

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Klinik und Poliklinik für Mund- und Kiefer-Gesichtschirurgie

- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Dr. h.c. U. Joos –

**BIOLOGISCHE KNOCHENUMBAUVORGÄNGE AN IMPLANTATEN NACH  
VERSCHIEDENEN AUFBEREITUNGSTECHNIKEN**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae dentium

der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Vorgelegt von:

von Weyhrother, Hendrik

aus Rheine

2005

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: OA PD Dr. med. Dr. med. dent. U. Meyer

2. Berichterstatter: OA PD Dr. med. U. Liljenqvist

Tag der mündlichen Prüfung: 06.07.2005

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Klinik und Poliklinik für Mund- und Kiefer-Gesichtschirurgie

- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Dr. h.c. U. Joos –

Referent: OA PD Dr. med. Dr. med. dent. U. Meyer

Koreferent: OA PD Dr. med. U. Liljenqvist

## **ZUSAMMENFASSUNG**

### **BIOLOGISCHE KNOCHENUMBAUVORGÄNGE AN IMPLANTATEN NACH VERSCHIEDENEN AUFBEREITUNGSTECHNIKEN**

Hendrik von Weyhrother

In dieser Studie wird der Einfluß der verschiedenen Aufbereitungstechniken auf die frühe Osseointegration von SLA ITI® Zylinderimplantaten im Tiermodell verglichen. Insgesamt wurden 84 Implantate in die kranialen und kaudalen rechten und linken Tibiaknochen von 8 männlichen Göttingerminischweinen inseriert. Die Implantatbetten wurden zur einen Hälfte mittels der Osteotomtechnik (Untersuchungsgruppe) aufbereitet, zur anderen Hälfte mittels konventioneller Aufbereitung mit rotierenden Instrumenten (Kontrollgruppe) bearbeitet. Die eine Hälfte der Tiere wurde nach sieben Tagen, die andere Hälfte der Tiere nach 28 Tagen eingeschläfert und jeweils die Implantate mit dem ihnen umgebenden Tibiaknochen entnommen. Die Proben wurden lichtmikroskopisch, rasterelektronenmikroskopisch und histomorphometrisch ausgewertet. Nach sieben Tagen betrug die durchschnittliche Knochen-Implantat-Kontaktrate  $35,88 \% \pm 2,94 \%$  für die Osteotomtechnikgruppe und  $43,78 \% \pm 3,39 \%$  für die Kontrollgruppe ( $p < 0,095$ ). Das ermittelte Ergebnis deutete auf einen Vorteil der Untersuchungsgruppe hin, der Unterschied war statistisch nicht signifikant. Nach 28 Tagen war die Knochen-Implantat-Kontaktrate für die Kontrollgruppe signifikant besser; ( $63,47 \% \pm 4,87 \%$ ) im Vergleich zu der Osteotomgruppe ( $42,91 \% \pm 3,6 \%$ , ( $p = 0,003$ )). Lichtmikroskopisch konnten in beiden Gruppen neue Knochenanlagerungen und Formationen gezeigt werden. Bei der rasterelektronenmikroskopischen Analyse wurde ein direkter Knochen-Implantat-Kontakt ohne fibröse Gewebeeinlagerung über die gesamte Implantatoberfläche nachgewiesen. In beiden Gruppen kam es aufgrund neuer Knochenbildung zu einer erfolgreichen Osseointegration der Implantate im spongiosen Knochen. Die konventionelle Methode zeigte in der initialen Einheilphase einen Vorteil gegenüber der Osteotomtechnik.

*Meinen lieben Eltern*

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>ALLGEMEINE GRUNDLAGEN.....</b>	<b>1</b>
1.1	DIE EVOLUTION IN DER IMPLANTOLOGIE.....	1
1.2	DENTALE IMPLANTATE .....	3
1.3	IMPLANTATMATERIAL .....	4
1.4	IMPLANTATFORMEN .....	4
1.5	IMPLANTATDIMENSIONEN.....	5
1.6	UNTERSCHIEDE IN DER OBERFLÄCHENBESCHAFFENHEIT.....	6
1.7	DIE ENTWICKLUNGSGESCHICHTE AM BEISPIEL DES ITI-IMPLANTATES .....	7
1.8	DER EINHEILMODUS/ DIE EINHEILPHASE .....	8
1.9	CHIRURGISCHES VORGEHEN.....	10
1.10	DIE KNOCHENBEARBEITUNG .....	12
1.11	DIE VORGEHENSWEISE BEI DER KNOCHENBEARBEITUNG.....	13
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODIK.....</b>	<b>18</b>
2.1	DAS EXPERIMENTELLE VERSUCHSTIER.....	18
2.2	DAS VERWENDETE ITI-IMPLANTAT .....	19
2.3	CHIRURGISCHES VORGEHEN.....	20
2.4	HISTOLOGIE.....	24
2.4.1	Fixierung der Proben .....	24
2.4.2	Sörensen-Puffer .....	24
2.4.3	Dehydration der Proben.....	25
2.4.4	Technovit® 9100 NEU.....	26
2.4.5	Das Trenndünnschliffverfahren.....	28
2.4.6	Einfärben der Schnittpräparate .....	31
2.4.7	Die Fixierung der Proben .....	32
2.5	DAS LICHTMIKROSKOP .....	32
2.6	VORBEREITUNG FÜR DIE RASTERELEKTRONENMIKROSKOPIE.....	32
2.6.1	Kritisch-Punkt-Trocknung der Proben .....	33
2.6.2	Bedampfung der Proben .....	36
2.7	DAS RASTERELEKTRONENMIKROSKOP .....	37
2.8	HISTOMORPHOMETRIE.....	38
2.8.1	Histomorphometrie am Lichtmikroskop .....	38
2.8.2	Statistische Methodik .....	38
<b>3</b>	<b>DIE ERGEBNISSE .....</b>	<b>39</b>
3.1	LICHTMIKROSKOPISCHE AUSWERTUNG.....	39
3.1.1	Die Kontrollgruppen:.....	39
3.1.1.1	Das ITI-Implantat, 7 Tage, sequentielle Ostektomie, Gruppe A.....	39
3.1.1.2	Das ITI-Implantat, 28 Tage, sequentielle Ostektomie, Gruppe A.....	40
3.1.2	Die Untersuchungsgruppen: .....	41
3.1.2.1	Das ITI-Implantat, 7 Tage, Osteotomtechnik, Gruppe B .....	41
3.1.2.2	Das ITI-Implantat, 28 Tage, Osteotomtechnik, Gruppe B .....	43
3.2	HISTOMORPHOMETRISCHE AUSWERTUNG .....	45
3.2.1	Knochen-Implantat-Kontaktrate.....	46

3.3	ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUSWERTUNG .....	47
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>49</b>
<b>5</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>54</b>
<b>6</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>61</b>
6.1	DER ETHIKANTRAG .....	61
6.2	DIE NICHTGENEHMIGUNG DURCH DIE TIERSCHUTZKOMMISSION .....	62
6.3	DIE GENEHMIGUNG DURCH DIE TIERSCHUTZKOMMISSION .....	64
6.4	DANKSAGUNGEN: .....	67
6.5	LEBENS LAUF .....	68

# 1 Allgemeine Grundlagen

## 1.1 Die Evolution in der Implantologie

In den vergangenen 25 Jahren wurde auf keinem Gebiet der Zahnheilkunde so intensiv geforscht, wie auf dem Gebiet der Implantologie. Stetig wurde nach neueren oder effizienteren Therapiemöglichkeiten, Materialien und Methoden geforscht, um den gewünschten Erfolg der Therapie zu verbessern. Dies führte dazu, dass die Implantologie heute aus der modernen Zahnarztpraxis kaum noch wegzudenken ist. Der Chirurg ist heute in der Lage, Implantate in nahezu alle Kieferabschnitte zu inserieren, auch wenn es sich hierbei um Grenzsituationen handelt. Mit Hilfe der Implantologie ist eine ästhetische, aber auch funktionelle Rekonstruktion des Kauorgans realisierbar geworden. Dies hat neue Möglichkeiten für viele Fachbereiche der Zahnmedizin geschaffen, den Patienten zufriedenstellend zu behandeln sowie die Lebensqualität zu steigern.

Trotz vielfältiger Literatur und Forschungsergebnisse konnten manche Fragen oder Probleme immer noch nicht gelöst werden, so dass weiterhin Forschungsbedarf besteht.

Was bedeutet der Begriff Implantologie? Implantologie kann man als das „Einbringen von alloplastischem oder xenogenem Material“ (Koeck et al. 2004) definieren, „um die Voraussetzung für eine prothetische oder epithetische Versorgung zu schaffen oder die Rehabilitation funktionell und ästhetisch zu verbessern, sowie die physiologischen Involutionsprozesse zu vermindern“ (Koeck et al. 2004).

Die historische Entwicklung in der enossalen Implantologie hatte zum einen Einflüsse auf die Indikationsstellung zur Implantation, die Therapieformen und das chirurgische Vorgehen, zum anderen auf die Implantatmaterialien und Implantatformen.

1982 wurde die Implantologie in Deutschland durch ein Statement der DGZMK wissenschaftlich anerkannt. Eine offizielle Indikationseinteilung (Brinckmann 1976) wurde zu diesem Zeitpunkt herausgegeben und 1997 durch die heute gültige Neueinteilung (Koeck et al. 2004) ersetzt.

Vor 35 Jahren beruhten die Erfolge der enossalen Implantologie mehr auf Erfahrungsberichten einzelner praktizierender Zahnärzte, die heute als Pioniere auf diesem Gebiet bezeichnet werden können, als auf evidenzbasierten, wissenschaftlichen Untersuchungs-

und Forschungsberichten. Hier sind in erster Linie bedeutende Namen wie STROCK (Koeck et al. 2004), DAHL (Koeck et al. 2004) u. GOLDBERG (Koeck et al. 2004), FORMIGGINI (Formiggini 1954) u. CHERCHEVE (Chercheve et al. 1955, 1966, 1967), LINKOW (Linkow 1966), SCIALOM (Scialom 1965, 1966, 1967), HEINRICH (Heinrich 1972), PRUIN (Koeck et al. 2004), SANDHAUS (Sandhaus 1966, 1968, 1971), KOCH (Koeck et al. 2004) zu nennen. Zur wissenschaftlichen Etablierung der Implantologie als erfolgreiche Therapie, führten letztendlich die Arbeiten von BRÅNEMARK (Brånemark et al. 1969), SCHROEDER (Schroeder 1979), SCHULTE (Koeck et al. 2004), TETSCH (Tetsch et al. 1986, 1987, 1989) und SPIEKERMANN (Koeck et al. 2004, Spiekermann et al. 1992, 1998).

BRÅNEMARK (Brånemark et al. 1969) formte den für die Implantologie entscheidenden Begriff der „Osseointegration“. Anhand von Kaninchenknochen untersuchte er die Einheilung von glatten Titanzylindern und kam zu dem Ergebnis, dass diese nach mehreren Monaten mit dem umgebenden Knochen fest verwachsen waren. Es fand sich ein funktionell belastbarer, knöcherner Kontakt, der mit einer „ankylotischen Einheilung“ zu vergleichen war. BRÅNEMARK (Brånemark et al. 1969) entwickelte basierend auf diesen Ergebnissen, das Konzept der funktionell unbelasteten Einheilung glatter Titanimplantate.

Anhand von Studien mit rauen Implantaten beschrieb SCHROEDER (Schroeder 1979) unabhängig von BRÅNEMARK zur selben Zeit das gleiche Phänomen. SCHROEDER prägte den Begriff der „funktionelle Ankylose“.

Heute gehen die Bestrebungen der Forschung immer mehr in Richtung „grenzenloser“ Indikationserweiterung, Verbesserung der Ästhetik, der Form, der Funktion und der Langlebigkeit, aber auch in Richtung der Verbesserung der Primärstabilität, Sofortbelastung und Implantatbettauflbereitung. Gerade auf dem Gebiet der zuletzt genannten Punkte, gibt es wenig Erkenntnisse über den Zusammenhang zwischen der Stabilität in der initialen Einheilungsphase und der Aufbereitungsmethode des Implantatbettes. Dennoch gibt es Methoden und Faktoren, die sich bewährt haben, eine Therapie erfolgreich zu ihrem Ziel zu führen. So ähneln sich beispielsweise auf den ersten Blick die Implantatdesigns sehr stark in ihrem Grundaufbau, bei genauerem Hinschauen fallen jedoch feine Unterschiede auf. Gleiches gilt ebenso für die Möglichkeiten des chirurgischen Vorgehens und die Art der ausgewählten Implantatbettauflbereitung. Bevor näher

auf die Evaluierung zweier Insertionstechniken zur Verbesserung der Primärstabilität von Implantaten in der initialen Einheilphase und der damit im Zusammenhang stehenden Möglichkeit zur Sofortbelastung eingegangen wird, sollen zunächst wichtige allgemeine Grundlagen über Implantate sowie das chirurgische Vorgehen näher gebracht und erörtert werden. Das Verständnis soll hierdurch erleichtert werden.

## 1.2 Dentale Implantate

Dentale Implantate lassen sich nach verschiedenen Kriterien (Tabelle 1.) (Koeck et al. 2004) einteilen, die für unterschiedliche Indikationsgebiete von Bedeutung sind.

Bedeckung	- offene Implantate - geschlossene Implantate
Lage des Implantates	- intramukös - subperiostal - enossal
Implantationszeitpunkt	- Sofortimplantat - Spätimplantat
Prothetik-Konzepte	- rein Implantat getragene Versorgung - Verbundkonstruktion - Deckprothesen
Implantatmaterial	- Titan - Keramik - Kombinationen
Implantatformen	- pfostenförmig - Extension
Einheilungsmodus	- einphasig - zweiphasig

Tabelle 1. Möglichkeiten der Implantateinteilung.

Bei den Implantaten können offene, in die Mundhöhle hineinragende Implantate von den geschlossenen, unter einer intakten Epitheldecke liegenden Implantaten (Hüftendoprothese) unterschieden werden. Bei der Lage des Implantates wird zwischen der Gewebeart, in die das Implantat inseriert wird, unterschieden. Diese Gewebe können durch intramucöse, subperiostale oder enossale Strukturen gekennzeichnet sein. Anhand

des Implantationszeitpunktes unterscheidet man Sofortimplantate, die unmittelbar nach Zahnverlust in die frische Extraktionsalveole inseriert werden, von Spätimplantaten, die mittels maschineller Aufbereitung in ein ausgeheiltes knöchernes Lager eingebracht werden. Aus prothetischer Sicht stellen sich rein implantatgetragene Versorgungen, Verbundkonstruktionen und Deckprothesen dar (Koeck et al. 2004).

### 1.3 Implantatmaterial

Die in der enossalen Implantologie verwendeten Implantate werden aus Titan hergestellt. Titan besitzt als vorteilhafte Eigenschaften eine hohe Bruchfestigkeit und Korrosionsfestigkeit, sowie die Möglichkeit eine passivierende Oxidschicht auszubilden. Diese besitzt eine hohe Bedeutung für den Knochen-Implantat-Verbund, worauf später noch eingegangen wird. Titan wird als Reinstoff oder als Legierung (Ti-6Al-4V oder Ti-6Al-Nb) verarbeitet (Koeck et al. 2004). In wissenschaftlichen Studien wurde evaluiert, ob das verwendete Material Einfluss auf die Knocheneinheilung besitzt. In vitro konnte kein Unterschied festgestellt werden (Keller et al. 1994), in vivo zeigte sich eine Überlegenheit des reinen Titans gegenüber der Legierung (Han et al. 1998, Wagner et al. 1987). Heutzutage erscheint es unwahrscheinlich, dass ein anderer Werkstoff an die Stelle von Titan tritt und seine wichtige Rolle übernehmen wird.

Neben Titan wurden noch andere Werkstoffe für die Herstellung von Implantaten verwendet. Diese spielten aber eher eine untergeordnete Rolle. Für subperiostale Implantate, auch Blattimplantate oder Extensionsimplantate genannt, wurden Chrom-Kobalt-Molybdän-Legierung bei der individuellen Anfertigung vergossen. Chirurgische Stahllegierungen kamen für Osteosyntheseplatten in Frage. Als Alternative zum Titan steht das Tantal zur Verfügung (Koeck et al. 2004).

### 1.4 Implantatformen

Bei den enossalen Implantaten unterscheidet man vier verschiedene Implantatformen voneinander. Zum einen gibt es die zylinder- und schraubenförmigen Implantate, zum anderen die konus- und blattförmigen (Koeck et al. 2004).

Bei der Formgebung der blattförmigen Implantate (Extensionsimplantate wie z.B. Osteoplatte® 2000) stand die Ausnutzung des geringen Restknochenangebotes ebenso im Vordergrund, wie die individuelle Anpassung des Implantates an die örtlichen Gegebenheiten. Die Implantate wurden situationsspezifisch hergestellt. Durch die große Extension der Implantate wurde versucht, eine möglichst gute Druckverteilung auf das knöcherne Gewebe zu erzielen. Die Implantate wurden subperiostal inseriert, wobei es aufgrund der primären Belastungen, zu nicht vermeidbaren Microbewegungen kam. Diese führten zur fehlenden knöchernen Umbauung und zu einer bindegewebigen Umscheidung des Implantates, was eine Druckatrophie des Knochens mit teilweise extremen Knochendefekten (Kniha et al. 1986) zur Folge hatte. Die Extensionsimplantate besitzen heute, trotz ihrer historischen Bedeutung und großen weltweiten Verbreitung, eine zunehmend geringere Indikationstellung.

Die zylindrischen, konischen und schraubenförmigen Implantate erlangten ihre Form durch die rotationssymmetrische, passgenaue Lageraufbereitung mit rotierenden Instrumenten. Die Implantate konnten über die Klemmpassung oder das Gewinde fest mit dem Implantatbett verankert und bei Implantatmorbidity schnell und einfach ohne große Defektsetzung wieder entfernt werden. Zudem stellte sich die Lageraufbereitung im Vergleich zu den Extensionsimplantaten einfacher und schonender dar. Die konischen Implantate besitzen zu dem eine wurzelanaloge Form, weshalb sie als Sofortimplantat genutzt werden können (Koeck et al. 2004). Letztendlich haben sich diese Implantatformen durchgesetzt, was klinisch belegt werden konnte (Al-Nawas et al. 2000, Carter et al. 1997).

### 1.5 Implantatdimensionen

In der enossalen Implantologie gibt es nicht nur unterschiedliche Implantatformen, sondern auch unterschiedliche Implantatdimensionen. Implantate mit einer Länge zwischen 10 und 15 Millimeter werden am häufigsten verwendet. Die kürzesten Implantate, die nur in Kombination mit längeren Implantaten zu verwenden sind, besitzen eine Länge von 6 bis 8 Millimeter (Koeck et al. 2004). Würden diese Implantate einzeln inseriert, müsste ihre Langzeitprognose kritisch diskutiert werden (Winkler et al. 2000). Die Imp-

lantatlängenobergrenze wird mit 16 bis 18 Millimeter angegeben. Eine Besonderheit stellt dabei das Zygomaimplantat mit einer Länge von 40 Millimeter dar (Koeck et al. 2004).

Im Durchmesser unterscheiden sich die Implantate ebenfalls voneinander. Implantatdurchmesser zwischen 3,5 bis 4,5 Millimeter haben sich im Laufe der Jahre als besonders günstig erwiesen. Implantate mit einem Durchmesser von 3 Millimeter werden ebenfalls inseriert. Dieser Mindestdurchmesser sollte aber nicht unterschritten werden. Langzeituntersuchungen haben ergeben, dass Implantate mit einem Implantatdurchmesser  $< 3,5$  Millimeter eine geringere Überlebenschancen besitzen, als diejenigen mit Standarddurchmessern (Higuchi et al. 1995, Winkler et al. 2000). Wird eine Sofortimplantation in Betracht gezogen, können hierfür Implantate mit wurzelförmigem Schaft (Konus) und größerem Implantatdurchmesser zwischen 5 und 7,5 Millimeter verwendet werden. Hierdurch wird die Bildung einer periimplantären Knochentasche vermieden (Mensdorff-Pouilly et al. 1994). Aber auch Distanzen von bis zu zwei Millimeter können ohne Verwendung von Membranen oder Knochenersatzmaterial bei der Sofortimplantation knöchern überbrückt werden (Paolantonio et al. 2000).

## 1.6 Unterschiede in der Oberflächenbeschaffenheit

Ein weiteres Unterscheidungsmerkmal der Implantate stellt die Oberflächenbeschaffenheit dar. Diese hat entscheidenden Einfluss auf den Einheilungsvorgang, sowie auf den Knochen-Implantat-Kontakt. Die Stabilität eines Implantates steht hiermit entscheidend in Verbindung.

