

Tissue engineering autologer Knochentransplantate

Mögliche Indikationen und klinischer Einsatz in der Implantologie

Ronald Schimming^{1,2,3}, Mark Hoffmann²,
Rainer Schmelzeisen²

¹ Klinik für Kiefer- und Gesichtschirurgie,
Universitäts-Spital Zürich

² Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und
Gesichtschirurgie/Plastische Operationen
Universitätsklinikum Freiburg i. Br.

³ Praxis für Kieferchirurgie und Ästhetische Gesichtschirurgie,
St. Gallen

Schlüsselwörter: Tissue engineering, autologer Knochen,
Implantologie, orale Chirurgie

Korrespondenzadresse:
PD Dr. Dr. Ronald Schimming
St. Leonhardstrasse 78
CH-9000 St. Gallen

Tel. 071/279 29 29, Fax 071/279 29 50
E-Mail: praxis@kiefer-gesichtschirurgie.net

(Texte français voir page 1302)

Einleitung

Die Entwicklung der Biotechnologie und die vorhandenen klinischen Indikationen haben in den letzten Jahren zu einer Intensivierung der Forschungsbemühungen um das Tissue engineering geführt. So wurde in dieser Zeit z.B. die klinische Einführung autologer Haut-, und Mundschleimhautprodukte



Oben: Die autologen, osteogenen Transplantate werden in einem Nährmedium gelagert, das eine Verarbeitung bis zu 48 Stunden nach Verlassen des GMP-Labors gewährleistet.

En haut: Les greffons ostéogènes, autologues, sont conservés dans un milieu nutritionnel, qui permet un traitement jusqu'à 48 heures après qu'ils ont quitté le laboratoire BPF.

Unten: Knochenzylinder aus dem Implantatschacht 016 nach Entnahme mit dem Trepanbohrer.

En bas: Carotte osseuse au niveau de l'implant 016 après trépanation.

Autologe, allogene und alloplastische Materialien zur Knochenrekonstruktion bzw. -augmentation in der oralen Chirurgie haben verschiedene Nachteile, die die Suche nach alternativen, neuen (Bio-)Materialien intensivieren. Während kultivierte Haut bzw. Schleimhaut seit Jahren im klinischen Einsatz etabliert sind, wird die Transplantation Tissue engineerter autologer Knochentransplantate zur Augmentation des seitlichen Oberkieferalveolarfortsatzes bei der Sinusbodenelevation erst über einen kurzen Zeitraum durchgeführt. In der vorliegenden Publikation wird der klinische Einsatz solcher Transplantate vorgestellt und kritisch diskutiert.

Die klinischen und röntgenologischen Untersuchungsergebnisse zeigen, dass sich die hier vorgestellten gezüchteten, autologen Knochentransplantate bisher nicht für zweizeitige Verfahren bei ausgedehnten Alveolarkammatrophien des Oberkiefers eignen. Sie stellen aber eine Alternative zu bisherigen Augmentationsmaterialien beim einzeitigen Sinusliftverfahren mit primärer Stabilität der inserierten enossalen Implantate dar.

ermöglicht, die inzwischen für verschiedene medizinische Indikationen Standard sind (MUHART et al. 1999, WAYMACK et al. 2000, SCHIMMING et al. 2001, LAUER & SCHIMMING 2001, LAUER et al. 2001a, b). Der klinische Einsatz gezüchteter autologer Knochenprodukte befindet sich dagegen noch in seinen Anfangsstadien, sodass bis auf die Vorstellung der grundsätzlichen Methodik durch die Autoren noch keine langfristigen zitierbaren Untersuchungen vorliegen (SCHIMMING et al. 2003, SCHMELZEISEN et al. 2003).

Bisher werden zur Rekonstruktion bzw. zur Augmentation von Knochendefekten im Kieferbereich neben autologen Knochen- transplantaten von extra- oder intraoralen Entnahmestellen vorwiegend Knochenersatzmaterialien eingesetzt. Diese können allogener, xenogener oder alloplastischer Natur sein (LORENZETTI et al. 1998, VALENTINI et al. 1989, YILDRIM et al. 2001).

Der autologe Knochen stellt auf Grund seiner osteoinduktiven Potenz und seiner anderen biochemischen Eigenschaften gegenwärtig aber noch immer den Goldstandard dar. Nachteil seiner Nutzung ist der Zweiteingriff zur Transplantathebung

und die damit verbundene Entnahmemorbidity, die je nach Entnahmeort unterschiedlich stark ausgeprägt sein kann. Insbesondere Transplantate vom Beckenkamm können mit langwierigen Beschwerden und einer damit verbundenen Einschränkung des Patientenkomforts einhergehen (AHLMANN et al. 2002).

Eine Möglichkeit die Eigenschaften von autologem Knochen und Knochenersatzmaterialien zu kombinieren ist der Einsatz gemischter Transplantate. Dieses Verfahren kommt vorwiegend bei der Sinusbodenaugmentation zum Einsatz. Trotz der vorliegenden positiven Untersuchungsergebnisse für die Anwendung von Knochenersatzmaterialien (NASAR et al. 1999, DE LEONARDIS & PECORA 2000) zeigen verschiedene Publikationen und eigene Erfahrungen, dass Langzeitkomplikationen, häufig verbunden mit dem Verlust der inserierten enossalen Implantate, nicht vollständig vermieden werden können (BUCK et al. 1989, MELLONIG et al. 1992, CORDIOLI et al. 2001). Wissenschaftlich nicht umfassend geklärt ist z.B. die Resorptionskinetik der verschiedenen Knochenersatzmaterialien.

Der klinische Anwender wird ausserdem mit Patienten konfrontiert, die sich nur Behandlungsmethoden der ganzheitlichen Zahnmedizin unterziehen möchten. Diese lehnen die Transplantation «toten Materials», als solche werden durch sie z.B. Knochenersatzmaterialien angesehen, vollständig ab. Die Suche nach alternativen Behandlungsmöglichkeiten resultiert vor allem aus diesen genannten Nachteilen. Hinzu kommt der «Markt» potenzieller Transplantatempfänger, der von den neuen Entwicklungen des Tissue engineering profitieren kann.

Das hier vorgestellte Verfahren stellt eine klinische Anwendungsmöglichkeit gezüchteter autologer dreidimensionaler Knochenkonstrukte dar. Die wissenschaftlichen Grundlagen für die Entwicklung des autologen Transplantates wurden in der Arbeitsgruppe Tissue engineering an der Charité in Berlin durch entsprechende in-vitro-Untersuchungen und tierexperimentelle Studien geschaffen (SITTINGER et al. 1996, PERKA et al. 2000, SCHULTZ et al. 2000).

Ähnlich wie beim Tissue engineering autologer Mundschleimhauttransplantate wird für die Herstellung der Kulturen unter Good Manufacturing Practice (GMP)-Bedingungen autologes Patientenserum genutzt. Auf die Entnahme von Knochenzellen kann ebenfalls verzichtet werden. Dagegen kann aus einer ca. 1 cm² grossen Knochenhautbiopsie, die vom Unterkiefer entnommen wird, ein dreidimensionales Knochenkonstrukt hergestellt und dem Patienten transplantiert werden.

