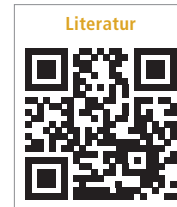


Die adäquate Versorgung von Knochendefekten in der dentalen Chirurgie erfordert oftmals den Einsatz von Knochenersatzmaterialien (KEM). Insbesondere xenogene Materialien werden aufgrund der natürlichen Zusammensetzung und strukturellen Hierarchie geschätzt. Durch eine Vielzahl präklinischer und klinischer Studien konnte bereits gezeigt werden, dass diese hervorragende osteokonduktive Eigenschaften besitzen und vorhersagbare Behandlungsergebnisse erzielt werden können.<sup>1,2</sup> Dabei fällt insbesondere die gute Langzeitstabilität bei dem Einsatz xenogener KEM positiv ins Gewicht. Aufgrund dieser guten Resultate findet der Einsatz xenogener KEM sowohl beim Behandler als auch beim Patienten große Zustimmung.



# Biokompatibilität eines innovativen KEMs mit Hyaluronsäure

## In-vivo-Studie

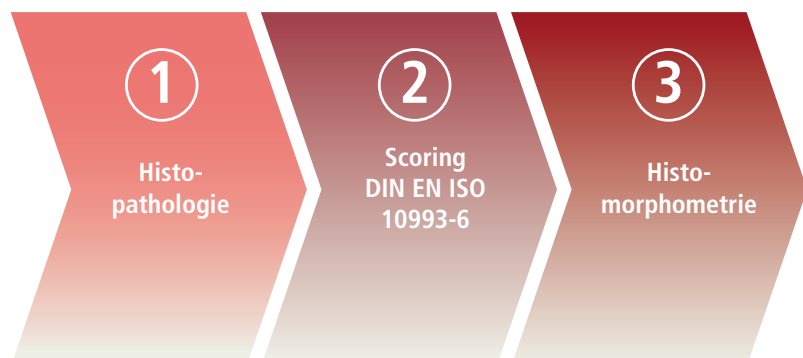
Dr. Mike Barbeck, PhD, Annica Pröhl, Dr. med. Ole Jung, MD

Bisher werden xenogene Materialien ausschließlich in Form von Granulaten und seltener als Blöcke angeboten. Neben diesen Applikationsformen haben sich mittlerweile pastöse KEM bei einigen Indikationen, wie beispielsweise bei der Socket Preservation, der Sinusbodenaugmentation und Behandlung von Knochenzysten, als vorteilhaft erwiesen, da ihre Handhabbarkeit eine optimale Füllung insbesondere von unregelmäßig geformten Knochendefekten bis an die Defektgrenzen ermöglichen. Insgesamt ermöglicht die Viskosität pastöser Materialien hierbei eine verbesserte Handhabung, die dem Kliniker hilft, Implantationsfehler wie Über- und Unterfüllung von Knochendefekten zu vermeiden.<sup>3,4</sup>

Die derzeit auf dem Markt verfügbaren Knochenpasten sind Zweikomponenten-Materialien, welche zumeist synthetisches Granulat auf Calciumphosphat-Basis mit einem Hydrogel kombinieren. Die Hydrogel-Komponente besteht häu-

fig aus extrazellulären Matrixproteinen, wie Kollagen oder Hyaluronsäure, aufgrund der hohen Wasserbindungskapazität.<sup>5</sup> Diese verwendeten Polymere werden allgemein mit der Heilung förderlichen Prozessen, wie einer erhöhten Adhäsion, Proliferation und Migration von Osteoblasten, und anderer heilungsassoziierter Kaskaden in Zusam-

menhang gebracht.<sup>6,7</sup> Zudem wurde im Falle anderer pastöser Materialien, wie beispielsweise einer Knochenpaste auf Grundlage von  $\beta$ -Tricalciumphosphatgranulaten mit Hyaluronsäure und Methylzellulose, ein gerichtetes Zell- und Gefäßeinwachsen von der Peripherie zum Implantatkern sowie eine erhöhte Knochenheilungsrate durch verschiedene



**Abb. 1:** Mehrstufiger Analyseprozess zur systematischen Bewertung der Gewebereaktion. Die Untersuchungsmethoden wurden basierend auf den Anforderungen der ISO-Normen DIN EN ISO 10993-6 und DIN EN ISO/IEC 17025 systematisiert.

