

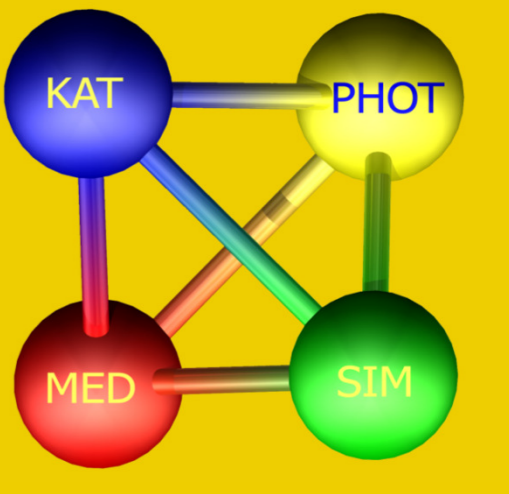
Einfluss beschichteter Minischrauben auf Osteoblasten *in vitro* sowie Einheilung und Keimbelastung *in vivo* beim Hund

K. Duske, S. Kretzschmar, A. Salbach, B. Nebe, J. H. Lenz, S. Fechner, M. Warkentin, D. Behrend, F. Stahl de Castrillon

Universität Rostock



Traditio et Innovatio



Motivation und Ziele

In der Kieferorthopädie ist der Einsatz temporärer skelettaler Verankerungssysteme weit verbreitet. Ihr klinischer Einsatz ist vielfältig. So sollen zum einen komplexe Zahnbewegungen ermöglicht werden indem mit Hilfe der Verankerungen Zug auf Zahngruppen und Zähne ausgeübt wird. Zum anderen sollen unerwünschte Zahnbewegungen, die weitgehend minimiert werden.

Die für solche Zwecke verwendeten kieferorthopädischen Minischrauben bestehen zumeist aus Titan oder Titanlegierungen. Sie können ohne großen operativen Aufwand inseriert werden und besitzen je nach Hersteller unterschiedliche Abmessungen. Der Durchmesser beträgt ca. 1,6 mm. Die Länge variiert bis zu 10 mm. Die Schrauben bestehen aus einem Schraubenschaft mit unterschiedlich geformten Gewinden und Spitzen, einem transgingivalen Halsbereich, der einen Tiefenstopp zur optimalen Tiefenbestimmung besitzen kann. Die Schrauben bieten den Vorteil, dass sie direkt nach Insertion mit Kräften belastet werden können.



Quelle: Dentalline

Problematisch stellt sich die Ausfallrate der Schrauben dar. Mit bis zu 50 % liegt diese sehr hoch und die Ausfallursachen sind sehr verschieden:

Neben Frakturen der Schrauben, mechanischen Überbelastungen und Mikrobewegungen sind die infektionsbedingten Lockerungen von großer Bedeutung. Wie auch bei Endoprothesen oder dentalen Implantaten gibt es bislang für dieses Problemfeld keine zufriedenstellende Lösung. Da der Mund ohnehin mit einer vielfältigen Flora ausgestattet ist, ergibt sich eine besondere Herausforderung bei der Insertion von Minischrauben, da sie in direktem Kontakt mit der Mundflora stehen und transgingival in den Alveolarknochen gesetzt werden.

