

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und  
Plastische Gesichtschirurgie des Universitätsklinikums Halle (Saale)  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. J. Schubert)

## **Experimentelle Untersuchung zur biologischen Eignung ausgewählter Adhäsive als Knochenkleber**

### **Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät der  
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Rafael Eurico Block de Siqueira Cavalcanti Veras  
geboren am 21.07.1976 in Curitiba – Brasilien

Gutachter:  
Prof. Dr. Dr. Schubert  
Prof. Dr. Dr. Zeilhofer  
PD Dr. Wohlrab

Verteidigt am 06.07.2010

## Referat und bibliographische Beschreibung

Obwohl eine adäquate Biokompatibilität des Titans nachgewiesen ist, konnten in verschiedenen tierexperimentellen Arbeiten Fremdkörperreaktionen aufgrund von dislozierter Titanpartikel nach Implantation von Osteosynthesematerial festgestellt werden. Ferner ist das sichere Einbringen von Osteosyntheseschrauben gerade bei fragilen und dünnen Knochenstrukturen, wie im Mittelgesicht, schwierig und nicht immer sicher möglich. Daher scheint die Klebung von dünnen Knochenstrukturen eine viel versprechende Alternative zu sein. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zwischen Dentin und Knochen ist der Gebrauch von Dentinhaftvermittler für die Osteosynthese möglicherweise sinnvoll. Vor diesem Hintergrund wurde in einer Serie von 30 Kaninchen anhand von Kalvariadefekten verschiedene Methoden der Osteosynthese auf Biokompatibilität und Anwendbarkeit getestet. Untersucht wurde das Dentinhaftvermittlersystem Excite und der Gewebekleber Histoacryl im Vergleich zur konventionellen Titanplatten-Osteosynthese. Hierzu wurde in der Kalvaria des Kaninchens beidseits der Mittellinie ein kreisrunder Defekt von 8mm Durchmesser geschaffen. Von beiden Ossa parietalia wurden die Knochentransplantate unter Schonung der Dura mater mobilisiert und in den Defekt replantiert. Anschließend wurden die Knochenproben mit den erwähnten Adhäsiven im Vergleich zur konventionellen Titanosteosynthese fixiert. Die Tiere wurden nach 4, 8 und 12 Wochen geopfert und die gewonnenen Knochenproben wurden klinisch, röntgenologisch und histologisch ausgewertet. Diese zeitliche Staffelung gestattete eine Verlaufsbetrachtung der Knochenheilung und zeigte mögliche Reaktionen auf die verwendeten Osteosynthesemethoden auf. Die Untersuchungen beweisen, dass die hier erprobte, experimentelle Adhäsiv-Technik ähnlich gute und zum Teil bessere Ergebnisse hinsichtlich Knochenheilung, Knocheneubildung und Biokompatibilität im Vergleich zur Kontrolle (Titanosteosynthese) lieferte. Die adhäsiv-befestigten Knochenproben zeigten histomorphometrisch eine signifikant höhere Osteogenese im Vergleich zu den titanfixierten Proben.

Rafael Eurico Block de Siqueira Cavalcanti Veras: Experimentelle Untersuchung zur biologischen Eignung ausgewählter Adhäsive als Knochenkleber. Halle, Med. Fak., Diss. 75 Seiten, 2009

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung und Zielstellung	1
2.	Literaturübersicht	3
2.1	Knochen	3
2.2	Knochenheilung	5
2.2.1	Primäre Knochenheilung	6
2.2.2	Sekundäre Knochenheilung	6
2.3	Dentin	7
2.4	Knochen vs. Dentin	10
2.5	Osteosynthese	10
2.6	Anforderungen und Probleme an das Osteosynthesematerial	12
2.7	Klebstoffe	14
2.7.1	Cyanoacrylate	15
2.7.2	Dentinhaftvermittler (DHV)	17
3.	Eigene Untersuchungen	20
3.1	Material	20
3.1.1	Versuchstiere	20
3.1.2	Cyanoacrylat	21
3.1.3	Dentinhaftvermittler (DHV)	22
3.1.4	Titan: Osteosyntheseplatten und Schrauben	23
3.2	Methodik	24
3.2.1	Versuchsprotokoll <i>in vivo</i> : Osteotomien am Kaninchenschädel	24
3.2.2	Operative Methoden	25
3.2.3	Röntgen-Untersuchung	28
3.2.4	Histologische Untersuchungen	29
3.2.5	Färbung für Histomorphometrie: Masson-Goldner	31
3.2.6	Giemsa-Färbung	31
3.2.7	Hämatoxylin-Eosin-Färbung der Knochenproben	32
3.2.8	Lichtmikroskopie	32

3.2.9	Histomorphometrie	33
3.2.10	Statistik	35
4.	Ergebnisse	36
4.1	Klinische und makroskopische Untersuchungen	36
4.2	Röntgenologische Ergebnisse	39
4.3	Histologische Ergebnisse	41
4.3.1	Hämatoxylin und Eosin-Färbung	41
4.3.2	Giemsa Färbung	42
4.3.3	Masson-Trichrom-Goldner-Färbung	43
4.4	Histomorphometrie	45
4.4.1	Knochenaufbau: BV/TV in %	45
4.4.2	Osteoid-Mineralisation: Osteoid/Os in % (Mineralisationsgrad)	48
5.	Diskussion	50
6.	Schlussfolgerungen und Zukunftsaussichten	62
7.	Zusammenfassung	64
8.	Literatur	65
9.	Tabellenanhang	72
10.	Thesen	75



## Verzeichnis der verwendete Abkürzungen und Symbole

4-META	4-Methacryloxyethyltrimellitat
BIS-GMA	Bisphenol-A-Glycidylmethacrylat
BV/TV	Knochensubstanz innerhalb des Messfeldes
BMP	Bone morphogenetic protein
DHV	Dentinhaftvermittler
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Gew%	Gewichtsprozent
HE	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HEMA	2-Hydroxyethylmethacrylat
MPa	Megapascal (1 MPa = 1 Million Pa = N/mm <sup>2</sup> )
MPP	Methacryloxyethyl-Phenylphosphat
NPG-GMA	N-Phenylglycin-Glycidylmethacrylat
Osteoid/Os	Mineralisierungsgrad
PEG-DMA	Polyethylen-Glycol-Dimethacrylat
PMMA	Polymethylmethacrylat
REM	Rasterelektronenmikroskop
ROI	<i>Region of Interest</i>
TBB	Tri-n-Butylboran
TBV	Trabecular bone volumen
TEG-GMA	Tetraethylenglycol-Dimethacrylat
UDMA	Urethanethylendimethacrylat
Vol%	Volumenprozent

## 1. Einleitung und Zielstellung

Der Gebrauch von Mini- bzw. Mikroplatten in der Frakturbehandlung und bei Umstellungsosteotomien im Rahmen der Dysgnathiechirurgie gehört seit mehr als 2 Jahrzehnten in der Mund-, Kiefer-, und Gesichtschirurgie zum Behandlungsstandard. Die Osteosynthesysteme erlauben einen dreidimensionalen Wiederaufbau des Gesichtes (Waldhart, Rothler et al., 2000).

Trotz der ausgezeichneten Biokompatibilität des Titans bleiben einige Probleme beim Gebrauch der rigiden Fixation ungelöst. Dazu gehören Sichtbarkeit, Wachstumsstörungen im wachsenden Schädel, periimplantäre Fremdkörperreaktionen, Tastbarkeit, Artefakte in der Computertomographie und bei Magnetresonanzbildern, Streuung ionisierender Strahlung und Kortikalisresorptionen aufgrund des *stress shielding* (Lin, Bartlett et al., 1991; Link, Berning et al., 2000).

Schliephake et al. (1993) und Rosenberg et al. (1993) konnten in Tierexperimenten die Dislokation von Titanpartikeln in das periimplantäre Gewebe, in die Lunge und in die lokoregionären Lymphknoten nachweisen, allerdings ohne weitere pathologische Veränderungen (Rosenberg, Gratz et al., 1993; Schliephake, Lehmann et al., 1993). Zusätzlich kann die Anlage von Bohrlöchern zu einer Schädigung von anatomischen Nachbarstrukturen führen oder die Ernährung kleiner Fragmente gefährden (Meechan, McCabe et al., 1994). Insbesondere bei kleinen und dünnen Knochenfragmenten ist es zudem nicht immer möglich, Schrauben und Platten im Mittelgesicht zu verwenden. Gerade bei der Betrachtung dünner Knochenstrukturen, wie sie im Mittelgesicht gefunden werden, gelingt das Eindrehen von Schrauben unter Umständen nicht in adäquater Weise, so dass keine ausreichende Stabilität erreicht werden kann (Perry und Youngson, 1995). Die Idee der Knochenklebung unter Verwendung biologischer Materialien ist über 100 Jahre alt. Gluck führte im Jahre 1891 eine Versuchsreihe zur Wundversorgung im Weichgewebe mittels Hühnerblutderivaten und am Knochen mittels „Lithocolle“, eine Art von Zement, durch. Er berichtete weiter über die Entwicklung eines Knochenklebers, welcher aus Kolophonium, Bimsstein und Gips bestand (Bloch, 1958; Donkerwolcke, Burny et al., 1998). Die Möglichkeiten der Klebung konnten aber erst nach Entwicklung der aktuellen Adhäsivsysteme durch Coover (1959) real werden.

Im Vergleich zur Plattenosteosynthese könnte bei Verwendung resorbierbarer Kleber sowie bei resorbierbaren Platten der zweite stationäre Aufenthalt zur Entfernung des Osteosynthesematerials entfallen. Dies würde eine wesentliche Erleichterung für den Patienten und eine deutliche Senkung der Behandlungskosten bewirken. Für diesen Zweck ist es sinnvoll, nach Materialien mit hoher Biokompatibilität und Resorbierbarkeit zu suchen. Der Kleber sollte in der Adaptationsphase formbar, aber starr in der Fixierungsphase sein.

Viel versprechend erscheint insbesondere die Klebung von dünnen Knochenstrukturen, wie bereits in einigen *in vitro* und *in vivo* Studien beschrieben wurde (Amarante, Constantinescu et al., 1995; Perry und Youngson, 1995; Ahn, Sims et al., 1997; Maurer, Bekes et al., 2004a; Maurer, Bekes et al., 2004b; Heiss, Kraus et al., 2008). Hierbei ist die mechanische Belastung in der Regel gering, andererseits die Fixierung mit metallischen Osteosynthesystemen problematisch oder unmöglich.

Drei mögliche Probleme bei der Klebung sind noch nicht restlos gelöst und sollten beachtet werden:

1. Die Verbindung des Klebers muss eine Festigkeit aufweisen, die eine funktionelle Belastung gewährleistet.
2. Der Heilungsprozess soll nicht gestört werden und das Gewebe sollte die Funktion nach Abschluss der Heilung übernehmen können.
3. Der Klebstoff sollte das Gewebe primär nicht schädigen und nach Abschluss der Heilung im Körper resorbiert werden.

Aufgrund der Ähnlichkeit des strukturellen Aufbaus zwischen Dentin und Knochen erscheint der Gebrauch von Dentinhaftvermittlern zur Osteosynthese sinnvoll (Meechan und McCabe, 1995; Maurer, Bekes et al., 2004a). Daher ist es das Hauptziel der vorliegenden Studie, die zelluläre Reaktion der Knochenheilung unter Verwendung verschiedener Adhäsive für die Osteosynthese unter *in vivo* Bedingungen im Kaninchenmodell zu vergleichen. Dafür sollen im mechanisch wenig belasteten Kaninchenschädelknochen Osteotomien durchgeführt und mittels Titanplatten-osteosynthese, Cyanoacrylaten und Dentinhaftvermittlern versorgt werden. Die Knochenheilung soll makroskopisch, histologisch und radiologisch bis zu 12 Wochen verfolgt werden.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1 Knochen

Knochen ist ein besonders belastungsfähiges Gewebe. Seine mechanischen Eigenschaften präsentieren eine optimale Korrelation zwischen Leichtbauweise, Biege-, Torsions-, Druck- und Zugfestigkeit (Junqueira und Carneiro, 1991).

Das Knochengewebe besteht zu 67–70% aus einer anorganischen Matrix, zu 22–23% aus einer organischen Matrix und zu 8% aus Wasser (Quelch, Melick et al., 1983).

Die wichtigsten mineralischen Bestandteile der anorganischen Matrix des Knochens sind Kalziumphosphatkristalle (60%) in Form von Hydroxylapatit  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})]$  und amorphem Kalziumphosphat (40%) (Quelch, Melick et al., 1983).

Die organische Matrix des Knochens besteht zum Großteil aus Kollagen (Typ I: 90%). Die restlichen 10% bestehen aus Osteocalcin, Osteonektin und Sialoproteinen. Einige dieser Substanzen haben Brückenfunktion und verbinden die Mineralien des Knochens mit Kollagen und den Zellen. Das Kollagen verleiht dem Knochen Elastizität und Zugfestigkeit. Es spielt auch eine entscheidende Rolle für die Mineralisierung des Knochens (Geneser, 1990).

Zwei Arten der Knochenbildung – auch Ossifikation genannt – sind bekannt:

1. direkte Verknöcherung (desmale Ossifikation);
2. indirekte Verknöcherung (chondrale Ossifikation).

Knochenverletzungen heilen im Sinne einer desmalen Ossifikation (Perren, 1979).

Makroskopisch kann der Knochen in zwei Schichten geteilt werden, die externe Schicht (Kortikalis bzw. Kompakta) und die dazwischenliegende innere Spongiosa mit dem Knochenmark (Cornell und Lane, 1992; Shapiro, 1988; Pennig, 1990).

Mikroskopisch gesehen besteht der Knochen aus vier Zellarten: Vorläuferzellen, Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten. Diese sind verantwortlich für die Knochenbildung und den Knochenabbau und Umbau oder *Turnover* (Friedenstein, 1976).

Vorläuferzellen, auch Osteoprogenitorzellen genannt, sind relativ undifferenziert. Bei Bedarf können sie sich in Osteoblasten mit deutlich ausgeprägtem Syntheseapparat umwandeln. Sie sind spindelförmig und liegen an Knochenoberflächen, im Periost und Endost sowie in den Harverschen Kanälen (Friedenstein, 1976).

Diese Zellart ist während des Knochenwachstums aktiv (Junqueira und Carneiro, 1991). Osteoblasten sind Knochenbildungszellen, die die extrazelluläre Matrix inklusive der Kollagenfasern und der anorganischen Salze bilden. Beim Verkalkungsprozess spielen Osteoblasten eine wesentliche Rolle. Sie bilden Matrixvesikel mit hohem Gehalt an Calcium und Phosphatssalzen und den Enzymen alkalische Phosphatase und Pyrophosphatase, welche an der Bildung von Kristallisationskeimen beteiligt sind. Die Osteoblasten dienen der Erhaltung der vorhandenen Grundsubstanz (Clarke, 2008).

Die Aufgabe der Osteozyten besteht im Wesentlichen im Erhaltungsstoffwechsel des Knochens. Eine Knochenzelle kann dann als Osteozyt bezeichnet werden, wenn sie im Gegensatz zum Osteoblast ringsum von Knochengrundsubstanz umgeben ist (Wuthier, 1982). Funktionell liegen Osteozyten als osteoblastische Osteozyten oder als osteolytische Osteozyten vor. (Wuthier, 1982; Masi und Brandi, 2001).

Osteoklasten sind vielkernige Riesenzellen, die enzymatisch und phagozytotisch Knochengewebe abbauen. Sie hinterlassen „Howship'sche Lakunen“ an den Stellen, wo Knochenabbau stattgefunden hat. Man geht davon aus, dass es sich um mononukleäre Monozyten handelt, die aus dem Blut stammen. Daher werden sie dem Phagozytosesystem zugeordnet. Die Osteoklasten bauen Hartsubstanz ab und können Kalzium aus den Knochen freisetzen (Wuthier, 1982; Clarke, 2008).

Histologisch können zwei Knochenarten unterschieden werden, Geflechtknochen und Lamellenknochen (Schiebler, Schmidt et al., 1999).

Geflechtknochen tritt während der Knochenbildung auf. Knochenzellen und Kollagenfasern sind unregelmäßig verteilt. Er hat weniger Mineralien eingelagert, dafür aber mehr Osteozyten und eine höhere Wachstumsrate. Geflechtknochen entsteht in Rahmen der sekundären Knochenheilung (Schiebler, Schmidt et al., 1999).

Lamellenknochen ist für den Erwachsenen typisch und präsentiert eine regelmäßige Struktur. In dieser Struktur finden sich die Osteozyten in Knochenhöhlen (*Lacuna ossea*), von denen radiär angeordnete Knochenkanälchen (*Canaliculi ossei*) ausgehen. Diese Knochenbaueinheit wird als Osteon bezeichnet. Diese Osteone sind konzentrisch um Gefäße angeordnet. Man bezeichnet diese Bauweise (Osteone und Lamellenbruchstücke) als Breccienbau. Unter Breccien werden in der Geologie Gesteine verstanden, die aus kantigen Trümmern zusammengesetzt sind (Schiebler, Schmidt et al., 1999). Der Knochen zeigt, wie die Muskulatur auch, eine Anpassung an veränderten funktionellen Beanspruchungen. Diesen Umstand bezeichnet man als funktionelle Anpassung.

Deswegen variieren die Dicke von Kortikalis nach Lokalisation und Beanspruchung. Die Mandibula hat eine deutlich ausgeprägte *Substantia corticalis* als die Maxilla. Im Gegensatz dazu besteht das ganze Mittelgesicht aus relativ dünnen Knochen, sodass nur in bestimmten Arealen die Platzierung von Osteosyntheseschrauben möglich ist.

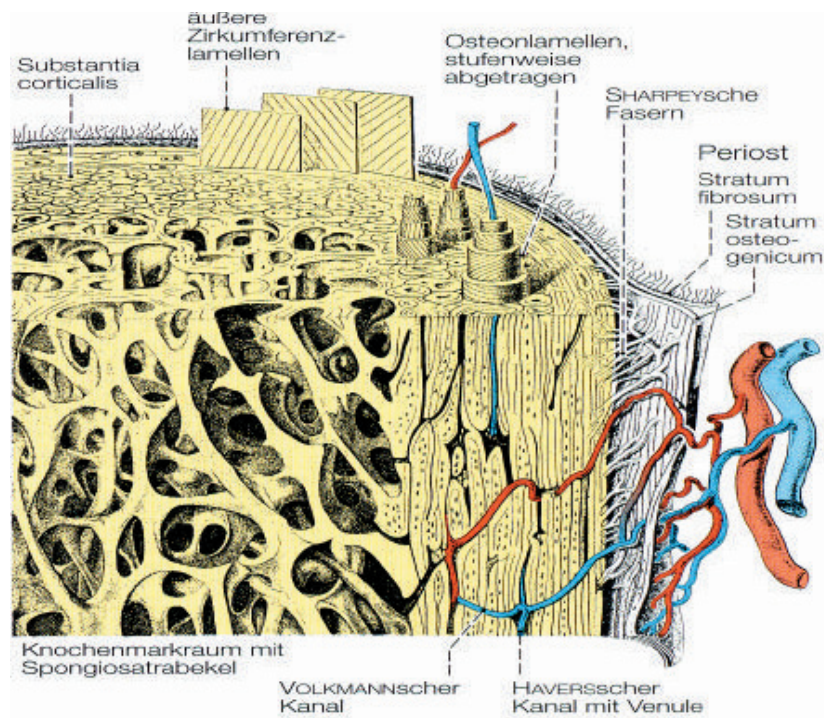


Abbildung 1 – Schema Knochenstruktur (Rauber und Kopsch, 2003)

## 2.2 Knochenheilung

Knochenfrakturen führen zu Zirkulationsstörungen, Entzündungsreaktion, Schmerz und Dysfunktionen des sog. Muskel-Sehnen-Gelenk-Komplexes (Awakowicz, 2002). Eine durch zeitnahe und effiziente Osteosynthese versorgte Fraktur kann früh mobilisiert werden. Damit werden sekundäre Komplikationen wie Atrophie der Muskulatur und eine beginnende sekundäre Osteoporose verhindert.

Der Knochen hat die besondere Eignung, sich vollständig ohne Narben-Gewebebildung zu regenerieren (McKibbin, 1978). Die Heilung kann vom Endost, Periost und dem Havers-System ausgehen. Klinisch gesehen kann man zwei Knochenheilungsvorgänge unterscheiden: die direkte Knochenheilung (primär) und die indirekte Knochenheilung (sekundär).



### 2.2.1 Primäre Knochenheilung:

Es sind zwei Arten der primären Knochenheilung bekannt: Kontakt und Spaltheilung. Erstere erfolgt, wenn ein direkter Kontakt der Fragmente vorhanden ist. Sie erfolgt über normale kortikale Osteone, ohne die Zwischenstufe von Bindegewebe oder Knorpel, begleitet von einer Resorption durch Osteoklasten entlang der Bruchfläche. Osteoblasten kleiden diesen Defekt anschließend wie beim normalen Remodeling mit Osteoid aus. Diese Heilungsform wird meistens nur bei experimentell erzeugter Sägeschnittosteotomie erreicht (Schenk und Willenegger, 1977; Schenk, Buser et al., 1994).

Da eine exakte Reposition der Frakturrenden im klinischen Alltag meist nicht gegeben ist, verbleiben kleine Frakturspalte. Selbst bei makroskopisch exakter Reposition ist es meist nicht möglich, einen absolut kongruenten Flächenkontakt herzustellen. In diesen Fällen findet die Spaltheilung statt. Dabei haben die Knochenenden keinen direkten Kontakt. Es existiert ein schmaler Spalt zwischen den Frakturrenden, der maximal 0,5mm betragen soll. Zunächst sprießen neue Blutgefäße und lockeres Bindegewebe in den Spalt ein, so dass die Blutversorgung nach zwei Wochen abgeschlossen ist. In den Frakturspalt wandern mesenchymale Stammzellen ein, die sich zu Osteoblasten differenzieren und beginnen lamellären Knochen zu bilden. Am Ende des Prozesses ist die ursprüngliche Anatomie und Stabilität wieder hergestellt. Man nennt diese Knochenbildung auch angiogene Knochenbildung, da die Knochenbildungszellen aus Blutgefäßen stammen und die Bildung von Knochen ohne Zwischenstufe abläuft (Willenegger, Perren et al., 1971; Johner, 1972).

### 2.2.2 Sekundäre Knochenheilung:

Wenn die Breite des Spaltes 0,5mm überschreitet, kommt es zur sekundären Knochenheilung (Willenegger, Perren et al., 1971; Johner, 1972). Diese wird nach Reposition oder im Rahmen der Spontanheilung sowie bei konservativ versorgten Frakturen beobachtet. Osteosyntheseverfahren, die ein gewisses Maß an Beweglichkeit im Frakturspalt zulassen (Verschnürung, rigide Fixation), führen zu einer indirekten Knochenheilung (Awakowicz, 2002).

Dieser Prozess läuft über eine Zwischenstufe aus Bindegewebe und Knorpel, dem sogenannten Kallus (Willenegger, Perren et al., 1971). Die Knochenheilung geschieht in mehreren Schritten, welche nachfolgend kurz charakterisiert werden (McKibbin, 1978):

### Stadium 1: Entzündung

Es entstehen ein Hämatom und Fibringerinnsel aus Thrombozyten, neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Makrophagen. Mittels Phagozytose werden Koagulum und Detritus abgebaut. Es folgt das Eindringen von Fibroblasten, mesenchymaler Zellen und Osteoprogenitorzellen sowie das Einsprossen von Gefäßen.

### Stadium 2: Bindegewebiger Kallus

Das Charakteristische dieses Stadiums ist die Differenzierung von Fibroblasten, welche ein zellreiches und vaskularisiertes Granulationsgewebe formieren. Dieser resultierende weiche Kallus aus Bindegewebe und Faserknorpel stabilisiert mit der Zeit die Fragmente.

### Stadium 3: Knöcherner Kallus

Durch appositionelles Wachstum und die Umwandlung von Fibroblasten in osteoidproduzierende Osteoblasten wird aus dem temporären Kallus-Geflechtknochen gebildet.

### Stadium 4: Remodeling

Mit der nun erzielten ausreichenden Stabilität erfolgt als letzter Schritt die Bildung von lamellärem Knochen durch die Umwandlung des Faserknochens in den endgültigen Lamellenknochen. Die Resorption überschüssiger Knochenanteile erfolgt durch Osteoklasten, wobei die Stabilität weiter steigt und die Knochenstruktur glatter wird.

## 2.3 Dentin

Das Dentin, auch Zahnbein oder *Substantia eburnea* genannt, stellt die Hauptmasse des Zahnes dar und besteht aus einer verkalkten Grundsubstanz und Kollagenfasern. Es liegt unter dem Zahnschmelz und reicht von der Innenseite des Zahnschmelzes und der Wurzel bis in den Kiefer (Schroeder, 1992). Die chemische Zusammensetzung des Dentins ähnelt der des Zements und des Knochens, unterscheidet sich aber stark von der des Zahnschmelzes.

Dentin ist ein ektomesenchymales Gewebe, das aus der Zahnpapille stammt. Nach Abschluss der Umbildung von Mesenchymzellen zu Odontoblasten beginnt am Ende des glockenförmigen Stadiums an den Höckerspitzen die Bildung des Pulpa-Dentin-Organs (Pilz, Plathner et al., 1980).



Dentin ist hart, aber elastisch und kann im Gegensatz zum Zahnschmelz lebenslang nachgebildet werden. Chemisch gesehen sind Dentin und Knochen sehr ähnlich. Dentingewebe ist jedoch härter als Knochengewebe.