# » Sicherheit für Chirurg und Patient

Sonderangebot 10%  
Code: #Chirurgie2022

ab 314,10 €

zzgl. MwSt.



## EthOss – Biphasisches $\beta$ -Tricalciumphosphat Knochenregenerationsmaterial

EthOss besteht zu 100 % aus synthetischen Calcium Sulfat Verbindungen. Die Besonderheit von EthOss besteht in seiner Zusammensetzung von 65 %  $\beta$ -TCP und 35 % Kalzium Sulfat. Dies führt zu einem schnellen Knochenumbau und einem stabilen Knochen volumen.

NEU

251,10 €

zzgl. MwSt.



Sonderangebot 10%  
Code: #Chirurgie2022

## EthOss – Degranulation Kit

Eignet sich perfekt für die Reinigung von Alveolen und zur Entfernung von Granulationsgewebe, ohne dabei den gesunden Knochen abzutragen. Inhalt eines Kits: 4 Bohrer (Größe: 1,0/ 2,5/ 3,0/ 3,5 mm) inkl. Metallständer, Absaugkanüle und Reinigungsbürste

Aktion  
5+1

ab 74,92 €

zzgl. MwSt.



Safescraper® gebogen

Safescraper® gerade

## Safescraper (je 3 Stck. steril, Einweg)

Sichere, minimalinvasive Entnahme – vielfach bewährt! Die intraorale Gewinnung von kortikalen Knochenspänen gelingt mittels dem originalen Safescraper® Twist medizinisch sicher, einfach und schnell.

55,00 €

zzgl. MwSt.



Sonderangebot 10%  
Code: #Chirurgie2022

## Micros

Für die minimalinvasive Gewinnung von autologem Knochen. Das gesamte Augmentat wird mit der Pinzette übertragen und in den jeweiligen Defekt eingebracht.

NEU

Preis SMARTACT evo  
2090,00 €

sterile PINS - 3 Stück  
36,00€

zzgl. MwSt.



## SMARTACT evo - Membran Fixierer im neuen Design

Mit SMARTACT evo lassen sich Membranen sicher, präzise und zeitreduziert fixieren. Die neuen PINS aus Reintitan ermöglichen eine sichere Verankerung, auch in sehr hartem Knochen. Das pneumatische System dient der Fixierung der PINS völlig ohne Kraftaufwand.

Aktion  
5+2

54,90 €

zzgl. MwSt.



## ParoMit® Dental-Spray, 30 ml

Unterstützt die Heilungsfunktion im Weichgewebe. Ideal nach oralchirurgischen Eingriffen bei Blutungs- und Entzündungsrisiken.