Man unterscheidet die Makroretentionen von den Mikroretentionen. Als Makroretentionen werden Gewinde, Lakunen, Perforationen, Poren und Rillen bezeichnet, die sich auf oder in der Implantatflanke befinden. Im Bezug auf die Primärstabilität haben sich die Schraubwindungen durch ihre gute Effektivität bewährt (Koeck et al. 2004). Neben der Verbesserung der Primärstabilität, führt der Einsatz von Gewinden zu einer Vergrößerung der Implantatoberfläche, was sich positiv auf die Knochenanlagerung und die Verteilung der Kräfte auf den Knochen auswirkt (Buchs et al. 2001, Cook et al. 1982).

Das alleinige Vorhandensein von Makroretentionen kann das selbständige Lösen und Lockern eines glatten Implantates jedoch nicht verhindern. Viele Implantate besitzen deshalb zusätzlich noch Mikroretentionen. Diese Retentionsformen können auf zwei unterschiedliche Art und Weisen erzeugt werden. Zum einen auf dem additiven Wege durch das Plasma-Flame-Verfahren, wobei es zu einer Aufbringung von Titanpartikeln auf die Implantatoberfläche kommt, zum anderen durch ein ablatives Verfahren mittels Abstrahlung und nachfolgender Säurebehandlung. Letzteres kann in Kombination oder einzeln angewendet werden. Dabei kann es, in Abhängigkeit vom verwendeten Medium, zum Nachweis von Rückständen auf der Implantatoberfläche kommen. Titan, Aluminiumoxid, Kalziumphosphat und verschiedene Säuren werden bei diesen Verfahren angewendet. Ein klinischer Effekt der vorhandenen Substanzen auf das Knochenmilieu konnte nicht nachgewiesen werden (Koeck et al. 2004). Die rauen Oberflächenstrukturen führen nicht nur zu einer erheblichen Vergrößerung der Implantatoberfläche, sie besitzen auch eine stimulierende Wirkung, auf die am Implantat anheftenden Zellen. Eine Beeinflussung der Proliferation von Osteoblast-like-Cells und Chondrozytenzellkulturen, sowie eine gesteigerte Anhaftung von Osteoblasten an die Oberfläche, konnten, aufgrund von Modifizierungen der Implantatoberflächen nachgewiesen werden (Kieswetter et al. 1996, 1997, Grössner-Schreiber et al. 1995, Ong et al. 1997).

### 1.7 Die Entwicklungsgeschichte am Beispiel des ITI-Implantates

Die Entwicklung des ITI-Implantates ist maßgeblich auf die Entwicklungsarbeit von SUTTER und SCHRÖDER zurückzuführen (Schröder et al. 1978, 1979).. Sie entwickelten ursprünglich einen transgingival einheilenden Hohlzylinder mit rauer Oberfläche (TPS-Beschichtung). Durch die Konstruktion der Hohlzylinderimplantate sollten der Knochendefekt möglichst gering gehalten und eine optimale Druckverteilung auf den Knochen gewährleistet werden. Der innenliegende Knochenzapfen bereitete dabei kurze Zeit nach dem Setzen des Implantates Probleme, da er zu nekrotisieren neigte. Der Zapfen wurde durch Schließung des Implantates ersetzt.

Mit der durch additive Titan-Plasma-Flamebeschichtung aufgeraute Oberfläche wurde die raue Implantatstruktur für die knöcherne Einheilung und das Prinzip der transgingi-

valen Einheilung konsequent weiter entwickelt. Dies führte zu der Entwicklung der ITI-Vollschraube, die den Hohlzylinder abgelöst hat (Behneke et al. 1979,1997).

Zusätzlich wurden weitere Verfahren zur Oberflächengestaltung der Implantate entwickelt. Ein mögliches Verfahren lag in der Bestrahlung der Oberfläche mit abrasiven Pulvern, dass Rauigkeiten erzeugte. Häufig wird dazu eine Sandbestrahlung durchgeführt.

Eine weitere Möglichkeit ist das Erzeugen eines Ätzmusters. Dazu wird die Titanoberfläche eine bestimmte Zeit lang einer Säure ausgesetzt.

Das Resultat der Bestrahlung als auch das des Ätzens lag in einer eher spitzen und zackigen Struktur.

Beiden Methoden werden auch in Kombination angewandt. Dabei findet zunächst die Bestrahlung und anschließend die Säurebehandlung statt (SLA-Oberfläche).Die SLA-Oberfläche hat sich in verschiedenen Studien bewährt. Eine verbesserte Knochen-Implantat-Kontakte konnte im Vergleich zu den TPS-Implantaten nachgewiesen werden (Buser et al.1991, Cochran et al. 1996).

## 1.8 Der Einheilmodus/ Die Einheilphase

Der Einheilmodus von Implantaten richtet sich danach, ob diese einphasig, d.h. die Mundschleimhaut perforierend (transmukosal) oder zweiphasig, d.h. submukosal unter der Schleimhaut gedeckt, einheilen. Sind diese Implantate nach vier Monaten im Unterkiefer und nach sechs Monaten im Oberkiefer eingeheilt, müssen diese in einem zweiten operativen Eingriff wieder freigelegt werden. Bislang wurde das Prinzip der entlasteten submukosalen Einheilung verfolgt, doch weltweit zeichnet sich der Trend zur frühbelasteten oder teilbelasteten Einheilphase ab. Die Hoffungen zielen hierbei auf eine zielgerichtete Knochenanlagerung und ein subjektiven Nutzen in der Einheilphase ab (Koeck et al. 2004). Um einen optimalen Knochen-Implantat-Verbund herzustellen, bedarf es bestimmter Indikationsvoraussetzungen, wie eine gewisse Knochendichte und Qualität, sowie einer ausreichenden Primär- und Sekundärstabilität. Beide Vorraussetzungen stehen miteinander in einem engen Zusammenhang.

Als wissenschaftlich anerkanntes Maß für die Knochendichte gilt die histomorphometrische Einteilung in vier Klassen nach LEKHOLM und ZARB (Lekholm et al. 1985). In ihr wird das Verhältnis von kortikalen zu spongiösen Knochenanteilen zugrunde gelegt, das sich entsprechend dem Bohrgefühl des Chirurgen in die Gruppen D1 (Eichenholz), D2 (Pinienholz), D3 (Balsaholz) und D4 (Styropor) einteilen lässt (Lekholm et al. 1985). MISCH (Misch 1990) versuchte ebenfalls Knochenqualitäten zu klassifizieren.

Praeimplantologisch können mit diesem Verfahren keine Aussagen über den im Operationsgebiet vorhandenen Knochen getroffen werden. Es ist heute mittels der modernen CT-Technik möglich, die Knochendichte zu bestimmen. Die hohen Strahlenbelastungen für Augenlinse, Schilddrüse und Haut geben jedoch eine strenge Indikationsstellung vor, zumal die Auflösung verbesserungsbedürftig erscheint (Lenglinger et al. 1999).

Gerade in spongiösen Knochenstrukturen der Klasse D4, wie sie im Oberkieferseitenzahnbereich zu finden ist, sollte das Bestreben zur Erlangung einer festen Primärstabilität vorliegen. Unter Primärstabilität versteht man den mechanisch festen Sitz des Implantatkörpers unmittelbar nach Implantation in sein Implantatbett (Koeck et al. 2004). Ziel ist es über eine hohe Implantatstabilität eine möglichst geringe Mikrobewegung zu limitieren, die einen schädlichen Einfluss auf die Osseointegration besitzt. Somit sind neben den schon angesprochenen Implantatformen und Oberflächen, auch Knochenstrukturen mit einer hohen Dichte für eine hohe Primärstabilität und eine erfolgreiche Ossifikation erforderlich.

Während der Einheilphase nimmt die Primärstabilität zunächst ab. Dies ist auf die knöchernen Umbauvorgänge zurückzuführen. Durch zusätzliche Knochenanlagerung an die Implantatoberfläche nimmt die Primärstabilität im Laufe der späteren Einheilphase wieder zu. Diese nachträglich biologisch stabilisierte Situation wird als Sekundärstabilität bezeichnet (Koeck et al. 2004). Auf dieser Basis stützt sich der später angefertigte prothetische Zahnersatz ab.

Wie der biologische Mechanismus des Knochen-Titan-Verbundes exakt abläuft, ist bis heute noch nicht erforscht. Dennoch sind beeinflussende Faktoren durchaus bekannt. Maßgeblich an der epithelialen Anheftung und knöchernen Einheilung ist die Titanoxidschicht (der schon zuvor erwähnten Implantatoberfläche) beteiligt (Ellingsen 1998). Wenige Sekunden nach der Insertion des Implantates kommt es zur Ausbildung eines komplexen Biofilms (Nygren et al. 1997). Dieser besteht maßgeblich aus Blutbestand-

teilen, wie Thrombozyten, Fibrin und Prothrasen. Als nächste Einheilungsphase schließt sich die Inflammation an (Thomson et al. 1999, Boyan et al.1999). Hierbei werden die polymorphkernigen Leukozyten und Makrophagen durch chemotaktische Faktoren in ihrer Migration, Adhäsion und Proliferation beeinflusst. Unter anderem werden ILI 1 a und ILI 1 b, sowie anderen Signal und Steuerungsproteinen bei der Matrixproduktion und Osteoblastendifferenzierung entscheidende Rollen zu gewiesen (Thomson et al. 1999). Zur Bone Formation und zum Bone Remodeling kommt es erst in der fortgeschrittenen Einheilphase (Boyan et al.1999).

Eine raue Implantatoberfläche ist nicht nur für bessere mechanische Eigenschaften direkt nach der Implantation (Herausdrehschutz durch Retention, Primärstabilität) von Vorteil, sondern auch für die Stabilisierung des durch den komplexen Biofilm gebildeten Fibringerüsts. DAVIES (Davies 1998) formulierte die Hypothese, dass analog zum Knochen-Turnover, wo das zurückbleibende Kollagengerüst als Leiststruktur für den neuen Knochen dient, das Fibringerüst im Blutgerinnsel am inserierten Implantat einen ähnlichen Effekt besitzt. Die raue Implantatoberfläche kann dieses Gerüst stabilisieren und die Knochenanlagerung gegenüber glatten Implantaten fördern.

## 1.9 Chirurgisches Vorgehen

Neben einer sorgfältigen Indikationsstellung und einer exakten Planung, ist der operative Eingriff ein wichtiger Therapieabschnitt. Hierbei werden gewisse Ansprüche an die Kenntnisse des Chirurgen sowie an die Durchführung gestellt.

In den vergangenen Jahren wurde die Methodik der operativen Durchführung zunehmend standardisiert und systematisiert. Heute zeichnet sich immer stärker eine Individualisierung der Methodik, der Zeitpunkte, der Instrumente und der Vorgehensweisen ab. In den meisten Fällen liegen hierüber bislang noch keine akzeptablen wissenschaftliche Erkenntnisse vor (Koeck et al. 2004).

Das operative Vorgehen wird, neben dem verwendeten Implantatsystem und der Implantatindikation, maßgeblich von den individuellen lokalen Voraussetzungen und gegebenenfalls zusätzlich notwendigen operativen Maßnahmen entschieden beeinflusst.

Bei der enossalen Implantation handelt es sich um einen Wahleingriff, an den besonders strenge juristische Bedingungen und Voraussetzungen, sowie qualitative Ansprüche bezüglich Indikation, Planung, Aufklärung und Durchführung gestellt werden (Günther 1982, Nentwig 1992). Um diesen Ansprüchen gerecht zu werden, bedarf es einer gewissenhaften Vorbereitung und Durchführung des operativen Eingriffes.

Bei jeder Implantation gelten die gleichen chirurgischen Grundprinzipien, wie z.B. die Schonung des Lagerknochens, eine möglichst passgenaue Aufbereitung sowie das Ziel eine hohe Primärstabilität zu erreichen. Hieraus lässt sich eine bestimmte Abfolge der einzelnen Behandlungsschritte ableiten (Koeck et al. 2004).

Diese Reihenfolge kann im Patienteneinzelfall durchaus sinnvoll abgeändert werden.

Es erscheint sinnvoll den Gesamtvorgang in einzelne Handlungsabschnitte zu unterteilen (Tabelle 2), damit bei dem chirurgischen Eingriff nicht die Gefahr besteht den Überblick zu verlieren oder daß dem Chirurg ein Behandlungsfehler unterläuft.

Vorbereitung	Diagnostik Planung Vorbehandlung Aufklärung
Implantation	Operationsvorbereitung Prämedikation Lokalanästhesie Schnittführung Knochenbearbeitung Implantateinbringung Wundverschluss Röntgenkontrolle
Nachsorge	postoperatives Verhalten medikamentöse/physikalische Begleittherapie
Freilegung (ggf.)	Schnittführung Instrument
Prothetische Versorgung	provisorische Versorgung in der Einheilphase definitive Versorgung
Recall	Hygienemotivation Okklusionskontrolle Röntgenkontrolle Therapie von Komplikationen (Explorationen)

Tabelle 2. Reihenfolge der Behandlungsschritte.

Der Reihenfolge nach werden die Vorbereitung, die Implantation, die Nachsorge, ggf. die Freilegung, die prothetischen Versorgung und der Recall abgearbeitet.

Die Diagnostik, die Planung, die Vorbehandlung und die Aufklärung sind wichtige Punkte bei der Vorbereitung eines operativen Eingriffs. Bei der Implantation werden die Operationsvorbereitung, die Prämedikation, die Lokalanästhesie, die Schnittführung, die Knochenbearbeitung, die Implantateinbringung, der Wundverschluss und die Röntgenkontrolle als wichtige Schlagwörter genannt. Postoperatives Verhalten und die medikamentöse/physikalische Begleittherapie müssen dem Patienten im Bereich der Nachsorge näher gebracht werden. Über die provisorische Versorgung in der Einheilphase muss sich ebenso Gedanken gemacht werden, wie über die spätere definitive Versorgung. Hygienemotivation, Okklusionskontrollen, Röntgenkontrollen und die Therapie von möglichen Komplikationen stehen ganz im Zeichen des Recalls (Koeck et al. 2004).

In dem folgenden Abschnitt soll näher auf den Ablauf einer Implantation und die damit in Verbindung stehende Knochenbearbeitung und Implantateinbringung eingegangen werden.

### 1.10 Die Knochenbearbeitung

In den vergangenen 15 Jahren konnte die Knochenbearbeitung zunehmend standardisiert werden. Systeme wurden entwickelt, die eine genormte, passgenaue Präparation durch Ostektomie ermöglichen. Das Implantatbett wurde dabei durch ein stufenweise aufsteigendes und schonendes Vorgehen unter starker Drehzahlreduktion und Kühlung mit physiologischer Kochsalzlösung maschinell oder mit der Hand aufbereitet (Koeck et al. 2004). In den vergangenen Jahren hat eine stärkere Individualisierung des Vorgehens stattgefunden. Modifizierte Einheilungszeiten, verschiedenartiges Vorgehen bei unterschiedlichen Knochenqualitäten und Modifikationen des Knochenlagers durch induktive und promotive Proteine konnten als die wichtigsten Modifikationen hervorgehoben werden (Koeck et al. 2004).

### 1.11 Die Vorgehensweise bei der Knochenbearbeitung

Alveolarkammglättung
Markierungsbohrung
Pilotbohrung
Erweiterungsbohrung
Normaufbereitung
Formaufbereitung
Implantation
Verschluss

Tabelle 3. Abfolge der Knochenbearbeitung

Die in Tabelle 3 aufgeführten Punkte stellen eine grundlegende Reihenfolge der Knochenbearbeitung dar und werden im Rahmen des allgemein gebräuchlichen Standardverfahren näher beschrieben (Koeck et al. 2004).

Nachdem die Knochenoberfläche operativ freigelegt wurde, ist es Aufgabe der Kieferkammglättung, mit Hilfe einer kugel-/birnenförmigen Fräse oder Luer-Zange, das fibröse Gewebe von der Knochenoberfläche zu entfernen, das Knochenniveau zu nivellieren und eine Verbreiterung der krestalen Kante herbeizuführen (Koeck et al. 2004). Bei der Einebnung des Knochens besteht die Gefahr eines starken Höhenverlustes, weshalb immer nur auf die Breite des minimalen Implantatdurchmessers aufbereitet werden sollte (Koeck et al. 2004). Auch eine Verlagerung der fixierten Mukosa kann durch zu forsches Nivellieren herbeigeführt werden (Koeck et al. 2004).

Mit der anschließenden Markierungsbohrung wird die Implantatposition in orovestibulärer und mesiodistaler Richtung festgelegt. Diese Bohrung erfolgt erst nach Darstellung und Glättung des Knochens, da so das tatsächlich vorhandene Knochenangebot und die prothetischen Planungsaspekte gemeinsam bedacht werden können. Zur Ankörung der Kortikalis werden entweder ein dünner Spiralbohrer oder ein kleiner Rosenbohrer verwendet. Mögliche Probleme einer falsch gesetzten Markierung äußern sich durch eine zu enge oder zu weite mesio-distale Positionierung, oder in einer zu oralen vestibulo-orale Positionierung. Abhilfe können hier individuell laborangefertigte Planungs- und Bohrschablonen schaffen (Koeck et al. 2004).

Nach korrekt gesetzter Markierungsbohrung erfolgt die Pilotbohrung. Mit ihr soll orientierend eine nahezu definitive Implantatlänge und Implantatachse festgelegt werden.

Hierzu werden kleine Spiral- oder Drillbohrer von ca. 1,5 – 2 Millimeter Durchmesser verwendet, die zur Tiefenorientierung Markierungshilfen in Form von Rillen oder Farbmarkierungen besitzen. Unter ständiger Kühlung und intermittierender Bohrtechnik wird bis auf die vorher festgelegte Bohrtiefe das Instrument in den Knochen geführt. Die seitliche oder basale Perforation des Knochens, eine Verletzung der Nachbarzähne, eine Instrumentenfraktur, eine Schädigung der anatomischen Strukturen, eine falsche oder ungünstige Implantatachsenneigung sowie eine nicht vorhandene Implantatparallelität sind Probleme, die bei der Pilotbohrung vermieden werden müssen (Koeck et al. 2004).

Bei der anschließenden Normaufbereitung, bzw. sequentiellen Ostektomie, wird bis zu dem gewünschten Implantatdurchmesser, durch eine schrittweise Erweiterung der Pilotbohrung der Knochen weiter aufbereitet. Die Instrumente besitzen analog zu den Pilotbohrern Markierungsrillen bzw. Farbkodierungen zur Tiefenorientierung und werden mit aufsteigendem Durchmesser benutzt (Koeck et al. 2004). Die Implantatlageraufbereitung sollte möglichst schonend für das umliegende Gewebe durchgeführt werden. Bei einigen Systemen erfolgt daher die Aufbereitung nicht maschinell, sondern mit der Hand oder mit Ratschen, die als wesentlich sensibler, exakter und risikoärmer gelten (Addiere et al. 1993, Heller et al. 1994). Ziel ist es die möglichen thermischen oder mechanischen Lagerschäden gering zu halten. Die Vorteile der Handaufbereitung werden möglicherweise durch die entstehenden Infrakturen der randbildenden Spongiosa, aufgrund von inkongruenten und wackelnden Handbewegungen, wieder aufgehoben. Hierzu fehlen bislang Studien, die die Überlegenheit der Handaufbereitung eindeutig belegen (Koeck et al. 2004).

Die an die Normaufbereitung anschließende Formaufbereitung des Implantatbettes wird mittels Gewindeschneider, Normfräsen oder durch das Implantat selbst bewerkstelligt. Eine möglichst gute Anpassung an die Makrostrukturierungen und eine hohe Kongruenz von Implantat und Knochenlager sollen hierdurch bezweckt werden (Koeck et al. 2004). Ein Gewinde kann mit einem separatem Gewindeschneider oder mit dem Implantat selbst in den Knochen geschnitten werden.

In das vollständig aufbereitete Implantatbett kann mit Setzinstrumenten und Einbringpfosten das Implantat in der geplanten Höhe, mit ausreichend Primärstabilität eingebracht werden (Koeck et al. 2004). Dabei sollte, wie während des gesamten operativen

Vorgangs, eine Kontaminierung des Implantates und des Implantatbettes verhindert werden.