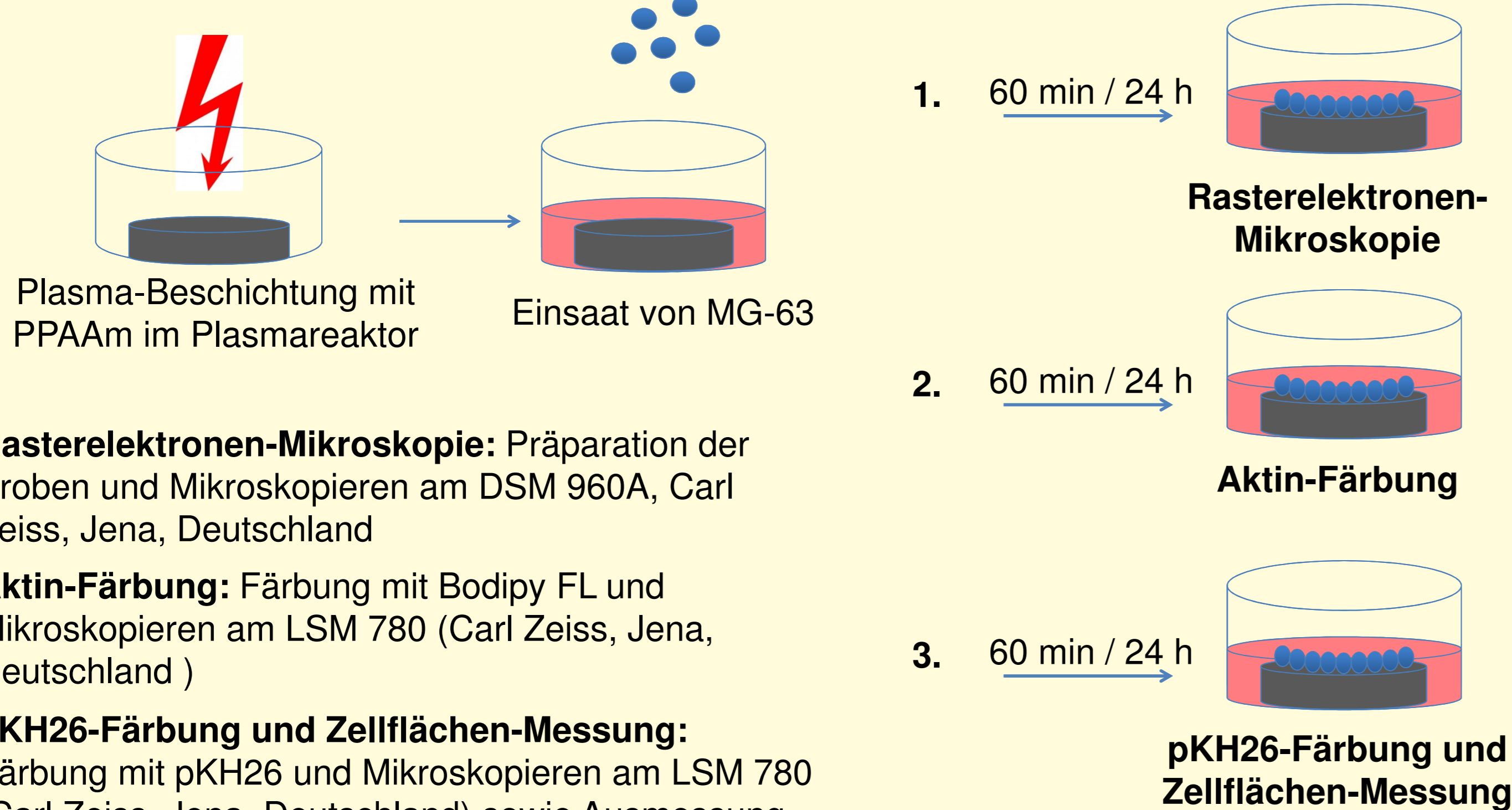
In der vorliegenden Studie wurden zwei unterschiedliche Ansätze verfolgt:

1. Die Insertion einer Kupfer-beschichteten Schraube sollte zur Keimreduktion führen und gleichzeitig einen ausreichenden Knochenkontakt besitzen.
2. Die Insertion einer zelladhäsiv wirkenden Schraube, beschichtet mit plasmapolymersiertem Allylamin (PPAAm), sollte zu einem schnellen Wundverschluss führen und so die Eintrittspforte für Keime verschließen.