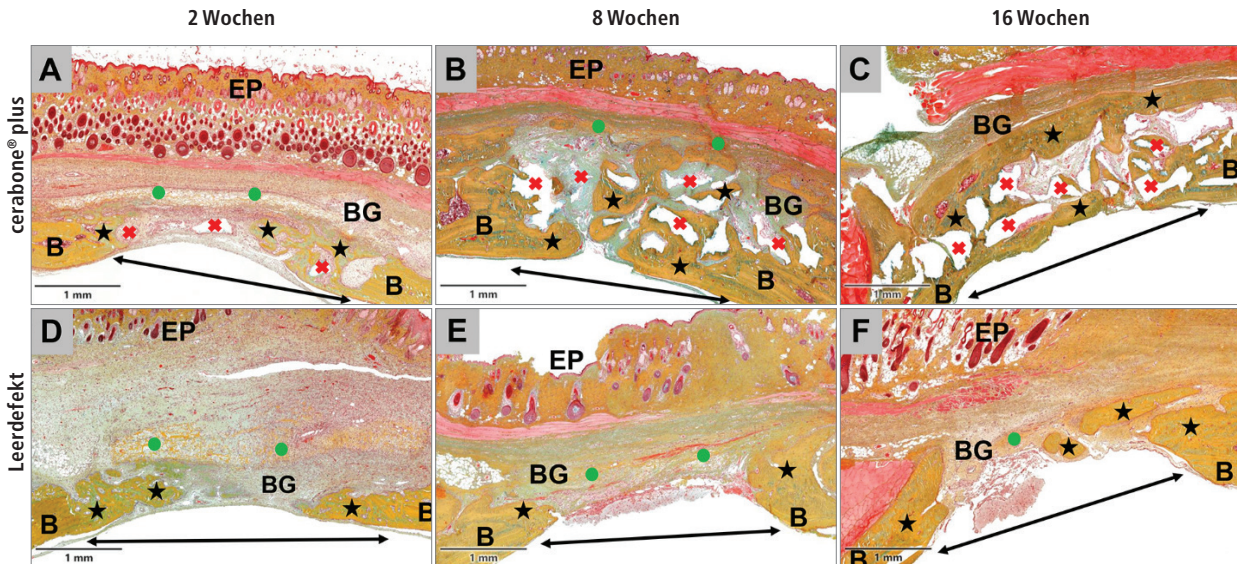
Zantomed GmbH  
Ackerstraße 1 · 47269 Duisburg  
info@zantomed.de · www.zantomed.de



Tel.: +49 (203) 60 799 8 0  
Fax: +49 (203) 60 799 8 70  
info@zantomed.de

Preise zzgl. MwSt. Irrtümer und Änderungen vorbehalten.  
Angebot gültig bis 30.04.2022

**zantomed**  
www.zantomed.de



**Abb. 2:** Der Knochenheilungsprozess in den Studiengruppen cerabone® plus (A–C) und der Leerkontrollgruppe (D–F) nach zwei Wochen, acht Wochen und 16 Wochen. Doppelpfeil = knöchernes Implantationsareal, B = ortständiger Knochen, schwarze Sterne = neu gebildeter Knochen, rote Kreuze = cerabone® plus, grüne Kreise = Reste der defektdeckenden Kollagenmembran, BG = Bindegewebe, EP = Epidermis (Movat-Pentachrom-Färbung, 100-fache Vergrößerung, Maßstab = 1 mm).

Studienergebnisse nachgewiesen.<sup>8–10</sup> Insgesamt kann damit geschlussfolgert werden, dass die Materialeigenschaften pastöser Knochenersatzmaterialien in Kombination mit den Vorteilen eines verbesserten Handlings interessante neue Anwendungsmöglichkeiten eröffnen. Darüber hinaus wurde der Modulation der Immunantwort durch Biomaterial-assoziierte molekulare Prozesse in den letzten Jahren immer mehr Beachtung geschenkt.<sup>11,12</sup> Es wird postuliert, dass über eine überwiegend antiinflammatorische Ausrichtung der Biomaterial-induzierten Gewebereaktion die Knöchendefektheilung verbessert werden kann.<sup>13,14</sup> Damit ist die Addition immunregulierender Hilfsstoffe wie der Biopolymere, insbesondere im Falle pastöser Knochenersatzmaterialien, interessant, da dies die Frage aufwirft, ob Matrixproteine wie Kollagen oder Hyaluronsäure auch die (molekular)biologische sowie die regenerative Kapazität eines Materials verändern können. Obwohl die Datenlage insgesamt heterogen ist, deuten Erkenntnisse aus präklinischen Untersuchungen sowie Ergebnisse klinischer Studien darauf hin, dass die zu einem Augmentat zugesetzte Hyaluronsäure einen positiven Einfluss auf die knöcherne Regeneration haben kann.<sup>1–5</sup> Um die Frage nach der biologischen und knochenregenerativen Aktivität von Hyaluronsäure zu beantworten,

wurde eine präklinische In-vivo-Studie mit einem innovativen KEM durchgeführt (cerabone® plus, botiss biomaterials), das aus einem in der Fachwelt bekannten xenogenen Granulat (cerabone®, botiss biomaterials) versetzt mit hochmolekularer Hyaluronsäure (1.9–2.1MDa) besteht.