Bisher wurden an der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Universitätsklinik Freiburg 21 Patienten mit einer ein- oder zweiseitigen Sinusbodenaugmentation (Sinuslift) operiert, wobei bei 17 Patienten eine Nachbeobachtungszeit von mindestens 3 Monaten gegeben ist. Die Insertion der enossalen Implantate erfolgte in Abhängigkeit vom Restknochenangebot simultan oder zweizeitig, dann ca. 3 Monate nach der Erstoperation. Zusätzlich kann inzwischen auf 42 Behandlungen ausserhalb der Freiburger Universitätsklinik verwiesen werden, von denen 9 mit einer Nachbeobachtungszeit von zwischen 3 und 6 Monaten beurteilt werden können.

Die bisher vorliegenden Ergebnisse waren sehr unterschiedlich und zeigten vor allem eine Abhängigkeit vom vorliegenden Restknochenangebot. Im Folgenden sollen kurz die Grundlagen des Herstellungsverfahrens vorgestellt werden. Der klinische Einsatz der Knochen-Transplantate am Patientenbeispiel und eine kritische Diskussion der bisher gewonnenen Ergebnisse sollen die Vorstellung dieses innovativen Behandlungsverfahrens vervollständigen.

Entwicklung des Transplantates, Patienten und Methodik

Transplantatentwicklung

Dieser Abschnitt soll kurz die Entwicklung des später im klinischen Einsatz vorgestellten dreidimensionalen Knochenkonstruktes darstellen. Neben den initialen in-vitro-Untersuchungen sind vor allem tierexperimentelle Untersuchungen als Grundlage für die Produktspezifizierung und dessen Weiterentwicklung unter GMP-Bedingungen anzusehen.

Die tierexperimentellen Untersuchungen erfolgten vorwiegend an der Ulna des Kaninchens bzw. am Schweinekiefer des Göttinger Minischweins (PERKA et al. 2000, GROGER et al. 2003) Exemplarisch sollen die Abb. 1 und 2 den Einsatz des Knochen-



Fig. 1 Ulna du lapin, 25 jours après une perforation critique sans obturation (échantillon témoin).

Abb. 1 Ulna des Kaninchens 25 Tage nach Setzen eines kritischen Stanzdefektes ohne Auffüllung (Leerprobe).



Abb. 2 Ulna des Kaninchens 25 Tage nach Setzen eines kritischen Stanzdefektes und Auffüllen mit autologen, osteogenen Transplantaten aus Periostzellen in einer dreidimensionalen, resorbierbaren Trägermatrix. Im Vergleich zum Leerdefekt (Abb. 1) signifikant höhere Knochenneubildung.

Fig. 2 Ulna du lapin, 25 jour après une perforation critique et après obturation par des greffons ostéogènes, autologues, de cellules du périoste dans une matrice tridimensionnelle, résorbable. Reconstitution de l'os nettement plus importante que dans le cas témoin (fig. 1).

konstrukt nach Züchtung eines dreidimensionalen Zellverbandes im Vergleich zum Leerdefekt zeigen.

Die Produktspezifizierung unter GMP-Bedingungen dient als Vorläufer vor dem endgültigen klinischen Einsatz der genauen Überprüfung des Herstellungsprozesses. Jeder Schritt der Gewebeerstellung wird standardisiert und das Herstellungsprotokoll erstellt. Untersuchungen zur Qualität des gezüchteten Zellverbandes werden erprobt und ebenfalls standardisiert, so z.B. immunhistochemische Methoden zur Beurteilung der Osteokalzineexpression durch die osteogenen Zellen bzw. Fluoreszenzuntersuchungen der Zellvitalität (Abb. 3).

Da die initiale Methodik zur Herstellung osteogener Transplantate aus Periostzellen auf Zellen aus der Tibiakopfregion beruht, wurde ausserdem die intraorale Periostentnahmeregion mit der

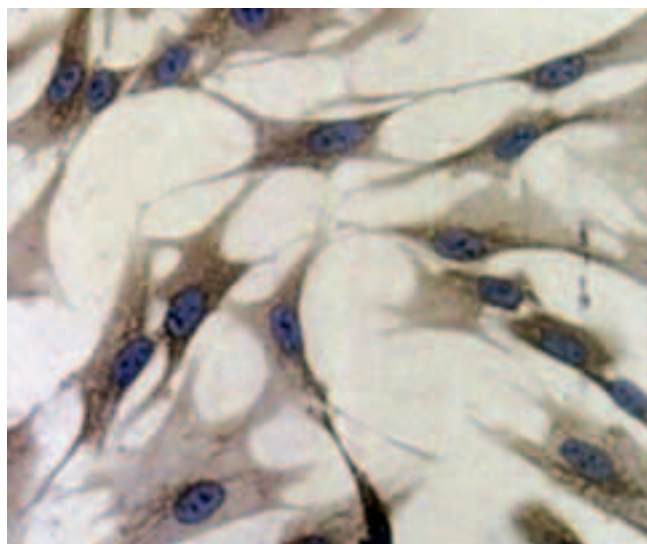


Fig. 3 Coloration des anticorps ostéocalciques pour la mise en évidence des cellules ostéogènes sous des conditions BPF.

Abb. 3 Osteokalzin-Antikörperfärbung zum Nachweis osteogener Zellen unter GMP-Bedingungen.

höchsten osteogenen Potenz zur Herstellung vitaler, autologer Transplantate durch multiple Biopsien und Messungen der Zellmenge bzw. Proliferationstendenz ermittelt. Die vorgestellten osteogenen Transplantate befinden sich seit Juni 2001 zur Augmentation des Kieferhöhlenbodens bei Sinusliftoperationen im klinischen Einsatz.

Definitionsgemäss dürfen die in den Transplantaten enthaltenen Zellen nicht als Osteoblasten bezeichnet werden, da sie Periostzellen darstellen. Das Transplantat selbst stellt damit ein osteogenes Transplantat dar. Trotzdem hat sich der Begriff Tissue-engineerter Knochentransplantat inzwischen etabliert, und er wird damit auch im Rahmen wissenschaftlicher Publikationen genutzt.

Methodik

Periostzellen folgen in der Kaskade der Zellentwicklung unmittelbar den mesenchymalen Stammzellen und liegen damit weit vor den Osteoblasten (Abb. 4). Sie weisen gegenüber diesen eine höhere osteogenetische Potenz auf. Insbesondere die unmittelbar dem Knochen anliegende Kambiumschicht der Knochenhaut ist wichtig für die Generierung Tissue-engineerter osteogener Transplantate.

Vor der geplanten Biopsie wird dem behandelnden Arzt eine Entnahmekit (Fa. Biotissue Technologies GmbH, Freiburg) zur Verfügung gestellt. Dieser enthält das Biopsieröhrchen mit dem Transportmedium.