Methoden

In vitro Untersuchungen an humanen Osteoblasten auf PPAAm-beschichteten TiAlV-Proben

Schematischer Versuchsablauf:



Rasterelektronen-Mikroskopie: Präparation der Proben und Mikroskopieren am DSM 960A, Carl Zeiss, Jena, Deutschland

Aktin-Färbung: Färbung mit Bodipy FL und Mikroskopieren am LSM 780 (Carl Zeiss, Jena, Deutschland)

pKH26-Färbung und Zellflächen-Messung: Färbung mit pKH26 und Mikroskopieren am LSM 780 (Carl Zeiss, Jena, Deutschland) sowie Ausmessung der Zellflächen mit der Software ImageJ

Neben Aussagen zur Morphologie der Zellen, kann anhand der gewählten Parameter der Grad der Entwicklung als Reaktion auf die PPAAm-Schicht beurteilt werden.

In vivo Untersuchungen an Beagle-Hunden: Insertion von Kupfer- und PPAAm-beschichteten Minischrauben

Schematischer Versuchsablauf:

Zeitpunkt 1 (T1)	Zeitpunkt 2 (T2)	Zeitpunkt 3 (T3)
<p>4 Hunde (2 ♀, 2 ♂)</p>	nach 6 Wochen	nach 7 Monaten
<p>Entnahme einer Gingiva-Biopsie Mikrobiologische Untersuchung Insertion von TiAlV Minischrauben Ko: unbeschichtet Cu: kupferbeschichtet PPAAm: Schicht aus PPAAm</p>	<p>Entnahme einer Gingiva-Biopsie Mikrobiologische Untersuchung</p>	<p>Entnahme einer Gingiva-Biopsie Mikrobiologische Untersuchung Histologische Schnitte für Knochenkontakt-Messung</p>

Der Beaglehund wurde genutzt, da das Keimspektrum dem des Menschen sehr ähnlich ist und der Hund, wie auch der Mensch ein Plaquebildner ist. Weiterhin sind viele Studien mit dentaler Fragestellung am Beagle durchgeführt worden, was eine gute Vergleichbarkeit ermöglicht.

Dieser *in-vitro* Versuch sollte Aussagen zur inflammatorischen Reaktion des Gewebes auf die beschichteten Minischrauben liefern. Insbesondere der Einfluss der Beschichtung auf die Adhäsion von pathogenen Keimen sollte beurteilt werden.

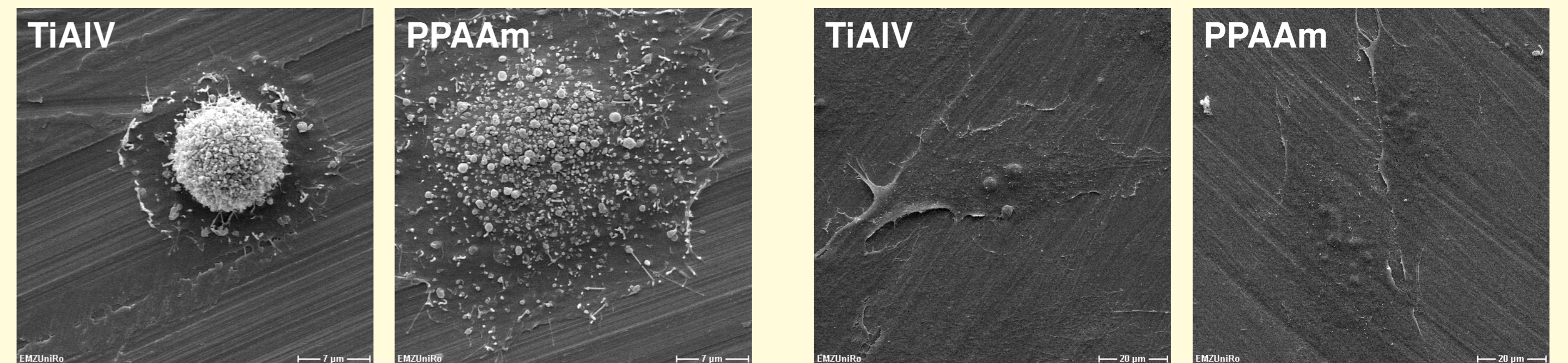
Ergebnisse

In vitro Untersuchungen an humanen Osteoblasten auf PPAAm-beschichteten TiAlV-Proben