Die Struktur des Dentins (Abb. 2a und b) wird durch folgende Bauelemente geprägt:

1. das Manteldentin
2. das zirkumpulpale Dentin mit peritubulärem, intertubulärem, intratubulärem Dentin und primärem Reizdentin.
3. das intrapulpale Dentin mit zellulärem und lamellarem Fibrodentin und sekundärem Reizdentin (Gängler, 1995).

Das Zahnbein besteht zu 70% aus anorganischen Substanzen wie Hydroxylapatit, 20% organischen Substanzen wie Kollagen Typ 1 und zu 10% aus Wasser (Tab. 1).

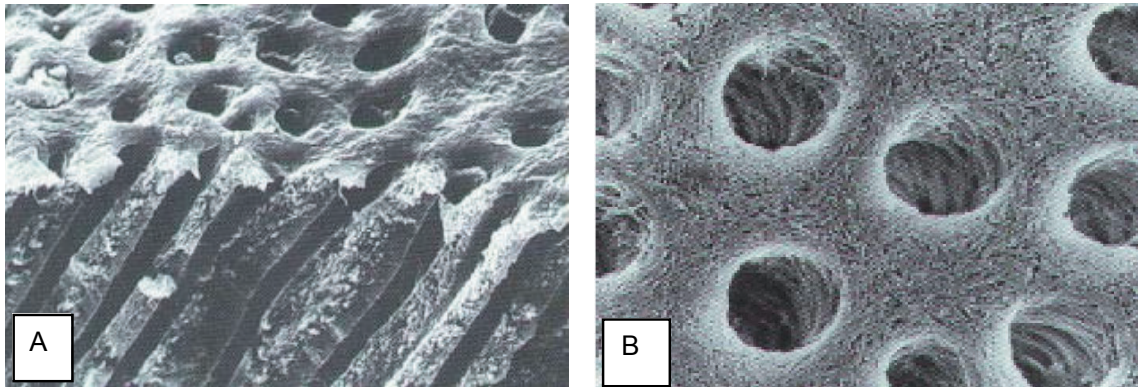
Kalzium Hydroxylapatit  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})]$  ist ein Apatitmolekül und ist das wichtigste Mineral in der anorganischen Matrix. Es ist in geringer Konzentration im Knochen und Zement zu finden. Der organische Anteil in Dentin ist viel höher als der von Schmelz (2% seines Gesamtgewichts) und besteht zu 90% aus Kollagen Typ 1. Die restlichen Substanzen bestehen aus Chondroitinsulfat, nicht auflösbaren Muko- und Sialoproteinen, Lipiden, Zitronensäure und Laktat. (Smilie, 1973; Jones und Leaver, 1974).

Die Odontoblasten sind die Dentin-Bildungszellen und im Gegensatz zu Osteoblasten, die sich eingeschlossen in der Knochenhartschubstanz befinden, liegen die Odontoblasten frei an der inneren Oberfläche des Dentins und in der Pulpahöhle. Sie bleiben aber im Kontakt mit dem Dentin, indem die Odontoblasten einen langen Zytoplasmafortsatz besitzen. Diese protoplasmatischen Odontoblastenfortsätze, auch Tomes-Fasern genannt, dringen in die Dentinkanälchen ein, die das gesamte Dentin durchziehen (Thomas, 1985; Gängler, 1995; Rensburg, 1994).

Die Odontoblastenfortsätze können bis zu  $5\mu\text{m}$  lang sein, ihr Durchmesser nimmt in ihrem Verlauf von der Pulpa zur Schmelz-Dentin-Grenze ab (Garberoglio und Brännström, 1976). Diese Fortsätze füllen die Dentinkanälchen nicht vollständig aus; vielmehr enthalten die Kanälchen noch etwas Gewebeflüssigkeit, den so genannten Dentinliquor und organische Strukturanteile (Junqueira und Carneiro, 1991; Schroeder, 1992). Im Kronenbereich wird das Dentin von Schmelz belegt und Manteldentin genannt.

In diesen Zonen liegen die Kollagenfibrillen als  $\alpha$ -Fibrillen mit einer Länge von ca.  $5\mu\text{m}$  vor. Diese Kollagenfasern sind bedeutend dicker als die von den Osteoblasten

gebildeten  $\beta$ -Fibrillen. Nach ihrem Erstbeschreiber werden diese Fasern auch von-Korff-Fasern genannt (Schroeder, 1992; Vahl und Mierau, 1971).



Abbildungen 2a und 2b – Bei 2a ist die Dentinstruktur mit Dentintubuli zu beobachten. Bei 2b sind die peritubulären und intratubulären Strukturen zu betrachten. Bilder am Rasterel-ektronenmikroskop (REM) generiert (Mandarino, 2003).

Durch pathogene Reize kommt es zur Ausbildung von Reizdentin. Dieses kann durch primäre und sekundäre Odontoblasten erfolgen. Eine weitere Struktur stellt intrapulpales Dentin dar. Diese Hartsubstanzbildungen sind ebenfalls ein Produkt pathogener Reize. Weil das intrapulpale Dentin aus einer fibrillenreichen Matrix aufgebaut ist, wird es als Fibrodentin bezeichnet (Baume, 1980).

Lamelläres Fibrodentin hingegen ist eine Struktur, bei der die Dentinmatrix von besonders langen kollagenen Fasern organisiert wird (Baume, 1980; Gängler, 1995). Beide Formen finden bei der chronischen appositiven Entzündung der Pulpa statt.

Die Mannigfaltigkeit der Reizdentinbildung verdeutlicht die Dynamik, mit welcher das ektomesenchymale Gewebe des Endodonts auf pathologische Umstände zu reagieren vermag (Gängler, 1995).

## 2.4 Knochen vs. Dentin

Obwohl strukturelle und chemische Gemeinsamkeiten vorhanden sind, unterscheiden sich beide Gewebe makroskopisch und histologisch.

Der wesentliche Unterschied zwischen Dentin und Knochen besteht an der Umsatzrate. Während beim Knochen jährliche Umsatzraten von 5–20 % bekannt sind, bleiben dies im Falle des Dentins nahe zu völlig aus (Masi und Brandi, 2001).

Die Tabelle 1 zeigt die strukturellen Details für Knochen und Dentin. Die Zusammensetzung für Hydroxylapatit, Kollagen Typ 1 und Wasser ist bei beiden nahezu gleich. Dentin präsentiert jedoch mehr als die achtfache Härte im Vergleich zu Knochen. Diese chemischen Ähnlichkeiten beider Gewebe und die prinzipiellen Knocheneigenschaften unterstützen den Versucheinsatz, Dentinadhäsive zur Frakturtherapie am Knochen einzusetzen.

Tabelle 1 – Zusammensetzung und Härte von Knochen und Dentin (Schemel, Hummel et al., 1984)

	<b>Knochen*</b>	<b>Dentin</b>
Hydroxylapatit	67%	70%
Kollagen (Typ I)	28%	20%
Wasser	8%	10%
Vickers Härte von 25 p Belastet	10 kp/mm <sup>2</sup>	82,5 kp/mm <sup>2</sup>

\* Durchschnittliche Werte ohne detaillierte Unterteilung in Kompakta oder Spongiosa.

## 2.5 Osteosynthese

Unter Osteosynthese versteht man die operative Vereinigung reponierter Knochenfragmente mittels Nähten, Drähten, Nägeln, Schrauben oder Platten in möglichst anatomisch korrekter Position.

Schienenverbände und Knochenbruchversorgungen wurden schon von Hippokrates (460–337 v. Chr.) und Galenus (131–201 v. Chr.) beschrieben. Kleister- und Lehmverbände, vergleichbar mit heutigen zirkulären Verbänden, wurden im Mittelalter angewandt (Awakowicz, 2002).

Die moderne Osteosynthese hat Carl Hansmann (1852–1917) mit der Entwicklung der Plattenosteosynthese begründet (Luhr, 2000).

Für lange Zeit war die Komplikationsrate sehr hoch, da die verwendeten Implantatmaterialien ungeeignet waren. Erst im Jahr 1949 erfolgte die Entwicklung des Prinzips der axialen Kompression der Fragmentenden durch den belgischen Chirurgen Robert Danis (Luhr, 2000). Zahlreiche Probleme der operativen Versorgung machten den Eingriff kompliziert. In den 60er und 70er Jahren wurde dann die Technik weiter entwickelt und ist mit Namen wie Luhr (1968); Michelet und Moll (1971) und Champy (1978) verbunden. In dieser Zeit wurde die Kompressionsosteosynthese wie auch der Miniplattenosteosynthese entwickelt. Im Unterkiefer wurden Plattensysteme für Überbrückung von Defekten nach Tumorsektionen oder Schussverletzungen und für Fixation von Knochentransplantaten entwickelt (Michelet und Moll, 1971; Champy, Lodde et al., 1978). Erst in den 70er Jahren erschienen in Deutschland die ersten Publikationen über unterschiedliche Rekonstruktionssysteme.

Im Mittelgesicht wurden die ersten Methoden der Osteosynthese mit Vitalliumminiplatten durch Snell und Dott in 1969 beschrieben. Andere Gruppen haben auch über die Platten-Schrauben-Osteosynthese im Mittelgesichtsbereich berichtet, wie Champy (1978); Luhr (1979); Härle (1980) und Höster (1980). Die Autoren beschäftigten sich mit Osteosynthesen nach Le-Fort I Osteotomien oder Frakturen. Eine Beschreibung der Knochenstrukturen der Maxilla und ihre Bedeutung für die Methoden der Osteosynthese findet man bei Ewers und Schilli (1977). Die Anwendung dieser Technik zur Stabilisierung von osteotomierten Segmenten in der sekundären Spaltchirurgie wurde von Drommer und Luhr (1981) und Steinhäuser (1982) beschrieben.

Die Plattenosteosynthese hat letztlich weite Bereiche der kranio-maxillo-fazialen Chirurgie revolutioniert. Sie erlaubt im Vergleich zur Drahtosteosynthese eine dreidimensionale Rekonstruktion des Schädels- und Gesichtsskeletts und in den Fällen, in denen die Okklusion beteiligt ist, eine stabile Fixation der Knochensegmente mit weitgehendem Verzicht auf eine postoperative intermaxillare Immobilisation der Kiefer, was für den Patienten einen großen Fortschritt bedeutet (Luhr, 2000).

## 2.6 Anforderungen und Probleme an das Osteosynthesematerial

Aus klinischer und medizinischer Sicht werden an Osteosynthesematerialien unterschiedliche Anforderungen gestellt. Ein dafür geeignetes Material muss eine ausreichende Fixierung der Fraktur erreichen, um eine funktionell befriedigende Behandlung zu ermöglichen.

Zusammengefasst kann man die Anforderungen an ein ideales Osteosynthesematerial wie folgt formulieren:

- Wiederherstellung der Kontinuität und Retention der Fraktur
- Biokompatibilität
- Mechanische Belastbarkeit und Stabilität.

Die Biokompatibilität des Materials ist eine wichtige Voraussetzung und wird von Titan nahezu erfüllt. Um günstige Kombinationen zu erreichen, werden unterschiedliche Titanlegierungen gefertigt. Die Titanlegierung mit Aluminium und Eisen bietet eine gute Festigkeit (TiAlFe), während die vorteilhafte Kombination aus Festigkeit und Duktilität durch eine Ti-beta-Legierung besteht (Awakowicz, 2002). Dennoch sind Unverträglichkeitsreaktionen auf metallische Materialien in der Literatur in großer Zahl beschrieben worden (Kennady, Tucker et al., 1989; Kennady, Tucker et al., 1989; Moberg, Nordenram et al., 1989; Exley und Birchal, 1992; Rosenberg, Gratz et al., 1993; Torgersen, Gjerdet et al., 1995; Matthew, Frame et al., 1996; Ray, Matthew et al., 1998; Matthew und Frame, 2000; Langford und Frame, 2002).

Diese Reaktionen betreffen fast alle zur Anwendung kommenden Metalle wie Nickel, Kobalt, Chrom, Eisen, Zink, Molybdän, aber auch Titan. Metall-Debris und Metallpartikel können durch Herstellungsfehler, Korrosion, Oberflächenkontamination oder mechanischen Schaden die im Gewebe aufgelöst werden (Langford und Frame, 2002). In verschiedenen Studien konnten Herstellungsfehler nachgewiesen werden (Ray, Matthew et al., 1998). In diesen Arbeiten wurden auch Aluminium und Siliziumrückstände auf den Titanplatten nachgewiesen (Moberg, Nordenram et al., 1989; Torgersen, Gjerdet et al., 1995; Matthew, Frame et al., 1996). Aluminiumpartikel werden als Ursache für Alzheimer, Parkinson und Osteomalazie diskutiert (Exley und Birchal, 1992).

Für die Eignung von Titan spielen auch die physikalischen Eigenschaften im Vergleich zum Knochen eine wichtige Rolle.

Das E-Modul ist ein Maß für den elastischen Widerstand gegen Verbiegung. Im Vergleich das E-Modul von Spongiosa, Kortikalis und Titan:

Tabelle 2 – E-Module von Knochen und Titan (Ceram Tec Ag, Plochingen, Deutschland)

Spongiosa	Kortikalis	Titan
1000 N/mm <sup>2</sup>	10.000- 17.000 N/mm <sup>2</sup>	110.000 N/mm <sup>2</sup>

Es wird deutlich, dass metallische Implantate im Vergleich zum Knochen viel weniger elastisch sind. Damit wird aber eine frühe Übungsstabilität erreicht und Immobilisationschäden (Frakturkrankheit) werden vermindert. Vielmehr resultiert eine „biologische Osteosynthese“ im Sinne einer Erhaltung der Blutversorgung bei ausgedehnten Frakturen.

In der modernen Osteosynthese mit technisch hoch entwickelten Legierungen ist die postoperative Infektion an Implantaten immer noch die bedeutendste unerwünschte Komplikation (Langford und Frame, 2002).

Röntgenologische Zeichen für eine Materiallockerung, die infektiöse Komplikationen begünstigt, sind Aufhellungen (Resorptionen) entlang des Osteosynthesematerials, Kallusbildungen, persistierende Frakturlinien, Dislokationen der Implantate, szintigraphisch intensive Nuklideinlagerung. Gern treten dann weitere (entzündliche) Komplikationen hinzu.

## 2.7 Klebstoffe

Eine Alternative zu den klassischen Osteosyntheseverfahren stellen Knochenkleber dar. Um einen Knochenklebstoff im klinischen Alltag einsetzen zu können, muss dieser hohe Anforderungen erfüllen. Er sollte sich durch suffiziente Klebeeigenschaften bei guter Kurz- und Langzeitbiokompatibilität auszeichnen, ohne den physiologischen Frakturheilungsprozess bei schneller Biodegradation zu stören. Die wichtigsten Anforderungen für einen derartigen Knochenkleber sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3 – Anforderungen an einen medizinischen Knochenklebstoff (Heiss und Schnettler, 2005)

Biokompatibilität	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Degradierbarkeit und Resorbierbarkeit in einem definierten Zeitraum</li> <li>• Keine lokale oder systemische Toxizität, Kanzerogenität oder Teratogenität</li> <li>• Nicht Gewebe schädigend</li> <li>• Geringe Wärmeentwicklung (Polymerisationshitze) während der Aushärtungsphase</li> </ul>
Verbundfestigkeit	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hohe Klebefestigkeit <i>in situ</i> für sofortige funktionelle Beanspruchung</li> <li>• Ausreichende Elastizität mit Zug-, Scher- und Druckstabilität</li> <li>• Haftvermögen auf Knochen in Gegenwart von Blut und Gewebeflüssigkeit (feuchtes Milieu)</li> </ul>
Applikation	Einfache Zubereitung, Anwendbarkeit und Applizierbarkeit als spritzfähige Paste oder Suspension mit individuell einstellbarer Viskosität
Sonstige Eigenschaften	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Schnelle Aushärtung (einstellbarer Bereich 1–10 min)</li> <li>• Geringe Volumenkontraktion</li> <li>• Lagerungsstabilität</li> <li>• Sterilisierbarkeit</li> <li>• Wirtschaftlichkeit</li> </ul>



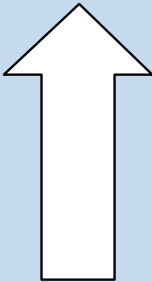
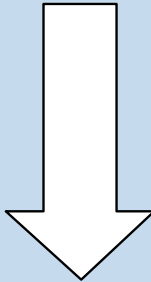
### 2.7.1 Cyanoacrylate

Cyanoacrylate wurden von der Firma Eastman Kodak in New York in den fünfziger Jahren entwickelt (Coover, Joyner et al., 1959). Schon 1964 stellte die Firma Eastman Kodak einen Antrag an die *Food and Drug Administration*, mit Cyanoacrylatklebern menschliches Gewebe kleben zu dürfen.

Cyanoacrylate ist der Oberbegriff für eine Stoffgruppe mit charakteristischen chemischen Eigenschaften. Mitglieder dieser Familie sind Methylcyanoacrylat, Ethylcyanoacrylat, Isobutylcyanoacrylat und n-Butyl-2-Cyanoacrylate (Heiss und Schnettler, 2005). Die ersten Acrylate basierten auf 2-Zyano-Acrylat-Estern, welche zumeist schnell in toxische Abbauprodukte (u. a. Formaldehyd) degradiert werden. Die Folgen waren hohe Konzentrationen derartiger Substanzen mit entsprechend hoher Toxizität (Kort, 1971). Mit steigender C-Atomzahl der Alkylester nehmen die Toxizität, aber auch die Klebefestigkeit der Verbindung ab, die Elastizität und Polymerisationszeit dagegen zu (Tab. 4). Durch Austausch der Alkylgruppe konnten die Klebeeigenschaften verändert werden. Als chirurgische Klebstoffe wurden n-Butyl bzw. n-Octylester eingesetzt, da diese die geringste Toxizität aufwiesen (Giebel, 1968). Kovalente Bindungen sind verantwortlich für die hohe Adhäsionsfähigkeit.

Pani et al. (1968) und Tseng et al. (1990) zeigten durch experimentelle Untersuchungen in vitro, dass die Toxizität des Cyanoacrylats zunimmt, je länger die chemische Kette ist (Pani, Gladieux et al., 1968; Tseng, Tabata et al., 1990).

Tabelle 4 – Zusammenhang zwischen der Klebekraft und der Toxizität eines Gewebeklebers (Pani, Gladieux et al., 1968; Tseng, Tabata et al., 1990)

Klebekraft		Toxizität
	Methyl-2-Cyanoacrylat ( Eastman 910®) <b>n-Butyl-2-Cyanoacrylat ( Histoacryl®)</b> Isobutyl-2-Cyanoacrylat Hexyl-2-Cyanoacrylat Heptyl-2-Cyanoacrylat Octyl-2-Cyanoacrylat Dectyl-2-Cyanoacrylat	



Untersuchungen mit n-Butyl-2-Cyanoacrylate (Histoacryl) beschrieben eine günstige Gewebereaktion, eine Kanzerogenität konnte nicht nachgewiesen werden (Giebel und Rimpler, 1981). Studien über Methyl-Cyanoacrylate berichteten über hohe Komplikationsraten, die zum großen Teil auf die Abbauprodukte nach hydrolytischer Spaltung in Cyanoacetat und Formaldehyd zurückgeführt werden können (Leonard, 1968).

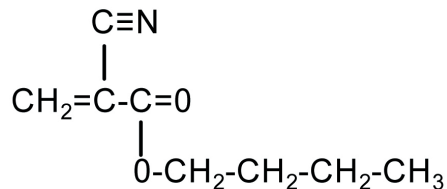


Abbildung 3: Formel des n-Butyl-2-Cyanoacrylatmonomers

Cyanoacrylate werden nach Kontakt mit Wasser oder ähnlichen anionischen Katalysatoren innerhalb von wenigen Sekunden polymerisiert. Da auch im Gewebe ständig Wasser, Blut und weitere Verbindungen mit freien Elektronenpaaren vorhanden sind, erübrigt sich der Zusatz spezieller Katalysatoren. Die Reaktion verläuft exotherm ohne nachträgliche Änderung des Volumens der Klebmasse. Die Klebstoffmenge und die Polymerisationsgeschwindigkeit bestimmen die Wärmemenge, die in der Reaktion ausgelöst wird.

Die Technik, Cyanoacrylate als Gewebekleber zu verwenden, ist bereits in vielen Bereichen der Chirurgie verbreitet: Nahtersatz und Blutstillung in Haut-, Bauch-, Neuro-, Gefäß- und Thoraxchirurgie, Urologie und Gynäkologie (Kramer und Mc Lean, 1952; Vanholder, Misotten et al., 1993; Himel und Persing, 1994; Gosain, 2002; Alkan, Dadas et al., 2007).

Verschiedene Gruppen haben sich mit dem Thema Knochenklebung beschäftigt (Mehta, Shah et al., 1987; Meechan, McCabe et al., 1994; Amarante, Constantinescu et al., 1995; Meechan und McCabe, 1995; Baidya, Meechan et al., 1996; Ahn, Sims et al., 1997; Cheski und Matthews, 1997; Kim, 1997; Gosain, Song et al., 1998; Shermak, Wong et al., 1998; Maurer, Bekes et al., 2004a; Dadas, Alkan et al., 2007; Heiss, Kraus et al., 2008).

Die Gruppe von Gosain et al., (1998) führte eine biomechanische Untersuchung an Schafkadavern durch, um die Unterschiede zwischen resorbierbaren Plattensystemen, Klebern und Metallplatten herauszufinden. Es wurden Titanplatten, resorbierbare

Platten und Schrauben, resorbierbare Platten, welche mit n-Butyl-2-Cyanoacrylat fixiert wurden und eine direkte Cyanoacrylatfixation verglichen. Cyanoacrylat allein oder in Verwendung mit resorbierbaren Platten besitzt eine deutlich geringere Stabilität beim Zugversuch als die anderen Gruppen. Diese Daten zeigen, dass in funktionell stark belasteten Bereichen die Platten- und Schraubenosteosynthese der Klebverwendung überlegen ist. Trotzdem scheint der Knochenkleber eine brauchbare Methode zur knöchernen Fixierung in den wenig belasteten Bereichen des Schädels zu sein (Gosain, Song et al., 1998). Auch ohne detaillierte biomechanische Untersuchungen unterstützen die eigenen positiven Resultate die Hypothese eine Verwendung von Adhäsiven im mechanisch wenig beanspruchten Gebiet.

### 2.7.2 Dentinhaftvermittler (DHV)

Die Entwicklung der Säure-Ätz-Technik in den 50er Jahren und die Einführung von hochviskösen Diacrylatmonomeren (Bis-GMA) durch Bowen (1965) eröffnete der Zahnheilkunde weitreichende Möglichkeiten für die Versorgung von Zahndefekten (Buonocore, 1955; Söderholm und Mariotti, 1999).

Die Forderung nach Verbesserung der Befestigung solcher Komposite- bzw. Kompositemente am Zahn führte zur Entwicklung von Dentinhaftvermittlern, da man auch das intertubuläre Dentin und die Dentintubuli zur Adhäsion nutzen wollte (mikromechanischen Verankerung). Die Aufgabe der Dentinhaftvermittler ist es, einen dauerhaften Verbund zwischen dem hydrophoben Komposit als Zahnfüllmaterial und dem feuchten Dentin herzustellen (Eliades, Caputo et al., 1985).

Ausschlaggebend für die Mechanismen der Dentinadhäsion ist der strukturelle Aufbau des Dentins (Abb. 2a und b). 1962 führte Bowen die Bisphenol-A-Glycidylmethacrylate (BIS-GMA) ein. Diese ermöglichten erstmals deutlich haltbarere Kompositrestaurationen an der Zahnhartsubstanz (Söderholm und Mariotti, 1999).

Die während der Präparation entstehende Schmierschicht (*Smearlayer*) – sie entsteht bei der Kavitätenpräparation aus kleinen zusammengepressten Teilen der Zahnhartsubstanz, Bakterien sowie Speichel- und Blutbestandteilen – bildet sich je nach Präparationstechnik unterschiedlich in Dicke (1–5 µm) und Beschaffenheit (Brannstrom, Nyborg et al., 1979; Pashley, 1984; Haller, 1994). So ist bis zum heutigen Tag der Verbund zwischen Dentin und Komposit schwieriger zu erreichen als zum relativ homogenen

und aus etwa 98% anorganischem Material bestehenden Zahnschmelz. Zentrale Komponenten eines DHV sind der Konditionierer, der Primer und das Bonding.

Der Konditionierer entfernt die Schmierschicht und sorgt für eine retentive Oberfläche. Er entmineralisiert das oberflächliche peri- und intertubuläre Dentin. Hierfür verwendet man entweder Komplexbildner wie EDTA (Ethyldiamintetraessigsäure) oder Säuren wie Phosphorsäure, Maleinsäure, Salpetersäure, Zitronensäure und Oxalsäure, die das Dentin bis in eine Tiefe von 2–5µm demineralisieren und Hohlräume von ca. 20nm zwischen den freigelegten Kollagenfasern schaffen (Eick, Gwinnett et al., 1997).

Der Primer ist für eine benetzbare Oberfläche verantwortlich. Er bereitet das hydrophile Dentin für die Aufnahme hydrophober Kunststoffmonomere vom Bonding vor, indem er das Wasser verdrängt und das entstandene Kollagengeflecht aufrichtet bzw. erweitert. Das Bondingmaterial besteht aus amphiphilen Mono- und Dimethacrylaten wie NPGGMA, 4-META und PMMA und phosphonierten Mono-, Di- und Polymethacrylaten. Des Weiteren sind Mono- und Dimethacrylaten wie BisGMA, TEGDMA, UDMA, HEMA und PEGDMA vorhanden. Diese Stoffe penetrieren das von Primer vorbereitete Kollagengeflecht und füllen die Öffnungen der Dentintubuli unter Bildung von Zotten (*Tags*) aus. Es kommt zur Bildung einer Hybridschicht und zur mikromechanischen Verankerung. Die Hybridschicht besteht aus Dentin bzw. Dentinkollagengeflecht und Kunststoff und weist eine Dicke von ca. 1–2µm auf (Nakabayashi und Takarada, 1992; Yang, Adelson et al., 2005).