Zur ex-vivo-Herstellung der Transplantate wird den Patienten nach Desinfektion des Operationsgebietes in Lokalanästhesie eine ca. 1 cm² grosse Periostbiopsie aus der Kieferwinkelregion entnommen (Abb. 5). Dazu eignet sich eine paramarginale Schnittführung mit Präparation der Schleimhautschürze und nachfolgender scharfer Markierung der Biopsiegrenzen im Periost. Mit einem scharfen Rasparatorium sollte anschliessend die Knochenhaut gehoben und in das Transportmedium gegeben werden. Die Biopsie wird von den Patienten in der Regel gut vertragen, jedoch muss über eine mögliche postoperative Schwellung und Schmerzen aufgeklärt werden. Die Biopsie kann mit anderen vorbereitenden Behandlungen zum späteren

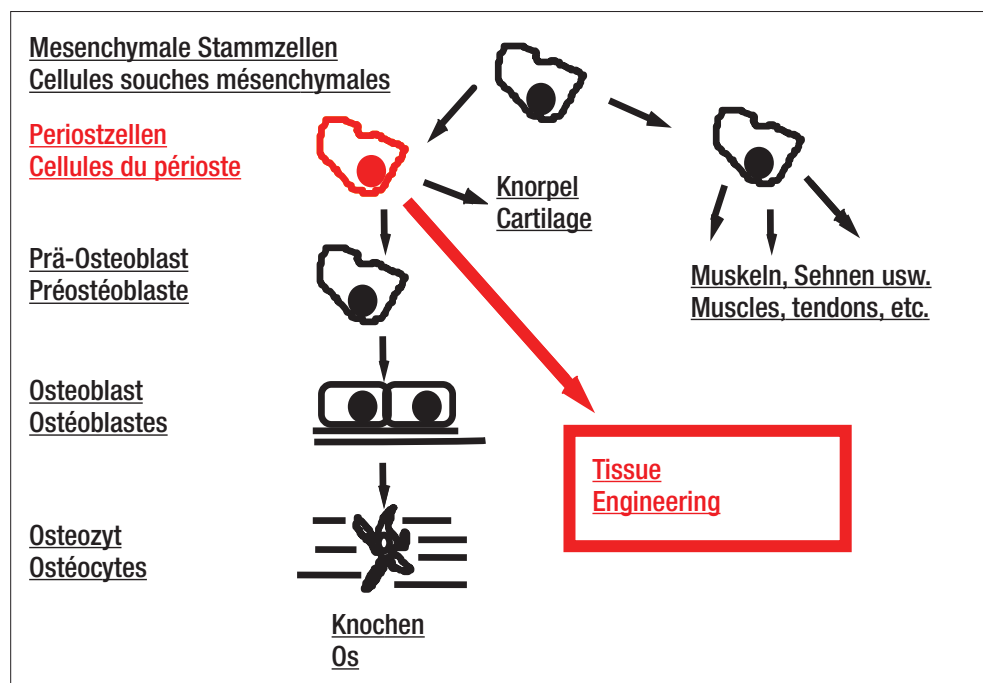


Abb. 4 Zellkaskade der Entwicklung von der mesenchymalen Stammzelle zu den eigentlichen Knochenzellen. Zur Herstellung autologer, osteogener Transplantate werden Periostzellen verwendet.

Fig. 4 Etapes de développement des cellules souches du mésenchyme pour les cellules osseuses proprement dites. Des cellules du périoste sont employées pour la fabrication de greffons autologues, ostéogènes.



Abb. 5 Intraoraler Zugang zur Periostentnahme am Kieferwinkel. Für die Herstellung der Transplantate werden ca. 1 cm² Periostbiopsat benötigt.

Fig. 5 Abord intraoral pour le prélèvement de périoste sur l'angle maxillaire. Une biopsie de 1 cm² environ du périoste est nécessaire pour la fabrication du greffon.

Sinuslift bzw. der Implantatversorgung kombiniert werden, sodass ein zusätzlicher Behandlungstermin für den Patienten vermieden werden kann. Die Biopsie erfolgt ca. 7½ Wochen vor dem geplanten Operationstermin zur Anhebung des Kieferhöhlenbodens.

Vor der Biopsie werden dem Patienten in Abhängigkeit von der benötigten Transplantatmenge ca. 90 ml (einseitiger Sinuslift) bis 140 ml (beidseitiger Sinuslift) Vollblut abgenommen. Aus diesem Blut wird autologes Patientenserum gewonnen, welches neben einem kommerziell erhältlichen osteogenen Medium zur Ernährung des Zellverbandes unter GMP-Bedingungen benötigt wird. Damit kann der von anderen Arbeitsgruppen beschriebene Einsatz von Kälberserum vermieden werden (UEDA et al. 2001).

Sieben Tag vor dem geplanten chirurgischen Eingriff (Sinuslift) werden die kultivierten und gereiften Periostzellen (osteogenen Zellen) in Form einer Suspension auf eine dreidimensionale, biokompatible, resorbierbare Matrix aufgebracht. Dieses Polyglaktidgerüst als Träger bildet zusammen mit den Zellen das eigentliche vitale Gewebekonstrukt. Wesentlich ist die Adhäsion der Zellen auf der Matrix und ihre weitere Differenzierung zu osteogenen Zellen. In der von-Kossa-Färbung werden zu diesem Zeitpunkt bereits primäre Mineralisationszentren des osteogenen Transplantates erkennbar (Abb. 6). Die Auslieferung des Transplantates erfolgt in einem speziellen Nährmedium, das einen Transport über ca. 48 Stunden nach Verlassen des GMP-Labors bis zur Transplantation erlaubt.

Chirurgisches Vorgehen

Bei allen 63 operierten Patienten wurde in Lokalanästhesie der laterale Zugang zur Kieferhöhle nach Boyne und James präpariert (BOYNE & JAMES 1980). Bei einem ausreichenden Restknochenangebot konnten die geplanten Implantate simultan mit der Augmentation inseriert werden. Beim zweizeitigen Vorgehen wurden die Implantate in der Freiburger Universitätsklinik ca. 3 Monate nach der Augmentation inseriert. Bei den in der Privatpraxis arbeitenden Kollegen erfolgte beim zweizeitigen Vorgehen die Implantatinserion zwischen 3 und 5½ Monaten nach der Augmentation.

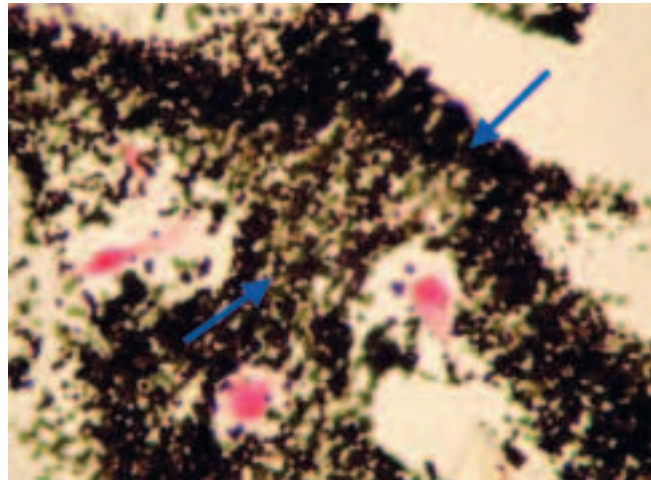


Abb. 6 Von-Kossa-Färbung zur Darstellung primärer Mineralisationszentren (blaue Pfeile) vor dem Aufbringen der Zellsuspension auf die dreidimensionale Trägermatrix (ca. 7 Tage vor Transplantation).