Die Osseointegration von Implantaten hängt außer von einer ungestörten und unbelasteten Einheilphase, vor allem von der lokal vorhandenen Knochenqualität sowie der durchgeführten Knochenlagerpräparation, zur Erlangung einer ausreichenden Primärstabilität, ab (Scharf et al. 1993). Bei einem ausreichendem vertikalem und sagittalem Knochenangebot und kompakter/dichter Qualität, wie sie z.B. bei den Klassen D1 und D2 nach LEKHOLM und ZARB vorkommt, besteht die Möglichkeit der Aufbereitung durch sequentielle Ostektomie mit Bohrern in zunehmender Größe. Um eine möglichst kongruente und passgenaue Insertion des Implantates in sein Implantatbett zu gewährleisten, muss die sequentielle Aufbereitung exakt nach einem Standardprotokoll erfolgen. Hierdurch werden nicht nur günstige Voraussetzungen für ein leichtes Einbringen des Implantates geschaffen, sondern auch für eine gute Einheilung in das periimplantäre Gewebe gesorgt. Nach der Aufbereitung des Implantatlagers auf den gewünschten Durchmesser, besteht die Möglichkeit zur zusätzlichen Anwendung eines Gewindeschneiders in besonders dichtem Knochen (Koeck et al. 2004). Zylinderimplantate stauen den umgebenden Knochen durch ihre Klemmpassung, Schraubenimplantaten können den Knochen durch ihr Gewinde selber schneiden (Glauser et al. 1998).

Je weicher und spongioser die Knochenqualität an der zu inserierenden Stelle ist, desto schonender und zurückhaltender muss das Implantatbett aufbereitet werden. Zur Erlangung einer ausreichenden Primärstabilität in solchen Gebieten, die durch Knochenqualitäten der Klassen D3 und D4 klassifiziert sind, hat sich die unterdimensionierte Implantatbettaufbereitung bewährt. Möglich sind hierbei sowohl eine unterdimensionierte Längenaufbereitung, als auch eine unterdimensionierte Aufbereitung des Durchmessers (Koeck et al. 2004). Spielräume von 0,15 Millimeter im Oberkiefer und von 0,6 Millimeter im Unterkiefer sind zwischen dem zuletzt verwendeten Bohrerdurchmesser und Implantatdurchmesser durchaus möglich (Koeck et al. 2004).

Doch auch mit der Osteotomie, die von SUMMERS (Summers 1994, 1995) vorgestellt wurde, lassen sich in solche problematische Knochenabschnitte Implantate einbringen, die eine gute Primärstabilität zeigen. Bei diesem Verfahren wird, in Kombination mit oder ohne einem Spiralbohrer, das gewünschte Implantatbett mit bis zu vier verschiedenen Instrumenten in aufsteigenden Durchmessern aufbereitet. So wird der

Knochen, der sonst bei der sequentiellen Ostektomie mit Bohrern entfernt wird, gleichzeitig oder jeweils einzeln nach lateral und nach apikal verdrängt und erhalten. Hierdurch kommt es zu einer Komprimierung und zusätzlichen Verdichtung des Knochens. Dies soll sich positiv auf die Primärstabilität des eingebrachten Implantates auswirken. Die von SUMMERS propagierte Methode eignet sich nicht nur gut zur Förderung der Primärstabilität, sondern sie kann auch als minimale Form des Bone Splitting im Oberkieferalveolarfortsatz angewendet werden (Koeck et al. 2004). Dabei kann bei Anwendung der Osteotome an mehreren benachbarten Implantaten in diesem Alveolarfortsatzabschnitt mit nur geringer orovestibulärer Breite von drei Millimeter, eine unkomplizierte Aufdehnung auf die benötigte Mindestdimension von 4-5 Millimeter ermöglicht werden.

Bei einer verminderten Alveolarfortsatzhöhe im Oberkieferseitenbereich lässt sich mit Hilfe spezieller Osteotome in gewissen Grenzen auch ein ausreichendes Knochenangebot präparieren (Summers 1994, 1995). Dazu verwendete SUMMERS konkav geformte Osteotome, durch die es zu einer Anhebung des Sinusbodens kam. Für eine geringe Erhöhung im Sinne einer solchen internen Sinusliftoperation von bis zu zwei bis drei Millimeter reicht der im Implantatbett vorhandene Knochen aus.

Durch diese wissenschaftlichen Studien wurde die Insertionstechnik der Implantate und die Knochenbearbeitung des Implantatbettes hinreichend erforscht. Es gibt jedoch wenige wissenschaftliche Studien, die die Primärstabilität und die Osseointegration in der frühen Einheilphase der Implantate isoliert unter rein knochenbearbeitungsabhängigen Kriterien beschreiben. Es kann nicht ausreichend beantwortet werden, ob in bezug auf die Sofortbelastung Implantate, die mittels der Osteotomtechnik inseriert wurden, genauso gut in das Gewebe einheilen und eine ausreichende Stabilität aufweisen, wie die Implantate, die mit den etablierten Knochenaufbereitungsmethoden inseriert wurden. Aufgrund der fehlenden Grundlagenforschung im Bereich der Knochenumbau- und Knochenheilungsvorgänge am Implantatkörper wurde diese Studie durchgeführt.

Ziel dieser Studie war, das frühe Osseointegrationsverhalten (Primärstabilität) von Implantaten nach Verwendung zweier unterschiedlicher Knochenbearbeitungsmethoden unabhängig von mechanischen Einflüssen in vivo zu untersuchen.

Zur Anwendung kam zum einen die bewährte sequentielle Ostektomie mittels rotierender Instrumente und zum anderen die Osteotomie, die Fragen bezüglich der Primärstabilität offen lässt.

Die Implantate wurden zur Untersuchung in die Tibiaknochen von Göttinger Minischweinen inseriert. Diese wurden dabei zufällig verteilt in die identischen Knochenregionen derselben Versuchstiere eingebracht. Die Einheilung erfolgte bedeckt und frei von Belastung. Hierdurch konnte gewährleistet werden, dass die Ergebnisse und Beobachtungen bei der Untersuchung des Osseointegrationsprozesses mit hoher Wahrscheinlichkeit auf Unterschiede in der Knochenbearbeitung als einzige variable Komponente des Versuchssystems zurückgeführt werden können. Die Ergebnisse wurden histologisch, rasterelektronenmikroskopisch und histomorphometrisch dokumentiert.

## 2 Material und Methodik

### 2.1 Das experimentelle Versuchstier

Für tierexperimentelle Studien dieser Größenordnung können Affen, Hunde oder auch Minischweine als Versuchstiere dienen.

Aufgrund der strengen Richtlinien zur Haltung von Versuchstieren wurden für diese Studie acht männliche Göttinger Minischweine (Abb. 1) im Alter zwischen 14 und 16 Monaten ausgewählt. Die Minischweine besaßen ein durchschnittliches Körpergewicht von 35 kg. Es wurden insgesamt 84 Implantate in den rechten und linken Tibiaknochen der Tiere inseriert. Peri- und postoperativ wurde den Tieren alle 48 Stunden für 7 Tage lang ein Antibiotikum subkutan injiziert. Zur Anwendung kamen 2.5 ml Benzypenicillin/Dihydrosteptomycin, Tradomycel®, hergestellt von der Firma BayerVital, Leverkusen, Deutschland. Die Versuchstiere wurden die ersten Tage postoperativ regelmäßig auf Wundinfektionen und später auf ihren allgemeinen Gesundheitszustand hin untersucht. Die Haltung der Versuchstiere erfolgte in dem Tierversuchsstall der Universitätsklinik Münster.



Abb. 1: Das Versuchstier praeoperativ nach Sedierung im Tieroperationssaal.

## 2.2 Das verwendete ITI-Implantat

Insgesamt wurden 84 SLA Implantate, hergestellt von der Firma Straumann® GmbH, Freiburg, Deutschland in dieser Studie verwendet. Die aus Titan gefertigten Schraubenimplantate besaßen eine Länge von 10 Millimeter und einen Durchmesser von 4,1 Millimeter. Die Implantate zeichneten sich durch ein zweiteiliges Implantatdesign mit glatter Oberflächenstruktur im Bereich der Schulter und einer ablativen, gestrahlten und geätzten (SLA-) Oberfläche im enossalen Teil aus (Abb. 2).



Abb. 2: zylindrisches Implantat mit SLA-Oberfläche des ITI-Systems

### 2.3 Chirurgisches Vorgehen

Die Inserteration der Implantate wurde unter sterilen Bedingungen in einem Veterinäroperationsaal durchgeführt. Dazu wurden die Tiere durch eine intramusculäre Injektion mit 10 mg/kg Ketamin, 0,06 ml/kg Atropien und 0.03 ml/kg Stresnil sediert. In das Operationsgebiet wurden zusätzlich 4 ml Lokalanästhesielösung injiziert, die sich aus 2% Lidocain mit 12,5 µg/ml Epinephrin, Xylo-



Abb. 3: Darstellung des rechten Tibiaknochens.

cain/Adrenalin® Hergestellt von der Firma Astra, Wedel, Deutschland zusammensetzte. Der Rechte und der linke Tibiaknochen wurde mittels einer oberflächlichen Hautinzision von 4 Zentimeter und anschließender Präparation in die Tiefe unter Bildung eines Haut-Fascien-Lappens dargestellt (Abb. 3). Insgesamt wurden 84 Implantate in die kranialen und caudalen Abschnitte der Tibiaknochen, mittels sequenzieller Ostektomie (Kontrollgruppe A) und der Osteotomtechnik (Gruppe B) inseriert. Die verwendeten Bohrer und Osteotome wurden von der Firma Straumann® GmbH, Freiburg, Deutschland hergestellt und nach Herstellerangaben benutzt.

Bei der sequenziellen Ostektomie wurde in der Kompakta des Tibiaknochens mit einem Rosenbohrer eine Körnung an die Stelle gesetzt, wo das Implantat später gesetzt werden sollte. Anschließend wurde mit einem, im Durchmesser 1,5 Millimeter großen, Pilotbohrer die erste Bohrung durch die Kompakta in die

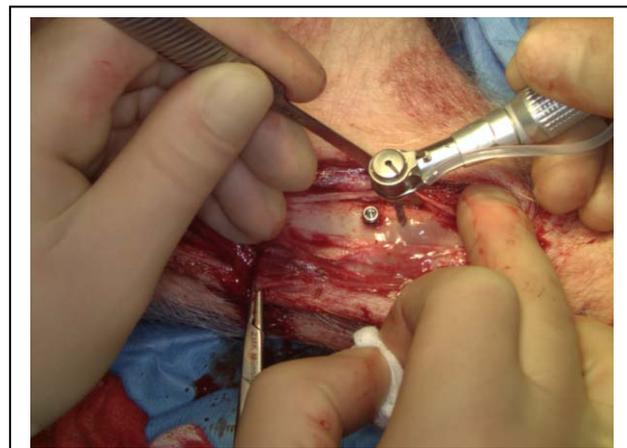


Abb. 4: Pilotbohrung neben einem inserierten Implantat.

Spongiosa hindurch auf eine Tiefe von 10 Millimeter durchgeführt (Abb. 4). Weitere Bohrungen folgten, bei denen Bohrer mit aufsteigenden Durchmessern von 2,2 Millimeter, 2,8 Millimeter und 3,5 Millimeter benutzt wurden. Ein Gewindeschneider kam nicht zum Einsatz. Bei sämtlichen Bohrungen wurde auf ein achsengerechtes Versenken des Bohrers geachtet und als Schutz

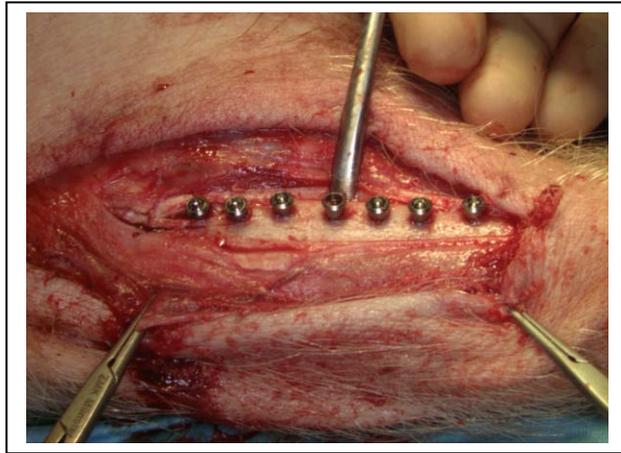


Abb. 5: Vollständig inserierte Implantate.

vor Knochengewebsschäden durch Überhitzung sterile physiologische Kochsalzlösung verwendet. Die Implantate wurden mittels einer Knarre in das vorbereitete Implantatbett inseriert. Die Implantatschulter kam dabei 1 Millimeter oberhalb der Knochenkammgrenze zum liegen (Abb. 5).

Bei der Osteotomtechnik erfolgte ebenfalls als erstes eine Körnung der Tibiakompakta. Anschließend wurde durch die Kompakta in die Spongiosa hinein eine 10 Millimeter tiefe Pilotbohrung, mit einem im Durchmesser von 1,5 Millimeter breiten Bohrer, gesetzt. Es folgte nun die Erweiterung der Kompakta auf 3,5 Millimeter Durchmesser mittels Bohrern (Durchmesser 2,2 Millimeter, 2,8 Millimeter und 3,5 Millimeter), mit der anschließenden Kondensation der Spongiosa durch Osteotome (Durchmesser 2,2 Millimeter, 2,8 Millimeter und 3,5 Millimeter) (Abb. 6 und Abb. 7). Das jeweils verwendete Osteotom verweilte dabei eine Minute lang, nach Erreichen der gewählten Kondensationstiefe, in dem Implantatbett, bevor der vom Durchmesser nächsthöhere Bohrer verwendet wurde. Die Implantate wurden mittels einer



Abb.6: Knochenaufbereitung unter Verwendung eines Osteotoms.

Knarre in das vorbereitete Implantatbett eingedreht. Dabei wurde die Schulter des Implantates bis 1 Millimeter überhalb der Knochenkammgrenze versenkt.

Nach dem Setzen der Implantate wurden der Haut-Fascien-Lappen und die Hautoberfläche in separaten Lagen mit Einzelknopfnähten verschlossen. Als Nahtmaterial wurde Vicryl® 4-0, hergestellt von der Firma Ethicon, Norderstedt, Deutschland, verwendet.

Peri- und postoperativ wurde den Tieren alle 48 Stunden für 7 Tage lang ein Antibiotikum subkutan injiziert. Zur Anwendung kamen 2.5 ml Benzypenicillin/Dihydrosteptomycin, Tradomycel®, hergestellt von der Firma BayerVital, Leverkusen, Deutschland. Die Tiere wurden die ersten Tage postoperativ regelmäßig auf Wundinfektionen und später auf den allgemeinen Gesundheitszustand untersucht.

Die Anzahl der Implantate wurde aufgrund der vorgegebenen Einheilphasen von 7 Tagen und 28 Tagen in zwei Gruppen unterteilt. Zum Einen in die Gruppe der standardmäßig gesetzten Kontrollgruppe A (7 Tage) und der Osteotomgruppe B (7 Tage) und zum Anderen in standardmäßig gesetzten Kontrollgruppe A (28 Tage) und der Osteotomgruppe (28 Tage). Die Tiere wurden nach sieben und nach 28 Tagen mit einer intravasalen Überdosis von T61 eingeschläfert. Die Tibiaknochen wurden den Tieren entnommen und in einzelne Blöcke gesägt (Abb. 8 und Abb. 9). Diese enthielten das Implantat mit dem umgebenden Knochen. Zur Konservierung wurden die Proben in Schaffer'scher Lösung eingelegt.

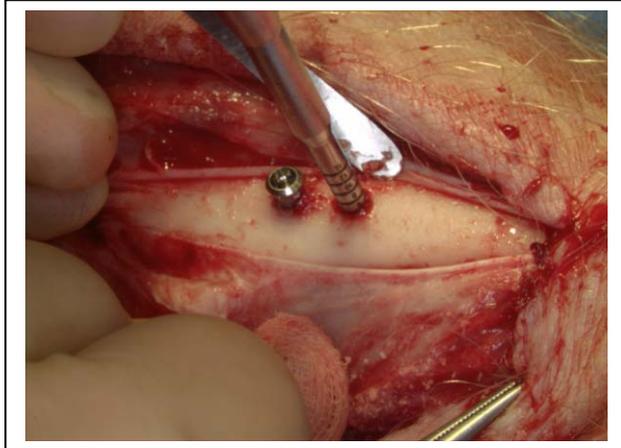


Abb. 7: Osteotom mit Markierungsrillen. Das Implantatbett ist vollständig aufbereitet.

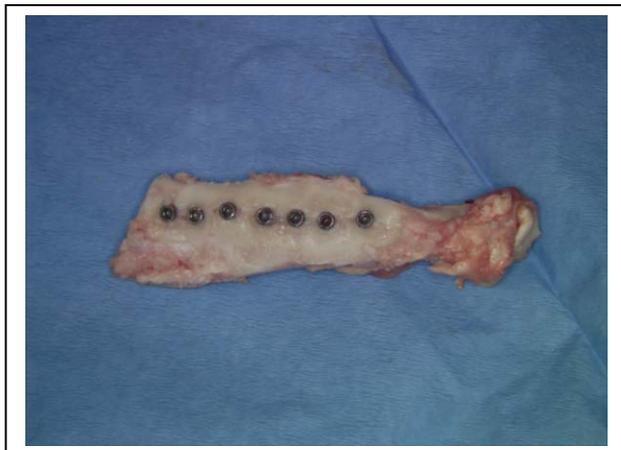


Abb. 8: Explantierter Tibiaknochen mit inserierten Implantaten.



Abb. 9: Einzelner Probenblock mit inseriertem Implantat.

## 2.4 Histologie

Damit die entnommenen Implantate mit deren umgebenen Gewebe histologisch sowie histomorphometrisch untersucht und ausgewertet werden können, bedarf es einiger Vorarbeiten bis zu einer untersuchbaren Probe. Hauptziel war es die Proben in ein Einbettmaterial zu überführen, dem Technovit® 9100 NEU, hergestellt von der Firma Heraeus Kulzer GmbH & Co.KG Deutschland, um diese dann im Trenndünnschliffverfahren in kleine, unter dem Mikroskop beurteilbare Proben zu schneiden.

### 2.4.1 Fixierung der Proben

Die mit Knochen umgebenen Implantate wurden in einer Schaffer'schen Lösung zur Fixierung und Konservierung eingelegt. Im Verhältnis 2:1 enthielt diese Lösung 96% Ethanol und 37% Formaldehyd. Die Lagerung erfolgte im Kühlschrank bei +4° Celsius.

### 2.4.2 Sörensen-Puffer

Zur weiteren Vorbereitung wurden die Proben durch Spülung mit einem Sörensen-Puffer von der Schaffer'schen Lösung und dem darin enthaltenden Formaldehyd gereinigt. Der verwendete Sörensen-Puffer setzte sich aus Dinatriumhydrogenphosphat  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Wasserfrei), Kaliumhydrogenphosphat  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Wasserfrei) und destilliertem Wasser zusammen. Diese Chemikalien wurden für einen Liter 0,2m Puffer mit einem pH-Wert von 7,2 abgewogen (Tabelle 3). 22,45g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und 5,95g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  wurden zusammen mit einem Liter destilliertem Wasser in einem ein Liter Messkolben auf dem Magnetrührer vermischt. Gelagert wurde die bodensatzfreie Lösung im Kühlschrank bei +4° Celsius.

In verschraubbaren 50ml Bechern wurden die Proben einzeln dreimal eine Stunde lang mit dem Sörensen-Puffer in einem auf +4° Celsius gekühlten Kühlschrank gespült.

Auswiegen für 1 Liter 0,2m ( 0,1m) Puffer mit pH 7,2:

- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ( wasserfrei) 22,45g ( 11,075g)
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ( wasserfrei) 5,95g ( 2,99g)

Tabelle 3. Zusammensetzung des Sörensen-Puffer

### 2.4.3 Dehydration der Proben

Da sich in dem Probengewebe Wasser befindet, welches den Einbettungsvorgang mit Technovit® 9100 NEU negativ beeinflusst, mussten die Proben mit Hilfe einer Alkoholreihe zuerst dehydriert werden. Von uns im Vorfeld durchgeführte Probeversuche ergaben, daß Technovit die Eigenschaft besitzt einzutrüben, wenn noch Restwasser im Gewebe vorhanden ist. Diese Alkoholreihe schloss sich unmittelbar an den Spülvorgang mit dem Sörensen-Puffer an (Tabelle 4). Es wurde Ethanol in prozentualen aufsteigenden Konzentrationen, sowie 100%iger Isopropanol und Xylol verwendet. Die Implantate und deren umgebendes Gewebe durchliefen die einzelnen Alkoholspülungen separat in verschraubbaren 50ml Bechergefäßen nach fest vorgegebenen Spülzeiten. Dabei erfolgte die Aufbewahrung bei +4°Celsius im Kühlschrank. Zu Beginn wurden die Proben in 30% Ethanol 6 Stunden lang eingelegt, dann folgten 10 Stunden in 50% Ethanol, hiernach 10 Stunden in 70% Ethanol, danach in 90% Ethanol und zuletzt in 96% Ethanol. Aus Kostengründen wurde als 100%iger Alkohol Isopropanol verwendet, in dem die Proben zweimal 10 Stunden verweilten. Als letzte Alkoholspülung wurde Xylol verwendet, da eine möglichst vollständige Dehydration gewährleistet werden sollte. Die Proben wurden bei dieser letzten Spülung ebenfalls für 10 Stunden eingelegt.

