

Knochenregeneration mit makroporösem Octacalciumphosphat-beschichteten deproteinisierten bovinen KEM (Knochenersatzmaterial) beim Sinuslift: eine prospektive Pilotstudie

Jee-Ho Lee, DDS, PhD,* Jin-Hong Kim, DDS,† und Ju-Hong Jeon, MD, DDS, PhD‡

Ein geringes Alveolarknochenangebot war lange ein Problem bei einer geplanten Implantation. Beim zahnlosen Kieferkamm besonders im OK-Seitenzahnbereich kann es schnell zu einer Atrophie des Alveolarknochens nach der Zahnextraktion infolge einer fortgeschrittenen Parodontalerkrankung, einem Trauma, oder einer retinierten Zahnkaries kommen. Dafür sind spezielle rekonstruktive Verfahren notwendig, um den Alveolarknochen durch Knochenaufbau für die Implantation zu erhöhen. Wenn in sehr kompromittierten Situationen ein Sinuslift vorgenommen werden muss, ist der laterale Zugang zur Kieferhöhle die erste OP-Option. Unterschiedliche KEMs können beim Sinuslift verwendet werden, wie z.B. autologer Knochen, mineralisierte und demineralisierte gefriergetrocknete Allotransplantate, korallenartiges Calciumcarbonat, bioaktives Glas, synthetische Polymere, anorganischer boviner

Ziel: Untersuchung des osteogenen Potentials vom makroporösen Octacalciumphosphat (OCP)- beschichteten und deproteinisierten bovinen KEM (DBBMs) beim Sinuslift.

Studienplanung: Makroporöser OCP- beschichteter DBBM wurde vom bovinen Knochen durch thermische und chemische Prozedere hergestellt. Der seitliche Sinuslift (laterales Fenster) mit Experimentalknochen wurde bei 10 Patienten durchgeführt. 6 Monate nach der OP wurden 10 Proben von 10 Patienten gewonnen. Allerdings wurden 4 von ihnen ausgeschlossen da die Probenmenge für eine Evaluation nicht ausreichend war. Eine morphologische Untersuchung unter dem Rasterelekt-

ronenmikroskop und eine histologische Evaluation wurden durchgeführt.

Ergebnisse: OCP wurde gleichmäßig mit der Oberfläche des Experimental-KEM verbunden. Die Porengröße von OCP (300–400 μm) war größer als die von Bio-Oss (100–200 μm). Es zeigten sich Knochenneubildungsraten von 23,49% ($\pm 0,10$) und restliches KEM von 15,39% ($\pm 0,06$) in den Knochenproben.

Schlussfolgerung: Eine makroporöse Ausführung und OCP Beschichtung ist für die Knochenneubildung beim Sinuslift Erfolg versprechend.

(Implant Dent 2015; 24; 275-280).

Stichwörter: Sinuslift, Octacalciumphosphat, Makroporösität, bovinen KEM

Knochen, und synthetischer Hydroxylapatit (HA).¹⁻⁸ Allerdings ist autologer Knochen gegenüber anderen Materialien überlegen, in Hinblick auf den Widerstand gegen Infektionen, die KEM-Erfolgsrate, den Zellen-Reichtum, und die osteogene Zellmigration.^{3,9,10} Dennoch sind beim autologen Knochen zusätzliche OP-Verfahren notwendig, die Komplikationen bei der Spenderregion nach sich ziehen können, wie z.B. Hämatome und Verletzungen von benachbarten anatomischen Strukturen.¹¹ Zudem wurden relativ schnelle Resorptionen der autologen

KEM festgestellt, insb. mit einer schweren Pneumatisierung der Kieferhöhle.^{12,13}

Xenotransplantate und synthetische KEM wurden als gute Alternativen angesehen, um Mängel autologen KEMs auszugleichen. Es gibt zahllose Varianten in verschiedenen Größen und Formen. Sie können Begleitmoleküle wie verschiedene Hormone und Wachstumsfaktoren liefern, um Knochenneubildung zu fördern.^{14,15} Das Knochenaufbau-Verfahren hat häufig die Migration der osteogenen Mesenchymzellen und das Einwachsen von Mikrokapillarzellen im

*Clinical Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Surgery (klinischer Professor im Fachbereich MKG), Asan Medical Center, Seoul, Korea
† Resident, Department of Oral Maxillofacial Surgery (Fachbereich MKG), Seoul Asan Medical Center, Seoul, Korea.
‡Professor, Department of Oral and Maxillofacial Surgery (Professor, Fachbereich MKG), Asan Medical Center, Seoul, Korea.

