

Aus dem
Hightech-Forschungs-Zentrum
Center of Advanced Studies in Cranio-Maxillo-Facial Surgery
der Technischen Universität München
(Leiter: Univ.-Prof. Dr.med. Dr.med.dent. Dr.med.habil. Hans-Florian Zeilhofer)

und aus dem
Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung
der Technischen Universität München
(Direktor Prof. Dr.med. Bernd Gänsbacher)
Arbeitsgruppe Experimentelle Chirurgie
Angefertigt unter der Leitung von Priv.-Doz. Dr.med. Dr.med.dent. Dr.med.habil. R. Sader

Eingereicht über
den Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie
am Institut für Tierpathologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Vorstand: Univ.-Prof. Dr.med.vet. Wolfgang Schmahl)

**Osteogenese nach Laserosteotomie mit einem CO₂-Laser
im Vergleich zur Osteotomie mit konventioneller Sägetechnik
– eine tierexperimentelle Studie –**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Christian von Hänisch

aus München

München, 2004

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent: Univ.-Prof. Dr. W. Schmahl
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. W. Klee

Tag der Promotion: 13. Februar 2004

Meiner lieben Mutter

In Memoriam:

„Come Back“, „Bomber“, „Romeo“, „Hippelchen“,
„405“, „Uli“ und „Einauge“

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Grundlagen und Schrifttum	3
2.1	Die Mandibula	3
2.1.1	Histomorphologie der Mandibula des Menschen	3
2.1.2	Osteogene Reparatur im Bereich der Mandibula	6
2.2	Der Laser	8
2.2.1	Das Laserprinzip	8
2.2.2	Der CO ₂ -Laser	10
2.2.3	Andere in der Medizin verwendete Lasertypen	12
2.3	Die Knochenablation mit einem Laser	13
2.3.1	Geschichtlicher Überblick über Laser-Osteotomien	13
2.3.2	Wirkungsmechanismus des Lasers im biologischen Gewebe	14
2.3.3	Die Laserosteotomie: eine Alternative zur herkömmlichen Sägeosteotomie?	16
2.3.4	Indikationen und Kontraindikationen von Osteotomien an der Mandibula	19
2.4	Das Tiermodell	19
2.4.1	Anforderungen an die Tierart	19
3	Eigene Untersuchungen	22
3.1	Zielvorstellungen	22
3.2	Material und Methoden	23
3.2.1	Die Versuchstiere	23
3.2.2	Versuchsanordnung	24
3.2.3	Verwendetes Lasersystem	25
3.2.4	Verwendetes Sägesystem	26
3.2.5	Voruntersuchungen zur Lasertechnik	27
3.2.6	Operatives Modell	29
3.2.7	Operationstechniken: Osteotomie durch Laser und Säge	30

3.2.8	Untersuchungstechniken und Verlauf	32
3.2.8.1	Klinischer Verlauf	32
3.2.8.2	Röntgenologische Verlaufsuntersuchungen	33
3.2.8.3	Polychrome Sequenzmarkierung (PSM)	33
3.2.8.4	Sektion und Probengewinnung	35
3.2.8.5	Probenaufbereitung	35
3.2.8.6	Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung polychrom- markierter Hartschnitte	37
3.2.8.7	Durchlichtmikroskopische Auswertung	38
3.2.8.8	Statistische Auswertung	38
3.3	Ergebnisse	39
3.3.1	Fallbeschreibung	39
3.3.1.1	Hund 1	39
3.3.1.2	Hund 2	42
3.3.1.3	Hund 3	45
3.3.1.4	Hund 4	48
3.3.1.5	Hund 5	51
3.3.1.6	Hund 6	54
3.3.1.7	Hund 7	57
3.3.2	Gesamtübersicht der Ergebnisse	60
3.3.2.1	Operationsverlauf	60
3.3.2.2	Laser-Schnitte	60
3.3.2.3	Säge-Schnitte	60
3.3.2.4	Klinischer Verlauf	60
3.3.2.5	Röntgenologische Kontrolluntersuchungen	61
3.3.2.6	Sektionsbefunde	64
3.3.2.7	Polychrome Sequenzmarkierung	64
3.3.2.7.1	Auswertung: Sägeschnitt	64
3.3.2.7.2	Auswertung: Laserschnitt	64
3.3.2.8	Histologische Auswertung	78
3.3.2.8.1	Auswertung: Laserschnitt	78
3.3.2.8.2	Auswertung: Sägeschnitt	78

4	Diskussion	84
4.1	Material und Methoden	84
4.1.1	Wahl des Versuchstieres	84
4.1.2	Lasersystem und Operationstechniken	85
4.1.3	Untersuchungstechniken	86
4.2	Ergebnisse	87
4.2.1	Fluoreszenzmikroskopie	87
4.2.2	Histologie	90
4.3	Schlussfolgerung und klinischer Ausblick	93
5	Zusammenfassung	94
6	Summary	95
7	Literaturverzeichnis	96
8	Tabellenverzeichnis	105
9	Abbildungsverzeichnis	106
10	Abkürzungsverzeichnis	109
11	DANKSAGUNG	111

1 EINLEITUNG

Die Anwendung von Lasern in der Chirurgie ist bereits seit den sechziger Jahren bekannt. Die damals erstmals im Tierexperiment gelungene blutarme Leberresektion (MULLINS et al., 1968) war erst der Beginn einer großen Entwicklung in der High-Tech-Medizin, dessen Ende noch lange nicht abzusehen ist. Seit dieser Zeit ist die Laserchirurgie zu einem unentbehrlichen Instrument der medizinischen Technologie geworden. Es kamen bislang über 100 Laserarten in den verschiedenen Bereichen der medizinischen Forschung zum Einsatz, die ca. 1000 verschiedene Wellenlängen emittieren. Neben der Tumorchirurgie wird die Lasertechnologie in der modernen Medizin unter anderem in der Nekroseentfernung nach Verbrennungen, in der Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie, in der plastischen Unfall-, Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, der HNO-Chirurgie bei Stimmband-Operationen sowie bei der Chirurgie am Mittelohr und in der Ophthalmologie eingesetzt (HORCH, 1983).

In der Knochenchirurgie versucht man seit Anfang der siebziger Jahre Lasersysteme zu etablieren. Doch trotz der Vielzahl an Vorteilen gegenüber herkömmlichen spanabhebenden Werkzeugen wie Säge, Bohrer oder Fräse hat sich der Laser bis heute noch nicht im Knochenoperationssaal durchsetzen können. Gründe hierfür sind unter anderem die im Wundbereich auftretenden starken Verkohlungszone mit sich anschließender Nekrose und dadurch bedingten Verzögerungen im Heilungsverlauf (KAPLAN und GER, 1973).

Die verwendeten Lasersysteme waren im Rahmen der durchgeführten Tierexperimente zwar anwendbar, aber für den chirurgischen Einsatz aufgrund der genannten Nachteile noch nicht geeignet (DINKELAKER et al., 1989). In Zusammenarbeit mit dem Center of Advanced Studies in Cranio-Maxillo-Facial Surgery der Technischen Universität München und der Stiftung Caesar (Center of Advanced European Studies and Research) soll in der vorliegenden Arbeit ein modifiziertes und neu zusammengestelltes Lasersystem im Tierversuch auf seine chirurgische Einsatzbereitschaft hin untersucht werden. Es basiert auf einem industriellen CO₂-Laser und hat sich in vorausgegangenen In-vitro-Versuchen bereits bewährt. In den eigenen Untersuchungen sollen Osteotomien am Unterkiefer von Beagle-Hunden sowohl mit einer herkömmlichen und etablierten Knochensäge als auch mit dem zu testenden Laser durchgeführt werden. In der sich anschließenden Auswertung wird aufgrund der klinischen, radiologischen, fluoreszenzmikroskopischen und histologischen Befunde der Heilungsverlauf beider Methoden verglichen.

Eine Indikation soll der Laser nach positiv verlaufener Versuchsreihe im Rahmen der Remodellierung von missgebildeten Gesichtszügen (z.B. angeborene, schwere maxilläre

EINLEITUNG

Retro-, und/oder Mikrognathie bzw. mandibuläre Prognathie) und im Bereich der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie finden.

2 GRUNDLAGEN UND SCHRIFTTUM

2.1 Die Mandibula

2.1.1 Histomorphologie der Mandibula des Menschen

Strukturell wird der Unterkieferknochen den Lamellenknochen zugeordnet. Neben der homogen erscheinenden Kortikalis (Substantia compacta), die den Knochen medial und lateral nach außen hin begrenzt, liegt dazwischen die schwammartig aufgebaute Spongiosa (Substantia spongiosa). In der Kortikalis sind die kollagenen Fibrillen in festen Lamellensystemen angeordnet. Auf einem Querschnitt unterscheidet man verschiedene Lamellenarten (DELLMANN und BROWN, 1987). (Abb. 1 bis 4)

- a.) Äußere Grundlamellen (Laminae externae)
- b.) Havers-Lamellen
- c.) Schaltlamellen
- d.) Innere Grundlamellen (Laminae internae)

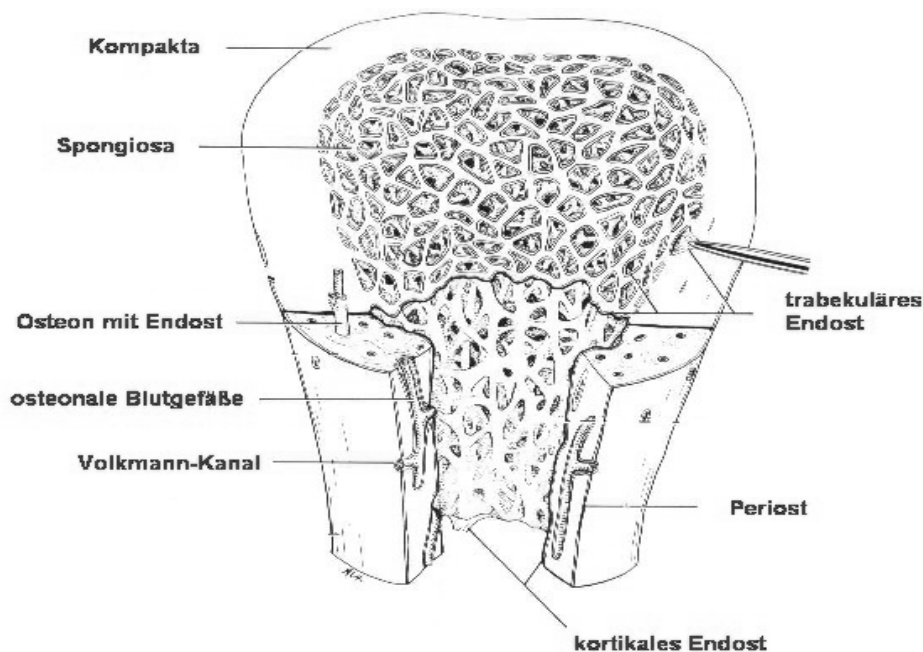


Abb. 1: Der Lamellenknochen 1 (modifiziert nach: BANKS, 1981)

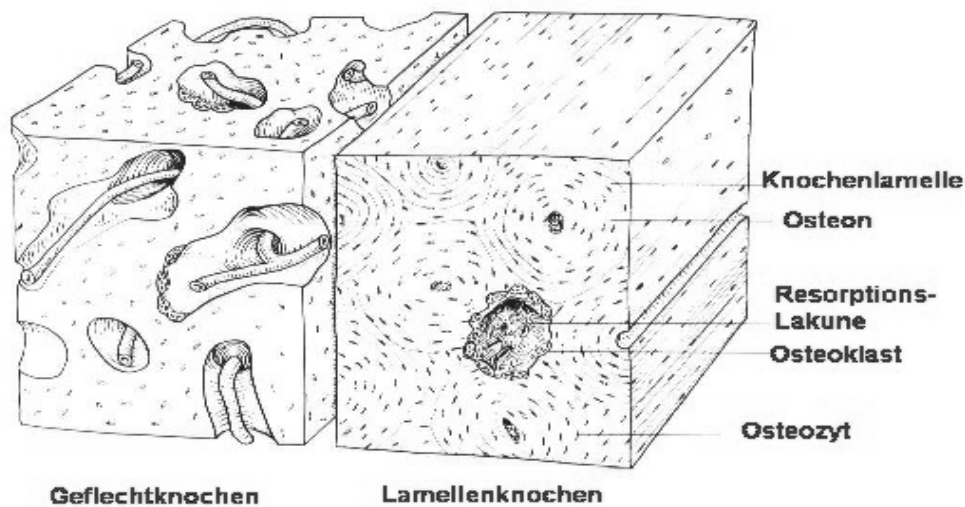


Abb. 2: Der Lamellenknochen 2 (modifiziert nach: BANKS, 1981)

Die strukturelle Grundlage des Lamellenknochens ist das Osteon. Es ist umkleidet von 5 bis 20 Havers-Lamellen mit je 5 bis 10 μm Dicke. Die Havers-Lamellen bestehen aus parallel liegenden, gestreckten Kollagenfaserbündeln von 2 bis 3 μm Dicke. Der Faserverlauf geht spiralartig am Osteon entlang und läuft entgegengesetzt der Laufrichtung der Kollagenfasern in der Nachbarlamelle. Im Inneren umschließen die Havers-Lamellen den Havers-Kanal mit Blutgefäßen und vegetativen Nervenfasern. Osteone können zwischen 5 mm und mehreren Zentimetern lang sein. Sie sind parallel zur Längsachse des Knochens angeordnet und horizontal mit Volkmann-Kanälen verbunden. Diese sind jedoch im Unterschied zu den Havers-Kanälen nicht mit Lamellen umgeben. In oder zwischen den Havers-Lamellen liegen die spindelförmigen Osteozyten in langgestreckten Lakunen. Mit ihren langen Fortsätzen sind die Osteozyten über Knochenkanälchen miteinander in Verbindung, um die Zellernährung zu gewährleisten, da die Diffusion durch die verkalkte Knochenmatrix nicht möglich ist. Die Schaltlamellen liegen zwischen den einzelnen Osteonen und stellen Reste alter, abgebauter Osteone dar. Sogenannte Kittlinien schließen die Systeme nach außen hin ab und nur wenige Osteozyten können diese durchdringen und Kontakt mit dem Nachbarosteon aufnehmen.

Die Spongiosa ist vom lamellären Aufbau her ähnlich, jedoch weniger regelmäßig aufgebaut, was die Gesamtstruktur schwammartig aussehen lässt. Havers- und Volkmann-Kanäle lassen sich nicht mehr deutlich unterscheiden. In den Maschenräumen der Spongiosa befindet sich vornehmlich rotes, blutbildendes Knochenmark (DELLMANN und BROWN, 1987).

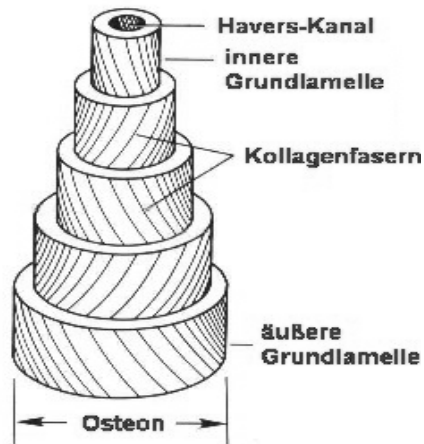


Abb. 3: Der Aufbau eines Osteons (modifiziert nach: BANKS, 1981)

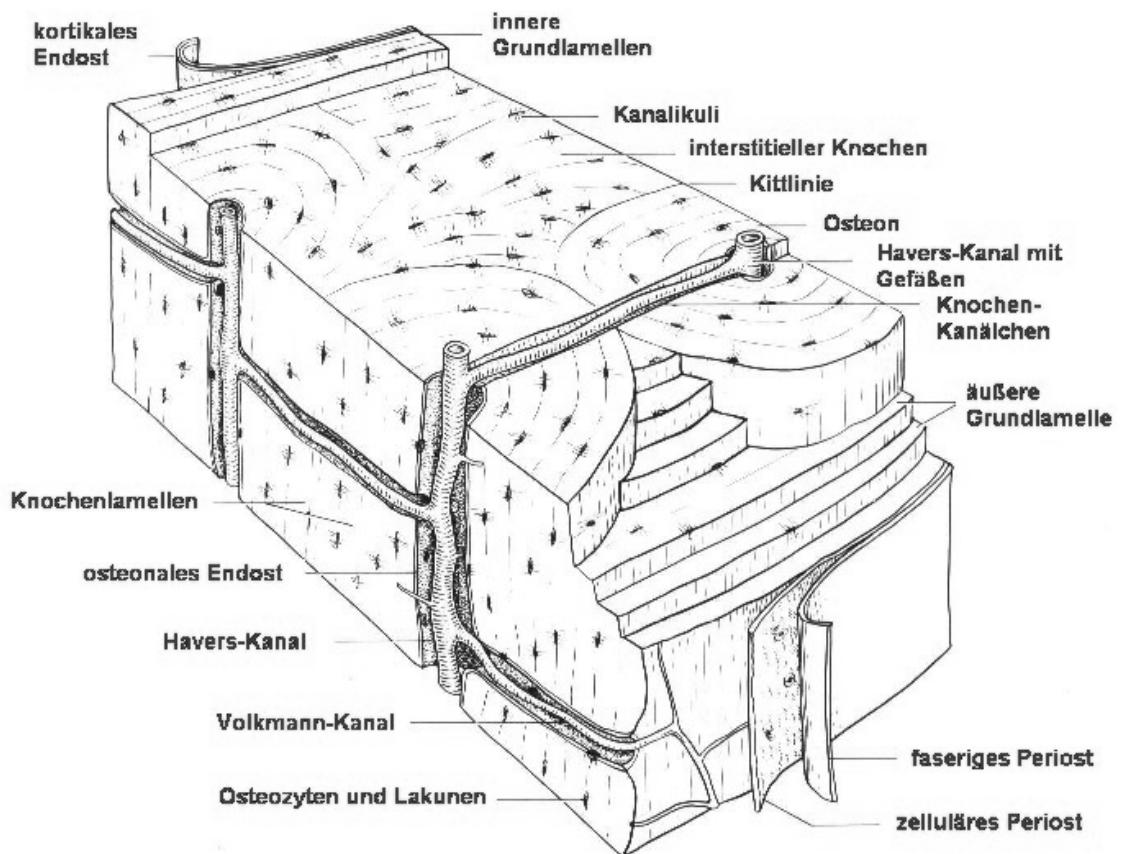


Abb. 4: Das Osteon (modifiziert nach: BANKS, 1981)

Die Festigkeit des Knochens beruht auf der Härtung der organischen Grundsubstanz durch Mineralsalze, die den kollagenen Fasern als elektronenmikroskopisch sichtbare Kristalle von der Form des Hydroxyl-Apatits angelagert sind. Die chemische Analyse des Knochengewebes ergibt für einen Menschen mittleren Alters die in Tabelle 1 dargestellte Zusammensetzung in Gewichtsprozent (SCHOLZ und GROTHUES-SPORK, 1992).