Um später eine bessere Durchdringung der Proben mit der Polymerisationslösung des Technovit® 9100 NEU bei der Einbettung zu erlangen, erwies sich eine 6 stündige Einlage in die Technovit® 9100 NEU Basislösung als vorteilhaft. Dies wurde uns von Frau Schneider, Mitarbeiterin der Firma Heraeus Kulzer GmbH & Co.KG Deutschland am Telefon freundlicherweise mitgeteilt.

Reihenfolge:	
<u>Medium</u>	<u>Dauer der Einlage</u>
1. Sörensen-Puffer	1 Stunde
2. Sörensen-Puffer	1 Stunde
3. Sörensen-Puffer	1 Stunde
4. 30% Ethanol	6 Stunden
5. 50% Ethanol	10 Stunden
6. 70% Ethanol	10 Stunden
7. 90% Ethanol	10 Stunden
8. 96% Ethanol	10 Stunden
9. 100% Isopropanol	10 Stunden
10. 100% Isopropanol	10 Stunden
11. Xylol	10 Stunden
12. Basislösung Technovit	6 Stunden

Tabelle 4. Abfolge der Probenaufbereitung für die Technoviteinbettung

#### 2.4.4 Technovit® 9100 NEU

Das verwendete Polymerisat Technovit® 9100 NEU basiert auf einem Polymerisationssystem von Methylmethacrylat. Es wurde speziell für die lichtmikroskopische Untersuchung eingebetteter mineralisierter Gewebe entwickelt.

Es ist möglich, verschiedene Schnitttechniken mit diesem Produkt auszuführen. Durchaus denkbar sind die Hartschnitt-Technik, die Trenndünnschliff-Technik, die Dünn- und Semidünnschnitt-Technik von Weichgeweben und die kombinierte Trenndünnschliff-Technik und Hartschnitt-Technik (Hereaus Kulzer GmbH, 2002). Der chemische Polymerisationsprozess von Technovit® 9100 NEU erfolgt unter Verwendung eines Katalysatorsystems, welches auf Amin und Peroxid basiert. Der gesamte Prozess geschieht unter Ausschluss von Sauerstoff. Eine gezielte Polymerisationssteuerung ist bei  $-8^{\circ}$  Celsius bis  $-20^{\circ}$  Celsius mit Hilfe von Komponenten, wie PMMA-Pulver und Reglern möglich. Die Polymerisationszeit beträgt für den genannten Temperaturbereich ca. 18-24 Stunden, wenn eine Polymerisationsmenge von ca. 3-15ml verwendet wird. Nach

Auspolymerisation sind an den angefertigten Schnitten Färbungen durchführbar (Hereaus Kulzer GmbH, 2002).

Die Polymerisationsmischung des Technovit® 9100 NEU besteht aus zwei Stammlösungen, die sich aus pulverförmigen und flüssigen Komponenten zusammensetzen. Die Stammlösungen werden als Stammlösung A und Stammlösung B bezeichnet, deren unten aufgeführte Ansetzung aus der Gebrauchsinformation Technovit® 9100 NEU der Firma Hereaus Kulzer GmbH & CO. KG, Hanau, Deutschland entnommen wurde.

Die Herstellung der Stammlösung A erfolgte in einem 500 ml Messkolben. In diesen wurden 80g Pulver der Materialnummer 2 schrittweise mit ca. 400 ml Basislösung (Materialnummer1) gegeben. Diese Chemikalien sind auf dem Magnetrührer bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Auflösung durchgerührt worden. Anschließend wurden vom Härter 1 (Materialnummer3) 4g Pulver und vom Pulver (Materialnummer 2) 3g miteinander vermischt und der Lösung auf dem Magnetrührer hinzugegeben. Der Messkolben wurde mit der Basislösung auf 500 ml bis zur Eichmarke aufgefüllt. Es wurde weiter gerührt bis die Lösung klar wurde. Mit einer Dauer von bis zu ca. 20-40 Minuten ist hierbei zurechnen. Die fertige Stammlösung A, die sich durch eine klare visköse Konsistenz auszeichnete, wurde in eine Braunglasflasche mit Schraubverschluß gefüllt und bei +4° Celsius Kühlschranktemperatur bis zur Anwendung gelagert.

Bei der Herstellung der Stammlösung B wurden in einem 50 ml Messkolben 4 ml Härter 2 (Materialnummer4) mit einer Glaspipette vorgegeben und anschließend 30 ml Basislösung (Materialnummer1) hinzugefügt. Diese Komponenten wurden auf dem Magnetrührer vermischt. Mit einer Pipette wurden 2ml Regler (Materialnummer5) hinzugegeben und anschließend der Messkolben mit Basislösung (Materialnummer1) bis zum 50 ml Eichstrich aufgefüllt. Die Lösung wurde auf dem Magnetrührer gut umgerührt. Die fertige Stammlösung B, die dünnflüssig und klar sein sollte, wurde in eine Braunglasflasche mit Schraubverschluß gefüllt und bis zu ihrem Gebrauch im Kühlschrank bei +4° Celsius gelagert.

Zur Herstellung der Polymerisationsmischung wurden die gekühlten Stammlösungen A und B im Verhältnis 9 Volumenteile A im Messzylinder und 1 Volumenteil B in der Pipette unmittelbar vor dem Gebrauch in ein Becherglas gegeben und durchmischt (Hereaus Kulzer GmbH, 2002).

Die von uns vorher fertig vorbereiteten Proben wurden einzeln unter orientierender Position in die Einbettformen gelegt und anschließend mit dem angesetzten Polymerisationsgemisch Technovit® 9100 NEU vorsichtig übergossen. Die Proben wurden in einen gekühlten Exsikkator gegeben und durch ein von einer Wasserstrahlpumpe erzeugtes Vakuum evakuiert. Hier verweilten die Proben für 10 Minuten, wonach sie mit einem festverschlossenen, luftdichten Einbettgefäßdeckel versehen wurden und in den Kühlschrank zur Polymerisation bei +4° Celsius gestellt wurden. Der Polymerisationsvorgang dauerte 4 Tage.

#### 2.4.5 Das Trenndünnschliffverfahren

Nachdem die Proben fertig auspolymerisiert waren, wurden sie den Einbettformen entnommen. Sie besaßen einen Durchmesser von 2 Zentimeter und eine Höhe von 4,5 Zentimeter. Der implantatferne Probenboden wurde mittels einer Drehbank abgedreht, um eine plane aber dennoch raue Oberfläche zu erhalten. Diese diente der Befestigung mit Klebewachs an der Probenhalterung. Bei der verwendeten Säge vom Typ 3241 (Abb. 10 und Abb. 11) der Firma Well® Diamant-Drahtsägen GmbH, Deutschland handelte es sich um eine Drahtumlaufsäge, auf deren Drehtrommel verschieden dicke und unterschiedlich gekörnte diamantierte Schneiddrähte aufgewickelt werden

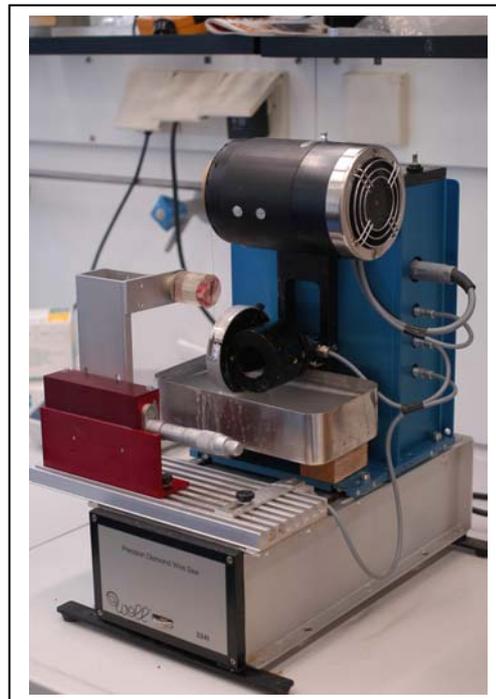


Abb. 10: Seitenansicht der Säge vom Typ 3241 mit eingespannter Probe.

können. Dabei läuft der Diamantdraht unter Wasserkühlung über eine Umlenkrolle ca. 30 Trommelumdrehungen in eine Richtung hin und dieselbe Anzahl wieder zurück. Zwischen der Drehtrommel und der im Wasserbad befindlichen Umlenkrolle befindet sich eine Einspannvorrichtung, in die die zu schneidende Probe eingespannt werden kann (Abb. 12). Diese Halterung ist fest mit der Sägen Grundplatte verbunden und kann

nur in der horizontalen über eine Mikrometerschraube verschoben werden. Diese Mikrometerschraube dient der exakten Einstellung der gewünschten Schnittdicke der Schnittscheibe, die aus einem Probenblock herausgeschnitten werden soll. Die Drehtrommeleinheit mit Umlenkrolle und Wasserbad befinden sich auf einem Sägeschlitten, der über die auf die Sägen Grundplatte montierten Schienen an den Probenblock zur Schnittherstellung herangeführt wird. Der Vorschub der Säge wird durch den Eigengewichtsvortrieb des Sägeschlittens auf einer leicht schiefen Ebene ermöglicht. Die Schienen müssen stets sauber und geölt sein.

Für die Herstellung der ca. 43-50µm dicken

Schnitte wurde ein Diamantdraht von 0,22 Millimeter Durchmesser und einer Körnung von 40µm verwendet und auf die Drehtrommel aufgezogen. Dies wurde nach den unten aufgeführten Herstellerangaben aus der Bedienungsanleitung der Firma Well® Diamant-Drahtsägen GmbH, Deutschland durchgeführt.

Die Drehtrommel der Säge wurde ohne zu verkannten in das Aufwickelgerät 33 geschraubt und mit der Drehkurbel bis zum Anschlag herausgedreht. Anschließend wurde die Trommel, die den neu aufzuwickelnden Diamantdraht enthielt, in die dafür vorgesehene Halterung eingesetzt. Der Diamantdraht wurde ein Stück von der Trommel herausgezogen, über die Umlenkrolle geführt und dann gerade auf die erste Windung der Drehtrommel gelegt und mit der dafür vorgesehenen Imbusschraube fixiert. Als nächstes wurden mit der Drehkurbel 36 Windungen auf die Trommel aufgezogen und der aufgezoogene Draht mit Hilfe von zwei Klemmen auf der Drehtrommel

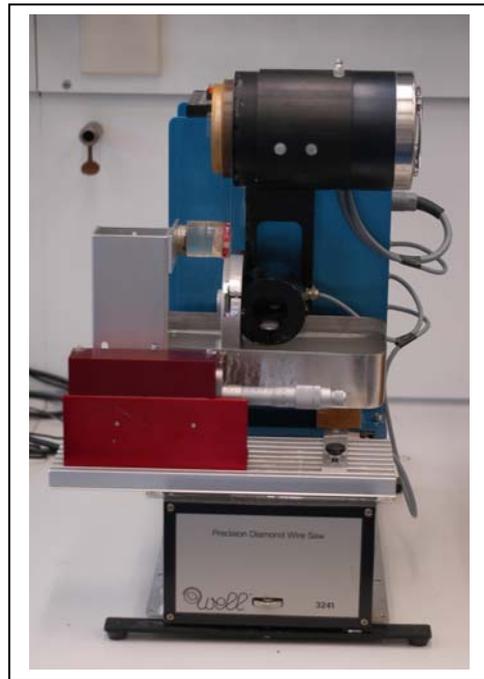


Abb. 11: Frontalansicht der Säge vom Typ 3241.

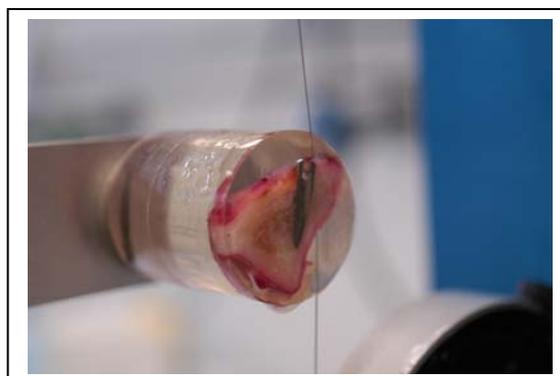


Abb. 12: Eingespannter Probenkörper beim Sägevorgang mit 0,22 Millimeter Sägedrahtstärke.

fixiert. Spezielle Öffnungen waren hierfür an der Drehtrommel vorhanden. Der jetzt abtrennbare Draht wurde mit der am anderen Ende der Drehtrommel befindlichen Imbusschraube befestigt. So aufgezogen konnte die Drehtrommel von dem Aufwickelgerät 33 heruntergenommen werden. Als wichtige vorbereitende Maßnahme zur Aufnahme der Drehtrommel musste die Aufnahmenarbe der Säge manuell über den Umkehrpunkt hinaus bis zum Anschlag so weit wie möglich in das Motorgehäuse eingedreht werden. So konnte später gewährleistet werden, daß der Draht genügend Nachlauf am Richtungsumkehrpunkt besaß und ein frühzeitiges Reißen des Drahtes verhindert werden. Die Trommel konnte nun auf die Aufnahmenarbe aufgesetzt und festgeschraubt werden. Hierbei musste auf einen unverkanteten Sitz der Drehtrommel geachtet werden. Die Umlaufrolle der Säge wurde angehoben und die Drahtschlaufe in die Führung eingebracht. Anschließend konnten die Klemmen von der Drehtrommel entfernt und diese aus ihrem Anschlag manuell bis zur Leichtgängigkeit gelöst werden. Als letztes wurden zum Schutz der Säge vor Spritzwasser die Spritzschutzkappen an die Drehtrommel und die Umlaufrolle montiert. Mit Hilfe der Wasserwaage wurde das Gefälle, welches den Vortrieb des Sägeschlitten garantierte, überprüft und falls angebracht mit einer Justierschraube vorne am Sägenfuß nachgestellt. Das mit Kühlwasser und Rostschutz versehene Wasserbecken wurden eingehängt, so dass die Säge nun angestellt werden konnte. Die Wasserwaage befand sich, genauso wie der Geschwindigkeitsregler für die Drehtrommel, oben auf dem Bedienelement am Sägeschlitten. Nach Herauslösen der Schlittenverriegelung unten links an der Sägenrundplatte und Einstellung der gewünschten Schnittdicke anhand der Mikrometerschraube, konnte die Säge mit erst leichter Umdrehungszahl vorsichtig an den zuschneidenden Probenblock herangeführt werden. Nach kurzem Anschnitt und der hierdurch entstandenen Drahtführung konnte die Umlaufgeschwindigkeit erhöht werden, so dass mit maximaler Geschwindigkeit gearbeitet werden konnte.

Die Schnittdauer betrug für einen Schnitt ca. 20 bis 25 Minuten. Bei nachlassender Schärfe des Drahtes wurde dieser nach einer Einzelschnittzeit von 40 Minuten erneuert. Insgesamt wurden pro Probe 4-5 Schnitte angefertigt.

#### 2.4.6 Einfärben der Schnittpräparate

Zur besseren mikroskopischen Beurteilung wurden die angefertigten Schnittpräparate eingefärbt. Als Farbstoffe wurden Alizerinrot S, Hergestellt von der Firma Chroma-Gesellschaft GmbH & CO, Münster, Deutschland und Brilliantkresylblau, hergestellt von der Firma E. Merck, Darmstadt, Deutschland verwendet.

Die Haupteigenschaft des Alizerinrot S liegt in der Darstellung von kalzifizierten Geweben. Dabei bildet dieser Farbstoff mit  $\text{Ca}^{++}$  Ionen Chelatverbindungen, welches eine intensiv orange bis gelb-rot Färbung der Kalziumsalze zur Folge hat. In Abhängigkeit von dem pH-Wert der angesetzten Färbelösung lassen sich unterschiedliche Kalzifizierungsgrade darstellen. Amorphe Kalziumsalze, die im Zuge der Kalkablagerung entstehen, lassen sich bei einem pH-Wert von 8,5 rasch lösen, während die schwerlöslichen Apatitkristalle aus dem Knochengewebe erst ab einem pH-Wert von 4,0 in Lösung gehen und gut anfärbbar sind (Böck 1980).

Die von uns verwendete Färbelösung wurde mit dem oben beschriebenen Sörensen-Puffer angesetzt. Von diesem Puffer, mit einem pH-Wert von 7,2, wurden 100 ml verwendet, um 1g Alizerinrot S zu lösen, so dass eine 1%ige Färbelösung entstand. Der unlösliche Pulveranteil wurde mittels eines Filter aufgefangen. Um die amorphen Kalziumkristalle sowie gleichzeitig auch die feste Knochensubstanz gut darstellen zu können, wurde dieser Lösung 60%ige Essigsäure hinzugegeben. Die hierdurch erhaltene Färbelösung mit einem pH-Wert von 5.5 stellte einen Kompromiss zur unterschiedlichen Anfärbbarkeit der unterschiedlich kalzifizierten Gewebe dar.

Als Gegenfärbung wurde Brilliantkresylblau verwendet. Dieser Farbstoff stellte die bindegewebigen Anteile der Schnittpräparate dar. Der vom Hersteller in 1%iger Konzentration gelieferte Farbstoff wurde von uns im Verhältnis 1:10 mit Sörensen-Puffer verdünnt, so dass mit einer Konzentration von 0,1% gearbeitet wurde.

Die Farbstofflösungen wurden einzeln in Petrischalen gegossen, in die die Schnittpräparate mit einer Pinzette gehalten wurden. Die Färbedauer der Alizerinrot S-Färbung betrug 2 Minuten, die von Brilliantkresylblau 10 Sekunden. Nach den einzelnen Färbungen wurden die Schnittpräparate mit Sörensen-Puffer abgespült.

#### 2.4.7 Die Fixierung der Proben

Die eingefärbten Schnittpräparate wurden anschließend auf Objektträgern fixiert, um sie unter dem Lichtmikroskop beurteilen zu können. Hierzu wurde Kaisersglycerin, hergestellt von der Firma E. Merck, Darmstadt, Deutschland, in einem Wasserbad erwärmt. Das nun flüssige Medium wurde auf den Objektträger gegeben, das einzudeckelnde Präparat auf den Träger gelegt und mit einem zweiten dünnen Objektträger bedeckt. Nach Abkühlung und Aushärtung des Kaisersglycerin konnten die Präparate nun unter dem Lichtmikroskop beurteilt werden.

#### 2.5 Das Lichtmikroskop

Die Schnittpräparate wurden bei 40 und bei 100 facher Vergrößerung unter dem Lichtmikroskop Axioplan 2, hergestellt von der Firma Zeiss, Jena, Deutschland analysiert. Dabei wurden mikroskopische Bilder mit der am Gerät befindlichen Kamera Axio Cam MRC angefertigt, die mit dem Computersoftwareprogramm Axioversion Version 3.1.2.1 gespeichert wurden.

#### 2.6 Vorbereitung für die Rasterelektronenmikroskopie

Die Vorbereitung der 28 Tage alten Proben für die Rasterelektronenmikroskopie vollzog sich bis zu deren Halbierung gleichermassen, wie die Vorbereitung der Proben für die Einbettung in Technovit® 9100 NEU. Sie wurden in Schaffer'scher Lösung fixiert und einer Alkoholreihe unterzogen.

Die Proben wurden mit einem Sörensen-Puffer dreimal eine Stunde lang bei +4° Celsius im Kühlschrank gespült und von der Schaffer'schen Lösung und dem darin enthaltenen Formaldehyd gereinigt.

Die Alkoholreihe schloss sich unmittelbar an den Spülungsvorgang mit dem Sörensen-Puffer an (Tabelle 5). Es wurde Ethanol in prozentualen aufsteigenden Konzentrationen sowie 100%iger Isopropanol verwendet. Die Implantate und deren umgebendes Gewebe

durchliefen die einzelnen Alkoholspülungen separat in verschraubbaren 50ml Bechergläsern nach fest vorgegebenen Spülzeiten. Dabei erfolgte die Aufbewahrung bei +4°Celsius im Kühlschrank. Zu Beginn wurden die Proben in 30% Ethanol 6 Stunden lang eingelegt, dann folgten 10 Stunden in 50% Ethanol, hiernach 10 Stunden in 70% Ethanol, danach in 90% Ethanol und zuletzt in 96% Ethanol. Aus Kostengründen wurde als 100%iger Alkohol Isopropanol verwendet, in dem die Proben zweimal 10 Stunden verweilten.

