Wochen nach der Operation war in den Gruppen, die zuvor eine deutlich zunehmende Dichte aufwiesen, wieder eine Abnahme der Knochendichte zu beobachten. Die Gruppen mit der resorbierbaren Membran und mit BioOss<sup>®</sup> zeigten einen Abfall der Werte auf knapp über  $500 \text{ mg/cm}^3$ , wobei die Gruppe mit dem kortikospongiösen Span gleichbleibende Dichtewerte über den gesamten Beobachtungszeitraum von 16 Wochen präsentierte.

### Knochendichte Transplantatspongiosa



**Abbildung 20: Knochendichtemessung der Transplantatspongiosa bei unterschiedlicher Konditionierung des Transplantatlagers**

1. SF = Schraubenfixation /Transplantation des kortikospongiösen Spans
2. SF+Anfrischen = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers
3. SF+Periostexzision = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision
4. SF+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran
5. SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran
6. SF+Sperre = Transplantation des kortikospongiösen Spans und zusätzlicher Sperre

#### 3.2.2. Die Messung der zweiten Region of Interest: die Knochendichte der Transplantatkortikalis (s. Abb. 21)

##### 1. Transplantation des kortikospongiösen Spans (Schraubenfixation (SF):

Nachdem initial hohe Ausgangswerte gemessen wurden, konnte acht Wochen postoperativ ein Abfall der BMD beobachtet werden. Zwölf Wochen nach der Operation wurde wieder eine erneute Zunahme der Dichte gemessen, gefolgt von einem erneuten Abfall der Dichtewerte nach sechzehn Wochen Einheilzeit. Die Ausgangswerte von  $1115 \text{ mg/cm}^3$  wurden jedoch nicht mehr erreicht.

*2. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers (SF+Anfrischen):*

In dieser Gruppe sah man einen kontinuierlichen Abfall der BMD im Verlauf. Zwischen acht und zwölf Wochen wurde ein Plateau erreicht mit Werten um  $1005 \text{ mg/cm}^3$ .

*3. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexcision*

*(SF+Periostexzision):* In dieser Gruppe zeigte sich nach einem initialen Abfall der Knochendichtewerte der Transplantatkortikalis nach acht Wochen, ein kontinuierlicher Anstieg der Werte bis zu einem Maximum nach sechzehn Wochen auf Dichtewerte bis  $1011 \text{ mg/cm}^3$ .

*4. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran (SF+Membran):*

Nach einem deutlichen Anstieg der Werte von der vierten bis zur zwölften Woche auf maximale Werte bis  $1087 \text{ mg/cm}^3$ , erfolgte ein rapider Abfall der Werte nach sechzehn Wochen auf  $894 \text{ mg/cm}^3$ . Diese Werte lagen deutlich unter den Ausgangswerten, die zum Vier -Wochen -Zeitpunkt in dieser Gruppe gemessen wurden.

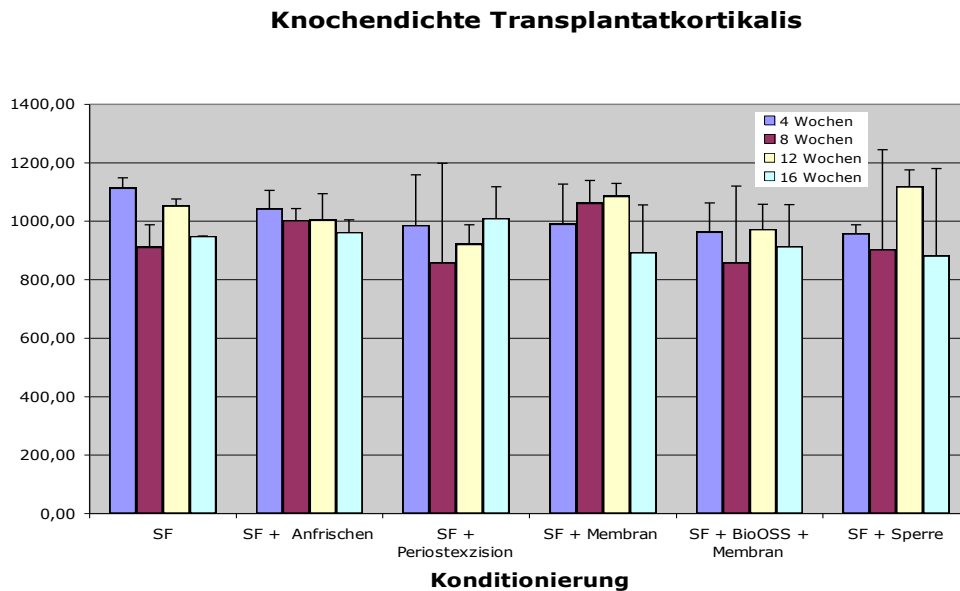
*5. Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran (SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran):*

Vier Wochen nach der Operation erfolgte zunächst ein Abfall der Dichtewerte. Zum achtwöchigen Entnahmezeitpunkt wurden die niedrigsten Werte gemessen, um dann erneut wieder anzusteigen auf ähnliche Werte wie vier Wochen postoperativ. Es folgte ein erneuter Abfall der BMD sechzehn Wochen post OP auf  $914 \text{ mg/cm}^3$ .

*6. Transplantation des kortikospongiösen Spans und zusätzlicher Sperre (SF+Sperre):*

In dieser Gruppe war zu beobachten, dass nach einem geringen Abfall der Dichtewerte acht Wochen post OP, ein sprunghafter Anstieg auf die höchsten Werte der gesamten Messung erfolgte ( $1119 \text{ mg/cm}^3$ ) zwölf Wochen nach dem Operationszeitpunkt. Wie in der Gruppe zuvor fielen die Dichtewerte ebenfalls nach sechzehn Wochen deutlich ab ( $882 \text{ mg/cm}^3$ ).

In dieser gemessenen ROI, der Knochendichte der Transplantatkortikalis, konnte kein deutlicher Unterschied im Verlauf der Knocheneinheilung nach vier, acht, zwölf oder sechzehn Wochen beobachtet werden. Die BMD lag in allen Gruppen bei Werten um die  $1000 \text{ mg/cm}^3$ . Lediglich nach acht Wochen der Einheilungsphase konnte ein Abfall der Werte in den Gruppen mit dem kortikospongiösen Span allein, mit zusätzlicher Periostexzision, mit zusätzlicher BioOss<sup>®</sup>-Applikation und mit zusätzlicher Sperre beobachtet werden, gefolgt von einem erneuten Anstieg der Dichte nach zwölf Wochen.



**Abbildung 21: Knochendichtemessung der Transplantatkortikalis bei unterschiedlicher Konditionierung des Transplantatlagers**

1. SF = Schraubenfixation /Transplantation des kortikospongiösen Spans
2. SF+Anfrischen = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers
3. SF+Periostexzision = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision
4. SF+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran
5. SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran
6. SF+Sperre = Transplantation des kortikospongiösen Spans und zusätzlicher Sperre

### 3.2.3. Die Messung der dritten Region of Interest: die Knochendichte der ortsständigen Kortikalis (s. Abb. 21).

Während bei der Kortikalis des Transplantatknorpels deutliche Schwankungen der Messwerte vorlagen, waren die Werte der ortsständigen Kortikalis kaum Schwankungen unterworfen. Sie lagen in einem Bereich zwischen 1200 und 1400 mg/cm<sup>3</sup>.

1. *Transplantation des kortikospongiösen Spans (Schraubenfixation (SF))*: Von der vierten bis zur zwölften Woche war ein geringfügiger Abfall der Dichtewerte zu beobachten. Sechzehn Wochen post OP erfolgte ein erneuter leichter Anstieg auf Dichtewerte um den Ausgangswert nach vier Wochen 1343 mg/cm<sup>3</sup>.

2. *Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers (SF+Anfrischen)*: Die Werte stagnierten im Bereich 1246 mg/cm<sup>3</sup> von der vierten bis zur zwölften Woche, um dann einen leichten Anstieg nach der sechzehnten Woche postoperativ zu präsentieren.

3. *Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexcision (SF+Periostexcision)*: In dieser Gruppe wurde ein ähnliches Muster wie in der Gruppe mit zusätzlicher Perforation des Transplantatlagers festgestellt. Die Werte lagen jedoch insgesamt höher.

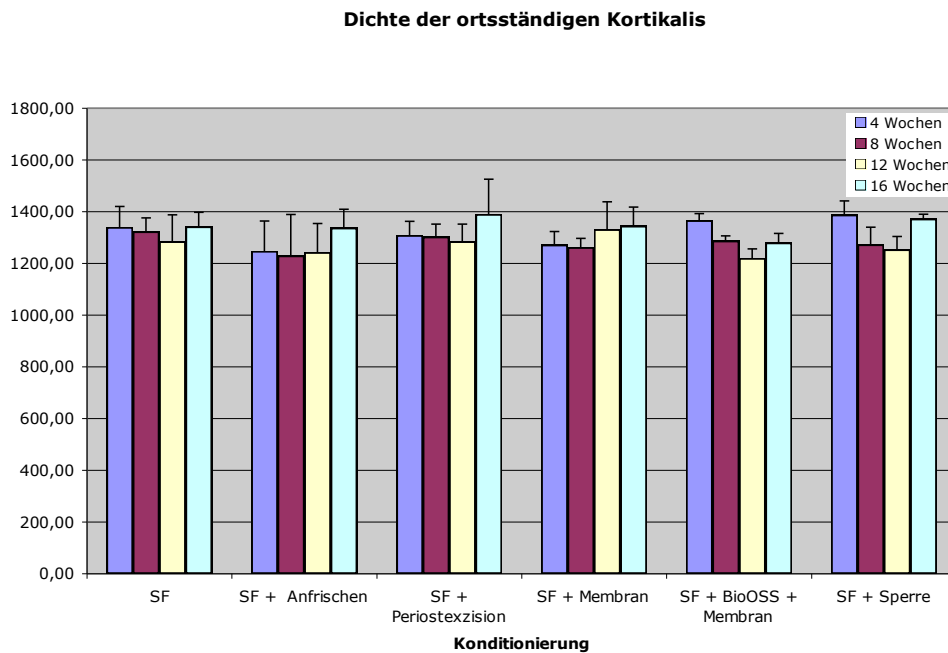
4. *Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran (SF+Membran)*: Zunächst erfolgte zwischen der vierten und der achten Woche keine signifikante Änderung der Werte. Zwölf Wochen postoperativ war ein leichter Anstieg der Dichtewerte zu beobachten, der bis zur sechzehnten Woche stagnierte.

5. *Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran (SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran)*: In dieser Gruppe war ein umgekehrtes Bild zu beobachten. Von einem hohen Ausgangswert nach vier Wochen, sanken die Werte bis zur zwölften Woche. Nach der 16. postoperativen Woche wurden

erneut Werte im Bereich der Dichte, die in der achten Woche gemessen wurden, erreicht.

*6. Transplantation des kortikospongiösen Spans und zusätzlicher Sperre (SF+Sperre):*

In dieser Gruppe wurde ein ähnliches Muster wie in der Gruppe zuvor beobachtet, allerdings erreichte der Dichtewert nach der sechzehnten postoperativen Woche nur noch Werte im Bereich des gemessenen Ausgangswertes nach der vierten Woche.



**Abbildung 22: Knochendichtemessung der ortsständigen Kortikalis bei unterschiedlicher Konditionierung des Transplantatlagers**

1. SF = Schraubenfixation /Transplantation des kortikospongiösen Spans
2. SF+Anfrischen = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers
3. SF+Periostexzision = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision
4. SF+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran
5. SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran
6. SF+Sperre = Transplantation des kortikospongiösen Spans und zusätzlicher Sperre

### 3.2.4. Die Messung der vierten Region of Interest: die Knochendichte des Kallusgewebes im Randbereich des Transplantates (s. Abb. 23)

1. *Transplantation des kortikospongiösen Spans (Schraubenfixation (SF))*: Vier Wochen post OP zeigte das Kallusgewebe im Bereich der Dichte von trabekulärem Knochen Werte um  $400 \text{ mg/cm}^3$  mit kontinuierlichem Anstieg bis zum Zeitpunkt nach 12 Wochen. Sechzehn Wochen nach der Augmentation wurden Dichtewerte, die im Bereich der Werte von Kortikalis lagen, erreicht ( $916 \text{ mg/cm}^3$ ).

2. *Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers (SF+Anfrischen)*:

In dieser Gruppe wurde ein ähnliches Muster wie in der zuvor genannten Gruppe beobachtet, mit dem Unterschied, dass die höchsten Werte schon nach zwölf Wochen erreicht wurden und dann ein erneuter Abfall der Werte nach sechzehn Wochen erfolgte.

3. *Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision (SF+Periostexzision)*:

Insgesamt wurde erneut ein ähnliches Profil wie in der vorherigen Gruppe gemessen, mit dem Unterschied, dass geringere Knochendichtewerte des Kallusgewebes festgestellt wurden.

4. *Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran (SF+Membran)*:

Die Ergebnisse dieser Gruppe waren vergleichbar mit den Knochendichtewerten des Kallusgewebes der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein. Es wurde lediglich ein geringfügiger Anstieg der BMD gemessen.

5. *Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran (SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran)*:

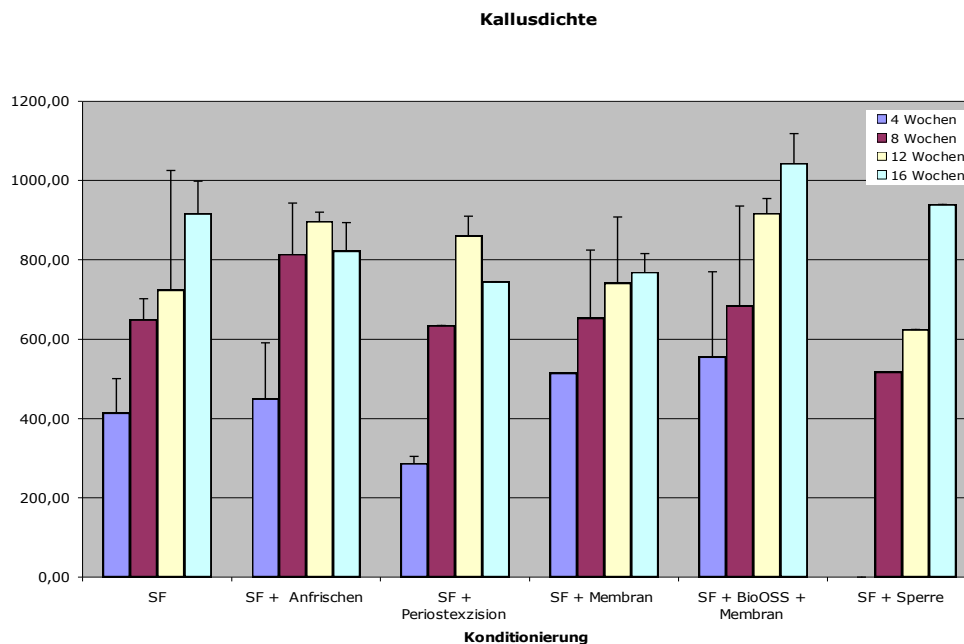
Das Kallusgewebe der BioOss<sup>®</sup>- Gruppe erreichte schon nach vier Wochen die insgesamt höchsten Werte ( $556 \text{ mg/cm}^3$ ) und resultierte in eine enorme Dichtezunahme bis zur sechzehnten postoperativen Woche mit Werten über  $1000 \text{ mg/cm}^3$ .

*6. Transplantation des kortikospongiösen Spans und zusätzlicher Sperre (SF+Sperre):*

Vier Wochen nach Augmentation wurde keine Kallusbildung beobachtet. Die Werte acht, zwölf und sechzehn Wochen post OP müssen zurückhaltend bewertet werden, da jeweils nur ein auswertbarer Wert pro Entnahmezeitpunkt vorlag.

In Hinblick auf die Aussagefähigkeit der Werte war die ROI 4 am interessantesten, da hier die deutlichsten Dichtezunahmen der BMD beobachtet wurden. In den ersten fünf Gruppen entsprachen die Dichtewerte vier Wochen nach der Operation denen der trabekulären Dichte. Die Dichte nach zwölf und sechzehn Wochen konnten den Dichtewerten von kortikalem Knochen zugeordnet werden. Bei der Gruppe mit der Sperre zwischen Transplantat und Transplantatbett war vier Wochen postoperativ kein Knochenkallus aufgetreten. Die Ergebnisse dieser Gruppe in den darauf folgenden Wochen muss gesondert beurteilt werden, da die Kallusbildung hier nicht aus der Transplantatregion, sondern von außerhalb der Silikonbarrierenregion über die Silikonbarriere hinweg von statten ging. Dies impliziert, dass zur sekundären Einheilung eines Transplantates kein direkter Knochenkontakt notwendig zu sein scheint.





**Abbildung 23: Knochendichtemessung des Kallusgewebes bei unterschiedlicher Konditionierung des Transplantatlagers**

1. SF = Schraubenfixation /Transplantation des kortikospongiösen Spans
  2. SF+Anfrischen = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers
  3. SF+Periostexzision = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision
  4. SF+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran
  5. SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran
  6. SF+Sperre = Transplantation des kortikospongiösen Spans und zusätzlicher Sperre
- Bei allen QCT-Messdaten wurde aufgrund der geringen Gruppengrößen auf eine statistische Auswertung in Bezug auf die Signifikanz verzichtet.

### 3.3. HE-Auswertung

Während bei den QCT- Messungen alle Proben ausgewertet werden konnten, waren bei den HE-Schnitten aufgrund fehlender Einheilung und damit verbundener Probleme bei der Aufarbeitung nicht alle Proben zu beurteilen.