Reprint requests and correspondence (Nachdruck von Anfragen und Korrespondenz) an: Ju-Hong Jeon, MD, DDS, PhD, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Asan Medical Center, 88, Olympic-ro, 43-gil, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea, Tel.: +82-2-3010-3958, Fax: +82-2-3010-6967, Email: amcomsjh@gmail.com

defekten Bereich zur Folge. Die Verfahren variieren entsprechend der Form und Makro- und Mikrogrößen der KEM, die durch einen thermochemischen Prozess und einer Oberflächenbehandlung kontrolliert werden.^{16,17} Durch den synthetischen HA mit einer kontrollierten Makroporengröße weist der Defektbereich reichlich Platz für das Einwachsen der Mikrogefäße und die Migration der Osteoblasten auf, welches eine erfolgreiche Knochenneubildung ermöglicht.¹⁸⁻²⁰ Die hohe Osteokonduktion von KEM fördert die Knochenneubildung, indem osteogene Zellen und Mikrogefäße einwachsen.²¹ Die Änderung der KEM zur Verbesserung der Osteokonduktion wurden ebenso untersucht.²² Die Oberflächenbehandlung der KEM wird auch als Hauptfaktor bei der Förderung der Knochenneubildung angesehen. Zudem neigt Octacalciumphosphat (OCP), ein HA-basiertes synthetisches KEM, zur relativ schnellen Resorption und dazu, prompt durch neuen Knochen ersetzt zu werden, im Vergleich zu anderen synthetischen KEM-Typen, wie β -Tricalciumphosphat (β -TCP) und HA.^{23,24} OCP dient als Vorreiter für Knochenneubildung nach dem Einsatz von KEM. OCP weist exzellente Biokompatibilität auf und dessen physikalische Eigenschaften können durch Änderung mit zusätzlichen Medien verbessert werden. Es ist vielseitig verwendbar.²⁵

Xenotransplantate haben exzellente osteokonduktive Eigenschaften und haben vielversprechende Ergebnisse beim Sinuslift erzielt. Darüber hinaus fördern sie die Osteogenese und haben eine sehr niedrige Resorptionsrate.^{26,27} Xenotransplantate bestehen aus natürlichen Knochenmineralien von anderen Spezies und haben extensive verbindende Poren und eine hohe Oberflächenenergie. Sie dienen als Gerüst auf das knochenbildende Zellen und Blutgefäße wandern, um neuen Knochen zu bilden.^{28,29} Zu den Xenotransplantaten gehört Bio-Oss (Geistlich Pharma, Wolhusen, Schweiz), das deproteinisierte bovine KEM (DBBM) beinhaltet, bei dem frühere Studien dessen klinische Stabilität und gute osteogene Eigenschaften belegten. Es wurde bei vielen Implantationen angewendet.^{2,12,13,26,30} Allerdings sollten die langsame Resorptionsrate und die Osteogenese verbessert

werden. Studien über die Veränderung der KEM wie die Oberflächenbehandlung und KEM-Ausführung werden noch durchgeführt, um Einschränkungen von DBBM zu überwinden.^{7,31,32}

In dieser Studie wurde durch thermische und chemische Behandlungen die KEM-Ausführung des konventionellen DBBM geändert, um Makroporen zu erhalten. Zudem wurden OCP-Granulate an der Oberfläche des KEM befestigt. Patienten, die einen zahnlosen Kieferkamm im OK-Seitenzahnbereich mit einer Alveolarknochen-Atrophie hatten, wurden für eine prospektive Implantation mit einem Sinuslift mit lateralem Zugang und mit makroporösem OCP-beschichtetem DBBM behandelt. Man erhielt KEM-Kerne 6 Monate nach der OP, um das osteogene Potential und die klinische Zuverlässig-

keit des geänderten DBBM zu evaluieren.

MATERIALIEN UND METHODEN

Präparation des OCP-beschichteten makroporösen bovines Knochens

Makroporöser OCP-beschichteter DBBM (Ti-Oss; Chiyewon, Seoul, Korea) wurde aus dem bovines Knochen hergestellt. OCP wurde nach der LeGeros-Methode vorbereitet und verarbeitet, um die Oberfläche des Experimentalknochens zu beschichten.³³ Um allgemein Fette und Proteine zu entfernen, wurden eine ausführliche Reinigung und ein thermisches Verfahren durchgeführt. Während dieses Prozesses schrumpft die Calcium-Kernstruktur des trabekulären Knochens um ca. 15%, mit einer daraus resultierenden tendenziell etwas größeren Porengröße.

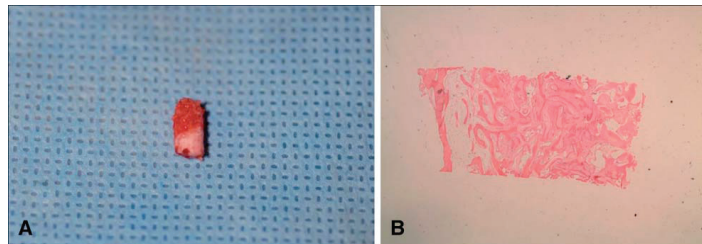


Abb. 1: Gewonnener Knochenkern (A) und histologische Präparation der Proben zur Bewertung (B)

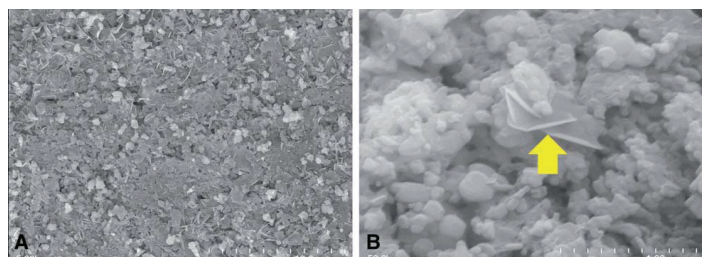


Abb. 2: OCP haftet an der bovines Knochenoberfläche A, Schuppenförmige OCPs sieht man auf der Oberfläche des KEM (X5.000, REM). B, OCP wurde in die runden Knochenpartikel eingebettet (gelber Pfeil x 50.000, REM). Die Abstufung auf der Skala zeigt 1 μ m.