Morphologie von humanen Osteoblasten nach

60 min

24 h



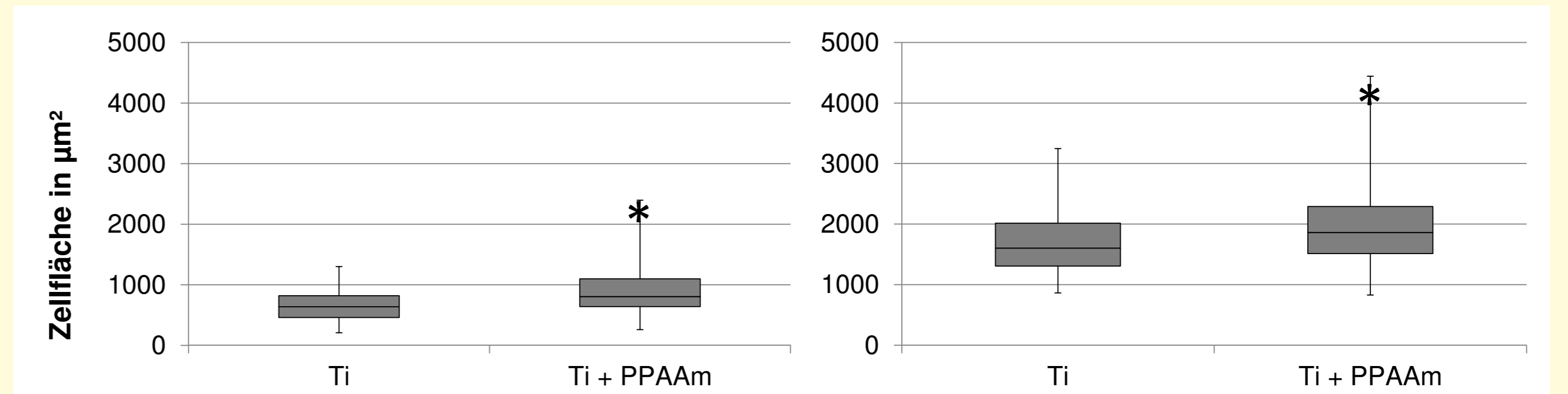
Sowohl nach 60 min als auch nach 24 h ist eine unterschiedliche Entwicklung der Zellen deutlich zu erkennen. Schon nach kurzer Kultivierungsdauer sind die Zellen auf der mit PPAAm-beschichteten Probe weiter entwickelt und die zuvor abgekugelte Zelle ist weiter ausgebreitet.

Nach 24 h Kultivierung sind die Osteoblasten auf beiden Proben ausgebreitet und liegen flach auf dem Material. Auffällig ist auf der PPAAm-Probe, dass zum Teil die Zellränder gar nicht mehr zu erkennen sind und die Zellen geradezu verschmolzen sind mit der Oberfläche. Zu beachten sind die unterschiedlichen Maßstäbe der 60-min- und 24-h-Bilder.