Eine suffiziente Adhäsion durch alleinige Verwendung eines Primers ist nicht zu erwarten. Der Verbund würde sich nur auf die Kohäsion der Smearlayer und deren Halt auf dem Dentin stützen. Heute verwendete DHV beinhalten deshalb entweder Systeme mit vorheriger Konditionierung und anschließender Primerapplikation oder ein Verfahren mit selbstkonditionierendem Primer (Schaller und Schmelz, 1999).

Nach dem Entwicklungsstand gehören die neuen Produkte bereits zur vierten oder fünften Generation. Betrachtet man die Darreichungsform, spricht man von Ein-, Zwei- oder Drei-Flaschen-Systemen (Schaller und Schmelz, 1999). Es existieren einige Klassifikationen zur Einteilung der DHV (Haller 1994; Schweikl, Schmalz et al., 1994; Van Meerbeek, Perdigao et al., 1998; Van Meerbeek, Yoshida et al., 1998; Van Meerbeek, De Munck et al., 2003).

Mit der Durchsetzung der Total-Etch-Technik war es nötig, überwiegend hydrophile Monomere, wie etwa HEMA oder Bis-GMA einzusetzen, die auch bei erhöhtem Flüssigkeitsausstrom in den Kanälchen hohe Haftwerte erzielen. Das sich heute seit 10 Jahren auf dem Markt befindliche Excite (Vivadent, Ellwangen, Deutschland) beinhaltet diese Monomere. Es arbeitet nach dem Prinzip des *wetbondings*, da hier sogar eine feuchte Oberfläche erwünscht wird. Da Dentinliquor, eine in der Pulpa gebildete extrazelluläre Gewebsflüssigkeit, aufgrund des pulpalen Gewebedrucks von 20 bis 30mmHg von innen nach außen fließt, ist Dentin in der Regel hydrophil und lässt sich *in vivo* nie absolut trocknen (Schroeder, 1992).

Die generelle Idee, die in der Zahnmedizin breit angewendeten DHV zur Fixation von Knochenfragmente zu verwenden, besteht seit etwa 10 bis 15 Jahren. Eines der ersten Modelle dazu entwickelten Meechan et al., 1994. Ziel war die Adhäsion von Komposit über Dentinadhäsiven am Knochen *in vitro* zu untersuchen. In dieser Studie kam einer der ersten *wetbonding* DHV (All-Bond 2, Bisco, Itaska, IL, USA), an der Schweinekalvaria zur Anwendung. Durch Säureätzung wurde die Haftvermittlung zwischen Knochen und Kleber überraschenderweise vermindert. Durch Oberflächenbearbeitung mit rotierenden Instrumenten vor der Kleberapplikation konnte eine erhöhte Haftvermittlung erreicht werden (Meechan, McCabe et al., 1994). Nur ein Jahr später veröffentlichte die gleiche Arbeitsgruppe eine weitere Studie, in der die Haftvermittlung zwischen Knochen und Komposit mit zwei Präparaten verglichen wurde: All bond 2 (Bisco, Itaska, IL, USA) und A.R.T. bond (Coltene, Altstätten, Switzerland). Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen konnte allerdings nicht gefunden werden (Meechan und McCabe, 1995). Kernpunkt der ersten Untersuchungen war zunächst das Erreichen eines knöchernen Verbundes.

## 3. Eigene Untersuchungen

### 3.1 Material

#### 3.1.1 Versuchstiere

Sämtliche Untersuchungen erfolgten am Kaninchen (n: 30). Dieses Versuchstier wurde wegen seiner wenig anspruchsvollen Haltung und der bekannten hohen operativen Belastbarkeit ausgewählt. Darüber hinaus lassen sich an diesem Kleintiermodell die Vorgänge der Knochenbruchheilung gut darstellen. Die Frakturheilung verläuft hier in ähnlicher Weise wie beim Menschen, nur wesentlich schneller. So sind die meisten Vorgänge der Heilung bereits nach 6 Wochen abgeschlossen (Wissing, Stürmer et al., 1990).

Bei allen Tieren handelte es sich um *New Zealand White Rabbits* (Charles River Labs, Sulzfeld, Deutschland) männlichen Geschlechts im Alter von sechs bis acht Monaten und einem durchschnittlichen Körpergewicht von  $3000 \pm 108$  Gramm.

Die Tiere wurden in standardisierten Käfigen gehalten, erhielten standardisiertes Trockenfutter und Wasser *ad libitum* und wurden bei 50 bis 60% relativer Luftfeuchtigkeit unter einem Lichtregime von jeweils zwölf Stunden Licht und zwölf Stunden Dunkelheit gehalten, wobei die Lichtzeit 06.00 Uhr begann und 18.00 Uhr endete.

Der Tierversuch wurde von der Tierschutzkommission der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg als Tierversuchsvorhaben 42502/2-704 MLU (§ 8 Abs. 1 in der Fassung vom 18.8.1986, BGB1.I.S. 1319 mit Änderung des Artikels 3 vom 20.8.1990) genehmigt.

### 3.1.2 Cyanoacrylat

Histoacryl (B. Braun, Melsungen, Deutschland) ist ein Gewebekleber, der aus n-Butyl-2-Cyanoacrylat besteht. Dieser Klebstoff ist preiswert und zeigt in Präsenz von Feuchtigkeit eine schnelle Polymerisation. Die Polymerisationsreaktion wird durch Oxonium-Ionen gestartet. Sie ist innerhalb weniger Sekunden abgeschlossen. N-Butyl-2-Cyanoacrylat benötigt einen sauren Stabilisator, um bis zur Anwendung flüssig zu bleiben. Nach Herstellerangaben ist die Toxizität von Histoacryl geringer als die anderer Kleber der Cyanoacrylat-Familie (Tab. 4).

Es ist mit einem Farbstoff D&C violett Nr.2 blau eingefärbt, um die aufgetragenen Schichtdicken besser erkennen zu können. Histoacryl ist unter  $+5\text{C}^\circ$  vor Licht geschützt im Kühlschrank oder in der Gefriertruhe aufzubewahren.

Bisher häufigste medizinische Indikation ist die Klebung glatter und frischer Hautwunden.



Abbildung 4 – Präsentation der Ampulle und Packung von Histoacryl (Produkt Broschüre B Braun GmbH, 1998).

### 3.1.3 Dentinhaftvermittler (DHV)

Die Versuche wurden, aufgrund der Ergebnisse von in vitro Untersuchungen (Bekes 2004, Heinzelmann, 2007), mit dem lichthärtenden Bonding-Material Excite (Vivadent, Ellwangen, Deutschland) durchgeführt.

Es ist ein einphasiges System und setzt sich aus einem Katalysator und einem Lösungsmittel zusammen. Es wird mit der Total-Etch-Technik und *wetbonding* angewandt.

Das Adhäsiv besteht aus folgender Komposition:

• Hydroxyethylmethacrylat, Bis-GMA, Phosphorsäureacrylat, Dimethacrylat	79,1 Gew.-%
• Ethanol	19,5 Gew.-%
• Hochdisperses Siliziumdioxid	0,5 Gew.-%
• Katalysatoren, Stabilisatoren	0,9 Gew.-%

Die Physikalischen Eigenschaften dieses Haftvermittlers sind folgende:

• Scherhaftfestigkeit auf Dentin	33 MPa
• Scherhaftfestigkeit auf Schmelz	29 MPa
• pH	2.6
• Dichte (g/mL)	1.12

Folgende Vorteile sind für diesen Kleber beschrieben:

- Neuartiges Haftmonomer auf Phosphonat-Basis mit verbesserter Hydrolysestabilität;
- hoher Monomeranteil,
- acetonfrei;
- enthält Füllstoff;
- kompatibel mit Laser-, Plasma und LED Polymerisationslampen.



Abbildung 5 – Präsentation von Excite und als Einzeldosis verpackt (Produkt Broschüre Vivadent, 2003)

Excite war eines der ersten Produkte, welches in einer Single-Dose Lieferform erhältlich war. Die Vorteile der Single-Dose Lieferform sind offenkundig. Eine Dosierung enthält genau die richtige Menge für Anwendung, und das Risiko einer bakteriellen Kontamination ist minimal, da ein hoher Hygienegrad erreicht wird.

### 3.1.4 Titan: Osteosyntheseplatten und Schrauben

Es wurden Titan-Mikroplatten (5-Loch-Platten 1,0mm) und Mikroschrauben (KLS Martin, Tuttlingen, Deutschland) verwendet. (Abb. 6) Diese Platten und Schrauben bestehen aus einer Titanlegierung (TiAlFe) und bieten eine gute Festigkeit. Die günstige Kombination aus Festigkeit und Duktilität wird von dieser Ti-beta-Legierung erzielt.

Zur Anlage der Knochendefekte wurde ein Trepan-Bohrer mit 8mm Durchmesser verwendet (KLS Martin; Tuttlingen, Deutschland).

Das operative Grundsieb beinhaltete alle Instrumentarien für kleine Eingriffe. An Instrumenten wurden Messer, Freer, kleine Haken, feine und starke Schere, Pinzetten (chirurgisch und anatomisch) sowie Klemmen genutzt.

Der primäre Wundverschluss wurde mit Vicryl 5.0 rapid (Ethicon, Johnson & Johnson MEDICAL GmbH, Norderstedt, Deutschland) durchgeführt, da dieses Material eine schnellere Resorption gewährleistet.

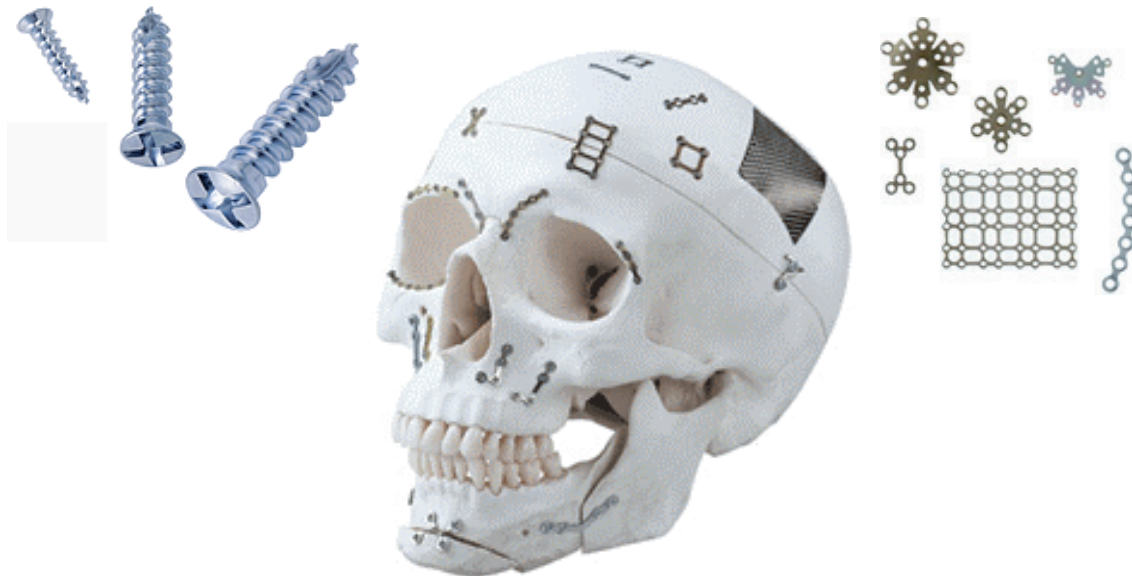


Abbildung 6 – Titan-Schrauben, Platten und Einsatz im Gesichtschädelbereich



## 3.2 Methodik

### 3.2.1 Versuchsprotokoll *in vivo*: Osteotomien am Kaninchenschädel

In einer Serie von 30 Tieren wurde in der Kalvaria des Kaninchens beidseitig der Mittellinie je ein kreisrunder Defekt von 8mm geschaffen. Die Knochendeckel wurden unter Schonung der Dura mater mobilisiert und gehoben, wieder in den Defekt zurückgelegt und durch die verschiedenen Methoden bzw. Verfahren der Osteosynthese befestigt.

Je ein Drittel der Tiere wurde nach 4, 8 und 12 Wochen Heilungszeit geopfert.

Die Aufarbeitung umfasste eine histologische Untersuchung, die in der Klinik für Orthopädie der Martin-Luther-Universität durchgeführt wurde, sowie eine radiologische Analyse die im Department für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Martin-Luther-Universität erfolgte.

Vor Beginn der Versuchsreihe war eine Randomisierungsliste erstellt worden. Die jeweilige Zuordnung bestimmte das Losverfahren.

Gruppeneinteilung des Versuchs:

Zwecks Untersuchung der verschiedenen Osteosyntheseverfahren wurden die 30 Kaninchen in 3 Gruppen aufgeteilt, sodass insgesamt 60 Defekte resultierten (Tab.5).

Diese Gruppen waren im Einzelnen:

Gruppe 1 – Titan (n = 10): Defektversorgung durch Titan-Mikroplatten (Kontrolle).

Gruppe 2 – Cyanoacrylat (n = 10): Defektversorgung durch Cyanoacrylat.

Gruppe 3 – Dentinhaftvermittler (n=10): Defektversorgung durch Dentinhaftvermittler.

Die Opferungen wurden nach 4, 8 und 12 Wochen durchgeführt, so dass die verschiedenen Heilungsphasen beobachtet werden konnten (Tab.5).

Insgesamt wurden 10 Tiere mit Cyanoacrylat (links) und Titan (rechts); 10 Tiere mit Dentinkleber (links) und Titan (rechts) und 10 Tiere mit Cyanoacrylat (links) und Dentinkleber (rechts) versorgt (Abb.7).

Tabelle 5 – Einteilung der Tiere in die verschiedenen Gruppen und Opferungszeitpunkten.

Tötungszeit	4 Wochen	8 Wochen	12 Wochen	Gesamtzahl von Tiere in Gruppen
Cyanoacrylat	3 Tiere 6 Proben	3 Tiere 6 Proben	4 Tiere 8 Proben	10 Tiere 20 Proben
Dentinkleber	3 Tiere 6 Proben	3 Tiere 6 Proben	4 Tiere 8 Proben	10 Tiere 20 Proben
Titan	3 Tiere 6 Proben	3 Tiere 6 Proben	4 Tiere 8 Proben	10 Tiere 20 Proben
<b>Gesamt</b>	<b>9 Tiere</b> <b>18 Proben</b>	<b>9 Tiere</b> <b>18 Proben</b>	<b>12 Tiere</b> <b>24 Proben</b>	<b>30 Tiere</b> <b>60 Proben</b>



n:10  
Titanium + Histoacryl



n:10  
Titanium + Excite



n:10  
Excite + Histoacryl

Abbildung 7 – Versuchsgruppen zu je 10 Tieren; je zwei Defekte pro Tier an der Kalotte.

### 3.2.2 Operative Methoden

Die Versuche erfolgten erst nach einer Eingewöhnungszeit der Tiere an ihre Umgebung von einer Woche. Die operativen Eingriffe wurden unter Allgemeinanästhesie mittels subkutane Injektion von Ketanest (3mg / kg Körpergewicht) und Domitor (40µg / kg Körpergewicht) durchgeführt. Nach Eintritt der Narkose erfolgte die Rasur der Haut über der zu operierenden Kalvaria.

Zusätzlich zur Narkose wurde subperiostal an der Kalotte eine Infiltrationsanästhesie (2ml Ultracain-DS) gespritzt (Abb. 8). Nach dreimaliger Desinfektion, Markierung des Operationsgebietes und steriler Abdeckung erfolgte die Operation unter den Kautelen eines sauberen Eingriffes (Abb. 9).



Abbildung 8 – Infiltrative Lokalanästhesie mit Articain nach Desinfektion.

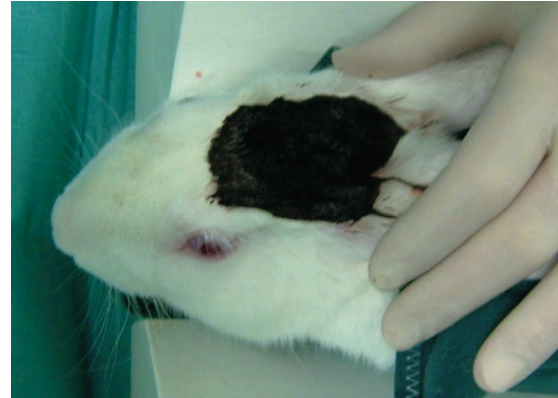


Abbildung 9 – Markierung des Operationsgebietes mit Jodlösung.

Die Darstellung des Schädelknochens erfolgte über einen 3–4cm längsverlaufenden Hautschnitt an der Kalvaria (Abb. 10 und 11).

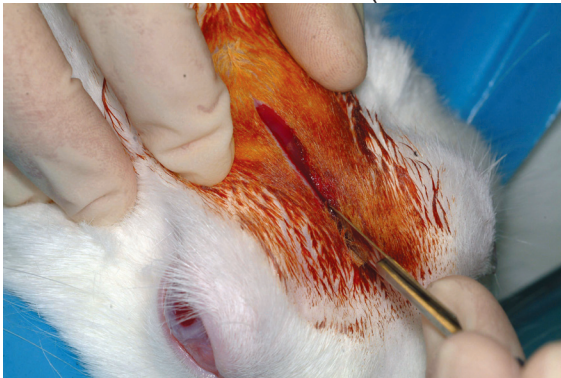


Abbildung 10 – Inzision median am Schädel mit einer 15er Klinge



Abbildung 11 – Freipräparierung des Schädelknochens zur Darstellung des Os. parietale

Durch Osteotomie mit einem Trepan-Bohrer (KLS Martin, Tuttlingen, Deutschland) wurde beidseitig von der Mittellinie an beiden Parietalknochen ein definierter Knochendefekt von 8mm Durchmesser geschaffen, der im Anschluss zu decken war (Abb. 12). Alle entstandenen Knochendeckel wurden unter Schonung der Dura mater entnommen (Abb. 13).

Klinischer Aspekt nach Gewebekonditionierung und zusätzliche Blutstillung mit 3%em  $H_2O_2$  (Abb. 14) Die Knochendeckel wurden in die Defekte replantiert und durch die genannten verschiedenen Osteosynthesemethoden fixiert (Abb. 15 und 16).

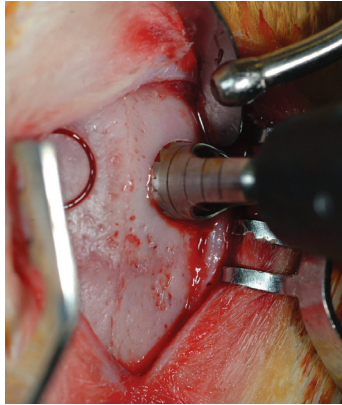


Abbildung 12 – Trepanation der Kalotte

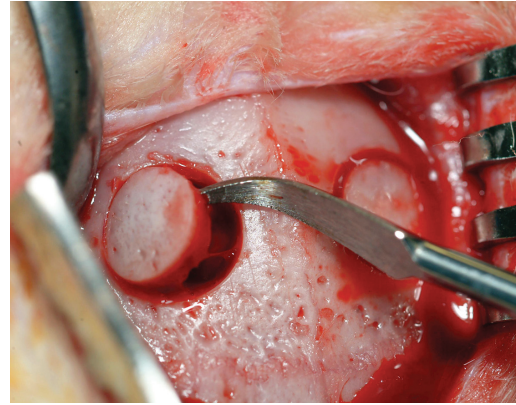


Abbildung 13 - Entfernung des Knochendeckels vom Defekt

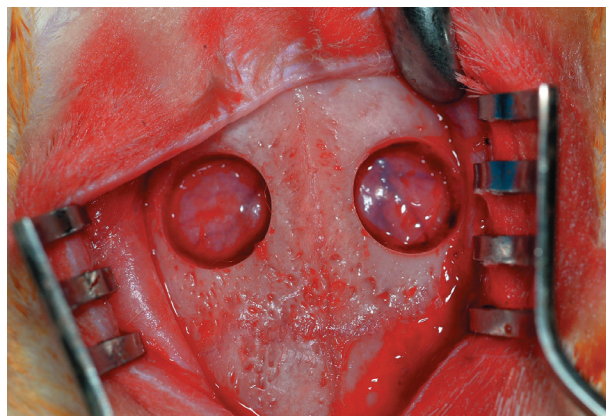


Abbildung 14 – Zustand nach Osteotomie. Die Intakte Dura mater ist am Defektboden zu beobachten

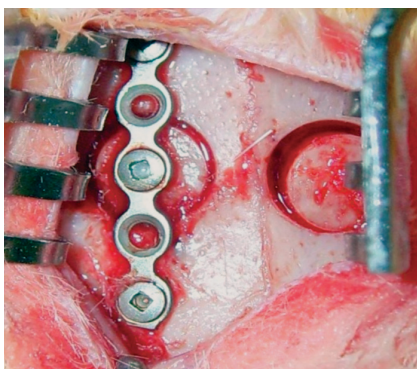


Abbildung 15 – Fixation des Knochendeckels links mit Titanplatten und Schrauben.



Abbildung 16 – Fixation des Knochendeckels links mit Excite und rechts mit Histoacryl.



Die Wunde wurde primär und einschichtig mit Knopfnähten über Vicryl 5-0 rapid (Ethicon, Johnson & Johnson MEDICAL GmbH, Norderstedt, Deutschland) verschlossen. Zur Vorbeugung von Wundschmerzen erfolgte für den Zeitraum von fünf Tagen eine Analgesie mit Novalgin 20 bis 30 Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht als subkutane Injektion alle acht bis zwölf Stunden.

Bei der täglichen Fütterung wurde auf den Allgemeinzustand sowie besonders auf die Operationswunde hinsichtlich Wundheilung, Serombildung und Infektion geachtet. Hierbei wurde insbesondere der Heilungsverlauf an der Operationswunde beobachtet und dokumentiert. Darüberhinaus Erfassung der Tagesaktivität.

An Komplikationsmöglichkeiten sind insbesondere Infektionen, z. B. Abszesse oder Fremdkörperreaktionen zu befürchten. Aus diesem Grunde wurden eine transoperative Infektionsprophylaxe mit Gentamicin p. inj. (1 mg/kg) sowie post-operativ eine Antibiotikumtherapie mit gleicher Dosis zweimal täglich als subkutane Injektion bis zum fünften postoperativen Tag durchgeführt.

Nach etwa sieben bis zehn Tagen und Abschluss der primären Wundheilung sind bei keinem Tier Anzeichen für Schmerzen oder Entzündungen beobachtet worden.

Die Opferung erfolgte durch intrapulmonale Injektion von 5 ml einer T61 Injektionslösung (Fa. Hoechst Veterinär GmbH), die aus Embutramidum 200 mg, Mebezoonii iodidum 50 mg, Tetracaini hydrochloridum 5 mg besteht. Die inneren Organe, Nieren und Leber wurden operativ über einen direkten abdominalen Zugang exstirpiert und in gepuffertes Formalin gebracht. Die Knochenproben wurden in einer alkoholischen Lösung bis zu Bearbeitung aufbewahrt.

### 3.2.3 Röntgen-Untersuchung

Die Röntgenuntersuchungen aller klinischen Proben wurden unmittelbar nach Entnahme in der Röntgenabteilung am Department für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchgeführt. Die Entwicklung eines Standardprotokolls ermöglichte einen direkten Vergleich hinsichtlich der Ossifikation nach den unterschiedlichen Osteosynthesetechniken. Dafür kam das Gerät „Multipix CPH“ der Firma Siemens (München, Deutschland) zum Einsatz. Die röntgenologische Darstellung basierte auf Standardfilmen des Formats 18 x 24cm für sämtliche Knochenproben. Es wurden dafür immer identische Filme (Kodak T-Mat Plus Dg) verwendet. Der Film-Fokus betrug immer 1,15m.

Bezüglich Einschätzung der Knochenheilung kam es zu einer rein subjektiven Abschätzung. Konsultationen mit Radiologen erbrachten keine sinnvolle Option, die verschiedenen Graustufenskalen zu nutzen.

### 3.2.4 Histologische Untersuchungen

Nach Euthanasie der Kaninchen wurde den Tieren die Kalotten entnommen, nummeriert und in 70% Alkohol fixiert. Die Knochenproben wurden mittels Hämatoxylin-Eosin (HE), Masson-Goldner und Giemsa Färbung untersucht. Außerdem wurden bei allen Versuchstieren Nieren- und Leberproben entnommen. Diese Proben wurden mittels HE-Färbung untersucht, um eventuelle pathologische Veränderungen festzustellen.

Entwässerung und Einbetten der Knochenproben:

Die Aufarbeitung der Knochenproben zu histologischen Präparaten, die nicht mit einem Mikrotom schneidbar sind, wie in diesem Falle die Kaninchenknochen mit Titanplatten und Schrauben, erfolgte mittels des Verfahrens der Kunststoffeinfettung und Trenn-Dünnschliff-Technik (Donath und Breuner, 1982; Dickson, 1984), die die Verarbeitung von unentkalktem Knochen erlaubt. Der Kunststoff, Methylmethacrylat (MMA, Technovit 9100, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland), durchdringt das Gewebe gleichmäßig und polymerisiert durch Wärme und unter Zugabe eines Polymerisationsstarters zu Polymethylmethacrylat, so dass ein homogener schneid- bzw. sägbarer Probenblock entsteht. Durch Zusatz von Weichmachern (Dibutylphtalat) kann der Härtegrad des Polymerisates an die Konsistenz des Knochens angepasst werden. Das ist notwendig, um Brüche und Ablösungen an der Kontaktzone des Kunststoffs zum Knochen bei der Weiterverarbeitung zu verhindern. Vor der Einbettung in MMA ist eine sorgfältige Entwässerung und Entfettung der Proben Bedingung. Die Präparate wurden dazu in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydratisiert und mit Xylolersatz (Histoclear, Shandon, Frankfurt a. M., Deutschland) entfettet, wie in der Tab. 6 abgebildet (Noebel, 2007).