Tab. 1: Knochenzusammensetzung

20 % organische Matrix

95 % Kollagen (Grundsubstanz, bestehend aus Glykoaminoglykanen)

5 % nicht-kollagene Proteine, Lipide, Kohlenhydrate

60 % anorganische Salze

85 % Hydroxyl-Apatit $\text{Ca}_5\text{OH}(\text{PO}_4)_3$

10 % Kalzium-Karbonat CaCO_3

1,5 % Magnesiumphosphat $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$

20 % Wasser

2.1.2 Osteogene Reparatur im Bereich der Mandibula

Zu den auf die Knochenheilung Einfluss nehmenden Faktoren gehört zum einen die durch den Grad der Immobilisation bestimmte Stabilität der Frakturen zueinander. Je stabiler der Bruch rekonstruiert ist, desto schneller schreitet auch die Reparatur voran. Zudem spielt das Alter des Verletzten eine Rolle, da Heilung bei älteren Patienten stoffwechselbedingt langsamer voranschreitet. Des Weiteren haben auch Krankheiten und Infektionen einen großen Einfluss, wobei man letztere noch unterteilt in allgemeine und von der Fraktur ausgehende Infektionen. Zusätzlich spielen noch nutritive und metabolische Faktoren eine Rolle in dem Voranschreiten der Knochenheilung. Aufgrund dieser Faktoren kann man auch eine primäre und eine sekundäre Knochenheilung unterscheiden (BANKS, 1981):

Die primäre Knochenheilung:

Grundlegender Unterschied zwischen den beiden Arten der Frakturheilung ist, dass bei der primären Knochenheilung die Remodellierungsaktivitäten größer sind als die Resorptionsaktivitäten. Es findet eine direkte Knochenneubildung ohne Kallusformation statt. Voraussetzung dafür ist eine durch die Fraktur unbeeinträchtigte Blutzirkulation im gesamten

betroffenen Bereich. Zudem müssen die Frakturrenden bei der Rekonstruktion absolut lückenlos aufeinandergesetzt sein und eine vollständige Immobilisation muss gewährleistet sein, was in der Regel nur durch Fixierung durch eine Plattenosteosynthese o.ä. erreicht werden kann (PERREN et al., 1969; BANKS, 1981).

Die sekundäre Knochenheilung:

Bei der sekundären Frakturheilung handelt es sich um eine sich wiederholende enchondrale Ossifikation. Sie tritt vor allem bei fehlender vollständiger Immobilisation auf durch Stabilisierungsmethoden wie Verbände, Pins o.ä. Es ist eine Knochenneubildung mit Kallusformation und kann im Folgenden in verschiedene Phasen unterteilt werden (PERREN et al., 1969):

In der ersten Phase wirkt das schwere Trauma auf den Knochen ein. Dabei wird in den meisten Fällen auch das umgebende Weichgewebe verletzt, was zu Blutungen aus der Umgebung und aus den Gefäßen der frakturierten Knochenenden führt. Durch den Thrombus im Bruchspalt und die Zerstörung der Gefäße kommt es zu einer Unterbrechung der Blutzirkulation im Knochen mit sich anschließender Devitalisierung und Nekrotisierung der Umgebung der betroffenen Gefäße. Die entstandene Minderversorgung betrifft auch die Osteozyten in diesem Bereich, was zu ihrem Absterben führt. Folge der Degeneration der Osteozyten sind mikroskopisch sichtbare, leere Osteozyten-Lakunen. Diese Zone reicht zurück bis zu den nächsten durch das Trauma nicht geschädigten Blutgefäßen (PERREN et al., 1969).

Die sich anschließende inflammatorische Phase wird von einer Reihe Faktoren ausgelöst. Die Entzündungsmediatoren werden sowohl durch die Unterbrechung der Gefäßversorgung, als auch durch die auftretende Blutung und den sich anschließenden Thrombus zwischen den Frakturrenden aktiviert. Es kommt zu einem Abbau des abgestorbenen Gewebes durch die Entzündungszellen und im Anschluss zu einer Reorganisation des Thrombus (PERREN et al., 1969).

In der Phase der Reparation kommt es im direkten Anschluss durch die Fibrinolyse während des Abbaus des Gerinnungsthrombus zu erhöhten Zellaktivitäten in diesem Bereich, da die Mediatoren nun verstärkt Phagozyten, Präosteoblasten, Fibroblasten, Osteoklasten und Chondroblasten an sich binden. Vom Endost ausgehend entsteht somit der interne Kallus, der den Frakturspalt von innen her zuerst als Granulationsgewebe, später über dichtes Bindegewebe und das abschließende Knochengewebe überbrückt. Gleichzeitig kommt es auch im Periost zu starken mitotischen Aktivitäten. Durch eine starke Hyperplasie aufgrund

vermehrter Proliferation von Präosteoblasten entsteht der externe Kallus, der den Bruchspalt von außen her überbaut. Von diesem aus sprießt auch ein neues Gefäßgeflecht vom Rand aus in den Frakturbereich ein. Durch die neuen Gefäße wandern u.a. Osteoklasten in die abgestorbenen Knochenbereiche ein. Diese lassen durch Abtragen des toten Materials Resorptions-Gänge entstehen, die im Anschluss durch neu gebildete Osteone wieder ausgefüllt werden. Weitere, noch undifferenzierte, Mesenchymzellen werden über Mediatoren im Bruchspalt freigesetzt. Ihre Differenzierung ist abhängig von der Blutgefäßversorgung. Gefäßnahe Zellen differenzieren sich zu Osteoblasten und wirken an der Trabekelbildung mit, während die gefäßfernen Zellen (> 2 mm) sich zu Chondroblasten differenzieren und im Bereich des externen Kallus die vorerst knorpelige Grundstruktur bilden. Diese wird später im Rahmen der enchondralen Ossifikation durch Knochengewebe ersetzt (PERREN et al., 1969). Die Phase der Remodellierung des Knochens beginnt bereits parallel zur inflammatorischen Phase und sie beschreibt den Auf-, Um- und Abbau des provisorischen Gewebes bis die ursprüngliche Knochenstruktur wiederhergestellt ist. Durch Resorption wird auch der externe Kallus wieder abgebaut (PERREN et al., 1969).

2.2 Der Laser

2.2.1 Das Laserprinzip

LASER ist das englischsprachige Akronym von „Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation“, also Lichtverstärkung durch stimulierte Strahlungsemission. Es handelt sich dabei um einen Generator und Verstärker für weitgehend kohärente, monochromatische, elektromagnetische Wellen. Die Frequenzen erstrecken sich dabei v.a. vom ultravioletten bis zum infraroten Bereich, aber auch darüber hinaus (HORCH, 1983).

Als Lasermedium kommen zum einen Festkörper in Frage. Dabei werden Kristalle oder Gläser, die mit Metallatomen und/oder seltenen Erden dotiert sind (z.B. Rubinkristalle oder Neodym dotierte Kristalle) durch optisches Pumpen, d.h. durch Einstrahlen von Licht in das aktive Material angeregt. Das Licht wird von Atomen des Lasermediums absorbiert und hebt die Leuchtelektronen in höhere Energieniveaus. Zu den Lasermedien gehören neben den Festkörpern auch Gase wie Kohlendioxid oder Argon, bei denen die Atome bzw. Moleküle durch Gasentladungen angeregt werden. Dies erfolgt entweder direkt durch Stoß der beschleunigten freien Elektronen oder durch Übertragung der Energie anderer durch Elektronenstoß angeregter Atome oder Moleküle. Bei einem CO₂-Laser müssen beispielsweise ca. 1000 W elektrische Leistung in der Gasentladung umgesetzt werden, um

100 W Laserleistung mit einer Wellenlänge von $10,6 \mu\text{m}$ zu erzeugen. Weitere Lasermedien sind Halbleiterelemente und Flüssigkeiten (z.B. Lösungen organischer Farbstoffmoleküle). Insgesamt ist seit Entwicklung des ersten Rubinlasers (1960) Laseremission aus vielen Hunderten verschiedenen Substanzen erzielt worden. Die Zufuhr von Energie erfolgt im Wesentlichen durch Gasentladungen, chemische Reaktionen, elektromagnetische Strahlung im hochfrequenten und optischen Bereich oder direkt durch elektrischen Strom (HORCH, 1983).

Beim Lasereffekt werden die Atome oder Moleküle des geeigneten Mediums durch Energiezufuhr in einen angeregten Zustand versetzt. Übersteigt die Anzahl der Atome im angeregten Zustand die Zahl derer im Grundzustand (= Inversion), dann ist die Voraussetzung für die angestrebte induzierte Emission gegeben: Trifft nun ein Strahlungsquant auf ein im angeregten Zustand befindliches Atom, so wird von diesem ein Photon abgegeben und es geht zurück in den Grundzustand. Bringt man das aktive Medium zwischen einen hochreflektierenden und einen teildurchlässigen Spiegel (Laserstrahl-Austrittsöffnung), so stimulieren die Photonen durch Vielfachreflexionen in dieser als Resonator bezeichneten optischen Anordnung weitere angeregte Atome bzw. Moleküle zur Emission. Es kommt somit zu einem Lawineneffekt. Der Austrittsort des Laserstrahls ist einer der beiden Resonatorspiegel. Dieser ist im Gegensatz zu dem hinteren Spiegel halbdurchlässig und mit Hilfe einer Linse wird der Strahl dort gebündelt und zu dem Arbeitsfeld geführt (MÜLLER und BERLIEN, 1986).(Abb. 5)

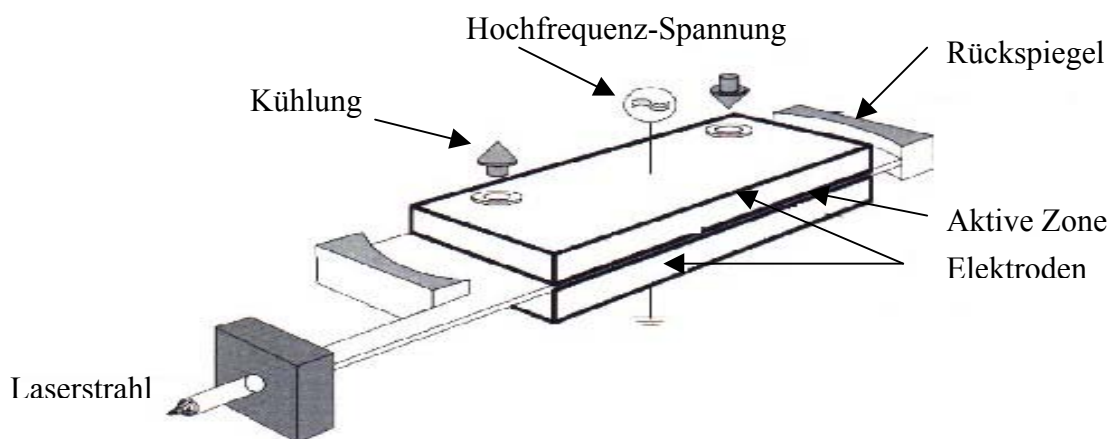


Abb. 5: Der schematische Aufbau eines Lasers (CAESAR, 2001)

2.2.2 Der CO₂-Laser

Der CO₂-Laser hat eine hohe Ausgangsleistung von mehreren 100 W bei einer Wellenlänge von 10,6 µm. Der Kohlendioxid-Laser wurde anfangs als „Lichtskalpell“ bezeichnet und das erste Gerät wurde 1964 von PATEL (1964) konstruiert. Damals wurden die Geräte noch mit reinem CO₂-Gas betrieben. Erste experimentelle Arbeiten für die Anwendung in der Medizin fanden Mitte der sechziger Jahre durch POLANYI (MÜLLER und BERLIEN, 1986) statt und GOLDMAN et al. (1970) sowie KAPLAN und GER (1973) setzten erste Maßstäbe für den Einsatz an Knochenstrukturen.

Bei der Anwendung in der Knochenchirurgie können thermische Schädigungen des Gewebes durch die Wahl einer Wellenlänge, die in hohem Maße absorbiert wird, minimiert werden (SPENCER et al., 1998). Da Wasser bei der Wellenlänge des CO₂-Laserlichtes (10,6 µm) eine sehr hohe Absorption aufweist, ist der CO₂-Laser u.a. für das Schneiden von Knochen sehr gut geeignet und die Energie des Lichtstrahls kann bis zu 90% vom Gewebewasser aufgenommen werden (s. Kap. 2.3.2) (FORTUNE et al., 1998; FRIESEN et al., 1999). Er hat nur eine geringe Eindringtiefe in das Gewebe und die Wärmestrahlung breitet sich so nicht zu weit in das umliegende Gewebe aus. Eine Schnitttiefe von 5 bis 10 mm ist bei ausreichender Schnittpalt-Kühlung ohne signifikante Nekrosegefahr gut erreichbar. Bei Osteotomien entstehen im Vergleich zu anderen Lasertypen, die in der Medizin verwendet werden, nur sehr schmale Nekrosezonen an den Schnitträndern (PRESTELE et al., 1975). Die geringe Tiefenwirkung beim Schneiden bewirkt jedoch auch, dass ihm nur eine geringe Koagulationswirkung bei Blutgefäßen zugesprochen wird (BOULNOIS, 1986).

Essentiell für den Einsatz von CO₂-Lasern in der Knochenchirurgie ist die ausreichende Sprühkühlung der Osteotomiestellen während des Schneidens. Nur so kann eine ausreichende Absorption der Energie gewährleistet werden. Die Anwesenheit von dem im Wasser enthaltenen Sauerstoff oder dessen Radikale führt weiterhin dazu, dass geringere Mengen von schädlichen Stoffen wie Kohlenmonoxid, Blausäure oder Benzol entstehen. Hiermit ergibt sich für die Operateure bzw. das medizinische Personal ein vermindertes Gesundheitsrisiko. Durch diese Radikalfänger werden die Schadstoffe gebunden und es entsteht mit Kohlendioxid ein stabiles Endprodukt der vollständigen Verbrennung. Zusätzlich bewirkt das Wasser ein verbessertes therapeutisches Ergebnis, da die Austrocknung des Schnittkanals verhindert und gleichzeitig die Absorptionseigenschaften für die Laserstrahlung unverändert bleiben. Ein positiver Nebeneffekt ist, dass es durch das Wasser zu einer Kühlung des Gewebes am Schnittrand kommt und die thermische Schädigung weiter minimiert werden kann. Wird allerdings eine zu große Wassermenge eingesetzt, so wird durch den CO₂-Laser

hauptsächlich Wasser und weniger Knochen bzw. anderes Gewebe verdampft. Zudem führt die übermäßige Spülung des Schnittbereiches zu einer deutlichen Reduzierung der Schnitttiefe. Die optimale Wassermenge beträgt etwa 2,5 ml pro Minute und sollte in Form eines dichten Sprühnebels zugeführt werden. Dies hat in Studien die Schnittkanaltiefe in 50% der Fälle sogar verbessern können, da die Einkoppelung des CO₂-Lasers in die Reaktionszone verbessert ist (KUBO et al., 1988; TODOROV et al., 1998). Die Pulswiederholungsrate des Lasers und die Wassermenge muss so gewählt werden, dass das Wasser, das nach dem Heraussprengen der ersten Knochenteilchen in den Schnittspalt läuft, verdampft werden kann und die Höhle sich nicht vollständig füllt (GERMAN et al., 1997).