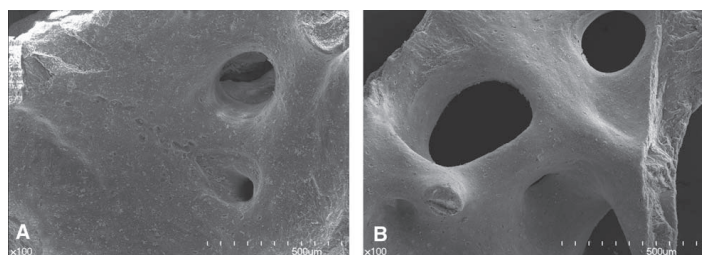


Abb. 3: Vergleich von Makroporen auf der Oberfläche der KEM (x 100, REM) A, Bio-Oss. B, Ti-Oss. Jede Abstufung auf der Skala zeigt 50 μ m.

Daraus ergibt sich einen biologischen Vorteil für die Knochenbildung, da leicht das Blut tief in der Pore absorbiert wird, was zu einem engem Gerinnsel führt. Der Knochen wurde im 1,2 bis 1,7 mm Bereich selektiv pulverisiert.

Patienten

10 Patienten wurden mit einem Sinuslift mit lateralem Zugang zur Kieferhöhle behandelt. Nach Anhebung der Sinusmembran wurde die Kieferhöhle mit zwischen 1,0 und 1,5g makroporösen OCP-beschichteten DBBM aufgefüllt. Das knöcherne Fenster wurde erneut positioniert, und der Wundverschluss wurde mit 4-0 Nylon durchgeführt. Den Patienten wurden für 5 Tage Antibiotika und Analgetika verschrieben, und die Fäden wurden 7 Tage nach der OP entfernt. Mit einem 3 mm Trepan-Bohrer wurden bei jedem Patient zylindrische Knochenkerne 6 bis 8 Monate nach dem Knochenaufbau entnommen. In die vom Trepan-Bohrer gebohrte Kavität, gefolgt von sequentiellen Bohrungen im Rahmen der Routine-Implantatbehandlung, wurde das Implantat eingesetzt. Entnommene Knochenkerne wurden zum histologischen Labor zur Evaluation geschickt (Abb. 1).

Diese Studie wurde gemäß ethischen Prinzipien der Declaration of Helsinki (Deklaration von Helsinki) durchgeführt. Das Studienprotokoll und die Einverständniserklärung wurden vom Institutional Review Board (Prüfungsgremium) vom Asan Medical Center überprüft und zugelassen. Die Einverständniserklärung wurde von allen Patienten eingeholt.

Oberflächenstruktur des KEM

Die OCP-Mikrostruktur der KEM-Oberfläche wurde untersucht. Die Makroporengröße auf der KEM-Oberfläche wurde mit der von Bio-Oss (Geistlich Pharma) verglichen, indem mit einer Elektronenmikroskopie gescannt wurde (S-4300; Hitachi, Tokio, Japan).

Histologischer Prozess und Lichtmikroskopie-Bildgebung

Die Knochenkerne wurden in 10% Formalin für 24 Stunden fixiert. Sie wurden in Alkohol dehydriert, gespült, und in Paraffin eingebettet. Sie wurden in einer Stärke von 5,0µm unterteilt. Die Proben wurden mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt. Eine Histomorphometrie wurde

mit einem Lichtmikroskop durchgeführt. Bilder wurden mit einer Digitalkamera aufgenommen, um die Proportionen der Knochenneubildung und des Rest-KEM zu evaluieren.

ERGEBNISSE

OCP-Behandlung

Octacalcium haftete erfolgreich an der Oberfläche des Experimental-KEM. OCPs wurden gleichmäßig auf der Knochenfläche verteilt (Abb. 2A), hatten eine schuppenartige Form, und waren zwischen den runden Knochenpartikeln eingebettet (Abb. 2B).

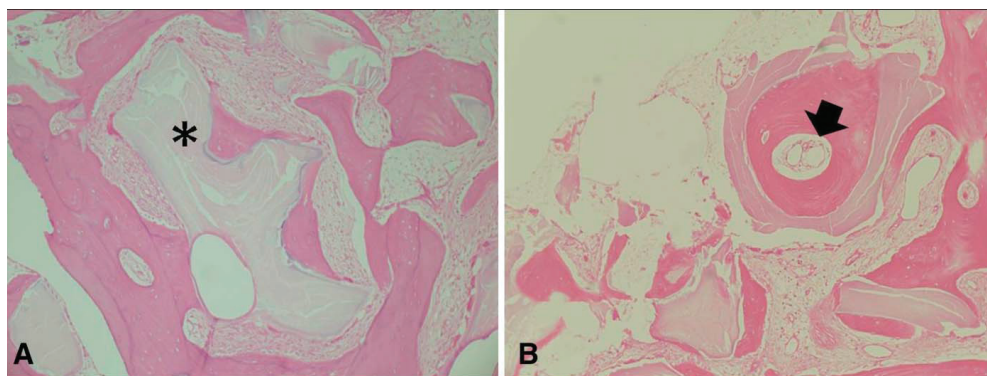


Abb.4 Knochenneubildung des KEM Ti-Oss in der menschlichen Kieferhöhle. A, Rest-KEM (*) war von neugeformtem Knochen umgeben (Hämatoxylin und Eosin-Färbung, x 40). B, Einwachsen von Mikrogefäßen im neugeformten Knochen (Pfeil) mit Lakunen in der Knochenlamelle (Hämatoxylin und Eosin Färbung, x 100).