Tabelle 6 – Entwässerung und Entfettung der Knochenproben

Reagenz	Zeit (Tage)
Ethanol 70 %	mind.3*
Ethanol 95 -96 %	3
Ethanol 100 %	2
Ethanol 100%	2
Histoclear®	2
Histoclear®	2

\* die Flüssigkeit ist insbesondere bei Trübungen mehrmals zu wechseln

Nach dieser Prozedur wurden die Proben schrittweise in MMA eingebettet, um eine vollständige Infiltration mit dem Kunststoff zu gewährleisten. Als Einbettformen dienten Gläser mit luftdicht verschließbaren Deckeln. Die Knochenproben mussten stets vollständig mit der Flüssigkeit bedeckt sein.

Die Einbettung wurde nach dem in Tabelle 7 aufgeführten Schema durchgeführt:

Tabelle 7– Einbettung der Knochenproben in MMA

	MMA Lösung	Dibuthylphtalat (Weichmacher)	Benzoylperoxid (Polymerisationsstarter)	Dauer
MMA 1	100 ml			5 Tage
MMA 2	95 ml	5 ml	1 g	3 Tage
MMA 3	95 ml	5 ml	3 g	bis zur Aushärtung

Herstellung von Dünnschliffen:

Aus den eingebetteten Gewebeblöcken wurden mit der Trenn-Dünnschliff-Technik, modifiziert nach Donath und Breuner (1982), Dünnschliffe für die histologische Auswertung hergestellt. Folgende Geräte kamen zum Einsatz:

- Exakt-Trennschleifsystem,
- Exakt-Mikroschleifsystem,
- Exakt-Präzisionsklebepresse (alle EXAKT Apparatebau GmbH, Norderstedt, D).

Zunächst wurden die Proben mit dem Trennschleifsystem, das eine wassergekühlte Diamant-Bandsäge darstellt, in fünf Scheiben von ca. 800µm Dicke gesägt. Diese wurden auf einen Plexiglasobjektträger aufgeklebt und mit dem Mikroschleifsystem (Nassschleifverfahren mit Speziialschleifpapier) auf ca. 70 bis 110µm Dicke geschliffen. Die Oberfläche wurde innerhalb dieses Arbeitsganges anschließend poliert.

### 3.2.5 Färbung für Histomorphometrie: Masson-Goldner

Die Trichromfärbung nach Masson-Goldner eignet sich für die bildanalytische Auswertung histologischer Präparate und wird im Labor für Experimentelle Orthopädie standardmäßig für Untersuchung von Knochenwachstum und -verteilung verwendet, da sie weitgehend untersucherunabhängige, objektive und quantitative Ergebnisse liefert. Diese Färbemethode erlaubt eine gute Differenzierung unverkalkter Knochenmatrix und Weichgewebe gegenüber der mineralisierten Knochensubstanz. Tabelle 8 fasst die Farben der entsprechenden Strukturen zusammen.

Tabelle 8 – Darstellung der zellulären und extrazellulären Strukturen bei der Masson-Trichrom-Goldner-Färbung (Romeis, 1989).

Färbung	Zytoplasma	Erythrozyten	Osteoid/ Bindegewebe	mineralisierter Knochen	verkalkte Knorpelmatrix
Masson - Trichrom- Goldner	rötlichbraun	orange	rotorange	grün	hellgrün

### 3.2.6 Giemsa-Färbung

Zur qualitativen Beurteilung der Gewebestrukturen wurde die Oberflächenfärbung nach Giemsa (Romeis, 1989) gewählt. Der Farbkontrast zwischen Zellen und der Interzellularsubstanz ist auch im Hartgewebe eindeutig und wird deshalb für die qualitative histologische Beurteilung der Präparate genutzt. Tabelle 9 benennt die farbliche Darstellung der jeweiligen Gewebsstrukturen.

Tabelle 9: Darstellung der zellulären und extrazellulären Strukturen bei der Giemsa-Färbung

Färbung	Osteoblasten	Osteoklasten/ Knochen	Osteoid/ Bindegewebe	Alter Knochen	Neu gebildete Knochen
Giemsa	blau	blau	blassblau	zartrosa	rosa



### 3.2.7 Hämatoxylin-Eosin-Färbung der Knochenproben

Zur besseren Untersuchung und Beurteilung der Gewebe und Zellstrukturen bei der lichtmikroskopischen Auswertung wurden die einzelnen Schnittpräparate mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Die HE-Färbung (Hämatoxylin-Eosin-Färbung) stellt die Routinefärbung der Wahl für Entzündungsprozesse dar. Bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung handelte es sich um eine histologische Übersichtsfärbung, bei der die Kerne blau und das Bindegewebe rosa dargestellt werden.

Die in Paraffin eingebetteten Knochenproben wurden in einer Stärke von 5 µm mit dem Mikrotom geschnitten und auf einen Objektträger mit verdünntem Eiweißglycerin aufgezogen und anschließend bei 37 Grad Celsius getrocknet. Als Materialien kamen Farbküvetten und folgende Reagenzien zum Einsatz: Hämatoxylin nach Mayer, Eosin, eine Alkoholreihe, Carbolxylol, Xylol und Depex.

Das Xylol zu Beginn sorgte für die Entparaffinierung. Die mehrstufige Alkoholreihe war für die gewebeschonende Entwässerung zuständig. Um die Kerne anzufärben, wurde Hämatoxylin nach Mayer angewendet, für die Plasmafärbung Eosin.

Zur Differenzierung wurde eine zweite Alkoholreihe bis zur vollständigen Schlierenfreiheit jeweils kurz angewendet.

Die Schnittpräparate wurden auf den Glasträgern mit Kaiser-Glycerin (Merck GmbH, Darmstadt, Deutschland) fixiert. Dieser thermoplastische, bei Raumtemperatur harte Stoff wurde zunächst durch Einbringen der Flasche in ein heißes Wasserbad verflüssigt. Dann wurde eine geringe Menge der klaren, mittel-viskosen Flüssigkeit mit einer Pipette mittig auf den Objektträger aufgebracht. Anschließend wurde das gefärbte Schliffpräparat darauf gelegt und leicht angedrückt. Auch die Präparatoberfläche wurde mit Kaiser-Glycerin bedeckt und der gläserne Trägerdeckel unter leichten Druck aufgebracht. Nach Entfernen der seitlichen Überschüsse erstarrte das Kaiser-Glycerin wieder, und die Präparate konnten lichtmikroskopisch betrachtet und untersucht werden.

### 3.2.8. Lichtmikroskopie

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen wurden an einem Forschungsmikroskop (Typ Vanox AH3) der Firma Olympus (Olympus Deutschland GmbH, Hamburg) durchgeführt. Die mittlere Vergrößerung während der histologischen Beurteilung der Dünnschliffe lag dabei bei 1: 300.

Diese Vergrößerungen errechnen sich aus folgenden Faktoren:

- Objektiv = 10 – 40
- Fluoreszenzblock = 1,25
- Okular = 10

### 3.2.9 Histomorphometrie

Die Histomorphometrie ermöglicht die Messung von zwei- und dreidimensionalen Strukturen sowie quantitative Beurteilung histologischer Knochenpräparate. Diese Technik kann Informationen liefern, die andere Messverfahren, wie die Knochendichtemessung oder biologische Marker des Knochenbaus nicht erbringen. Insbesondere hat man ein zu großen Teilen objektives Verfahren der Knochenstrukturanalyse zur Hand. Die Analysen wurden mittels eines vollautomatischen Bildanalyse-Systems KS 300 (Carl Zeiss Vision GmbH, Jena, Deutschland) durchgeführt. Mikroskopische Bilder der Schliffpräparate wurden über einen Videoaufsatz an einem Lichtmikroskop (Typ Axioplan, Carl Zeiss Vision GmbH, Jena, Deutschland) digitalisiert. Über den HLS Modus, der im System zur Verfügung steht, war es möglich, eine digitale Kopie zu erzeugen, die dem tatsächlich sichtbaren Bild qualitativ nahe kommt. Das ursprüngliche Farbbild (Echtfarbmodus RGB) wird im HLS Modus in drei Grauwertbilder mit jeweils 24 Bit Farbtiefe zerlegt. Farbintensität und Farbsättigung können dabei zusätzlich getrennt geregelt werden. Somit wird die Farbanpassung für die Bildverarbeitung besser möglich.

Eine 100-fache Vergrößerung wurde gewählt um die histologischen Strukturen darzustellen. Der gesamte Defekt wurde durch Einzelbilder zu einem Gesamtbild zusammengesetzt um den gesamten Umfang zu berücksichtigen.

Ein Lichtmikroskop wurde an dem KS 300 steuerbaren Scanningtisch angeschlossen (Merzhäuser, Wetzlar, Deutschland), um diese Bilderstellung zu realisieren. Nach Zentrierung des Präparates auf dem Scanningtisch konnte die Bilderstellung erfolgen. Das Gesamtbild entstand aus 48 zusammengeführten Einzelbildern, was einem Ausgabebild von 2238 × 2240 Pixeln entsprach.

Mit der Unterstützung der Firma Carl Zeiss Vision GmbH wurde ein speziell an die Präparate angepasstes Makro erstellt. Einzelne Segmentierungsschritte ermöglichten, verschiedene Strukturen zu trennen. Kriterium für deren Zuordnung war die jeweilige

Farbe im sichtbaren Bild, die im Falle des Gewebes durch die Masson-Goldner-Färbung bestimmt wird. Bestimmte Grauwerte werden den jeweiligen Komponenten (Knochen, Osteoid) zugeordnet. Eine bestimmte Klasse wird dann durch ein grafisches *Overlay* gekennzeichnet, das heißt, einem bestimmten Bereich von Grauwerten wird eine Falschfarbe zugeordnet. Der Untersucher kann dieses Verfahren als interaktiven Kontrollmechanismus nutzen. Er ist somit in der Lage, die exakte Erfassung relevanter Strukturen zu kontrollieren und Artefakte aus der Messung auszuschließen. Aus der Segmentierung wird ein Binärbild der jeweiligen Struktur erzeugt und durch binäre Bildoperationen korrigiert. Durch die Software sind die Messbedingungen vorgegeben, so dass diese für alle untersuchten Präparate identisch sind (Noebel, 2007).

Die Parameter werden durch Falschfarben vom Untersucher festgelegt. Nacheinander werden Osteoid und Knochen markiert. Bestimmt wird die sogenannte ROI (*Region of Interest*) mit dem Osteotomiespalt im Zentrum. Innerhalb dieser Messzone werden die morphometrischen Daten erhoben (Abb. 17).

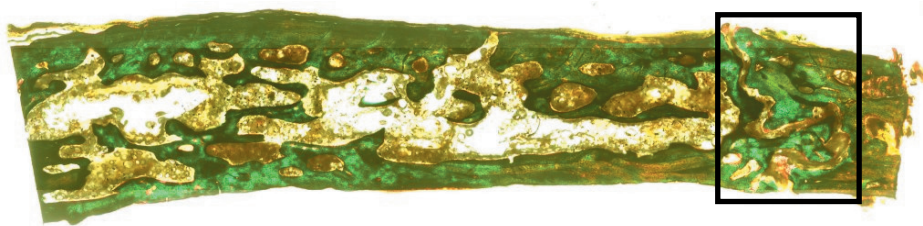


Abbildung 17 – Histologischer Schnitt mit ROI (*region of interest*) als Viereck abgebildet

Knochenneubildung und Knochenreifung wurden nach folgenden internationalen Parametern charakterisiert (Parfitt, 1988):

1. TBV (*trabecular bone volumen*) =  $BV/TV$  in %: Der Anteil mineralisierter Knochen- substanz innerhalb des Messfeldes (ROI).

Der Parameter für die Knochendichte im Frakturspalt dient der Bestimmung des trabe- kulären Knochenvolumens und ist der maßgeblichste Parameter bei der Knochenhisto- morphometrie.

2. Osteoid/Os in %: Dieser Parameter charakterisiert den prozentuellen Anteil an Osteoid im Vergleich zu mineralisierter Knochensubstanz innerhalb der interessierenden Region (ROI) und wird ins Verhältnis zum Knochenvolumen (mineralisierter Knochensubstanz) innerhalb des Messfeldes gesetzt. Auf diese Weise kann der Mineralisierungsgrad und die Reifung des Knochens ausgewertet werden. Hier gilt: Je höher der Anteil Osteoid, desto niedriger ist der Mineralisierungsgrad.

### 3.2.10 Statistik

Das Datenverarbeitungsprogramm SPSS für Windows 12 (SPSS Deutschland GmbH, München) wurde auserwählt zur graphischen Darstellung und statistischen Aufarbeitung der histomorphometrisch gewonnenen Ergebnisse. Die Werte der Messwiederholungen gingen gemittelt in die statistische Auswertung ein nachdem Sie dreimal vom gleichen Untersucher gemessen wurden. Grundlage der Berechnung stellten Verhältnisgrößen dar, die ohne Berücksichtigung von Maßeinheiten bestimmt wurden. Die einzelnen Parameter zweier unterschiedlicher Osteosynthesematerialien wurden im zeitlichen Kontext miteinander verglichen.

Folgende Voraussetzungen gelten: Die Stichproben sind unabhängig voneinander, und eine Normalverteilung liegt aufgrund des geringen Stichprobenumfangs nicht vor. Geprüft werden sollte die zentrale Tendenz der Unterschiede zwischen den drei Osteosyntheseverfahren innerhalb eines Zeitraums (Sachs, 1992; Jansen und Laatz, 2003). Unter diesen Bedingungen wurde der *Oneway*-ANOVA-Test für den Vergleich der Mittelwerte herangezogen. Das Signifikanzniveau wird auf  $p \leq 0,05$  festgelegt. Der Post-Hoc-Bonferoni-Test als schärferes Kriterium wurde zusätzlich durchgeführt. Die deskriptive Statistik mit erhobenen Mittelwerten wurde ebenfalls erfasst.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Klinische und makroskopische Untersuchungen

Während des Untersuchungszeitraumes und vor der Operation wurden die Tiere regelmäßig untersucht. Dehiszenzen und Wundinfektionen sind nicht beobachtet worden (Abb. 18 und 19). Alle Wunden heilten primär. Sie wurden bei normaler Käfigaktivität gehalten und haben nach der Operation bis zur Opferung durchschnittlich 1 kg an Körpergewicht zugenommen.



Abbildung 18 – New Zealand White Rabbit vor der Operation



Abbildung 19 – Identisches Tier 4 Wochen nach Operation zeigt eine reizlose Narbe

Zum Zeitpunkt der Operation erfolgte vor der Probenentnahme eine makroskopische Inspektion des Operationsgebietes. In keinem Fall konnten Veränderungen der umliegenden Gewebe, Infektionszeichen oder Knochenresorptionen gefunden werden. Sämtliche Proben sind nach der Entnahme fotografisch dokumentiert worden (Abb. 20 – 25). Auf der Innenseite der Schädelkalotte wurden keine Veränderungen der Dura mater oder des anliegenden Hirngewebes festgestellt. Die Abbildungen 20 und 21 zeigen den gleichen Schädelkalottenausschnitt nach 8 Wochen von außen und von innen, in dem zwei kreisrunde Knochenfragmente durch Histoacrylkleber bzw. durch Excite fixiert waren. Obwohl deutliche Überschüsse des Acrylats (Abb. 21 – hier durch einen weißen Pfeil gekennzeichnet) an der Kalotteninnenseite hervortreten, konnten makroskopisch keine Veränderungen in diesem Bereich gefunden werden.



Abbildung 20 – Histoacryl (links) und Excite (rechts) nach 8 Wochen. Außenseite der Kaninchenkalotte.

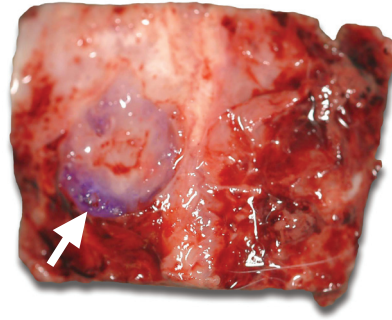


Abbildung 21 – Histoacryl (links) und Excite (rechts) nach 8 Wochen. Innenseite der Kaninchenkalotte. Weißer Pfeil zeigt den Acrylatüberschuss.

Die Abbildungen 22 und 23 zeigen eine Probe der Excite/Titan-Gruppe acht Wochen postoperativ. Durch beide Verfahren konnte hier ein gutes Wundheilungsergebnis erreicht werden, welches den klinischen Aspekt des Kaninchens vor der Operation bestätigte. Auf der Innenseite perforierten die Titanschrauben die Kalotte (schwarzer Pfeil Abb. 23).



Abbildung 22 – Excite (links) und Titanium (rechts) nach 8 Wochen. Außenseite der Kaninchenkalotte

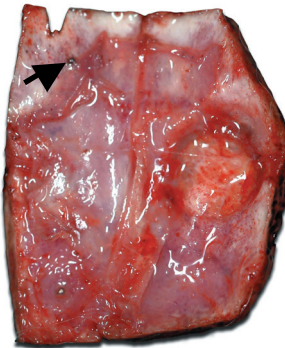


Abbildung 23 – Excite (rechts) und Titanium (links) nach 8 Wochen. Innenseite der Kaninchenkalotte. Schwarzer Pfeil zeigt die Perforation.

In einer anderen Gruppe erfolgte die Fixation der Knochendeckel mittels Titanplatten im Vergleich zu Histoacryl (Abb. 24 und 25). Auf dieser Probe ist ein deutlicher Überschuss des Histoacryls auf der Außenseite sichtbar (weißer Pfeil Abb. 24). Die Titanschrauben perforierten ebenfalls die innere Kortikalis, es konnte jedoch makroskopisch keinen negativen Effekt beobachtet werden (Abb. 25).





Abbildung 24 – Titanium (links) und Histoacryl (rechts) nach 8 Wochen. Außenseite der Kaninchenkalotte. Weisser Pfeil zeigt den Acrylatüberschuss.

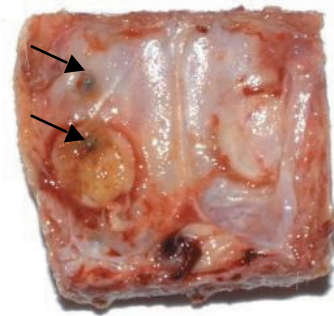


Abbildung 25 – Titanium (links) und Histoacryl (rechts) nach 8 Wochen. Innenseite der Kaninchenkalotte. Schwarzer Pfeil zeigt die Perforation der Titanschrauben.

Auf dem intraoperativen Foto (Abb. 26) vor Präparatentnahme können die fixierten Knochendeckel *in vivo* betrachtet werden. Die Wundheilung im Skalpbereich war zu diesem Zeitpunkt bereits vollständig abgeschlossen. Die Weichgewebe wie Muskel, Periost und Hautorgan zeigen keine Auffälligkeiten. Nach Entnahme der Knochenproben wurde makroskopisch in keinem Fall eine Auffälligkeit im Durabereich gefunden.

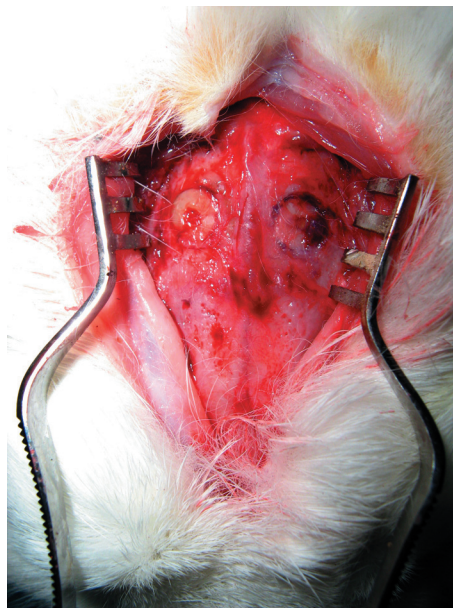


Abbildung 26 – Excite (links) und Histoacryl (rechts) nach 8 Wochen. Intraoperatives Bild vor Entfernung der Knochenprobe aus der Kaninchenkalotte.



## 4.2 Röntgenologische Ergebnisse

Die radiologische Untersuchung erfolgte direkt nach der Knochenprobenentnahme. Die Ergebnisse stimmen mit den klinisch und makroskopisch angeführten Beobachtungen überein. Es folgt ein Überblick der radiologischen Ergebnisse für jeden Untersuchungszeitraum (Abb. 27 – 32).

Im direkten Vergleich zeigt sich ein röntgenologisch vergleichbarer Heilungsprozess für alle Fixationsmethoden mit einem geringen Vorteil der Adhäsiv-Gruppen gegenüber der Titangruppe.

Die Abbildungen 27 und 28 zeigen zunächst die beginnende Gewebeauffüllung der Osteotomielinien nach 4 Wochen postoperativ ohne osteolytische Begleitreaktionen des umliegenden Knochens.

Nach 12 Wochen konnte im Röntgenbild eine nahezu identische Durchstrahlung der Osteotomielinien, Knochendeckel und umliegenden Knochengewebe bestätigt werden (Abb. 32).

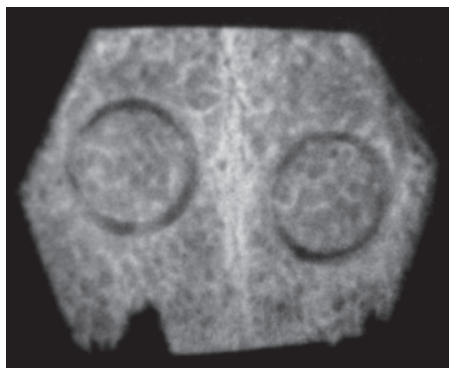


Abbildung 27 – Gruppe Excite (links) und Histoacryl (rechts) nach 4 Wochen.

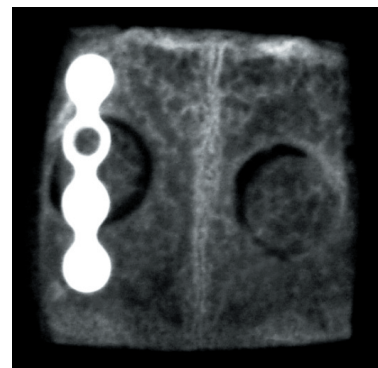


Abbildung 28 – Gruppe Titan (links) und Excite (rechts) nach 4 Wochen.

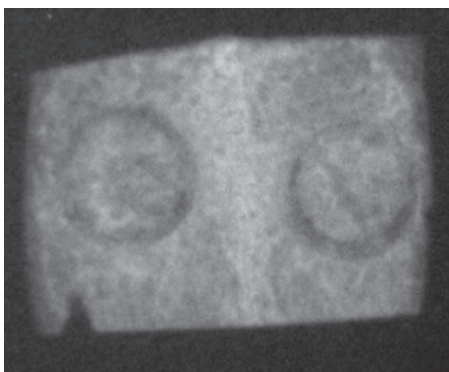


Abbildung 29 – Gruppe Excite (links) und Histoacryl (rechts) nach 8 Wochen.

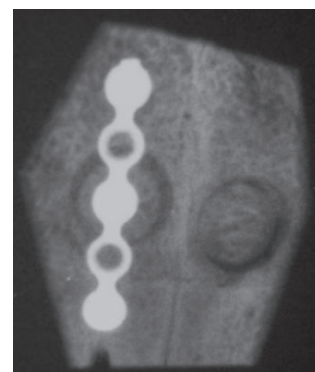


Abbildung 30 – Gruppe Titan (links) und Excite (rechts) nach 8 Wochen.

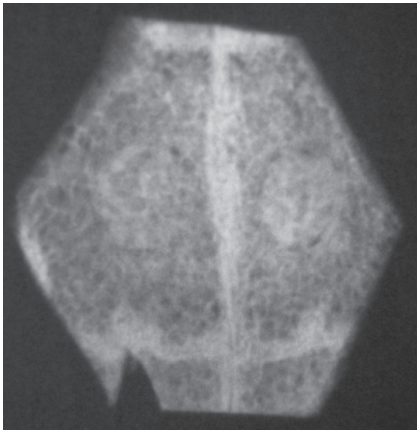


Abbildung 31 – Gruppe Excite (links) und Histoacryl (rechts) nach 12 Wochen

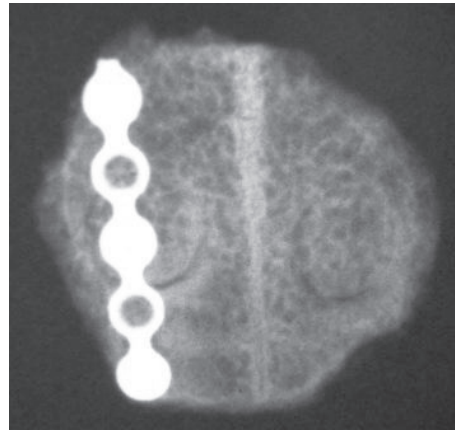


Abbildung 32 – Gruppe Titan (links) und Excite (rechts) nach 12 Wochen

In zwei Fällen musste eine Auflösungsreaktion des Knochens im Sinne einer Osteolyse beobachtet werden, in einer Probe nach Pelletfixation durch Histoacryl (Abb. 33–34) und in einer anderen Probe nach Fixation durch Titanplatte und -schraube (Abb. 35). Obwohl in beiden Fällen eine Resorption von Knochen im Osteotomiebereich gefunden wurde, konnte keine weitere negative Reaktion, weder Wundheilungsstörung, noch Entzündung, festgestellt werden. Die Knochenresorption war somit nur im Röntgenbild sichtbar.