Bei dem Einsatz von CO₂-Lasern darf nur nicht-reflektierendes Instrumentarium verwendet werden, da es sonst zu Wärmeentwicklungen auf bis zu 53°C im Umkreis der Operationsstelle kommen kann (NEIBURGER und MISERENDINO, 1988).

Weiter ist es unerlässlich bei dem Gebrauch von CO₂-Lasern eine Rauchabsaugung zu verwenden. Neben der Geruchsverminderung dient sie auch zur Vermeidung von Kontamination von Operationsfeld, Operationsraum und Atemluft. Dabei werden auch die abgesprengten Knochenteilchen aufgefangen und dem Operateur wird zudem noch eine klare Sicht auf das OP-Feld gewährleistet (GÜNTER et al., 1979).

Bei jeglicher Art von Einsatz eines CO₂-Lasers in der Medizin ist es auch empfehlenswert, den Laser über einen computergesteuerten Scanner führen zu lassen. Dadurch wird ungenaues Arbeiten durch manuell geführte Laserschneidköpfe verhindert und es können höchst präzise Schnitte mit Breiten von bis zu 0,5 mm angefertigt werden (HORCH et al., 1977).

Neben den genannten Anwendungsmöglichkeiten findet der CO₂-Laser auch in anderen Bereichen der Medizin Verwendung. Ein Gebiet dabei ist die Orthopädie. Hier kann der Laser bei der operativen Verkürzung bzw. Verlängerung von Extremitäten eingesetzt werden. Die Resektion von Knochtumoren wäre eine weitere mögliche Nutzung wie auch die atraumatische Gewinnung von Knochenbiopsiematerial. Neben der Orthopädie ist auch ein Einsatz in der Urologie, in der positive Ergebnisse mit dem CO₂-Laser bei Nierenpolresektionen erzielt wurden, möglich wie auch in der Thorax-, Herz und Gefäßchirurgie. In der oralen Weichteilchirurgie hat sich der Laser ebenfalls fest etabliert. Zudem werden solche Lasersysteme bei der Nekroseentfernung bei Verbrennungen eingesetzt, und auch die Entfernung von Rektumtumoren wird diskutiert (HORCH, 1983).

2.2.3 Andere in der Medizin verwendete Lasertypen:

Der Neodym-Yttrium Aluminium Garnet-Laser (Nd:YAG-Laser)

Der Neodym-YAG-Laser hat mit seiner Wellenlänge von 1,06 μm eine sehr große Eindringtiefe in biologisches Gewebe. Dies führt zu einer sehr guten Koagulationswirkung bei Blutgefäßen im zu operierenden Bereich. Auch das atraumatische Arbeiten im Weichgewebe und die Heilung mit geringer Narbenbildung sind als Vorteile zu nennen. Nachteilig für das Arbeiten am Knochen ist die angesprochene Tiefenwirkung, die aufgrund der guten thermischen Leitungseigenschaften von knöchernem Gewebe durch die starke Wärmebildung zu ausgeprägten Nekrosezonen im Osteotomiebereich führt. Zur Anwendung kommt dieser Laser daher vor allem in der Weichteilchirurgie wie z.B. bei der endoskopischen Zerstörung von Blasen Tumoren oder bei Leberresektionen, in der Neurochirurgie und in der Ophthalmologie (PRESTELE et al., 1975; HORCH, 1983).

Der Argon-Laser

Wie der Neodym-YAG-Laser eignet sich der Argon-Laser aufgrund seiner Wellenlänge (0,488 und 0,514 μm) sehr gut für die Koagulation von Blutgefäßen. Dies liegt vor allem an der Nähe der Wellenlänge zu der Absorptionswellenlänge des Hämoglobins. Anwendung findet der Argon-Laser daher vor allem in der Weichteilchirurgie u.a. bei der Stillung von Magenblutungen. Aber Grundlagenuntersuchungen am Innen- und Mittelohr haben gezeigt, dass der Laser als präzises mikrochirurgisches Instrument an Kochlea und Labyrinth einsetzbar ist, ohne die Bereiche der Umgebung zu schädigen. Ein weiterer Einsatzbereich in der Medizin ist die Ophthalmologie. Hier wird er zur Funduskoagulation und Behandlung von Netzhautablösungen, Glaukom und diabetischer Retinopathie eingesetzt. In der Dermatologie kommt er bei der Behandlung von Pigmentmalen, Basaliomen und Melanomen zum Einsatz und auch bei der Entfernung von Tätowierungen hat er sich bewährt (MESTER et al., 1976; WEIGANT, 1993). In der Neurochirurgie werden Argon-Lasersysteme zur Behandlung peripherer Nervenläsionen verwendet (RAYAN et al., 1991).

Der Rubin-Laser

Der Rubin-Laser wurde 1961 als erster Laser in der Medizin eingesetzt und bewies bei der Leber-Teilresektion bei einem Schwein seine hervorragende koagulierende Wirkung. Aufgrund der Wellenlänge von 0,694 μm erreicht ein solches Lasersystem eine sehr große Gewebetiefe und wird neben der Weichteilchirurgie vor allem in der Ophthalmologie

eingesetzt. Genutzt wird er dort vor allem zur Netzhautschweißung nach Ablösungen und zur Beseitigung von Netzhautgeschwüren (WEBER und HERZIGER, 1978).

Der Erbium-YAG-Laser

Der Erbium-YAG-Laser hat eine Wellenlänge von 2,94 μm und weist nur eine geringe Fähigkeit zur Koagulation von Gefäßen auf. In Gewebe hat er eine mittlere Schneidleistung, die ein solches Lasersystem in begrenztem Maße sowohl in der Weichteilchirurgie als auch zur Ablation in Knochengewebe einsetzbar macht (LEWANDROWSKI et al., 1996). Neben der Knochenchirurgie werden Erbium-YAG-Laser heute auch in der Zahnmedizin und in der Ophthalmologie verwendet (WEIGANT, 1993).

Der Holmium-YAG-Laser

Ähnliche Einsatzgebiete wie der Erbium-YAG-Laser kommen auch für den Holmium-YAG-Laser in Betracht. Seine Wellenlänge ist mit 2,1 μm nur geringfügig niedriger. Dennoch macht sich das beim direkten Vergleich in Versuchen zur Ablation bemerkbar. Bei Osteotomie-Studien wiesen Holmium-YAG-Laser sehr viel größere Karbonisationszonen auf und die Knochenheilung war stärker verzögert (NUSS et al., 1988). Neben der mittleren Schneidleistung zeichnet er sich durch eine sehr gute blutstillende Wirkung aus, die ihn in der Weichteilchirurgie und in der Ophthalmologie zum Einsatz kommen lässt (HORCH, 1983).

2.3 Die Knochenablation mit einem Laser

2.3.1 Geschichtlicher Überblick über Laser-Osteotomien

Die Geschichte des Lasers in der Medizin ist die Geschichte des Lasers schlechthin. Nach der Entdeckung des Lasereffekts 1960 durch MAIMANN wurde ein Rubin-Laser 1961 erstmals von CAMPBELL und RITTLER (1970) in der Ophthalmologie eingesetzt. Erstmals führten GOLDMAN et al. (1970) Schnittversuche am Knochen mit dem CO_2 -Laser durch. PRESTELE et al. berichteten 1975, dass Schnittqualität und Schnittgeschwindigkeit von der genauen Einstellung von Laserfokus und der Laserausgangsleistung abhängig seien sowie Spülungen der Schnittstelle mit einem durch die Austrittsöffnung der Laseroptik geblasenen Gas geeignet sein sollen, Schnitttiefen von 5 bis 10 mm zu erreichen.

In den folgenden Jahren wurden von mehreren Seiten (KÖNIGSMANN et al, 1977; HORCH und KEIDITSCH, 1980) übereinstimmende Vermutungen geäußert, dass die verzögerte Knochenheilung durch die an den Schnittträgern auftretenden Verkohlungszone verursacht

wird. Diese Studien wurden größtenteils mit leistungsstarken Industrielasern vorgenommen, die tierexperimentell zwar anwendbar, für den klinischen Einsatz jedoch nicht geeignet waren. Anfang der 80er Jahre fanden durch HORCH (1983) erste detaillierte Untersuchungen über Laser-Osteotomien bei winkelverändernden Operationen mit einem chirurgisch einsetzbaren CO₂-Laser statt. Im Anschluss wurden von gleicher Stelle umfangreiche Studien über die Laserosteotomie und die sich anschließenden Knochenheilungsvorgänge durchgeführt. Doch waren bis zum heutigen Zeitpunkt die Resultate der tierexperimentellen Arbeiten trotz enormer Fortschritte in der Verfeinerung der Methoden nicht ausreichend überzeugend für einen Einsatz in der Praxis (HORCH 1984).

2.3.2 Wirkungsmechanismus des Lasers im biologischen Gewebe

Das Absorptionsvermögen von biologischen Geweben ist von der Wellenlänge des Lichtes abhängig. CO₂-Laserstrahlung der Wellenlänge 10,6 µm wird im Knochen sehr stark absorbiert und hat so nur eine Eindringtiefe von einigen Mikrometern. Die CO₂-Laserstrahlung wird besonders stark im mineralischen Anteil des Knochens – dem Hydroxyapatit – absorbiert, aber auch im eingelagerten Wasser des Knochens. Daher ist der Einsatz von CO₂-Lasern für Osteotomien besonders gut geeignet. Die Energie des Laserstrahls wird dabei in unmittelbarer Nähe der bestrahlten Oberfläche frei und die obersten Schichten werden punktuell über kurze Zeit sehr stark erhitzt und vaporisiert. Die Eindringtiefe von CO₂-Lasern beträgt etwa 0,1 mm (PARRISH und WALSH, 1985). Ein Neodym-YAG-Laser hat dazu im Vergleich eine Wellenlänge von 1,06 µm und eine deutlich größere Eindringtiefe von 2 mm, was durch eine geringere Absorption im Gewebe bedingt ist und die Konzentration der Wärme in den oberen Knochenschichten zur Knochenabtragung verhindert. Je schlechter die Absorption ist, desto geringer ist die Schnittwirkung und desto größer ist der Gewebebereich, der erwärmt wird. Die geringere Wärmeentwicklung pro Volumeneinheit im Knochen führt zu einer längeren Zeitspanne bis zum Verkochen des Materials und die längere Wärmebelastung hat eine größere Nekrosebreite zur Folge (s. Abb. 6). Aufgrund der hohen Absorption der CO₂-Laserstrahlung im Knochen wird nahezu 100% des Laserlichts vom Gewebe absorbiert und es findet nur eine sehr geringe Reflexion des Strahls statt. Nach dem Auftreffen und der sich anschließenden Absorption wird die Lichtenergie in Wärme umgesetzt und führt so zu einer Erwärmung des Gewebes. Ist die Leistungsdichte der Strahlung gering, so kommt es nur zu einer leichten Temperaturerhöhung. Die Wärme kann jedoch ohne Gewebeschädigung wieder abgeführt werden. Bei höherer Leistung führt der hohe Temperaturanstieg, der jedoch nicht mehr schnell genug abgeführt

werden kann, zu einer Proteindenaturierung und sich anschließender Koagulationsnekrose im betroffenen Gewebe (JAMES et al., 1986; HENDRICK und MEYERS, 1995). Bei einer weiteren Temperaturerhöhung und Überschreiten der kritischen Grenze kommt es durch die mangelhafte Wärmeabfuhr zu einer explosionsartigen Verdampfung des Gewebewassers. Dies hat zur Folge, dass der Knochen um das Gewebewasser in kleinsten Teilchen abgesprengt und mit herausgeschleudert wird. Dadurch kann auch die entstandene Wärme wieder abgeführt werden und ein Hitzestau mit thermischer Diffusion im Knochengewebe als Folge wird vermieden (MEYER et al., 1979; IZATT et al., 1990; PIERCE et al., 2000). Bei diesem Vorgang, der auch als Knochenablation bezeichnet wird, besteht die Gefahr, dass es in den angrenzenden Gewebebereichen, in denen diese kritische Temperaturgrenze nicht überschritten wird, zu den oben genannten Koagulationsnekrosen kommt (HORCH, 1983; IVANENKO und HERING, 1998-b).

Um den Knochen möglichst schonend abzutragen ist es zudem möglich den Schnitt mehrfach abzufahren. Dabei wird der Laser in hohen Wiederholungssequenzen über die gesamte Schnittstelle und wieder zurück geführt. Der Vorteil dieser Methode ist die punktuell nur sehr kurze Bestrahlungszeit mit einer somit nur geringen thermischen Belastung, da die Wärme sich in der kurzen Zeit kaum ausbreiten kann. Bei dieser Technik steigt die Schnitttiefe jedoch nicht proportional zur Anzahl der Schnittdurchgänge. Der Strahl erfährt bei zunehmender Schnitttiefe eine Defokussierung und die Energieverluste in der Tiefe nimmt durch Absorption, Streuung und Wärmeleitung an den größer werdenden Schnittflächen zu (SCHOLZ und GROTHUES-SPORK, 1992).

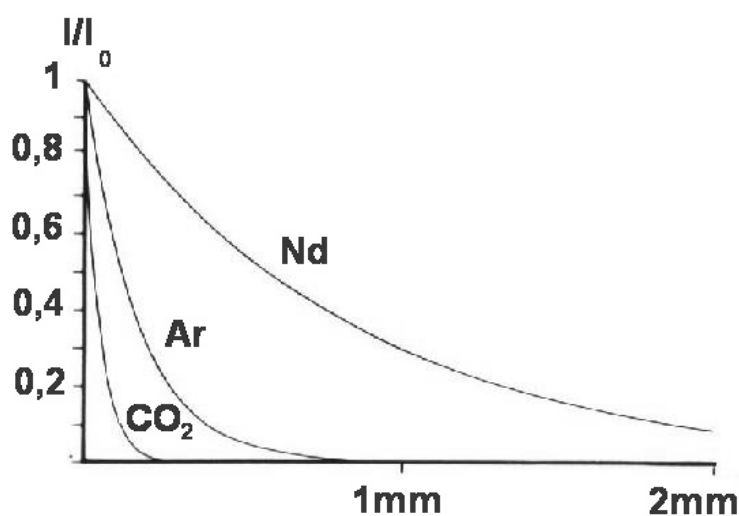


Abb. 6: Abnahme der Strahlungsintensität in biologischem Gewebe (modifiziert nach WELLING et al., 1976)

2.3.3 Die Laserosteotomie: eine Alternative zur herkömmlichen Sägeosteotomie?

Ein potentieller Vorteil einer Anwendung von Lasern in der Medizin gegenüber den herkömmlichen, spanabhebenden Werkzeugen wie Säge, Bohrer oder Fräse ist das verminderte Infektionsrisiko. Dies ist bedingt durch das berührungsfreie Arbeiten im Operationsfeld. Dabei kommt nur der aseptische Laserstrahl mit der Wunde in Kontakt und die Gefahr von bakteriellen Besiedelungen kann somit reduziert werden (GÜNTER et al., 1979). Aber auch bei Anwendungen in der Tumorchirurgie ist die Verschleppung von Tumorzellen und die sich anschließende Metastasierung durch das operative Vorgehen mit dem Instrumentarium durch das berührungslose Arbeiten deutlich reduziert (PRESTELE et al., 1975).

Des Weiteren ist es möglich Gefäße bis 1 mm Durchmesser durch den fokussierten Laserstrahl zu koagulieren (ALLEN und ADRIAN, 1981; MYERS, 1991). Somit kann die Gefahr der intraoperativen Infektionen noch weiter verringert werden und durch das blutarme Operieren kommt es auch zu einem geringeren Verbrauch von Blutkonserven (SCHOLZ und GROTHUES-SPORK, 1992).

Neben der kompletten Hämostase bei Blutgefäßen findet ebenfalls eine Koagulation kleiner Nerven und Lymphgefäße statt und größeren Belastungen durch Ödeme oder Schmerzen kann entgegengewirkt werden (CLARK und SINIBALDI, 1994).

CLAUSER (1986) gibt in seiner Arbeit an, dass der Kreislauf und die Atmung durch den Lasereinsatz am Knochen nicht mehr beeinträchtigt werden als es durch herkömmliche Methoden der Fall ist.

Von großer Bedeutung – gerade für den Einsatz in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie – ist auch der Punkt, dass eine sichere, computergesteuerte Lasertechnik mit Hilfe eines Scanners über ein Stativ oder einen Haltearm eine deutlich präzisere Schnitfführung ermöglicht als es bei manuell geführten Instrumenten der Fall ist (HORCH, 1984; IVANENKO und HERING, 1998-a; SIEBERT, 1992).