So konnte die Gruppe mit dem kortikospongiösen Span und zusätzlicher Sperre nicht ausgewertet werden, da durch die Silikonbarriere keine knöcherne Verbindung zwischen Transplantat und Transplantatlager ausgebildet worden war, die stabil genug für die notwendige Prozessierung der Probe gewesen ist.

Aus der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein wurden je Entnahmezeitpunkt drei Proben ausgewertet.

Auch aufgrund von technischen Problemen bei der Aufbereitung konnten aus der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span und Perforation des Transplantatlagers in der 4 Wochen Gruppe nur zwei, in der 16 Wochen Gruppe nur ein Schnitt ausgewertet werden.

Aus der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span und zusätzlicher Periostexzision wurden je Entnahmezeitpunkt drei Proben ausgewertet.

Aus der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span und der resorbierbaren Membran wurden in der 8 Wochen Gruppe zwei, zu allen anderen Zeitpunkten drei Proben ausgewertet.

Aus der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span und BioOss<sup>®</sup> plus Membran wurden in der 4 und 8 Wochen Gruppe nur jeweils zwei Schnitte ausgewertet.

### 3.3.1. **Semiquantitative Auswertung der Anzahl der Trabekel im Transplantat**

Um die Trabekeldichte im Transplantat zu bestimmen, wurden die Trabekel berücksichtigt, die jeweils mit einem der 100 Rasterquadrate pro Gesichtsfeld in Verbindung standen. Drei Gesichtsfelder (GF) wurden, wenn es die Restgröße des Transplantates zugelassen hatte, ausgezählt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 23 dargestellt.

#### *1. Transplantation des kortikospongiösen Spans (Schraubenfixation (SF):*

Das Trabekelwerk zeigte sich nach vier Wochen mit 13 ausgezählten Trabekeln/Gesichtsfeld (GF im Folgenden) mäßig dicht. Es folgte ein sprunghafter Anstieg nach acht Wochen auf 26 Trabekeln/GF, um dann wieder kontinuierlich abzunehmen auf 20 Trabekeln/GF.

#### *2. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers (SF+Anfrischen):*

In dieser Gruppe wurde bereits nach vier Wochen ein Maximum von 26 Trabekeln/GF erreicht, gefolgt von einem Abfall nach acht Wochen auf 15 Trabekeln/GF. Nach zwölf Wochen stieg die Anzahl der Trabekel pro Gesichtsfeld erneut an auf 22 Trabekeln/GF. Zum letzten Entnahmezeitpunkt nach 16 Wochen fielen die Werte auf den niedrigsten Wert in dieser Auswertung ab (8 Trabekeln/GF).

### *3. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision*

*(SF+Periostexzision):*

In dieser Gruppe zeigte sich ein kontinuierlicher Anstieg der Anzahl auf 26 Trabekeln/GF bis zur zwölften postoperativen Woche, gefolgt von einem Abfall auf 15 Trabekeln/GF in der sechzehnten Woche.

### *4. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran (SF+Membran):*

Bis zur zwölften postoperativen Woche wurde in dieser Gruppe ein kontinuierlicher Anstieg der Anzahl der Trabekeln von 15 auf 30 Trabekeln pro Gesichtsfeld registriert. Zur sechzehnten postoperativen Woche hin fiel jedoch die Anzahl der Trabekel/GF auf 16 wieder deutlich ab.

### *5. Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran (SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran):*

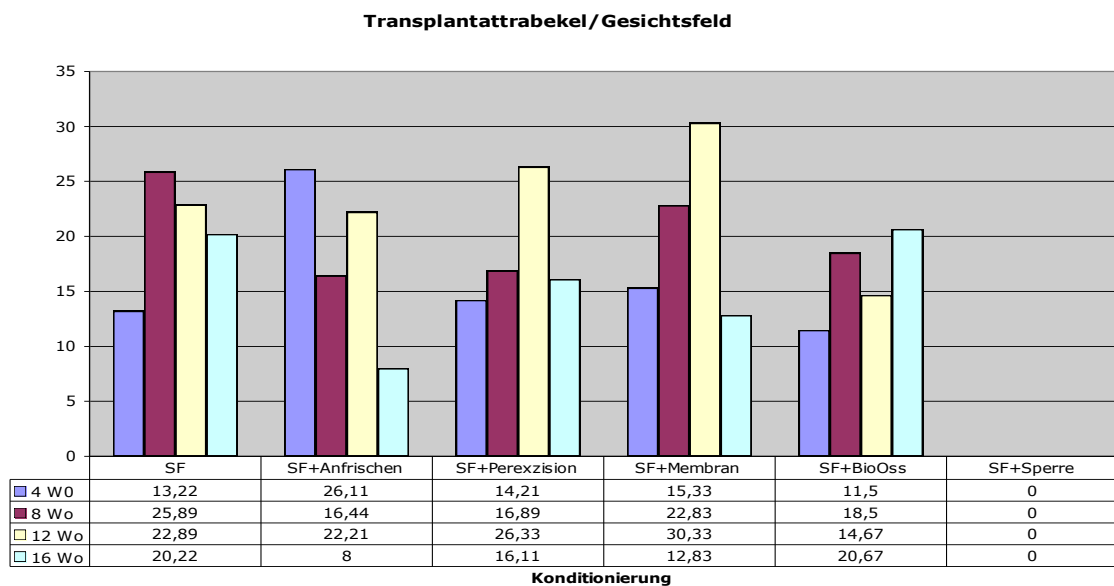
In dieser Gruppe wurde der höchste Wert der Trabekel pro Gesichtsfeld nach sechzehn postoperativen Wochen beobachtet. Es lag ein kontinuierlicher Anstieg von 11 Trabekeln/GF nach 4 Wochen auf 21 Trabekeln/GF nach 16 Wochen vor. Nach 16 Wochen ist diese Gruppe diejenige mit dem dichtesten Trabekelwerk. Andere Gruppen erreichen zwar bis zur 12. Woche ihre höchsten Dichtewerte (SF+Membran 30 Trabekeln/GF), jedoch fallen alle anderen Gruppen bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes nach 16 Wochen unter die Werte der Gruppe SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran (< 20,5 Trabekeln/GF).

Zusammenfassend konnte beobachtet werden, dass die höchsten Werte nach zwölf Wochen in der Gruppe mit Schraubenfixation des kortikospongiösen Spans und der resorbierbaren Membran mit 30 Trabekeln/GF gezählt wurden.

Ähnlich hohe Werte konnten ansonsten in der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein nach acht Wochen Einheilzeit, der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span und zusätzlicher Perforation des Transplantatlagers nach vier Wochen und der Gruppe mit

dem Span und der zusätzliche Periostexzision nach zwölf postoperativen Wochen ausgezählt werden.

Die Gruppe mit dem kortikospongiösen Span und BioOss®-Applikation konnte in dieser Auszählmethode nur durchschnittliche Werte erreichen. Ein Maximum der Anzahl der Trabekel/GF wurde in dieser Gruppe zum letzten Entnahmezeitpunkt nach sechzehn Wochen erreicht.



**Abbildung 24: Mittelwert der Auszählung der Transplantattrabekeln pro Gesichtsfeld bei unterschiedlicher Konditionierung der Transplantatlager (MW=Mittelwert, GF=Gesichtsfeld)**

1. SF = Schraubenfixation /Transplantation des kortikospongiösen Spans
2. SF+Anfrischen = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers
3. SF+Periostexzision = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision
4. SF+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran
5. SF+BioOss®+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss® und der resorbierbaren Membran
6. SF+Sperre = Transplantation des kortikospongiösen Spans und zusätzlicher Sperre

### 3.3.2. Semiquantitative Auswertung der Anzahl der Gefäße im Transplantat

Bei dieser Auszählungsmethode wurden die Anzahl an Gefäßen bei einer 100fachen Vergrößerung pro Raster und Gesichtsfeld ausgezählt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 25 dargestellt.

*1. Transplantation des kortikospongiösen Spans (Schraubenfixation (SF):* In dieser Gruppe wurden die meisten Gefäße/GF zu dem Entnahmezeitpunkt vier Wochen postoperativ mit 17 Gefäße/GF gezählt. Danach erfolgte ein kontinuierlicher Rückgang der Gefäße/GF bis auf 2 Gefäße/GF nach 16 Wochen Einheilzeit.

*2. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers (SF+Anfrischen):*

In dieser Gruppe wurden ähnliche Ergebnisse wie in der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein beobachtet, jedoch mit deutlich weniger Gefäßen nach vier Wochen Einheilzeit (10 Gefäße/GF). Im Verlauf bis zur sechzehnten postoperativen Woche nahm die Anzahl an Gefäßen pro Gesichtsfeld ab, so dass nach der sechzehnten Woche keine Gefäße mehr ausgezählt werden konnten.

*3. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision (SF+Periostexzision):*

In dieser Gruppe wurde zunächst ein kontinuierlicher Abfall der Anzahl an Gefäßen registriert von 6 auf 1 Gefäß/GF. Erst zum letzten Entnahmezeitpunkt fiel ein erneuter Anstieg an Gefäßen pro Gesichtsfeld auf 5 Gefäße/GF auf.

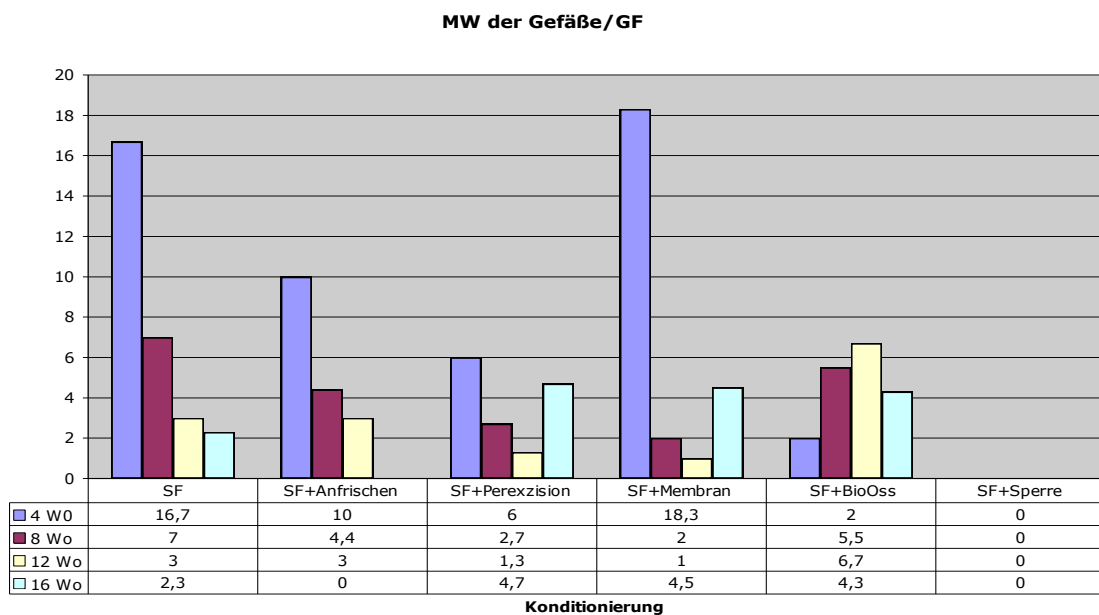
*4. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran (SF+Membran):*

In dieser Gruppe wurden nach vier Wochen mit einer Anzahl von 18/GF die meisten Gefäße/GF gezählt, gefolgt von einem rapidem Abfall der Anzahl an Gefäßen nach acht und zwölf Wochen auf 1 Gefäß/GF und einem erneuten leichten Anstieg nach sechzehn postoperativen Wochen auf 4,5 Gefäße/GF.

*5. Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran (SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran):*

Diese Gruppe stellte sich als einzige Gruppe heraus, in der zunächst ein normaler linearer Anstieg der Anzahl an Gefäßen ausgezählt wurde von 2 Gefäßen/GF auf 7 Gefäße/GF. Erst nach sechzehn postoperativen Wochen wurde eine Abnahme der Gefäßanzahl auf 4 Gefäße/GF beobachtet.

Die Auszählmethode der Gefäße verdeutlichte, dass lediglich in den 4–Wochen-Proben bei vier von fünf ausgewerteten Operationsverfahren eine hohe Anzahl an Gefäßen vorhanden war. In den darauf folgenden Wochen kam es zu einer deutlichen Abnahme der Anzahl an Gefäßen. Lediglich in der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span und der BioOss<sup>®</sup>-Applikation wurde ein kontinuierlicher Anstieg der Anzahl an Gefäßen beobachtet, gefolgt von einem leichten Abfall nach der sechzehnten postoperativen Woche.



**Abbildung 25: Mittelwert aus der Anzahl der Gefäße pro Gesichtsfeld bei unterschiedlicher Konditionierung des Transplantatlagers (MW=Mittelwert, GF=Gesichtsfeld)**

1. SF = Schraubenfixation /Transplantation des kortikospongiösen Spans
2. SF+Anfrischen = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers
3. SF+Periostexzision = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision
4. SF+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran
5. SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran
6. SF+Sperre = Transplantation des kortikospongiösen Spans und zusätzlicher Sperre

### 3.3.3. **Semiquantitative Auswertung der knöchernen Verbindungen zwischen Transplantat und Transplantatlager**

Bei dieser Auswertung wurden auf der gesamten Länge der Kontaktregion zwischen Spender und Empfänger die neu gebildeten Knochenbrücken (Interfaces) ausgezählt (s. Abb. 26), wobei die Kallusregion ausgespart wurde. Eine durchgehende Verbindung wurde mit der Zahl 50 gleichgesetzt.

*1. Transplantation des kortikospongiösen Spans (Schraubenfixation (SF):* In dieser Gruppe war die Knochenbrückenanzahl in den ersten zwölf Wochen konstant bei Werten um 14 Knochenbrücken/GF, stieg dann aber nach sechzehn Wochen sprunghaft an und erreichte einen Wert von 31 Interfaces.

*2. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers (SF+Anfrischen):*

Auch in dieser Gruppe zeigte sich eine nahezu gleichbleibende Anzahl an Knochenbrücken in den ersten zwölf postoperativen Wochen, gefolgt von einem sprunghaften Anstieg der Anzahl an Knochenbrücken. Bei diesem Wert musste jedoch berücksichtigt werden, dass kein Mittelwert aus drei ausgezählten Schnitten errechnet werden konnte, da nur ein Präparat ausgezählt werden konnte.

*3. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexcision (SF+Periostexzision):*

In dieser Gruppe zeigte sich im Verlauf der ersten 12 postoperativen Wochen zunächst ein geringer Abfall der Anzahl an Knochenbrücken von 15 auf 5 Knochenbrücken/GF, gefolgt von einem Anstieg nach der sechzehnten Woche auf 17 Knochenbrücken/GF.

*4. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran (SF+Membran):*

Diese Gruppe fiel durch eine konstante Anzahl an Interfaces während der gesamten Beobachtungsdauer auf. Die Werte lagen durchschnittlich zwischen 12 und 13 Knochenbrücken/GF. Es waren kein Abfall aber auch keine Steigerung der Anzahl an Knochenbrückenverbindung zu beobachten.

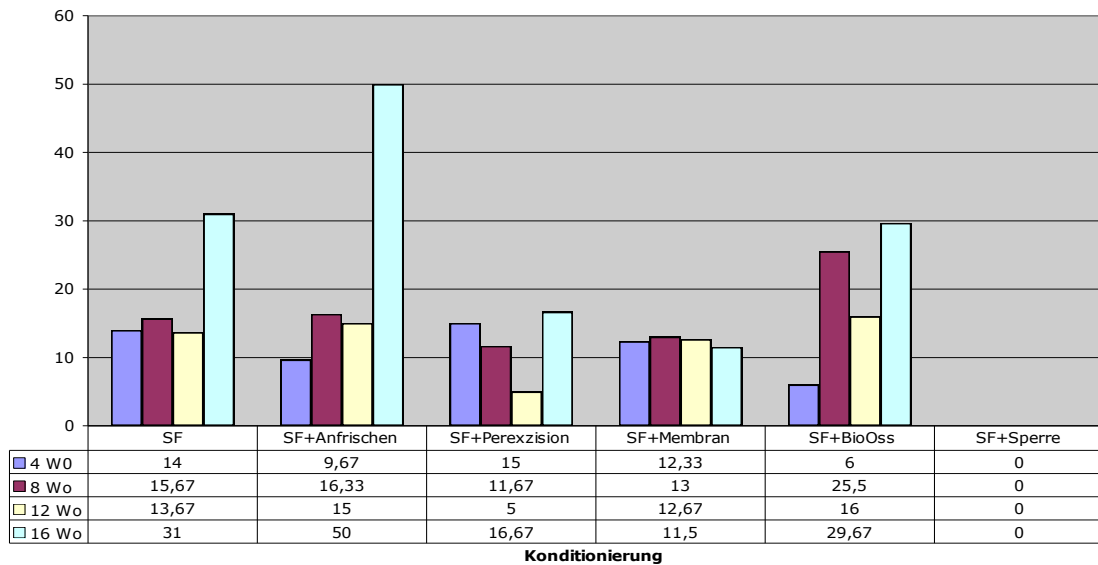
*5. Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran (SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran):*

Diese Gruppe präsentierte vier Wochen post OP die geringste Anzahl an Knochenbrücken mit 6 Knochenbrücken/GF. Nach einem wenig schwankendem Verlauf erreichte diese Gruppe zum letzten Entnahmezeitpunkt nach sechzehn Wochen einen Höchstwert mit durchschnittlich 30 Verbindungen.