Tabelle 1. Knochenneubildung und Rest-KEM in den Proben

Probe	Neuer Knochen (%)	KEM (%)
1	27,64	16,00
2	16,14	5,33
3	11,10	11,86
4	18,40	24,47
5	35,95	17,01
6	31,69	17,64
Durchschnittswert	23,49	15,39

Proben 3 und 4 hatten mehr Rest-KEM als neugeformten Knochen. In den anderen Proben war mehr neugeformter Knochen als Rest-KEM. Die Knochenneubildung lag bei durchschnittlich 23,49% (±0,10) und das Rest-KEM lag bei durchschnittlich 15,39% (±0,06).

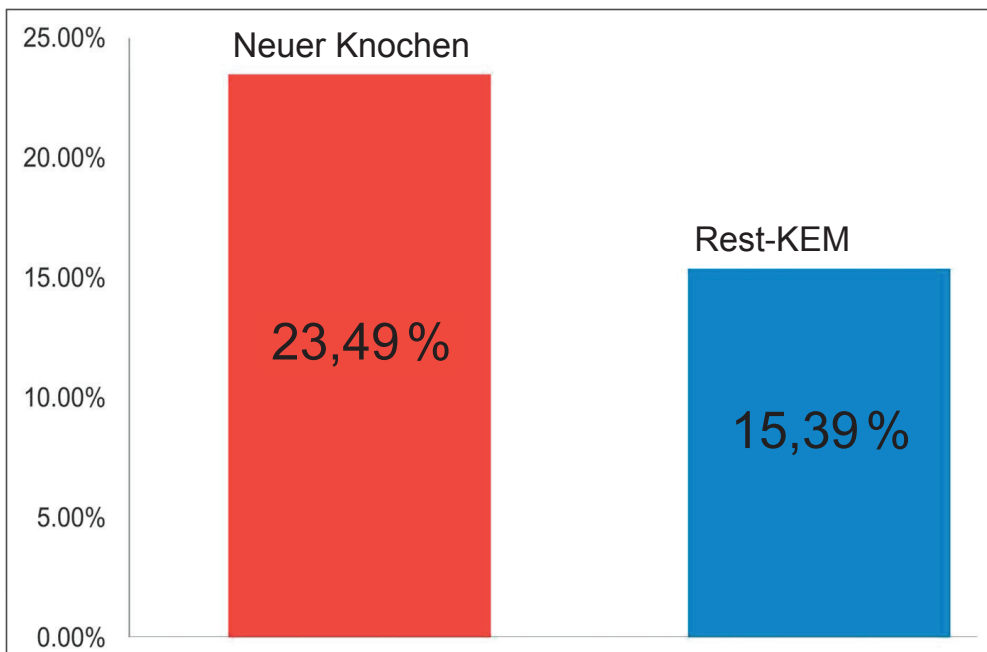


Abb. 5: Durchschnittliche Knochenneubildung und Rest-KEM im gewonnenen zylindrischen Knochenkern.

Makroporengrößen-Vergleich

Die Makroporengröße von Ti-Oss wurde mit der von Bio-Oss (Geistlich Pharma) verglichen. Mit x 100 Vergrößerung hatte Ti-Oss eine größere Porengröße (300–400 µm) als Bio-Oss (100–200 µm), was günstige Bedingungen für das Einwachsen von kapillaren und osteogenen Zellen waren (Abb. 3)

KEM und Knochenneubildung

4 von 10 Proben von 10 Patienten wurden entsorgt, da die gewonnenen Proben nicht genug KEM für die Evaluation hatten. Deshalb wurden 6 Proben für die histomorphometrische Analyse verwendet. Neuer Knochen lag bei 23,49% ($\pm 0,10$) und Rest-KEM bei 15,39% ($\pm 0,06$) (Tabelle 1 und Abb. 4 und 5). Demzufolge war mehr neugebildeter Knochen als Rest-KEM.