Reihenfolge:	
<u>Medium</u>	<u>Dauer der Einlage</u>
1. Sörensen-Puffer	1 Stunde
2. Sörensen-Puffer	1 Stunde
3. Sörensen-Puffer	1 Stunde
4. 30% Ethanol	6 Stunden
5. 50% Ethanol	10 Stunden
6. 70% Ethanol	10 Stunden
7. 90% Ethanol	10 Stunden
8. 96% Ethanol	10 Stunden
9. 100% Isopropanol	10 Stunden
10. 100% Isopropanol	10 Stunden

Tabelle 5. Reihenfolge zur Vorbereitung für die Kritische-Punkt-Trocknung.

Mittels einer Rasierklinge wurden die, die einzelnen Implantate beinhaltenden, Knochenblöcke in jeweils zwei Hälften geteilt. Die eine Hälfte beinhaltete das vollständige Implantat mit dem das Implantat bis zur Hälfte umgebende Knochengewebe, die andere Hälfte bestand aus dem korrespondierenden Knochengewebe, welches von der einen Implantatseite abgetrennt wurde.

### 2.6.1 Kritisch-Punkt-Trocknung der Proben

Da nur Proben, die keine Flüssigkeit enthalten, zur Oberflächenbeschichtung durch Sputtern mit unterschiedlichen elektrisch leitenden Reinelementen (Au, Ag, Cr, Pd)

geeignet sind, und sie später unter dem Rasterelektronenmikroskop beobachtet werden können, wurden die zerteilten Probenhälften der Kritisch-Punkt-Trocknung unterzogen. Diesem Verfahren liegt der Austausch zwischen dem im Probengewebe befindlichen Alkohol Ethanol und flüssigem CO<sub>2</sub> zugrunde. Durch die gesteuerte Verdunstung des flüssigen CO<sub>2</sub> wird die Probe schonend vollständig getrocknet, so dass die zu beurteilenden Strukturen keinen Schaden nehmen.

Da bei normalen Trocknungsvorgängen an der Luft es bei der Verdunstung der im Gewebe vorliegenden Flüssigkeit, zu einem Aggregatwechsel von flüssig zu gasförmig und einer damit verbundenen Phasengrenzdurchschreitung kommt, entstehen Oberflächenspannungen, die Schädigungen der Probe zur Folge haben. Bei der Kritisch-Punkt-Trocknung wird dieser Aggregatwechsel der Flüssigkeit unter Umgehung der Phasengrenze am Kritischenpunkt vorgenommen. Der Kritischepunkt ist der Zustand eines Stoffes, bei dem er sich gerade noch verflüssigen lässt. Dieser Punkt wird definiert durch die kritische Temperatur und den kritischen Druck. An diesem Punkt geht der Zustand des Stoffes unter Umgehung der Phasengrenze direkt von dem flüssigen in den gasförmigen Zustand über, ohne dass es zu Oberflächenspannungen kommt.

CO<sub>2</sub> wird verwendet, da die Werte für die kritische Temperatur und den kritischen Druck im technisch realisierbaren Bereichen liegen und damit verbunden, es nicht zu einer Schädigung der Probe kommt. Im Gegensatz zu Wasser mit einer kritischen Temperatur von +374° Celsius und einem kritischen Druck von 228,5 bar besitzt CO<sub>2</sub> eine kritische Temperatur von +31,1° Celsius und einen kritischen Druck von 72,9 bar.

Die Kritisch-Punkt-Trocknung wurde in dem Gerät CPC 010, hergestellt von der Firma Balzers Union, Lichtenstein nach Herstellerangaben durchgeführt.

Nach dem Verschluss der vier am Gerät befindlichen Ventile, konnte 100% Isopropanol in den Druckbehälter gegeben werden. Die zu trocknenden Proben wurden in die Gitterboxen gelegt und in den Druckbehälter eingeführt. Dieser war anschließend mit einem regenerierten oder neuen Dichtungsring im Verschlussdeckel fest zu verschließen. Die angezeigte Temperatur des Druckbehälters wurde nach Öffnen des am Gerät befindlichen Vorkühlventils mit flüssigem CO<sub>2</sub> auf +4°Celsius heruntergekühlt, bis der Druckbehälter vollständig mit CO<sub>2</sub> geflutet war. Dies war durch das an dem Druckbehälter befindliche Sichtfenster beobachtbar. Die im Druckbehälter befindliche Temperatur musste bei jedem Spülvorgang stetig kontrolliert und mit Hilfe des Einlassventils

nachgeregelt werden. Dabei durfte die Temperatur nicht unter  $+2^{\circ}$  Celsius fallen und  $+6^{\circ}$  Celsius überschreiten. Nach einer Stunde Spülung wurde die Mischflüssigkeit über das Auslassventil bei geöffnetem Dosierventil abgelassen. Dabei war darauf zu achten, dass der Flüssigkeitsspiegel kurz oberhalb der Gitterbox zum Stehen kam, da immer eine Bedeckung der Proben mit Flüssigkeit gewährleistet sein musste. Dieser Flüssigkeitsaustausch zwischen Isopropanol und  $\text{CO}_2$  wurde insgesamt sechsmal eine Stunde lang durchgeführt. Nachdem bei der letzten Spülung das gesamte Isopropanol gegen das  $\text{CO}_2$  vollständig ausgetauscht wurde, konnte durch Einstellen des Sollwertpotentiometers auf  $+45^{\circ}$  Celsius, der Druckbehälter 15 Minuten lang langsam aufgeheizt werden. Ein zu schnelles Aufheizen würde zu starken Turbulenzen führen, wodurch die Probe Schaden nehmen könnte. Nachdem am Druckanzeigeelement der kritische Druck und am Temperaturanzeigeelement die kritische Temperatur erreicht waren, erfolgte der Wechsel im Aggregatzustand des Trocknungsmittels  $\text{CO}_2$ . Um einen sicheren Aggregatwechsel zu gewährleisten, wurde erst bei Erreichen der voreingestellten Temperatur von  $45^{\circ}$  Celsius und dem Erreichen eines Druckes von 85 bar das Dosierventil bei geöffnetem Auslassventil vorsichtig geöffnet und das Ablassen auf den Normaldruck fein reguliert. Bei diesem 15 Minuten lang, zur Schonung der Proben andauerndem Vorgang, durfte die Temperatur nicht unter  $+40^{\circ}$  Celsius fallen. Nach Erreichen des Normaldrucks konnte die Druckkammer geöffnet und die nun fertigen Proben entnommen werden. Zur weiteren Lagerung wurden die Proben in einen Exsikkator mit Silicagel gelegt, da diese nun stark hygroskopisch waren.

### 2.6.2 Bedampfung der Proben

Die zu bedampfenden Proben werden in der Bedampfungskammer des Gerätes zwischen eine Anode und eine Kathode gebracht. In der Kammer erfolgt ein Austausch der Luft mit Argon (ca. 0,1 torr) sowie das Anlegen einer Potentialdifferenz zwischen der Anode und der breitflächig, aus dem zu verdampfenden Metall hergestellten Kathode. Die ionisierten Argonatome schlagen beim Auftreffen auf die Kathode Metallatome aus dieser heraus, so dass eine Metallatmosphäre entsteht. Durch die dabei entstehenden homogenen Ableitfilme schlagen sich die Metallatome auf jedem Bereich der Probe nieder. Der Vorgang der Bedampfung ist von kurzer Dauer (Nagel 1981).

Die Bedampfung der Proben wurde nach Herstellerangaben durchgeführt. Die zu bedampfenden Proben wurden einzeln auf eine Probenhalterung mittels Graphitpaste fixiert und in der Sputtering-Anlage, Balzers Sputtering Device Anlage Typ 07 120B ®, hergestellt von der Firma Balzers Union, Lichtenstein, ringförmig auf den Probenteller aufgesetzt. Anschließend wurde in den Targethalter eine Platte aus reinem Gold eingebracht, die als Opferkathode fungierte. Die Bedampfungskammer konnte nun mit dem Targethalter geschlossen werden. Der Probenteller, der die Anode im System darstellte, wurde justiert, so dass die Probenoberfläche einen Abstand von drei Zentimeter zu der Kathode maß. Bei dem anschließend in der Bedampfungskammer aufgebauten Vakuum von 0,01mbar wurde zuerst dreimal mit Argon gespült, bevor die Zeitschaltuhr auf 2 Minuten gestellt und mit der Bedampfung begonnen wurde. Der Spannungsregler musste zügig bis zu einem Stromfluss von 0,25 mA aufgedreht werden. Hierbei konnte die Bildung eines bläulichen Plasmas beobachtet werden. Aufgrund der vorgegebenen Richtwerte wurden die Proben mit einer 95 nm dicken Goldschicht bedampft. Da es bei diesem Vorgang nicht zu einem festen chemischen Verbund der Goldschicht mit der Probenoberfläche kommt, musste ein Abwischen der Goldschicht von der Probenoberfläche durch Berührung vermieden werden.

## 2.7 Das Rasterelektronenmikroskop

Bei dem verwendeten Rasterelektronenmikroskop handelte es sich um ein Rasterelektronenmikroskop vom Typ LEO 1530 VP® (Oberkochem, Deutschland).

Die in die Hochvakuumkammer des Rasterelektronenmikroskops gebrachten Proben wurden von einem feingebündelten Elektronenstrahl über ein Ablenkensystem zeilenförmig abgetastet. Dabei wurden in der goldbedampften Oberfläche der Proben Sekundärelektronen emittiert, die mittels eines Kollektors detektiert wurden. Dieses so erzeugte Sekundärsignal modulierte die Helligkeit eines Bildröhrenschreibstrahls, der synchron zum Primärelektronenstrahl auf der Probenoberfläche, über einen Bildschirm geführt wurde (Nagel 1981, Junquiera 1996).

Das auf diese Weise erzeugte rasterelektronenmikroskopische Bild konnte nun analysiert und gespeichert werden.

## 2.8 Histomorphometrie

### 2.8.1 Histomorphometrie am Lichtmikroskop

Das unter dem Mikroskop ermittelte Verhältnis zwischen dem Implantat und dessen Knochenanlagerung wurde als Länge der anliegenden Knochenschicht an die Implantatoberfläche definiert. Dazu wurden bei jedem Implantat die Anzahl der Windungen ermittelt, wodurch sich die Gesamtlänge  $x = 100\%$  für jedes Schnittpräparat individuell ermitteln ließ. Ins Verhältnis hierzu wurde die Anlagerung des Knochen an die Implantatoberfläche gesetzt, in dem der Abstand zwischen zwei Windungsspitzen in vier Teilabschnitte unterteilt wurde, so dass möglichst genau Aussagen über die Knochenanlagerung in diesen Bereichen gemacht werden konnten. Durch Übertragung eines imaginären Windungsspitzenabstand konnte der windungsfreie Implantatkopf im gleichen Verhältnis wie die Implantatflanke beurteilt werden. Die durch Addition in den einzelnen Abschnitten ermittelten Werte, wurden mit der Gesamtlänge des Implantates verglichen, so dass prozentuale Aussagen über die Knochenanlagerung am gesamten Implantat gemacht werden konnten.

### 2.8.2 Statistische Methodik

Zur Berechnung der Mittelwerte, der Standardabweichungen, der Standardfehler des Mittelwertes und der Signifikanz wurde das Computerprogramm SPSS für Windows, hergestellt von der Firma SPSS Inc., Chicargo, IL, USA verwendet. Mit diesem Programm wurden Vergleiche zwischen den einzelnen Gruppen und innerhalb der Gruppen für die verschiedenen Einheilphasen mittels two-way Analyse der Varianz und dem T-Test durchgeführt. Die Signifikanz für diese Vergleiche wurde bei  $p < 0,05$  festgelegt.

### 3 Die Ergebnisse

Die Versuchstiere zeigten postoperativ keine Anzeichen von Wundinfektionen. Die Regeneration der Tiere erfolgte ohne Komplikationen. Die Implantate zeigten klinisch eine gute Einheilung und besaßen eine zufriedenstellende Primärstabilität.

#### 3.1 Lichtmikroskopische Auswertung

##### 3.1.1 Die Kontrollgruppen:

##### 3.1.1.1 Das ITI-Implantat, 7 Tage, sequentielle Ostektomie, Gruppe A

Alle Präparate zeichneten sich durch eine monokortikale Einheilung und Fixierung der Implantate aus. Kalzifizierendes oder knöchernes Gewebe stellte sich rötlich und nichttransparent, Bindegewebe bläulich und transparent dar. Das Implantat war aufgrund seiner schwarzen, nichttransparenten, starken Abgrenzung gut von den anderen Strukturen zu unterscheiden.

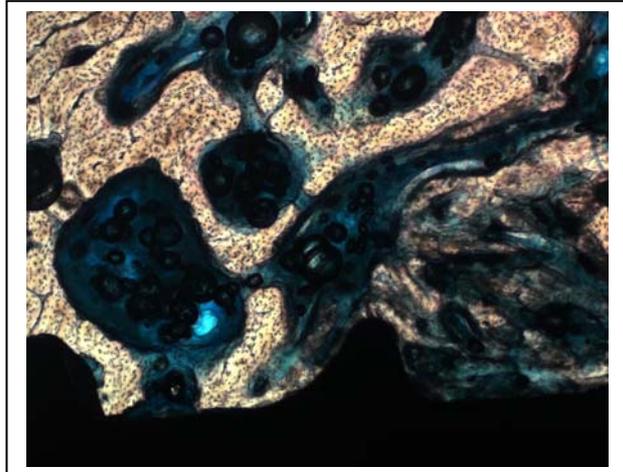


Abb. 10: Spongiöser Knochen mit unten im Bild liegendem Implantat. Gruppe A, 7 Tage.

In der kortikalen Knochenstruktur der Präparate war ein enganliegender, direkter Knochenkontakt, entlang des Implantatkörpers gut zu erkennen. Die Kortikalis zeigte sich frakturfrei. Es konnten weder nekrotisches, noch infiziertes kortikales Gewebe am Implantat beobachtet werden. Bindegewebeanlagerungen konnten ebenso wie Randspalten in diesem Knochenabschnitt ausgeschlossen werden.

Im spongiösen Knochen konnten in einigen Präparaten Blutgerinnsel an der Implantatoberfläche festgestellt werden, die von kleinen umgebenden spongiösen Hohlräumen

begrenzt wurden. Es war zu beobachten, dass diese Blutgerinnsel der Implantatoberfläche teilweise nicht ganz anlagen. Die Spongiosa zeichnete sich durch einen gleichmäßigen trabekulären Knochenaufbau aus. Die Spongiosahohlräume erschienen, speziell auch um das Implantat herum, großkammerig und waren mit Bindegewebe ausgefüllt (Abb.10). Teilweise konnten hier Osteoblastenzellen dargestellt werden. An der Implantatoberfläche war eine spaltfreie knöcherne Anlagerung zu beobachten, die in weiten Abschnitten durch kalzifizierendes Bindegewebe unterbrochen wurde. Frakturen in der Spongiosa waren nicht zu erkennen. Weder nekrotisches, noch entzündliches Gewebe war zu finden. An der Implantatoberfläche war in einigen Präparaten ein Randspalt zu sehen. Dies lässt sich durch den Herstellungsvorgang der Präparate erklären, da es hier zum einen zu Gewebsauswaschungen durch den Sägedraht, zum anderen zu eventuell lagerungsbedingten Schäden an den Proben kam. Perlenartige Erscheinungen in den Präparaten lassen sich auf eingeschlossene Luftblasen während des Eindeckelns zurückführen.

### 3.1.1.2 Das ITI-Implantat, 28 Tage, sequentielle Ostektomie, Gruppe A

Die Präparate zeigten auch hier eine monokortikale Einheilung und Fixierung des Implantates. Die Erscheinung der Gewebe und des Implantates glich der Darstellung der ITI-Implantate, die 7 Tage einheilten und gebohrt wurden.

In den kortikalen Knochenstrukturen war auch hier ein zum Implantat eng anliegender Knochenkontakt zu sehen. Es konnten keine Randspalten, sowie bindegewebige Spalträume

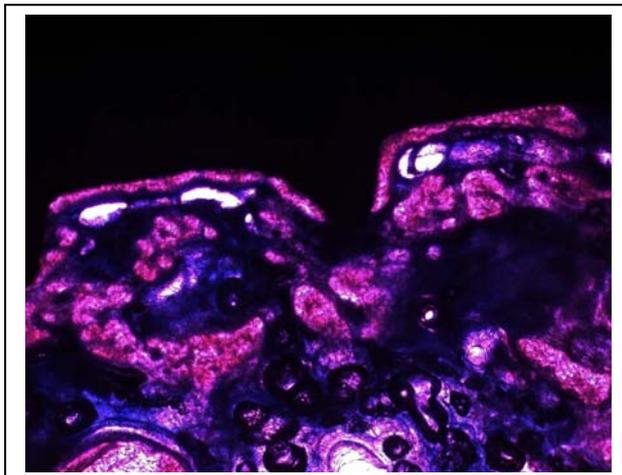


Abb. 11: Knochenanlagerung an die Implantatoberfläche des oben im Bild befindlichen Implantates. 28 Tage, Gruppe A.

erkannt werden. Die Kortikals zeichnete sich durch Frakturfreiheit und nicht vorhandenes nekrotisches oder entzündliches Gewebe aus.

Im spongiösen Knochen konnte eine deutlich höhere Knochenanlagerung an die Implantatoberfläche dargestellt werden. Im Vergleich zu den Implantaten nach 7 Tagen stellten sich hier weite Abschnitte der Implantatoberfläche durchgehend mit Knochen bedeckt dar (Abb. 11). Nur noch einzeln lagerte sich noch zu kalzifizierendes Bindegewebe an die Implantatoberfläche an. Die Größe der spongiösen Zwischenräume, die das

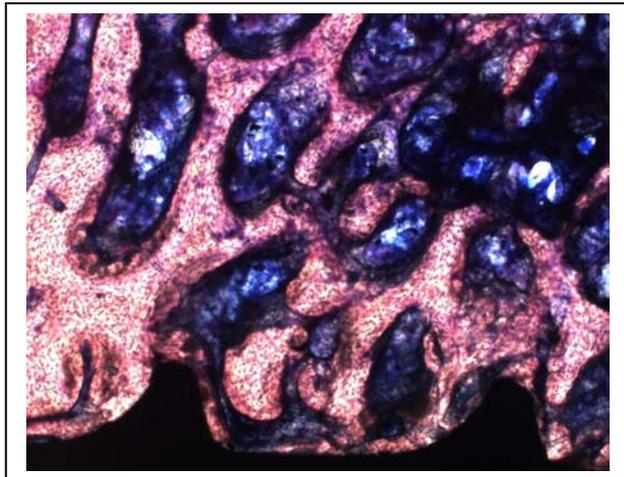


Abb. 12: Gleichmäßige Spongiosastrukturen mit Anlagerung an die Implantatoberfläche (unten im Bild). 28 Tage, Gruppe A.

Implantat direkt umgeben, war klein. Diese waren mit kalzifizierendem Bindegewebe ausgefüllt. Die Spongiosa zeichnete sich durch einen gleichmäßigen trabekulären Aufbau aus (Abb. 12). Blutgerinnsel waren keine mehr zu beobachten. Frakturen der Spongiosa sowie nekrotisches oder entzündetes Gewebe konnten ausgeschlossen werden. Teilweise stellten sich auch hier sehr kleine transparente, nicht gefüllte Hohlräume und perlenartige Strukturen dar, die gleich zu begründen sind.

### 3.1.2 Die Untersuchungsgruppen:

#### 3.1.2.1 Das ITI-Implantat, 7 Tagee, Osteotomtechnik, Gruppe B

Sämtliche Präparate zeigten eine monokortikale Einheilung und Fixierung aller Implantate. Die Unterscheidung der Gewebe und des Implantates glich der Darstellung der gebohrten ITI-Implantate. In den kortikalen Knochenstrukturen der Präparate war ein enganliegender, direkter Knochenkontakt, entlang des Implantatkörpers gut zu erkennen. In der Kortikalis waren vereinzelt Frakturen und Knochenabsprengungen zu finden. Diese stellten sich auf der Seite zur Spongiosa hin dar. Weder nekrotisches, noch infiziertes kortikales Gewebe war am Implantat zu beobachten. Bindegewebeanlagerungen oder Randspalten konnten in diesem Knochenabschnitt nicht erkannt werden.