Während der Auszählung der Knochenbrücken zwischen Spender- und Empfängerregion wurde deutlich, dass alle Transplantate der verschiedenen Operationsverfahren nach sechzehn postoperativen Wochen Knochenbrücken zum Transplantatlager ausgebildet hatten. Besonders hervorzuheben waren die Gruppen mit dem kortikospongiösen Span allein, dem kortikospongiösen Span und zusätzlicher Perforation des Transplantatlagers und dem kortikospongiösen Span mit zusätzlicher BioOss<sup>®</sup>-Applikation aufgrund ihrer kompakten Kontaktregion zwischen Transplantat und Transplantatlager und der Menge an ausgebildeten Knochenbrücken.



### Interfaces Host/Graft



**Abbildung 26: Mittelwert aus der Anzahl der Knochenbrücken (Interfaces) pro Gesichtsfeld bei unterschiedlicher Konditionierung des Transplantatlagers (MW=Mittelwert, GF=Gesichtsfeld)**

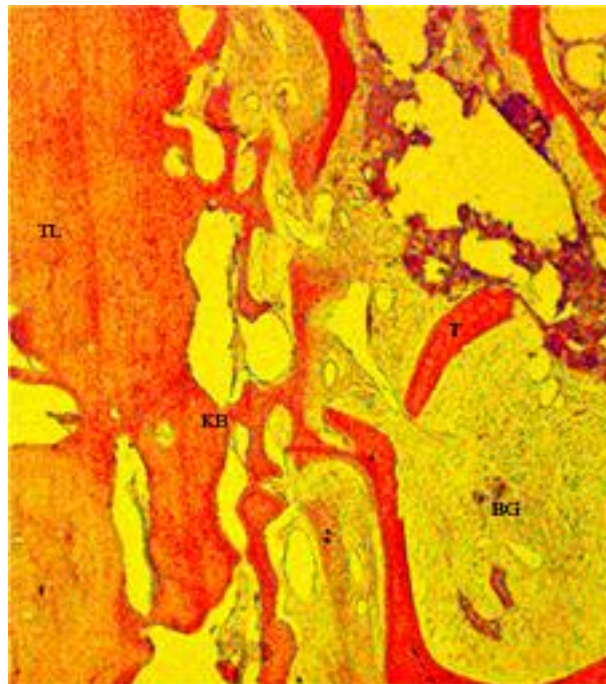
1. SF = Schraubenfixation /Transplantation des kortikospongiösen Spans
2. SF+Anfrischen = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Perforation des Transplantatlagers
3. SF+Periostexzision = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision
4. SF+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran
5. SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran = Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran
6. SF+Sperre = Transplantation des kortikospongiösen Spans und zusätzlicher Sperre

## 3.4. Deskriptive Auswertung der HE-Präparate

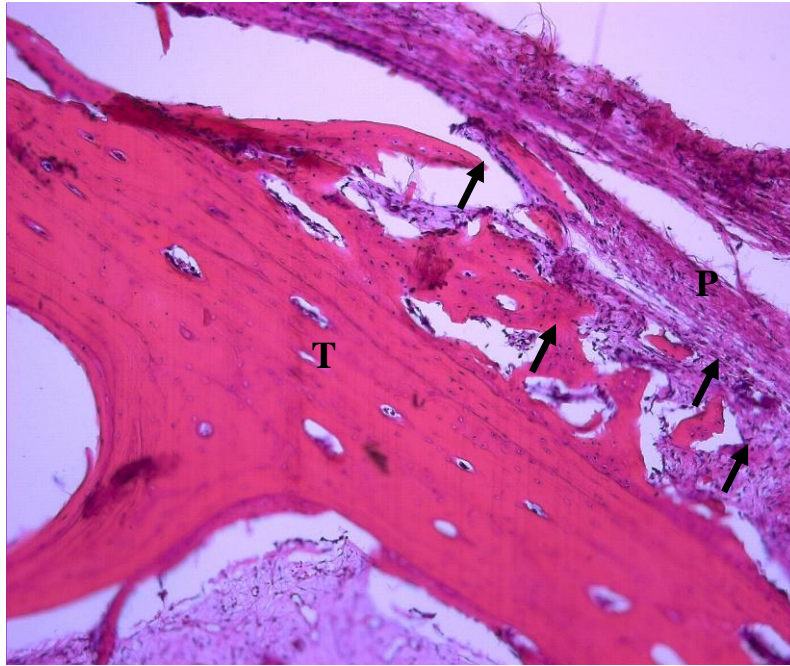
### 3.4.1. Transplantation des kortikospongiösen Spans (Schraubenfixation (SF))

*a) Einheilzeitpunkt nach 4 Wochen:* Zu diesem Zeitpunkt konnte das Transplantat noch vom Transplantatlager unterschieden werden. Jedoch konnten sichtbare Resorptionszonen an den Ecken der Transplantatkortikalis beobachtet werden. Die Transplantatkortikalis bestand aus lamellärem Knochen. Osteozyten und eine Spongiosa aus dünnen Trabekulae, welche von Bone Lining Cells (BLC) umsäumt waren, mit zusätzlich erweitertem intertrabekulärem Raum (mit hämatopoetischen Zellen und vaskulären Elementen) beherrschten das Bild. Es lag keine Volumenminderung vor. Auf der Oberfläche des Periostes zeigten sich regulär angeordnete Osteoblasten. Neu gebildeter Geflechtknochen konnte

direkt unterhalb des Periosts auf der Oberfläche der Transplantatkortikalis beobachtet werden (s. Abb 28). Entlang der Kontaktregion zwischen Spender und Empfänger (Interface) bildeten sich fusionierende Trabekel aus (s. Abb. 26). Zusätzlich bildeten sich neue, unreife Trabekel in der Kalluszone an den lateralen Regionen des Transplantates aus. Nur wenige Gefäße kamen zur Darstellung.

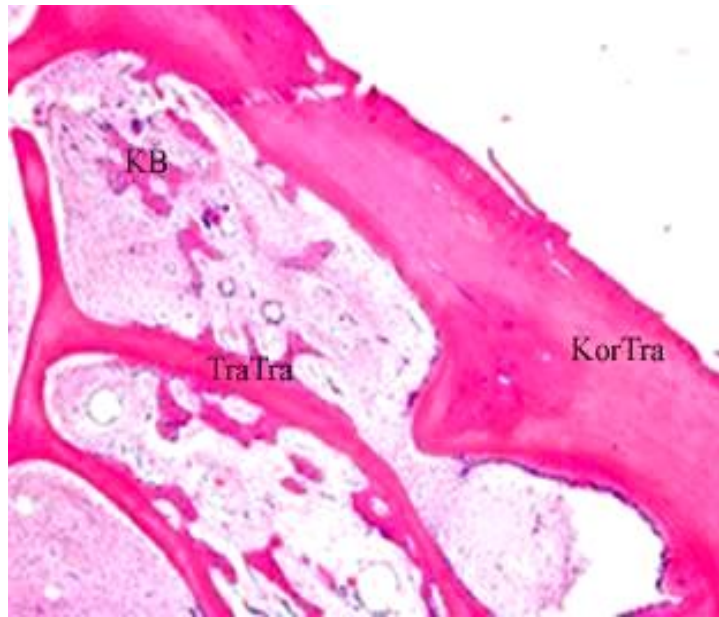


**Abbildung 27: Schraubenfixation des kortikospongiösen Transplantates (T) nach 4 Wochen Einheilzeit. Die Spongiosa bestand aus dünnen Trabekeln. TL = Transplantatlager, KB = Knochenbrücken zwischen Transplantat und –lager (Vergrößerung 50 x, H-E).**



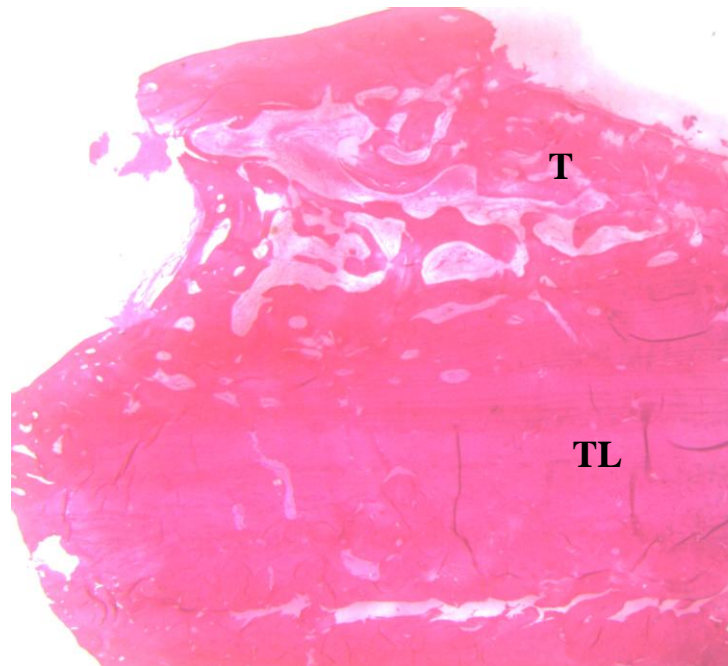
**Abbildung 28: Schraubenfixation des kortikospongiösen Transplantates (T) nach 4 Wochen Einheilzeit. Geflechtknochenbildung (Pfeile) auf der Kortikalis des Transplantates (T) durch die osteogene Schicht des Periostes (P). (Vergrößerung 50 x, H-E).**

*b) Einheilzeitpunkt nach 8 Wochen:* Auch zu diesem Zeitpunkt war die Transplantat- von der Empfängerregion noch zu differenzieren. Ebenso kam auch hier deutlich die Abrundung der Transplantatkortikalis lateral zur Ausprägung. Eine Zunahme der Osteoklastenaktivität war vor allem an der Transplantatkortikalis zu beobachten, wodurch die Minderung der Transplantatkortikalishöhe, sowie eine auffallend aufgelockerte Kortikalis zu erklären ist. Es lag eine Zunahme der Trabekeldicke der Spongiosa vor, mit einer dichteren Besiedlung durch Bonelining Cells (BLC). Zusätzlich war eine deutliche Trabekelneubildung innerhalb der Spongiosa zu sehen (s. Abb. 29). Resorptionskanäle innerhalb der Empfängerkortikalis bildeten sich an den lateralen Regionen des Transplantates aus mit Präsentation von Osteoklasten. Das Knochenmark wurde teilweise bindegewebig oder durch Fettzellen ersetzt, es präsentierten sich nur wenige Gefäße, jedoch zeigte sich eine deutliche Kallusbildung mit guter Spender/Empfängerverbindung. Teilweise konnte unterhalb der Transplantatkortikalis eine massive Bindegewebedurchsetzung beobachtet werden, die nach proximal durch eine hohe Dichte an Trabeculae abgelöst wurde.



**Abbildung 29:** Schraubenfixation des kortikospongiösen Transplantates, Trabekuläre Struktur des Transplantates (TraTra) nach 8 Wochen Einheilzeit. Kortikalis des Transplantates (KorTra) neu ausgebildete Knochenbälkchen (KB) mit BLC gesäumt (Vergrößerung 50 x, H-E)

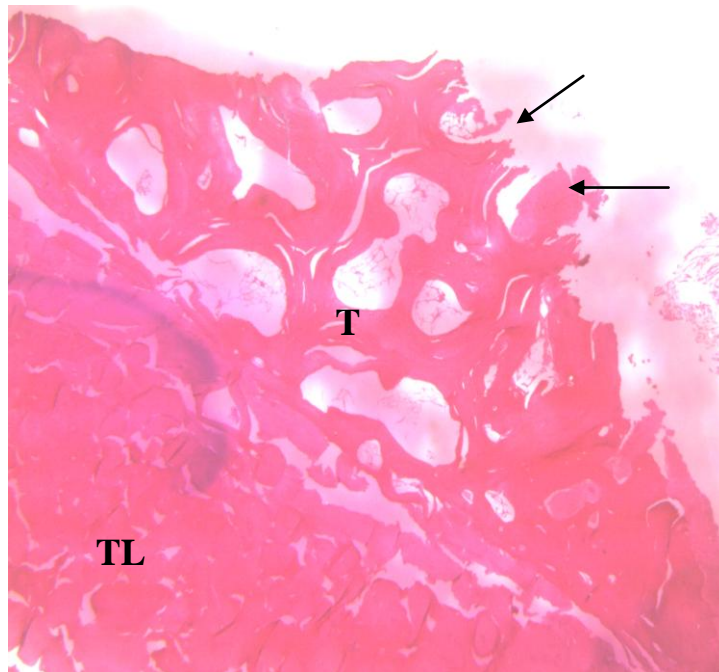
*c) Einheilzeitpunkt nach 12 Wochen:* Zu diesem Zeitpunkt zeigte das Transplantat eine deutliche Höhenminderung mit auffallender Abrundung der Tranplantatkortikalis (s. Abb. 30). Das Transplantat bestand aus reifem lamellärem Knochen und der Markraum war mit Fettzellen durchsetzt. Das Interface bestand aus kompaktem Knochen, welches sich nach distal zu einer dichten trabekulären Struktur mit wenig Osteozyten umwandelte. Die Kallusbildung an den lateralen proximalen Ecken des Transplantates bestand aus kompaktem lamellärem Knochen, der vom lamellären Knochen des Transplantatlagers kaum mehr zu unterscheiden war. Die Trabekelstruktur der Spongiosa wurde durch kompakten lamellären Knochen ersetzt. Nach distal rarifizierte sich die Trabekelstruktur und wurde bindegewebig ersetzt. Die Kortikalis des Transplantates war hier noch gut erhalten.



**Abbildung 30: Schraubenfixation des kortikospongiösen Transplantates (T) nach 12 Wochen Einheilzeit. Volumenreduktion des Transplantates (T) mit Abrundung der Transplantatkortikalis, TL= Transplantatlager (Vergrößerung 15 x, H-E).**

*d) Einheilzeit nach 16 Wochen:* Nach dieser Zeit war eine ausgeprägte Volumenminderung des gesamten Transplantates zu beobachten. Die Kallusbildung setzte sich nun aus kompaktem Knochen mit konzentrischen Laminae zusammen, welche in ein kompaktes Interface zwischen Spender und Empfänger übergingen. Auch hier war der größte Anteil des Markraumes bindegewebig und durch Fettmark ersetzt. In einem der drei Präparate lag ein kompletter Verlust der Transplantatkortikalis vor (s. Abb. 31). In den anderen beiden Fällen konnte eine ausgeprägte Reduzierung der Höhe der Transplantatkortikalis beobachtet werden.

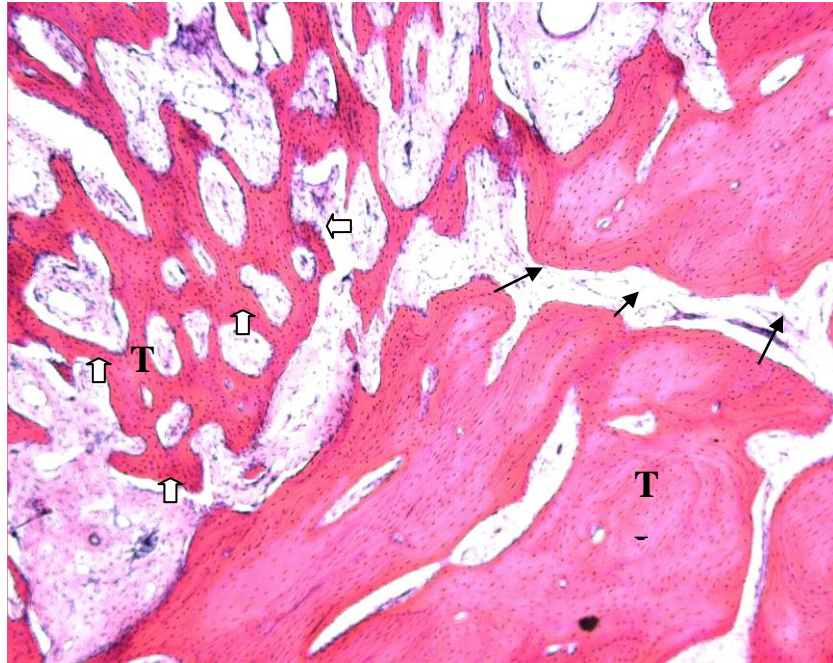




**Abbildung 31: Schraubenfixation des kortikospongösen Transplantates (T) nach 16 Wochen Einheilzeit. Deutliche Volumenreduktion des Transplantates. Im Transplantat gereifter lamellärer Knochen und Resorptionslakunen an der Transplantatoberfläche (schwarze Pfeile). (Vergrößerung 20 x, H-E)**

### 3.4.2. **Transplantation des kortikospongösen Spans und Perforation des Transplantatlagers (SF+Anfrischen):**

*a) Einheilzeit nach 4 Wochen:* Vom histologischen Aspekt her zu urteilen, entsprach diese Gruppe nach vier Wochen dem der Gruppe mit dem kortikospongösen Span allein. Die einzige Ausnahme bestand darin, dass in einem der untersuchten Präparate keine Verbindung zwischen Spender und Empfänger zustande gekommen war. Es lag lediglich eine Bindegewebsbrücke vor. Die beiden anderen Präparate zeigten neu ausgebildeten unreifen Geflechtknochen (s. Abb. 32).