Fig. 6 Coloration de von Kossa pour la représentation des centres primaires de minéralisation (flèches bleues) avant l'apport de cellules en suspension sur la matrice support tridimensionnelle (7 jours environ avant la greffe).

Die Abb. 7 bis 14 illustrieren exemplarisch das chirurgische Vorgehen von der Präparation des Knochendeckels bis zur Augmentation an einem Patientenfall. Drei Monate nach Augmentation des rechten, seitlichen Oberkieferalveolarfortsatz wurden 4 ITI-Implantate (Fa. Straumann AG, Waldenburg, Schweiz) inseriert. Aus den Implantatschächten wurden mittels Trepanbohrung Knochenstanzen zur histologischen Beurteilung entnommen (Abb. 15). Exemplarisch ist das histologische Bild aus der Augmentationsregion 016 des rechten Oberkiefers wiedergegeben (Abb. 16).

Die Entfernung der Wundnähte erfolgte ca. 10 Tage nach Transplantation. Die postoperative Nachbehandlung gestaltete sich analog dem Vorgehen beim konventionellen Sinuslift. Zusätzliche Faktoren wie z.B. Plättchenreiches Plasma (PRP) wurden in keinem Fall verwendet.

Ergebnisse

Im Zeitraum 06/2001–04/2003 wurden an der Freiburger Universitätsklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie 21 Patienten nach diesem Verfahren operiert, von denen zum jetzigen



Abb. 7 Röntgenübersichtsaufnahme (OPG) vor geplanter Sinusbodenelevation rechts.

Fig. 7 Radiographie panoramique (orthopantomogramme) avant le rehaussement du plancher du sinus prévu à droite.

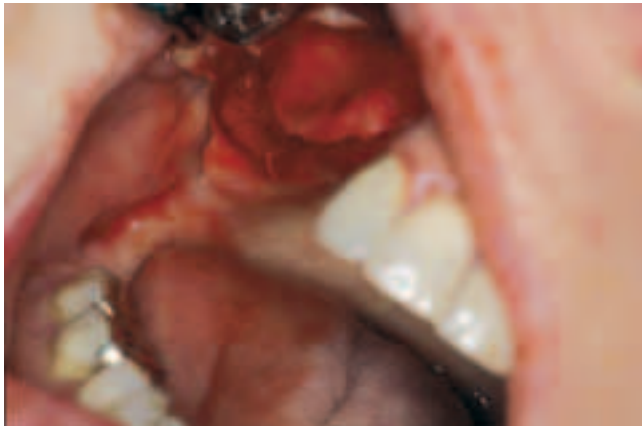


Abb. 8 Klinische Situation bei der gleichen Patientin. Neben der im OPG gezeigten vertikalen Alveolarkammatrophie liegt hier ebenfalls ein spitz zulaufender Alveolarfortsatz mit einem knöchernen Defizit in der transversalen Dimension vor.

Fig. 8 Etat clinique chez la même patiente. L'orthopantomogramme révèle non seulement une atrophie verticale de la crête alvéolaire mais aussi un déficit osseux transversal du bord alvéolaire.

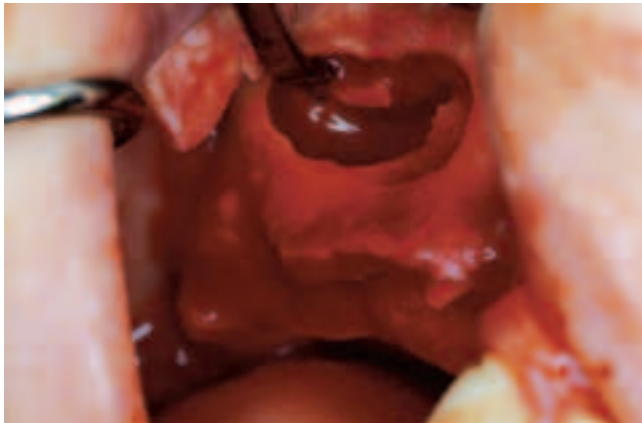


Abb. 9 Intraoperative Situation nach Präparation des lateralen Zuganges zur Anhebung des Kieferhöhlenbodens wobei der Knochen- deckel gestielt nach kranial verlagert wird. Zusätzlich erfolgte ein Bone split zur Verbreiterung des Alveolarfortsatzes.

Fig. 9 Etat au cours de l'opération, après la préparation de l'abord latéral pour le rehaussement du plancher du sinus maxillaire, le toit osseux étant rabattu vers le crâne. Un «Bone split» a de plus été effectué pour élargir le bord alvéolaire.

Zeitpunkt 17 Patienten über einen Zeitraum von mindestens 3 Monaten nach prothetischer Versorgung auswertbar sind. In 10 Fällen erfolgte ein einzeitiges Vorgehen mit simultaner Implantatinsertion (7 einseitig, 3 zweiseitig). Bei 11 Patienten wurde ein zweiseitiges Verfahren mit Implantatinsertion ca. 3 Monate nach der Knochenaugmentation gewählt (4 einseitig, 7 zweiseitig).

Bei allen zweiseitigen Verfahren wurden die Dental-Computer-tomographie (CT), die klinische Kontrolle und die histologische Untersuchung der Gewebeproben aus der Implantatregion zur Verifizierung des Behandlungserfolges herangezogen. Die Beurteilung des Knochenangebotes erfolgte klinisch und am CT, die Knochenqualität wurde klinisch und histologisch verifiziert. Bei allen einzeitigen Implantationen erfolgte drei Monate nach Implantation eine Untersuchung des Knochenangebotes mit dem Dental-CT. Ausserdem wurde der klinische Situs des peri-implantären Gewebes nach Freilegung der Implantate beurteilt.

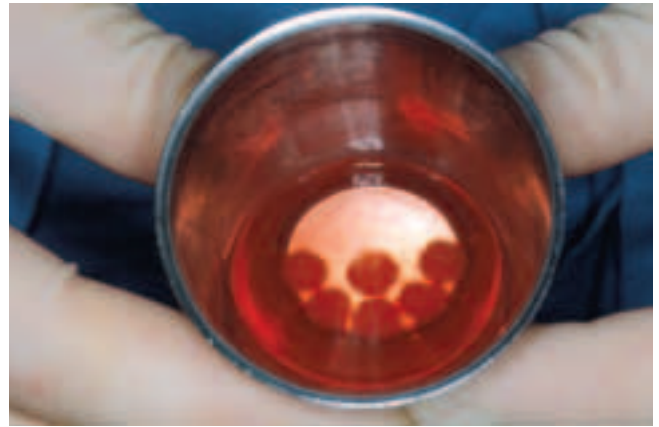


Abb. 10 Die autologen, osteogenen Transplantate werden in einem Nährmedium gelagert, das eine Verarbeitung bis zu 48 Stunden nach Verlassen des GMP-Labors gewährleistet.

Fig. 10 Les greffons ostéogènes, autologues, sont conservés dans un milieu nutritionnel, qui permet un traitement jusqu'à 48 heures après qu'ils ont quitté le laboratoire BPF.