Der Knochenverlust, der durch jede Osteotomie entsteht, wird durch den Lasereinsatz minimiert, da sehr feine Schnitte mit ca. 0,15 mm Durchmesser möglich sind. Durch den geringen Ablationsverlust und die Möglichkeit sehr feine Schnitte durchzuführen, ermöglicht es der Lasereinsatz auch dünne Knochen mit großer Präzision zu durchtrennen (KAPLAN und SHARON 1976; PAYNE et al., 2001).

Im Vergleich zu herkömmlichen Instrumenten ist auch ein sehr viel kleineres Operationsfeld notwendig. Dadurch wird zum einen die OP-Dauer und damit auch die Risiken einer

Anästhesie reduziert. Zudem verringert sich auch die Wundheilungszeit und die Gesamtheilung ist weniger beeinflusst (CHEN und SAHA, 1987).

GIRAUD et al. (1991) behaupten sogar, dass der Laser durch eine Fremdkörperreaktion eine Stimulation des Granulationsgewebes bewirkt und die Heilung beschleunigt.

KAPLAN und GER (1973) haben in ihren Versuchen auch festgestellt, dass Eingriffe mit dem Laser für den Patienten weniger schmerzhaft sind im Vergleich zu solchen mit herkömmlichen Instrumenten.

Auch die Gefahr karzinogener Effekte ist bei der Anwendung von CO₂-Lasern sehr viel geringer als bei anderen Lasersystemen. Die DNS resorbiert bei einer Wellenlänge von 266 nm und ist damit weit außerhalb des Bereiches eines CO₂-Lasers (10,6 µm) (NAKAMURA et al., 1999).

Ein zusätzlicher Vorteil gegenüber all den anderen Werkzeugen ist die Möglichkeit des vibrationsfreien Arbeitens. Somit kann den Patienten eine weitere intraoperative Belastung genommen werden (SCHOLZ und GROTHUES-SPORK, 1992).

Im Vergleich zu herkömmlichen Methoden ist bei der Anwendung eines Lasers in der Chirurgie der Kreislauf durch die geringere Traumatisierung wesentlich weniger belastet. Das hängt zum einen mit dem berührungsfreien und kraftarmen Handling, also der mechanischen Rückwirkungsfreiheit zwischen chirurgischem Instrument und chirurgischem Objekt, zusammen (COTICCHIA et al., 1993). Besonders wichtig ist das vor allem bei Patienten mit osteomalazischen und osteoporotischen Knochen. Des Weiteren kommt neben der geringeren Knochen-traumatisierung noch die deutlich reduziertere Verletzung des umliegenden Weichteilgewebes hinzu (SCHOLZ und GROTHUES-SPORK, 1992).

Ein wichtiger Punkt für die Knochenheilung ist auch, dass durch die explosionsartige Absprengung der Knochenpartikel durch den Laser eine vergleichsweise geringe Menge Knochenmehl anfällt. Die Resorptionszeit des abzubauenden Gewebes ist somit deutlich reduziert und die Knochenneubildung kann entsprechend früher einsetzen (SCHOLZ und GROTHUES-SPORK, 1992).

Durch die technischen Möglichkeiten des Lasers bedingt, gibt es keine Einschränkungen in der Schnittführung durch die Geometrie oder Größe des Werkzeugs. Das bedeutet für die Anwendungsgebiete der Laserchirurgie frei wählbare Schnitte in allen drei Raumebenen (SCHOLZ und GROTHUES-SPORK, 1992; MITRA, 2002) und zudem ein Arbeiten in anatomisch schwer zugänglichen Gebieten (HORCH und McCORD, 1977; CLAYMAN et al., 1978; SANDERS und REINISCH, 2000).

Gegen den Einsatz von Laser-Systemen in den Operationssälen sprachen bislang zum einen die hohen Anschaffungskosten, die sich nur Lehranstalten und Referenz-Forschungskliniken leisten können. Allerdings würden sich die Preise bei zunehmender Nachfrage selbständig regulieren, sobald sich das Gesamtkonzept durchgesetzt hat (CLARK und SINIBALDI, 1994).

Des Weiteren kommt eine enorme Verantwortung auf die Laser-Betreiber zu, da zu den zusätzlichen Sicherheitsvorkehrungen wie besondere Schutzausrüstung, laserzugelassene Räumlichkeiten, spezielles nicht-reflektierendes Instrumentarium, besondere Schulungen und weitere Aufgaben hinzukommen (WALSH, 1992; SUTTER, 2001).

Spezielle Absaugvorrichtungen müssen ebenfalls installiert werden, da es bei der Verdampfung von Gewebe zu Schadstoffemissionen durch karzinogene Pyrolyseprodukte kommt. Diese entstehen durch die unvollständige Verbrennung des verdampften Knochens und enthalten u.a. Blausäure und Kohlenmonoxid. Die Absauganlage, die Patienten und medizinisches Personal vor dieser potentiellen Gefährdung schützt, beeinträchtigt dabei jedoch die Arbeit der Operateure stark (TODOROV et al., 1998).

Eine wichtige Ursache dafür, dass sich Laser-Systeme bis heute nicht durchsetzen konnten ist das Ergebnis aus den bisherigen Versuchen im Vergleich zu herkömmlichen spanabhebenden Werkzeugen wie Bohrer, Fräse oder Säge. Aufgrund thermischer Schädigung des Knochens (SPENCER et al., 1999; SWIFT et al., 1995) kommt es zu Karbonisationen im Bereich der Schnittträger (MYERS, 1991; MITRA, 2002). Diese treten in Form von sehr kleinen weißen Kalzium-Perlen auf oder nach größerer thermischer Belastung sind sogar großflächige, bräunliche bis schwarz verkohlte Randsäume sichtbar (ALLEN und ADRIAN, 1981). Dies führt zu einem zu einer Koagulationsnekrose (KYZER et al. 1993), zum anderen in den meisten Fällen zu einer Verzögerung des Heilungsprozesses von mehreren Wochen gegenüber vergleichbaren Instrumenten (HORCH et al., 1977; CLAYMAN et al., 1978). FRIESEN et al. (1999) konnten in ihren Untersuchungen nachweisen, dass die Heilungsverzögerung zusätzlich auch durch inerte Knochensplitter, die vom Bindegewebe eingekapselt wurden und von mehrkernigen Riesenzellen umgeben sind, mit bedingt sein kann. PRESTELE et al. (1975) stellten in ihren Untersuchungen dabei fest, dass die auftretenden thermischen Schädigungen bei einer Knochenschnitttiefe ab 10 mm signifikant zunehmen.

Bei Untersuchungen von IMHOFF (2001) reichte die thermische Nekrose bis zu 50 μm und die Zone der gesamten thermischen Schädigung umfasste bis zu 200 μm in die Tiefe des geschnittenen Knochens. In einer Vielzahl von Studien und Experimenten wurde eine

Verzögerung des Heilungsbeginns von bis zu vier Wochen nachgewiesen (ERIKSSON und ALBREKSSON, 1983; KRAUSE et al. 1997). Diese ist auf die Beschädigung des Periosts, von dem die Knochenheilung ausgeht, oder durch langwierige Resorption des beschädigten Knochenmaterials zurückzuführen (MITRA, 2002). Im weiteren Verlauf der Heilung konnte der Laser den Unterschied in den meisten Fällen wieder ausgleichen. Die Resultate der ersten postoperativen Wochen, in denen eine schnell wiederhergestellte Stabilität und Belastbarkeit der Knochen von enormer Bedeutung ist, ließen bisher an der Überlegenheit des Lasers zweifeln (SMALL et al., 1979; TAUBER et al., 1979; LEWANDROWSKI et al. 1996).

2.3.4 Indikationen und Kontraindikationen von Osteotomien an der Mandibula

SCHOLZ und GROTHUES-SPORK (1992) zeigen ebenso wie HORCH (1984) in ihren Studien, dass die Anwendung eines supergepulsten CO₂-Lasers sich durch das präzise und kontrollierte Abtragen von Knochen unter schwierigen anatomischen Bedingungen auszeichnet. Daher ist ein Einsatz in der Mund-, Kiefer- und Gesichts- oder Kraniofazialen Chirurgie empfehlenswert.

Aufgrund der exakten, bogenförmigen und winkelveänderten Osteotomien, wie sie durch CO₂-Laser möglich sind, ist ein Einsatz zudem auch in der Unfallchirurgie und in der Orthopädie möglich. Dabei sind jedoch Weiterentwicklungen, vor allem im Führungsmechanismus des Laserstrahls notwendig (HORCH und KEIDITSCH, 1980).

2.4 Das Tiermodell

2.4.1 Anforderungen an die Tierart

Für die experimentelle Erforschung der Knochenregeneration und Prüfung neuer Operationsverfahren der Frakturbehandlung und Endoprothetik kann bis heute nicht vollständig auf den Tierversuch verzichtet werden. Die Wahl des geeigneten Tiermodells ist die Voraussetzung für die Brauchbarkeit der gewonnenen tierexperimentellen Versuchsergebnisse als Grundlage für klinische Anwendungen. Das verwendete Versuchstier muss es aufgrund seiner physiologischen und anatomischen Eigenschaften erlauben, die experimentell gewonnenen Daten mit hinreichender Wahrscheinlichkeit auf die beim Menschen zu erwartenden Verhältnisse zu übertragen (WISSING et al., 1991).

Bei der Wahl der Versuchstiere sind dabei mehrere Kriterien zu berücksichtigen. Zum einen muss die Größe, Form und Festigkeit des Knochens ein beim Menschen übliches, analoges Vorgehen mit gleichen Instrumenten ermöglichen. Ein sehr wichtiger Punkt ist auch, dass die

Knochenregeneration mit der des Menschen vergleichbar ist und die Reaktionen auf eine Versuchsbedingung uniform reproduzierbar ist. Zudem muss es auch möglich sein, die beim Menschen zu erwartenden Langzeitergebnisse bei der Wahl des Tieres in kurzen Versuchszeiten zu simulieren. Wichtigstes Kriterium ist jedoch, dass die Wahl des Tieres unter guten Laborbedingungen die anstehende Fragestellung beantworten kann (WISSING et al., 1991).

In bezug auf die Knochenregeneration belegen die Resultate verschiedener Studien, dass der menschliche Knochen zu 75 bis 80% von medullären Gefäßen ernährt wird und das Periost nur die äußere Kortexschicht versorgt (SCHWEIBERER et al., 1970). Nach einer Unterbrechung der Blutversorgung erfolgt die Revaskularisation nur zentrifugal, von der Markhöhle aus. Die Möglichkeit von peripher her zu regenerieren haben nur Knochen mit einer an die niedriger organisierte primäre Osteonenstruktur gebundene plexiforme Gefäßverteilung. Bei einer Blockade der zentralen Arterie erlauben diese Gefäße eine Stromumkehr. Dagegen weisen die Knochen von Mensch und Hund eine ausgeprägte Sekundärosteonenstruktur mit funktionellem Endarteriensystem auf. Diese ermöglicht nur eine zentrifugale Revaskularisation (EITEL et al., 1980; 1981).

Im Vergleich der Kortices unter den herkömmlichen Versuchstierarten ist der Kortex des Hundes als einziger nahezu vollständig in Sekundärosteonen organisiert, der des Kaninchens zu zwei Dritteln und der des Schafes zur Hälfte. Die zentrifugal sich ausbreitende Revaskularisation, die auch so beim Menschen vorkommt, tritt dabei nur beim Hund und dem Kaninchen auf. In seinen Studien vergleichen WISSING et al. (1991) Kaninchen und Hund auf deren Eignung als Tiermodell mit menschlichen Heilungsvorgängen am Knochen:

Das Kaninchen weist dabei nur bedingt Ähnlichkeiten auf, da die Größenverhältnisse ein spezielles Instrumentarium erfordern und die experimentellen Manipulationen so erschwert sind. Generell stellen die Autoren das Fehlen der notwendigen Sicherheit der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse fest. Die Knochenregenerierungsrate zum Beispiel ist in einem sehr viel kürzerem Zeitraum abgeschlossen. Aber auch die Dicke der Knochen, die Versuche zur Tragfähigkeit und Festigkeit erfordern, spielt dabei eine große Rolle (WISSING et al., 1991).

Der Hund ist aufgrund seiner gleichartigen Knochenfeinstruktur und des Regenerationsverhaltens seines Knochens als Versuchsmodell für die menschliche Knochenregeneration brauchbar. Die Knochengröße ist akzeptabel, obwohl auch hier zum Teil spezielle Instrumente benötigt werden. Ungünstig erweist sich hier die hohe Infektionsrate, die bei anderen Tierarten nicht aufgetreten ist (WISSING et al., 1991).

SCHOLZ und GROTHUES-SPORK (1992) schließen andere Versuchstierspezies wie Hamster, Ratte und Maus ebenfalls für einen Einsatz als Tiermodell zur Knochenregeneration beim Menschen in experimentellen Osteotomien aus. Grund dafür ist, dass im Gegensatz zum Kaninchen der für den Menschen typische Knochenumbau mit Sekundärosteonen in der Remodellierungsphase (Haversscher Umbau) nicht ausgeprägt ist. Des Weiteren kommt auch hier der enorme Größenunterschied der Knochen hinzu.

Da das Schwein bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht ausreichend auf die Vergleichbarkeit zum Menschen bezüglich der Knochenheilung untersucht worden war, haben HÖNIG und MERTEN (1993) diesbezüglich Versuche am Göttinger Miniaturschwein durchgeführt. Anhand der histomorphologischen Untersuchungen der Knochenquerschnitte ließ sich nur eine ca. 30%ige sekundäre Osteonenstruktur erkennen. Dagegen ist die Knochengröße und auch die Knochenappositionsrate vergleichbar mit der des Menschen. Die Autoren stellen fest, dass das Schwein, mit Abstrichen wegen der unterschiedlichen morphologischen Struktur des Knochens, bedingt für tierexperimentelle Studien bei Osteotomien einsetzbar ist.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Zielvorstellungen

Alle bisher durchgeführten Vergleiche von knochenschneidenden Lasern zeigen bislang keine deutliche Überlegenheit des Lasers gegenüber der herkömmlichen Säge. Trotz der Vorteile bezüglich größerer Sterilität durch berührungsloses Arbeiten, geringerer Wundgröße oder der geringeren Gewebetraumata konnte sich der Laser wegen auftretender Karbonisation und anderer Folgen der hohen Temperatureinwirkung auf den Knochen bislang nicht durchsetzen. Ziel der vorliegenden experimentellen Studie ist es, einen modifizierten CO₂-Laser in vivo zu testen und die Heilung direkt mit einer herkömmlichen Knochensäge vergleichend zu untersuchen.

Die Ergebnisse sollen Aufschluss darüber geben, inwieweit sich die Erwartungen, die an die Auswirkungen der Knochenablation durch Laseranwendung nach vorausgegangenen In-vitro-Versuchen gestellt werden, auch bei der Anwendung im lebenden Organismus bestätigen. Erhofft wird, dass die Forschung in der Lasertechnologie bis zum heutigen Zeitpunkt so weit fortgeschritten ist, dass die thermischen Erscheinungen im Rahmen der Knochenablation reduziert werden können und die Heilung durch die Anwendung einer solchen Methode nicht mehr verzögert ist gegenüber herkömmlichen Verfahren.

An einem Hundemodell werden hierzu an der Ventralseite der Unterkieferäste gerade Osteotomieschnitte sowohl mit dem Laser als auch mit einer Knochensäge durchgeführt. Während des Untersuchungszeitraumes werden röntgenologische Verlaufsuntersuchungen durchgeführt und im Abstand von je sechs Tagen verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe injiziert. Nach einer Einheilungszeit von 21 Tagen werden die Tiere getötet und die Unterkiefer mit den Proben zur Weiterverarbeitung entnommen.

Die Beurteilung der Proben lässt sich in zwei histologische Hauptteile gliedern: Zum einen die Fluoreszenzmikroskopie und zum anderen die durchlichtmikroskopische Auswertung der gefärbten Präparate.

Die Tierversuche wurden gemäß §8 Absatz 1 des Tierschutzgesetzes in der Fassung der Bekanntmachung vom 25.05.1998 (BGBl I S. 1105) von der Regierung Oberbayern genehmigt.

3.2 Material und Methoden

3.2.1 Die Versuchstiere

Verwendete Tierspezies

Als Versuchstiere dienen 7 Beagle-Hunde beiderlei Geschlechts (4 Rüden und 3 Hündinnen). Bei Versuchsbeginn sind die Hunde zwischen 2 und 8 Jahre alt. Die Körpergewichte liegen zwischen 12,5 und 19,0 kg (Tab. 2). Die Tiere stammen aus einer geschlossenen Zuchtanlage (GSF, Neuherberg).