DISKUSSION

In der Zahnimplantologie ist es unerlässlich, den zahnlosen OK-Seitenzahnbereich zu behandeln und die Okklusion für die Kaufunktion wiederherzustellen. Im OK-Seitenzahnbereich kommt es nach dem Zahnverlust schnell zu einer Knochenresorption, weswegen in den meisten Fällen zusätzliche OPs wie Knochenaufbauten notwendig sind.^{34,35} Generell können zwei OP-Methoden für die Rekonstruktion des Alveolarknochens im zahnlosen OK-Seitenzahnbereich angewendet werden: die laterale Fenstertechnik und die transalveoläre Technik.^{36,37} Bei einer Höhe des Restalveolarknochens von weniger als 6 mm wird die laterale Fenstertechnik empfohlen. Seitdem diese Technik erstmals von Tatum erfolgreich durchgeführt und beschrieben wurde ist sie für die Rekonstruktion der vertikalen Defekte beim Alveolarknochen des OK-Seitenzahnbereichs weitverbreitet.³⁷ Nach einem Sinuslift können im geschaffenen Hohlraum in der Kieferhöhle verschiedene KEM eingebracht werden, wie autologer Knochen, Allotransplantate, Xenotransplantate, synthetisches HA sowie kombinierte KEM.³⁸⁻⁴⁰

Das ideale KEM für den Sinuslift sollte den Hohlraum für das Einwachsen des neuen Knochens und die Osseointegration von gesetzten Implantaten stabilisieren

und bis zur Knochenkonsolidierung nach der prothetischen Versorgung beibehalten werden. Zudem sollte das ideale Material osteokonduktive Eigenschaften für die Migration der angrenzenden osteogenen Zellen aufweisen. Natürlich sollte das ideale KEM nicht die Morbidität beim Patient verursachen.³⁴

Im Vergleich zu anderen KEM ist autologer Knochen osteokonduktiver, osteoinduktiver, und biokompatibler. Es ist auch sehr stabil und widerstandsfähig gegen Infektion nach dem Knochenaufbau. Deshalb galt autologer Knochen lange als Goldstandard bei KEM für Implantationen. Ein zusätzliches OP-Verfahren für den Einsatz des KEM ist allerdings notwendig, was zu Verletzungen von anatomischen Strukturen wie vom unteren Alveolarnerv und Sinusboden sowie zu damit verbundenen klinischen Komplikationen führt. Deshalb wird nach autologem KEM-Alternativen gesucht³¹. Es gibt ein unbegrenztes Angebot an synthetischem KEM. Bei Bedarf kann die Größe und die Form der KEM kontrolliert werden. Sie können so entworfen werden, dass osteogene Moleküle wie Wachstumsfaktoren und Hormone geliefert werden.⁴¹ DBBM wurde am häufigsten als alternatives KEM zu autologem Knochen verwendet.^{2,5} Bio-Oss (Geistlich Pharma), ein repräsentativer Typ von DBBM, ist klinisch weitverbreitet. Es handelt sich um ein HA-Typ aus natürlichem bovinen Knochen, das aus 10 µm Granulaten mit einer Porosität von 75–80% besteht und das zu einem komplett deproteinisierten Zustand verarbeitet wird.³¹ Bio-Oss verfügt über eine exzellente Osteokonduktion und wird langsam absorbiert. Dadurch dient es dem Erhalt des Hohlraums unter der angehobenen Sinusmembran⁴² und als Gerüst für das Einwachsen von osteogenen Stammzellen.⁴³ Laut Forum et al⁴⁴ hat Bio-Oss die augmentierte Höhe des Alveolarknochens für mehr als 3 Jahre beibehalten und Pneumatisierung verhindert.

Studien von Valentini et al,⁴⁵ Lee et al,³² Hallman et al,⁴⁶ und Wallace et al⁴³ berichteten über die Knochenneubildung und Restknochen-KEM nach einem Sinuslift mit dem Einsatz von DBBM. Die Studien zeigten, dass zum Zeitpunkt der Implantation der augmentierte Alveolarknochen

mehr aus Rest-KEM als aus neuem Knochen bestand. Im Gegensatz dazu haben Yildirim et al,⁶ Lee et al,⁴⁷ Choi et al,⁴⁸ de Vicente et al,¹ und Ferreira et al⁴⁹ in ihren Studien mehr Knochenneubildung als Rest-KEM beobachtet. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit dieser Studie, bei der sich als Ergebnis 23,49% Knochenneubildung und 15,39% Restmaterial herausgestellt hat.

Obwohl die Zusammensetzung von neugebildetem Knochen und Restknochen entsprechend der Studienplanung und der Beobachtungsmethode variieren kann, hat diese Studie bei der Analyse der Knochenkerne gezeigt, dass mehr neuer Knochen als Rest-KEM vorhanden war, was die gute Fähigkeit zur Knochenneubildung vom OCP-beschichteten DBBM Material belegt.

Osteokonduktion ist eine essenzielle Eigenschaft für die Knochenneubildung beim DBBM³². Die Angiogenese sollte als erstes berücksichtigt werden da osteogene Zellen durch Mikrogefäße migrieren können, um die Osteokonduktion zu fördern.²¹ Das KEM sollte den ausgedehnten Hohlraum unterstützen und als Gerüst für die Angiogenese dienen.¹⁶ In der Gerüstausführung des osteokonduktiven Materials können große Poren als zentralen Knochenmark-Hohlraum für die umgebende Knochenbildung dienen.³¹ Das Makro- und Mikroporennetzwerk vom HA dient als Gerüst, das die Knochenneubildung induziert¹⁸⁻²⁰ und das auch die Knochenbildung fördert, weil Mikrogefäße und Mesenchymzellen in den notwendigen Hohlraum migrieren und Zelladhäsion und Proliferation gewährleisten.³¹ Die Makroporengröße ist für die Angiogenese von Bedeutung.²² Herbert et al⁵⁰ haben herausgefunden, dass die minimale Porengröße für die Knochenregeneration bei mehr als 100 µm lag. Mehrere Studien haben gezeigt, dass die optimale Makroporengröße von DBBM für die erfolgreiche Knochenregeneration größer ist als 300 µm.⁵¹⁻⁵⁴ Die Porengröße hat einen Einfluss auf die direkte Migration der osteogenen Zellen und Mikrogefäße. Man hat herausgefunden, dass kombinierte Mikro- und Makroporengrößen die makromolekulare Absorption, die Zelladhäsion, und die knochenmorphogenetische Proteinbildung erhöhen und dadurch die