**Abbildung 32: Schraubenfixation des kortikospongösen Transplantates (T) mit Perforation des Transplantatlagers (TL) nach 4 Wochen Einheilzeit. Das Transplantat war komplett durch Geflechtknochen ersetzt (weiße Pfeile). Perforationskanal (schwarze Pfeile). (Vergrößerung 50 x, H-E).**

*b) Einheilzeit nach 8 Wochen:* Zu diesem Zeitpunkt entsprach das Bild ebenfalls der Gruppe mit alleiniger Transplantation des kortikospongösen Spans nach acht Wochen. Es lagen viele Trabekelneubildungen vor, die von BLC umsäumt wurden. Es hatten kaum Resorptionsvorgänge und Knochenmarksinvolution stattgefunden. Die Kallusneubildung an den proximalen lateralen Ecken des Transplantates erschien kompakter als nach 4 Wochen. Kallusgewebe spross von lateral nach medial ist das Transplantat ein. Es konnte eine neu ausgebildete Knochenbrückenbildung zwischen Spender und Empfänger registriert werden. In einem Präparat wurde eine distale bindegewebige Durchsetzung des Transplantates beobachtet, subkortikal mit einer hier vorliegenden Rarifizierung des Trabekelwerkes. Das Trabekelwerk nahm jedoch nach proximal wieder zu.

*c) Einheilzeit nach 12 Wochen:* Auch hier konnte ein ähnliches Bild wie in der Gruppe mit zusätzlicher Perforation des Transplantatlagers nach zwölf Wochen beobachtet werden. Es lag eine nach cranial hin abnehmende Trabekelstruktur vor, sowie Kallusgewebe im lateralen Bereich. Das Transplantatzentrum war von einer dichten Trabekelstruktur und einer hohen Osteozytendichte durchzogen. Die

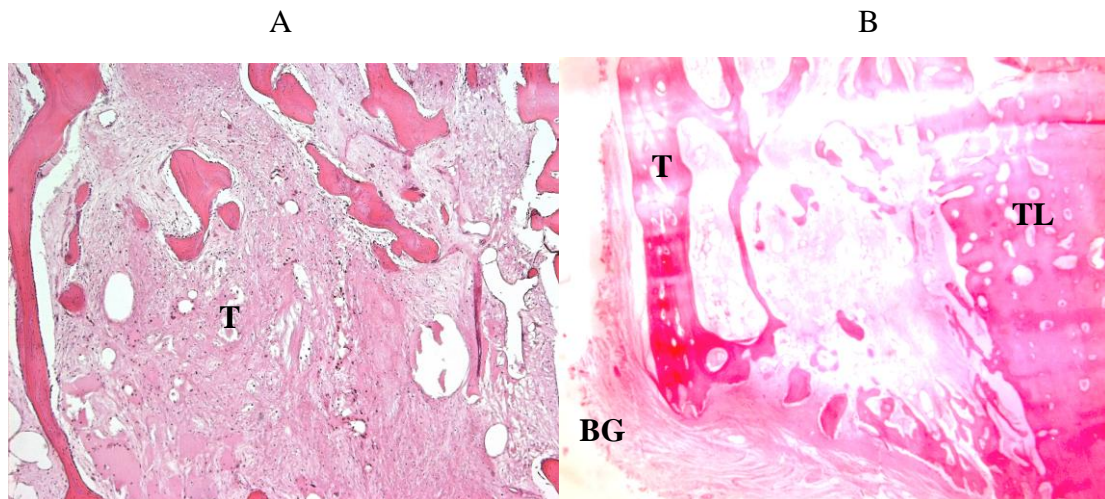
Transplantatkortikalis war teilweise resorbiert, es bestand jedoch eine gute knöcherne Verbindung zwischen Transplantat und Transplantatlager. Insgesamt fiel eine zunehmende Volumenminderung des Transplantates auf.

*d) Einheilzeit nach 16 Wochen:* Erneut fiel ein ähnliches Bild wie in der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein nach sechzehn Wochen in zwei der drei Präparate auf. Im dritten Präparat konnte kein Unterschied mehr zwischen Transplantat und Transplantatlager festgestellt werden. Das Transplantat war komplett inkorporiert.

### **3.4.3. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Periostexzision (SF+Periostexzision):**

*a) Einheilzeit nach 4 Wochen:* Auch in dieser Gruppe war zu diesem Zeitpunkt eine ähnliche histologische Abbildung der Präparate wie in der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein zu sehen. Allerdings war bei dieser Konditionierung des Transplantatlagers keine Knochenneubildung auf der Transplantatkortikalisoberfläche ausgebildet worden. Hier lagen sogar Resorptionsvorgänge auf der Periostseite der Transplantatkortikalis vor. Zusätzlich fiel eine deutliche Erweiterung der Markräume und eine Trabekelrarifizierung auf (s. Abb. 33). Das zwischen Transplantat und Transplantatlager liegende Interface war durchgehend vorhanden. Auch in dieser Gruppe waren trabekelsäumende BLC zu sehen. Wenige Gefäße konnten ausgezählt werden. Auch hier wurde eine beginnende Kallusbildung lateral beobachtet. Im Transplantatzentrum konnte wieder eine höhere Dichte an Trabekeln als subkortikal registriert werden. Hier waren die erweiterten Markräume bindegewebig durchsetzt.

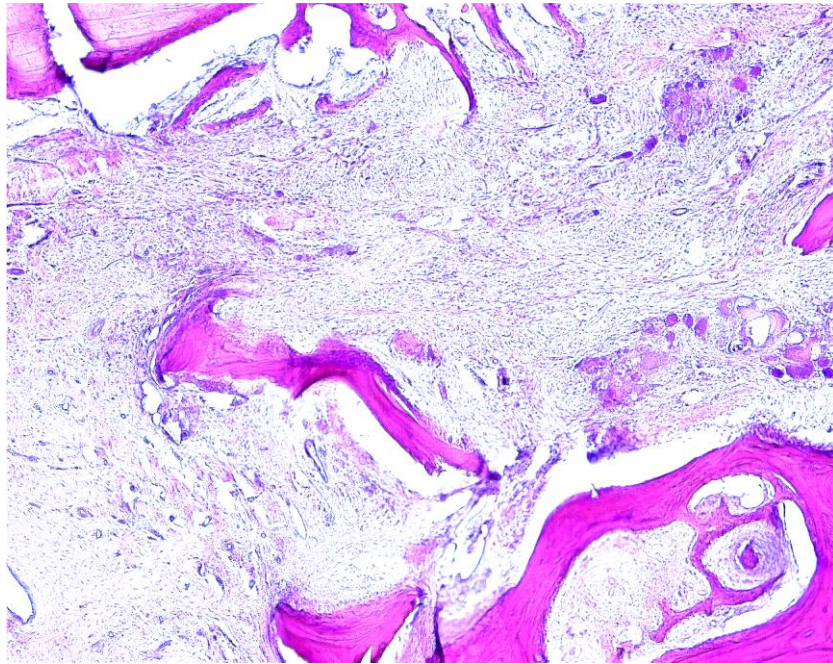




**Abbildung 33: Schraubenfixation des kortikospongiosen Transplantates (T) mit Exzision des umgebenden Periostes nach 4 Wochen Einheilzeit. (A) Erweiterung der trabekulären Räume (Vergrößerung 50 x, H-E), (B) Bindegewebe (BG) auf der Kortikalis des Transplantates (T), TL= Transplantatlager (Vergrößerung 15 x, H-E)**

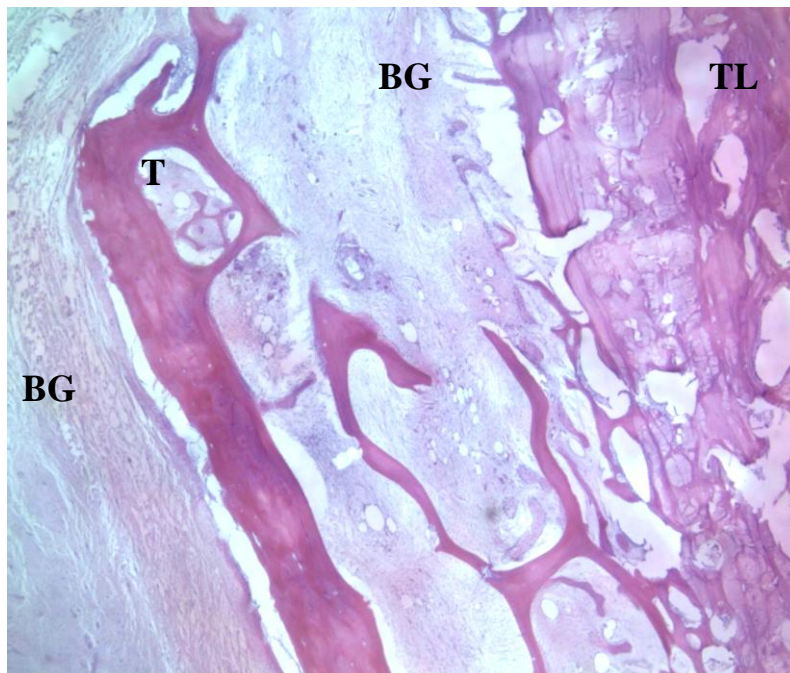
*b) Einheilzeit nach 8 Wochen:* In dieser Gruppe lagen nach acht Wochen ausgedehnte Resorptionsherde an der periostalen Oberfläche des Transplantates vor. Des weiteren erschien das Präparat stark bindegewebig durchsetzt. Ein Präparat präsentierte sich dreigeteilt: es zeigte eine gute trabekuläre Struktur cranial, welches mit Knochenmark durchsetzt war, darunter bestand eine starke Bindegewebsdurchflechtung des Transplantates. In der Interfaceregion zwischen Transplantat und – lager präsentierte das Präparat wieder eine gute Ausbildung von Knochenbrücken. Ein zweites Präparat erschien durch eine im Transplantat stattfindenden Entzündungsreaktion ausgehöhlt. Außerhalb des Transplantates zeigte sich eine überschießende Knochenneubildung.

*c) Einheilzeit nach 12 Wochen:* Zwölf Wochen post OP war die Periostexzisionsgruppe durch einen deutlichen Volumenverlust gekennzeichnet. Markraumerweiterungen in der Trabekelstruktur waren durch Bindegewebe aufgefüllt (s. Abb. 34). Das Interface erschien reduziert, von lateral bildete sich Kallusgewebe. In einem Präparat war das Kallusgewebe komplett inkorporiert, es war in dieser Region nicht mehr vom Transplantatlager zu unterscheiden. Je weiter cranial man das Präparat betrachtete, desto mehr nahm die Trabekeldichte ab und desto mehr Bindegewebe füllte das Transplantat aus. Teilweise war jedoch die Kortikalis noch gut erhalten.



**Abbildung 34: Schraubenfixation des kortikospongiösen Transplantates (T) mit Exzision des umgebenden Periostes nach 12 Wochen Einheilzeit. Infiltration Transplantatspongiosa mit Bindegewebe (BG) mit fortschreitender Resorption des Transplantates. (Vergrößerung 50 x, H-E).**

*d) Einheilzeit nach 16 Wochen:* Diese drei Präparate unterschieden sich deutlich voneinander. Eines war sehr ähnlich den Proben aus der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein nach sechzehn Wochen. Bei einem weiteren Präparat lag eine komplette Resorption des Transplantates vor und es war mit dichtem Bindegewebe überzogen. Beim dritten Präparat war die Kortikalisregion noch deutlich von der Spongiosa zu unterscheiden, welche sich jedoch als zum größten Teil bindegewebig ersetzt präsentierte (s. Abb. 35). Das Kallusgewebe war hier, wie auch schon in der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein, vollständig in das Transplantatlager inkorporiert und ließ sich vom ortsständigen Knochen nicht mehr unterscheiden. Die Kortikalis des Transplantates war in einem Fall komplett resorbiert und durch vaskularisiertes lockeres Bindegewebe ersetzt. Insgesamt erschienen die Präparate deutlich volumenreduziert.

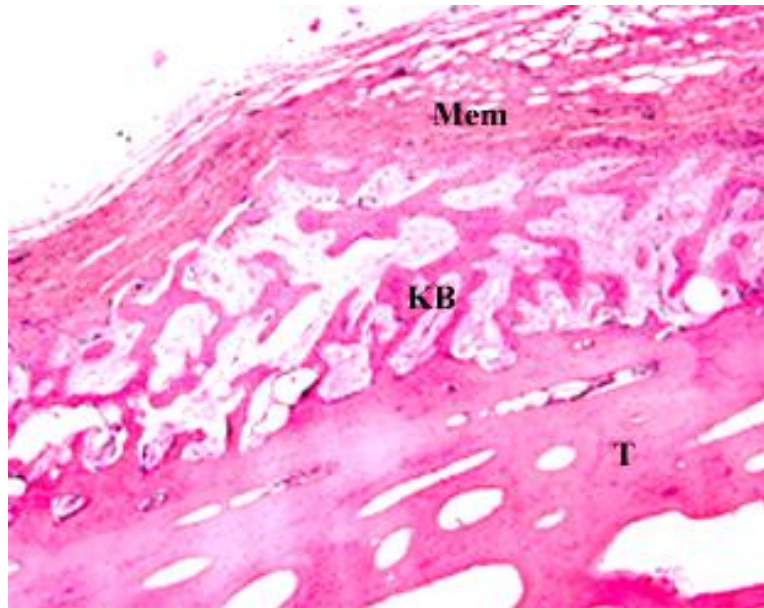


**Abbildung 35: Schraubenfixation des kortikospongiösen Transplantates (T) mit Exzision des umgebenden Periostes nach 16 Wochen Einheilzeit. Infiltration Transplantatspongiosa mit Bindegewebe (BG) mit fortschreitender Resorption des Transplantates. (Vergrößerung 20 x, H-E)**

#### **3.4.4. Transplantation des kortikospongiösen Spans und Auflagerung der resorbierbaren Membran (SF+Membran)**

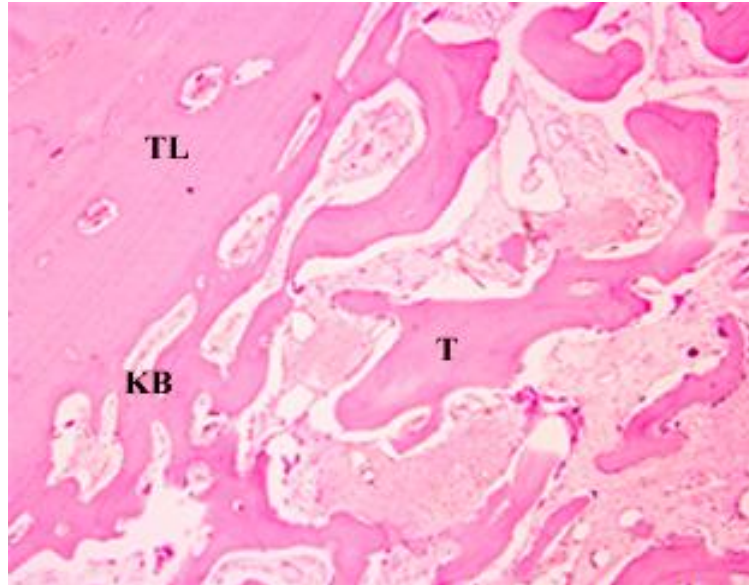
*a) Einheilzeit nach 4 Wochen:* In dieser Gruppe konnte erneut eine deutliche Ähnlichkeit mit der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein beobachtet werden, jedoch wurde hier eine höhere Anzahl an neu gebildeten Knochenbälkchen unterhalb der Kollagenmembran auf der Transplantatkortikalisoberfläche ausgebildet (s. Abb. 36 und Abb. 24). Zu diesem Zeitpunkt lag ein noch wenig ausgeprägtes Interface zwischen Transplantat und –lager vor, die Markräume erschienen weit, jedoch mit Fett- und Knochenmark gefüllt. Um die Trabekel (vor allem die neu gebildeten unterhalb der resorbierbaren Membran) zeigten sich viele BLC.





**Abbildung 36: Schraubenfixation des kortikospongiösen Transplantates (T) mit Auflagerung einer resorbierbaren Membran (Mem) auf das Transplantat nach 4 Wochen Einheilzeit. Neu ausgebildete Knochenbälkchen (KB) innerhalb des Raumes, der durch die Auflagerung der Membran (Mem) geschaffen wurde. (Vergrößerung 50 x, H-E)**

*b) Einheilzeit nach 8 Wochen:* Bei zwei von drei Präparaten war das Transplantat komplett durch kompakten Knochen ersetzt, die Trabekel erschienen verdickt und mit reichlich BLC umsäumt, in den Markräumen fanden sich Fettzellen. Unterhalb der Kollagenmembran zeigten sich erneut neu ausgebildete Knochenbälkchen. Die Trabekeldichte nahm zum Interface zwischen Transplantat und – lager hin zu, es lag keine Trabekelrarifizierung in dieser Gruppe vor (s. Abb 37). Ein Präparat, welches eine dislozierte Membran aufwies, zeigte deutliche Resorptionszonen vor allem an den oberen Kortikalisbereichen des Transplantates. Es wurde bindegewebig durchsetzt. Die resorbierbare Membran erschien protektiv in Hinblick auf Volumenverlust und Bindegewebseinwanderung zu wirken.