Die Abbildung 33 zeigt den rechten Knochendeckel durch Histoacryl fixiert. Diese Knochenproben sind nach 8 Wochen entnommen. Auf dem Röntgenbild wird die Ausdehnung der Resorptionszone deutlich (weißer Pfeil Abb. 34). In der klinischen Untersuchung wurde keine Mobilität des Fragmentes festgestellt.



Abbildung 33 – Klinisches Bild von Knochenprobe. Gruppe Titan (links) und Histoacryl (rechts) nach 8 Wochen. Weißer Pfeil zeigt die Osteolysestelle.

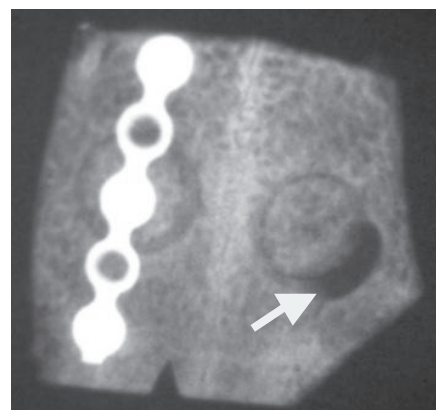


Abbildung 34 – Röntgen von Knochenprobe. Gruppe Titan (links) und Histoacryl (rechts) nach 8 Wochen. Weißer Pfeil zeigt die Osteolysestelle.

Im anderen Fall wurde eine Resorption an einem durch Titanplatte fixierten Knochen-  
deckel beobachtet (weißer Pfeil Abb. 35). Auch hier wurden keine weitere Fremd-  
körperreaktionen oder Entzündungszeichen beobachtet. Die Platte sowie Schrauben und  
Knochendeckel selbst waren ebenfalls klinisch fest und stabil.

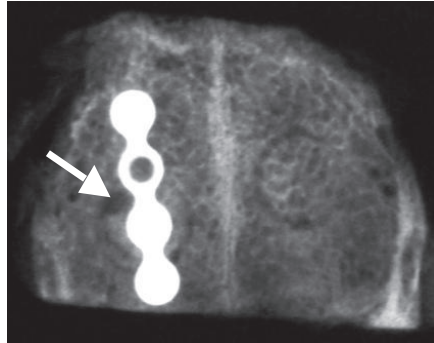


Abbildung 35 – Röntgen von Knochenprobe. Gruppe Titan (links) und Histoacryl (rechts)  
nach 4 Wochen. Weißer Pfeil zeigt die Osteolysestelle.

## 4.3 Histologische Ergebnisse

### 4.3.1 Hämatoxylin- und Eosin-Färbung

Die Knochenproben wurden mittels Hämatoxylin und Eosin (HE) gefärbt und aus-  
gewertet. Diese Färbung dient zur Darstellung entzündlicher Zellen im Untersuchungs-  
bereich.

Zum Ausschluss einer möglichen systemisch-toxischen Wirkung der Einzelkomponenten  
erfolgte eine zusätzliche histologische Untersuchung der Leber- und Nierengewebe mit-  
tels HE-Färbung. Sowohl klinisch als auch im histologischen Bild konnten keine Auffäl-  
ligkeiten gefunden werden.

In den Leber- und Nierenpräparaten zeigte sich die normale physiologische Architektur  
(Abb. 36 und 37).

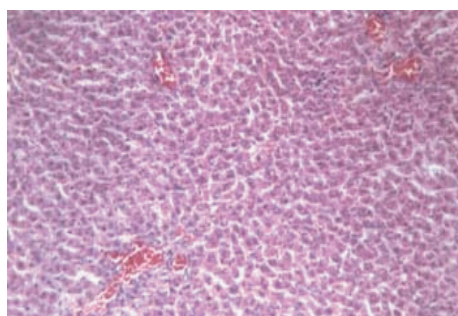


Abbildung 36 – HE-Färbung von Leberprobe von Histoacryl Gruppe nach 12 Wochen  
(300-fache Vergrößerung)

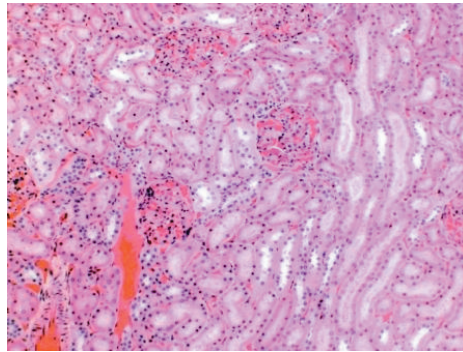


Abbildung 37– HE-Färbung von Nierenprobe von Histoacryl Gruppe nach 12 Wochen (300-fache Vergrößerung)

In den untersuchten Knochenproben konnten keine auffälligen pathologischen Veränderungen zu den verschiedenen Zeitpunkten und kein verstärktes Vorkommen inflammatorischer Zellen gefunden werden (Abb. 38).

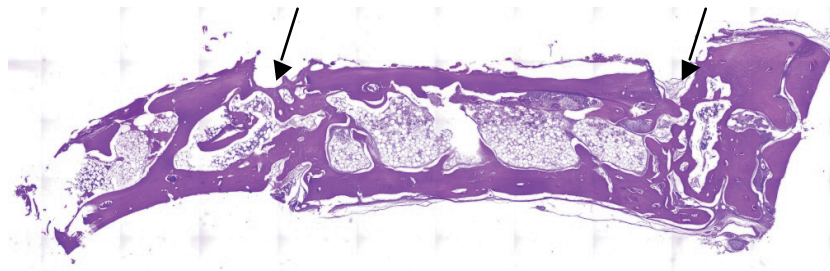


Abbildung 38 – Das Bild demonstriert die HE-Färbung bei einer Knochenprobe aus der Gruppe Excite 12 Wochen nach Osteotomie. Die Pfeile weisen auf die ehemaligen Osteotomiespalte und jetzige *region of interest* (ROI) hin.

#### 4.3.2 Giemsa-Färbung:

Diese Färbung wurde zur qualitativen Beurteilung der Knochenheilung durchgeführt. Durch diese Methode ist es möglich, Zellen, Interzellulärsubstanz und Hartgewebe auf den Schnitten im Osteotomiebereich zwischen Schädelknochen und Knochenpellet zu unterscheiden und eventuelle zelluläre Reaktionen zu beobachten. In allen drei Studiengruppen ist eine vergleichbare knöcherne Einheilung ohne signifikanten Unterschied beobachtet worden.

In den Abbildungen 39 und 40 sind die Regenerationszonen im Osteotomiebereich bei der Klebgruppe und der Titangruppe dargestellt. Die Adhäsive scheinen keine Sperrschicht bezüglich einer Gewebeeinsprossung zur Defektüberbrückung zu bilden.



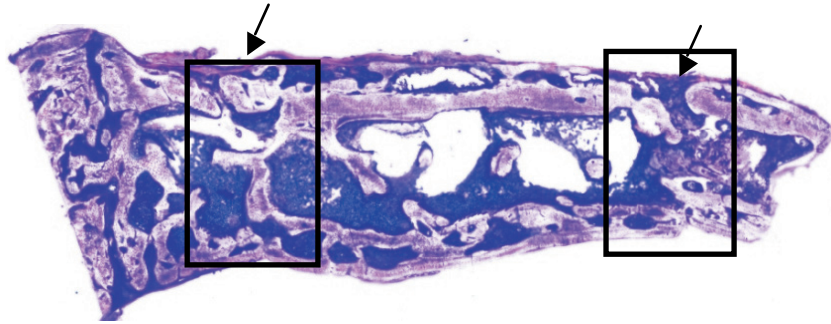


Abbildung 39 – Giemsa-Färbung der Histoacryl-Gruppe nach 12 Wochen (300-fache Vergrößerung). Die Pfeile weisen auf den ehemaligen Osteotomiespalten hin. Die Vierecke beinhalten die *region of interest* (ROI).

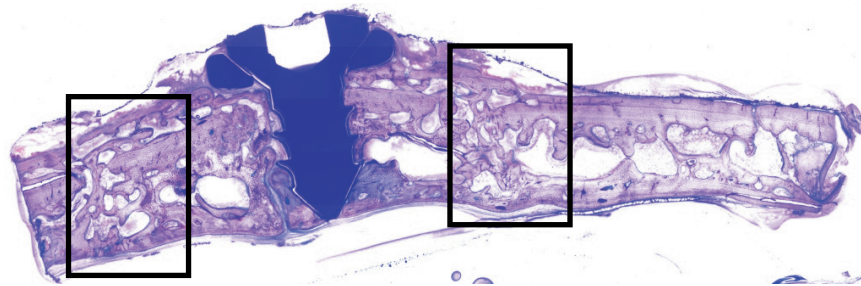


Abbildung 40 – Giemsa-Färbung der Titan-Gruppe nach 12 Wochen (300-fache Vergrößerung). Vierecke zeigen die interessierende Regionen (ROI)

#### 4.3.3 Masson-Trichrom-Goldner-Färbung

Durch diese Methode ist es möglich, eine histomorphometrische Analyse durchzuführen, bei der nicht nur der neu gebildete Knochen im Osteotomiebereich, sondern auch die Knochenformation und der Grad der Mineralisation beurteilt werden kann. Abbildung 41 zeigt eine ausgezeichnete Knochenheilung bei der Excite-Gruppe nach 12 Wochen.



Abbildung 41 – Trichrom-Masson-Goldner-Färbung von Excite-Gruppe 12 Wochen postoperativ (300-fache Vergrößerung). Das Viereck zeigt die interessierende Region (ROI) in der ehem. Osteotomiestelle.

In Abbildung 42 wird deutlich, dass der Acrylatüberschuss an der Knochenoberfläche bis zum Untersuchungszeitpunkt bestehen bleibt (schwarzer Pfeile), aber die knöchernen Regeneration nicht negativ beeinflusst war.

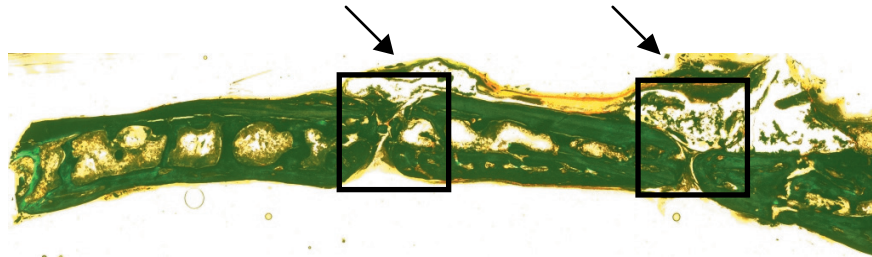


Abbildung 42 – Trichrom-Masson-Goldner-Färbung von Histoacryl-Gruppe 8 Wochen postoperativ (300-fache Vergrößerung). Die Vierecke zeigen die Osteotomiestellen und ROI. Die schwarzen Pfeile weisen auf die Acrylatüberschüsse an beide Osteotomiestellen hin.

Die Abbildung 43 zeigt eine Probe aus der Titangruppe 8 Wochen postoperativ. Die Knochenheilung ist erneut vergleichbar mit den Klebgruppen.

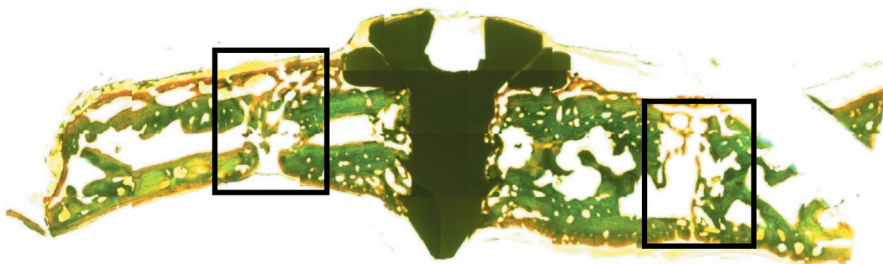


Abbildung 43 – Trichrom-Masson-Goldner-Färbung von Titan-Gruppe nach 8 Wochen (300-fache Vergrößerung). Die Vierecke zeigen die interessierende Region (ROI)

## 4.4 Histomorphometrie

### 4.4.1. Knochenaufbau: BV/TV in %

In der Abbildung 44 ist die prozentuale Knochenneubildung (Osteogenese) im Osteotomiebereich 4 Wochen postoperativ zu sehen. Durch statistische Analyse mit dem *Oneway*-ANOVA-Test und dem Post-Hoc-Bonferoni-Test ist ein signifikanter Unterschied zwischen der Excite-, Histoacryl- und der Titangruppe bzw. der Kontrolle zugunsten der Adhäsive zu verzeichnen ( $p < 0,05$ ). Die Analyse zwischen der Excite-Gruppe und der Titan-Kontrollgruppe zeigte eine höhere Signifikanz als zwischen Histoacryl und Titan. Auch zwischen den beiden Adhäsivgruppen konnte ein statistisch signifikanter Unterschied gefunden werden ( $p < 0,05$ ), wobei Excite bessere Ergebnisse präsentierte (siehe Tab. 11 und 12 in Tabellenanhang).

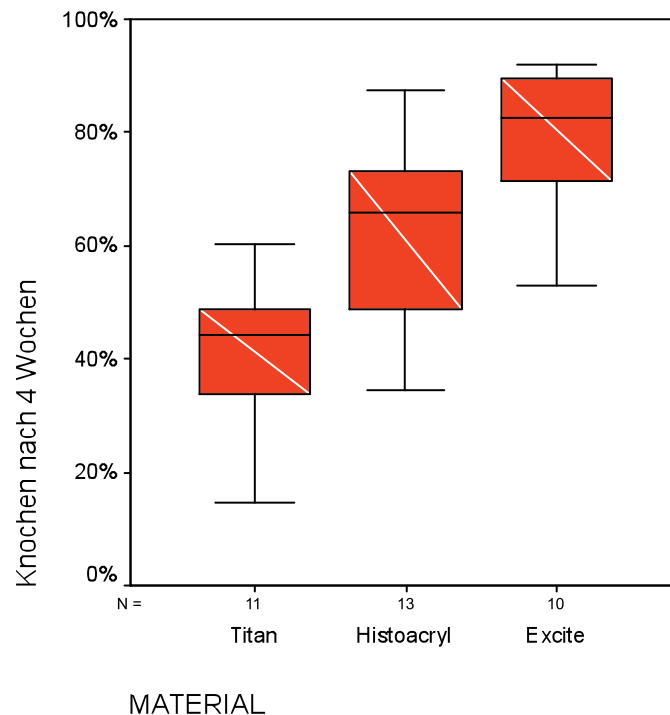


Abbildung 44 – Knochenneubildung nach 4 Wochen unter Verwendung unterschiedlicher Haftsysteme. Die Titangruppe gilt als Kontrolle.



In der Abbildung 45 ist die Knochenneubildung nach 8 Wochen postoperativ dargestellt. In der statistischen Analyse ist ein signifikanter Unterschied zugunsten der Adhäsivgruppen im Vergleich zu der Titangruppe festzustellen ( $p < 0,05$ ). Zwischen den Adhäsiven ist kein signifikanter Unterschied mehr nachweisbar (siehe Tab. 11 und 12 in Tabellenanhang).

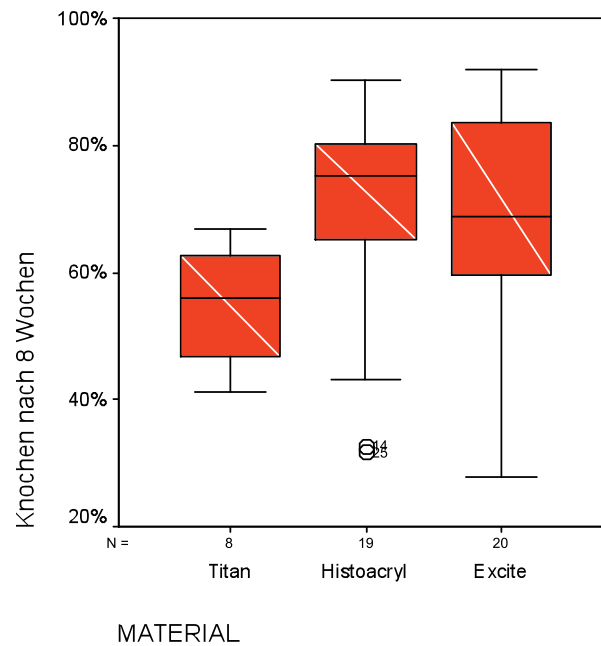


Abbildung 45- Knochenneubildung nach 8 Wochen unter Verwendung unterschiedlicher Haftsysteme. Die Titangruppe gilt als Kontrolle.

Im Beobachtungszeitraum nach 12 Wochen ist in der Abbildung 46 eine ausgeglichene Knochenneubildung bei allen drei Systemen (Excite, Hystoacryl und Titan) sichtbar, jedoch zeigt die mathematische Analyse einen signifikanten Unterschied zwischen Histoacryl- und Titanversorgung der Defekte zugunsten des Cyanoacrylats (siehe Tab. 11 und 12 in Tabellenanhang).

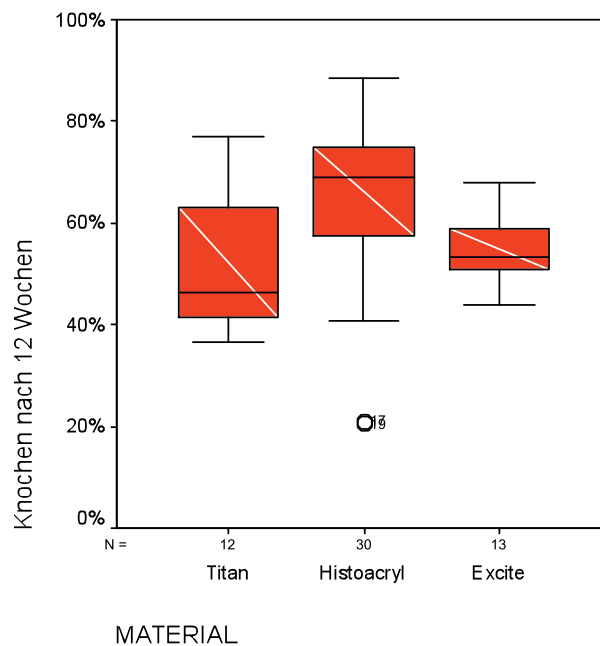


Abbildung 46 – Knochenneubildung nach 12 Wochen unter Verwendung unterschiedlicher Haftsysteme. Die Titangruppe gilt als Kontrolle.

Die Tabellen 11 bis 13 zeigen die Werte der unterschiedlichen Tests dargestellt, die zur Analyse der Unterschiede durchgeführt wurden (siehe Tabellenanhang).

In die Tabelle 13 sind die absoluten Messwerte und die Mittelwerte der Untersuchungsregion (*Region of interest* = ROI) dargestellt.

#### 4.4.2 Osteoid-Mineralisation: Osteoid/Os in % (Mineralisationsgrad)

Die Abbildung 47 zeigt eine vergleichbare Mineralisation in allen drei Gruppen nach 4 Wochen Verweildauer.

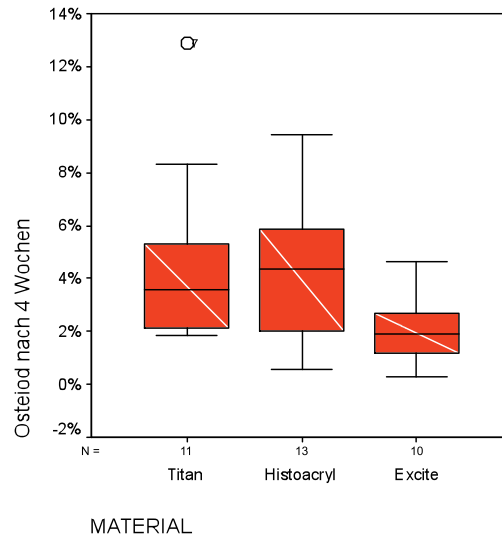


Abbildung 47 – Osteoid-Mineralisation nach 4 Wochen unter Verwendung unterschiedlicher Haftsysteeme. Die Titangruppe gilt als Kontrolle.

Die Daten in Abbildung 48 zeigen nach 8 Wochen einen statistisch signifikanten Unterschied der Mineralisation zwischen den Titan- und beiden Adhäsivgruppen ( $p < 0,05$  – siehe Tab. 14 und 15 in Tabellenanhang). Zwar ist in der Titan Gruppe der Anteil an Osteoid grösser, dies ist aber gleichbedeutend mit einer geringeren Mineralisation in Vergleich zu Histoacryl und Excite.

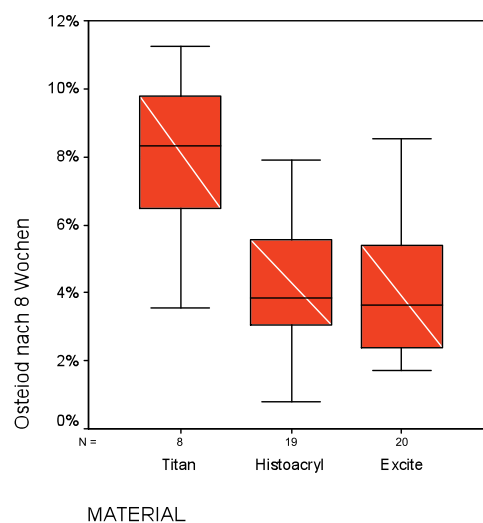


Abbildung 48 – Osteoid-Mineralisation nach 8 Wochen unter Verwendung unterschiedlicher Haftsysteeme. Die Titangruppe gilt als Kontrolle.

Abbildung 49 zeigt eine ausgewogene Knochenreifung in allen Gruppen.

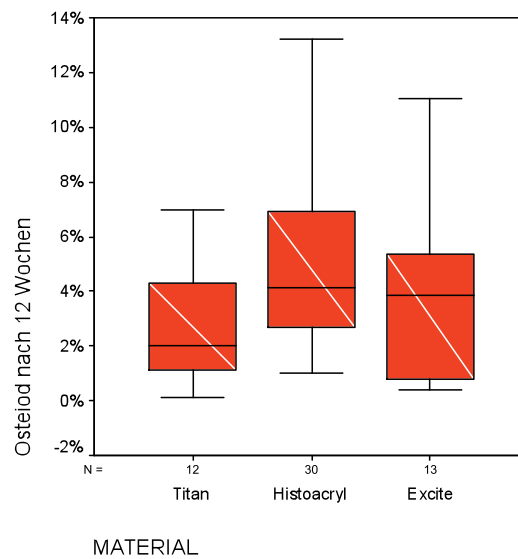


Abbildung 49 – Osteoid-Mineralisation nach 12 Wochen unter Verwendung unterschiedlicher Haftsysteme. Die Titangruppe gilt als Kontrolle.

Die Tabellen 14 bis 16 zeigen die Werte der unterschiedlichen Tests dargestellt, die zur Analyse der Unterschiede durchgeführt wurden (siehe Tabellenanhang).

Tabelle 14 stellt die *Oneway*-ANOVA Untersuchung dar; Tabelle 15 zeigt den Post-Hoc-Test mit den Ergebnissen der Bonferoni-Korrektur und Tabelle 16 stellt die absoluten und Mittelwerte der Osteoidmessung in der interessierenden Region (ROI) dar.

Nach 4 Wochen Beobachtungszeit kann kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen gefunden werden. Nach 8 Wochen zeigt sich ein signifikanter Unterschied zugunsten der Adhäsiven gegenüber einer Verwendung von Titangruppe. Zwischen den Adhäsiven kann kein signifikanter Unterschied gefunden werden. Im Zeitraum nach 12 Wochen kann kein Unterschied mehr zwischen den Untersuchungsgruppen gefunden werden (Tab. 14 und 15 in Tabellenanhang).

## 5. Diskussion

Titan-Osteosynthesesysteme zeigen gute Biokompatibilität und hohe Stabilität und sind aus diesem Grund der Standard für Frakturbehandlung und Umstellungsosteotomien in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie. Allerdings bleiben bis zum heutigen Zeitpunkt einige Probleme beim Gebrauch der rigiden Fixation ungelöst. Hier sind entzündliche Reaktionen, Wachstumsstörungen und durchwandernde Schrauben im sich entwickelnden Schädel, Kortikalisresorptionen auf Grund des *stress shielding* und periimplantäre Fremdkörperdislokationen sowie Extrusionen durch dünne Haut und Artefakte im CT oder in MRT-Bildern (Kennady, Tucker et al., 1989; Rosenberg, Gratz et al., 1993) zu nennen.

Schliephake et al. konnten tierexperimentell die Dislokation von Titanpartikeln in das periimplantäre Gewebe, in die Lunge und in die lokoregionären Lymphknoten nachweisen (Schliephake, Lehmann et al., 1993).

Nach dem Herstellungsprozess befinden sich Metallpartikel auf den Oberflächen der Miniplatten. Es besteht dadurch das Risiko, dass Anteile davon während der Osteosynthese in das umliegende Gewebe eingebracht werden (Ray, Matthew et al., 1998). Zusätzlich kann das Bohren von Schraubenlöchern zu einer Schädigung von anatomischen Nachbarstrukturen führen (Meechan, McCabe et al., 1994). Gerade bei der Betrachtung dünner Knochenstrukturen, wie sie im Mittelgesicht gefunden werden, gelingt das Eindrehen von Schrauben nicht immer in einer adäquaten Weise, so dass häufig keine ausreichende Stabilität erreicht wird (Perry und Youngson, 1995).