Knochenheilung fördern.^{23,55-57} Bei einer Rasterelektronenmikroskop-Analyse in dieser Studie wurde im Vergleich zu Bio-Oss beim makroporösen DBBM eine relativ große Makroporengröße (300~400 µm) (Abb.3) sowie eine höhere Zusammensetzung des neuen Knochens festgestellt. In den Makroporen wurde auch eine dominante Angiogenese beobachtet (Abb.4).

Unter den synthetischen KEM sind die synthetische HA und β -TCP am meisten verbreitet.^{58,59} Diese Materialien weisen eine exzellente Gewebekompatibilität auf und haben einen direkten Kontakt zwischen KEM und neuem Knochen ohne Zusammenstoß der Zellinhalte.^{60,61} OCP als synthetisches KEM ist der Vorläuferstoff des biologischen Apatits, das sich in biologischen HA unter der Periostmembran umwandelt.⁶² Durch die lokale Hydrolyse oder Auflösung von OCP wird der Vorläuferstoff zu HA umgewandelt, gefolgt von einer HA-Präzipitation.^{24,63} Metallische Implantate können mit OCP beschichtet werden, das an einem Mikrogerüst in Form von Granulaten haftet.^{55,64} Kamakura et al⁶⁵ haben herausgefunden, dass OCP im Vergleich zu anderen β -TCP und HA relativ langsam absorbiert wurde und zur aktiven Knochenbildung fähig war. In ihrer Untersuchung über den Einsatz von OCP im Calvariadefekt der Ratte konnte eine Knochenbildung durch OCP festgestellt werden. Fuji et al¹⁸ haben ein Alginat-Gerüst verwendet, um die Fragilität von OCP zu überwinden und untersuchten den optimalen physikalischen OCP-Typ. Sie berichteten über die Fähigkeit zur Knochenbildung entsprechend der Porengröße.

SCHLUSS

In dieser Studie haben wir das Potential an Knochenneubildung des makroporösen OCP-beschichteten DBBM untersucht, aber die klinischen Daten reichen noch nicht aus, um aus der statistischen Analyse eine endgültige Schlussfolgerung zu ziehen. Nachfolgestudien zur Pilotstudie sind notwendig. Allerdings haben wir herausgefunden, dass eine makroporöse Ausführung und eine OCP-Beschichtung die mikrovaskuläre Angiogenese sowie die Migration der osteogenen Zellen för-

dern könnten und somit beim Sinuslift eine günstige Umgebung für die Knochenneubildung sind.

VERÖFFENTLICHUNG

Die Autoren haben weder direkt noch indirekt ein finanzielles Interesse an den im Artikel erwähnten Produkte oder Informationen.

LITERATUR

1. de Vicente JC, Hernández-Vallejo G, Braña-Abascal P, et al. Maxillary sinus augmentation with autologous bone harvested from the lateral maxillary wall combined with bovine-derived hydroxyapatite: Clinical and histologic observations. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21:430–438.
2. Froum SJ, Wallace SS, Elian N, et al. Comparison of mineralized cancellous bone allograft (Puros) and anorganic bovine bone matrix (Bio-Oss) for sinus augmentation: Histomorphometry at 26 to 32 weeks after grafting. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006;26: 543-551.
3. Klijn RJ, Meijer GJ, Bronkhorst EM, et al. A meta-analysis of histomorphometric results and graft healing time of various biomaterials compared to autologous bone used as sinus floor augmentation material in humans. *Tissue Eng Part B Rev.* 2010;16:493–507.
4. Kolerman R, Tal H, Moses O. Histomorphometric analysis of newly formed bone after maxillary sinus floor augmentation using ground cortical bone allograft and internal collagen membrane. *J Periodontol.* 2008; 79:2104–2111.
5. Merckx MA, Maltha JC, Stoelinga PJ. Assessment of the value of anorganic bone additives in sinus floor augmentation: A review of clinical reports. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2003;32:1–6.
6. Yildirim M, Spiekermann H, Handt S, et al. Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: A histologic and histomorphometric clinical study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001;16:23–33.
7. Valentini P, Abensur D, Densari D, et al. Histological evaluation of Bio-Oss in a 2-stage sinus floor elevation and implantation procedure. A human case report. *Clin Oral Implants Res.* 1998;9:59–64.
8. Misch CE, Dietsh F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent.* 1993;2:158–167.
9. Jensen OT, Shulman LB, Block MS, et al. Report of the Sinus Consensus Conference of 1996. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998;13(suppl):11–45.