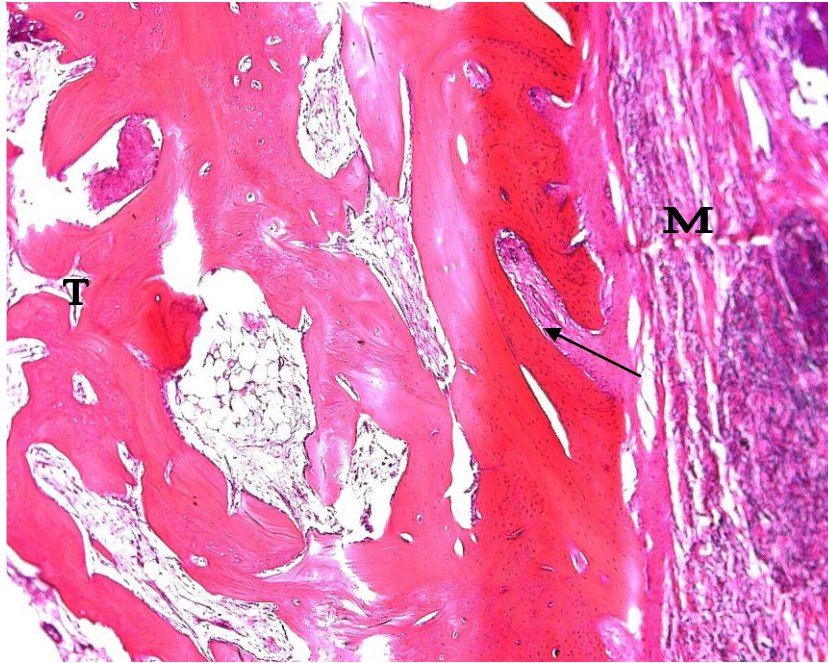


**Abbildung 37:** Schraubenfixation des kortikospongösen Transplantates (T) mit Auflagerung einer resorbierbaren Membran auf das Transplantat nach 8 Wochen Einheilzeit. Beachte die neu ausgebildeten Knochenbälkchen (KB/Interfaces) zwischen Transplantatlager (TL) und Transplantat (T)

*c) Einheilzeit nach 12 Wochen:* Ein Präparat, welches eine intakte Membran aufwies, erschien mit kompaktem Knochen und dichtem Trabekelwerk gut erhalten, es erschien komplett inkorporiert und war in der Interfaceregion nicht mehr vom Transplantatlager zu unterscheiden. Bei zwei weiteren Präparaten war es zu einem Membranverlust gekommen. Auch in dieser Gruppe kam es zu einer Einwanderung des kompakten Kallus von lateral. Das Interface präsentierte sich in allen drei Präparaten als gut ausgebildet.

*d) Einheilzeit nach 16 Wochen:* Nach diesem Zeitraum waren zwei von drei Transplantaten komplett inkorporiert und nicht mehr von der Empfängerregion zu unterscheiden. Jedoch bestand in diesen Fällen ein zunehmender Volumenverlust wie in der Gruppe mit dem kortikospongösen Span allein.

(s.Abb.38)

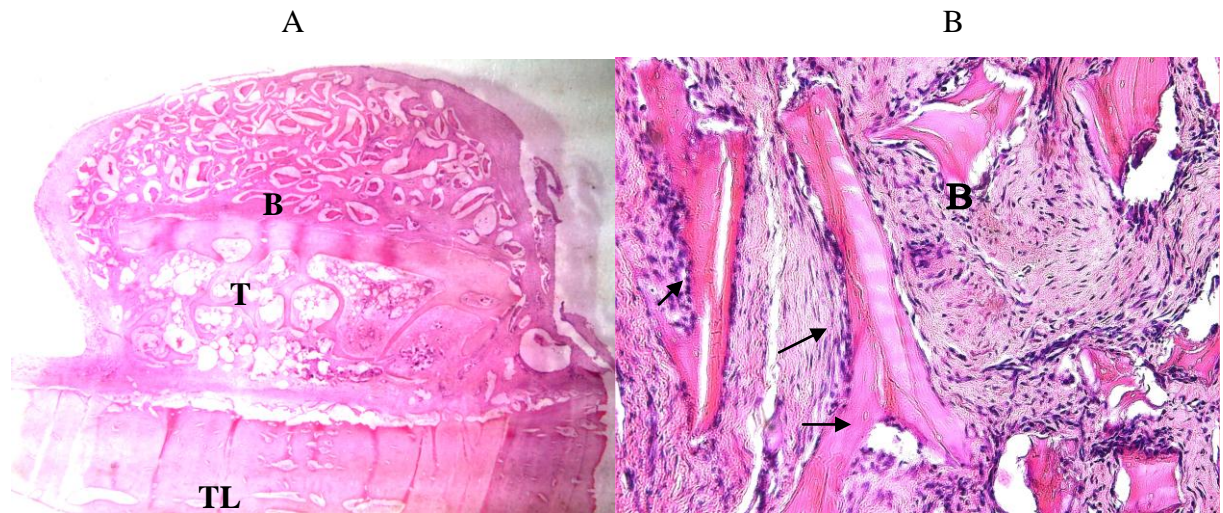


**Abbildung 38:** Schraubenfixation des kortikospongiösen Transplantates (T) mit Auflagerung einer resorbierbaren Membran (M) auf das Transplantat nach 16 Wochen Einheilzeit. Einwachsen von Membranmaterial (schwarzer Pfeil), keine Resorptionslakunen. (Vergrößerung 100 x, H-E).

#### 3.4.5. Transplantation des kortikospongiösen Spans mit Auflagerung von BioOss<sup>®</sup> und der resorbierbaren Membran (SF+BioOss<sup>®</sup>+Membran):

a) *Einheilzeit nach 4 Wochen:* Die Spongiosa des Transplantates bestand aus dünnen Trabekeln, die von Osteoblasten gesäumt und durch erweiterte Markräume, lockeres Bindegewebe und wenige Gefäßen gekennzeichnet waren. Die Transplantatkortikalis der Präparate, die von BioOss<sup>®</sup>-Partikeln umgeben war, fiel durch Zellreichtum auf. Die BioOss<sup>®</sup>-Partikel waren von Resorptionslakunen umgeben. Eine Höhenminderung konnte nicht beobachtet werden. Aus der Transplantatkortikalis sprossen Knochenbälkchen in das umliegende Gewebe ein. Eine Ausbildung von Knochenbrücken als Interface konnte noch nicht beobachtet werden. Die Präparate hatten klinisch einen guten, stabilen und kompakten Gesamtaspekt (s. Abb. 39).



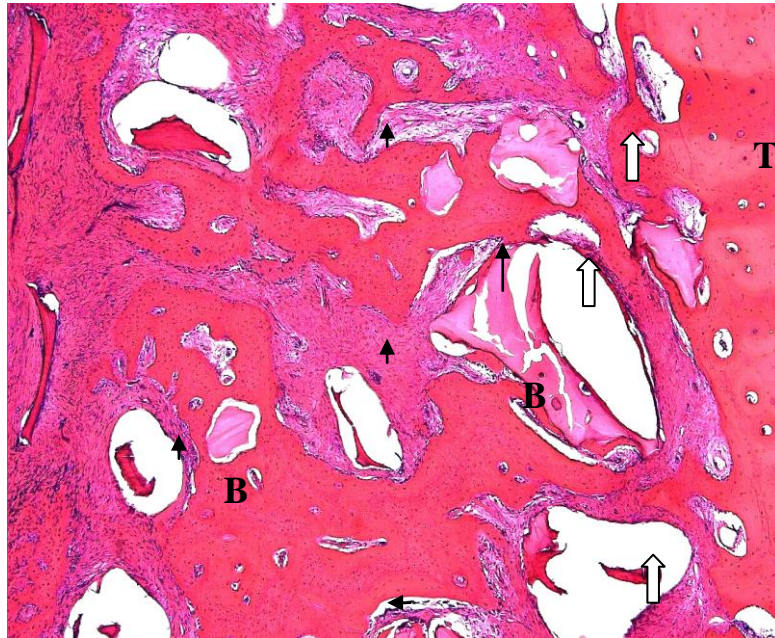


**Abbildung 39: Schraubenfixation des kortikospongiosen Transplantates (T) mit Auflagerung von Bio-Oss® (B) und einer resorbierbaren Membran auf das Transplantat nach 4 Wochen Einheilzeit. (A) Übersicht, TL= Transplantatlager (Vergrößerung 10 x, H-E), (B) BLC (Pfeile) an der Oberfläche der Bio-Oss®-Partikel (B), (Vergrößerung 200 x, H-E)**

*b) Einheilzeit nach 8 Wochen:* In einem der drei Präparate konnte eine deutliche Entzündungsreaktion beobachtet werden, die mit einer teilweisen Resorption der Transplantatkortikalis einherging. Die Transplantatmitte war komplett bindegewebig durchbaut, die Resttrabekelstruktur jedoch in guter knöcherner Verbindung mit dem Transplantatlager. In den Knochenneubildungszonen am Rand des Transplantates (Kallus) waren BLC zu sehen, im Kallusgewebe waren knöchern integrierte BioOss® Partikel zu finden.

*c) Einheilzeit nach 12 Wochen:* In dieser Gruppe war eine Zunahme der Trabekeldicke zu beobachten. Das Interface zwischen Transplantat und – lager war viel deutlicher ausgebildet, cranial der Transplantatkortikalis waren BioOss®-Partikel in den neu gebildeten Knochen integriert (s. Abb. 40). BLC waren präsent, innerhalb des Transplantates fiel jedoch erneut eine Trabekelrarifizierung mit bindegewebiger Durchsetzung auf. In einem Präparat mit intakter resorbierbarer Kollagenmembran war das Kallusgewebe nicht mehr vom Transplantatlager zu unterscheiden. Die Knochenverbindung war deutlich ausgeprägt, der kompakte Kallusknochen war

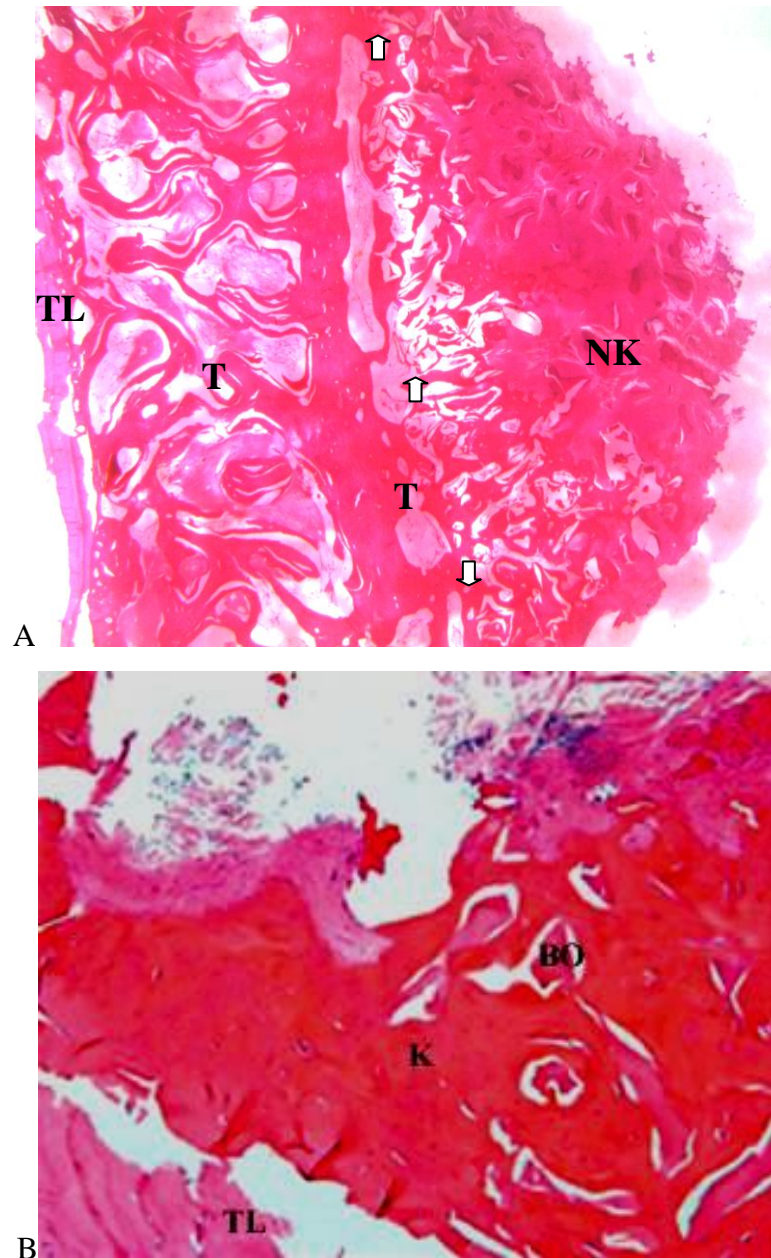
ebenfalls deutlich sichtbar, das gesamte Präparat hinterließ einen kompakten, nicht volumenreduzierten Eindruck.



**Abbildung 40:** Schraubenfixation des kortikospongiösen Transplantates mit Auflagerung von Bio-Oss<sup>®</sup> (B) und einer resorbierbaren Membran auf das Transplantat nach 12 Wochen Einheilzeit. Neuer trabekulärer Knochen im Bio-Oss<sup>®</sup>-Kompartiment (B) auf Transplantat (T) (schwarze Pfeile) und Knochenbrücken zum Transplantat (weiße Pfeile). (Vergrößerung 50 x, H-E)

*d) Einheilzeit nach 16:* Zu diesem Zeitpunkt war ein ausgereifter kompakter knöcherner Aspekt der Präparate vorherrschend, eine Volumenminderung war nicht sichtbar, der Kallus bestand aus reifem lamellärem Knochen, das Interface bestand ebenfalls aus reif erscheinendem lamellärem Knochen (s. Abb 41/A). In das BioOss<sup>®</sup>-Depot sprossen dicke Trabekel, ausgehend von der Transplantatkortikalis, ein (s. Abb. 41/B). Es waren reichlich BLC zu beobachten, die Markräume waren mit Fettmark gefüllt. In einem Präparat war die resorbierbare Membran mitsamt der BioOss<sup>®</sup>-Haube disloziert und es kam, wie in der Gruppe mit dem kortikospongiösen Span allein, zu einer Resorption mit ausgeprägter Volumenminderung des Transplantates.





**Abbildung 41: Schraubenfixation des kortikospongiosen Transplantates mit Auflagerung von Bio-Oss® (BO) und einer resorbierbaren Membran auf das Transplantat nach 16 Wochen Einheilzeit. A: Neu gebildeter Knochen (NK) auf dem Transplantat (T) mit Volumenzunahme, Knochenbrücken zwischen neuem Knochen und Transplantat (weiße Pfeile) (Vergrößerung 10 x, H-E), B: Neu gebildeter Knochen (K) um die Bio-Oss® - Partikel (BO), (Vergrößerung 50x, H-E),**

Zu diesem Zeitpunkt, nach sechzehn postoperativen Wochen, waren alle Transplantate komplett in das Transplantatlager inkorporiert.

#### 4. **Diskussion**

Autogene Knochentransplantate wurden von Walter 1820 in die rekonstruktive Chirurgie eingeführt<sup>56</sup> und sind bis heute noch der Goldstandard im Bereich der Defektdeckung und bei Augmentationen im mund-kiefer-gesichtschirurgischem Fachbereich. Das autogene Knochentransplantat erfüllt dabei mit seinen osteogenen, osteoinduktiven und osteokonduktiven Eigenschaften alle Bedingungen der Knochenneubildung.

Die Osteogenität steht dabei für die Fähigkeit, in Abwesenheit undifferenzierter Zellen Knochen zu produzieren. Diese Eigenschaft wird nur dem frischen und vitalen autogenen Knochentransplantat zugeschrieben. Die Osteokonduktion ist mit einer Leitschienenfunktion für die einwachsenden Knochenzellen gleichzusetzen, um die Entstehung neuen Knochens zu unterstützen. Die Osteoinduktion beschreibt die Fähigkeit eines Materials, undifferenzierte mesenchymale Stammzellen chemotaktisch anzuziehen und diese lokal zur Proliferation und osteoblastären Differenzierung zu stimulieren.

Zusätzlich zu den bereits erwähnten Eigenschaften bewirkt frischer und vitaler autogener Knochen als Transplantat durch seine angiogene Wirkung eine schnelle Gefäßeinsprossung aus dem umliegenden Gewebe. Dies führt zu einer beschleunigten Revitalisierung des Transplantates, so dass osteogene Zellen aus der Umgebung am lokalen Knochenumbau und Remodeling teilnehmen können<sup>70</sup>. Diese Revaskularisierung des Transplantates trägt ebenfalls entscheidend zu seiner schnellen Inkorporation und damit zu einer stabilen Verbindung zwischen Transplantat und Transplantatlager bei.

Letztlich ist das Überleben des autogenen Knochentransplantates von der Nutrition aus dem knöchernen und bindegewebigen Transplantatlager, zunächst durch Diffusion, dann durch vaskuläre Versorgung abhängig.

Bereits 1969 konnte Burwell anhand eines Rattentiermodells zeigen, dass autogener kortikaler Knochen von mittlerer Größe die optimale Voraussetzung für die Knochenregeneration aufweist<sup>16</sup>. Transplantate einer geringen Größe werden frühzeitig resorbiert, größere Knochentransplantate dagegen nicht ausreichend revaskularisiert. Bei der Verwendung von trabekulärem Knochen mit dem in ihm enthaltenen Knochenmark ist eine zusätzlich unzureichende Stabilität zu berücksichtigen. Die im

trabekulären Knochen enthaltenen Osteoblasten können jedoch die Transplantation überleben und, als positiven Effekt, im Bereich des Transplantatlagers eine Osteogenese induzieren<sup>14</sup>. Beim Einsatz von kortikalem Knochen steht der ausreichenden mechanischen Stabilität ein geringeres osteoinduktives Potential gegenüber<sup>57</sup>.

Grundsätzliches Ziel jeder Knochentransplantation ist die reizlose Einheilung eines mechanisch stabilen und resorptionsresistenten Knochens im Defektareal.