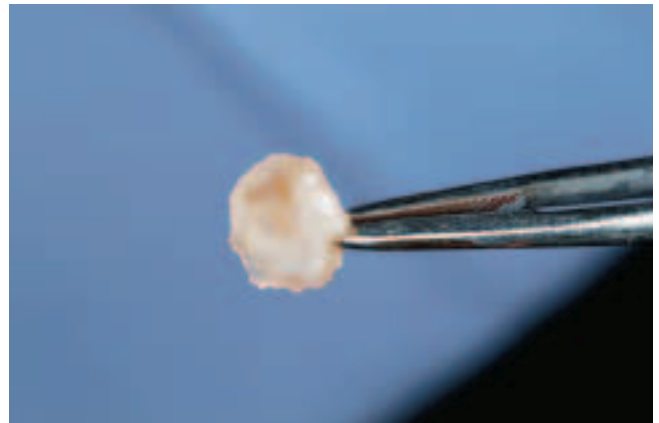


Abb. 11 Einzelaufnahme eines Chips der bei 8 mm Durchmesser und 2 mm Dicke ca. 2 Mio. vitale osteogene Zellen enthält.

Fig. 11 Photos d'une «chip» contenant environ 2 millions de cellules ostéogènes vivantes, pour un diamètre de 8 mm et une épaisseur de 2 mm.

Auf zusätzliche invasive Verfahren wurde in dieser Patientengruppe verzichtet.

In einem Fall der hier vorgestellten Fälle kam es wegen einer Wundinfektion innerhalb der ersten sieben postoperativen Tage zu einem frühzeitigen Transplantat- und Implantatverlust.

Bei 10 Patienten wurde 3 Monate nach Transplantation ein ausreichendes Knochenangebot vorgefunden. Dagegen zeigte sich bei 6 Patienten (1 einseitig, 5 zweiseitig) ein unzureichendes Knochenangebot. Klinisch, röntgenologisch und histologisch imponierte eine bindegewebige Ersatzresorption des osteogenen Transplantates. Das angelegte laterale Fenster in der Kieferhöhlenwand war vollständig mit straffem Bindegewebe ausgefüllt, dass unabhängig vom Einsatz einer abdeckenden, resorbierbaren Membran (Tissue Foil; Fa. Baxter, Heidelberg, Deutschland bzw. Bio-Gide; Fa. Geistlich, Baden-Baden, Deutschland) mit dem initial präparierten Mukoperiostlappen vernarbt war. Der bei der Erstoperation an der Kieferhöhlen-

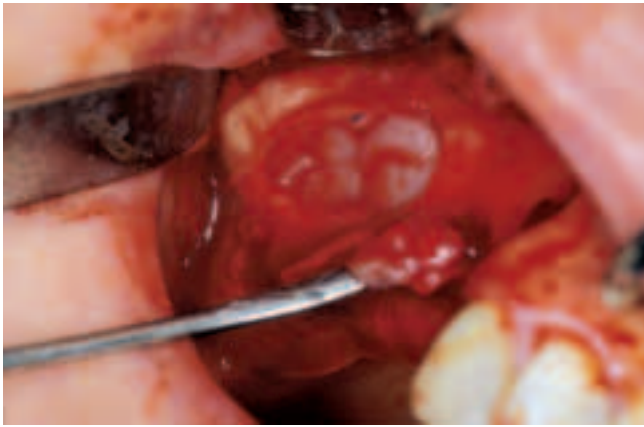


Abb. 12 Zustand nach Augmentation des Kieferhöhlenbodens über den lateralen Zugang. Zusätzlich werden in den durch den Bone split geschaffenen Raum zwischen den kortikalen Lamellen osteogene Transplantate eingebracht.

Fig. 12 Etat après l'augmentation du plancher du sinus maxillaire par l'abord latéral. Des greffes ostéogènes sont de plus apportées dans la cavité obtenues par «Bone split» entre les lamelles corticales.

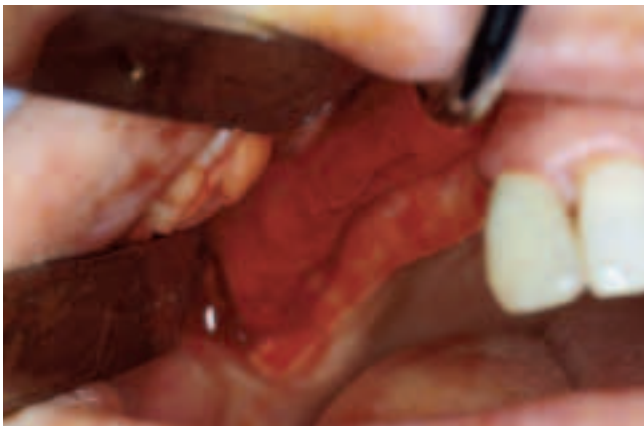


Abb. 13 Klinische Situation 3 Monate nach Augmentation. Präparation des Alveolarfortsatzes zur Insertion endossaler Implantate. Gegenüber dem Ausgangsbefund (Abb. 8) haben sich die knöchernen Voraussetzungen wesentlich verbessert.

Fig. 13 Situation clinique trois mois après l'augmentation. Préparation du bord alvéolaire pour l'insertion des implants endo-osseux. Les conditions osseuses sont nettement meilleures que celles présentes lors de l'examen initial (fig. 8).

schleimhaut belassene und nach kranial verlagerte Knochen- deckel war in allen Fällen vollständig resorbiert (Abb. 17–19). In einem Fall wurde eine Perforation der bindegewebigen Narben- platte zur Kieferhöhle beobachtet. In allen anderen Fällen war der kaudale Anteil der Kieferhöhlenschleimhaut vollständig vernarbt und eine erneute Präparation zur Schaffung eines Augmentationsraumes chirurgisch einfach umsetzbar. In allen Fällen mit Verlust des Transplantates war der klinische Verlauf unauffällig. Keiner der Patienten klagte im Verlauf über die Symptomatik einer Sinusitis maxillaris. Auch die präoperativ vor dem Zweiteingriff durchgeführte Röntgendiagnostik (Orthopantomogramm) zeigte in keinem Fall eine mögliche Verschattung der betroffenen Kieferhöhlen an.

Bei einem Patienten mit ungenügendem Knochenangebot und einzeitigem Vorgehen waren die Implantate drei Monate nach Insertion klinisch fest, jedoch nicht vollständig osseointegriert



Abb. 14 Postoperative Röntgenkontrolle nach Insertion von insgesamt 5 endossalen ITI-Implantaten (Straumann AG, Waldenburg, Schweiz). Nach Exzision des Zahnes 12 erfolgte eine Sofortimplantation. Trotz der fehlenden vollständigen knöchernen Umbauung der Implantate in Position 015 bzw. 016 im kranialen 1/3 waren beide Implantat primär stabil und im weiteren Follow-up keine Besonderheiten feststellbar.

Fig. 14 Radiologie post-opératoire de contrôle après l'insertion d'un total de 5 implants ITI endo-osseux (Straumann AG, Waldenburg, Schweiz). Après l'extraction de la dent 12, une implantation immédiate a été effectuée. Malgré une formation osseuse incomplète autour des implants aux positions 015 et 016 dans le 1/3 crânial, la stabilité primaire des deux implants était satisfaisante et le suivi n'a révélé aucune particularité.