Tab. 2: Versuchstiere

Tiernummer	Tätowinummer	Alter	Geschlecht	Gewicht
1	M196 472	6 Jahre	männlich	19,0 kg
2	M100 523	2 Jahre	männlich	19,0 kg
3	M100 521	2 Jahre	männlich	12,5 kg
4	M101 588	2 Jahre	weiblich	15,5 kg
5	M194 405	8 Jahre	weiblich	15,5 kg
6	M100 552	2 Jahre	weiblich	15,0 kg
7	M194 409	8 Jahre	männlich	17,0 kg

Unterbringung

Die Hunde sind während des Versuchs für insgesamt 28 Tage unter artgemäßen Bedingungen in dem institutseigenen Tierstall untergebracht. Sie sind in Gruppen von bis zu drei Tieren in 12 m² großen, abteilbaren Doppelboxen eingestallt. Außerhalb der Untersuchungs- und Behandlungszeiten wird ihnen auch noch zusätzlich geräumiger Auslauf gewährt. Die Temperatur in den Räumen liegt bei 19 bis 23°C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50 bis 70 %. Es besteht eine Zwangsbe- und -entlüftung. Die Beleuchtung wechselt automatisch gesteuert im 12-Stunden-Rhythmus zwischen Tagphase (von 06.00 Uhr bis 18.00 Uhr bei einer maximalen Beleuchtungsintensität von 600 Lux) und Nachtphase (von 18.00 Uhr bis 06.00 Uhr bei völliger Dunkelheit). Die Tiere sind bei Aufnahme geimpft, entwurmt und frei von spezifischen Krankheitserregern. Die Fütterung erfolgt einmal täglich mit handelsüblichem Trockenfutter und Frischfleischzusatz sowie Wasser ad libitum. 18 Stunden vor der Operation werden die Hunde nüchtern gehalten.

3.2.2 Versuchsanordnung

Innerhalb der Versuchsreihe wird an 7 Hunden je eine Osteotomie mit dem Osteoskalpell und eine mit dem Laser an beiden Mandibula-Ästen durchgeführt. Dabei werden durch Randomisierung die Reihenfolge und die Lage der Schnitte zueinander bestimmt. Während des Beobachtungszeitraumes von 21 Tagen werden den Tieren zu festgelegten Zeitpunkten (Tab. 3) polychrome Farbstoffe zur Sequenzmarkierung der Knochenumbauvorgänge injiziert. Es werden regelmäßig klinische und röntgenologische Untersuchungen durchgeführt. Nach Ende der Beobachtungszeit werden die Hunde mit einer Überdosis Pentobarbital (Narcoren[®], Fa. Merial, Hallbergmoos) euthanisiert.

Tab. 3: Versuchsanordnung

	Tag 0	Tag 6	Tag 12	Tag 17	Tag 21
Hund 01	LO/SO/Rö	Tn/Rö	CG/Rö	XO/Rö	Eu/Rö
Hund 02	LO/SO/Rö	CG/Rö	XO/Rö	AK/Rö	Eu/Rö
Hund 03	LO/SO/Rö	CG/Rö	XO/Rö	AK/Rö	Eu/Rö
Hund 04	LO/SO/Rö	CG/Rö	XO/Rö	AK/Rö	Eu/Rö
Hund 05	LO/SO/Rö	CG/Rö	XO/Rö	AK/Rö	Eu/Rö
Hund 06	LO/SO/Rö	CG/Rö	XO/Rö	AK/Rö	Eu/Rö
Hund 07	LO/SO/Rö	CG/Rö	XO/Rö	AK/Rö	Eu/Rö

LO: Laser-Osteotomie
 SO: Säge-Osteotomie
 Rö: Röntgenuntersuchung zur Kontrolle der Größenveränderung der Schnittspalten
 Tn: Fluoreszenzfarbstoff: Tetrazyclin
 CG: Fluoreszenzfarbstoff: Calcein-Grün
 XO: Fluoreszenzfarbstoff: Xylenol-Orange
 AK: Fluoreszenzfarbstoff: Alizarin-Komplexon
 Eu: Tötung der Tiere

3.2.3 Verwendetes Lasersystem

Das verwendete CO₂-Lasersystem wurde in der Arbeitsgruppe „Lasertechnologie“ der Stiftung Caesar (Center of Advanced European Studies and Research) in Bonn entwickelt. Es handelt sich um erste In-vivo-Versuche mit diesem Prototyp-Lasersystem. Das System und die Hilfsgeräte werden von der Stiftung Caesar nach München gebracht und von dessen Entwicklern im Operationssaal bedient.

Die Hauptkomponenten des Prototyp-Laserosteotoms sind ein CO₂-Slablaser RS SC x30 (Fa. Rofin-Sinar, SCO-Edinburgh) (Abb. 7), ein 3D-Strahlscanner „Elefant-20“ (Fa. Arges, Nabburg), Wasserspray mit steriler Natrium-Chlorid-Lösung, Justageeinrichtung (Pilotstrahlen) und das Gasabsaugsystem „LN 100 Derm“ (Fa. TBH, Neuenburg). Die Strahlung des Lasers wird an den Scanner mit Hilfe zweier Spiegelgelenkarme (Aktionsradius ca. 1,5 m) übertragen, der es ermöglicht, den Scanner frei zu positionieren.

Technische Daten Laser:

- Wellenlänge: 10,6 µm,
- Mittlere Leistung: 10 bis 300 Watt
- Laserpulsdauer: 10 bis 400 µs (abstimmbar)
- Pulswiederholungsfrequenz: 10 bis 10000 Hz
- Strahldurchmesser: 8,5 mm
- Strahldivergenz: 2 mrad
- roter Pilotstrahl (708 nm)
- kein Gasverbrauch
- Gewicht 63 kg.

Um thermische Nebenwirkung zu vermeiden, werden alle Schnitte mit einer Pulsdauer von 80 µs durchgeführt. Die Pulswiederholungsfrequenz beträgt bei den Schnitten 200 Hz, die Leistung 16 Watt.

Der Tisch mit dem gesamten Laser-Equipment ist unmittelbar am Operationstisch aufgestellt. Der computergesteuerte 3D-Strahlscanner ist bei den Operationen auf einem stabilen Stativ mit Neigekopf und Feinverschiebevorrichtungen installiert. Er dient dazu den Laserstrahl zu fokussieren und die nötigen sehr schnellen Strahlbewegungen auszuführen.

Die Scangeschwindigkeit für die "Hauptstrahlbewegung" beträgt 487 mm/s.

Um eine höhere Schneideeffektivität zu erzielen, wird der Strahlfokus nicht auf, sondern unter der Knochenoberfläche positioniert. Dadurch werden tiefere Schnitte schneller ermöglicht.

Der Fokus befindet sich bei den Schnitten ca. 3 bis 4 mm unter der Knochenoberfläche. Daraus ergibt sich ein Arbeitsabstand von 155 bzw. 159 mm zwischen Scanner und der Knochenoberfläche (bei einer Fokussierungslinse der nominalen Brennweite von $F = 163$ mm). Zum Einstellen des Sollabstandes sind zusätzlich zum Pilotstrahl zwei weitere Laserdioden auf dem Scanner montiert. Die drei roten Pilotstrahlen kreuzen sich an der Stelle des Sollabstandes.

Ein Wasserspray von oben-frontal versprüht sterile Kochsalzlösung in feinem Nebel bei einem Verbrauch von 2,5 ml/min.

Hinter dem Knochen in einem Abstand von 1 bis 3 mm wird immer eine matte Aluminiumplatte gelegt, um den Laserstrahl an der Austrittsstelle zu blockieren.

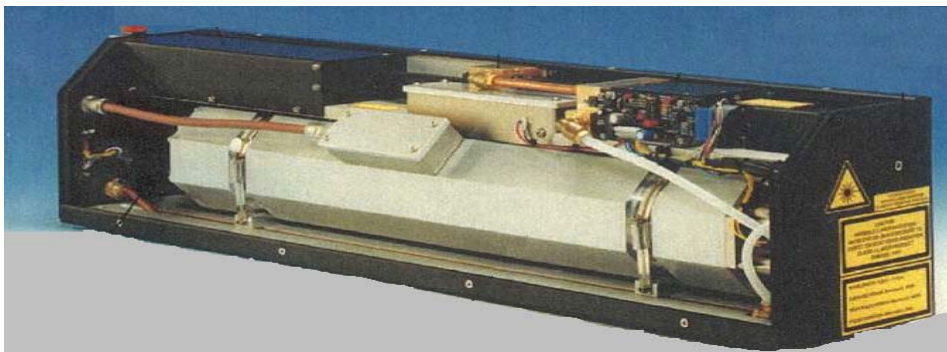


Abb. 7: Der Laser RS SC x30 von Rofin Sinar (CAESAR, 2001)

3.2.4 Verwendetes Sägesystem

Als Säge wird das Osteoskalpell nach „Sachse“ (Fa. Medicon, Tuttlingen) verwendet (Abb. 8). Das System wird komplettiert durch ein hochdrehendes Dentalhandstück (Fa. Kavo, Bieberach) und einer pedalgesteuerten Bohrmaschine (Fa. Bien Air, CH-Biel) (Abb. 9). Die Leistung ist dabei über das Pedal je nach Bedarf fein abstimmbare und reicht bis maximal 20000 U/min.



Abb. 8: Osteoskalpell (Foto: HÖSLE, 2003)



Abb. 9: Osteoskalpell mit Handstück und Bohrer (Foto: HÖSLE, 2003)

3.2.5 Voruntersuchungen zur Lasertechnik

In den Laserentwicklungs-Laboratorien der Stiftung Caesar in Bonn werden verschiedene In-vitro-Vorversuche durchgeführt. Ziel dieser Untersuchungen ist es die Einstellungen der einzelnen Parameter des Lasersystems für die geplanten Anwendungen am Knochen anzupassen und zu optimieren.

Hauptaugenmerk wird dabei auf die Leistung des Lasers, die Pulswiederholungsfrequenz und die Pulsdauer gelegt. Weiterhin spielen die Fokus-Positionierung, der Abstand von Scanner zum Knochen, die verwendete Wassermenge und die Art der Wassersprühung (Vernebelung, Sprühen etc.) eine entscheidende Rolle in der exakten Einstellung des Lasers auf die Knochenpräparate. Nur durch die optimale Abstimmung aller Parameter und der einzelnen Komponenten des Lasersystems können Karbonisationen vermieden und der Knochen in einer tolerierbaren Zeitspanne durchschnitten werden.

Dabei werden anfangs an frischen Os-iliac-Präparaten von Beagle-Hunden Schnitte mit einer Vielzahl von Geometrien durchgeführt (Abb. 10). Neben verschiedenen Formen und Längen bezüglich der Schnittführungen werden auch unterschiedliche Schnitttiefen getestet.

In der zweiten Reihe der Vorversuche kommen frische Schädel von Hunden in Beaglegröße zum Einsatz. Unter fiktiven Operationsbedingungen werden die Schädel auf einer Kopf-Stütze fixiert, der Wundbereich rasiert und der Zugang zur geplanten Osteotomiestelle am Unterkieferast hergestellt. Dabei werden alle möglichen Komplikationen, die auch im späteren operativen Einsatz auftreten könnten (z.B. ungenügende Fixierung des Schädels und somit mangelhafte Darstellung des abzutragenden Knochenstückes gegenüber dem Laser, Blockierung der Austrittsstelle des Laserstrahls an der medialen Knochenhälfte, mangelhafter Abfluss der Spülflüssigkeit, starke Blutungen aus dem Knochen etc.), in Betracht gezogen und durchgespielt. Durch dieses Procedere können eine Vielzahl möglicher Störungen des Lasereinsatzes bereits im Vorfeld der In-vivo-Versuche erkannt werden und zu deren Vermeidung mögliche Lösungen abgeklärt werden (Abb. 11).

Ein weiterer wichtiger Punkt im Rahmen der zweiten Reihe der Vorversuche ist die Übertragung der Parameter aus den früheren Versuchen am Hunde-Becken auf den Unterkiefer. Aufgrund des unterschiedlichen Aufbaus müssen die Einstellungswerte des Lasers an den neuen Knochen angepasst werden (Abb. 12).

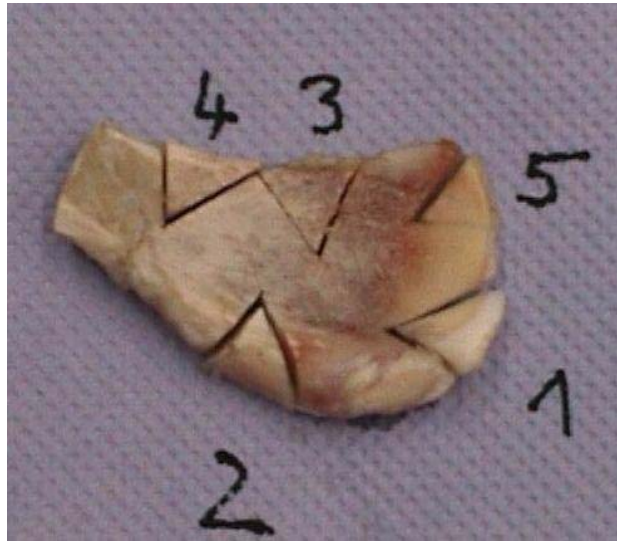


Abb. 10: Hundbecken mit 5 verschiedenen Dreieckschnitten (Foto: CAESAR, 2001)



Abb. 11: Schnitte am Unterkieferast in der Simulation

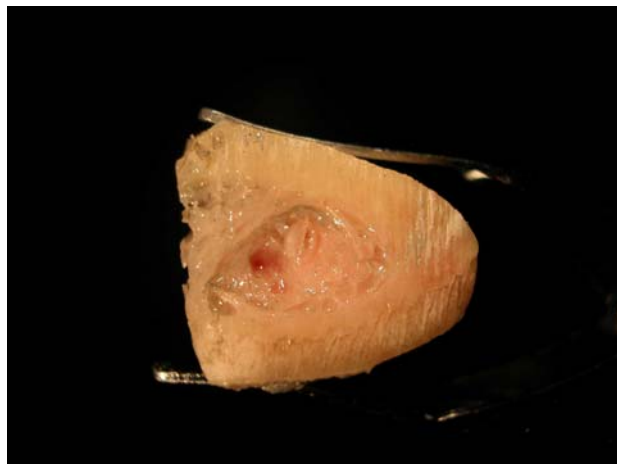


Abb. 12: Herausgeschnittenes Knochenfragment (Foto: CAESAR, 2002)

3.2.6 Operatives Modell

Operationsvorbereitung

Vom Tag der Anlieferung bis zu dem Operationstermin sind die Tiere bereits mindestens eine Woche zur Eingewöhnung im Tierstall untergebracht. Die Hunde werden ab 18 Stunden vor dem Operationstermin nüchtern gehalten. Nach der Narkoseeinleitung erfolgt die endotracheale Intubation und das Operationsfeld wird im Bereich des Unterkiefers großflächig mit einer elektrischen Schermaschine geschoren und anschließend rasiert. Daraufhin werden die Tiere in den Operationstrakt überführt und am Beatmungsgerät angeschlossen. In Rückenlage auf dem Operationstisch ausgebunden wird das Operationsfeld gereinigt, mit Hautdesinfizienz (Cutasept F, Fa. Bode Chemie, Hamburg) mehrfach behandelt und mit sterilen Tüchern abgedeckt. Weiter werden die Augen mit Augensalbe (Bepanthen, Fa. Roche, Sensach-Wühlen) vor Austrocknung geschützt.

Anästhesie

Als Narkoseprämedikation wird Atropin 0,02 mg/kg KGW i.m. (Atropinsulfat, Fa. Braun, Melsungen) verabreicht.

Die Sedation erfolgt durch intramuskuläre Injektion von Acepromazin 0,02 mg/kg KGW (Vetranquil[®] 1%, Fa. Albrecht, Aulendorf) im Verhältnis 1:10 mit NaCl verdünnt und Levomethadon (L-Polamivet[®], Fa. Intervet, Unterschleißheim) 0,8 mg/kg KGW in einer Mischspritze. Nach dem Legen eines venösen Zugangs in der V. cephalica antebrachii wird die Narkose der Hunde durch eine Initialdosis von 6,0 bis 8,0 mg Propofol (Propofol 2% Fresenius, Fa. Fresenius, Bad Homburg v.d.H.) intravenös eingeleitet.

Im Operationssaal erfolgt der Anschluss an das Beatmungsgerät. Dabei wird eine Inhalationsnarkose mit 2,5 Vol % Isofluran (Forene, Fa. Abott GmbH & Co. KG, Wiesbaden) in einem halboffenen Narkosesystem (Servo-Ventilator 900 D, Fa. Siemens AG, München) eingeleitet und ab dem Erreichen des Toleranzstadiums mit 0,6 Vol % Isofluran und Sauerstoff unter kontrollierter Beatmung aufrechterhalten.

Die perioperative Narkoseüberwachung erfolgt mit einem EKG-Gerät (Datex-Ohmeda S/5, Fa. Datex Ohmeda, Duisburg) und einer transkutanen Sauerstoffpartialdruckmessung durch ein Pulsoximeter (Pulsoximeter, Fa. Datex Ohmeda, Duisburg), dessen Sensor an der Zunge angebracht ist.