Faktoren, die eine Resorption des Knochentransplantates verringern können sind ein intaktes Transplantatlager und ein intaktes Periost. Ein Transplantat adäquater Größe und dessen stabile Fixierung mittels Osteosynthese im Empfängerbett wirken ebenfalls präventiv einer überschießenden Resorption entgegen<sup>80</sup>. Vorteilhaft ist ferner die zum Transplantatlager ausgerichtete Spongiosa. Bei der Verwendung von spongiösem gegenüber kortikalem Knochen steht einer schnellen Inkorporation und Remodelingrate eine beschleunigte Resorption und höhere Stabilität gegenüber<sup>30</sup>. Ein höherer Spongiosaanteil bei Knochentransplantaten ist mit einer besseren Revaskularisierung verbunden, welche auch für einen schnelleren Abbau verantwortlich sein kann.

Hartesty et al konnten in ihren Untersuchungen eine höhere Kortikalisdicke als Ursache für den langsameren Abbau von membranösem im Vergleich zu enchondralen Knochentransplantaten verantwortlich machen<sup>33</sup>.

Die Volumenkonstanz eines Transplantates hängt letztlich vom Verhältnis zwischen Knochenresorption und Knochenneubildung ab.

So zeigen verschiedene Studien, dass enchondraler Knochen schneller resorbiert wird, als membranöser Knochen<sup>3, 75</sup>. Smith et al. verglichen in einem Kaninchen-Tier-Modell Knochentransplantate vom Schädeldach mit solchen vom Beckenkamm. Der membranöse Knochen vom Schädeldach behielt innerhalb eines Beobachtungszeitraumes von 12 Monaten eine annähernde Volumenkonstanz, während das enchondrale Beckenkammtransplantat 75% seines ursprünglichen Volumens im gleichen Zeitraum eingebüßt hatte. Die unterschiedliche Krafteinleitung in der Spender – und Empfängerregion wurde als Ursache dieser Unterschiede gesehen. Während membranöser Knochen von der Calvaria normalerweise keinem mechanischen Stress ausgesetzt wird und dabei seine Form und Struktur beibehält, atrophiert enchondraler Knochen vom Beckenkamm, sobald die mechanische Belastung fehlt.

Das weitgehende Fehlen von mechanischem Stress am lateralen Unterkiefer der Schafe kann somit eine Ursache für die in der vorliegenden Studie beobachtete forcierte Resorption der Beckenkammtransplantate darstellen <sup>75</sup>, da enchondraler Knochen auf eine mechanisch nicht beanspruchte buccale Unterkieferregion transplantiert wurde. In der klinischen Praxis wird deshalb häufig die Möglichkeit einer lokalen Transplantation, z.B. aus dem Angulus mandibularis durchgeführt, da hier Spender- und Empfängerregion gleichen embryonalen Ursprungs mit vergleichbarer Knochenarchitektur und Volumenkonstanz sind.

Die in der vorliegenden Studie angewandte quantitative Computertomographie (QCT) ist ein etabliertes Verfahren zur Messung der Knochendichte im axialen Skelett. Ihre klinische Einführung fand die QCT Ende der 70er Jahre zur Osteodensitometrie der Wirbelsäule. Sie bietet die Möglichkeit, der separaten und volumetrischen Dichtebestimmung von trabekulären und kortikalen Knochen anhand der Konzentration von Calciumhydroxylapatit (CaHA in  $\text{mg}/\text{cm}^3$ ) <sup>62</sup>.

Da die Messung weitestgehend unbeeinflusst ist von lokalem Bindegewebe und dem Zustand des Knochenmarkes, vor allem in Bezug auf seine Fettinvolution, kann dieses Verfahren als das genaueste zur Evaluation der Knochendichte angesehen werden <sup>27</sup>. In der vorliegenden Studie war es allerdings notwendig, die Regions of Interest (ROI) manuell zu markieren, was eine Ungenauigkeit bezüglich der Reproduzierbarkeit und eine subjektive Beeinflussung mit sich bringt. Zusätzlich war auch die Größe der festgelegten ROIs nicht standardisiert, sondern variierte in Abhängigkeit zu der Größe des auszumessenden Transplantates. Die ROIs wurden so gesetzt, dass nahezu alle Präparate vier auszuwertende ROIs beinhalteten. Bei massivem Volumenverlust oder noch nicht ausgebildetem Kallusgewebe musste bei einigen Präparaten auf das Platzieren von allen ROIs verzichtet werden.

Letztlich kann mit der QCT eine quantitative Aussage zur Knochenbeschaffenheit und eine orientierende Aussage zum Volumen des Transplantates erfolgen.

Daher wurden in der vorliegenden Studie für die Auswertung der Proben zusätzlich klinisch-makroskopische und semiquantitativ-histologische Auswertungen vorgenommen. Der klinisch-makroskopische Aspekt konnte mithilfe eines Scores statistisch dargestellt werden. Bezüglich der histologischen Aufbereitung konnte anhand

der HE-Färbung die Gefäßanzahl, Trabekelanzahl, Kontaktregion zwischen Transplantat und –lager, sowie der mikroskopische Aspekt des Transplantates und dessen Inkorporation beurteilt werden.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung bestand im Vergleich verschiedener Unterkieferaugmentationsverfahren mit Beckenkammtransplantaten beim Schaf.

Für unsere tierexperimentelle Untersuchung wurden ausgewachsene weibliche Merinoschafe ausgewählt. Diese eignen sich aufgrund der mit dem Menschen vergleichbaren Größe und Knochenneubildungsrate besonders zur Untersuchung der von uns formulierten Hypothesen. Versuchstechnische Vorteile ergeben sich daraus, dass Schafe relativ leicht und anspruchslos in Herden zu halten sind<sup>38</sup>.

Die Fragestellung der vorliegenden Studie wurde auf die Knochendichte (BMD) und das Einheilverhalten des Knochentransplantates in das Transplantatlager fokussiert. Ebenfalls beurteilt wurde der Volumenerhalt des Transplantates, was in der Klinik Faktor für eine nachfolgende erfolgreiche Implantation darstellt.

Für die Beckenkammaugmentation am Schafunterkiefer wurden 6 verschiedene Konditionierungen durchgeführt. Es erfolgte die Verwendung von kortikospongiösen Knochentransplantaten alleine, der zusätzliche Einsatz einer biodegradierbaren Membran, im Sinne der Guided Bone Regeneration (GBR), sowie die zusätzliche Verwendung des KEM BioOss<sup>®</sup>. Diese drei Konditionierungen wurden auf ein unverändertes Transplantatlager aufgebracht. In einer weiteren Fragestellung erfolgte die Perforation des Transplantatlagers. Weitere Konditionierungen sahen die Entfernung des Periosts vor, sowie den Einsatz einer trennenden Silikonbarriere zwischen Knochentransplantat und Transplantatlager.

Die isolierte Transplantation des kortikospongiösen Knochenspanns hat sich in der vorliegenden Studie als gute Methode zur Knochenvermehrung im Unterkiefer herausgestellt. Es kam bei dieser Augmentationsmethode zu keinerlei Infektionen, wobei alle Transplantate vollständig in die Empfängerregion inkorporiert waren. Während des Beobachtungszeitraumes von 16 Wochen durchlief der transplantierte kortikospongiöse Beckenkammspann die Prozesse der Einheilung und des Remodelings.

Nach 16 Wochen resultierten die Umbauvorgänge allerdings in einer fast vollständigen Resorption des Transplantates. Im Verlauf der gesamten Einheilzeit kam es zu einer progredienten Anzahl an Knochenbrücken zwischen Transplantat und Empfängerbett, sowie dem kontinuierlichen Anstieg der Trabekelanzahl bei kontinuierlichem Volumenverlust.

In der QCT-Dichtemessung nahm im Verlauf der 16 Wochen die Knochendichte der Transplantatspongiosa zu. Das Kallusgewebe zeigte zunächst nach vier Wochen Dichtewerte von spongiösem, nach 16 Wochen von kortikalem Knochen. Dieses weist auf Remodelingvorgänge im eingeheliten Transplantat hin und auf eine komplette Inkorporation des Transplantates in das Transplantatlager. Eine Beurteilung der Volumenänderung war bei fehlender Ausgangsmessung und individuell gelegten Messschichten nicht möglich.

Im weiteren Verlauf war in der klinisch-makroskopischen und semiquantitativen-histologischen Auswertung ein fortschreitender Höhen- und Volumenverlust im Transplantat zu beobachten, welcher zum Schluss des 16-wöchigen Beobachtungszeitraumes in einem totalen Transplantatverlust mit freiliegenden Osteosyntheseschrauben endet.

Ähnliche Ergebnisse werden auch in anderen Studien vertreten. So berichten Fonseca et al. und Donos et al. ebenfalls, dass der kortikospongiöse Span im Verlauf von 16 Wochen an Höhe und Volumen deutlich abnimmt, welches in einer vollständigen Atrophie des Transplantates resultiert<sup>24,28</sup>. Auch Arujo et al. kommen zu diesen Ergebnissen, dass kortikospongiöser Knochen im Verlauf der Einheilzeit deutlichen Resorptionsvorgängen unterlegen ist<sup>6</sup>.

Wie schon bereits diskutiert, postulierten Smith et al. schon 1974, dass mechanischer Stress, welcher auf das Transplantat ausgeübt wird, ein Schlüsselfaktor für die Volumenerhaltung des Transplantates ist<sup>75</sup>. In der vorliegenden Studie wird der mechanische Stress, welcher auf das Transplantat einwirkt, dadurch ausgeschlossen, dass die Knochentransplantate auf die buccale Seite des Unterkiefers transplantiert wurden. Die mechanische Belastung fehlte demnach nahezu vollständig, wodurch eine Inaktivitätsatrophie des Transplantatknochens mit einkalkuliert werden muss.

Zusammenfassend stellt das alleinige Aufbringen eines kortikospongiösen Spans ein gutes Augmentationsverfahren dar. Die Einbringung eines Zahnimplantates sollte

jedoch zeitnah erfolgen, da es im nicht belasteten Transplantat nach dieser Einheilzeit zur vermehrten Atrophie kommt. Im Tierversuch war der Zeitraum von 8 Wochen nach der Augmentation am erfolgreichsten. Diese Zeitangabe kann man jedoch nicht vollständig auf den Menschen übertragen, da der Knochenstoffwechsel beim Schaf sich von dem des Menschen unterscheidet (vgl. Kapitel 2.1)

Zusätzlich zum Aufbringen des kortikospongiösen Knochenspans wurde in einer Gruppe die Kortikalis des Transplantatlagers perforiert, so dass der Spongiosaraum eröffnet wurde. Dieser Konditionierung liegt die Idee zu Grunde, das Knochenmark zu exponieren und somit eine schnellere Revaskularisation des Transplantates zu gewährleisten<sup>22</sup>. Dieser von de Carvalho postulierte Vorteil konnte in unseren Untersuchungen nicht bestätigt werden.

Ähnlich wie beim nicht perforiertem Transplantatlager wurden Knochenbrücken nach 16 Wochen beobachtet. Jedoch zeigte sich, dass es zu diesem Zeitpunkt zu einer noch stärkeren Atrophie des Transplantates gekommen war. Eine vollständige Inkorporation des Transplantates lag hier zwar ebenfalls vor, jedoch einhergehend mit einer fast vollständigen Transplantatatrophy. Dies wurde auch durch die Abnahme der Gefäßanzahl pro Gesichtsfeld und die geringere Trabekelanzahl aufgezeigt. Die klinische Auswertung der QCT-Bilder unterstützt die Ergebnisse der histologischen Resultate. Bezüglich der Knochendichtemessungen konnte kein deutlicher Unterschied der Perforation des Transplantatlagers zu einem nicht perforierten Lager herausgearbeitet werden.

Begründen lässt sich die starke Atrophie des Transplantates durch eine perforationsbedingte schnellere Revaskularisation, gefolgt von einer erhöhten Osteoklastenaktivität und somit rascheren Resorption. Dieses wurde bereits von Fonseca et al. berichtet<sup>28</sup>. Negativ muss eine lokal vermehrte Blutungsneigung infolge der Perforation des Transplantatlagers mit einkalkuliert werden. In der vorliegenden Studie kam es in der 4-Wochen-Gruppe zu einer solchen Einblutung. Es konnte eine Separation von Transplantat und Transplantatlager auf Grund dieser massiven Einblutung zwischen Transplantat und Transplantatlager beobachtet werden, gefolgt von einer vermehrten Ausbildung von Bindegewebe. Eine histologische Aufarbeitung

des Transplantates war infolge unmöglich. Zusätzlich muss zur erhöhten Blutungsgefahr aufgrund einer Dekortikation auch eine erhöhte Infektionsgefahr mit einkalkuliert werden, da ein Hämatom einen guten Nährboden für eine bakterielle Infektion bietet.

Im Jahr 2000 beschrieben Lundgren et al.<sup>48</sup> den Einfluss der Dekortikation des Transplantatlagers auf den Erfolg der Transplantation beim Kaninchenschädel. Sie kamen zu der Schlussfolgerung, dass die Perforation der Kortikalis keinen wesentlichen Vorteil gegenüber dem unveränderten Transplantatlager aufwies. De Carvalho<sup>22</sup> hingegen konnte einen deutlichen Vorteil der Dekortikation des Empfängerbettes im Sinne einer besseren Transplantatintegration nachweisen.

Khan et al.<sup>41</sup> wiesen auf das große Potential des kortikospongiösen Spans bei der Knochen transplantation hin. Die von Osteoblasten gesäumten Trabekel mit ihrer großen Oberfläche seien unabdingbar, wenn neue Knochenformationen erwünscht sind. Dies rechtfertigt ihrer Meinung nach die Dekortikation des Transplantatlagers, um das Knochenmark und den intramedullären Raum zu exponieren. Sie ermöglicht den Knochenmarkselementen, die Kontaktregion (Interface) zwischen Transplantat und Transplantatlager mit osteoinduktiven Proteinen, potenten osteogenetischen Zellen und Blut zu versorgen.

Ein Vorteil des Anfrischens des Transplantatlagers konnte in der vorliegenden Studie dagegen nicht nachvollzogen werden. Es wurde zwar eine dem unverändertem Transplantatlager vergleichbare Einheilung nachgewiesen, allerdings mit einer beschleunigten Atrophie und der Gefahr von Hämorrhagien mit möglicher Infektionsgefahr und Transplantatverlust.

In einer Gruppe erfolgte die operative Präparation des Transplantatlagers unter penibler Entfernung des Periostes.

Ziel dieses Verfahrens war es, die osteogenetische Potenz des Periosts, die erstmalig von Duhamel 1742 beschrieben worden war, zu unterbinden. Diese These wurde auch weiterhin während des 20. Jahrhunderts unter anderen von Viano 1950 und Thompson und Casson 1970 unterstützt<sup>78</sup>.



Das Überleben des Transplantates mit einer frühen Vaskularisierung und Osteogenese wird durch das Periost erleichtert, wie Burstein et al. als Hypothese 1994 postulierten. Sie wiesen in ihrer Studie die Leitschienenfunktion des Periostes nach. Die Ausbildung vaskulärer Verbindungen vom Transplantatlager zum Periost gewährleisten eine nutritive Versorgung des Transplantates <sup>15</sup>.

Ein osteogentischer Effekt des Periostes wurde in unserer Studie bereits 4 Wochen nach Aufbringen des kortikospongösen Knochenspanns beobachtet. Es kam zur Ausbildung von Geflechtrabekula unterhalb des Periostes über der Transplantatkortikalis. Dieser Effekt fehlte bei Periostentfernung über dem Transplantat vollständig.

Bezüglich der Knochendichte verhielt sich diese Gruppe nicht signifikant unterschiedlich zu den Gruppen mit dem kortikospongösem Span und der zusätzlichen Perforation des Empfängerbettes. Die Dichte der Transplantatspongiosa sowie die Kallusdichte nahmen im Verlauf der 16 Wochen insgesamt kontinuierlich ab. Nach 12 und 16 Wochen Einheilzeit war die Kontaktregion zwischen Transplantat und –lager im Vergleich zu den zuvor genannten Gruppen deutlich geringer ausgeprägt. Ebenfalls kam es in diesem Zeitraum zu einer fast vollständigen Atrophie des Transplantates, vergleichbar mit den bereits genannten Verfahren und der Gruppe mit einer Barriermembran zwischen Spender- und Empfängerregion.

Die Bindegewebsinfiltration, als Folge der Periostentfernung, könnte demnach ein Hinweis auf die wichtige Barrierefunktion des Periostes sein. Es verhindert die Infiltration des Transplantates mit non-osteogenetischen Zellen. Nur in den Proben mit exzidiertem Periost konnte ein fortgeschrittener oder kompletter Transplantatverlust durch Bindegewebsinfiltration beobachtet werden.

Ein besserer Volumenerhalt der Gruppen, in denen das Periost während der Transplantation erhalten wurde, ist auf den osteogenetischen Effekt des Periosts und seine Barrierefunktion zurückzuführen. Dieses bestätigen auch die durch Burstein et al. und Murata et al. durchgeführten Untersuchungen <sup>15,54</sup>. Ebenso bestätigen Thompson et al und Knize et al. den positiven Effekt des Periosts auf den Volumenerhalt des Transplantates <sup>42,78</sup>. Schlussfolgernd sollte das Periost bei der Transplantation unbedingt umsichtig bewahrt werden.