Abb. 15 Knochenzylinder aus dem Implantatschacht 016 nach Entnahme mit dem Trepanbohrer.

Fig. 15 Carotte osseuse au niveau de l'implant 016 après trépanation.

und teilweise bindegewebig eingeschleitet. Im Einvernehmen mit dem Patienten wurde zunächst auf weitere chirurgische Massnahmen verzichtet und die prothetische Suprakonstruktion erstellt und eingegliedert.

Bei den 5 betroffenen Patienten mit zweizeitigem Vorgehen machten sich im Rahmen der Implantatinsertion weitere augmentative Massnahmen erforderlich. Dabei kamen Cerasorb® (Curasan AG, Kleinstheim, Deutschland) und Bio-Oss® (Fa. Geistlich, Baden-Baden, Deutschland) zum Einsatz. In allen Fällen konnten die Implantate entsprechend der präoperativen prothetischen Planung inseriert werden (Abb. 18, 19).

Bei allen operierten Patienten konnte nach ca. 4 Monaten (einzeitiges Vorgehen) bzw. nach 7–8 Monaten (zweizeitiges Vorgehen) die prothetische Suprakonstruktion eingegliedert werden. In den 10 Fällen mit einzeitigem Vorgehen wurden 29 Implantate inseriert. Zwei dieser Implantate gingen wegen der beschrie-

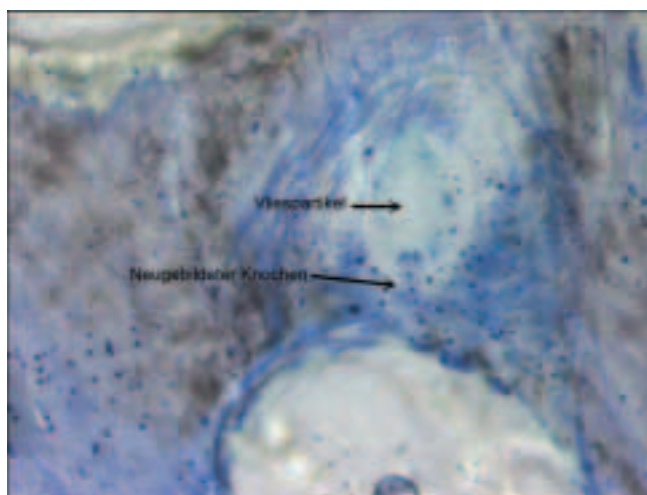


Abb. 16 Histologischer Nachweis der Knochenneubildung aus einer Biopsie des Augmentats. Neben dem jungen, neugebildeten Knochen kommen auch Reste der Trägermatrix zur Darstellung. (Färbung: Toluidinblau; Vergrößerung $\times 200$)

Fig. 16 Preuve histologique de la régénération osseuse d'une biopsie de l'augmentation. On remarque, outre le jeune os nouvellement formé, des résidus de la matrice support (coloration: bleu de toluidine; agrandissement: $\times 200$)

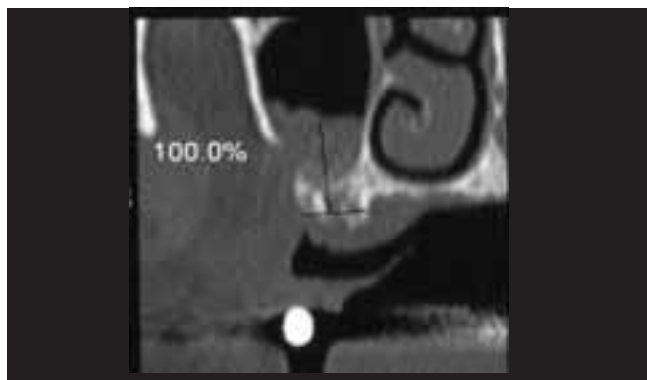


Abb. 17 Dental-CT der rechten Kieferhöhle in koronarer Rekonstruktion 3 Monate nach Sinusbodenelevation und Augmentation mit autologen, osteogenen Transplantaten. Kein Nachweis einer Knochenneubildung, dagegen bindegewebige Ersatzresorption mit Vernarbung des Bindegewebes am aufliegenden Mukoperiostlappen und vollständiger Resorption des im Rahmen des Ersteingriffs nach kranial verlagerten Knochendeckels.

Fig. 17 CT dentaire de la cavité maxillaire droite dans la reconstruction coronaire, 3 mois après l'élévation du plancher du sinus et l'augmentation par greffons ostéogènes, autologues. Aucun signe d'une nouvelle formation d'os, par contre résorption de remplacement par tissu conjonctif avec cicatrice du tissu conjonctif sur les lambeaux de périoste de muqueuse sus-jacents et totale résorption du rabat crânial du toit osseux dans le cadre de la première intervention.

benen Infektion frühzeitig verloren. In der Patientengruppe mit zweizeitiger Versorgung wurden 33 Implantate inseriert von denen kein Implantat verlustig ging.

Bei den 42 ausserhalb des Universitätsklinikums Freiburg behandelten Patienten waren zum jetzigen Zeitpunkt 9 Patienten auswertbar. Drei Patienten wurden nach dem einzeitigen Verfahren (1 einseitig, 2 zweiseitig) und 6 Patienten nach dem zweizeitigen Verfahren operiert.

Zwei der im zweizeitigen Verfahren operierten Patienten zeigten 3 bzw. 5½ Monate nach Augmentation ein unzureichendes Knochenangebot. Die anderen 4 im zweizeitigen Verfahren



Abb. 18 Klinische Situation zum Dental-CT in Abbildung 17 nach Mobilisierung des bindegewebigen Regenerates nach kranial ohne Eröffnung der Kieferhöhle und Vorbereiten der Implantatschächte.

Fig. 18 Situation clinique pour la CT dentaire de la figure 17 après mobilisation crâniale du régénérat conjonctif, sans ouverture de la cavité maxillaire ni préparation des sites implantaires.



Abb. 19 Insertion von 3 ITI-Implantaten entsprechend der präoperativen prothetischen Planung und simultane Augmentation mit einem Knochenersatzmaterial (β -TCP).

Fig. 19 Insertion de 3 implants ITI selon le plan prothétique préopératoire et augmentation simultanée avec un substitut osseux (β -TCP).

operierten Patienten zeigten 4 bzw. 5 Monate nach der Implantation ein ausreichendes Knochenangebot.

Bei den im einzeitigen Verfahren operierten Patienten konnte 3 Monate nach Transplantation ein ausreichendes Knochenangebot nachgewiesen werden.

Diskussion und Schlussfolgerungen

Für die Augmentation des seitlichen Oberkieferknochens kommen neben autologem Knochen vor allem Knochenersatzmaterialien unterschiedlicher Herkunft und biologischer Eigenschaften zum Einsatz.

Neben der Entnahmemorbidität, die bei autologen Knochen- transplantaten unabhängig vom Entnahmeort zu verzeichnen ist, ist das Angebot an Knochen bei alleinigen intraoralen Entnahmen limitiert.