Aus oben genannten Gründen sind seit den dreißiger Jahren des vergangenen Jahrhunderts viele Adhäsive, wie z. B. Kollagen oder Epoxide, Acrylate u.a. zur Verwendung in der Traumatologie und der Orthopädie untersucht worden. Aufgrund der negativen Beeinflussung der Heilungsprozesse von Infektionen und allergischen Reaktionen sind viele Präparate nie in der klinischen Versorgung eingesetzt worden (Gosain, 2002). Als einziges synthetisches Biomaterial findet acrylhaltiger Knochenzement (PMMA) in der orthopädischen Endoprothetik eine nachweislich positive Anwendung (Lewis, 1997).

Viele unterschiedliche Arbeitsgruppen haben in den letzten 2 Jahrzehnten ihre Untersuchungen auf die Vereinfachung und schonende Versorgung von Frakturen mittels

bioresorbierbarer Knochenklebungen als Alternative zu den klassischen osteosynthetischen Verfahren fokussiert (Mehta, Shah et al., 1987; Meechan, McCabe et al., 1994; Ahn, Sims et al., 1997; Kim, 1997; Gosain, Song et al., 1998; Shermak, Wong et al., 1998; Bekes, 2003; Heiss, Hahn et al., 2004; Maurer, Bekes et al., 2004a; Dadas, Alkan et al., 2007).

Ein Knochenkleber bietet u. a. auch den Vorteil, dass der zweite stationäre Aufenthalt zur Entfernung des Osteosynthesematerials, wie heute in Deutschland üblich, entfällt. Neben einem höheren Patientenkomfort würde dies eine deutliche Senkung der Behandlungskosten mit sich bringen.

Vom Gesichtspunkt des Operateurs wäre es zudem möglich, kleine Knochenfragmente oder osteoporotische Knochenanteile ohne zusätzliche Schädigung zu versorgen. Idealerweise bliebe nach der Degradation des Knochenklebers kein Fremdmaterial im Körper. Bisher konnte experimentell jedoch kein Knochenkleber gefunden werden, der eine echte Alternative zu klassischen osteosynthetischen Verfahren darstellt, da alle verwendeten Kleber entweder nicht genügend Adhäsionskräfte oder keine ausreichende Biokompatibilität besaßen (Heiss, Kraus et al., 2006).

Die Vor- und Nachteile neuer bzw. neu entwickelter Klebstoffe für eine Verwendung als Osteosynthesematerial werden generell *in vitro* getestet. In diesem Zusammenhang erfolgen bei experimentellen Untersuchungen des Knochenwachstums und der Struktur häufig histomorphometrische Analysen.

Die Tatsache, dass *in-vitro*-Methoden auf molekularer und zellulärer Ebene den Organismus als hochkomplexes System nicht in seiner Gesamtheit ersetzen können, begründet die Akzeptanz tierexperimenteller Studien zur Untersuchung spezifischer medizinischer Fragestellungen bei fehlender Verfügbarkeit alternativer Modelle (Higgins, 2001).

Die Übertragbarkeit von Ergebnissen, die an Kaninchen gewonnen wurden, auf größere Spezies bzw. den Menschen ist möglich. Es ist jedoch davon auszugehen, dass das Knochengewebe kleinerer Tiere durch deren höhere metabolische Aktivität auf Stimuli aktiver und beschleunigt reagiert (Buma, Kok et al., 2004).

Das Kaninchenmodell ermöglicht mit der histologischen Untersuchung zellulärer Reaktionen des Knochens eine Evaluierung der biologischen Reaktion auf verschiedene Biomaterialien, besonders dann, wenn sie sich auf eine vergleichende Beurteilung der einzelnen Materialien untereinander beschränkt (Katthagen und Mittelmeier, 1986; Liebschner, 2004).

Durch die histomorphometrischen Untersuchungen lassen sich zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse bezüglich der Knochenneubildung erzielen (Burr, Mori et al., 1993). Mit Hilfe dieser Methode kann die knöcherne Durchbauung neuartiger Knochenkleber objektiv und quantitativ beurteilt werden. Damit war eine besonders Untersucherunabhängige und zeitsparende quantitative Beurteilung der knöchernen Durchbauung des Osteotomiespalts möglich.

Bei den verwendeten Adhäsive handelte es sich einerseits um ein n-Butyl-2-Cyanoacrylat-Präparat (Histoacryl), andererseits um ein Dentinadhäsiv auf Bis-GMA Basis (Excite), welche beide hinsichtlich Ihrer mechanischen und toxikologischen Eigenschaften durch frühere Experimente unserer Arbeitsgruppe beschrieben worden sind (Bekes, 2003; Maurer, Bekes et al., 2004 a und b; Heinzelmann, 2007).

Bekes hatte *in vitro* die mechanische Widerstandsfähigkeit verschiedener dentaler Adhäsive (Excite, Clearfil New Bond und Etch & Prime) und Cyanoacrylate (Histoacryl und Cyano Veneer) am Schweineunterkiefer-Präparat unter Verwendung einer Testmaschine untersucht. Im Ergebnis zeigte sich, dass sowohl Dentinadhäsive als auch Cyanoacrylat in mechanisch wenig belasteten Arealen verwendbar sind (Bekes, 2003; Maurer, Bekes et al., 2004 a; Maurer, Bekes et al., 2004 b). Heinzelmann hatte das zytotoxische Potential der Materialien *in vitro* mittels Zellversuchen an Osteoblasten analysiert und festgestellt, dass Excite über eine gute Biokompatibilität verfügt und somit für *in-vivo*-Anwendungen geeignet ist (Heinzelmann, 2007).

Aus klinischer Sicht zeigte sich, dass sämtliche Tiere bei normaler Käfighaltung im Zeitraum nach der Operation bis zur Opferung durchschnittlich 1 kg an Körpergewicht zunahmten. Dies ist ein klares Indiz dafür, dass als Folge des operativen Eingriffes und des eingebrachten Klebematerials keine schwerwiegenden Konsequenzen eintraten.

Zudem traten Wundheilungsstörungen, wie z. B. Wunddehiszenzen o.ä. nicht auf.

So mussten zwar Osteolysen bei je einem Tier in der Titangruppe und in der Histoacryl-Gruppe verzeichnet werden, während nach Anwendung von DHV keine derartigen Nebenwirkungen auftraten (vergleiche Abb.33–35). Allerdings ist auf Grund der geringen Fallzahl eine statistische Auswertung nicht sinnvoll. Die Ursache dafür könnte eventuell in einer mechanischen oder thermischen Schädigung während des Prozesses der Knochenpräparation gesehen werden.



Radiologisch konnte in allen Untersuchungsgruppen eine vergleichbare Transluzenz im Osteosynthesebereich festgestellt werden. Nach 12 Wochen sind die Knochendeckel nicht mehr von umliegendem Gewebe zu unterscheiden. Das beweist, dass bei allen angewandten Methoden, auch im Falle der DHV, eine ungestörte Knochenheilung eingetreten ist. Allerdings, für eine wissenschaftlich relevante Aussage wäre es unumgänglich, mikroradiographische Untersuchungen durchzuführen, um die Knochenheilung am Röntgenbild qualitativ und quantitativ zu untersuchen.

Mit Hilfe der Giemsa-Färbung sind die Knochenproben zusätzlich qualitativ in den Osteotomiebereichen untersucht worden. Auch hierbei konnte eine vergleichbare Knochenbildung in allen Gruppen gefunden werden. Alle drei Osteosynthesemethoden führten zu einer ähnlichen Mineralisation und Knochendichte ohne relevante Unterschiede.

Selbst in den Spaltbereichen, die bei geringer Dislokation der Knochendeckel während der Kleberapplikation entstehen können, war weder radiologisch noch histologisch eine Störung der Knochenneubildung erfasst worden.

Insgesamt stimmen die Resultate somit morphologisch wie auch röntgenologisch mit denen von Amarante et al. (1994) überein, welche die Frakturheilung an vergleichbaren Knochenspaltbereichen untersuchten hatten. Seinerzeit waren ebenfalls keine signifikanten Unterschiede deutlich geworden.

Die durchaus positiven Heilungsergebnisse im Osteotomiebereich an der Kaninchenkalotte des eigenen Versuches wurden zusätzlich durch die histologischen Untersuchungen von Leber, Nieren und den Knochenproben der Versuchstiere untermauert. Diese histologischen Analysen bestätigten, dass in allen drei Gruppen keine pathologischen Veränderungen in den genannten inneren Organen und somit auch keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden konnten. Folglich kann davon ausgegangen werden, dass zumindest bei Kaninchen verschiedene Knochenklebstoffe sowie DHV ohne toxische Nebenwirkungen auf den Gesamtorganismus eingesetzt werden können.

Damit stehen die eigenen Ergebnisse in sehr gutem Einklang mit denen zahlreicher anderer Autoren, welche durch ähnliche Untersuchungsmethoden am Tiermodell die systemische Unbedenklichkeit von verschiedenen Knochenklebstoffen nachgewiesen hatten (Ciapetti, Stea et al., 1994; Meechan, McCabe et al., 1994; Popprawa, 2004; Dadas, Alkan et al., 2007).

Die quantitative Analyse der Knochenneubildung erfolgte mit Hilfe der Histomorphometrie. Entgegen der klassischen Knochenhistomorphometrie, welche eine Entkalkung beinhaltet, wurde in der eigenen Analyse auf diesen Schritt verzichtet. Das Ziel bestand darin, die durch den Entkalkungsprozess folgende Auflösung der Adhäsive und damit eine Verfälschung der Untersuchungsergebnisse zu vermeiden. Unter Verwendung nicht dekalzifizierter Proben konnte die Knochenbildungszone im Osteotomiespalt dagegen histologisch untersucht werden.

Die Knochenbildung war im Spaltbereich der Adhäsivgruppen signifikant höher als in der Titangruppe. Insbesondere nach vier Wochen war die höchste Knochenneubildungsrate in der Excite-Gruppe nachweisbar. Der Unterschied der Titangruppe, verglichen mit den Adhäsivgruppen ( $p = 0,005$  bei Histoacryl und  $p = 0,000$  bei Excite), war deutlicher als der zwischen den beiden Adhäsivgruppen ( $p = 0,033$ ).

Die Knochenneubildungen bei Anwendung der unterschiedlichen Verbundsysteme glichen sich jedoch im weiteren zeitlichen Verlauf erwartungsgemäß an. Nach 8 Wochen (Abb. 46) waren die Unterschiede zwischen den Adhäsivgruppen nicht mehr statistisch signifikant. Für den Kliniker wichtig erscheint der initiale Trend der hohen Knochenneubildung bei Adhäsivsystemen. Derartige Kleberosteosynthesen können somit frühzeitig einen besseren Fixationsverbund der Fragmente für eine Knochenbruchheilung ermöglichen. Nach 12 Wochen konnte schließlich noch der signifikante Unterschied zwischen Titan und Excite gefunden werden (Tab.12).

Auch die Mineralisation und Osteoidbildung belegen den fehlenden negativen Einfluss von DHV. Nach vier Wochen konnte eine Mineralisation gefunden werden, welche in allen Gruppen vergleichbar war ( $p > 0,05$ ). Nach 8 Wochen wurde in der Titangruppe ein signifikant geringeren Mineralisationsgrad als in den Adhäsivgruppen ( $p = 0,000$ ) nachgewiesen. Nach 12 Wochen war kein Unterschied mehr zwischen den drei Gruppen erkennbar. Möglicherweise wirken sich diese Eigenschaften der DHV sogar positiv auf eine frühzeitige Mineralisation aus wie Sie anhand der eigenen Ergebnisse gefunden werden konnten. Shermak demonstrierte bei Cyano-acrylatfixation, dass die folgende Knochenbruchheilung der einer Osteoinduktion vergleichbar erscheint. Unter Berücksichtigung der hydrophilen Eigenschaften der DHV scheint der sich auflösende Kleber einerseits ein Gerüst zur Knochenformation zu bilden, andererseits jedoch eine sterile Entzündungsreaktion auszulösen.

Dadurch werden Wachstumsfaktoren und *bone morphogenetic proteins* (BMP) aktiviert, sodass Osteoprogenitorzellen in den Spaltbereich transportiert werden (Shermak, Wong et al., 1998).

Die normale knöcherne Umsatzrate von 5–20% pro Jahr ist eindeutig höher als beim Dentin. Dadurch wird letztendlich sichergestellt werden, dass eine gewünschte lokalisierte Resorption des Adhäsivs im Spaltbereich adäquat eintritt. Ein weiterer Faktor bei der Degradation von Dentinadhäsiven ist die Hydrolyse. Durch Wasseraufnahme im Osteotomiebereich der Kaninchenkalotte werden die kovalenten Bindungen im Polymer der Adhäsive gelöst. Infolgedessen entstehen Ester, und nach weiterer Abspaltung verringert sich die Adhäsivmasse. Dieser Prozess ist bei der ursprünglichen Anwendung der DHV am Dentin nicht erwünscht und wird von einigen Autoren sogar als klare Schwachstelle bei der Anwendung am Zahn bezeichnet (Breschi, Mazzoni et al., 2008). Hier jedoch ist unter Berücksichtigung einer Knochenheilung dieser Effekt durchaus vorteilhaft. Alle eigenen Ergebnisse zeigten nach 12 Wochen keine Residuen von DHV im ehemaligen Osteotomiebereich.

Die mechanische Stabilität ist für das geprüfte Einsatzgebiet initial ausreichend. Die Problematik aus dieser Sicht besteht jedoch darin, einen Kleber mit sowohl optimalen Biokompatibilitäts- als auch Degradationseigenschaften zu finden. Verläuft die Degradation zu schnell oder die Osteogenese zu langsam, so kann keine ausreichende stabile Frakturüberbrückung stattfinden, und die Verbindung wird instabil. Verläuft die Degradation zu langsam, entstehen im Frakturspalt kein Platz für die Knochenneubildung und die Gefahr einer Pseudarthrose. Aus diesen Gründen war es in der Vergangenheit nicht möglich, ein Klebesystem für die Frakturbehandlung zu etablieren, da die Kleberdegradation sowie die Knochenneubildung um den gleichen Raum konkurrierten und immer ein durch viele Faktoren leicht negativ zu beeinflussendes, instabiles Gleichgewicht vorliegt (Giebel und Rimpler, 1981; Heiss, Hahn et al., 2004; Heiss, Kraus et al., 2006). Wahrscheinlich erfüllt Excite unter der DHV am ehesten die Anforderungen für eine Knochenbruchheilung, welche einerseits eine ausreichende Stabilität beinhaltet, andererseits aber im weiteren Verlauf eine definierte Hydrolyse und somit einen kontrollierten Adhäsivabbau nach sich zieht.

Weitere Vorteile der Kleber scheinen erwähnenswert. Sie können über den gesamten Bruchspalt appliziert werden. Bei der Plattenosteosynthese hingegen wird nur eine punktförmige Fixation erreicht. (Weber und Chapman, 1984; Donkerwolcke, Burny et al., 1998; Heiss, Hahn et al., 2005).

Weiter könnten sich bakteriostatische oder bakterizide Wirkungen positiv auswirken (Awe, Roberts et al., 1963; Ciapetti, Stea et al., 1994). Vor allem bei offenen Frakturen mit konsekutiver Keimkontamination wäre dies ein wünschenswerter Begleiteffekt. In weiteren Untersuchungen sollte geklärt werden, ob diese antibakteriellen Effekte auch für dentale Adhäsive nachweisbar sind.

Dentinhaftvermittler als Knochenadhäsive müssen sich mit den klinisch etablierten Cyanoacrylate messen lassen. Die Idee der Knochenfixierung ohne die traditionelle klassische Osteosynthese unter Verwendung der Stoffgruppe der Akrylate entstand in den 50er Jahren des vergangenen Jahrhunderts. Hierbei eignen sich aufgrund einiger chemischer Details diverse Cyanoacrylate (Coover, Joyner et al., 1959).

Die Befunde der vorliegenden Arbeit bezüglich Stabilität und Knochenheilung konnte beweisen, dass eine rigide Fixation knöcherner Fragmente mittels n-Butyl-2-Cyanoacrylat möglich ist. Zu ganz ähnlichen Ergebnissen kam eine Studie bereits im Jahr 1995. Dabei konnte eine der Plattenosteosynthese vergleichbare Knochenheilung im Mittelgesichtsbereich erzielt werden (Amarante, Constantinescu et al., 1995).

Die eigenen Ergebnisse bestätigen das sogar für alle Adhäsivgruppen, welche direkt zwischen die Knochenfragmente eingebracht worden waren. Die Untersuchungen von Ahn und Mitarbeitern (1997) sind vergleichbar zu werten. Diese Autoren untersuchten die Stabilisierung kraniofazialer Knochenfragmente mit Spaltbereichen zwischen den Fragmenten über resorbierbare Osteosyntheseplatten, die mit Histoacryl an der Kalvaria des Schweins fixiert worden sind und beweisen, dass diese Methode hinsichtlich der Stabilität so effektiv war wie eine Titanplattenosteosynthese (Ahn, Sims et al., 1997).

Übereinstimmend zu den hier präsentierten Resultaten zeigten auch Shermaks et al. (1998) in histologischen Untersuchungen mit Cyanoacrylate und Titanplatten keine Unterschiede bei der Entzündungsreaktion. Die Autoren verzeichneten genauso nahezu identische, geringe Entzündungsreaktionen in der Gruppe mit Osteosyntheseplatte wie in der Cyanoacrylatgruppe. In mikrodensiometrischen Untersuchungen fanden sich äquivalente Knochendichten in beiden Gruppen. In der gleichen Studie konnte unter der Verwendung von Cyanoacrylate keine neurotoxische Aktivität gefunden werden (Shermak, Wong et al., 1998). Auch im eigenen Kaninchenmodell waren in Analogie zu den Resultanten Shermaks keinerlei neurotoxische Nebenwirkungen gefunden worden, wenn Acrylate oder auch DHV zum Knochenverbund eingesetzt worden waren.

Shermak demonstrierte außerdem, dass die Cyanoacrylatfixation von Knochenfragmenten eine Knochenbruchheilung erzeugt, die der Osteoinduktion vergleichbar erscheint. Eine Möglichkeit, klinisch relevante Frakturen mittels Klebstoffen zu fixieren, wurde von Dadas et al. (2006) experimentell geprüft. Die Autoren untersuchten die Fixation von Jochbeinfrakturen an Kaninchen mittels Cyanoacrylat. Dabei wurden, wie auch in den vorliegenden Untersuchungen, die Histotoxizität, Einflüsse auf die Wundheilung und Fremdkörperreaktion im Gewebe analysiert. Die Ergebnisse belegen, dass die durch Kleber fixierten Fragmente in allen Fällen in regelrechter Position einheilten, während in der Kontrollgruppe (keine Fixation) eine erhebliche Dislokation der Fragmente festgestellt werden musste. Die Gewebereaktion war in beiden Gruppen vergleichbar (Dadas, Alkan et al., 2007). Diese Ergebnisse bestätigen die eigenen Resultate bezüglich Gewebereaktion und Wundheilung und untermauern die früheren Untersuchungen aus der eigenen Klinik (Bekes, 2003; Maurer, Bekes et al., 2004 a; Maurer, Bekes et al., 2004 b).

Eine Indikationserweiterung zur Verwendung verschiedener Knochenkleber zur Stabilisierung von Unterkieferfrakturen scheint nach gegenwärtigem Kenntnissstand allerdings unwahrscheinlich. Die vorliegenden Ergebnisse sprechen zwar für eine gute Biokompatibilität der ausgewählten Kleber. Hinsichtlich einer ausreichenden Festigkeit für einen Einsatz bei Unterkieferfrakturen kann zum gegenwärtigen Zeitpunkt allerdings noch nicht hinreichend Stellung bezogen werden. So existiert nach durchgeführter Literaturrecherche lediglich eine Studie, bei welcher Cyanoacrylat zur Stabilisierung von Unterkieferfrakturen verwendet wurde (Mehta et al., 1987). Die Frakturbereiche wurden direkt mit dem Kleber versorgt, zusätzlich erfolgte allerdings eine intermaxilläre Fixation für 48–72 Stunden. Die Autoren sahen eine Möglichkeit zur Frakturversorgung mittels Cyanoacrylat, obwohl Langzeituntersuchungen noch ausstanden. Andererseits belegten andere Autoren (Amarante et al., 1995; Ahn et al., 1997; Gosain et al., 1998), dass in stark belasteten Bereichen die Kleberverwendung unzureichend ist, weshalb die Anwendung am Menschen für diese Indikation kritisch zu sehen ist und nach eigener Überzeugung mit ggf. Adäsivsystem eine ausreichende Stabilität nicht gegeben ist. Deshalb sollten Klebersysteme sowie DHV lediglich in wenig belasteten Gebieten, wie im Mittelgesicht, zum Einsatz kommen.

Solche vielversprechenden Anwendungsmöglichkeiten wurden für Cyanoacrylate von mehreren Autoren präsentiert.

Bereits 1980 demonstrierten Wiecko und Mitarbeiter die Versorgung von Sinus-Frontalis-Frakturen durch Cyanoacrylat in vier Fällen. Wundheilungsstörungen waren auch seinerzeit und damit analog zu den eigenen experimentellen Ergebnissen nicht beobachtet worden. Die ästhetischen und funktionellen Resultate waren hervorragend. Die Autoren hoben hervor, dass sich die Verwendung eines Adhäsivs bei Frakturen des Sinus frontalis sogar leichter als eine klassische Osteosynthese gestaltet. (Wiecko, Karasiewicz et al., 1980). Möglicherweise könnten perspektivisch in diesem Bereich alternativ zum Cyanoacrylat DHV eingesetzt werden.

Es existieren weitere, zumeist aussichtsreiche Berichte über die Anwendung von Klebstoffen am Menschen vor allem für die Cyanoacrylate. Analog zu den hier präsentierten Befunden beobachtet die Arbeitsgruppe von Kim (1997), dass diese Technik geeignet ist, um Frakturen sehr dünner Knochenstrukturen, wie sie typischerweise bei der fazialen Kieferhöhlenwand, am Orbitaboden und –dach vorzufinden sind, zu versorgen. So beschreibt der Autor zehn Fälle, bei denen Cyanoacrylat verwendet wurde, um multiple, dünne Knochenfragmente im Mittelgesichtsbereich zu fixieren. Die postoperative Kontrolle mittels der 3D-Computertomographie belegte die anatomisch regelrechte Fragmentretention (Kim, 1997). Die prinzipielle Idee Kims, eine Versorgung von Mittelgesichtsfrakturen mittels Acrylaten zu realisieren, wurde auch von Cheski (1997) verfolgt. Er zeigte an einem Kadavermodell die minimal invasive, weil endoskopische Reposition von Jochbeinfrakturen, welche durch Cyanoacrylat stabilisiert wurden. Seinerzeit konnte demonstriert werden, dass der Einsatz von Cyanoacrylaten als Knochenkleber im Mittelgesichtsbereich eine 18-fach höhere Knochenbruchstabilität als bei klassischen Repositionen, wie zum Beispiel bei Hakenzugrepositionen, erreicht werden konnte (Cheski und Matthews, 1997).

Zur Unbedenklichkeit der Einbringung von Klebstoffen auf den Gesamtorganismus liegen bereits umfassende Untersuchungen vor. Die Resorption von Cyanoacrylaten und deren Ausscheidung durch Urin und Stuhl konnte von verschiedenen Autoren bis zu einem Jahr nach der Applikation nachgewiesen werden. Danach waren keine Spuren der Adhäsive oder Metaboliten mehr aufzufinden (Reynolds, Fassett et al., 1966; Pani, Gladieux et al., 1968).

Das eigene Modell basiert auf einer Fixation von Knochenbruchfragmenten ausschließlich unter Verwendung von Cyanoacrylat oder DHV. Perry und Youngson (1995)

hingegen versuchten mit Komposit, Glasionomermzement oder Histoacryl einen ausreichenden Verbund von Stahlplatten auf Knochen zu erreichen. Allerdings konnten sie keine Vorteile gegenüber der Miniplattenosteosynthese verzeichnen. Der Hauptnachteil dieser an sich innovativen Untersuchung besteht jedoch Ihrer Meinung nach im Einbringen weiteren alloplastischen Materials, auch wenn dieses abgebaut wird.

Es ist mittlerweile bekannt, dass die Geschwindigkeit des Abbaus der Cyanoacrylate umgekehrt proportional zur Seitenkettenlänge ist und direkt mit der lokalen Entzündungsreaktion korreliert (Pani, Gladieux et al., 1968; Tseng, Tabata et al., 1990; Quatela, Futran et al., 1993). Die Widerstandskraft gegen Hydrolyse steigt proportional zur Länge der Alkylgruppe (Brauer, Kumpula et al., 1979). Die Hydrolyse verläuft umso zögerlicher, je länger die jeweilige Alkylgruppe ist. Bezieht man jetzt die hohe Klebekraft kurzkettiger Verbindungen in Betracht, so lässt sich erklären, warum am eigenen Kaninchenmodell mittels des n-Butyl-2-Cyanoacrylat hervorragende Ergebnisse erzielt werden konnten. Innerhalb der Cyanoacrylatklebstoffe bietet das als Histoacryl bekannte Mittel den besten Kompromiss zwischen niedriger Toxizität und hoher Haftkraft.

Ein limitierender Faktor der Verwendung von Cyanoacrylatkleber zur Knochenbruchversorgung liegt in der problematischen Fixation der Fragmente während der Kleberapplikation (Ahn, Sims et al., 1997). Diese Beobachtung kann durch die eigenen Experimente bestätigt werden. In mehreren Fällen musste sogar das fixierte Fragment gelöst und erneut befestigt werden. Zudem war die Applikationsmenge des Adhäsivs nur unbefriedigend steuerbar. In dem Großteil aller Präparate konnte ein deutlicher Überschuss des Klebers nicht vermieden werden.