Entwicklung der Zellflächen nach

60 min

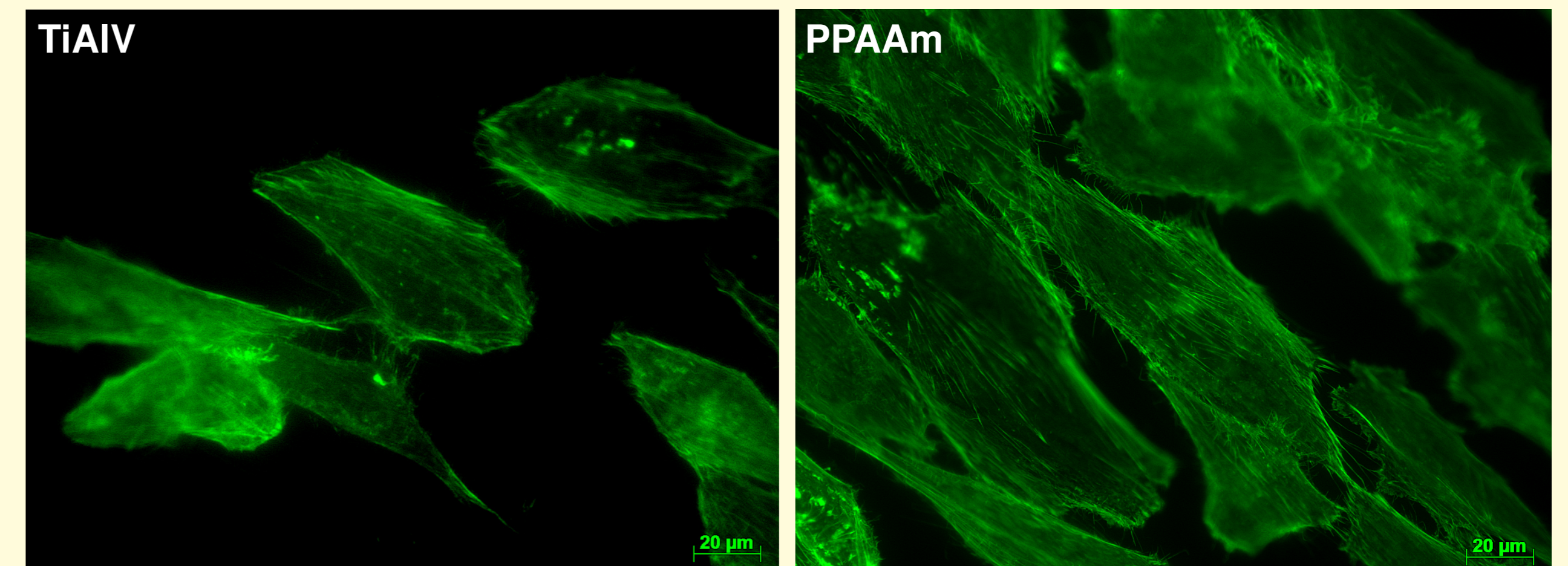
24 h



Die Messung der Zellflächen bestätigt das Bild, welches sich aufgrund der REM-Bilder andeutete. Die Zellen bilden auf der PPAAm-Probe signifikant größere Flächen innerhalb von 60 min als auch nach 24 h. Im zeitlichen Verlauf sind auf beiden Proben erwartungsgemäß die Zellen nach 24 h größer als nach 60 min.

Entwicklung des Aktins nach

24 h



Auch die Färbung des Aktins unterstützt die Aussagen die oben gezeigten Ergebnisse. Die Zellen sind auf beiden Proben nach 24 h ausgebreitet. Dementsprechend hat sich das „Skelett“ der Zelle – das Aktin – auch ausgebildet und durchzieht die gesamte Zelle. Auf der PPAAm-Probe sind die Zellen zum einen größer und das Aktin erscheint deutlicher ausgeprägt.

In vivo Untersuchungen an Beagle-Hunden: Insertion von Kupfer- und PPAAm-beschichteten Minischrauben

Mikrobielle Untersuchungen

Nach Insertion der Schrauben kam es unabhängig von der Beschichtung zum Anstieg der Keimbelastung in allen Hunden. Die mit Kupfer beschichtete Schrauben wiesen die geringsten Keimbelastungen auf. Andererseits führt die zelladhäsiv wirkende PPAAm-Schicht auch zu hohen mikrobiellen Besiedelung der Gingiva. Beide Schichten führten aber zu geringeren Belastungen verglichen mit der unbeschichteten Kontroll-Probe.

Knochenkontaktrate:

Die geringste Rate trat bei den mit Kupfer beschichteten Proben auf und die unbeschichteten Proben zeigten die höchsten Knochenkontaktraten. Eine Schraube, die mit PPAAm beschichtet war, zeigte auch die höchste Keimbelastung. Bei Berechnung der Knochenkontaktrate ohne diesen Wert, ergab sich für die PPAAm-Proben eine Rate auf dem Niveau der Kontrollen.

Ausblick

Diese ersten überzeugenden Ergebnisse der Pilotstudie wie auch der *in vitro*-Analysen müssen in weiteren Untersuchungen vertieft werden, um die Wirkung der Schichten und deren Vor- und Nachteile abschätzen zu können.

Vernetzung