10. Tong DC, Rioux K, Drangsholt M, et al. A review of survival rates for implants placed in grafted maxillary sinuses using meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998;13:175–182.

11. 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.

12. Jensen T, Schou S, Svendsen PA, et al. Volumetric changes of the graft after maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss and autogenous bone in different ratios: A radiographic study in minipigs. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23:902–910.

13. Jensen T, Schou S, Stavropoulos A, et al. Maxillary sinus floor augmentation with Bio-Oss or Bio-Oss mixed with autogenous bone as graft in animals: A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2012;41:114–120.

14. Damien E, Revell PA. Coralline hydroxyapatite bone graft substitute: A review of experimental studies and biomedical applications. *J Appl Biomater Biomech.* 2004;2:65–73.

15. Ashman A, Lopinto J. Placement of implants into ridges grafted with bioplastic HTR synthetic bone: Histological long-term case history reports. *J Oral Implantol.* 2000; 26:276–290.

16. Kuboki Y, Takita H, Kobayashi D, et al. BMP-induced osteogenesis on the surface of hydroxyapatite with geometrically feasible and nonfeasible structures: Topology of osteogenesis. *J Biomedical Materials Res.* 1998;39:190–199.

17. Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials.* 2005;26: 5474–5491.

18. Ripamonti U, Van den Heever B, Van Wyk J. Expression of the osteogenic phenotype in porous hydroxyapatite implanted extraskeletally in baboons. *Matrix.* 1993;13:491–502.

19. Ripamonti U, Schnitzler CM, Cleaton-Jones PC. Bone induction in a composite allogeneic bone/alloplastic implant. *J Oral Maxillofac Surg.* 1989;47: 963–969.

20. Ripamonti U. Osteoinduction in porous hydroxyapatite implanted in heterotopic sites of different animal models. *Biomaterials.* 1996;17:31–35.

21. Schenk RK, Buser D, Hardwick WR, et al. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: A histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1994; 9:13–29.

22. Park JW, Kim ES, Jang JH, et al. Healing of rabbit calvarial bone defects using biphasic calcium phosphate ceramics made of submicron-sized grains with a hierarchical pore structure. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21: 268–276.

23. Rouahi M, Gallet O, Champion E, et al. Influence of hydroxyapatite microstructure on human bone cell response. *J Biomed Mater Res A.* 2006;78: 222–235.