Klassischerweise wird in der Zahnerhaltung der Haftverbund zwischen Zahnhartsubstanz und DHV durch Konditionierung mit einem Ätzel (37%  $H_3PO_4$ ) erreicht. Verglichen mit allen Arbeiten Mitte der 90er Jahre bis in die Gegenwart, stellt die vorliegende Studie die erste Untersuchung dar, bei der auf ein Ätzel verzichtet worden war. Die oft diskutierte Knochenoberflächekonditionierung wurde hier mit 3%em Wasserstoffperoxid realisiert. Dabei stieg die Adhäsion bzw. Haftkraft zwischen den Knochenfragmenten an. Eine Wasserstoffperoxidkonditionierung ist wesentlich schonender für den Knochen, weil eine Benetzung mit Phosphorsäure ausbleibt. Wegen des adstringierenden Effektes bei einer Wasserstoffperoxidkonditionierung können die Knochenoberflächen relativ trocken gehalten werden, was sich auf die Adhäsivität



sehr positiv auswirkte. Zusätzlich kann angenommen werden, dass es bei einer so getrockneten Knochenoberfläche dem DHV möglich ist, in die Knochenlakunen vorzudringen und nach Aushärtung im Knochen einen dem Dentin ähnlichen Verbund des s. g. *Tags* oder Zotten zu erreichen. Dass damit ausreichende Festigkeit im Knochen und Knochenverbindung erreicht werden, zeigte Bekes (2003) und Maurer et al. (2004). Diese Gruppe verglich die Zugfestigkeit von drei Dentaladhäsivsystemen (Excite, Clearfil New Bond, Etch & Prime 3.0) und zwei Cyanoacrylaten (Cyano Veneer, Histoacryl) am Tierknochen *in vitro*. Unter den gewählten Bedingungen scheint die Verwendung dentaler Adhäsivsysteme für die Knochenbruchversorgung vielversprechend zu sein. Die Zugkräfte betragen 5,22 MPa für Clearfil und 1,95 MPa für Excite (Maurer, Bekes et al., 2004 a; Maurer, Bekes et al., 2004 b).

Obwohl die mechanische Belastung *in vitro* eine geringere Festigkeit von Excite bestätigt, konnte unter *in vivo* Bedingungen eine suffiziente Adhäsion des Knochendeckels im Kaninchenmodell gefunden werden. Für das Excite spricht zudem die im Vergleich zum Histoacryl deutlich einfachere Handhabung, da es über Photopolymerisation aushärtet.

Nicht alle Adhäsive sind jedoch für eine Fixation von Knochenfragmente geeignet. So ergab sich bei den eigenen Vorversuchen eine völlige Unbrauchbarkeit des Clearfil New Bonds, da es auf der feuchten Knochenoberfläche keinerlei Haftung oder Aushärtung aufwies. Zudem ist auf der Grundlage einer weiteren aktuellen Studie bekannt, dass Clearfil eine hohe Zytotoxizität aufweist, wodurch sich eine Verwendung *in vivo* a priori ausschließt (Heinzelmann, 2007).

Die Photopolymerisationszeit von DHV sollte über 60 Sekunden liegen, um der Einschränkung von Radikalbildung und Polymerisation durch Sauerstoffinhibition an der Oberfläche und durch die hydrophile Phase im Dentin vorzubeugen laut Krejci et al. (1994). In dieser Studie wurde der DHV 20 Sekunden (Excite) gehärtet, so wie es der Hersteller vorschreibt. Da in der aktuellen Arbeit eine relativ dünne Knochenschicht durch Kleber versorgt worden ist, war es möglich, mit der Photopolimerisation die gesamte Adhäsivschicht zu erhärten. Bei kompakteren Schichten würde ein dual oder chemisch härtender DHV besser geeignet sein.

Mittlerweile eröffnen sich für DHV noch weitere, zum Zeitpunkt ihrer Etablierung in der Zahnmedizin, völlig ungeahnte Einsatzmöglichkeiten. Beispiel ist die Verwendung von

Excite, um Linsen auf der Kornea zu fixieren. Die Arbeit von Popprawa (2004) demonstrierte, dass eine Reepithelisierung der Hornhautoberfläche nach einem Defekt durch eine mit Cyanoacrylat aufgeklebte Kontaktlinse zwar möglich ist, jedoch nicht ohne Konsequenzen für das betroffene Gewebe bleibt, da Histoacryl eine Reihe von Komplikationen verursacht. Diese Studie konnte die Kompatibilität und die Adhäsion zwischen dem künstlichen Epithel und der Hornhaut mittels eines Dentinhaftvermittlers demonstrieren. Die *in vitro* getestete Toxizität des Excite und damit die Auswirkung auf das Gewebe waren gering, und im Vergleich zu anderen Adhäsiven zeichnet sich Excite durch eine sehr gute Biokompatibilität aus (Popprawa, 2004). Möglicherweise gelang es auch im Rahmen der eigenen vorliegenden Studie, durch die genannte Wasserstoffperoxidkonditionierung die Knochenfragmente ausreichend trocken für den Einsatz von Excite zu gestalten, so dass ähnliche Voraussetzungen wie bei der Adhäsion zwischen dem künstlichen Epithel und der Hornhaut vorzuliegen. Die gute Gewebeverträglichkeit von Excite ist möglicherweise durch die chemische Zusammensetzung bedingt. Während Adhäsive bis zu 80% Lösungsmittel enthalten (zum Beispiel Prime & Bond NT), beträgt dieser Anteil bei Excite nur 20%. Durch den gleichzeitig hohen Monomergehalt (>79%) lässt sich die Adhäsivschicht gut polymerisieren, wodurch weniger toxische Nebenprodukte verbleiben (Technische Unterlagen, Vivadent).

Als Ergebnis aller Untersuchungen kann festgestellt werden, dass die stabile Fixation knöcherner Fragmente im Kaninchenschädel durch dentale Adhäsive möglich ist und zur ungestörten Heilung führt. Die ermutigenden Ergebnisse eröffnen Möglichkeiten für weitere Untersuchungen.

## 6. Schlussfolgerungen und Zukunftsaussichten

Die Klebung von Knochenfragmenten stellt eine attraktive Technik und somit auch eine echte Alternative zum Verbund von filigranen Knochenfragmenten in der Mund-, Kiefer- und Plastischen Gesichtschirurgie dar. Auf Grund der zumeist unkomplizierten und schnellen Anwendbarkeit von Klebstoffen besitzt die Klebetechnik potenzielle Vorteile gegenüber anderen Verbundtechniken wie der Fixierung mit Schrauben, Pins oder Platten. Im Vergleich zur Osteosynthese mit herkömmlichen Materialien ist beim Klebefügeverfahren durch die mögliche minimalinvasive Applikation eine wesentlich geringere zusätzliche Gewebetraumatisierung zu erwarten. Zudem stellt das Kleben eine flächenhafte Verbindung der Fragmente dar, die im Gegensatz zu punktuellen Verbindungen anderer Techniken ggf. eine bessere Kraftübertragung gewährleisten kann. Unter all diesen Gesichtspunkten ergibt sich eine außerordentliche Berechtigung für die Überprüfung und Suche nach Methoden der Frakturversorgung durch bioresorbierbare Knochenklebstoffe und mögliche innovative Klebefügeverfahren. Für das Histoacryl bestehen aufgrund seiner Darreichungsform rein anwendungstechnisch Limitationen für die klinische operative Routine. Hier sind moderne Dentinadhäsive klar überlegen, weil die Polymerisationsreaktion erst nach sicherer Reposition und dem Aufbringen des Klebgrundstoffes fotochemisch gezielt gestartet wird.

Mit der vorliegenden tierexperimentellen Untersuchung konnte klinisch, röntgenologisch und histomorphometrisch gezeigt werden, dass ausgewählte Klebstoffe der klassischen Zahnheilkunde tatsächlich in der Lage sind, knöcherne Fragmente im Bereich minimaler mechanischer Belastung suffizient zu fixieren.

Verschiedene Fachgebiete könnten von dieser Knochenfixationsmethode profitieren, beispielsweise die Traumatologie und orthopädische Chirurgie, aber vor allem die Kiefer- und Gesichtschirurgie aber auch gewisse Teilgebiete der HNO-Heilkunde. Dort, wo durch anatomische Bedingungen, wie zum Beispiel im Orbitaboden- oder Nasennebenhöhlenbereich, eine Osteosynthese durch Plattenanlage unmöglich erscheint, könnte die Klebefixation eine sinnvolle Ergänzung in der Frakturversorgung darstellen. In der präprothetischen Chirurgie könnten Augmentate durch Kleber fixiert werden, um die vulnerablen Knochentransplantate nicht durch Anlage von Bohrlöchern zu schädigen.

Mögliche weitere Anwendungsmöglichkeiten der DHV wäre die Barrierefunktion als biodegradierbare und biokompatible Membran bei einer Anwendung von BMPs im Frakturspaltbereich zu sehen. Äußerst innovativ wäre ein Forschungsansatz, welcher derartige BMPs in einen DHV inkludieren würde. Somit könnte dann durch die Hydrolyse und Degradation des DHV sukzessive BMP zur Unterstützung der Knochenheilung freigesetzt werden.

Die präsentierte Arbeit stellt einen neuartigen und originellen Ansatz von Dentinklebern weit über Ihren ursprünglichen Einsatzbereich in der restaurativen Zahnheilkunde hinaus dar. Es muss zwar spekulativ bleiben, ob DHV eine weitere Indikationserweiterung am Skelett erfahren werden. Hierzu sind dann konkrete Kontakte zur Industrie erforderlich, um durch chemische Nuancen die bereits bewiesene Haftkraft bei erhaltener Resorbierbarkeit deutlich zu erhöhen. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt kann aber die Methode der Knochenklebung mit DHV nahezu uneingeschränkt im wenig belasteten Gebiet des Mittelgesichts empfohlen werden, voraussichtlich einer Zulassung für diese Indikation.

## 7. Zusammenfassung

Ziel dieser tierexperimentellen Arbeit war der direkte Vergleich zweier unterschiedlicher Knochenkleber in einem standardisierten Osteotomiemodell an der Kaninchenkalotte. Durch knochenhistomorphometrische Analysen sollten die Unterschiede der Frakturheilung zwischen den beiden Knochenklebervarianten und der Kontrollgruppe mit Titan-Osteosynthese herausgearbeitet werden.

Die beiden Knochenklebervarianten waren ein auf Bis-GMA basierender Dentinhaftvermittler (DHV, Excite) und ein Gewebekleber aus n-Butyl-2-Cyanoacrylat (Histoacryl). Bei jedem Tier wurden zwei 8 mm runde Knochendefekte an der Kalotte gesetzt und die Knochendeckel mittels verschiedener Osteosyntheseverfahren erneut fixiert. Insgesamt wurden 30 Tiere untersucht und in 3 Gruppen (Titan-Kontrolle, Dentinhaftvermittler, Gewebekleber) eingeteilt. Die Gruppen wurden 4, 8 und 12 Wochen nachbeobachtet. Die histomorphometrische Auswertung erfolgte mit dem computerunterstützten Bildanalyseprogramm KS 300 (Firma Carl Zeiss, Jena, Deutschland). Als histomorphometrische Parameter wurden Knochenneubildung (TBV: *trabecular bone volumen*) und Knochenmineralisation (Osteoid/Os) bestimmt. Außerdem wurden weitere histologische Untersuchungen mittels Giemsa- und HE-Färbungen durchgeführt sowie eine röntgenologische longitudinale Beobachtung der Knochenheilung.

Die Klebervariante mit DHV zeigte anhand der histomorphometrischen Auswertung keine Barriere für die physiologische Frakturheilung, im Gegenteil, es fand sich eine hervorragende Osteogenese im Frakturspalt, besonders 4 Wochen postoperativ. Der Cyanoacrylat-Gewebekleber ermöglichte ebenfalls eine gute Frakturheilung und Osteogenese im Frakturspaltbereich. Beide Kleber ermöglichten vergleichbare oder bessere Ergebnisse bezüglich Frakturheilung und Knochenneubildung im Vergleich zur Kontrollgruppe für alle Zeitpunkte. Die histomorphometrischen Ergebnisse zeigten signifikante Unterschiede zwischen den Klebervarianten und Titanosteosynthese als Kontrolle.

Nach gegenwärtigem Erkenntnisstand ist dies die erste Arbeit, welche die Eignung von DHV als echte Alternative zur klassischen Osteosynthese im Mittelgesicht anhand histomorphometrischer Untersuchungen am Tiermodell hervorhebt.

## 8. Literatur

- Ahn, D., C. Sims, M. Randolph, D. O'Connor, P. Butler, M. Amarante und M. Yaremchuk: Craniofacial skeletal fixation using biodegradable plates and cyanoacrylate glue *Plast Reconstr Surg* 99(1997) 1508-1515.
- Alkan, S., B. Dadas, D. Celik, B. U. Coskun, F. Yilmaz und T. Basak: The efficacy of n-2-butyl-cyanoacrylate in the fixation of nasal septum to the anterior nasal spine in rabbits: experimental study *Eur Arch Otorhinolaryngol* 264(2007) 1425-30.
- Amarante, M., M. Constantinescu, D. O'Connor und M. Yaremchuk: Cyanoacrylate fixation of caniofacial skeleton: An experimental study *Plast Reconstr Surg* 95(1995) 639-646.
- Awakowicz, A.: Experimentelle Untersuchung des Verformungsverhaltens von Schanz-Schrauben als Voraussetzung für die Kontrolle der Frakturheilung. Institut für funktionelle Morphologie. Bochum, Ruhr-Universität Bochum. Doktorgrades der Medizin 2002: S. 105.
- Awe, W. C., W. Roberts und N. S. Braunwald: Rapidly Polymerizing Adhesive as a Hemostatic Agent: Study Of Tissue Response And Bacteriological Properties *Surgery* 54(1963) 322-8.
- Baidya, P., J. G. Meechan und J. F. McCabe: Bonding of composite to bone: durability and effect of drying time *Br J Oral Maxillofac Surg* 34(1996) 406-8.
- Baume, L. The biology of pulp and dentine. A historic terminologic-taxonomic, histologic-biochemical, embryonic and clinical survey. Monographs In Oral Science. Basel, Karger 1980
- Bekes, K. (2003). Die Haftkraft verschiedener Dentinhaftvermittler auf kortikalem Schweineknöchel in vitro. Universitätsklinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie. Halle an der Saale, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.): S. 85.
- Bloch, B.: Bonding of fractures by plastic adhesives; preliminary report *J Bone Joint Surg Br* 40-B(1958) 804-12.
- Brannstrom, M., H. Nyborg und T. Stromberg: Experiments with pulp capping *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 48(1979) 347-52.
- Brauer, G. M., J. W. Kumpula, D. J. Termini und K. M. Davidson: Durability of the bond between bone and various 2-cyanoacrylates in an aqueous environment *J Biomed Mater Res* 13(1979) 593-606.
- Breschi, L., A. Mazzoni, A. Ruggeri, M. Cadenaro, R. Di Lenarda und E. De Stefano Dorigo: Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface *Dent Mater* 24(2008) 90-101.
- Buma, P., H. J. Kok, L. Blankevoort, W. Kuijpers, R. Huiskes und A. Van Kampen: Augmentation in anterior cruciate ligament reconstruction-a histological and biomechanical study on goats *Int Orthop* 28(2004) 91-6.
- Buonocore, M.: A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces *J Dent Res* 34(1955) 849-853.

- Burr, D. B., S. Mori, R. D. Boyd, T. C. Sun, J. D. Blaha, L. Lane und J. Parr: Histomorphometric assessment of the mechanisms for rapid ingrowth of bone to HA/TCP coated implants J Biomed Mater Res 27(1993) 645-53.
- Champy, M., J. P. Lodde, R. Schmitt, J. H. Jaeger und D. Muster: Mandibular osteosynthesis by miniature screwed plates via a buccal approach J Maxillofac Surg 6(1978) 14-21.
- Cheski, P. J. und T. W. Matthews: Endoscopic reduction and internal cyanoacrylate fixation of the zygoma J Otolaryngol 26(1997) 75-9.
- Ciapetti, G., S. Stea, E. Cenni, A. Sudanese, D. Marraro, A. Toni und A. Pizzoferrato: Cytotoxicity testing of cyanoacrylates using direct contact assay on cell cultures Biomaterials 15(1994) 63-7.
- Clarke, B.: Normal bone anatomy and physiology Clin J Am Soc Nephrol 3 Suppl 3(2008) 131-9.
- Coover, H., F. Joyner, N. Sheurer und T. Wicker: Chemistry and performance of cyanoacrylate-adhesives J Soc Plast Engl 15(1959) 413-415.
- Cornell, C. N. und J. M. Lane: Newest factors in fracture healing Clin Orthop Relat Res(1992) 297-311.
- Dadas, B., S. Alkan, M. Cifci und T. Basak: Treatment of tripod fracture of zygomatic bone by n-2-butyl cyanoacrylate glue fixation, and its effects on the tissues Eur Arch Otorhinolaryngol 264(2007) 539-544.
- Dickson, G. Methods of calcified tissue preparation. Amsterdam, New York, Oxford, Elsevier.1984
- Donath, K. und G. Breuner: A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique J Oral Pathol 11(1982) 318-26.
- Donkerwolcke, M., F. Burny und D. Muster: Tissues and bone adhesives-historical aspects Biomaterials 19(1998) 1461-6.
- Drommer, R. und H. G. Luhr: The stabilization of osteotomized maxillary segments with Luhr mini-plates in secondary cleft surgery J Maxillofac Surg 9(1981) 166-9.
- Eick, J. D., A. J. Gwinnett, D. H. Pashley und S. J. Robinson: Current concepts on adhesion to dentin Crit Rev Oral Biol Med 8(1997) 306-35.
- Eliades, G. C., A. A. Caputo und G. J. Vougiouklakis: Composition, wetting properties and bond strength with dentin of 6 new dentin adhesives Dent Mater 1(1985) 170-6.
- Ewers, R. und W. Schilli: Metal plate osteosynthesis and wire osteosynthesis for the treatment of periorbital fractures in an experimental study Dtsch Zahnärztl Z 32(1977) 820-3.
- Exley, C. und J. Birchall: The cellular toxicity of aluminium J Theor Biol 159(1992) 83-98.
- Friedenstein, A.: Precursor cells of mechanocytes Int Rev Cytol 47(1976) 327-359.
- Gängler, P. Klinik der konservierenden Zahnheilkunde. Berlin/Wiesbaden, Ullstein & Mosby. 1995
- Garberoglio, R. und M. Brännström: Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules Archs Oral Biol 21(1976) 355-362.
- Geneser, F. Histologie., Deutscher Ärzte-Verlag.1990
- Giebel, G. und M. Rimpler: Klebungen am Skelettsystem: Klebstoffe, 50 Jahre Hilfsstoffe für den Chirurgen (Teil 1) Bio med Technik 26(1981) 35-40.



- Giebel, M.: Adhesives in surgery – Ergebnisse bei Klebungen mit verschiedenen Klebern an verschiedenen Geweben Wien Med Akad(1968) 65-66.
- Gosain, A., L. Song, M. Corrao und F. Pintar: Biomechanical evaluation of titanium, bio-degradable plate and screw and cyanoacrylate glue fixation in craniofacial surgery Plast Reconstr Surg 101(1998) 582-591.
- Gosain, A. K.: The current status of tissue glues: I. For bone fixation Plast Reconstr Surg 109(2002) 2581-3.
- Haller, B.: Mechanismus und Wirksamkeit von Dentinhaftvermittlern Dtsch Zahnärztl Z 49(1994) 750-759.
- Harle, F.: Le Fort I ostectomy (using miniplates) for correction of the long face Int J Oral Surg 9(1980) 427-32.
- Heinzelmann, C. Maurer, P. Glahn, F. Foth, H. Block Veras, R. Schubert, J.: Dentin-haftvermittler und Cyanoacrylate als potentielle Knochenklebstoffe in der Mund-, Kiefer-, und plastische Gesichtschirurgie – eine *in vitro* Untersuchung zur Biokompatibilität. 45. Jahrestagung der Deutsche Gesellschaft für Plastische und Wiederherstellungschirurgie (DGPW) 2007.
- Heiss, C., N. Hahn, P. Pokinskyj, S. Wenisch, J. P. Stahl, C. Meyer und R. Schnettler: Properties and degradation of a new bioresorbable bone glue. Biomed Tech 49(2004) 163-9.
- Heiss, C., N. Hahn, S. Wenisch, V. Alt, P. Pokinskyj, U. Horas, O. Kilian und R. Schnettler: The tissue response to an alkylene bis(dilactoyl)-methacrylate bone adhesive Biomaterials 26(2005) 1389-1396.
- Heiss, C., R. Kraus, F. Peters, W. Henn, M. Schnabelrauch, A. Berg, T. Pautzsch, J. Weisser und R. Schnettler: Development of a bioresorbable self-hardening bone adhesive based on a composite consisting of polylactide methacrylates and beta-tricalcium phosphate J Biomed Mater Res B Appl Biomater(2008).
- Heiss, C., R. Kraus, D. Schluckebier, A. Stiller, S. Wenisch und R. Schnettler: Bone Adhesives in Trauma and Orthopedic Surgery Eur J Trauma 32(2006) 141-148.
- Heiss, C. und R. Schnettler: Bioresorbierbare Knochenklebstoffe. Historischer Rückblick und heutiger Stand Unfallchirurg 108(2005) 348–355.
- Higgins, A.: Animal research and publication ethics Vet J 162(2001) 81-3.
- Himel, H. und J. Persing: Tissue adhesives in plastic surgery Adv Plast Reconstr Surg 10(1994) 73-79.
- Horster, W.: Experience with functionally stable plate osteosynthesis after forward displacement of the upper jaw J Maxillofac Surg 8(1980) 176-81.
- Janssen, J. und W. Laatz. Statistische Datenanalyse mit SPSS für Windows. Berlin und Heidelberg, Springer.2003
- Johner, R.: Zur Knochenheilung in Abhängigkeit von der Defektgröße Helv Chir Acta 39(1972) 409-411.
- Jones, I. und A. Leaver: Studies on the minor components of the organic matrix of human dentine Archs Oral Biol 19(1974) 371-380.
- Junqueira, L. C. und J. Carneiro. Histologie: Neue Approbationsordnung (Gebundene Ausgabe). Berlin, Springer.1991

- Katthagen, B. D. und H. Mittelmeier: New implants for the regeneration of bone (Collapat and Pyost) Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot 72 Suppl 2(1986) 81-3.
- Kennady, M. C., M. R. Tucker, G. E. Lester und M. J. Buckley: Histomorphometric evaluation of stress shielding in mandibular continuity defects treated with rigid fixation plates and bone grafts Int J Oral Maxillofac Surg 18(1989) 170-4.
- Kennady, M. C., M. R. Tucker, G. E. Lester und M. J. Buckley: Stress shielding effect of rigid internal fixation plates on mandibular bone grafts. A photon absorption densitometry and quantitative computerized tomographic evaluation Int J Oral Maxillofac Surg 18(1989) 307-10.
- Kim, Y. O.: Use of cyanoacrylate in facial bone fractures J Craniofac Surg 8(1997) 229-34; discussion 235.
- Kort, J. Klebstoff in der Chirurgie, Schattauer.1971
- Kramer, I. und J. Mc Lean: Alterations in staining reactions of dentin resulting from constituent of a new self-polymerizing dentin Br Dent J 92(1952) 150-153.
- Langford, R. und J. Frame: Surface analysis of titanium maxillofacial plates and screws retrieved from patients Int. J. Oral Maxillofac. Surg 31(2002) 511–518.
- Leonard, F.: The n-alkylalphacyanoacrylate tissue adhesives Ann NY Acad Sci USA 146(1968) 203-206.
- Lewis, G.: Properties of acrylic bone cement: state of the art review J Biomed Mater Res 38(1997) 155-82.
- Liebschner, M. A.: Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone Biomaterials 25(2004) 1697-714.
- Lin, K. Y., S. P. Bartlett, M. J. Yaremchuk, R. F. Grossman, J. K. Udupa und L. A. Whitaker: An experimental study on the effect of rigid fixation on the developing craniofacial skeleton Plast Reconstr Surg 87(1991) 229-35.
- Link, T. M., W. Berning, S. Scherf, U. Joosten, A. Joist, K. Engelke und H. E. Daldrup-Link: CT of metal implants: reduction of artifacts using an extended CT scale technique J Comput Assist Tomogr 24(2000) 165-72.
- Lühr, H. G.: The development of modern osteosynthesis Mund Kiefer Gesichts chir 4 Suppl 1(2000) S84-90.
- Mandarino, F.: Adesivos Odontológicos – aula do curso de odontologia da FORP/USP. (2003) <http://www.forp.usp.br/restauradora/dentistica/temas/adesivos/adesivos.htm>
- Masi, L. und M. L. Brandi: Physiopathological basis of bone turnover Q J Nucl Med 45(2001) 2-6.
- Matthew, I., J. Frame, R. Browne und B. Millar: *In vivo* surface analysis of titanium and stainless steel miniplates and screws Int J Oral Maxillofac Surg 25(1996) 463–468.
- Matthew, I. R. und J. W. Frame: Release of metal in vivo from stressed and nonstressed maxillofacial fracture plates and screws Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 90(2000) 33-38.
- Maurer, P., K. Bekes, C. R. Gernhardt, H. Schaller und J. Schubert: Comparison of the bond strength of selected adhesive dental systems to cortical bone under in vitro conditions Int. J. Oral Maxillofac. Surg 33(2004a) 377–381.