Intraoperativ wird vor den jeweiligen Osteotomien durch den Laser bzw. die Säge weiter Propofol nach Wirkung verabreicht, um die Narkosetiefe in jedem Falle garantieren zu können.

Analgesie

Zur präemptiven Analgesie wird den Tieren ca. eine Stunde vor Operationsbeginn 4,0 mg/kg KGW Carprofen (Rimadyl[®], Fa. Pfizer, Karlsruhe) subkutan injiziert.

Intraoperativ erhalten die Tiere ca. 0,02 mg/kg KGW pro Stunde Fentanylcitrat (Fentanyl, Fa. Curamed Pharma GmbH, Karlsruhe) in Form eines Dauertropfes.

Unmittelbar postoperativ wird das Schmerzmanagement bei den Hunden mit Buprenorphinhydrochlorid (Buprenorphin[®], Fa. Essex Pharma GmbH, München) 0,01 mg/kg KGW i.m. und Metamizol-Natrium (Novalminsulfon-ratiopharm[®] 2,5, Fa. Ratiopharm GmbH, Ulm) 50 mg/kg KGW durch intravenöse Injektion weitergeführt.

Im weiteren Verlauf der Heilung erhalten die Tiere über weitere drei Tage täglich Carprofen 4 mg/kg KGW, zweimal täglich Buprenorphinhydrochlorid 0,01 mg/kg KGW i.m. und bei schmerzbedingtem Unwohlsein Metamizol-Natrium-Tropfen 250mg pro Tier per os.

Ab dem 4. Tag wird kein Präparat mehr benötigt.

Antibiose

Präoperativ wird eine Antibiose mit Ceftriaxon 1,0 g (Rocephin[®], Fa. Roche, Gensach-Wühlen) in Form einer intravenösen Infusion durchgeführt.

Postoperativ erhalten die Tiere am ersten und dritten Tag Duphamox[®] (Fa. Fort Dodge Veterinär, Würselen) je 15 mg/kg KGW s.c. verabreicht.

3.2.7 Operationstechniken: Osteotomie durch Laser und Säge

Der Zugang erfolgt über eine ca. 4 cm lange Hautinzision unmittelbar ventral der Mandibula vom Proc. angularis in rostraler Richtung bis etwa zur halben Länge des Corpus mandibulae. Platysma und Haut werden in einem Schnitt durchtrennt. Somit liegt lateral die Pars superficialis des M. masseter und ventromedial des Corpus mandibulae der M. digastricus. Das diese beiden Muskeln verbindende Septum wird medial von der A. und V. facialis und Ästen des N. facialis durchtrennt. Der periostale Ursprung des M. digastricus wird vom Corpus mandibulae abgetrennt und nach medial geschoben. Der M. masseter wird lateral subperiostal von seiner Insertion in der Fossa massenterica abgetrennt und ebenfalls zur besseren Darstellung zurückgeschoben.

Osteotomie durch den CO₂-Laser

Nach Auswahl der Schnittstelle durch Randomisierung (caudal bzw. rostral am Unterkieferast) (Tab. 4) wird der Laser in Position gebracht und justiert. Die Schnittrichtung sowie die Schnitttiefe von 8 mm wird über den Monitor eingestellt und mit dem Pilotstrahl des Lasers am Knochen zur Überprüfung dargestellt. Der Strahlengang verläuft latero-medial. Als Schutz des Weichgewebes nach Austritt des Strahls wird eine handelsübliche 150 x 10 mm große und 1 mm starke, nichtreflektierende Metallplatte mit Hilfe eines Teleskoparms an die mediale Seite des Unterkieferastes gehalten. Nach Einschalten des Abzugsgerätes zur Rauchabsaugung und der Sprühdüsen mit steriler NaCl-Lösung zur Kühlung des Ablationsbereiches wird der CO₂-Laser in Betrieb genommen und ein Spalt in angegebener Größe in den Knochen geschnitten.

Tab. 4: Schnitt-Anordnung (randomisiert)

	Links caudal	Links rostral	Rechts caudal	Rechts rostral
Hund 1	Säge-Schnitt	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt	Laser-Schnitt
Hund 2	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt
Hund 3	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt
Hund 4	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt
Hund 5	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt
Hund 6	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt
Hund 7	Säge-Schnitt	Laser-Schnitt	Laser-Schnitt	Säge-Schnitt

Osteotomie durch die Knochensäge

Mit dem Osteoskalpell wird nun ein mit dem Laserschnitt vergleichbarer Spalt herausgesägt. Dieser wird im Abstand von ca. 20 mm zur ersten OP-Stelle gewählt. Durch die Randomisierung der Position des Laserschnittes (caudal bzw. rostral am Unterkieferast) ist die Lage des Sägeschnittes zum Laserschnitt somit bereits vorgegeben. Während des gesamten Sägevorgangs wird der zu bearbeitende Bereich des Knochens mit steriler NaCl-Lösung gekühlt.

Beide Osteotomiestellen werden durch handelsübliche Mikroschrauben mit einem Durchmesser von 0,9 mm markiert, damit sie bei der Präparatentnahme während der Sektion lokalisiert und identifiziert werden können.

Im direkten Anschluss erfolgt ein weiterer experimenteller Eingriff mit der Säge am Unterkiefer der Tiere. Dieser Teil der Operation ist Bestandteil einer parallel laufenden Studie. Hierbei wird ventral auf jeder Unterkieferseite ein Knochenstück in Form eines gleichseitigen Dreiecks mit einer Seitenlänge von ca. 8 mm herausgesägt. Die Fragmente werden mit je einer Autokompressionsklammer wieder fixiert. Dabei wird randomisiert pro Hund je eine unbeschichtete und eine mit einer neuentwickelten Beschichtung überzogenen Klammer an den Unterkieferästen eingesetzt (KELLER, in Vorbereitung).

Der Wundverschluss erfolgt durch Vernähen des intermuskulären Septums zwischen den Mm. digastricus und masseter unter Schonung von V. und N. facialis mit resorbierbarem Nahtmaterial (Vicryl 2 metric, Fa. Ethicon, Norderstedt). In einem weiteren Schritt werden Platysma und subkutane Faszie mit nichtresorbierbarem Faden (Prolene 2 metric, Fa. Ethicon, Norderstedt) in Einzelheften adaptiert.

3.2.8 Untersuchungstechniken und Verlauf

3.2.8.1 Klinischer Verlauf

Während des dreiwöchigen Beobachtungszeitraumes werden die Hunde täglich untersucht und es findet dabei eine klinische Beurteilung des Heilungsverlaufes über folgende, allgemeine Parameter statt:

1. Der Allgemeinzustand der Tiere wird anhand ihrer Haltung und ihres Verhaltens beurteilt. Somit können bei Bedarf z.B. Veränderungen des Analgesiemanagements oder weitergehende Untersuchungen eingeleitet werden.
2. Es findet eine Kontrolle der Futter- und Wasseraufnahme statt. So können neben Rückschlüssen auf das Allgemeinbefinden auch evtl. Anzeichen von unzureichendem Schmerzmanagement übermittelt werden.
3. Der regelmäßige und unauffällige Kotabsatz wird zum Zweck der allgemeinen Beurteilung der normalen Stoffwechselfvorgänge überwacht.
4. Bestimmung der Körper-Innentemperatur zur Erkennung von Entzündungen oder Infektionen.
5. Beurteilung der Wunde bezüglich Nahtkontrolle, Entzündungssymptome, Schwellungen, Rötungen, vermehrte Wärme, Schmerzhaftigkeit und anderen Auffälligkeiten im Wundheilungsverlauf.
6. Am 12. postoperativen Tag werden die Fäden der Hautnähte entfernt.

3.2.8.2 Röntgenologische Verlaufsuntersuchungen

Unmittelbar postoperativ und zu vorgegeben Zeitpunkten (Tab. 3) werden jeweils von beiden operierten Unterkieferhälften aller Hunde Röntgenaufnahmen mit latero-medialem Strahlengang angefertigt und die Umbaureaktionen und die Spaltgröße quantitativ beurteilt.

Technische Daten:

- Röntgengerät: C-Bogen Exposcop 7000 (Fa. Ziehm, Nürnberg)
- Belichtung: 52 kV / 3,4 mA / 0,2 sek.

3.2.8.3 Polychrome Sequenzmarkierung (PSM)

Zur dynamischen Darstellung der Umbauvorgänge im Zuge der Knochenheilung wird intravital eine polychrome Sequenzmarkierung nach RAHN und PERREN (1971) durchgeführt. Sie gibt Rückschlüsse auf Ort, Richtung und Geschwindigkeit der Knochenregeneration (KNÖFLER et al., 1990).

Die sequenzielle Gabe von drei Fluorochromen im Abstand von je 6 Tagen (s. Tab. 3) gestattet es die Topographie des Knochenumbaus zu verfolgen (KNÖFLER et al., 1990). Der zeitliche Abstand verhindert auch die Überlagerung der einzelnen Vitalfarbstoffe (RAHN und PERREN, 1975).

Folgende Voraussetzungen müssen von den Fluoreszenzfarbstoffen vor deren Auswahl erfüllt sein:

- Markierung des gleichen Stadiums der Knochenbildung,
- gute Verträglichkeit und geringstmögliche Toxizität (RAHN und PERREN, 1972),
- minimalste Hemmung der Knochenbildung durch deren Anwendung (RAHN et al., 1970),
- Fluoreszenz muss klar begrenzt sein und sich von anderen Substanzen klar unterscheiden (RAHN, 1976),
- ausreichend lange Haltbarkeit der fluoreszierenden Eigenschaften ohne Beeinträchtigung durch die Präparation der Knochenproben und anderer Untersuchungsprozesse.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Aufgrund dieser Kriterien kommen folgende Fluoreszenzfarbstoffe zur Anwendung:

- 1.) Tetrazyclin (Oxytetracyclin-Hydrochlorid, Terramycin 100, Fa. Pfizer, Karlsruhe)
Zubereitung: gebrauchsfertige Lösung
Dosierung: 30 mg/kg KGW
Applikation: subkutan an drei verschiedenen Stellen lateral am Thorax

- 2.) Calcein-Grün (Calcein-Grün-Natrium-Salz, Fa. Synopharm, Barsbüttel)
Zubereitung: 3%ige wässrige Lösung mit 2% $\text{Na}(\text{CO}_3)_2$ (LENTRODT und BULL, 1976)
Dosierung: 15 mg/kg KGW (LENTRODT und BULL, 1976)
Applikation: intravenös über Zugang in der V. cephalica antebrachii

- 3.) Xylenol-Orange (Xylenol-Orange-Natrium-Salz, Fa. Synopharm, Barsbüttel)
Zubereitung: 3%ige wässrige Lösung mit 2% NaCO_3 (LENTRODT und BULL, 1976)
Dosierung: 90 mg/kg KGW (LENTRODT und BULL, 1976)
Applikation: intravenös über Zugang in der V. cephalica antebrachii

- 4.) Alizarin-Komplexon (Alizarin-Complexone, Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim)
Zubereitung: 3%ige wässrige Lösung mit 2% NaCO_3 (RAHN und PERREN, 1972)
Dosierung: 30 mg/kg KGW (RAHN und PERREN, 1972)
Applikation: intravenös über Zugang in der V. cephalica antebrachii

Die intravenösen Applikationen werden über Sterilfilter (Minisart[®] 0,20 μm , Fa. Sartorius, Göttingen) verabreicht, da die Lösungen keine Hitzesterilisation tolerieren (ROMEIS, 1989).

Tetrazyclin kommt nur bei Hund 1 zur Anwendung, da sich nach der Applikation starke anaphylaktische Reaktionen einstellt (s. Kap. 3.3.1.1). Bei den Hunden 2 bis 7 wird daher als dritter Fluoreszenzfarbstoff Alizarin-Komplexon verwendet.

Die Farbstoffe werden nach dem Schema der Tabelle 5 appliziert und ergeben in der histologischen Auswertung die angegebenen Farbbanden:

Tab. 5: Fluoreszenz-Schema

Tag p.op. Hund 1	Tag p.op. Hunde 2-7	Fluorochrom	Applikationsart	Histol. Färbung
06	-	Tetrazyclin	s.c.	gelb
12	06	Calcein-Grün	i.v.	grün
17	12	Xylenol-Orange	i.v.	orange
-	17	Alizarin-Komplexon	i.v.	rot

3.2.8.4 Sektion und Probengewinnung

Am 22. postoperativen Tag werden die Tiere durch eine intravenöse Injektion mit einer Überdosis Pentobarbital (Narcoren[®], Fa. Merial, Hallbergmoos) und Kaliumchlorid (KCl 7,45%, Fa. Braun, Melsungen) euthanisiert.

Die Sektion und Probengewinnung finden im Institut für Tieranatomie der tiermedizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München statt. Hierbei wird die Mandibula der Hunde entnommen und von umgebenden Gewebe freipräpariert.

Im Anschluss wird für jeden Säge- und Laserschnitt getrennt mit Hilfe einer Bandsäge (Fa. Exakt, Norderstedt) ein Präparat in der Größe von ca. 1,5 cm³ hergestellt.

3.2.8.5 Probenaufbereitung

Fixierung und Kennzeichnung

Für die Weiterverarbeitung in der Histologie werden die einzelnen Präparate zur späteren Identifizierung gekennzeichnet und anschließend über 72 Stunden in Schaffersche Lösung fixiert (ROMEIS, 1989). Im Anschluss werden sie in 70 %igem Alkohol bis zu ihrer Weiterverarbeitung gelagert. Für das weitere Vorgehen wird eine histologische Verarbeitung als unentkalkte Hartschnitte gewählt, da nur so eine Auswaschung der Fluorochrome verhindert werden kann (TONNA, 1984).

Entwässerung und Entfettung

Die Entwässerung der Präparate erfolgt über eine aufsteigende Alkoholreihe (70%, 80%, 90%, 100%), die alle drei Tage gewechselt wird. Im 100%igen Alkohol verbleiben die Knochenstücke über 6 Tage, wobei der Alkohol täglich erneuert wird. Die sich anschließende Entfettung erfolgt durch Aceton über 2 x 3 Tage.

Durch Lagerung in einem Aceton-Methanol-Gemisch (1:1) und in reinem Methanol für jeweils drei Tage werden die Präparate wieder von dem entfettenden Aceton gereinigt.

Kunststoffeinbettung

Das Einbetten der Präparate wird durch schrittweise Infiltration mit monomerem Methyl-Metacrylat (MMA) über vier Wochen durchgeführt. Dabei liegen die Präparate zunächst über je 2 x 3 Tage in 100%igem Methyl-Metacrylat (Fa. Merck, Darmstadt) und zum besseren Eindringen findet nach jedem Überführen in das Gemisch eine Vakuumbehandlung über je 60 min statt. Im Anschluss kommen die Proben zur Lagerung und Schutz gegen Polymerisation in den Kühlschrank.

Im nächsten Schritt werden die Proben in das Einbett-Gemisch überführt. Dies besteht aus 1000 ml Methyl-Metacrylat (Fa. Merck, Darmstadt), 220 ml Nonylphenylpolyethylenglycolacetat (Fa. Fluka, CH-Buchs) als Weichmacher und 30 g getrocknetem Benzoylperoxid (Fa. Merck, Darmstadt) als Katalysator. Nach erneuter 60 min. Vakuum-Behandlung findet eine einwöchige Lagerung im Kühlschrank zum Schutz gegen vorzeitiges Aushärten statt.

In der letzten Phase werden die Präparate getrennt in eigene Glasröhrchen (3 cm Durchmesser) überführt, die bereits mit auspolymerisiertem MMA ca. 5 mm angefüllt sind. Nach Erneuerung des Einbettgemischs und einer erneuten Vakuum-Behandlung kommen die Proben zur entgültigen Aushärtung für 15 bis 20 Tage in einen Brutschrank bei 28°C. Dabei stehen die fest verschlossenen Gläschen in einer mit Wasser angefüllten Petrischale um eine gleichmäßige Wärmeableitung des exothermen Polymerisationsprozess zu gewährleisten.

Nach beendeter Polymerisation werden die Gläschen zerschlagen und man erhält zylinderförmige Kunststoffblöcke mit eingeschlossenem Knochenpräparat.

Herstellung der histologischen Schnitte

Bei der Herstellung der histologischen Schnitte wird zuerst am eingebetteten Präparat die geplante Schnittebene festgestellt und mit einem wasserunlöslichen Stift markiert. Es sollen Schnitte entstehen, die horizontal zum Laser- bzw. Sägeschnitt verlaufen. Entlang der angezeichneten Linie wird der Kunststoffblock nun mit einer Bandsäge (Fa. Jevo, Milzberg) bis zu dem Probekörper planparallel gesägt.

Die Blöcke werden nun mit der so vorbereiteten Fläche auf die Halterung der Säge geklebt. Für diese Schnitte kommt das Sägemikrotom Leika SP 1600 (Fa. Leika, Bensheim) mit Innenloch-Sägeblatt zum Einsatz. Die damit angefertigten Schnitte haben eine Dicke von 150

µm. Der Schnittverlust beträgt ca. 300 µm. Durch den großen Materialverlust sind maximal neun Schnitte pro Präparat möglich.