Die Arbeitsgruppe Dahlin et al.<sup>20</sup> zeigte erstmalig die Möglichkeit einer Steuerung der Knochenregeneration unter Verwendung von Barrierematerialien. Anhand von experimentellen Untersuchungen an der Kalvaria von Ratten wurde aufgezeigt, dass unter Anwendung von gesteuerter Geweberegeneration (Guided Bone Regeneration / GBR) mit subperiostaler Folienplatzierung im Vergleich zu der Kontrollseite ohne Folienplatzierung ein Knochenzuwachs von 60% innerhalb eines Zeitraumes von 3 Monaten zu erwarten ist. Lundgren et al.<sup>49</sup> konnten im Vergleich zu Augmentationsverfahren ohne Anwendung der GBR an ausgewachsenen Kaninchen ähnliche Ergebnisse erzielen. Hämmerle et al.<sup>32</sup> berichteten, dass eine subperiostale Folie für den kompletten Wundverschluss von Defekten, die eine kritische Größe überschritten haben, an der Kalvaria von Kaninchen ausreichend ist. Erstmals gelang Schenk et al.<sup>68</sup> der histologische Nachweis des knöchernen Heilungsverlaufes unter Membranbarrieren. Seine Studie zeigte, dass die Knochenregeneration in den membranbedeckten Defekten dem spezifischen Muster einer Knochenheilung bzw. einer Knochenentwicklung folgt und der neu gebildete Knochen eine Kaskade verschiedener Reifestadien durchläuft. Nach Buser et al.<sup>17</sup> erfolgt ein Großteil der in der Klinik durchgeführten präimplantologischen oder simultanen augmentativen Osteoplastiken mit der Technik der membrangesteuerten Knochenregeneration (GBR). Auch in unserer Versuchsreihe konnte der Vorteil einer Guided Bone Regeneration (GBR) verdeutlicht werden. So wurde bereits in der nach 4 Wochen durchgeführten histologischen Aufbereitung im Präparat eine deutliche Aussprossung von trabekulärem Knochen aus der Transplantatkortikalis unter die resorbierbare Membran beobachtet. Obwohl auch in der Gruppe des kortikospongiösen Spans allein und in der Perforationsgruppe dieses Phänomen beobachtet wurde, war es unter Einsatz der GBR deutlich ausgeprägter. Dafür ist jedoch die sichere Platzierung und Fixierung einer intakten Membran unabdingbare Voraussetzung. In mehreren Fällen dieser Gruppe zeigte sich bei dislozierter Membran eine bindegewebige Durchsetzung des Präparates, gepaart mit einem deutlichen Volumenverlust zu jedem Beobachtungszeitraum. Diese Beobachtung stimmt mit anderen Studien überein<sup>20,40</sup>. Eine exakte Fixierung der resorbierbaren Membran ist essentiell für den Transplantaterhalt und führte gegebenenfalls sogar zu

einer Volumenzunahme, wie in der 8-Wochen-Gruppe gezeigt werden konnte. Die Dislokation der Membran führte zu einem ähnlichen Ergebnis wie die alleinige Transplantation eines kortikospongiösen Knochenspanns, gleichbedeutend mit zunehmender Atrophie.

In Hinblick auf die Knochendichte in der QCT-Untersuchungsmethode wurden hier keine signifikanten Unterschiede zu den anderen Gruppen erarbeitet.

Bezüglich der semiquantitativen Auswertung in der histologischen Aufbereitung der Proben verhielt sich die Ausbildung der Knochenbrücken zwischen Transplantat und Empfängerlager im Beobachtungszeitraum konstant. Auffällig waren die erhöhte Gefäßanzahl nach 4 Wochen Einheilzeit und die deutlich höhere Trabekelanzahl nach 12 Wochen im Vergleich zu den anderen Gruppen.

Hardwick et al.<sup>34</sup> benutzen in ihren Untersuchungen eine nicht resorbierbare e-PTFE-Folie, die wesentlich stabiler als die von uns genutzte resorbierbare Membran ist. Dieses Vorgehen hätte jedoch den Nachteil, dass eine Zweitoperation zur Entfernung der Folie notwendig gewesen wäre. Zudem wäre die Gefahr einer Infektion deutlich erhöht.

Unbedingte Anforderungen an die Transplantation mit Membranunterstützung für die GBR sind die Prävention einer bakteriellen Infektion, die mechanische Stabilisierung des Transplantates, die ausreichende Stabilität der Membran und damit die Separation osteogenetischer von nicht-osteogenetischen Zellen<sup>23</sup>.

Entsprechend müssen bei der Entscheidung für oder gegen eine Anwendung des Verfahrens der GBR Komplikationen mit in Betracht gezogen werden. Sie beruhen auf einer erhöhten Infektionsrate bei Membranexposition, einer Membrandislokation und einem Membrankollaps.

Eine weitere Augmentationsmethode war die Verwendung von Knochenersatzmaterial (KEM). BioOss<sup>®</sup> ist ein aus bovinem Knochen hergestelltes KEM. Das Einsatzgebiet dieses xenogenen Materials auf mund-, kiefer-, gesichtschirurgischem Fachgebiet liegt sowohl in der Kieferkammaugmentation, als auch in der Sinusbodenelevation<sup>6</sup>.

Verschiedene klinische Studien haben gezeigt, dass BioOss<sup>®</sup> in das Knochengewebe inkorporiert und ein enger Kontakt zwischen Biomaterial und neu gebildetem lamellärem Knochen ausgebildet wird<sup>5,51</sup>. Bei der Inkorporation des KEM soll es seine

Funktion als Füllmaterial behalten. Zur Biodegradierbarkeit von BioOss<sup>®</sup> gibt es allerdings unterschiedliche Berichte. Während einige Autoren bereits nach 7 Monaten eindeutige Resorptionszeichen sahen<sup>11</sup>, berichteten andere Autoren über eine fehlende Resorption<sup>6,69, 73</sup>. Für ein verlängertes physiologisches Remodeling unter Verwendung von BioOss<sup>®</sup>, sprechen auch klinische Erfahrungen von Duda et al.<sup>25</sup>. Nach Liegezeiten von bis zu 30 Monaten konnten sie vereinzelt Osteoklasten an den BioOss<sup>®</sup>-Oberflächen registrieren.

In der vorliegenden Studie konnte über den gesamten 16-wöchigen Beobachtungszeitraum keine Resorptionen an den BioOss<sup>®</sup>-Partikeln beobachtet werden. Die Kombination aus dem kortikospongiösem Span, BioOss<sup>®</sup> und BioGuide<sup>®</sup>-Membran präsentierte sich in unserer Studie als die überzeugendste Unterkieferaugmentationsmethode. Einzig in dieser Gruppe kam es über den gesamten Beobachtungszeitraum zu keinem Volumenverlust des Transplantates.

Bezüglich der Knochendichte in der QCT–Untersuchung fiel eine deutlich erhöhte Kallusdichte im Vergleich zu allen anderen Gruppen auf, die linear im Verlauf der postoperativen Wochen auf die mit Abstand höchsten Werte anstiegen.

BioOss<sup>®</sup> wurde im Hundemodell von Aebi et al 1989 in den medialen Kondylus des Femurs implantiert<sup>2</sup>. Bereits nach 10 Tagen konnte das Einsprießen von Kapillaren und perivaskulären mesenchymalen Zellen beobachtet werden. Eine Entzündungsreaktion wurde nicht beobachtet. Eine lineare Zunahme der Gefäßanzahl konnte auch in den Proben in vorliegender Studie mit BioOss<sup>®</sup>-Auflagerung und Abdeckung durch eine resorbierbare Membran beobachtet werden. Bei allen anderen durch uns untersuchten Verfahren kam es zu einem deutlichen Abfall der Gefäßanzahl im Beobachtungszeitraum.

Zur Sinusbodenelevation in Kieferhöhlen wurde BioOss<sup>®</sup> sowohl experimentell<sup>37,84</sup> als auch in klinischen Untersuchungen<sup>36,74</sup> erfolgreich eingesetzt. Alle Untersuchungen belegen die hohe Osteokonduktivität dieses natürlichen Knochenminerals. In der BioOss<sup>®</sup>-Gruppe lag nach 16 Wochen eine deutliche Vergrößerung des ursprünglichen Transplantatblockes vor, wobei knöcherne Strukturen in das umgebende BioOss<sup>®</sup> eingewachsen waren.

Die guten Versuchsergebnisse sind durch die Eigenschaften von BioOss<sup>®</sup> zu erklären. BioOss<sup>®</sup> hat eine große spezifische Oberfläche und wird aus bovinem Knochen

hergestellt, indem man die organischen Komponenten entfernt, während die typische trabekuläre Struktur und Porosität erhalten bleibt. Das bewirkt eine Stabilisierung des Blutgerinnsels und eine Revaskularisation, sowie eine Mineralstoffversorgung für die Zellmigration. In der Knochendichtemessung der BioOss<sup>®</sup>-Haube durch die QCT-Untersuchung zeigten sich Dichtewerte nahe der Kortikalisdichte. Auch in Bezug auf die Atrophierate zeigten sich in der BioOss<sup>®</sup>-Gruppe die besten Ergebnisse. Lediglich in zwei Fällen (nach 4 und 8 Wochen Einheilzeit) kam es zur Membrandislokation mit einer Ausbreitung des Knochenersatzmaterials und nachfolgender lokaler Entzündungsreaktion.

Die Kombination aus BioOss<sup>®</sup> mit BioGuide<sup>®</sup>-Membran in der Kieferaugmentation wurde bereits früher beschrieben. Die Vorteile dieser Kombination beinhalten einerseits die Vorteile der GBR, nämlich die Prävention vor einsprießendem, schnell wachsendem Bindegewebe in den augmentierten Bereich, als auch den mechanischen Schutz durch Reduktion von Mikrobewegungen der BioOss<sup>®</sup>-Partikel durch die Membran.

Andere Studien beklagen, dass BioOss<sup>®</sup> eine inhibitorische, bzw. reduzierende Wirkung auf die Knochenneubildung besitzt<sup>7,50</sup>. Unsere Studie hingegen zeigte, dass BioOss<sup>®</sup> durch seine Platzhalterfunktion die Knochenneubildung fördert und die Transplantatresorption verhindert.

BioOss<sup>®</sup> gilt als biokompatibel und weist laut Wanschitz et al.<sup>83</sup> keine antigenen Eigenschaften auf oder triggert Entzündungsreaktionen. Dennoch sind Infektionsfälle in Zusammenhang mit dem Einbringen von KEM mit Membranen in unserem Versuch dokumentiert worden. Diese Beobachtung hat klinische Relevanz, da das bovine BioOss<sup>®</sup> als xenogenes Material ein Fremdkörper für den Menschen darstellt. Trotz der Deproteinisierung haben diverse Studien minimale Proteinreste im KEM nachweisen können<sup>72,76</sup>. Diese Proteine können eine immunogene Potenz besitzen. Eine ausgeprägte und prolongierte Immunantwort wäre daher zu befürchten. So zeigten sich in unserer Studie Infektionen in einem der Präparate nach 4 und 8 Wochen.

In unserer Studie konnten keinerlei Resorption der BioOss<sup>®</sup>-Partikel innerhalb von 16 Wochen beobachtet werden. Diese Feststellung geht einher mit der Studie von Zaffe et al., die sogar 19-35 Wochen post transplantationem noch BioOss<sup>®</sup>-Partikel nachweisen konnten<sup>87</sup>. Duda und Pajak konnten sogar 30 Monate nach einer Augmentation mit BioOss<sup>®</sup> Partikel in Knochendefekten nachweisen<sup>25</sup>. Dies steht im kompletten

Gegensatz zu den Ergebnissen einer Studie von Thaller et al., in der eine fast vollständige Resorption von BioOss® -Partikeln 16 Wochen nach erfolgter Transplantation festgestellt wurde<sup>77</sup>.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass sich bei intakter Membran und streng aseptischen Operationskauteleten, diese Konditionierung als tierexperimentell erfolgreichste Methode gezeigt hat. Kritisch ist allerdings die Transplantatinfektion in zwei Fällen zu werten.

Als rein experimentelle Fragestellung diente die Separierung des kortikospongiösen Transplantates durch eine Silikonmembran vom Transplantatlager. In dieser Gruppe wird der Kontakt zwischen Transplantat und -lager aufgehoben, um Effekte des Transplantates auf das Empfängerbett und umgekehrt zu unterbinden.

Die HE-Auswertung konnte durch die fehlende Einheilung des Transplantates nach Entfernung der Mikroschrauben und Entkalkung des Präparates, nicht durchgeführt werden. Durch die Entfernung der Schrauben kam es zu der erwarteten Separation des Transplantates vom Empfängerbett, wodurch eine histologische Aufbereitung und Färbung als Gesamtpräparat unmöglich wurde.

Eine Beurteilung mittels QCT war jedoch möglich. In einigen Proben konnte eine Kalluseinsprießung von lateral beobachtet werden, wobei die Silikonbarriere umgangen wurde. Dies spricht für die Möglichkeit der Inkorporation, auch ohne direkten Kontakt von Transplantat zu Transplantatlager mit einer aktiven Zone der Knochenheilung, die wesentlich größer als das eigentliche Transplantat ausfällt.

Bezüglich der Auswertung der QCT konnte kein deutlicher Unterschied zu den anderen Gruppen, weder in der Dichte der Spongiosa, noch in der Kortikalisdichte, gemessen werden. Nach 4 Wochen konnte noch kein Kallusgewebe ausgewertet werden. Zu den nachfolgenden Zeitpunkten kam es zu einem Einsprießen des Kallus von lateral über die Membran hinweg. Dieser wurde im Folgenden als ROI definiert und gemessen. Trotz der Separierung von Transplantat und Transplantatlager konnte in der QCT-Untersuchung eine sekundäre Heilung des Transplantates über dem lateralen Kallus gezeigt werden, was darauf schließen lässt, dass ein unmittelbarer Kontakt zwischen Transplantat und Transplantatlager für die Einheilung nicht notwendig ist. Man kann daraus schließen, dass die Nutrition durch das Periost und die Diffusibilität der

beteiligten Faktoren ausreichend ist. Dies steht im Gegensatz zu der Aussage von Feifel et al.. Die postulierten, dass ein nicht vaskularisiertes Knochen transplantat vollständig von der Blutversorgung durch das Transplantatlager abhängig ist <sup>27</sup>.

## 5. **Zusammenfassung**

Die autogene Knochentransplantation mittels Beckenkamm zur Unterkieferaugmentation stellt bis heute den Goldstandard dar. Verschiedene Operationsverfahren sind bereits in der klinischen Anwendung. In der vorliegenden Studie wurden verschiedene Konditionierungen des Transplantatlagers einander gegenübergestellt, um die Augmentationsmethode mit der größtmöglichen Volumenerhaltung des Transplantates zu identifizieren.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung bestand im Vergleich verschiedener Unterkieferaugmentationsverfahren mit Beckenkammtransplantaten beim Schaf.

Sechzehn Schafen wurden nach vorheriger Transplantatlagerkonditionierung autogene kortikospongiöse Knochenstücke vom Beckenkamm auf den lateralen Unterkiefer transplantiert.

Insgesamt wurden sechs verschiedene Operationsverfahren miteinander verglichen, indem die aus dem Schafunterkiefer gewonnenen Proben zunächst makroskopisch beurteilt und dann formalinfixiert in der QCT ausgewertet wurden. Zuletzt erfolgte noch die histologische Aufbereitung mittels einer HE-Färbung und mikroskopischen Beurteilung der Proben.

Es zeigt sich, dass die Unterkieferaugmentation mit spongiosseitiger Auflagerung des kortikospongiösen Knochenspanns vom Becken des Schafes allein eine suffiziente Methode darstellt. Der Knochenspan heilt gut ein, die Einheilung geht jedoch mit einer ausgeprägten Volumenminderung des Transplantates einher, so dass 12 Wochen nach der Augmentationsoperation mit einem Transplantatverlust durch atrophische und/oder resorptive Vorgänge zu rechnen ist.

Das Anfrischen des Transplantatlagers durch Perforation der Kortikalis erbringt in unserer Studie keinen Vorteil gegenüber dem nicht perforierten Empfängerbett. Im Gegenteil ist zu bedenken, dass durch raschere Vaskularisation aus den eröffneten Spongiosaräumen eine schnellere Resorption bedingt werden kann. Es wurde eine beschleunigte Atrophie und die Gefahr von Hämorrhagien in der Kontaktregion von Transplantat und Transplantatlager mit nachfolgendem infektiösem Transplantatverlust beobachtet.



Auf den Erhalt des Periosts sollte bei der Transplantation penibel geachtet werden. Wie in der vorliegenden Studie gezeigt, kann das Periost ein vermehrtes Eindringen nicht-osteogener Zellen verhindern und vermeidet dadurch einen bindegewebig bedingten Umbau des Transplantates.

Eine Konditionierung der Transplantation mittels Auflagerung einer resorbierbaren Kollagenmembran zeigt deutliche Vorteile gegenüber einer Transplantation eines kortikospongiösen Spans allein. Eine gesteigerte Knochenneubildung führt zu einem Volumenerhalt des Transplantates. Grundvoraussetzung dafür ist jedoch die intakte und nicht dislozierte Membran.

Bei intakter Membran und darunter zusätzlich eingebrachten BioOss<sup>®</sup>-Partikeln ist der größtmögliche Volumenerhalt des Transplantates in der vorliegenden Studie beobachtet worden. Zu beachten ist jedoch auch eine vermehrte Infektionsanfälligkeit dieses Verfahrens. Eine Anpassung des Transplantatlagers und eine rigide Fixierung des Transplantates ist eine unabdingbare Voraussetzung für eine erfolgreiche Unterkieferaugmentation mittels eines kortikospongiösen Knochenspans bei allen untersuchten Verfahren.