- Maurer, P., K. Bekes, C. R. Gernhardt, H. G. Schaller und J. Schubert: Tensile bond strength of different adhesive systems between bone and composite compared: an in vitro study J Craniomaxillofac Surg 32(2004b) 85-9.
- McKibbin, B.: The biology of fracture healing in long bones J Bone Joint Surg Br 60-B(1978) 150-62.
- Meechan, J. G. und J. F. McCabe: A comparison of the bond strengths of two different dentine-bonding agents to bone J Oral Maxillofac Surg 53(1995) 284-7; discussion 287-8.
- Meechan, J. G., J. F. McCabe und A. D. Beynon: Adhesion of composite resin to bone – a pilot study Br J Oral Maxillofac Surg 32(1994) 91-3.
- Mehta, M. J., K. H. Shah und R. G. Bhatt: Osteosynthesis of mandibular fractures with n-butyl cyanoacrylate: a pilot study J Oral Maxillofac Surg 45(1987) 393-6.
- Michelet, F. X. und A. Moll: Surgical treatments of fractures of the corpus mandibulae without blockage, with diminutive screwed plates inserted via the endobuccal route Rev Odontostomatol Midi Fr 29(1971) 87-105.
- Moberg, L., A. Nordenram und O. Kjellman: Metal release from plates used in jaw fracture treatment Int J Oral Maxillofac Surg 18(1989) 311–314.
- Nakabayashi, N. und K. Takarada: Effect of HEMA on bonding to dentin Dent Mater 8(1992) 125-30.
- Noebel, D.: Untersuchungen zur Osteointegration und Resorbierbarkeit von Implantatbeschichtungen für den Knochenersatz. Universitätsklinik und Poliklinik für Orthopädie und Physikalische Medizin der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Halle (Saale) 2007: S 88
- Pani, K. C., G. Gladioux, G. Brandes, R. K. Kulkarni und F. Leonard: The degradation of n-butyl alpha-cyanoacrylate tissue adhesive. II Surgery 63(1968) 481-9.
- Parfitt, A.: Bone Histomorphometry: Proposed System for Standardization of Nomenclature, Symbols, and Units Calcif Tissue Int 42(1988) 284-286.
- Pashley, D. H.: Smear layer: physiological considerations Oper Dent Suppl 3(1984) 13-29.
- Pennig, D.: The biology of bones and of bone fracture healing Unfallchirurg 93(1990) 488-91.
- Perren, S. M.: Physical and biological aspects of fracture healing with special reference to internal fixation Clin Orthop Relat Res(1979) 175-96.
- Perry, M. J. und C. C. Youngson: In vitro fracture fixation: adhesive systems compared with a conventional technique Br J Oral Maxillofac Surg 33(1995) 224-7.
- Pilz, W., C. Plathner und T. HA. Grundlagen der Kariologie und Endodontie. München, Hanser.1980
- Popprawa, A.: Untersuchungen zur Verbesserung der Kompatibilität und der Adhäsion zwischen dem künstlichen Epithel und der Hornhaut mittels eines Dentinhaftvermittlers. Aachen, Medizinischen Fakultät der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen. 2004: S. 67.
- Quatela, V. C., N. D. Futran und R. D. Frisina: Effects of cyanoacrylate tissue adhesives on cartilage graft viability Laryngoscope 103(1993) 798-803.

- Quelch, K. J., R. A. Melick, P. J. Bingham und S. M. Mercuri: Chemical composition of human bone Arch Oral Biol 28(1983) 665-74.
- Rauber A, Kopsch F In: Anatomie des Menschen- Band I- Bewegungsapparat, 3. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 2003. S. 39
- Ray, M., I. Matthew und J. Frame: Metallic fragments on the surface of miniplates and screws before insertion British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 37(1998) 14–18.
- Rensburg, J. v. Mundbiologie. Berlin, Chicago, Quintessenz.1994
- Reynolds, R. C., D. W. Fassett, B. D. Astill und L. J. Casarett: Absorption of methyl-2-cyanoacrylate-2-14-C from full-thickness skin incisions in the guinea pig and its fate *in vivo* J Surg Res 6(1966) 132-6.
- Romeis, B. Mikroskopische Technik. München:, Urban u. Schwarzenberg.1989
- Rosenberg, A., K. W. Gratz und H. F. Sailer: Should titanium miniplates be removed after bone healing is complete? Int J Oral Maxillofac Surg 22(1993) 185-8.
- Sachs, L. Angewandte Statistik: Anwendung statistischer Methoden. Berlin und Heidelberg, Springer.1992
- Schaller, H. und Schmelz und Dentinhaftung Dtsch Zahnärztl Z 6(1999) 54-60.
- Schemel, W., K. Hummel und G. Krekeler: Härteprüfungen am Schmelz, Dentin und Zement rezenter menschlicher Zähne Schweiz Monatsschr Zahmed 94(1984) 1029-1041.
- Schenk, R. und H. Willenegger: Zur Histologie der primären Knochenheilung: Modifikationen und Grenzen der Spalthheilung in Abhängigkeit von der Defektgröße Unfallheilkunde 80(1977) 155-160.
- Schenk, R. K., D. Buser, W. R. Hardwick und C. Dahlin: Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible Int J Oral Maxillofac Implants 9(1994) 13-29.
- Schiebler, T., W. Schmidt und K. Zilles. Anatomie, 8. Auflage. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag: 1999
- Schliephake, H., H. Lehmann, U. Kunz und R. Schmelzeisen: Ultrastructural findings in soft tissues adjacent to titanium plates used in jaw fracture treatment Int J Oral Maxillofac Surg 22(1993) 20-5.
- Schroeder, H. Orale Strukturbiologie. Stuttgart, Thieme. 1992
- Schweikl, H., G. Schmalz und B. Bey: Mutagenicity of dentin bonding agents J Biomed Mater Res 28(1994) 1061-7.
- Shapiro, F.: Cortical bone repair. The relationship of the lacunar-canalicular system and intercellular gap junctions to the repair process J Bone Joint Surg Am 70(1988) 1067-81.
- Shermak, M., L. Wong, N. Inoue, B. Crain, M. Im, E. Chao und P. Manson: Fixation of the craniofacial skeleton with butyl-2-cyanoacrylate and its effects on histotoxicity and healing Plast Reconstr Surg 102(1998) 309-318.
- Smilie, A. The chemistry of the organic phase of teeth. Zipkin I: Biological Mineralization. New York, Wiley: (1973) S.139-145.
- Söderholm, K. J. und A. Mariotti: BIS-GMA – based resins in dentistry: are they safe? J Am Dent Assoc 130(1999) 201-9.
- Steinhauser, E. W.: Bone screws and plates in orthognathic surgery Int J Oral Surg 11(1982) 209-16.

- Takuma, S. Ultrastructure of dentinogenesis. Structural and chemical organization of the teeth. A. Miles. New York, London, Academic Press. 2: (1967)
- Thomas, H.: The dentin-predentin complex and its permeability: anatomical overview J Dent Res 66(1985) 607-612.
- Torgersen, S., N. Gjerdet, E. Erichsen und G. Bang: Metal particles and tissue changes adjacent to miniplates - a retrieval study Acta Odontol Scand 53(1995) 65-71.
- Tseng, Y. C., Y. Tabata, S. H. Hyon und Y. Ikada: In vitro toxicity test of 2-cyanoacrylate polymers by cell culture method J Biomed Mater Res 24(1990) 1355-67.
- Vahl, J. und H. Mierau: Feinstrukturelle Untersuchungen an transparenten Wurzelzahnkariesfreier Zähne Dtsch zahnärztl Z 26(1971) 365-77.
- Van Meerbeek, B., J. De Munck, Y. Yoshida, S. Inoue, M. Vargas, P. Vijay, K. Van Landuyt, P. Lambrechts und G. Vanherle: Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges Oper Dent 28(2003) 215-35.
- Van Meerbeek, B., J. Perdigao, P. Lambrechts und G. Vanherle: The clinical performance of adhesives J Dent 26(1998) 1-20.
- Van Meerbeek, B., Y. Yoshida, P. Lambrechts, G. Vanherle, E. S. Duke, J. D. Eick und S. J. Robinson: A TEM study of two water-based adhesive systems bonded to dry and wet dentin J Dent Res 77(1998) 50-9.
- Vanholder, R., A. Misotten, H. Roels und G. Matton: Cyanoacrylate tissue adhesive for closing skin wounds: a double blind randomized comparison with sutures Biomaterials 14(1993) 737-742.
- Waldhart, E., G. Rothler, B. Norer und W. Puelacher: Management of mid-facial fractures Mund Kiefer Gesichtschir 4 Suppl 1(2000) S118-25.
- Weber, S. C. und M. W. Chapman: Adhesives in orthopaedic surgery. A review of the literature and *in vitro* bonding strengths of bone-bonding agents Clin Orthop Relat Res(1984) 249-61.
- Wiecko, J., P. Karasiewicz und J. Fruba: [Use of tissue adhesives in the reconstruction of the frontal sinus] Polim Med 10(1980) 165-70.
- Willenegger, H., S. Perren und R. Schenk: Primäre und sekundäre Knochenbruchheilung Chirurg 42(1971) 241- 252.
- Wissing, H., K. Stürmer und G. Breidenstein: Die Wertigkeit verschiedener Versuchstierspecies für experimentelle Untersuchungen am Knochen. Unfallheilkunde 212(1990) 479-488.
- Wuthier, R. E.: A review of the primary mechanism of endochondral calcification with special emphasis on the role of cells, mitochondria and matrix vesicles Clin Orthop Relat Res(1982) 219-42.
- Yang, B., R. Adelung, K. Ludwig, K. Bossmann, D. H. Pashley und M. Kern: Effect of structural change of collagen fibrils on the durability of dentin bonding Biomaterials 26(2005) 5021-31.

## 9. Tabellenanhang

Tabelle 11- *Oneway*-Anova-Test für Knochenneubildung.

		Quadrat- summe	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Knochen nach 4 Wochen	Zwischen den Gruppen	7886,793	2	3943,397	17,171	,000
	Innerhalb der Gruppen	7119,423	31	229,659		
	Gesamt	15006,216	33			
Knochen nach 8 Wochen	Zwischen den Gruppen	1374,992	2	687,496	2,359	,106
	Innerhalb der Gruppen	12821,621	44	291,400		
	Gesamt	14196,614	46			
Knochen nach 12 Wochen	Zwischen den Gruppen	1776,504	2	888,252	4,662	,014
	Innerhalb der Gruppen	9906,873	52	190,517		
	Gesamt	11683,377	54			

Tabelle 12- Post-Hoc-Test – Bonferoni Test für Knochenneubildung

\*Die mittlere Differenz ist auf der Stufe .05 signifikant.

Abhängige Variable	(I) MATERIAL	(J) MATERIAL	Mittlere Differenz (I-J)	Standard- fehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
						Untergrenze	Obergrenze
Knochen nach 4 Wochen	Titan	Histoacryl	-21,3871(*)	6,20839	,005	-37,1001	-5,6742
		Excite	-38,6254(*)	6,62148	,000	-55,3838	-21,8669
	Histoacryl	Titan	21,3871(*)	6,20839	,005	5,6742	37,1001
		Excite	-17,2382(*)	6,37432	,033	-33,3712	-1,1053
	Excite	Titan	38,6254(*)	6,62148	,000	21,8669	55,3838
Knochen nach 8 Wochen	Titan	Histoacryl	17,2382(*)	6,37432	,033	1,1053	33,3712
		Histoacryl	-15,4728	7,19458	,111	-33,3799	2,4342
	Histoacryl	Excite	-12,4272	7,14108	,266	-30,2012	5,3467
		Titan	15,4728	7,19458	,111	-2,4342	33,3799
	Excite	Titan	3,0456	5,46872	1,000	-10,5659	16,6570
Knochen nach 12 Wochen	Excite	Titan	12,4272	7,14108	,266	-5,3467	30,2012
		Histoacryl	-3,0456	5,46872	1,000	-16,6570	10,5659
	Titan	Histoacryl	-12,8093(*)	4,71455	,027	-24,4726	-1,1460
		Excite	-3,0436	5,52553	1,000	-16,7132	10,6260
	Histoacryl	Titan	12,8093(*)	4,71455	,027	1,1460	24,4726
Excite	Titan	Excite	9,7657	4,58320	,114	-1,5726	21,1041
		Histoacryl	3,0436	5,52553	1,000	-10,6260	16,7132
	Histoacryl	Excite	-9,7657	4,58320	,114	-21,1041	1,5726

Tabelle 13- Oneway Deskriptive Statistik für Knochenneubildung

		N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standard- fehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum
						Untergrenze	Obergrenze		
Knochen nach 4 Wochen	Titan	11	40,0436	14,24295	4,29441	30,4751	49,6122	14,72	60,34
	Histoacryl	13	61,4308	16,84827	4,67287	51,2495	71,6121	34,62	87,51
	Excite	10	78,6690	13,68063	4,32620	68,8825	88,4555	52,89	91,92
	Gesamt	34	59,5815	21,32449	3,65712	52,1410	67,0219	14,72	91,92
Knochen nach 8 Wochen	Titan	8	54,8388	9,44521	3,33939	46,9424	62,7351	41,21	66,78
	Histoacryl	19	70,3116	17,64784	4,04869	61,8056	78,8176	31,60	90,38
	Excite	20	67,2660	18,62526	4,16473	58,5491	75,9829	27,93	91,80
	Gesamt	47	66,3819	17,56764	2,56250	61,2239	71,5400	27,93	91,80
Knochen nach 12 Wochen	Titan	12	52,2033	13,31260	3,84302	43,7449	60,6618	36,67	76,94
	Histoacryl	30	65,0127	15,96115	2,91409	59,0527	70,9727	20,50	88,36
	Excite	13	55,2469	6,88842	1,91050	51,0843	59,4096	43,94	67,79
	Gesamt	55	59,9096	14,70914	1,98338	55,9332	63,8861	20,50	88,36

Tabelle 14- Oneway-Anova-Test für Osteoid Mineralisation

		Quadrat- summe	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Osteoid nach 4 Wochen	Zwischen den Gruppen	40,994	2	20,497	2,648	,087
	Innerhalb der Gruppen	239,919	31	7,739		
	Gesamt	280,913	33			
Osteoid nach 8 Wochen	Zwischen den Gruppen	97,527	2	48,763	11,370	,000
	Innerhalb der Gruppen	188,704	44	4,289		
	Gesamt	286,231	46			
Osteoid nach 12 Wochen	Zwischen den Gruppen	58,970	2	29,485	3,054	,056
	Innerhalb der Gruppen	502,039	52	9,655		
	Gesamt	561,008	54			



Tabelle 15- Post-Hoc-Test –Bonferoni test für Osteoid Mineralisation

\*Die mittlere Differenz ist auf der Stufe .05 signifikant.

Abhängige Variable	(I) MATERIAL	(J) MATERIAL	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
						Untergrenze	Obergrenze
Osteoid nach 4 Wochen	Titan	Histoacryl	,1869	1,13970	1,000	-2,6976	3,0714
		Excite	2,5050	1,21553	,143	-,5714	5,5814
	Histoacryl	Titan	-,1869	1,13970	1,000	-3,0714	2,6976
		Excite	2,3181	1,17016	,170	-,6435	5,2797
	Excite	Titan	-2,5050	1,21553	,143	-5,5814	,5714
Osteoid nach 8 Wochen		Histoacryl	-2,3181	1,17016	,170	-5,2797	,6435
	Titan	Histoacryl	3,7791(*)	,87282	,000	1,6067	5,9516
		Excite	3,8802(*)	,86633	,000	1,7240	6,0365
	Histoacryl	Titan	-3,7791(*)	,87282	,000	-5,9516	-1,6067
		Excite	,1011	,66345	1,000	-1,5502	1,7524
Osteoid nach 12 Wochen	Excite	Titan	-3,8802(*)	,86633	,000	-6,0365	-1,7240
		Histoacryl	-,1011	,66345	1,000	-1,7524	1,5502
	Titan	Histoacryl	-2,5405	1,06131	,061	-5,1661	,0851
		Excite	-1,2084	1,24387	1,000	-4,2856	1,8688
	Histoacryl	Titan	2,5405	1,06131	,061	-,0851	5,1661
Osteoid nach 12 Wochen		Excite	1,3321	1,03174	,607	-1,2203	3,8845
	Excite	Titan	1,2084	1,24387	1,000	-1,8688	4,2856
		Histoacryl	-1,3321	1,03174	,607	-3,8845	1,2203

Tabelle 16- Oneway Deskriptive Statistik für Osteoid Mineral

		N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum
						Untergrenze	Obergrenze		
Osteoid nach 4 Wochen	Titan	11	4,5500	3,39209	1,02275	2,2712	6,8288	1,87	12,86
	Histoacryl	13	4,3631	3,02859	,83998	2,5329	6,1932	,56	9,41
	Excite	10	2,0450	1,28186	,40536	1,1280	2,9620	,31	4,61
	Gesamt	34	3,7418	2,91762	,50037	2,7238	4,7598	,31	12,86
Osteoid nach 8 Wochen	Titan	8	7,9813	2,43669	,86150	5,9441	10,0184	3,56	11,23
	Histoacryl	19	4,2021	1,89655	,43510	3,2880	5,1162	,78	7,90
	Excite	20	4,1010	2,08248	,46566	3,1264	5,0756	1,71	8,53
	Gesamt	47	4,8023	2,49448	,36386	4,0699	5,5347	,78	11,23
Osteoid nach 12 Wochen	Titan	12	2,7108	2,13950	,61762	1,3515	4,0702	,14	6,97
	Histoacryl	30	5,2513	3,42811	,62588	3,9713	6,5314	,99	13,20
	Excite	13	3,9192	3,03975	,84307	2,0823	5,7561	,37	11,06
	Gesamt	55	4,3822	3,22320	,43462	3,5108	5,2535	,14	13,20

## 10. Thesen

1. Trotz der ausgezeichneten Biokompatibilität des Titans bleiben einige Probleme beim Gebrauch der rigiden Fixation ungelöst. Gerade bei der Betrachtung dünner Knochenstrukturen, wie sie im Mittelgesicht gefunden werden, gelingt das Eindrehen von Schrauben nicht immer in adäquater Weise, so dass keine ausreichende Stabilität erzielt werden kann.
2. Als Alternative für eine solche Osteosynthese bietet sich die Klebetechnik an. Die Knochenklebstoffe müssen neben ausreichender Klebekraft eine gute Kurz- und Langzeitbiokompatibilität aufweisen, ohne den physiologischen Frakturheilungsprozess bei schneller Biodegradation zu stören.
3. Aufgrund der strukturellen und chemischen Ähnlichkeit zwischen Knochen und Dentin ist die Verwendung von Dentinhaftvermittlern auf ossärem Gewebe denkbar.
4. Das Kaninchenmodell ist aufgrund schnell ablaufender Heilungsvorgänge zur biologischen Testung und histologischen Beurteilung der Knochenheilung geeignet.
5. Im aktuellen Tiermodell ist die Konditionierung des Knochens mit 3%em  $H_2O_2$  für die Adhäsion des getesteten Dentinklebers am Knochen ausreichend. Dadurch wird der Knochen gegenüber der herkömmlichen Phosphorsäurekonditionierung geschont.
6. Gegenüber Cyanoacrylat als Vergleichssubstanz zeichnet sich der eingesetzte Dentinkleber durch anwenderfreundliche Verarbeitbarkeit aus.
7. Der Dentinhaftvermittler erreichte über den gesamten Untersuchungszeitraum im Median bessere Ergebnisse der Knochenneubildung als die Cyanoacrylat- und die Titanosteosynthese.
8. Der Knochenmineralisationsgrad im Osteotomiespalt im Zuge der Frakturheilung war in allen drei Versuchsgruppen histomorphometrisch ähnlich.
9. Der Dentinhaftvermittler ruft keinerlei Heilungsstörungen hervor und bestätigt *in vivo* die bekannt gute *in-vitro*-Biokompatibilität.
10. Neben der hier *in vivo* untersuchten Biokompatibilität der Adhäsivsysteme sind weitere experimentelle Studien zur Stabilität und zur Biomechanik notwendig.
11. Die Methode der Knochenklebung unter Verwendung von Dentinhaftvermittlern kann theoretisch nahezu uneingeschränkt im wenig belasteten Gebiet des Mittelgesichts empfohlen werden.

## TABELLARICHER LEBENS LAUF

Name	Rafael Eurico Block de Siqueira Cavalcanti Veras
Anschrift	Graseweg 5 06108 Halle (Saale)
geboren am	21.07.1976
Familienstand	ledig
Konfession	-----
1981 – 1984	Besuch der Wilhelm Busch Schule in Göttingen, Deutschland
1985 – 1994	Besuch der Anglo-Americano Schule in Foz do iguaçu, Brasilien
1994 – 1995	Besuch der Positivo Schule /Gymnasium in Curitiba, Brasilien
1995 – 1996	Besuch der Contato Schule /Gymnasium in Recife, Brasilien
1997 – 2001	Studium der Zahnmedizin and der Universität Tuiuti in Curitiba, Brasilien
1998 – 2000	Praktikum an den Evangelischen Klinikum von Curitiba, Brasilien
2001 – 2003	Mitarbeiter an der privat Klinik für Mund-, Kiefer und Gesichtschirurgie Prof. Dr. André Zétola in Curitiba, Brasilien
2003 – 2005	Private Gemeinschaftspraxis in Curitiba, Brasilien
2005 – 2006	Stipendium VDDI (Verband der Deutschen Dental Industrie) zur Forschung an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
2006 – 2007	Stipendium ALBAN (EU) zur Promotion an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Seit 2008	Assistent in Weiterbildung für Oralchirurgie an der Klinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie der Martin-Luther- Universität Halle-Wittenberg.

---

Rafael Eurico Block de Siqueira Cavalcanti Veras

## Selbstständigkeitserklärung

Die vorliegende Arbeit wurde von mir ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Ich versichere, dass ich für die inhaltliche Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Halle, August 2010

---

Rafael Eurico Block de Siqueira Cavalcanti Veras

## Erklärung über Promotionsversuche

Ich erkläre, dass ich keinerlei frühere Promotionsversuche unternommen habe und dass an keiner anderen Fakultät oder Universität ein Promotionsverfahren anhängig ist.

Halle, August 2010

---

Rafael Eurico Block de Siqueira Cavalcanti Veras

## Danksagung

Ich bedanke mich ganz herzlich bei PD. Dr. Anke Bernstein, Dr. Kay Raum und Fr. Rosemeyer, aus dem Labor für experimentelle Orthopädie der Martin-Luther-Universität sowie bei Fr. Dr. Rosenfeld aus dem Zentrum für Grundlagenforschung der Martin-Luther-Universität.

Danke an América Cantarino für die Hilfe bei der Formatierung und Layout dieser Arbeit. Mein Dank an PD. Dr. Dr. Peter Maurer, Dr. Dr. Markus Berginski, Dr. Dr. Marcus Kriwalsky, PD. Dr. Dr. Alexander Eckert, Dr. Matthias Lautner und vor allem an Prof. Dr. Dr. Johannes Schubert für die Unterstützung und Vertrauen an meiner Arbeit.

Diese Promotion wurde durch ein Stipendium von ALBAN (America Latina Bolsas de Alto Nivel – Latein Amerika hochwertige Stipendien), ein Programm der Europäischen Union über EuropeAid Co-Operation Office in Brüssel und Santander-Group (European Universities Network), für lateinamerikanische Wissenschaftler in Europa unterstützt.

## Publikationen von eigenen Ergebnissen:

Block Veras R; Berginsky M; Kriwalsky M.S; Maurer P; Eckert A.W, Heinzelmann Ch, Bernstein A, Schubert J. (2008) Biological properties of adhesives used for osteosynthesis. Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery. 36: Supp 1. S.108.

## Weitere Publikationen:

Heinzelmann, C. Maurer, P. Glahn, F. Foth, H. Block Veras, R. Schubert, J.: Dentinhaftvermittler und Cyanoacrylate als potentielle Knochenklebstoffe in der Mund-, Kiefer-, und plastische Gesichtschirurgie – eine in vitro Untersuchung zur Biokompatibilität. 45. Jahrestagung der Deutsche Gesellschaft für Plastische und Wiederherstellungschirurgie (DGPW) 2007.

Veras RB, Kriwalsky MS, Eckert AW, Schubert J, Maurer P. Long-term outcomes after treatment of condylar fracture by intraoral access: a functional and radiologic assessment. J Oral Maxillofac Surg. 2007 Aug;65(8):1470-6.  
PMID: 17656270 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Veras RB, Kriwalsky MS, Hoffmann S, Maurer P, Schubert J. Functional and radiographic long-term results after bad split in orthognathic surgery. Int J Oral Maxillofac Surg. 2008 Jul;37(7):606-11. Epub 2008 Jun 2.  
PMID: 18515045 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Maurer P, Kriwalsky MS, Block Veras R, Vogel J, Syrowatka F, Heiss C. Micromorphometrical analysis of conventional osteotomy techniques and ultrasonic osteotomy at the rabbit skull. Clin Oral Implants Res. 2008 Jun;19(6):570-5.  
PMID: 18474063 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Maurer P, Kriwalsky MS, Block Veras R, Brandt J, Heiss C. Light microscopic examination of rabbit skulls following conventional and Piezosurgery osteotomy. Biomed Tech (Berl). 2007;52(5):351-5. PMID: 17915997 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Kriwalsky MS, Maurer P, Veras RB, Eckert AW, Schubert J. Risk factors for a bad split during sagittal split osteotomy. Br J Oral Maxillofac Surg. 2008 Apr;46(3):177-9. Epub 2007 Dec 3. PMID: 18063456 [PubMed - indexed for MEDLINE]