Die Zielstellung dieser Studie, durchgeführt von der Firma BerlinAnalytix, lag insbesondere in der Fragestellung, ob das zugesetzte Natriumhyaluronat einen Einfluss auf die Gewebekompatibilität und das knöcherne Integrationsverhalten hat. Hierbei ist zu erwähnen, dass alle Untersuchungen dieser Studie basierend auf den Vorgaben der DIN EN ISO 10993-6 und DIN EN ISO/IEC 17025 durchgeführt wurden. Dies beinhaltet sowohl die histopathologischen als auch die histomorphometrischen Untersuchungen. Diese Untersuchungsmethoden wurden auch zum Zwecke der Untersuchung des neuartigen KEMs herangezogen.

#### Untersuchte Knochenersatzmaterialien

Das xenogene KEM wird aus dem Knochengewebe von Rindern gewonnen. Durch einen aufwendigen, mehrstufigen Reinigungsprozess ist das Produkt frei von potenziell immunogenen Bestandteilen. Um eine größtmögliche

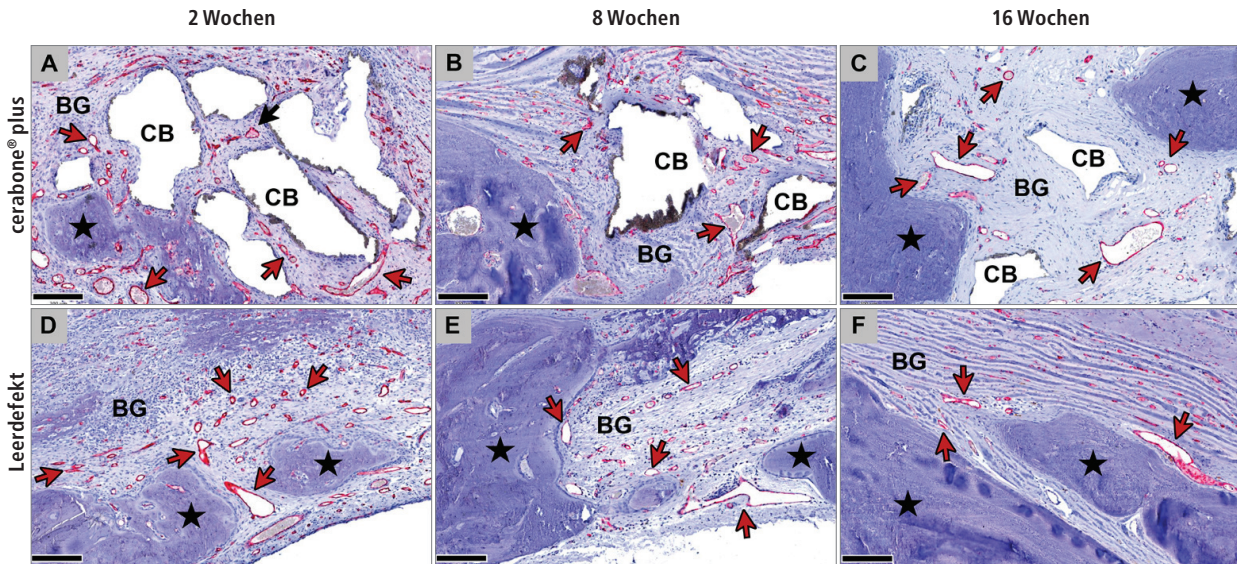
Sicherheit zu gewährleisten, wird das KEM während der Prozessierung auf über 1.200 °C erhitzt. Auf diese Weise werden zuverlässig alle organischen Bestandteile wie Zellen und Proteine entfernt und damit auch potenziell enthaltene Prionen eliminiert. Trotz dieser hohen Temperaturen bleibt die natürliche Struktur des Rinderknochens erhalten. Für die vorliegende Studie wurde das KEM mit einer Partikelgröße von 0,5–1 mm verwendet.