24. Brown WE, Eidelman N, Tomazic B. Octacalcium phosphate as a precursor in biomineral formation. *Adv Dent Res*. 1987;1:306–313.
25. Fuji T, Anada T, Honda Y, et al. Octacalcium phosphate-precipitated alginate scaffold for bone regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2009;15:3525–3535.
26. Tadjoedin ES, de Lange GL, Bronckers AL, et al. Deproteinized cancellous bovine bone (Bio-Oss) as bone substitute for sinus floor elevation. A retrospective, histomorphometrical study of five cases. *J Clin Periodontol*. 2003;30:261–270.
27. Kurkcu M, Benlidayi ME, Cam B, et al. Anorganic bovine-derived hydroxyapatite vs beta-tricalcium phosphate in sinus augmentation: A comparative histomorphometric study. *J Oral Implantol*. 2012;38:519–526.
28. Yang C, Liu Y, Li C, et al. Repair of mandibular defects by bone marrow stromal cells expressing the basic fibroblast growth factor transgene combined with multi-pore mineralized Bio-Oss. *Mol Med Rep*. 2013;7:99–104.
29. Komlev VS, Mastrogiacomo M, Pereira RC, et al. Biodegradation of porous calcium phosphate scaffolds in an ectopic bone formation model studied by X-ray computed microtomograph. *Eur Cell Mater*. 2010;19:136–146.
30. Froum SJ, Wallace SS, Cho SC, et al. Histomorphometric comparison of a biphasic bone ceramic to anorganic bovine bone for sinus augmentation: 6- to 8-month postsurgical assessment of vital bone formation. A pilot study. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2008;28:273–281.
31. Pettinicchio M, Traini T, Murmura G, et al. Histologic and histomorphometric results of three bone graft substitutes after sinus augmentation in humans. *Clin Oral Investig*. 2012;16:45–53.
32. Lee DZ, Chen ST, Darby IB. Maxillary sinus floor elevation and grafting with deproteinized bovine bone mineral: A clinical and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res*. 2012;23:918–924.
33. LeGeros RZ. Preparation of octacalcium phosphate (OCP): A direct fast method. *Calcif Tissue Int*. 1985;37:194–197.
34. Block MS, Kent JN. Maxillary sinus grafting for totally and partially edentulous patients. *J Am Dental Assoc*. 1993;124:139–143.
35. Del Fabbro M, Testori T, Francetti L, et al. Systematic review of survival rates for implants placed in the grafted maxillary sinus. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2004;24:565–577.
36. Summers RB. The osteotome technique: Part 4-future site development. *Compend Contin Educ Dent*. 1995;16:1090. 1092 passim; 1094–1096, 1098, quiz 1099.
37. Tatum H Jr. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am*. 1986;30:207–229.
38. Piattelli A, Scarano A, Quaranta M. High-precision, cost-effective cutting system for producing thin sections of oral tissues containing dental implants. *Biomaterials*. 1997;18:577–579.
39. Traini T, Degidi M, Sammons R, et al. Histologic and elemental microanalytical study of anorganic bovine bone substitution following sinus floor augmentation in humans. *J Periodontol*. 2008;79:1232–1240.
40. 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;6:155–163.
41. Wallace SS, Froum SJ, Tarnow DP. Histologic evaluation of a sinus elevation procedure: A clinical report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1996;16:46–51.
42. Xu H, Shimizu Y, Asai S, et al. Grafting of deproteinized bone particles inhibits bone resorption after maxillary sinus floor elevation. *Clin Oral Implants Res*. 2004;15:126–133.
43. Wallace SS. Lateral window sinus augmentation using bone replacement grafts: A biologically sound surgical technique. *Alpha Omegan*. 2005;98:36–46.
44. Froum SJ, Tarnow DP, Wallace SS, et al. Sinus floor elevation using anorganic bovine bone matrix (OsteoGraf/N) with and without autogenous bone: A clinical, histologic, radiographic, and histomorphometric analysis-part 2 of an ongoing prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1998;18:528–543.
45. Valentini P, Abensur D, Wenz B, et al. Sinus grafting with porous bone mineral (Bio-Oss) for implant placement: A 5-year study on 15 patients. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2000;20:245–253.
46. Hallman M, Lundgren S, Sennerby L. Histologic analysis of clinical biopsies taken 6 months and 3 years after maxillary sinus floor augmentation with 80% bovine hydroxyapatite and 20% autogenous bone mixed with fibrin glue. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2001;3:87–96.
47. Lee YM, Shin SY, Kim JY, et al. Bone reaction to bovine hydroxyapatite for maxillary sinus floor augmentation: Histologic results in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2006;26:471–481.
48. Choi KS, Kan JY, Boyne PJ, et al. The effects of resorbable membrane on human maxillary sinus graft: A pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24:73–80.
49. Ferreira CE, Novaes AB, Haraszthy VI, et al. A clinical study of 406 sinus augmentations with 100% anorganic bovine bone. *J Periodontol*. 2009;80:1920–1927.
50. Hulbert SF, Young FA, Mathews RS, et al. Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses. *J Biomed Mater Res*. 1970;4:433–456.
51. Gauthier O, Bouler JM, Aguado E, et al. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: Influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth. *Biomaterials*. 1998;19:133–139.
52. Götz HE, Müller M, Emmel A, et al. Effect of surface finish on the osseointegration of laser-treated titanium alloy implants. *Biomaterials*. 2004;25:4057–4064.
53. Kuboki Y, Jin Q, Kikuchi M, et al. Geometry of artificial ECM: Sizes of pores controlling phenotype expression in BMP-induced osteogenesis and chondrogenesis. *Connect Tissue Res*. 2002;43:529–534.
54. Tsuruga E, Takita H, Itoh H, et al. Pore size of porous hydroxyapatite as the cell-substratum controls BMP-induced osteogenesis. *J Biochem*. 1997;121:317–324.
55. Barrère F, van der Valk CM, Dalmeijer RA, et al. Osteogenicity of octacalcium phosphate coatings applied on porous metal implants. *J Biomed Mater Res A*. 2003;66:779–788.
56. Lecomte A, Gautier H, Bouler JM, et al. Biphasic calcium phosphate: A comparative study of interconnected porosity in two ceramics. *J Biomed Mater Res B*. 2008;84:1–6.
57. Yuan H, Zou P, Yang Z, et al. Bone morphogenetic protein and ceramic-induced osteogenesis. *J Mater Sci Mater Med*. 1998;9:717–721.
58. Nunes CR, Simske SJ, Sachdeva R, et al. Long-term ingrowth and apposition of porous hydroxylapatite implants. *J Biomed Mater Res*. 1997;36:560–563.
59. Vanassche BJ, Stoeltinga PJ, de Koomen HA, et al. Reconstruction of the severely resorbed mandible with interposed bone grafts and hydroxylapatite. A 2-3 year follow-up. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1988;17:157–160.
60. Rawlings CE III. Modern bone substitutes with emphasis on calcium phosphate ceramics and osteoinductors. *Neurosurgery*. 1993;33:935–938.
61. Spector M. Anorganic bovine bone and ceramic analogs of bone mineral as implants to facilitate bone regeneration. *Clin Plast Surg*. 1994;21:437–444.
62. Suzuki O, Nakamura M, Miyasaka Y, et al. Bone formation on synthetic precursors of hydroxyapatite. *Tohoku J Exp Med*. 1991;164:37–50.
63. Bigi A, Boanini E, Falini G, et al. Effect of sodium polyacrylate on the hydrolysis of octacalcium phosphate. *J Inorg Biochem*. 2000;78:227–233.
64. Barrere F, Layrolle P, van Blitterswijk CA, et al. Biomimetic calcium phosphate coatings on Ti6Al4V: A crystal growth study of octacalcium phosphate and inhibition by Mg²⁺ and HCO₃. *Bone*. 1999;25(2 suppl):107S–111S.
65. Kamakura S, Sasano Y, Homma H, et al. Implantation of octacalcium phosphate nucleates isolated bone formation in rat skull defects. *Oral Dis*. 2001;7:259–265.