Vor der histologischen Weiterverarbeitung muss bereits die fluoreszenzmikroskopische Auswertung durchgeführt werden, da Färbungen die Intensität der Fluorochrome stark herabsetzen bzw. überdecken. Zur histologischen Auswertung wird bei den Präparaten eine Paragon-Färbung durchgeführt. Hierbei färbt sich mineralisiertes Hartgewebe zartrosa bis rot und Zellkerne und basophiles Zytoplasma blassblau bis blau an (ROMEIS, 1989).

3.2.8.6 Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung polychromsequenzmarkierter Hartschnitte

Hierzu wird als Fluoreszenzmikroskop das Modell „Axiophot“ mit einem Okular (2,5 S), den Objektiven 2,5, 5, und 10, der Kamera „Axio-Cam HRc“ und den Fluoreszenzfiltern Nr. 9, 15 und 18 (alles Fa. Zeiss, Jena) verwendet. Für die Auswertung dient ein handelsüblicher PC mit der Software „Axio Vision 3.1“ (Fa. Zeiss, Jena).

Die Beurteilung der einzelnen Schnitte erfolgt nach folgenden Kriterien:

1.) Quantitative Auswertung:

- Umfang des neumineralisierten Knochenmaterials im gesamten Schnittspaltbereich nach den verschiedenen Fluorochromen getrennt
- Ermittlung der durch den Laser und durch die Säge erzeugten Spaltgröße
- Durchschnittliche Kallusdicke an beiden Schnittkanten
- Durchschnittliche Schnittspaltfüllung durch neues Knochengewebe
- Länge des Bereiches im Spalt, von dem Fluoreszenz ausgeht (= Grundlinie)

2.) Qualitative Auswertung:

- Auftreten von Resorptionsgruben
- Auftreten von Karbonisationen
- Bewertung des Umfangs der Fluoreszenz
- periostale Fluoreszenz

3.2.8.7 Durchlichtmikroskopische Auswertung

Die Auswertung der gefärbten Schnitte erfolgt wiederum mit dem Fluoreszenzmikroskop mit den Objektiven 2,5, 5, 10 und 20 und der bereits für die fluoreszenzmikroskopischen Auswertung verwendeten Kamera und dem Computer mit „Axio Vision 3.1“ im Durchlichtverfahren, d.h. ohne den Aufsatz der Fluoreszenzfilter.

Dabei findet eine Bewertung der einzelnen Schnitte nach dem Vorhandensein folgender qualitativer Parameter statt:

- Osteoklasten
- Osteoblasten
- frisch eingesprossene Blutgefäße im Osteotomiespalt
- neu gebildeter Geflechtknochen
- Karbonisationen
- sonstige Auffälligkeiten

3.2.8.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgt getrennt nach quantitativen und qualitativen Parametern.

Die Bewertung der quantitativen Messwerte findet getrennt nach Methode (Laser/Säge) statt.

Für die Messwerte der fluoreszenzmikroskopischen Auswertung werden der Mittelwert \bar{x} , die Standardabweichung (SA) und die Minimal- und Maximalwerte berechnet und in Tabellen dargestellt.

Für die Auswertung der qualitativen Parameter wird die Häufigkeitsverteilung bestimmt.

Abschließend wird noch ein Methodenvergleich „Säge-Laser“ durchgeführt.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Fallbeschreibung

3.3.1.1 Hund 1

Klinischer Verlauf post operationem

In den ersten zwei postoperativen Tagen kommt es auf der rechten Seite des Unterkiefers zu einer mittelgradigen Schwellung im Bereich der Operationsstelle. Im Kehlbereich entsteht auf der Höhe des Nl. retropharyngeum medialis auf beiden Seiten in den ersten fünf Tagen p.op. zu einer Schwellung. Wie auch im Wundbereich sind diese nicht schmerzhaft und nicht vermehrt warm. Die Wunden sind ab dem ersten Tag trocken und sauber und die Nähte sind unauffällig. Das Allgemeinbefinden des Hundes ist vom ersten postoperativen Tag an ungestört und lebhaft und die Nahrungsaufnahme und der Kotabsatz sind normal.

Röntgenologische Verlaufsuntersuchungen

In den Röntgenaufnahmen, die von den Osteotomiestellen am Tag der Operation und an den postoperativen Tagen 6, 12, 17 und 22 angefertigt werden, ist bis zur letzten Aufnahmeserie der künstlich angelegte Knochenspalt deutlich sichtbar. Im direkten Vergleich der Bilder erscheint der Osteotomiespalt zu allen Zeitpunkten gleich groß.

Polychrome Sequenzmarkierung

Am 6., 12 und 17. postoperativen Tag wird dem Tier je ein Fluoreszenz-Farbstoff verabreicht (Kap. 3.2.8.3). Bei der ersten Gabe wird dem Hund Tetrazyclin subkutan an drei Stellen seitlich am Thorax appliziert. Unmittelbar nach Applikation treten stark ansteigende Unruhe und Schmerzreaktionen auf. Nach ca. 30 min kommt es zusätzlich zu einer mittel- bis hochgradiger Hautrötung im Maul- und Nasenbereich und zu einer starken Schwellung im Schnauzenbereich. Des Weiteren entsteht starker Juckreiz im gesamten Kopfbereich. Auf diese Veränderungen hin wird dem Hund 250 mg Prednisolon (Solu-Decortin[®] H 250 mg, Fa. Merck, Darmstadt) und 2 mg Dimetindenmaleat (Fenistil[®], Fa. Zyma, München) intravenös verabreicht. Fünf Minuten nach Applikation sind sämtliche Symptome wieder abgeklungen.

Am 12. Tag post OP erfolgt die Gabe des zweiten Fluorochroms, Calcein-Grün. Die Applikation erfolgt intravenös über einen Sterilfilter. Im Anschluss wird das Tier über 60 Minuten überwacht und es kann keine sichtbare Reaktion auf den Farbstoff festgestellt werden.

Als dritter Farbstoff wird am Tag 17 p.op. Xylenol-Orange intravenös appliziert und wie auch unter Calcein-Grün kommt es zu keinen Komplikationen.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Laserschnitt

Der Laserschnitt aus der rechten Unterkieferseite weist mit 1698 μm den größten Durchmesser des Spaltspaltes im Vergleich zu dem bei allen anderen Hunden auf. Der zuerst applizierte Farbstoff, das Tetrazyklin, das den Haversschen Umbau zwischen den postoperativen Tagen 6 und 10 wiedergeben soll, ist fluoreszenzmikroskopisch auch in Spuren nicht nachweisbar. Calcein-Grün und Xylenol-Orange geben die Umbaurate ab dem zwölften Tag p.op. wieder. Beide Fluorochrome sind ausschließlich im inneren Drittel und auch nur auf einer Seite des Spaltes in geringen Mengen angelagert.

Bei der fluoreszenzmikroskopischen Auswertung sind keine Anzeichen von einer Karbonisation erkennbar und auch eine periostale Fluoreszenz ist nicht zu erkennen.

Im proximalen Drittel des Spaltes ist einseitig eine deutliche Resorptionsgrube vorhanden.

Bei Hund 1 liegt kein auswertbares Präparat aus dem linken Unterkiefer vor, da bei der Entnahme durch einen Riss des Sägeblattes der Block mit dem Laserschnitt eingeklemmt und zerstört wurde.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Sägeschnitt

Der Sägeschnitt im linken Unterkieferast von Hund 1 zeigt nur eine geringe grünliche Fluoreszenz im Spaltlumen. An keinem der beiden Ränder ist einer der drei Farbstoffe feststellbar. Weder das erste Fluorochrom, Tetrazyklin, das zwischen dem siebten und zehnten postoperativen Tag sich an die freien Bindungsstellen der Kalzium-Ionen an der Oberfläche der neugebildeten Hydroxyl-Apatit-Kristalle bindet ist erkennbar, noch Xylenol-Orange, der zuletzt injizierte Farbstoff. Der Spalt selbst ist von einem dichten, jedoch nicht fluoreszierenden Gewebe vollständig ausgefüllt.

Der rechte Sägeschnitt weist ebenfalls nur eine sehr geringe Fluoreszenz auf. Diese ist ausschließlich bei dem Filter für Calcein-Grün erkennbar und ist daher im Zeitraum Tag 7 bis Tag 10 entstanden. Die farbliche Bande ist nur an einem der beiden Schnittränder vorhanden und zieht sich in Form eines schmalen Streifens von der Basis des Spaltes bis hin zum Periost. Auf der gegenüberliegenden Seite fällt die sehr unebene Oberfläche mit einer großen Resorptionsgrube auf.

Histologische Auswertung: Laserschnitt

Der rechte Laserschnitt zeigt den vom Periost aus bis in die Tiefe einen bindegewebig aufgefüllten Osteotomiespalt, dessen beide Ränder durch zahlreiche kleine Resorptionsgruben unterbrochen sind und sich sehr wellig darstellen. In den kraterartigen Vertiefungen lassen sich vereinzelt Osteoklasten nachweisen. Im Bereich des Spaltbodens ist eine schwarze Karbonisationsschicht erkennbar in dessen direkter Umgebung weder Anzeichen für Resorption noch für Apposition vorhanden sind. Im Spatlumen sind im dichten Bindegewebe bereits erste neugebildete Gefäße erkennbar. In dem den Schnittträgern angrenzenden Knochengewebe sind in einer Tiefe von bis zu 100 µm vom Schnittkanal entfernt leere Osteozyten-Lakunen zu erkennen. Im weiteren Verlauf (ca. 75 µm) kommen pyknotische Zellen in den Osteozytenhöhlen vor und erst dann erscheinen die Osteozyten unverändert.

Histologische Auswertung: Sägeschnitt

Der linke Sägeschnitt weist nur einseitig im lateralen Drittel eine Auflösung der Randstruktur durch Resorption auf. Der übrige Randbereich des Spaltes ist glatt und eben. Ab einer 10-fachen Vergrößerung ist die gesamte Übergangszone zwischen altem Knochen und Schnittspalt in einer Breite von ca. 50 µm deutlich schwarz verfärbt und bei einer Vergrößerung auf Zellebene ist eine deutliche Karbonisationszone mit abgestorbenem Zellmaterial erkennbar (Abb. 50). Leere Osteozyten-Lakunen sind bis zu einem Abstand von 100 µm feststellbar. Das Bindegewebe im Lumen ist von mehreren Gefäßen durchsprösst und die Zellanordnung ist im Randbereich bereits organisiert.

Bei dem Präparat aus der rechten Unterkieferhälfte sind beide originären Schnittträger bereits in Resorption und es ist nur noch eine wellige Struktur wahrzunehmen. Einseitig sind die Resorptionsgruben bis zu 200 µm tief und enthalten vereinzelt Osteoklasten. Im Lumen ist noch keine Einsprossung von Gefäßen feststellbar und auch vom Periost her ist noch kein Anzeichen einer beginnenden Apposition erkennbar.

3.3.1.2 Hund 2

Klinischer Verlauf post operationem

Der Wundbereich ist beidseits am ersten postoperativen Tag geringgradig geschwollen und auch im Bereich der Kiefergelenke ist während der ersten drei Tage eine leichte Schwellung feststellbar. Diese Veränderungen sind nicht schmerzhaft und weisen auch keine vermehrte Wärme auf. Die Wunden sind trocken und sauber und die Nähte unauffällig. Das Allgemeinbefinden ist ungestört und sehr lebhaft. Kotabsatz und Futteraufnahme sind normal. Am vierten Tag p.op. wird beidseitig eine leichte Otitis externa diagnostiziert und behandelt.

Röntgenologische Verlaufsuntersuchungen

Die in den postoperativen Tagen 6, 12, 17 und 22 angefertigten Röntgenaufnahmen zeigen bis zuletzt keine Veränderungen am künstlich angelegten Knochenspalt gegenüber der Aufnahme unmittelbar nach der Operation. Im direkten Vergleich der Bilder erscheint der Osteotomiespalt zu allen Zeitpunkten gleich groß.

Polychrome Sequenzmarkierung

Hund 2 erhält ebenfalls an den postoperativen Tagen 6, 12 und 17 je einen Fluoreszenzfarbstoff verabreicht (Kap. 3.2.8.3). Als Fluorochrome werden Calcein-Grün, Xylenol-Orange und am letzten Applikationstag Alizarin-Komplexon injiziert. Alle Farbstoffe werden intravenös über Sterilfilter in die V. cephalica antebrachii gegeben.

In der darauffolgenden Überwachungsphase von 60 Minuten kommt es unmittelbar nach der Applikation von Xylenol-Orange für ca. drei Minuten zu einer zunehmenden Unruhe des Tieres, die sich jedoch kurze Zeit später von selbst wieder legt. Unter den übrigen Fluorochromen kommt es zu keiner sichtbaren Reaktion auf die Farbstoffgabe.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Laserschnitt

Das Präparat aus dem linken Unterkiefer von Hund 2 weist eine Besonderheit auf. Unmittelbar benachbart zu dem kegelförmigen Laserschnitt liegt ein weiterer Schnittspalt. Dieser weist eine langgestreckte, konische Form auf und ist im Winkel von ca. 45° gegenüber dem anderen versetzt.

Bei dem spitzkegelförmigen Schnitt liegt eine geringe grüne Fluoreszenz im Bereich des Lumens im Spalteingang vor. Calcein-Grün, das bei Hund 2 am 6. postoperativen Tag injiziert wird und die Aktivität des Haversschen Umbaus zwischen dem 7. und 10. Tag wiedergibt, ist bei diesem Schnitt nicht weiter vorhanden. Der gesamte Randbereich um den

Schnittkanal ist intensiv orange angefärbt und die durchschnittliche Kallusdicke beträgt über 52 μm .

Im zweiten, benachbarten und konusförmigen Schnitt ist ebenfalls im proximalen Bereich eine leichte grüne Fluoreszenz feststellbar. In der unteren Hälfte des Spaltes ist das Lumen bis zu 80% mit orange angefärbtem Gewebe durchbaut. Xylenol-Orange ist in diesem Bereich vorherrschend und tritt im Gegensatz zum spitzkegeligen Spalt nicht im Randbereich des Schnittkanals auf. Dort liegt eine sehr intensive, ca. 60 μm dicke Calcein-Grün gefärbte Bande vor. Diese umgibt das gesamte Spallumen fast vollständig.

In keinem der beiden Schnitte ist das dritte Fluorochrom, Alizarin-Komplexon, feststellbar (Abb. 43).

Das Präparat des rechten Laserschnittes ist präparationsbedingt nicht vollständig erhalten und ist daher nicht auswertbar.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Sägeschnitt

Bei dem Präparat des Sägeschnittes an der linken Unterkieferseite ist Calcein-Grün nur als schmale Bande an beiden Rändern des Spaltes erkennbar. Diese Bande zieht sich von medial bis zum Beginn des lateralen Drittels des Schnittkanals hin. An der lateralen Seite des Spaltes tritt eine vermehrte Verfärbung durch Calcein-Grün und Xylenol-Orange in der direkten Umgebung der Osteosyntheseschraube auf. Diese wird während der Operation zur Markierung der Osteotomiestelle für die spätere Präparatentnahme angebracht. Xylenol-Orange tritt in geringer Menge zudem noch am medialen Schnitttrand einseitig im Bereich des Periosts auf. Im gesamten Schnittkanal ist dagegen kein Anzeichen auf eine Aktivität des Haversschen Umbaus in der dritten postoperativen Woche feststellbar. Auch Alizarin-Komplexon kann nicht nachgewiesen werden.

Der rechte Sägeschnitt weist eine fast durchgängige Calcein-Grün fluoreszierende Bande auf beiden Seiten des Schnittspaltes auf. Auf einer Seite wird diese durch eine deutliche Resorptionsgrube unterbrochen, während auf der anderen Seite mehrfach sehr kurze Strecken fehlen. Im Lumen des Spaltes selbst tritt keine Fluoreszenz auf. Xylenol-Orange ist sowohl medial als auch lateral jeweils auf einer Seite des Spaltrandes im Bereich des Periosts deutlich erkennbar und weist somit auf eine vermehrte Aktivität kurz nach der Applikation am 12. postoperativen Tag hin. Auch hier ist Alizarin-Komplexon fluoreszenzmikroskopisch nicht feststellbar (Abb. 40).

Histologische Auswertung: Laserschnitt

Der spitzkegelige Schnitt zeigt im Randbereich beider Seiten verstärkte Resorptionstätigkeit mit Auflösung der ursprünglichen Schnittflächen. Der Spaltboden ist schwarz verfärbt und im Umkreis dieser etwa 130 µm dicken Zone karbonisierten Materials ist keine Zellaktivität mehr feststellbar. Im Lumen sind zahlreiche Blutgefäße in das Bindegewebe eingesprosst und erste Inseln neu gebildeten Geflechtknochens treten auf. Neben zahlreichen Osteoblasten sind hier auch erste Osteozyten zu finden. Der Schnitttrand weist mehrere größere Resorptionsgruben auf, in denen neben einigen Osteoklasten vermehrt Entzündungszellen auftreten.