Das neuartige Material (cerabone® plus, botiss biomaterials), welches in dieser Studie untersucht wurde, ist eine Kombination aus dem zuvor beschriebenen KEM und natürlichem, nicht quervernetztem hochmolekularem Natriumhyaluronat, das biotechnologisch mittels bakterieller Fermentation gewonnen wird. Es wird trocken geliefert und bildet nach der Hydratation eine zusammenhängende Masse mit formbarer Konsistenz aus.

#### Material und Methoden

##### Studiendesign und Tiermodell

Die Studie wurde mit einem randomisierten sowie kontrollierten experimentellen Aufbau konzipiert, und das Studienprotokoll folgte hierbei bereits zuvor beschriebenen Methoden – angelehnt an die Vorgaben der DIN EN ISO 10993-6 und DIN EN ISO/IEC 17025.



**Abb. 3:** Das Vaskularisierungsmuster in den Studiengruppen cerabone® plus (A–C) und der Leerkontrollgruppe (D–F) nach zwei Wochen, acht Wochen und 16 Wochen. Rote Pfeile = Blutgefäße, schwarze Sterne = neu gebildeter Knochen, CB = cerabone® plus, BG = Bindegewebe, EP = Epidermis (Immunhistochemischer CD31-Nachweis, 200-fache Vergrößerung, Maßstab = 200 µm).

Die Implantation folgte einem Standardvorgehen und einem zuvor festgelegten Randomisierungsplan. Insgesamt fanden 42 Implantationen in zuvor präparierte kraniale Defekte kritischer Größe der Kalvarien von Wistar-Ratten statt. Die Explantate wurden nach zwei, acht und 16 Wochen entnommen und nach den bei der BerlinAnalytix etablierten Standards aufbereitet und untersucht. In dieser Studie wurde die veterinärmedizinische Standardversorgung gewährleistet und das Allgemeinbefinden der Tiere regelmäßig kontrolliert.

Die Auswertung beinhaltet die histopathologische Begutachtung, eine systematische Untersuchung der Biokompatibilität mithilfe eines Scoring-Systems sowie einen histomorphometrischen Vergleich sowohl der Knochenneubildungsraten als auch des Auftretens von pro- und antiinflammatorischen Makrophagensubtypen innerhalb der Implantationsareale.

Die europäische Norm DIN EN ISO 10993 bildete die Grundlage zur Bewertung der Sicherheit und Wirksamkeit. Die direkt nach der Entnahme angefertigten Schnittpräparate wurden analysiert, nach Zelltyp und Reaktionen eingestuft und einem Irritationswert zugeordnet, dem ein Scoring-System zur Erfassung histologischer Entzündungs- und Biokompatibilitätsmarker

zugrunde liegt. Das Augenmerk lag hierbei auf an der Reaktion beteiligten unterschiedlichen Zelltypen wie polymorphkernigen Zellen, Lymphozyten, Makrophagen, Plasmazellen und mehrkernigen Riesenzellen. Diese Form der Beurteilung erlaubt – nach dem Vergleich mit einem Referenzmaterial – eine Kategorisierung der beobachteten Reaktion in minimal (nicht reizend) bis schwer (stark irritierend).

#### Vorbereitung der Proben und Färbeverfahren

Die histologische Auswertung basierte zum einen auf mit Movat Pentachrome gefärbten Kunststoffschnitten (Technovit 9100 System). Zusätzlich wurden immunhistologische Färbungen mit verschiedenen Antikörpern vorgenommen, um die zelluläre Gewebeanwort qualitativ beurteilen zu können. Die Verteilung pro- und antiinflammatorischer

Makrophagensubtypen im Implantationsareal wurde über die Expression spezieller Transmembranproteine (CD11c und CD163) nachgewiesen. Mit der CD31-Färbung wurde das Muster der Gefäßbettvaskularisierung dargestellt. Diese und eine Reihe anderer Parameter, wie Knochenwachstum und weitere beteiligte Zelltypen, fibrotische und nekrotische Reaktionen, wurden herangezogen, um die Sicherheit und Wirksamkeit des neuartigen Biomaterials zu bewerten.