Knochenersatzmaterialien haben den Vorzug der unbegrenzten Verfügbarkeit. Ihnen fehlen jedoch die osteoinduktiven Eigenschaften vitaler Knochenzellen, sodass insbesondere bei aus-

gedehnten Defekten eine Mischung mit autologem Knochen empfohlen wird.

Mit dem Tissue engineering steht eine mögliche Alternative zur Herstellung bzw. Gewinnung autologer Knochentransplantate am Anfang der klinischen Umsetzung. Bei den hier vorgestellten Patienten erfolgte die initiale Sinusbodenaugmentation durchweg mit gezüchteten autologen Knochentransplantaten. Die Ergebnisse drei Monate nach der Implantation waren unterschiedlich und zeigten neben guten Behandlungserfolgen auch Patienten, bei denen das primäre Behandlungsziel einer zufriedenstellenden Augmentation nicht erreicht werden konnte.

Für die Misserfolge können folgende Ursachen diskutiert werden: Am Anfang des klinischen Einsatzes autologer, osteogener Transplantate wurde die Indikation zu weit gestellt. Auch Patienten mit ausgedehnten Alveolarkammatrophien wurden mit den gezüchteten, osteogenen Transplantaten versorgt (Abb. 20). In diesen Fällen war häufig nur eine vertikale Restknochenhöhe von 1 mm zu verzeichnen. Der Augmentationsraum betrug mehrere cm³. Die initiale Diffusion zur vollständigen Ernährung der Transplantate bis zur Neoangiogenese war nicht ausreichend für einen langfristigen Ein- und Umbau des Transplantates. Bei einer ungenügenden Blutzufuhr kommen ausserdem die Nachteile des verwendeten dreidimensionalen Polyglaktidgerüsts zum Tragen. Der Abbau zu den Stoffwechselmetaboliten erzeugt einen sauren pH-Wert, der der Knochenneubildung entgegenwirkt. Bei einer ausreichenden Blutperfusion können die Metabolite abtransportiert werden, ohne dass sie lokal wirksam werden. Bei einer insuffizienten Blutzufuhr ist jedoch das Gegenteil der Fall.

Die resorbierbare biologische Matrix des Transplantates ist bereits nach 3 Monaten zum grössten Teil resorbiert, sodass die weiterhin notwendige Spacerfunktion nicht aufrechterhalten werden kann. Hier wird bereits an Modifizierungen und Verbesserungen gearbeitet.

Ein weiteres Problem ist die initiale Entzündungsreaktion im Transplantationsgebiet. Es ist inzwischen erwiesen, dass extrakorporal modifizierte autologe Transplantate ihre Epitopstruktur verändern können. Zu diesen modifizierten Transplantaten gehören auch autologe Transplantate, die im Tissue engineering erzeugt worden sind. Diese veränderte Epitopstruktur kann Autoimmunreaktionen hervorrufen, die zur Zerstörung des Transplantates führen können. Um dies zu unterdrücken wäre



Abb. 20 Röntgenübersichtsaufnahme (OPG) mit ausgeprägter Alveolarkammatrophie des Oberkieferseitenzahngbietes beidseits. In diesem Fall ist der Einsatz gezüchteter osteogener Transplantate kontraindiziert.

Fig. 20 Radiographie panoramique (orthopantomogramme) avec atrophie bilatérale marquée de la crête alvéolaire au niveau des dents latérales du maxillaire. L'emploi de greffons ostéogènes issus de cultures est contre-indiqué dans ce cas.

bei Nichtvorlage einer Kontraindikation die kurzzeitige Gabe (3–4 Tage) von Glukokortikoiden denkbar.

Auch der Einsatz resorbierbarer Membranen muss kritisch diskutiert werden. Die Stoffwechselprozesse zum Abbau der Membran können ebenfalls das Transplantat bzw. die Träger-substanz angreifen und den Behandlungserfolg gefährden.

Die kritische Auswertung der bisher behandelten Patienten zeigt, dass trotz der mitunter vorhandenen Euphorie gegenüber dem Tissue engineering die klinischen Indikationen und der Einsatz im Einzelfall kritisch überprüft werden müssen.

Der erstmalige Einsatz gezüchteter osteogener Transplantate ist ein wesentlicher Schritt zur Sammlung vor allem klinischer Erfahrungen. Rückschläge sind dabei häufig unabdingbar und helfen langfristig Transplantat und Indikationsstellung zu optimieren. Notwendig ist dabei natürlich die umfassende und genaue Aufklärung der zu behandelnden Patienten.

Auf Grund der vor allem am Anfang des klinischen Einsatzes gesehenen negativen Ergebnisse erfolgte im Verlaufe des Jahres 2002 eine Verbesserung des Transplantates hinsichtlich seiner Stabilität, Kalzifizierung und des damit verbundenen Reifegrades der osteogenen Zellen, der deutlich erhöht werden konnte. Die Herstellung des Transplantates wurde deshalb auf einen Zeitraum von ursprünglich 5 Wochen auf 7½ verlängert (Abb. 21). Seit Einführung dieses modifizierten Transplantates haben sich die klinischen Ergebnisse wesentlich verbessern können. Als weitere Optimierung des Herstellungsprozesses ist die bereits hier vorgestellte deutliche Minimierung des benötigten Vollblutes (90 bzw. 140 ml) vom Patienten anzusehen. Im Rahmen der Entwicklung des GMP-Protokolls waren hier ca. 400 ml Vollblut und damit die zusätzliche Einbindung eines Labors bzw. einer transfusionsmedizinischen Abteilung notwendig. Durch die Einführung der Rollkultur im Rahmen des Herstellungsprozesses des Zellverbandes konnte diese Verbesserung und damit eine Reduktion auch der auf die Patienten zukommenden Kosten erzielt werden. Ausserdem ist es gelungen die Dauer der Transportfähigkeit in dem bereits angesprochenen Nährmedium von 24 Stunden auf 48 Stunden zu verlän-

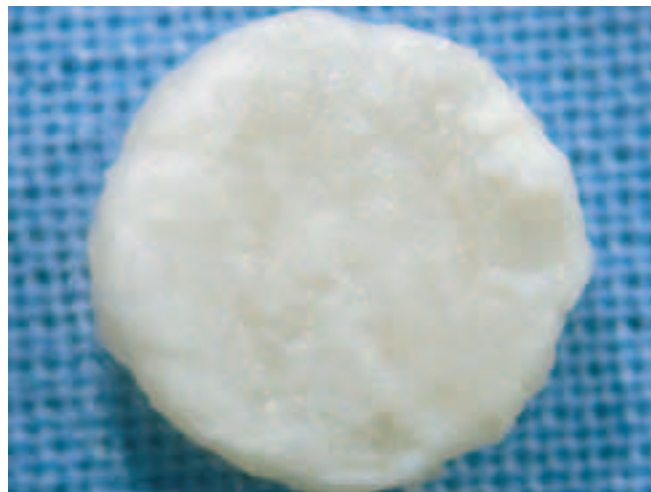


Abb. 21 Knochenchip der nach den neuen Herstellungsrichtlinien über einen Zeitraum von ca. 7½ Wochen hergestellt wurde und so gegenüber dem in Abb. 11 dargestellten Chip eine deutlich höhere osteogene Potenz aufweist.