Die in unserer Untersuchung angewandte Methode der QCT -Messung hat sich als gutes Verfahren zur Messung der Knochendichte erwiesen. Spongiöser und kortikaler Knochen konnten ohne Beeinflussung durch bindegewebige Strukturen gut unterschieden werden. Allerdings sollte für eine möglichst gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse sowohl die ROI- Positionierung als auch die ROI-Größe vor Beginn der Messungen standardisiert werden, um eine größtmögliche Reproduzierbarkeit zu erreichen.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Adell R, Lekholm U, Branemark PI, et al.: *Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures*. Swed Dent J Suppl 1985, 28:175-81
2. Aebi M, Regazzoni P, Schwarzenbach O: *Segmental bone grafting. Comparison of different types of graft in dogs*. Int Orthop 1989, 13:101-11
3. Alonso N, Machado de Almeida O, Jorgetti V, et al.: *Cranial versus iliac onlay bone grafts in the facial skeleton: a macroscopic and histomorphometric study*. J Craniofac Surg 1995, 6:113-8; discussion 9
4. Amler MH, LeGeros RZ: *Hard tissue replacement (HTR) polymer as an implant material*. J Biomed Mater Res 1990, 24:1079-89
5. Araujo MG, Carmagnola D, Berglundh T, et al.: *Orthodontic movement in bone defects augmented with Bio-Oss. An experimental study in dogs*. J Clin Periodontol 2001, 28:73-80
6. Araujo MG, Sonohara M, Hayacibara R, et al.: *Lateral ridge augmentation by the use of grafts comprised of autologous bone or a biomaterial. An experiment in the dog*. J Clin Periodontol 2002, 29:1122-31
7. Artzi Z, Kozlovsky A, Nemcovsky CE, et al.: *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, 32:193-9
8. Axhausen W: *[Sources of new bone formation after free bone transplantation.]*. Langenbecks Arch Klin Chir Ver Dtsch Z Chir 1951, 270:439-43
9. Bauer TW, Muschler GF: *Bone graft materials. An overview of the basic science*. Clin Orthop Relat Res 2000:10-27
10. Bauermeister A, Maatz R: *A method of bone maceration; results in animal experiments*. J Bone Joint Surg Am 1957, 39-A:153-66
11. 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, 8:117-24
12. Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T: *Tissue-integrated Protheses, Osseointegration in clinical dentistry*. Chicago, Quintessence, 1985
13. Buchman SR, Ozaki W: *The ultrastructure and resorptive pattern of cancellous onlay bone grafts in the craniofacial skeleton*. Ann Plast Surg 1999, 43:49-56
14. Burchardt H: *The biology of bone graft repair*. Clin Orthop Relat Res 1983:28-42
15. Burstein FD, Ariyan S, Chicarilli Z, et al.: *The effect of periosteal preservation on osteogenesis in a canine rib autograft model: tetracycline fluorescence incident photometry*. J Craniofac Surg 1994, 5:161-71
16. Burwell HN: *Fractures of the femoral shaft in children*. Postgrad Med J 1969, 45:617-21
17. Buser D, Weber HP, Donath K, et al.: *Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs*. J Periodontol 1992, 63:225-35
18. Cawood JI, Howell RA: *A classification of the edentulous jaws*. Int J Oral Maxillofac Surg 1988, 17:232-6
19. Cook SD, Kay JF, Thomas KA, et al.: *Interface mechanics and histology of titanium and hydroxylapatite-coated titanium for dental implant applications*. Int J Oral Maxillofac Implants 1987, 2:15-22

20. Dahlin C, Alberius P, Linde A: *Osteopromotion for cranioplasty. An experimental study in rats using a membrane technique.* J Neurosurg 1991, 74:487-91
21. De Boer H: *Early research on bone transplantation.* Bone Transplantation. Edited by Aebiund M, Regazzoni P. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 1998, pp 7-19
22. de Carvalho PS, Vasconcellos LW, Pi J: *Influence of bed preparation on the incorporation of autogenous bone grafts: a study in dogs.* Int J Oral Maxillofac Implants 2000, 15:565-70
23. Dongieux JW, Block MS, Morris G, et al.: *The effect of different membranes on onlay bone graft success in the dog mandible.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998, 86:145-51
24. Donos N, Kostopoulos L, Karring T: *Augmentation of the mandible with GTR and onlay cortical bone grafting. An experimental study in the rat.* Clin Oral Implants Res 2002, 13:175-84
25. Duda M, Pajak J: *The issue of bioresorption of the Bio-Oss xenogeneic bone substitute in bone defects.* Ann Univ Mariae Curie Sklodowska [Med] 2004, 59:269-77
26. Egermann M, Lill CA, Griesbeck K, et al.: *Effect of BMP-2 gene transfer on bone healing in sheep.* Gene Ther 2006, 13:1290-9
27. Feifel H, Riediger D, Weiske R: *Measurement of mandibular bone density after iliac crest grafting.* Int J Oral Maxillofac Surg 1994, 23:104-9
28. Fonseca RJ, Clark PJ, Burkes EJ, Jr., et al.: *Revascularization and healing of onlay particulate autologous bone grafts in primates.* J Oral Surg 1980, 38:572-7
29. Gerlach UV: *Induktion von Osteoporose beim Schaf - Tierexperimentelles Modell zur Untersuchung der Frakturbehandlung beim osteoporotischen Knochen.* Klink und Poliklinik für Unfallchirurgie. Giessen, Universität Giessen, 2002
30. Goldberg VM, Stevenson S: *Natural history of autografts and allografts.* Clin Orthop Relat Res 1987:7-16
31. Gürtler L: *Übertragbarkeit von Infektionserregern über allogene Knochentransplantate.* Knochenersatzmaterialien und Wachstumsfaktoren. Edited by Schnettler R, Markgraf E. Stuttgart New York, Thieme, G., 1997, pp 8-11
32. Hammerle CH, Schmid J, Lang NP, et al.: *Temporal dynamics of healing in rabbit cranial defects using guided bone regeneration.* J Oral Maxillofac Surg 1995, 53:167-74
33. Hardesty RA, Marsh JL: *Craniofacial onlay bone grafting: a prospective evaluation of graft morphology, orientation, and embryonic origin.* Plast Reconstr Surg 1990, 85:5-14; discussion 5
34. Hardwick R, Hayes BK, Flynn C: *Devices for dentoalveolar regeneration: an up-to-date literature review.* J Periodontol 1995, 66:495-505
35. Heughebaert M, LeGeros RZ, Gineste M, et al.: *Physicochemical characterization of deposits associated with HA ceramics implanted in nonosseous sites.* J Biomed Mater Res 1988, 22:257-68

36. Hurzeler MB, Kirsch A, Ackermann KL, et al.: *Reconstruction of the severely resorbed maxilla with dental implants in the augmented maxillary sinus: a 5-year clinical investigation*. Int J Oral Maxillofac Implants 1996, 11:466-75
37. Hurzeler MB, Quinones CR, Kirsch A, et al.: *Maxillary sinus augmentation using different grafting materials and dental implants in monkeys. Part I. Evaluation of anorganic bovine-derived bone matrix*. Clin Oral Implants Res 1997, 8:476-86
38. Jaskulka R, Ittner G, Birkner T: *[Replacement of the anterior cruciate ligament by cold preserved bone-cruciate ligament-bone allotransplants. An experimental study in the sheep]*. Unfallchirurg 1997, 100:724-36
39. Jaworski ZFG: *Haversian systems and Haversian bone*. Bone. Edited by Hall BK. Boca Raton, FL, CRC Press, 1992, pp 21-45
40. Karring T, Nyman S, Gottlow J, et al.: *Development of the biological concept of guided tissue regeneration--animal and human studies*. Periodontol 2000 1993, 1:26-35
41. Khan SN, Cammisa FP, Jr., Sandhu HS, et al.: *The biology of bone grafting*. J Am Acad Orthop Surg 2005, 13:77-86
42. Knize DM: *The influence of periosteum and calcitonin on onlay bone graft survival. A roentgenographic study*. Plast Reconstr Surg 1974, 53:190-9
43. Kostopoulos L, Karring T: *Guided bone regeneration in mandibular defects in rats using a bioresorbable polymer*. Clin Oral Implants Res 1994, 5:66-74
44. LaTrenta GS, McCarthy JG, Breitbart AS, et al.: *The role of rigid skeletal fixation in bone-graft augmentation of the craniofacial skeleton*. Plast Reconstr Surg 1989, 84:578-88
45. LeGeros RZ: *Calcium phosphate materials in restorative dentistry: a review*. Adv Dent Res 1988, 2:164-80
46. Liebl O: *Knochenregeneration mit rhBMP2 und unterschiedlichen Trägermaterialien-biomechanische, fluoreszenzmorphometrische und radiomorphometrische Untersuchungen im Rattenmodell*. Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie. Würzburg, Julius-Maximilians-Universität, 2004
47. Lin KY, Bartlett SP, Yaremchuk MJ, et al.: *The effect of rigid fixation on the survival of onlay bone grafts: an experimental study*. Plast Reconstr Surg 1990, 86:449-56
48. Lundgren AK, Lundgren D, Hammerle CH, et al.: *Influence of decortication of the donor bone on guided bone augmentation. An experimental study in the rabbit skull bone*. Clin Oral Implants Res 2000, 11:99-106
49. Lundgren AK, Lundgren D, Sennerby L, et al.: *Augmentation of skull bone using a bioresorbable barrier supported by autologous bone grafts. An intra-individual study in the rabbit*. Clin Oral Implants Res 1997, 8:90-5
50. Maiorana C, Beretta M, Salina S, et al.: *Reduction of autogenous bone graft resorption by means of bio-oss coverage: a prospective study*. Int J Periodontics Restorative Dent 2005, 25:19-25
51. Mayfield LJ, Skoglund A, Hising P, et al.: *Evaluation following functional loading of titanium fixtures placed in ridges augmented by deproteinized bone mineral. A human case study*. Clin Oral Implants Res 2001, 12:508-14
52. McMurray GN: *The evaluation of Kiel bone in spinal fusions*. J Bone Joint Surg Br 1982, 64:101-4

53. Michael CG, Barsoum WM: *Comparing ridge resorption with various surgical techniques in immediate dentures*. J Prosthet Dent 1976, 35:142-55
54. Murata M, Huang BZ, Shibata T, et al.: *Bone augmentation by recombinant human BMP-2 and collagen on adult rat parietal bone*. Int J Oral Maxillofac Surg 1999, 28:232-7
55. Nery EB, LeGeros RZ, Lynch KL, et al.: *Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/beta TCP in periodontal osseous defects*. J Periodontol 1992, 63:729-35
56. Neve G: *Femoral head collection for bone graft*. Br J Theatre Nurs 1996, 6:32-3
57. Nystrom E, Legrell PE, Forssell A, et al.: *Combined use of bone grafts and implants in the severely resorbed maxilla. Postoperative evaluation by computed tomography*. Int J Oral Maxillofac Surg 1995, 24:20-5
58. Ollier L: *Trait e experimental et clinique de la regeneration des os et de la production artificielle du tissu osseux*. Paris, V.M.e.Fils, 1867
59. Pastoureau P, Meunier PJ, Delmas PD: *Serum osteocalcin (bone Gla-protein), an index of bone growth in lambs. Comparison with age-related histomorphometric changes*. Bone 1991, 12:143-9
60. Peer LA: *Fate of autogenous human bone grafts*. Br J Plast Surg 1951, 3:233-43
61. Phillips JH, Rahn BA: *Fixation effects on membranous and endochondral onlay bone graft revascularization and bone deposition*. Plast Reconstr Surg 1990, 85:891-7
62. Prevrhal S, Genant HK: *[Quantitative computer tomography]*. Radiologe 1999, 39:194-202
63. Reck R, Wallenfang T, Schindler E, et al.: *[Paranasal sinus reconstruction with bioactive bone cement--a 5-year animal experiment study]*. Hno 1984, 32:413-6
64. Rübsamen-Waigmann H: *Virussicherheit von Blutspendern und Knochenersatzmaterialien und Wachstumsfaktoren*. Edited by Schnettler R, Markgraf E. Stuttgart New York, Thieme, G., 1997, pp 1-7
65. Salama R: *Xenogeneic bone grafting in humans*. Clin Orthop Relat Res 1983:113-21
66. Salama R, Gazit E: *The antigenicity of Kiel bone in the human host*. J Bone Joint Surg Br 1978, 60-B:262-5
67. Sanan A, Haines SJ: *Repairing holes in the head: a history of cranioplasty*. Neurosurgery 1997, 40:588-603
68. Schenk U, Kiefer T, Hubel E, et al.: *In vitro effects of amino-acid-based versus glucose-based continuous ambulatory peritoneal dialysis fluids on peritoneal macrophage function*. Nephron 1994, 68:338-46
69. Schlegel AK: *[Bio-Oss bone replacement material. Long-term results with Bio-Oss bone replacement material]*. Schweiz Monatsschr Zahnmed 1996, 106:141-9
70. Schlegel KA, Fichtner G, Schultze-Mosgau S, et al.: *Histologic findings in sinus augmentation with autogenous bone chips versus a bovine bone substitute*. Int J Oral Maxillofac Implants 2003, 18:53-8
71. Schultz RC: *Reconstruction of facial deformities using silicones and acrylics*. Biomaterials in reconstructive surgery. Edited by Rubin LR, 1983, pp 437-73
72. Schwartz Z, Weesner T, van Dijk S, et al.: *Ability of deproteinized cancellous bovine bone to induce new bone formation*. J Periodontol 2000, 71:1258-69

73. Skoglund A, Hising P, Young C: *A clinical and histologic examination in humans of the osseous response to implanted natural bone mineral*. Int J Oral Maxillofac Implants 1997, 12:194-9
74. Smiler DG, Johnson PW, Lozada JL, et al.: *Sinus lift grafts and endosseous implants. Treatment of the atrophic posterior maxilla*. Dent Clin North Am 1992, 36:151-86; discussion 87-8
75. Smith JD, Abramson M: *Membranous vs endochondrial bone autografts*. Arch Otolaryngol 1974, 99:203-5
76. Taylor JC, Cuff SE, Leger JP, et al.: *In vitro osteoclast resorption of bone substitute biomaterials used for implant site augmentation: a pilot study*. Int J Oral Maxillofac Implants 2002, 17:321-30
77. Thaller SR, Hoyt J, Dart A, et al.: *Repair of experimental calvarial defects with Bio-Oss particles and collagen sponges in a rabbit model*. J Craniofac Surg 1994, 5:242-6
78. Thompson N, Casson JA: *Experimental onlay bone grafts to the jaws. A preliminary study in dogs*. Plast Reconstr Surg 1970, 46:341-9
79. Tomford WW: *Transmission of disease through transplantation of musculoskeletal allografts*. J Bone Joint Surg Am 1995, 77:1742-54
80. Tong L, Buchman SR: *Facial bone grafts: Contemporary science and thought*. J Craniomaxillofac Trauma 2000, 6:31-41; discussion 2
81. Turner AS, Villanueva AR: *Histomorphometry of the iliac crest: 9-11 year old ewes*. Proc Vet Surg 1993, 22:413
82. Urist MR: *Bone: formation by autoinduction*. 1965. Clin Orthop Relat Res 2002:4-10
83. Wanschitz F, Nell A, Patruta S, et al.: *Influence of three currently used bone replacing materials on the in vitro proliferation of human peripheral blood mononuclear cells*. Clin Oral Implants Res 2005, 16:570-4
84. Wetzel AC, Stich H, Caffesse RG: *Bone apposition onto oral implants in the sinus area filled with different grafting materials. A histological study in beagle dogs*. Clin Oral Implants Res 1995, 6:155-63
85. Wolfe MW, Cook SD: *Use of osteoinductive implants in the treatment of bone defects*. Med Prog Technol 1994, 20:155-68
86. Young RW: *Cell proliferation and specialization during endochondral osteogenesis in young rats*. J Cell Biol 1962, 14:357-70
87. Zaffe D, Leghissa GC, Pradelli J, et al.: *Histological study on sinus lift grafting by Fisiograft and Bio-Oss*. J Mater Sci Mater Med 2005, 16:789-93
88. Henkel KO and Gundlach KK (): *Analysis of primary gingivoperiosteoplasty in alveolar cleft repair. Part I: Facial growth*. J Craniomaxillofac Surg 1997, 25(5): 266-9.

## Danksagungen

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. dent. A.C. Kübler, Direktor der Klinik für Mund-, Kiefer und Gesichtschirurgie der Universität Würzburg, gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas dieser Arbeit, sowie die wissenschaftliche und persönliche Betreuung während der Fertigstellung der vorliegenden Arbeit.

Ich danke Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Dr. med. dent. T. Reuther für die sehr gute Betreuung, die ausdauernde Geduld und Beratung während der gesamten Arbeit. Ohne seine Unterstützung wäre diese Arbeit nicht vollbracht worden.

Desweiteren danke ich Frau Dr. A. Niehoff, Institut für Biomechanik und Orthopädie der Deutschen Sporthochschule Köln, für die Anleitung, Betreuung und Geduld während der QCT-Auswertung.

Ich danke Herrn Dr. med. C. Linz für den kontinuierlichen Gedankenaustausch, die produktiven Sitzungen und den technischen Support von der OP- Zeit, bis hin zur Fertigstellung der Arbeit.

Zusätzlich gilt mein Dank dem Institut für Experimentelle Medizin der Universität zu Köln, den tierärztlichen Mitarbeitern und Tierpflegern unter der Leitung von Herrn Prof. Fischer.

Ich danke meinen Eltern für ihre Geduld, ihre Unterstützung und ihr immerwährendes Verständnis.