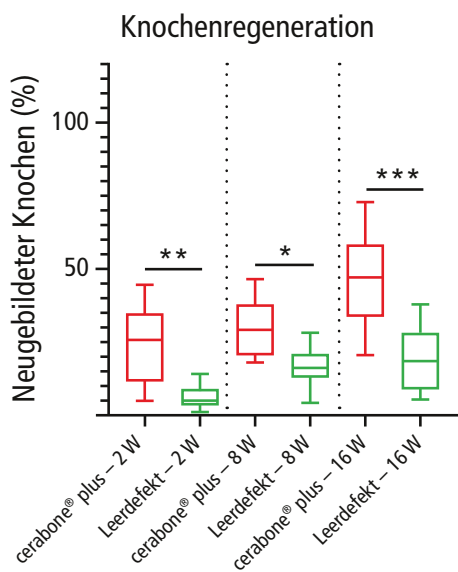
#### Bestimmung des Irritations-/Reaktivitäts-Scores nach DIN EN ISO 10993-6

Die Irritationswerte wurden gemäß den Angaben der ISO-Norm wie folgt berechnet:

Irritationswert des Testmaterials – Irritationswert des Kontrollmaterials = Irritationswert/Reaktivitätswert.

Gesamtergebnis	Irritations-/Reaktivitätsstatus
0,0–2,9	minimale oder keine Reaktion (nicht reizend)
3,0–8,9	leichte Reaktion (leicht reizend)
9,0–15,0	mäßige Reaktion (mäßige Reizung)
> 15,1	schwere Reaktion (stark reizend)

**Tab. 1:** Irritations-/Reaktivitätsgrad.



**Abb. 4:** Ergebnisse der histomorphometrischen Analyse der Knochenregeneration (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*  $p < 0,0001$ , \* = Signifikanz; W = Wochen).

Lag das Ergebnis im negativen Bereich, wurde der Irritations-/Reaktivitätswert als 0,0 betrachtet.

#### Statistik

Die mittels Histomorphometrie gewonnenen qualitativen Daten wurden einer Varianzanalyse mit anschließendem LSD-Post-hoc-Test unterzogen und die inter- (\*) als auch intraindividuellen (●) Signifikanzen bestimmt. Unterschiede wurden für signifikant befunden, wenn der p-Wert geringer als 0,05 (\*/\*●;  $p \leq 0,05$ ) war und hochsignifikant bei p-Werten kleiner 0,01 (\*\*/\*●●;  $p \leq 0,01$ ) oder 0,001 (\*\*\*/●●●;  $p \leq 0,001$ ).

#### Ergebnisse

Die histopathologischen Beobachtungen in Kombination mit der histomorphometrischen Analyse zeigten, dass das untersuchte KEM schrittweise in neu gebildeten Knochen integriert wurde, bis zum Vorliegen einer vollständigen Heilung der Knochendefekte. Dabei waren bereits nach zwei Wochen keine Rückstände der Hyaluronsäure mehr histologisch detekierbar. Die in beiden Studiengruppen vorliegende moderate inflammatorische Gewebereaktion zeigte vergleichbare Zahlen verschiedener entzündlicher Zelltypen, d. h. hauptsächlich

Makrophagen neben geringen Zahlen von Fibroblasten, Lymphozyten und wenige Granulozyten sowie mäßigen Zahlen kleiner Blutgefäße, und insgesamt eine abnehmende Tendenz im Verlauf der Studie. Insgesamt wurden zu allen Zeitpunkten in beiden Studiengruppen deutlich höhere Zahlen von antiinflammatorischen Makrophagensubtypen im Vergleich zu den Zahlen der proinflammatorischen Subtypen gefunden, was auf eine insgesamt wundheilungsfördernde Ausrichtung des KEMs hindeutet.