In dem spongiösen Knochenabschnitt waren zahlreiche frakturierte Knochenbälkchen am Implantatschaft auffällig, die einzeln in den Spongiosahohlräumen (Abb. 13), oder im Bereich der Implantatwindungen enganeinander anlagen (Abb. 14). Durchsetzt waren diese einzeln verdichteten Knochenbereiche mit Bindegewebe oder mit Blutgerinnseln. Trotz des verdichteten Knochens konnte keine intakte durchgängige Knochenanlagerung, wie bei den 7

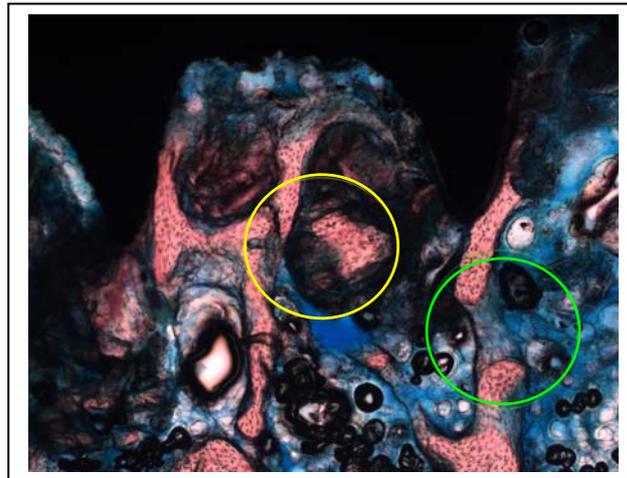


Abb. 13: Spongiosa-Bälkchenfrakturen im Bereich einer Implantatwindung knapp unterhalb der Kompakta-Spongiosagrenze (gelber Kreis). Beginnende Ossifizierung (grüner Kreis). Das Implantat befindet sich oben im Bild. 7 Tage, Gruppe B.

Tage, gebohrten ITI-Implantaten dargestellt werden. Im Implantatbettboden konnten höher verdichtete Spongiosahohlräume dargestellt werden, als am Implantatschaft. Dies ist auf den Gebrauch der Osteotome und die damit zusammenhängende Knochenverdichtung am Boden des Bettes zurückzuführen. Weder nekrotisches, noch entzündliches Gewebe war an der Implantatoberfläche oder in den bindegewebig gefüllten Spongiosahohlräumen zu finden. An der Implantatoberfläche war in einigen Präparaten ein Randspalt zu sehen. Dieser lässt sich durch den Herstellungsvorgang der Präparate erklären, da es hier zum einen zu Gewebsauswaschungen durch den Sägedraht, zum anderen durch eventuelle lagerbedingte Schäden an den Proben kam. Perlenartige Erscheinungen in den Präparaten lassen sich auf eingeschlossene Luftblasen während des Eindeckelns zurückführen.

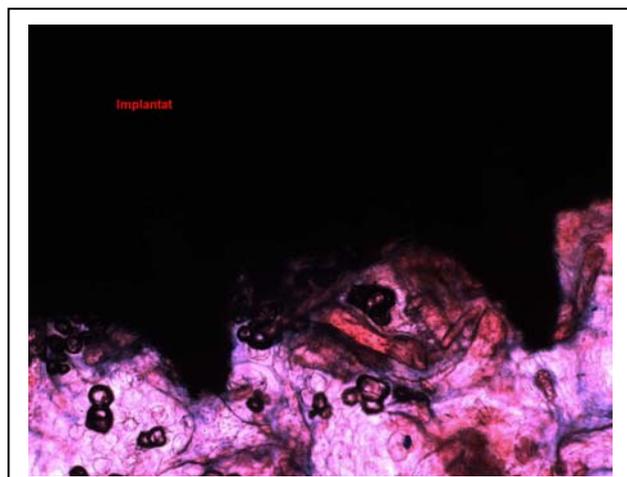


Abb. 14: Spongiosa-Bälkchenfrakturen im Bereich einer Windung an der Implantatflanke. Verdichtete Spongiosahohlräume. 7 Tage, Gruppe B.

### 3.1.2.2 Das ITI-Implantat, 28 Tage, Osteotomtechnik, Gruppe B

Alle Präparate zeigten eine monokortikale Einheilung und Fixierung der Implantate. Kalzifizierendes oder knöchernes Gewebe stellte sich rötlich und nichttransparent, Bindegewebe bläulich und transparent dar. Das Implantat war aufgrund seiner schwarzen, nichttransparenten, starken Abgrenzung gut von den anderen Strukturen zu unterscheiden.

In den kortikalen Strukturen des Knochens ließen sich ein eng anlie-

gender knöcherner Kontakt entlang des Implantatkörpers beobachten. Frakturen, Randspalten oder Bindegewebeeinlagerungen ließen sich nicht finden. Auch konnten nekrotisches und entzündetes Gewebe nicht dargestellt werden.

Die zuvor bei den 7 Tägigen Implantaten gefundenen Frakturen in der Spongiosa lagen zum Teil nicht mehr vor. Die einzelnen Knochensplitter und Bruchstücke waren weitestgehend miteinander verheilt. Es konnte keine Vermehrung von Knochenmasse festgestellt werden, sondern eine im Gegenteil eher leichte Massenabnahme. Dieses Phänomen lässt sich anhand der Knochenumbauvorgänge während der Frakturheilung, durch die teilweise stattfindenden Resorptionsvorgänge erklären. Es konnte aber dennoch eine Zunahme der Knochen-Implantat-Kontaktrate innerhalb der Spongiosa im Vergleich zu den siebentägigen Proben dieser Gruppe verzeichnet werden. Die Knochenan-

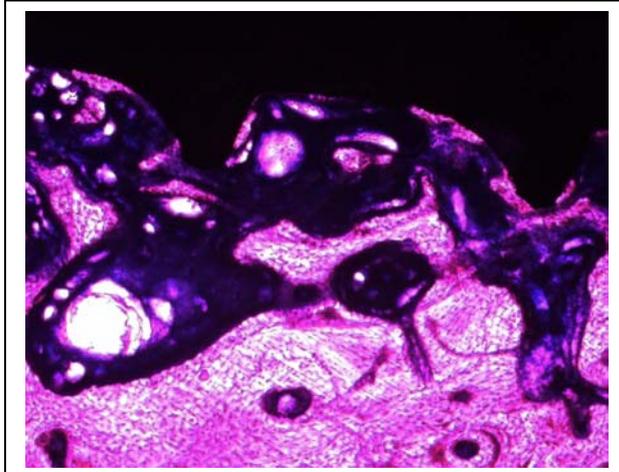


Abb. 15: Unterbrochene Knochenanlagerung an die Implantatoberfläche (oberer Bildteil). 28 Tage, Gruppe B.

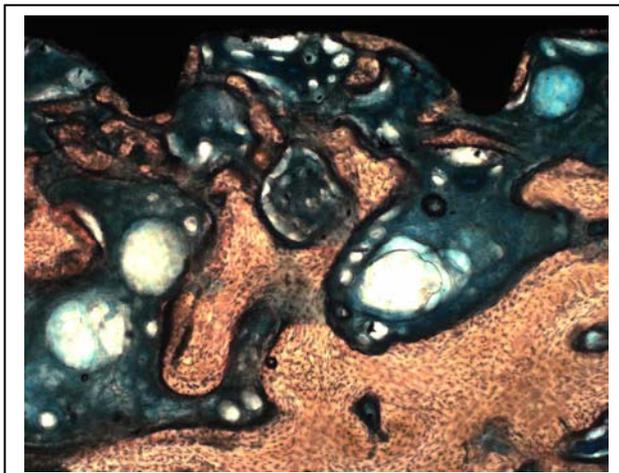


Abb. 16: Knochenanlagerung an die Implantatoberfläche im oberen Abschnitt des Bildes. 28 Tage, Gruppe B.

lagerung an der Implantatoberfläche war, im Vergleich zu den 28 tägigen gebohrten Proben, auf lange Stecken von Bindegewebe unterbrochen (Abb.15). Die Spongiosahohlräume erschienen entlang des Implantatschaftes bindegewebig durchsetzt und erweitert (Abb. 16). Ebenso auch an der Implantatspitze. Die Spongiosa zeichnete sich dennoch durch einen gleichmäßigen trabekulären Aufbau aus. Blutgerinnsel waren keine mehr zu beobachten. Nekrotisches oder entzündetes Gewebe konnten ausgeschlossen werden. Teilweise stellten sich auch hier sehr kleine transparente, nicht gefüllte Hohlräume und perlenartige Strukturen dar, die gleich zu begründen sind, wie bei den gebohrten, einwöchigen Implantaten.

Lichtmikroskopisch konnte gezeigt werden, dass es zu einer knöchernen Einheilung beider Implantatgruppen nach 28 Tagen gekommen war. Eine Ausbildung neuer spongiöser Knochenstrukturen konnte in beiden Gruppe beobachtet werden. Dennoch war eine unterschiedliche Knochen-Implantat-Kontaktrate in den einzelnen Gruppen zu erkennen, so dass, ohne genaue Berechnung der Kontaktrate, sich ein Vorteil für die sequentiell mit rotierenden Instrumenten gesetzten Implantate hieraus ersehen ließ. Die Implantatoberflächen der Kontrollgruppe besaßen eine durchgängigere Knochenbedeckung an der Oberfläche als die Osteotomgruppe.

### 3.2 Histomorphometrische Auswertung

Nach sieben Tagen der Einheilung lag die Knochen-Implantat-Kontaktrate bei der Osteotomgruppe bei 35,88 % mit einer Standardabweichung von 9,31 % und bei der Kontrollgruppe bei 43,78 % mit einer Standardabweichung von 10,72 %. Es lag keine statistisch Signifikans vor ( $P < 0.095$ ) (Tabelle 4).

In dem Zeitraum zwischen dem siebten Tag und dem 28. Tag war die relative Zunahme der Knochen-Implantat-Kontaktrate beim Vergleich beider Gruppen doppelt so hoch in der Kontrollgruppe ( $19,69 \pm 5,93$ ), wie in der Osteotomgruppe ( $7,04 \pm 4,26$ ) (Tabelle 5)

Nach 28 Tagen betrug die Knochen-Implantat-Kontaktrate bei der Osteotomgruppe 42,91 % mit einer Standardabweichung von 11,38 % und bei der Kontrollgruppe bei 63,47 % mit einer Standardabweichung von 15,40 %. Diese Differenz war statistisch signifikant ( $P = 0.003$ ) (Tabelle 4).

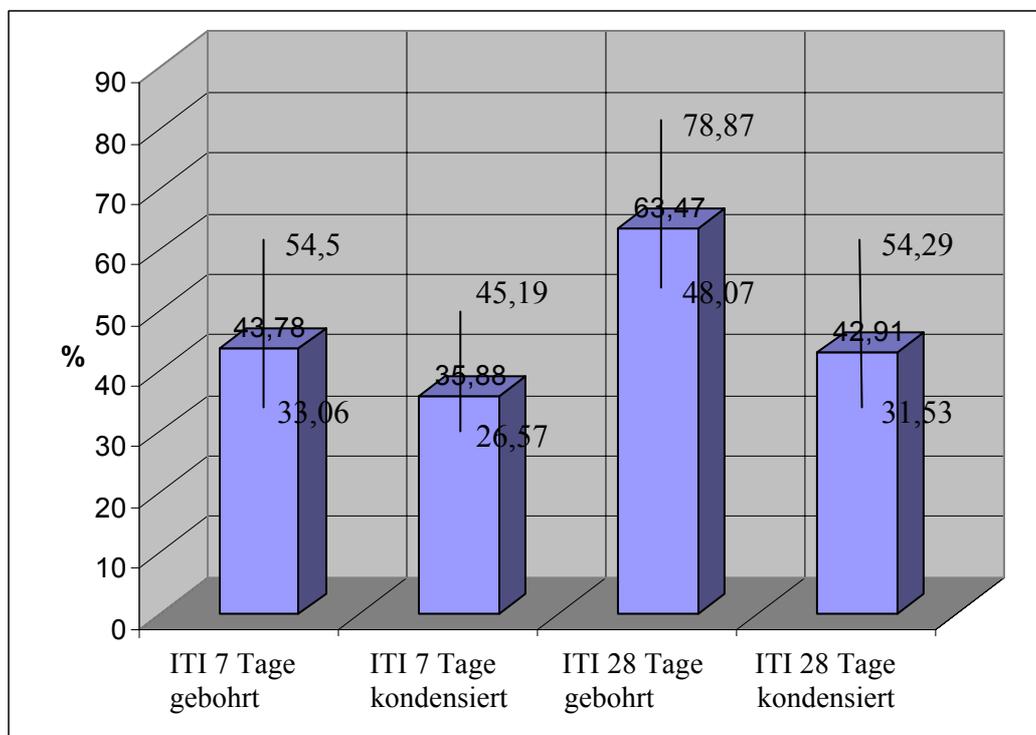
Untersuchungsgruppen	7 Tage	28 Tage	Wechsel innerhalb der Gruppe	Wechsel Gruppe A vs. Gruppe B	Wechsel Gruppe A vs. Gruppe B
				7 Tage	28 Tage
Gruppe A Kontrolle	43,78 % $\pm$ 3,39 %	63,47 % $\pm$ 4,87 %	19,69 % $\pm$ 5,93 % a	P = 0,095	P = 0,003
Gruppe B kondensiert	35,88 % $\pm$ 2,94 %	42,91 % $\pm$ 3,07 %	7,04 % $\pm$ 4,26 % b		
a p = 0,004					
b p = 0,05					

Tabelle 4. Knochen-Implantat-Kontaktrate (%) am 7. und 28. Tag.

Betrachtet man die Auswertungen, so ist hieraus ersichtlich, dass in dieser Studie zwischen den Implantaten die mittels Osteomtechnik und den Implantaten die mittels sequentieller Osteotomie mit rotierenden Instrumenten gesetzt wurden in der initialen

Einheilungsphase nach sieben Tagen kein Unterschied besteht, wenn man die Knochenanlagerung an die Implantatoberfläche betrachtet. Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant. Die ermittelten Werte beider Gruppen liegen dicht beieinander. Ein Vorteil der Kontrollgruppe gegenüber der Osteotomgruppe zeichnet sich nach 28tägiger Einheilung relativ deutlich ab, da hier eine deutlich höhere Knochenanlagerung an die Implantatoberfläche zu erkennen ist (Grafik 1). Nach 28 Tagen ist die Gruppe A signifikant besser als die Gruppe B.

### 3.2.1 Knochen-Implantat-Kontaktrate



Grafik 1. Grafische Darstellung der Knochen-Implantat-Kontaktrate (%) am 7. und 28. Tag.

### 3.3 Elektronenmikroskopische Auswertung

Zwischen den Versuchsgruppen konnten keine Unterschiede bezüglich der direkten Knochenanlagerung an die Implantatoberfläche festgestellt werden. Die Implantate waren innerhalb dieses Zeitraumes gut eingeeilt. Bei beiden Gruppen lag innerhalb der Kompaktaschicht das Knochengewebe spaltfrei an (Abb.17). Innerhalb der spongiösen Strukturen kam es ebenfalls zu keiner Spaltbildung an der Implantatoberfläche. Die Implantatoberfläche wurde in beiden Gruppen von der Knocheninnenhaut bedeckt. Hauptsächlich konnten Kollagenfasern und Osteoblasten in den angrenzenden Knochengewebestrukturen gefunden werden. Die Kollagenfasern orientierten sich in erster Linie senkrecht zur Implantatoberfläche (Abb. 18). Dies war bei den gebohrten Implantaten wie auch bei den osteotomierten Implantaten gut zu erkennen. Aber auch eine netzfeldartige Orientierung der neu synthetisierten Kollagenfasern, die sich parallel zur Implantatoberfläche ausrichteten, konnten hier gefunden werden (Abb.19 und Abb. 20) Osteoblastenzellen ließen sich sehr gut bei der Untersuchungsgruppe darstellen. Diese besiedelten kolonieartig die an das Implantat angrenzenden Knochenoberflächen. Gerade bei der Osteotomgruppe konnte hier eine Osteoblastenproliferation erkannt werden (Abb. 21 und Abb. 22). Die

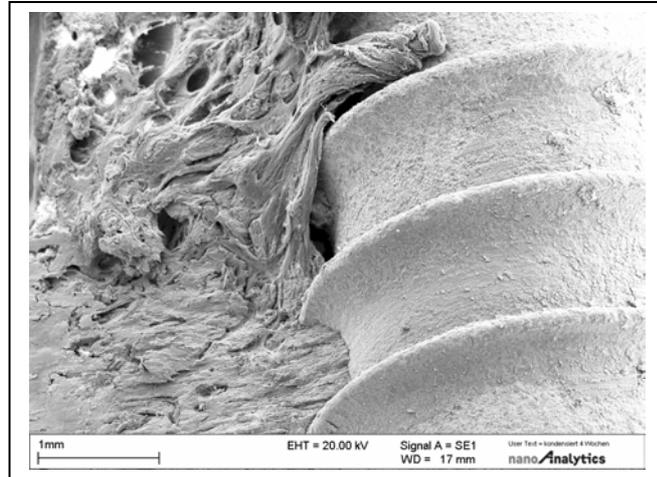


Abb. 17: Spaltfreianliegende Kompakta im unteren Bildteil, sowie Teile der Spongiosa. Anhaftende Zellreste auf der Implantatoberfläche. 28 Tage, Gruppe B.

Die Implantatoberfläche wurde in beiden Gruppen von der Knocheninnenhaut bedeckt. Hauptsächlich konnten Kollagenfasern und Osteoblasten in den angrenzenden Knochengewebestrukturen gefunden werden. Die Kollagenfasern orientierten sich in erster Linie senkrecht zur Implantatoberfläche (Abb. 18). Dies war bei den gebohrten Implantaten wie auch bei den osteotomierten Implantaten gut zu erkennen. Aber auch eine netzfeldartige Orientierung der neu synthetisierten Kollagenfasern, die sich parallel zur Implantatoberfläche ausrichteten, konnten hier gefunden werden (Abb.19 und Abb. 20) Osteoblastenzellen ließen sich sehr gut bei der Untersuchungsgruppe darstellen. Diese besiedelten kolonieartig die an das Implantat angrenzenden Knochenoberflächen. Gerade bei der Osteotomgruppe konnte hier eine Osteoblastenproliferation erkannt werden (Abb. 21 und Abb. 22). Die

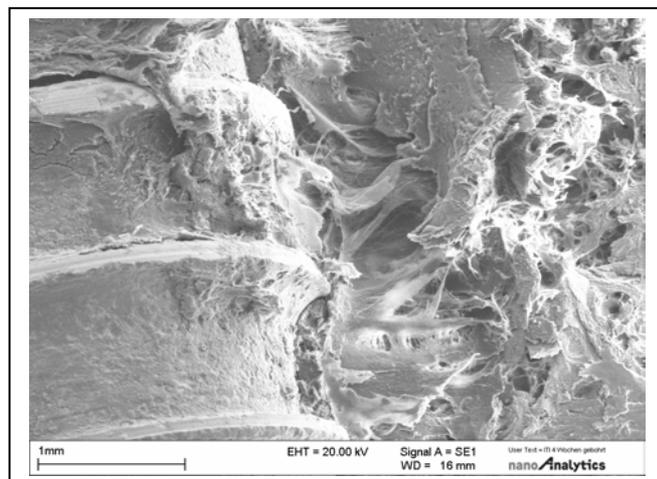


Abb. 18: Senkrechte zum Implantat orientierte Kollagenfasern. 28 Tage, Gruppe A.

Osteoblasten standen aber auch, genauso wie andere für die Osseointegration förderlichen Zellen im unmittelbarem Implantatoberflächenkontakt. Neben diesen Zellen waren noch extrazelluläre Matrixproteine und mineralisierter Knochen auf der Implantatoberfläche zu finden.

Hieraus ergibt sich die Schlussfolgerung, dass über einen besseren Knochen-Implantat-Kontakt innerhalb einer Gruppe nur spekuliert werden kann. Es konnte kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden.