Fig. 21 «Chip» d'os obtenue selon les nouvelles directives de fabrication sur une période de 7½ semaines environ et présentant par rapport à la puce représentée sur la figure 11 un potentiel ostéogène nettement supérieur.

gern. Damit vereinfacht sich die Logistik bei der Behandlungsplanung für den einzelnen Patienten.

Als Nachteile des Verfahrens müssen folgende Punkte diskutiert werden. Der Eingriff bedeutet für den Patienten eine zusätzliche finanzielle Belastung. Die Herstellung der Transplantate ist sehr kostenaufwändig und personalintensiv und wird durch die Kostenträger nicht erstattet. Bei einer langfristigen Planung des Operationstermines ist eine gewisse Flexibilität erforderlich. Das Zeitfenster beträgt 1–3 Tage, da der Zeitpunkt des Aufbringens der entsprechend gereiften Zellen in die Trägersuspension nicht genau vorhergesagt werden kann. Der genaue Operationstermin kann damit erst 7 Tage vor dem Eingriff bestätigt werden.

Trotz der finanziellen Belastung für den Patienten, die je nach Grösse bzw. Menge des Transplantates zwischen € 1500.00 und € 2500.00 liegt, und der beobachteten Misserfolge ist die Nutzung Tissue-engineerter autologer dreidimensionaler Knochentransplantate als eine mögliche Alternative bei der Augmentation des seitlichen Oberkieferalveolarfortsatzes zu diskutieren. Weitere Verbesserungen der Methodik bzw. die Nutzung neuer Herstellungstechniken (z.B. mesenchymale Stammzellen) werden sicher dazu beitragen, diese Technik in Zukunft auch preiswerter und für eine breitere Indikationspalette zuzulassen.

Literatur

- AHLMANN E, PATZAKIS M, ROIDIS N, SHEPHERD L, HOLTOM P: Comparison of anterior and posterior iliac crest bone grafts in terms of harvest-site morbidity and functional outcomes. *J Bone Joint Surg Am* 84: 716–720 (2002)
- BOYNE P J, JAMES R A: Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg* 38: 613–616 (1980)
- BUCK B, MALININ T, BROWN M: Bone transplantation and human immunodeficiency virus: an estimate of risk for acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Clin Orthop* 240: 129–135 (1989)
- CORDIOLI G, MAZZOCCO C, SCHEPERS E, BRUGNOLO E, MAJZOUZ Z: Maxillary sinus floor augmentation using bioactive glass granules and autogenous bone with simultaneous implant placement. Clinical and histological findings. *Clin Oral Implants Res* 12: 270–278 (2001)
- DE LEONARDIS D, PECORA G E: Prospective study on the augmentation of the maxillary sinus with calcium sulfate: histological results. *J Periodontol* 71: 940–947 (2000)
- GROGER A, KLARING S, MERTEN, HOLSTE J, KAPS C, SITTINGER M: Tissue engineering of bone for mandibular augmentation in immunocompetent minipigs: preliminary study. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 37: 129–133 (2003)
- LAUER G, SCHIMMING R: Tissue engineered mucosa graft for reconstruction of the intraoral lining after freeing of the tongue. A clinical and immunohistologic study. *J Oral Maxillofac Surg* 59: 169–177 (2001)
- LAUER G, SCHIMMING R, FRANKENSCHMIDT A: Intraoral wound closure with tissue-engineered mucosa – new perspectives for urethra reconstruction with buccal mucosa grafts. *Plast Reconstr Surg* 107: 25–33 (2001a)
- LAUER G, SCHIMMING R, GELLRICH N-C, SCHMELZEISEN R: Preliminary the Fascial Radial Forearm Flap by Tissue Engineered Mucosa – Improvement of donor and recipient site. *Plast Reconstr Surg* 108: 1564–1572 (2001b)
- LORENZETTI M, MOZZATI M, CAMPANINO P P, VALENTE G: Bone augmentation of the inferior floor of the maxillary sinus with autogenous bone or composite bone grafts: a histologic-histomorphometric preliminary report. *Int J Maxillofac Implants* 13: 69–76 (1998)
- MELLONIG J, PREWETT A, MOYER M: HIV inactivation in a bone allograft. *J Periodontol* 63: 979–983 (1992)
- MUHART M, MCFALLS S, KIRSNER R S, ELGART G W, KERDEL F, SABOLINSKI M L, HARDIN-YOUNG J, EAGSTEIN W H: Behaviour of tissue-engineered skin: a comparison of a living skin equivalent, autograft, and occlusive dressing in human donor sites. *Arch Dermatol* 135: 913–918 (1999)
- NASAR H F, AICHELMANN-REIDY M E, YUKNA R A: Bone and bone substitutes. *Periodontol* 19: 74–86 (1999)
- PERKA C, SCHULTZ O, SPITZER R S, LINDENHAYN K, BURMESTER G R, SITTINGER M: Segmental bone repair by tissue-engineered periosteal cell transplants with bioresorbable fleece and fibrin scaffolds in rabbits. *Biomaterials* 21: 1145–1153 (2000)
- SCHIMMING R, DILTHEY A, TANCZOS E, LAUER G, SCHMELZEISEN R: Einsatz gezüchteter autologer Mundschleimhauttransplantate in der präprothetischen Chirurgie. *Quintessenz* 52: 915–921 (2001)
- SCHIMMING R, DILTHEY A, HOFFMANN M, SCHMELZEISEN R, SITTINGER M: Tissue-Engineering und klinischer Einsatz autologer Knochentransplantate zur Sinusbodenaugmentation. *Quintessenz* 54: 9–17 (2003)
- SCHMELZEISEN R, SCHIMMING R, SITTINGER M: Making bone: Implant insertion in tissue-engineered bone for sinus floor augmentation. *J CranioMaxillofac Surg* 31: 34–39 (2003)
- SCHULTZ O, SITTINGER M, HAEUPL T, BURMESTER G R: Emerging strategies of bone and joint repair. *Arthritis Res* 2: 433–436 (2000)
- SITTINGER M, BUJIA J, ROTTER N, REITZEL D, MINUTH W W, BURMESTER G R: Tissue engineering and autologous transplant formation: Practical approaches with resorbable biomaterials and new cell culture techniques. *Biomaterials* 17: 237–242 (1996)
- UEDA M, TOHNAI I, NAKAI H: Tissue engineering research in oral implant surgery. *Artif Organs* 25: 164–171 (2001)
- VALENTINI P, ABENSUR D, DENSARI D, GRAZIANI J N, HAMMERLE C: Histological evaluation of Bio-Oss in a 2-stage sinus floor elevation and implantation procedure. A human case report. *Clin Oral Implants Res* 9: 59–64 (1998)
- WAYMACK P, DUFF R G, SABOLINSKI M: The effect of a tissue engineered bilayered living skin analog, over meshed split-thickness autografts on the healing of excised burn wounds. The Apligraf Burn Study Group. *Burns* 26: 609–619 (2000)
- YILDRIM M, SPIEKERMANN H, BIESTERFELD S, EDELHOFF D: Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss in combination with venous blood. A histologic and histomorphometric study in humans. *Clin Oral Implants Res* 11: 217–229 (2001)