Die histologische Analyse der Vaskularisierung zeigte zusätzlich vergleichbare Gefäßzahlen und Gefäßflächen innerhalb der Implantationsbetten, die über den Studienverlauf leicht abnehmen, wobei die stärkste Abnahme in der Gruppe ohne Materialimplantation (Leerkontrolle) zu verzeichnen war.

Dabei wurde eine über den Studienverlauf ansteigende regenerative Kapazität des neuartigen KEMs, basierend auf den histomorphometrischen Messungen, festgestellt. Die Knochenbildung in der Biomaterialgruppe war durchgehend signifikant höher als in der Scheinoperationsgruppe (Abb. 4). Die histomorphometrische Analyse des Vorkommens von M1- und M2-Makrophagen zeigte, dass zu jedem Studienzeitpunkt vergleichbare Zahlen beider Subtypen innerhalb der Implantationsbetten des pastösen KEMs und der Kontrollddefektgruppe gefunden wurden. Darüber hinaus waren die Zahlen der antiinflammatorischen Zellen in beiden Gruppen und zu allen Studienzeitpunkten signifikant höher als die Zahlen der proinflammatorischen Makrophagen (\*\*  $p < 0,001$  und \*\*\*  $p < 0,0001$ ). Die histomorphometrische Analyse der Vaskularisierung zeigte, dass zu keinem der Studienzeitpunkte Unterschiede zwischen den Studiengruppen festgestellt werden konnten.

#### Bewertung der Biokompatibilität nach DIN EN ISO 10993-6

Die Ergebnisse des histopathologischen Scorings der Studie zeigten, dass der ermittelte Irritationsscore und -status für das KEM zu allen Zeitpunkten vergleichbar war und gemäß Reaktivitätsgrad als nicht reizend eingestuft

wurde. Der Wert lag zum Zeitpunkt zwei Wochen nach Implantation bei 2,96, nach acht Wochen bei 2,18 und nach 16 Wochen bei 0,17. Die Scoring-Werte der Gruppe ohne Biomaterialimplantation (Leerdefekte/Schein-OP) lagen erwartungsgemäß geringfügig unterhalb der Werte der Materialgruppe.

#### Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Studie, dass das neuartige KEM, das sich aus xenogenem Knochensatzmaterialgranulat und Hyaluronsäure zusammensetzt, eine gute Biokompatibilität und osteokonduktive Eigenschaften aufweist. Ähnliche M1- und M2-Makrophagenzahlen in der Augmentations- und Scheinoperationsgruppe belegen, dass das KEM keine ausgeprägten entzündlichen Gewebereaktionen hervorruft, was damit seine Reinheit und Gewebeverträglichkeit belegt. Die sich ausbildende formbare Konsistenz nach Hydratation ermöglichte eine effektive Defektaugmentation. Die überlegene Knochenneubildungsrate im Vergleich zur Scheinoperationsgruppe zeigt darüber hinaus eine effiziente knöcherne Regeneration. In-vitro-Versuche mit humanen Osteoblasten konnten zudem zeigen, dass das in cerabone® plus zugesetzte Natriumhyaluronat einen positiven Einfluss auf die Viabilität, Migration und Proliferation hat und damit eine schnellere Knochenbildung fördern kann.<sup>6</sup> Weitere Studien, insbesondere in verschiedenen klinischen Indikationen, sind nötig, um diese Erkenntnisse zu bestätigen.

#### Kontakt

**Dr. Mike Barbeck, PhD**

BerlinAnalytix GmbH

Ullsteinstraße 108

12109 Berlin

mike.barbeck@berlinanalytix.com

# Der dent.apart Zahnkredit

VERTRAGSBINDUNG?

*Nein danke!*

AUSZAHLUNG  
AUF DAS

*Praxiskonto!*

RÜCKBELASTUNG?

*Komplett ohne!*

GELD VOR  
BEHANDLUNGSBEGINN?

*yes!*

*scan mich!*



Jetzt kostenfrei Starterpaket bestellen!



Tel.: 0231 – 586 886 – 0



[www.dentapart.de](http://www.dentapart.de)



Einfach bessere Zähne.

**dent.apart**®