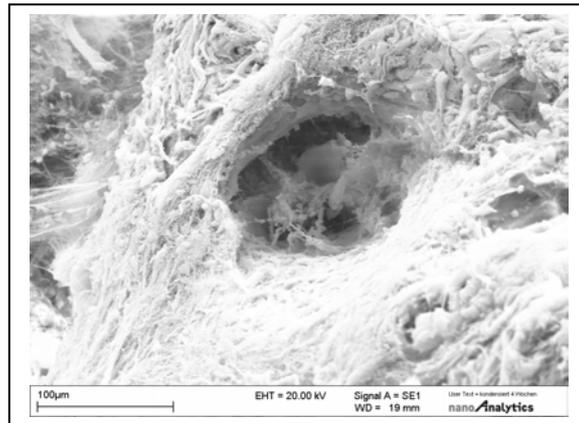
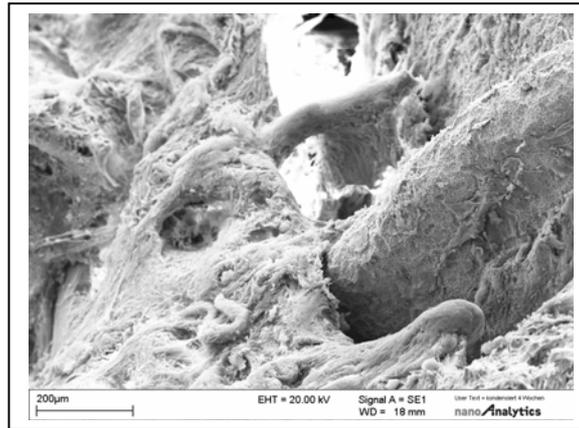


Abb. 19 und Abb. 20: Netzförmig orientierte Kollagenfasern im umliegenden Knochengewebe. Unteres Bild zeigt einen Ausschnitt aus Abb. 19 mit einem in der Mitte liegendem eingesprossenen Gefäß. 28 Tage, Gruppe B.

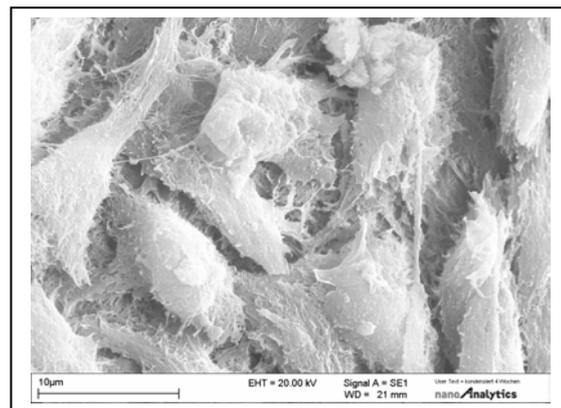
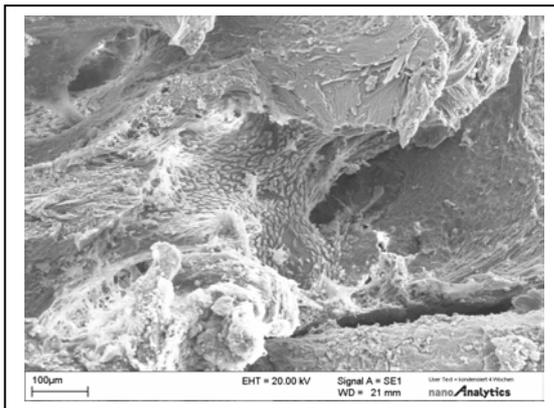


Abb. 21 und Abb. 22: Darstellung der Osteoblastenkolonie bei der Osteotomgruppe. Im linken Bild befindet sich die Implantatwindung rechts unten im Bild, die Kolonie ist mittig auf der Knochenoberfläche zu erkennen. Das rechte Bild stellt die Proliferation der Osteoblasten in Vergrößerung dar. 28 Tage, Gruppe B.

## 4 Diskussion

Die Osteotomie wurde erstmalig in der Rekonstruktionsmedizin angewendet, um eine Erhöhung der Knochendichte zu erreichen (Burri et al. 1977, Spiessel 1980). Durch leichte Abwandlungen und Modifikationen dieser Technik, die von SUMMERS (Summers 1994) durchgeführt wurden, gelang dieser Knochenbearbeitungstechnik schließlich der Einzug in die dentale Implantologie.

Die Osteotomie besitzt gewisse Vorteile gegenüber der konventionellen Technik, wenn ein ausreichendes Knochenangebot nicht vorhanden ist und somit eine langjährige Insertion des Implantates nur durch eine aufwendige chirurgische Knochenaugmentation ermöglicht werden kann (Jemt et al. 1995, Schultze-Mosgau et al. 1996). Diese chirurgischen Maßnahmen zur möglichen Erhöhung der Implantatüberlebensrate ziehen hohe Kosten mit sich und können nur unter speziellen Operationsbedingungen in einem Operationssaal durchgeführt werden. Zudem stellte sich heraus, dass die Überlebensrate der inserierten Implantate durch die Knochenaugmentation zusätzlich verringert wird (Fugazzotto et al. 1998, Schlegel et al. 2000).

Mit Hilfe der Osteotomie können Knochendefizite bis zu einem gewissen Maß überbrückt werden. Es ist möglich, eine interne Sinusliftanhebung und eine Alveolarkammexpansion durchzuführen (Summers 1994, 1995, 1998). Hierdurch können Kosten für die Operation erheblich gesenkt, die Operationszeit verkürzt und eine Knochenaugmentation vermieden werden.

Zum Zwecke der Etablierung dieser Technik und der damit zusammenhängenden Vorteile, wurden im Laufe der Zeit viele klinische Studien veröffentlicht. In ihnen wurde die Überlebensrate der Implantate untersucht, die mit Hilfe dieser Technik in den Knochen eingebracht wurden (Zitzmann et al. 1998, Abels et al. 1999, Strietzel et al. 1999). Es existieren jedoch keine experimentellen Tierstudien, die den Verlauf der Osseointegration zwischen dieser Knochenbearbeitungsmethode und der konventionellen Methode vergleichen und die die Gründe für die Zunahme der klinischen Erfolge darstellen.

Dass Ziel dieser Tierversuchsstudie war es, die besonderen Unterschiede der Oberflächenreaktion zwischen der Osteotomie und der sequentiellen Ostektomie mittels

rotierender Instrumente in der frühen Phase der Osseointegration darzustellen. Die Reaktionen an der Knochen-Implantat-Grenze wurden lichtmikroskopisch sowie raster-elektronenmikroskopisch bei den inserierten Implantaten untersucht.

Die Hauptaussage dieser Studie stellt den negativen Effekt der Osteotomtechnik auf die Knochen-Implantat-Kontaktrate in der frühen Phase der Osseointegration dar. Die in dieser Studie ermittelten Ergebnisse für die Knochen-Implantat-Kontaktrate bei der Anwendung der konventionellen Methode stimmen mit früheren Studien und Veröffentlichungen von NKENKE (Nkenke et al. 2002, 2003) überein. Jedoch konnten die Studien von NKENKE und YILDERIM (Nkenke et al. 2002, Yilderim et al.1998) eine Erhöhung der Knochendichte, bei Anwendung der Osteotomtechnik vor der Implantation, nachweisen. Doch die ermittelten Werte für die Knochen-Implantat-Kontaktrate bei der Verwendung der Osteotomtechnik, widersprechen denen, die von dieser Studie ermittelt wurden.

Es zeichnete sich ein deutlicher Vorteil der Kontrollgruppe gegenüber der Osteotomgruppe nach 28tägiger Einheilung ab. Das Ergebnis zeigte eine deutlich höhere Knochenanlagerung an die Implantatoberfläche. Hieraus kann geschlussfolgert werden, dass aufgrund der stärkeren Knochenanlagerung an die Implantatoberfläche auch eine erhöhte Primärstabilität in dieser Gruppe vorhanden sein muss.

Die Gründe für diese differente Knochenanlagerung an der Implantatoberfläche, sind von komplexer Natur.

Der spongiöse Knochen ist ein visco-elastisches Gewebe, welches bis zu einem bestimmten Grenzwert elastisch verformbar ist. Dieser Grenzwert für die Elastizitätsverformung wird bei der Osteotomtechnik überschritten, da bei der Verwendung von Osteotomen eine Kraft über 20 Mpa auf den spongiösen Knochen einwirkt, deren Folge Frakturen innerhalb des spongiösen Knochens sind. Die Knochenmarkräume kollabieren aufgrund dieser Einbrüche. Eine Erhöhung der Knochendichte ist die Konsequenz hieraus, aber auch eine schwere Störung der Blutzirkulation.

Im Vergleich hierzu, kann es aufgrund der Geometrie der Implantatoberfläche zu gar keiner enganliegenden Knochenanlagerung zwischen der Implantatoberfläche und Implantatbett direkt nach der Insertion des Implantates kommen, da die hervorgerufenen Knochenrümmer zu große Hohlräume an der Implantatoberfläche bilden. Aufgrund der

Störung der nutritiviät (Ernährung) des Knochens, braucht das Gewebe länger, diese Hohlräume zu überbrücken und mehr Zeit zur Schaffung neuer Knochenmarkräume und zur Gefäßeinsprießung. Ein Grund hierfür ist die Zerstörung der Osteozyten, die bei Druckverhältnissen zwischen 10-20 Mpa zerdrückt werden (Osborn 1980, Müller et al. 1985a, 1985b).

NKENKE konnte Mikrofrakturen, die im Zusammenhang mit der Osteotomtechnik stehen, in seinen Studien darstellen. Diese konnten überall in kondensierten Knochengewebe nachgewiesen werden, während die konventionell inserierten Implantate die Spongiosastrukturen nicht beschädigten.

Es ist bekannt, dass starke Belastungen mikroskopische oder submikroskopische Schädigungen des Knochen hervorrufen. Diese Schädigungen besitzen einen starken Einfluss auf die physiologische Unverletzlichkeit des Kollagengewebes. Das Knochengewebe ist ein ermüdbares Material, welches aber unter normalen Druckbedingungen die Eigenschaft besitzt, sich an die einwirkenden mechanischen Einflüsse zu adaptieren (Frost 1998). So kann eine Fraktur des Gewebes verhindert werden. Bei zu starker mechanischer Belastung des Gewebes kommt es zur Mikrobeschädigung oder Mikrofraktur der spongiösen Strukturen. Das Knochengewebe unterliegt ständigen Umbaumaßnahmen, die der Adaptation des Knochengewebes an unterschiedliche Einflüsse, aber auch der Reparatur solcher Defekte dient. Diese Reparaturmaßnahmen werden ständig von mechanischen Einflüssen und Mikrobewegungen beeinflusst (Meyer et al. 1999). Diese Knochenumbauvorgänge konnten bei dieser Studie in allen Untersuchungsgruppen während eines Untersuchungszeitraumes von vier Wochen beobachtet werden. Eine Übereinstimmung der Beobachtungen von NKENKE (Nkenke et al 2002) mit diesen Studienergebnissen konnte erkannt werden, da dieser ebenfalls ein ständiges „Bone remodeling“ im periimplantären Knochen nachweisen konnte. Diese Knochenumbauvorgänge basierten in beiden Studien nicht nur auf den natürlichen Umbauvorgängen, wie in der Kontrollgruppe zu sehen war, sondern auch auf Trauma bedingten Umbauvorgängen in der Untersuchungsgruppe, den Bone remodeling units (BMU), welche auch „regional acceleratory phenomena“ genannt werden (Frost 1964, 1983, 1986a, 1986b). Viele Tierstudien beschäftigten sich mit den neu entstandenen Knochenstrukturen, die durch den Gebrauch von Osteotomen hervorgerufen wurden (Burri et al. 1977). Eine erhöhte Dichte dieser Knochenstrukturen konnte von LUNDGREN belegt werden

(Lundgren et al.1995). Als proportional zum Grad der Kompression des Knochens, konnte die Menge des neu entstandenen Knochens angesehen werden, welches BURRI und WOLTER (Burri et al.1977) belegten. Die Grenzflächenneubildung des Knochens sollte von den normalen Umbauvorgängen in Abhängigkeit von den Wechselbeziehungen der Knochenbiomaterial unterschieden werden.

Im Rahmen unserer Studie konnte eine spongiöse Knochenheilung nach Insertion der Implantate, innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 28 Tagen, in beiden Untersuchungsgruppen, auf lichtmikroskopischer Ebene, gezeigt werden. Überraschenderweise konnte nach 28 Tagen der Einheilung ebenfalls eine geringe Knochen-Implantat-Kontaktrate bei den mittels Osteotomtechnik inserierten Implantaten gefunden werden, wie dies auch bei den siebentägigen Implantaten der Fall war. Eine Erklärung hierfür könnte eine insuffiziente Knochenregeneration im Sinne einer nicht fertig abgeschlossenen Reparatur der Mikrobeschädigungen und Frakturen sein. FROST (Frost 1998) konnte mit seinen Studien belegen, dass die Knocheneinheiten (BMU) drei bis vier Monate bis zur vollständigen Reparatur dieser Schäden benötigen.

Viele Forscher haben in den Mikrobrüchen des Knochengewebes einen wichtigen Stimulus für die Osteoklasten gesehen (Morri et al. 1993). Es wird von einigen dieser Autoren angenommen, dass durch die Mikrobrüche das Kanalnetzwerk des spongiösen Knochens zerstört wird. Es kommt somit zu einer Einschränkung der Blutzirkulation (Fluid Flow Process), welches zu einer Störung der mechanischen Stimulation und Ernährung der Osteoblasten und letztendlich zu einer verzögerten Knochenfrakturheilung führt.

In vivo Studien bestätigten den Zusammenhang zwischen Mikrofrakturen und dem Zelltod der Osteozyten, sowie deren Resorption, was zu einer gestörten mechanisch belastbaren Knochenbildung führt (Verborgt et al 2000). Aufgrund der Wichtigkeit der Mikrostrukturen des spongiösen Knochens für die mechanische Widerstandskraft, wurden viele theoretische und experimentelle Studien über die Implantatstabilität angefertigt (Duyck et al. 1997). Sie konnten belegen, dass wenn die Widerstandskraft des Knochenverbundes zum Implantat einmal beeinträchtigt sei, die Implantatmobilität erhöht ist. Zudem betonten sie die Wichtigkeit eines langen und intakten Knochen-Implantatkontaktbereich und die Unversehrtheit dessen Ultrastruktur (Niebur et al. 2002).

Fazit:

Bei der Anwendung der Osteotomtechnik kommt es, hervorgerufen durch die Kompression der Knochenmarksräume, zu Vaskularisationsstörungen und zum Teil zum Zelltod der Osteoblasten. Diese Umstände erschweren die Heilungsvorgänge der Frakturen innerhalb der Spongiosa und am Implantat selber. Es kommt nur langsam zur Revaskularisation und zur Regeneration der Osteozyten. Eine Ausheilung der Frakturen ist somit gewährleistet, jedoch nicht unmittelbar eine vermehrte Knochenanlagerung an das Implantat, welches eine erhöhte Stabilität zur Folge hätte.

Die Ergebnisse dieser Studie besitzen einen entscheidenden klinischen Einfluß in Bezug auf das Verständnis der frühen Oseointegration im osteotomierten Knochen. Eine verminderte Knochen-Implantat-Kontaktrate hat einen entscheidenden Einfluss auf die Stabilität.

Frühe Belastungsprotokolle können somit nicht empfohlen werden, wenn ein Implantat mittels Osteotomtechnik inseriert wurde.

## 5 Literaturverzeichnis

Abels N, Schiel HJ, Hery-Langer G, Neugebauer J, Engel M (1999) Bone condensing in the placement of endosteal palatal implants: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 14 : 849-852

Addiere R, Watzek G, Plenk H (1993) Effects of drill cooling hand bone structure Hohn IMZ implant fixation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 8 : 83-91

Al-Nawas B, Grötz KA, Wahlmann U, Wegener J, Müller F, Wagner W (2000) Rekonstruktion knöcherner und weichteiliger Implantatlagerdefekte nach Verlust von Extensionimplantaten. *Z Zahnärztl Implantol* 16 : 185- 191

Behneke A, Behneke N, d'Hoedt B (2000) The longitudinal clinical effectiveness of ITI solid-screw implants in partially edentulous patients: a 5-year follow-up report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 15 : 633-645

Behneke A, Behneke N, d'Hoedt B, Wagner W (1997) Hard and soft tissue reactions to ITI screw implants: a 3-year longitudinal results of a prospectiv study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 12 : 749-757

Brinckmann E (1976) Indikation zur enossalen Implantation. *Dtsch Zahnärztl Z* 31: 557-563

Brånemark PI, Breine U, Adell R, Hansson BO, Lindstrom J, Ohlsson A (1969) Intra-ossseus anchorage of dental protheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconst Surg* 3: 81-100

Buchs AU, Levine L, Moy P (2001) Preliminary report of immediately loaded altiva natural tooth replacement dental implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 3 : 97-106

Burri C, Wolter D (May 1977) The Compressed autogenous spongiosis transplant (author's transl). *Traumatology* 80 : 169-175

Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorelline JP, Fox CH, Stich H (1991) Influence of surfae charateristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in minature pigs. *J Biomed Mater Res* 25 : 889-902

Boyan BD, Lohmann CH, Dean DD, Sylvia VL, Liu Y, Cochran DL, Schwartz Z (1999) Role of implant suface characteristics on bone cell response. *Osteol* 8, Suppl. 1 : 10- 17

Böck P. Romeis (1980) *Mikroskopische Techniken*, Urban und Schwarzenberg , München-Wien-Baltimore 425-426

Carter DH, Sloan P, Brook IM, Hatton PV (1997) Role of exchanged ions in the integration of ionomeric bone substitutes. *Biomaterials* 18 : 459-466

Chercheve R (Apr. 1955) Prostheses fixed by maxillary implants. *Inf Dent.* 7 : 759-764

Chercheve R, Chercheve M, (Feb. 1967) The thin-crest implant. *Inf Dent.* 6 : 511-515

Chercheve R, (1966) The philosophies which governed the origin, development and present-day use of endosseous dental implants. *J Oral Implant Transplant Surg.* 12 : 28-34

Cochran DL, Nummikoski PV, Higginbottom FL, Hermann JS, Makins SR, Buser D (1996) Evaluation of an endosseous titanium implant with a sandblasted and acid-edged surface in the canine mandible: radiographic results. *Clin Oral Implants Res* 7 : 240-252

Cook SD, Weinstein AM, Klawitter JJ (1982) Parameters affecting the stress distribution around LTI carbon and aluminiumoxid implants. *J Biomed Mater Res* 16 : 875-885

Davies JE (1998) Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont* 11 391-401

Duyck J, Naert IE, Van Oosterwycke H, Van der Sloten J, De Cooman M, Lievens S, Puers B (1997) Biomechanics of oral implants: A review of the literature. *Technol Helth Care* 5 : 253-73

Ellingsen JE (1998) Surface configuration of dental implants. *Periodontology* 2000 17 : 36-46

Formiggini MS (Jul.1954) Dental prosthesis in edentulous mouth by means of direct intramaxillary fixation. *Riv Ital Stomatol.* 7 : 814-822

Frost HM ( 1964) The laws of bone structure, 1st edn. Springfield, IL: Charles P. Thomas. : 1-165

Frost HM (1983) The regional acceleratory phenomenon: a review. *Henry Ford Hospital Medical Journal* 31 : 3-9

Frost HM (1986a) The bone repair process. In: *Intermediary Organisation of the Skeleton*, 1<sup>st</sup> edn. Boca Raton, FL: CRC Press : 135-164

Frost H.M. (1986b) The regional acceleratory phenomenon: *Intermediary Organisation of the Skeleton*, 1<sup>st</sup> edn. Boca Raton, FL: CRC Press : 109-129

Frost HM (1998) A brief review for orthopaedic surgeons: Fatigue damage ( micro-gamage in bone) its determints and clinical implications. *J Ortop Sci* 3 : 272-281

Fugazzotto PA, Vlassis J (1998) Long-term success of sinus augmentation using various surgical approaches and grafting materials. *Int J Oral Maxillofac Implants* 13 : 52-58

Glauser R, Naef R, Schärer P (1998) Die Osteotomietechnik-eine alternative Aufbereitungsmethode des Implantatlagers in der posterioren Maxilla. *Implantologie 2* : 103-112

Grössner-Schreiber B (1995) Knochenmatrixsynthese und Mineralisation von Knochenzellen auf hydroxylapatidbeschichteten Titanoberflächen. *Z Zahnärztl Implantol* 11 : 691-693

Günther H (1982) *Zahnarzt Recht und Risiko*. Hanser Verlag München : 254-259

Han CH, Johannsson CB, Wenneberg A, Albrektsson T (1998) Quantitative and qualitative investigations of surface enlarged titanium and titanium alloy implants. *Clin Oral Impl Res* 9 : 1-10

Heinrich B (1972) Schraubenimplantate. *Quintess zahnärztl Lit, Ref.-Nr. 4431* :21-25

Heller D, Thie A, Lachenmayer L, Janzen RWC, Schmelzle R (1994) Blunt trauma lesions of extracranial internal carotid artery in patients with head injury. *J of CranioMaxilloFac Surg* 21 : 234-238

Hereaus Kulzer GmbH & CO. KG (2002) *Gebrauchsinformation Technovit® 9100 NEU*, Firma, Deutschland :1-2

Higuchi KW, Folmer T, Kultje C (1995) Implant survival rates in partially edentulous patients: a 3-year prospective multicenter study. *J Oral Maxillofac Surg* 53 : 264-268

Jemt T, Lekholm U (1995) Implant treatment in edentulous maxillae: a 5-year follow-up report on patients with different degrees of jaw resorption. *Int J Oral Maxillofac Implants* 10 : 303-311

Junquiera LC, Carneiro J (1996) *Histologie*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York 10-12

Keller JC, Stanford CM, Wightmann JP, Draughn RA, Zaharias R (1994) Characterizations of titanium surface. III. *J Biomed Mater Res* 28 : 939-946

Kieswetter K, Schwartz Z, Dean DD, Boyan BD (1996) The role of implant surface characteristics in the healing of bone. *Crit Rev Oral Biol Med* 7 : 329-345

Kieswetter K, Schwartz Z, Dean DD, Boyan BD (1997) Underlying mechanism at the bone-surface interface during regeneration. *J Periodontal Res* 32 : 166-171

Kniha H, Nentwig GH, Hostermann U (1986) Surface structural findings in endosseous blade implants from the view point of bone integration. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 96 : 1250-1258

Koeck B, Wagner W (2004) *Implantologie*, Urban & Fischer, München Jena 2-4 / 70-77 / 101 /121-122 / 129-135

Lekholm U, Zarb GA (1985) Patient selection and preparation. In: Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T (Eds). *Tissue- Integrated Prosthesis: Osseointegration in clinical dentistry*. Chicargo, Quintessence : 199-209

Lenglinger FX, Muhr T, Krennmair G (1999) Dental-CT: Untersuchungstechnik, Strahlenbelastung und Anatomie. *Radiologie* 39 : 1027-1034

Linkow LI (1966) The age of endosseous implants. *Dent Concepts*. 3 : 4-10

Linkow LI (1966) Maxillary endosseous implants. *Dent Concepts*. 1 : 14-24

Linkow LI (1966) Clinical evaluation of the various designed endosseous implants. *J Oral Implant Transplant Surg*. 12 : 35-46

Lundgren D, Lundgren AK, Sennerby L (1995) The effect of mechanical intervention on jaw bone density. *Clin Oral Implants Res* 6 : 54-59

Mensdorff-Pouilly N, Haas R, Mailath G, Watzek G (1994) The immediate implant: a retrospective study comparing the different types of immediate implantation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 9 : 561- 570

Meyer U, Wiesmann HP, Kruse-Lösler B, Handschel J, Stratmann U, Joos U (1999) Strainrelated bone remodeling in distraction osteogenesis of the mandible. *Plast Reconstr Surg* 103 : 800-807

Misch CE (1990) Devisions of available bone in implant dentistry. *Int J Oral Implantol* 7 : 9-17

Morri S, Harruff R, Burr DB (Feb 1993) Microcracks in articular calcified cartilage of human femoral heads. *Arch Pathol Lab Med*. 117 : 196-198

Müller W, Löwicke G, Naumann H (1985a) Reconstruction of the pars alveolaris with moulded and compressed spongy substance. *Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde* 73 : 464-470

Müller W, Löwicke G, Naumann H (1985b) Experimental study of human spongiosa donor sites. *Deutsche Zeitschrift für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie* 9 : 202-206

Nagl W (1981) *Elektronenmikroskopische Laborpraxis*, Springerverlag, Berlin Heidelberg New York, 1. Auflage : 4-8

Nagl, W (1981) *Elektronenmikroskopische Laborpraxis*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York 84-85

Nentwig G (1992) Implantologische Operationsverfahren. In: Hartmann HJ (Hrsg.): *Aktueller Stand der zahnärztlichen Implantologie, Band 1* Spitta-Verlag, Balingen : 1-23

Niebur GL, Feldstein MJ, Keaveny TM (2002) Biaxial failure behaviour of bovine tibial trabecular bone. *J Biomech Eng* 6 : 699-705

Nkenke E, Kloss F, Wiltfang J, Schultze-Mosgau S, Radespiel-Tröger M, Loos K, Neukamm FW (2002) Histomorphometric and fluorescence microscopic analysis of bone remodeling after installation of implants using an osteotome technique. *Clin Oral Implants Res* 13 : 595-602

Nkenke E, Lehner B, Weinzierl K, Thams U, Neugebauer J, Steveling H, Radespiel-Tröger M, Neukamm FW (Jun 2003) Bone contact, growth, and density around immediately loaded implants in the mandible of mini pigs. *Clin Oral Implants Res* 14 : 312-321

Nygren H, Tengvall P, Lundstrom I (1997) The Initial reactions of TiO<sub>2</sub> with blood. *J Biomed Mater Res* 34 : 487-492

Osborn JF (1980) Generation of anatomically shaped pressed autologous cancellous bone for reconstruction of continuity defects. *Deutsche Zeitschrift für Mund-Kiefer-Geschichtschirurgie* 4 : 46-49

Paolantonio M, Dolci M, Scarano A, d'Archivio D, di Placido G, Tumini V, Piattelli A (2000) Immediate implantation in fresh extraction sockets. A controlled clinical and histological study in man. *J Periodontol* 72 : 1560-1571

Sandhaus S (1966) Metallurgical studies in implantology? *Rev Belge Med Dent.* 3 : 243-254

Sandhaus S (1968) Technic and instrumentation of the implant C.B.S. (Cristalline Bone Screw). *Inf Odontostomatol.* 3 :19-24

Sandhaus S (1971) Oral rehabilitation using implantation method C.B.S. *ZWR.* 13 : 597-604

Scharf DR, Tarnow DT (1993) The effect of crestal versus mucobuccal incision of the success rate of implant osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 8 : 187-190

Schlegel KA, Sindet-Pedersen S, Hoepffner HJ (2000) Clinical and histological findings in guided bone regeneration (GBR) around titanium dental implants with autogenous bone chips using a new resorbable membrane. *Biomed Mater Res* 53 : 392-399

Schröder A, Stich H, Straumann F, Sutter F (1978) The accumulation of osteocementum around a dental implant under physical loading. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd* 88 : 1051-1058

Schröder A (1979) Coated hollow cylinder implants: previous experimental and clinical observations. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd* 89 : 1136-1137

Schultze-Mosgau S, Keweloh M, Wiltfang J, Kessler P, Neukam FW (1996) Endosteal implants in the partially edentulous posterior maxilla. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 51 : 115-117

Scialom J (1965) Implants aiguilles (pin implants). *J Oral Implant Transplant Surg.* 11 : 18-23

Scialom J (1966) Facts about implants. *Rev Odontoimplantol.* 4 : 9-16

Scialom J (1967) Pin implants at point of entrance. *Rev Odontoimplantol.* 6 : 22-30

Scialom J (1967) Pin implants as elements of attachment. *SOLAIAT.* 1 : 87-94

Spiekermann H, Sauberlich S, Liefeith K, Frant M, Klee D, Richter EJ, Hocker H (1998) Characterization of the properties of differentially modified titanium surfaces for dental implantology. 2: In vitro biocompatibility studies. *Biomed Tech (Berl).* 12 : 360-366

Spiekermann H, Liefeith K, Sauberlich S, Frant M, Klee D, Richter EJ, Hocker H, (1998) Characterization of the properties of differently modified titanium surfaces for dental implantology. 1: Methods for surface analysis. *Biomed Tech (Berl).* 11 : 350-355

Spiekermann H, Jovanovic SA, Richter, EJ (1992) Bone regeneration around titanium dental implants in dehiscence defect sites: a clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2 : 233-245

Spiessl B (May 1980) A new method of anatomical reconstruction of extensive defects of the mandible with autogenous cancellous bone. *J Maxillofac Surg* 8 : 78-83

Strietzel FP, Nowak M (1999) Changes in the alveolar ridge level in implantation using the osteotomy technic. Retrospective studies. *Mund Kiefer Gesichtschir* 3 :309-313

Summers RB (1994) A new concept in maxillary implant surgery: the osteotome technique. *Compendium* 15 : 152 / 154-156 / 158

Summers RB (1994) The osteotome technique: Part 2 –The ridge expansion osteotomy (REO) procedure . *Compendium* 15 : 422 / 424-426

Summers RB (1994) The osteotome technique: Part 3 - Less invasive methods of elevating the sinus floor. *Compendium* 15 : 698 / 700 / 702-704

Summers RB (1995) The osteotome technique: Part 4 – Future site development. *Compend Contin Educ Dent* 16 : 1080 / 1092

Summers RB (1998) Sinus floor elevations with osteotomes. *Journal of Esthetic Dentistry* 10 :164-171

Tetsch P, Schramm-Scherer B (1989) Experienced practice implant procedures. A standard determination. Phillip J. 1 : 14-18

Tetsch, P, Sporlein E, Schramm-Scherer B, (1987) Recall of implant patients--significance and content of recalls as well as study results. ZWR. 2 : 128- 133

Tetsch P, Sporlein E (1986) Periodontal aspects in implantology. Dtsch Zahnärztl Z. 10 : 895- 898

Tetsch P, Schramm-Scherer B (1986) Indications for implantation measures. ZWR. 10 : 1032-1034

Thomson P, Eposito M, Gretzer C, Källtorp M, Larson C, Liljensten E, Mohammadi S (1999) Interactions between modified titanium implant surfaces and tissues. Clin Oral Impl Res 10 : 166-173

Verborgt O, Gibson GJ, Schaffler MB (Jan 2000) Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue in vivo. J Bone Miner Res 15 : 60-67

Wagner W ,Valentin AH (1987) Morphometrischer Vergleich der Knochenregeneration an Titan und einer vanadiumhaltigen und vanadiumfreien Titanlegierung. Z Zahnärztl Implantol 3 : 48-53

Winkler S, Morris HF, Ochi S (2000) Implantsurvival to 36 months as related to length and diameter. Ann Periodontol 5 : 22-31

Yilderim M, Edelhoff D, Hanisch O, Spiekermann H (1998) The internal sinus lift - an adequate alternative to the conventional sinus floor elevation? Zeitschrift für Zahnärztliche Implantologie 14 : 124-135

Zitzmann NU, Scharer P (Jan 1998) Sinus elevation procedures in the resorbed posterior maxilla. Comparison of the crestal and lateral approaches. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 85 : 8-17

## 6 Anhang

### 6.1 Der Ethikantrag

In dem am 13.05.2003 an die Bezirksregierung Münster gestellten Ethikantrag wurde um die Genehmigung dieser Studie zur „Experimentellen Untersuchung der Osseointegration von Implantaten bei verschiedenen Knochenaufbereitungstechniken“ an Schweinen gebeten. Nach erster Nichtgenehmigung, aufgrund ungenauer Parameterangaben, wurde in dem anschließenden Nachtragsantrag vom 18.06.2003, die Studie an acht Schweinen genehmigt. Dieser Genehmigungsbescheid wurde von der Tierschutzkommission bis zum 31.07.2005 gemäß § 8 des Tierschutzgesetz (TierSchG) vom 25. Mai 1998 (BGBl. I S. 1105) in der zur Zeit gültigen Fassung erteilt. Der Genehmigungsbescheid trägt das Aktenzeichen 50.0835.1.0 (G38/2003) und ist dem Anhang als Photokopie beigelegt. Ebenso ist hier die erste Ablehnung des Versuchsvorhaben einsehbar.

6.2 Die Nichtgenehmigung durch die Tierschutzkommission



**Bezirksregierung Münster**

Bezirksregierung Münster • 48128 Münster

Herrn  
PD Dr. Dr. Ulrich Meyer  
Herrn  
Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. Ulrich Joos  
Herrn  
Dr. Andre Büchter  
Klinik und Poliklinik für Mund-,  
Kiefer- und Gesichtschirurgie  
Universitätsklinikum Münster  
Waldeyerstr. 30

48149 Münster

Dienstgebäude:  
Domplatz 1 - 3  
Telefon: (0251) 411-0  
Durchwahl: 2104  
Telefax:  
Raum: 423  
Auskunft erteilt:  
Kerstin Stichling  
E-Mail:  
kerstin.stichling@bezreg-muenster.nrw.de  
Aktenzeichen:  
50.0835.1.0 (G 38/2003)

12. Juni 2003

**Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren**  
Versuchsvorhaben: „Experimentelle Untersuchungen der Osseointegration von Implantaten bei verschiedenen Knochenaufbereitungstechniken“

Ihr Antrag vom 13.05.2003, hier eingegangen am 21.05.2003

Sehr geehrter Herr Dr. Dr. Meyer,  
sehr geehrter Herr Prof. Dr. Dr. Joos,  
sehr geehrter Herr Dr. Büchter,

Ihr o.a. Tierversuchsantrag ist der Tierschutzkommission am 09. April 2003 zur Beschlussfassung vorgelegt worden.

Diese hat das Versuchsvorhaben grundsätzlich positiv bewertet. Jedoch bezweifelt die Kommission, dass auf Grund der geringen Tierzahl signifikante Aussagen möglich sind. Nach Ansicht der Tierschutzkommission handelt es sich bei dem beantragten Versuchsvorhaben um orientierende Untersuchungen die den Charakter eines Vorversuchs haben.

Des weiteren bittet die Kommission um genauerer Parameter bezüglich der Auswertung, insbesondere hinsichtlich der Untersuchungen, welche bereits nach einer Woche vorgenommen werden sollen.

Nach Eingang Ihrer Antwort bezüglich der vorgenannten Sachverhalte werde ich nach

**Grünes Umweltschutztelefon: (0251) 411-3300**  
E-Mail: poststelle@bezreg-muenster.nrw.de • Internet: www.bezreg-muenster.nrw.de  
zentrale Telefaxnummer: (0251) 411-2525  
Konten der Landeskasse Münster:  
Deutsche Bundesbank - Filiale Münster - BLZ: 400 000 00 Konto: 40001 520  
Westdeutsche Landesbank Girozentrale Münster BLZ: 400 500 00 Konto: 61820  
ÖPNV ab Hbf: Linien 14 • 20 bis Haltestelle Domplatz. Linien 2 • 10 • 11 • 12 bis Haltestelle Windthorststraße (Haus K), Linie 7 bis Haltestelle Wiener Str. (Haus W).

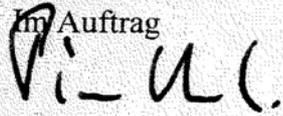
1/2



erneuter Prüfung über die Genehmigung des Tierversuchs entscheiden.

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'P. U.', written over the text 'Im Auftrag'.

Dr. Piontkowski

6.3 Die Genehmigung durch die Tierschutzkommission



**Bezirksregierung Münster**

Bezirksregierung Münster • 48128 Münster

**Gegen Empfangsbekanntnis**  
Herrn  
PD Dr. Dr. Ulrich Meyer  
Herrn  
Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. Ulrich Joos  
Herrn  
Dr. Andre Büchter  
Klinik und Poliklinik für Mund-,  
Kiefer- und Gesichtschirurgie  
Universitätsklinikum Münster  
Waldeyerstr. 30

48149 Münster

Dienstgebäude:  
Domplatz 1 - 3  
Telefon: (0251) 411-0  
Durchwahl: 2104  
Telefax:  
Raum: 423  
Auskunft erteilt:  
Kerstin Stichling  
E-Mail:  
kerstin.stichling@bezreg-muenster.nrw.de  
Aktenzeichen:  
50.0835.1.0 (G 38/2003)

4. Juli 2003

**Tierschutz;  
Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren**

Ihr Antrag vom 13.05.2003, hier eingegangen am 21.05.2003  
sowie Ihr Nachtrag vom 18.06.2003, hier eingegangen am 23.06.2003

**G e n e h m i g u n g s b e s c h e i d**

Sehr geehrter Herr Dr.. Dr. Meyer,  
sehr geehrter Herr Prof. Dr. Dr. Dr. Joos,  
sehr geehrter Herr Dr. Büchter,

gem. § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) vom 25. Mai 1998 (BGBl. I S. 1105) in der zur Zeit geltenden Fassung, wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

**„Experimentelle Untersuchungen der Osseointegration von Implantaten bei verschiedenen Knochenaufbereitungstechniken“**

Diese Genehmigung gilt bis zum **31.07.2005**.

**Grünes Umweltschutztelefon: (0251) 411-3300**  
E-Mail: poststelle@bezreg-muenster.nrw.de • Internet: www.bezreg-muenster.nrw.de  
zentrale Telefaxnummer: (0251) 411-2525  
Konten der Landeskasse Münster:  
Deutsche Bundesbank - Filiale Münster - BLZ: 400 000 00 Konto: 40001 520  
Westdeutsche Landesbank Girozentrale Münster BLZ: 400 500 00 Konto: 61820  
OPNV ab Hbf: Linien 14 • 20 bis Haltestelle Domplatz, Linien 2 • 10 • 11 • 12 bis Haltestelle Windthorststraße (Haus K), Linie 7 bis Haltestelle Wiener Str. (Haus W).

1/3



Zur Durchführung des Versuchsvorhabens dürfen folgende Tiere verwendet werden:

**8 Schweine.**

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr  
PD Dr. Dr. Ulrich Meyer  
Klinik und Poliklinik für Mund-,  
Kiefer- und Gesichtschirurgie  
Universitätsklinikum Münster  
Waldeyerstr. 30

48149 Münster

Herr  
Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. Ulrich Joos  
Klinik und Poliklinik für Mund-,  
Kiefer- und Gesichtschirurgie  
Universitätsklinikum Münster  
Waldeyerstr. 30

48149 Münster

Mit dem Versuchsvorhaben darf erst nach Vorliegen dieser Genehmigung begonnen werden.

Herr Dr. Andre Büchter, darf solange nicht selbstständig am Versuchsvorhaben beteiligt werden, bis der Nachweis der Teilnahme am Tierversuchskursus dem Veterinäramt der Stadt Münster vorliegt.

Sofern der Leiter des Versuchsvorhabens oder sein Stellvertreter wechselt, ist mir dieser Wechsel unverzüglich anzuzeigen.

Diese Genehmigung wird zurückgenommen, wenn bei der Erteilung die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht gegeben waren.

Sie wird widerrufen, wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer von mir zu bestimmenden Frist abgeholfen wird; sie kann widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt werden oder den Vorschriften des § 9 Abs. 2 TierSchG wiederholt oder grob zuwidergehandelt worden ist.

Ein Antrag auf Verlängerung der Genehmigung ist rechtzeitig vor Ablauf der Frist bei mir zu stellen.

Da das Versuchsvorhaben überwiegend im öffentlichen Interesse erfolgt, wird von der Erhebung einer Verwaltungsgebühr Abstand genommen.

**Rechtsbehelfsbelehrung**

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der oben genannten Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

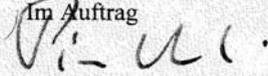
Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

**Ich bitte um umgehende Rückgabe des beiliegenden Empfangsbekanntnisses.**

Die Mit Antragsteller, Herr PD Dr. Dr. Ulrich Meyer und Herr Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. Ulrich Joos, erhalten jeweils eine gleichlautende Ausfertigung dieses Bescheides.

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag



Dr. Piontkowski

#### 6.4 Danksagungen:

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich bei der Ausführung dieser Arbeit unterstützt haben.

Herrn OA PD Dr. med. Dr. med. dent. U. Meyer danke ich für die interessante Themenstellung sowie für die ständige Ansprechbarkeit.

Herrn Dr. med. dent. A. Büchter danke ich für die freundliche Unterstützung, Betreuung und zahllose Anregungen.

Herrn PD Dr. rer. nat. H.-P. Wiesmann danke ich für die guten Ratschläge bezüglich der Probenaufbereitung.

Desweiteren danke ich allen Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für Mund- und Kiefer-Gesichtschirurgie der WWU Münster, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit mit Rat und Tat unterstützt haben. Ein besonderer Dank gilt hierbei Herrn N. Huda.

Herrn C. Arnold danke ich für seine freundliche Hilfe bei der Lösung von EDV-Problemen.

Meiner Freundin S. Döcker danke ich für die gewissenhafte Durchsicht meines Manuskriptes sowie für die Unterstützung und das Verständnis während der gesamten Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir dieses Studium und die Promotion ermöglicht haben.

## 6.5 Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name	von Weyhrother, Hendrik
Wohnort	Rodder Damm 52 48429 Rheine
Geburtsdatum	24.02.1979
Geburtsort	Rheine, Westf.
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	deutsch
Eltern	von Weyhrother, Heinz-Günter, Dr. med. dent. von Weyhrother, Ilona

### Schulbildung

08/1986 bis 07/1990	Johannes Grundschule, Rheine
08/1990 bis 07/1998	Städtisches Kopernikus-Gymnasium Rheine

### Studium

10/1999 bis 02/2005	Studium der Zahnmedizin an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
09/2000	Vorphysikum
03/2002	Physikum
08/2004 bis 02/2005	Staatsexamen
01.02.2005	Tag der Approbation