Im benachbarten, konusförmigen Schnitt ist bereits der Schnittkanal in weiten Teilen vollständig mit Geflechtknochen durchbaut. Nur im lateralen Drittel findet sich im Lumen noch ein Rest bindegewebigen Materials. Im Randbereich ist keine Karbonisationsschicht feststellbar und auch die Zellen des alten Knochengewebes lassen keine Veränderungen erkennen. Nur farblich ist der neugebildete Knochen noch vom umliegenden Gewebe zu unterscheiden.

Histologische Auswertung: Sägeschnitt

Der Sägeschnitt aus dem linken Unterkiefer zeigt auf beiden Seiten des Schnittspaltes eine schwarze karbonisierte Bande, die bis zu 30 µm dick ist. Auf einer Seite des Schnittkanals ist diese Schicht mehrfach durch Resorptionsaktivitäten unterbrochen und ein 80 µm breiter Streifen im Bereich des angrenzenden Knochengewebes wird resorbiert. Im Lumen finden sich neben vereinzelt, kleinen Gefäßen eine große Anzahl von Fettzellen, die vor allem im periostalen und im weiteren Eingangsbereich auftreten. Im medialen Drittel des Schnittkanals ist die gerade Schnittfläche, die durch die Säge erzeugt wird, bereits durch Resorptionsaktivitäten aufgelöst und es entstehen mehrere kleine kraterförmige Ausbuchtungen. In der knöchernen Umgebung dieser Krater finden sich vermehrt leere Höhlen und Osteozyten-Lakunen mit pyknotischen Zellkernen.

Der Sägeschnitt des Präparates der rechten Seite weist ebenfalls beidseitig eine Zone karbonisierten Materials auf. Dieser Bereich ist mehrfach durch Resorptionsgruben unterbrochen, die vielfach Osteoklasten aufweisen. In der Umgebung dieser Krater sind zahlreiche leere Osteozyten-Lakunen in einer Entfernung von ca. 100 bis 150 µm zu erkennen. Im Schnittkanal liegt zum Teil organisiertes Bindegewebe vor, das keine Anzeichen neugebildeter Gefäße aufweist. Im periostalen Bereich sind jedoch Fettzellen erkennbar.

3.3.1.3 Hund 3

Klinischer Verlauf post operationem

In den ersten beiden postoperativen Tagen liegt im Wundbereich auf beiden Seiten und im Kehlbereich eine mittelgradige Schwellung vor. Am fünften Tag p.op. tritt für ca. 24 Stunden erneut eine deutliche Schwellung im Bereich der Wunde auf der linken Unterkieferseite auf. Alle Umfangsvermehrungen sind nicht vermehrt warm und nicht schmerzhaft. Die Wunden sind ab dem ersten Tag p.op. trocken und sauber und die Nähte unauffällig. Das Allgemeinbefinden ist von Beginn an ungestört und das Verhalten dem Charakter entsprechend. Futteraufnahme und Kotabsatz sind normal. Ab dem vierten postoperativen Tag wird eine mittelgradige Otitis externa diagnostiziert und bis zum Tag 16 p.op. behandelt.

Röntgenologische Verlaufsuntersuchungen

In allen Röntgenaufnahmen, die von diesem Hund im Rahmen der Röntgen-Kontrolluntersuchungen von den Osteotomiestellen angefertigt worden sind, kann man bis zur letzten Aufnahmen-Serie die künstlich angelegten Knochenspalten deutlich sehen. Im direkten Vergleich der Bilder erscheint der Osteotomiespalt zu allen Zeitpunkten gleich groß.

Polychrome Sequenzmarkierung

Wie bei Hund 2 erhält auch Hund 3 an den postoperativen Tagen 6, 12 und 17 die Fluorochrome Calcein-Grün, Xylenol-Orange und zuletzt Alizarin-Komplexon intravenös injiziert (Kap. 3.2.8.3).

Auch hier zeigt das Tier im Anschluss auf die Applikation von Xylenol-Orange kurzzeitig erhöhte Unruhe, die sich nach etwa 3-4 Minuten wieder legte. Die übrigen Fluorochromgaben toleriert der Hund ohne erkennbare Reaktionen auf die Applikation.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Laserschnitt

Das Präparat des linken Laserschnittes zeigt eine schmale fluoreszierende Bande an einer der beiden Wände des Spaltes. Diese reicht durchgängig von der medialen bis zur lateralen Seite des Osteotomiespaltes. Im mittleren Drittel setzt sich der fluoreszierende Bereich sowohl aus Calcein-Grün als auch aus Xylenol-Orange zusammen. Dagegen ist die Fluoreszenz im medialen Drittel ausschließlich durch Calcein-Grün geprägt. Der Applikationszeitpunkt für Calcein-Grün bei Hund 3 ist der Tag 6 p.op. und für Xylenol-Orange ist es Tag 12. Zusätzlich ist nahe der erwähnten Bande noch eine größere fluoreszierende Fläche von über 80000 μm^2 ,

die im Lumen des Spaltes liegt. Alizarin-Komplexon kann bei diesem Präparat nicht nachgewiesen werden (Abb. 46).

Bei der Auswertung des rechten Laserschnittes ist lateral der gesamte Bereich von einer sehr starken Fluoreszenz geprägt. Sowohl Calcein-Grün als auch Xylenol-Orange kommen in dem trichterförmigen Anfangsbereich des Osteotomiespaltes gleichermaßen vor. Die fluoreszierende Fläche hat auf der einen Seite einen durchschnittlichen Durchmesser von ca. 375 µm und auf der zweiten Seite noch ca. 90 µm. nach außen hin wird der leuchtende Bereich von einer nicht-fluoreszierenden, schwarzen Karbonisationsschicht abgegrenzt. Im weiteren Verlauf des Schnittspaltes ist einseitig eine schmale grünfluoreszierende Bande erkennbar, die sich bis zum medialen Ende des Spaltes zieht.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Sägeschnitt

Der Sägeschnitt im linken Unterkiefer zeigt eine beidseitige, schmale grün-fluoreszierende Bande im mittleren Bereich des Osteotomiespaltes. An der medialen Seite tritt zusätzlich noch eine mittelgradige periostale Fluoreszenz durch Xylenol-Orange auf. Im Bereich des Lumens ist kein Anzeichen für einen Beginn der Spaltüberbrückung durch Haversschen Umbau feststellbar.

Das Präparat aus dem rechten Unterkieferast weist nur im lateralen Drittel des Schnittspaltes eine geringe grüne Fluoreszenz auf, die von einzelnen Resorptionsstellen unterbrochen ist. Weder Alizarin-Komplexon noch Xylenol-Orange ist fluoreszenzmikroskopisch in diesem Schnitt nachweisbar.

Histologische Auswertung: Laserschnitt

Im Laserschnitt der linken Unterkieferhälfte ist eine dichte, ockerfarbene Masse im Schnittspalt zu sehen. Dabei handelt es sich um Reste des intraoperativ eingesetzten Knochenwachses, das zur Blutungsstillung nach der Osteotomie verwendet worden ist. Diese Reste füllen den Spalt zwischen 50 und 75% in der Breite. In der gesamten Umgebung sind keine Anzeichen für eine beginnende Knochenheilung erkennbar. An den beiden Schnittträgern sind vereinzelt kleine Resorptionsgruben mit einigen Osteoklasten zu finden.

Der Schnitt der rechten Laserosteotomie zeigt sehr ausgeprägte Karbonisationen auf beiden Seiten des lateralen Drittels des Schnittkanals. Im spaltnahen Zentrum der Verbrennungsreaktion ist eine schwarz verfärbte Bande, die eine Dicke von 800 µm auf der

einen Spaltseite und ca. 1000 μm auf der anderen Seite aufweist. Daran schließt sich jeweils spaltfern eine gelblich verfärbte Schicht von ca. 300 μm und eine rosafarbene mit ca. 150 μm an. In keiner dieser Zonen im Karbonisationsbereich ist eine Zellaktivität feststellbar. Die Zone der gelben Verfärbung weist zahlreiche leere Osteozyten-Lakunen auf. In der rosafarbenen sind neben den ebenfalls vorhandenen leeren Höhlen vereinzelt auch solche mit pyknotischen Kernen zu finden. Erst außerhalb des gesamten, veränderten Bereiches können unveränderte Knochenverhältnisse festgestellt werden. Im weiteren Verlauf des Schnittkanals ist auf beiden Seiten eine schwarze Bande mit einer Stärke von ca. 20 μm , die das Lumen von den angrenzenden Knochenstrukturen abgrenzt. In diesem Bereich sind neben einigen Osteozyten auch eine Vielzahl leerer Osteozyten-Lakunen erkennbar. Im Lumen selbst sind im medialen Drittel des Spaltes einige neugebildeten Blutgefäße erkennbar.

Histologische Auswertung: Sägeschnitt

Der linke Schnitt zeigt im lateralen Drittel des Osteotomiespaltes eine vollständige Auflösung der durch die Säge erzeugten Schnittfläche. In diesem Bereich ist diese wellig und an einer Vielzahl von Stellen durch unterschiedlich große Resorptionsgruben auf beiden Seiten unterbrochen. In dem zum knöchernen Gewebe angrenzenden Gebiet finden sich zahlreiche Osteoklasten (Abb. 54). Im weiteren Verlauf des Schnittkanals ist die ursprüngliche Schnittfläche noch erhalten. Der Grenzbereich zum alten Knochengewebe ist durch eine schmale, ca. 25 μm breite schwarze Bande vom Spaltlumen getrennt. Es schließt sich eine gleichgroße rosafarben verfärbte Schicht an, in der zahlreiche leere Osteozyten-Lakunen und nur vereinzelte, vitale Osteozyten anzutreffen sind.

Im rechten Sägeschnitt ist einseitig die gesamte knöchernen Begrenzungslinie des Schnittspaltes durch Resorption aufgelöst und durch eine Vielzahl an kraterartigen Einstülpungen in den Knochen wellig verformt. In diesen Resorptionsgruben ist ein große Osteoklastenaktivität feststellbar. Die gegenüberliegende Seite erscheint mikroskopisch unverändert und ist nur an zwei sichtbaren Stellen durch Resorptionsgruben unterbrochen. Im Lumen befindet sich ein ca. 3500 μm^2 großes abgelöstes Knochenfragment, das der Form nach im mittleren Drittel des Schnittspaltes abgelöst worden ist.

3.3.1.4 Hund 4

Klinischer Verlauf post operationem

Im Bereich der Wunden tritt in den ersten zwei postoperativen Tagen eine geringgradige Schwellung auf. Am fünften Tag p.op. ist die linke Wundseite hochgradig geschwollen und vermehrt warm. Eine Röntgenaufnahme des betroffenen Bereiches zeigt ein gelöstes Knochenfragment mit Implantat aus der parallel laufenden experimentellen Studie (KELLER, in Vorbereitung). Im Rahmen einer Kurznarkose werden im Anschluss operativ Fragment und Implantat entfernt und die Schwellung ist am darauffolgenden Tag vollständig abgeklungen. Die Antibiose wird für weitere drei Tage wieder aufgenommen. Die Wundheilung verläuft während der gesamten Zeit normal und die Nähte sind unauffällig. Das Allgemeinbefinden ist nur am fünften Tag beeinträchtigt und es liegt eine Erhöhung der Körpertemperatur auf 39,1° Celsius vor. Am Tag nach der Implantatentfernung sind alle Parameter wieder im Normbereich. Futteraufnahme und Kotabsatz sind ab dem sechsten Tag – wie auch in den ersten vier Tagen – normal.

Röntgenologische Verlaufsuntersuchungen

Bei den Röntgenaufnahmen von Hund 4 ist in bezug auf die Osteotomiestellen im Verlauf der Beobachtungs- und Überwachungsphase kein Unterschied in der Größe und Form der Knochenspalten feststellbar. In den Aufnahmen vom Tag 6 ist ein Fremdkörper mit Knochendichte und ein weiterer sehr kontraststarker in unmittelbarer Nähe der Osteotomiespalten sichtbar. Es handelt sich dabei um ein gelöstes Knochenfragment und der zu dessen Fixierung eingebrachten Autokompressionsklammer aus der parallel laufenden Studie von KELLER (in Vorbereitung). Nach der operativen Entfernung beider Fremdkörper waren die ursprünglichen Verhältnisse wieder hergestellt.

Polychrome Sequenzmarkierung

Hund 4 erhält an den postoperativen Tagen 6, 12 und 17 ebenfalls die Fluorochrome Calcein-Grün, Xylenol-Orange und Alizarin-Komplexon intravenös verabreicht (Kap. 3.2.8.3). Während die Applikation von Calcein-Grün und Xylenol-Orange ohne sichtbare Reaktionen toleriert wird, kommt es bei der intravenösen Injektion von Alizarin-Komplexon nach ca. 5 Minuten zum Vomitus. Die Konsistenz des Erbrochenen ist wässrig und die Farbe ist leicht gelblich-klar. Da es nur zu einem einmaligen Erbrechen kommt und die Menge sehr gering (ca. 30 ml) ist, wird auf weitere Maßnahmen verzichtet.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Laserschnitt

Bei der fluoreszenzmikroskopischen Auswertung des linken Laserschnittes von Hund 4 ist eine schmale, aber durchgängige Bande auf beiden Seiten des Schnittes erkennbar. Im lateralen und medialen Drittel ist die Fluoreszenz ausschließlich auf Calcein-Grün zurückzuführen. Im mittleren Drittel ist Xylenol-Orange in gleichem Maße aktiv. Weiter sind in diesem Bereich zwei größere fluoreszierende Flächen mit ca. 26000 bzw. 44000 μm^2 auffällig. Beide liegen an selben Randseite des Schnittspaltes. Sowohl Calcein-Grün als auch Xylenol-Orange sind daran beteiligt, wobei der Farb-Anteil von Grün dominiert wird. Das Lumen selbst ist von einer dichten, nicht-fluoreszierenden Substanz aufgefüllt.

Der Osteotomiespalt im rechten Unterkiefer weist eine sehr stark ausgeprägte Fluoreszenz auf. Sowohl medial als auch lateral ist der Spalt von grün- und orange-fluoreszierendem Gewebe vollständig überbaut. Diese so gebildete Brücke wird spaltnah durch eine über 100 μm starke Schicht, die durch Calcein-Grün markiert wird, gebildet, während der spaltferne Anteil deutlich orange fluoresziert. Dieser Bereich hat eine Dicke von über 400 μm . Der Schnittspalt selbst ist beidseits durchgehend von einer breiten grünfluoreszierenden Bande begrenzt. Diese ist ca. 90 μm dick. Xylenol-Orange ist vornehmlich im medialen Drittel des Spaltinneren vorherrschend und überbrückt das Lumen dort an mehreren Stellen vollständig (Abb. 48).

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Sägeschnitt

Der Sägeschnitt an der linken Unterkieferseite weist nur im periostalen Bereich eine geringe grüne Fluoreszenz auf. Im Spaltlumen treten einige kleine, fluoreszierenden Inseln mit einer Fläche von ca. 20.000 μm^2 Umfang auf, die auf eine Markierung durch Calcein-Grün zurückzuführen sind. Im Randbereich des Lumens sind vereinzelt Spuren von Xylenol-Orange nachweisbar. An der medialen Seite des Osteotomiespaltes tritt im Bereich des Periosts beidseits eine starke Reaktion der Fluorochrome auf. Diese überbrückt den Spalt jedoch nicht und setzt sich zu gleichen Teilen aus dem knochenah angelagerten Calcein-Grün und dem knochenfern gebundenen Xylenol-Orange zusammen. Beide Fluorochrome überlappen sich im mittleren Drittel der reaktiven Fläche.

Der rechte Sägeschnitt weist lateral kein Anzeichen fluorochromer Aktivität auf. Im mittleren Drittel des Spaltes ist einseitig eine dünne grünfluoreszierende Bande feststellbar. Das mediale Drittel wird durch eine ausgeprägte orangefarbene Fluoreszenz dominiert. Diese tritt

in Form einer bis zu 220 µm dicken Bande auf, die beidseits den Schnittspalt flankiert. Es kommt dabei aber zu keiner Überbrückung des Schnittkanals. Zusätzlich ist eine durch Calcein-Grün begründete Fluoreszenz im Bereich des spaltnahen Periosts erkennbar, die den Spalt von außen hin ebenfalls nicht überbaut (Abb. 38).

Histologische Auswertung: Laserschnitt

Der linke Laserschnitt von Hund 4 weist auf beiden Seiten des Osteotomiespaltes eine 35-50 µm dicke schwarze Verbrennungszone auf. Diese befindet sich im Übergangsbereich zwischen der bindegewebigen Struktur im Spalt und dem angrenzenden Knochengewebe außerhalb. In einem Umkreis von ca. 80 µm von der karbonisierten Bande sind keine aktiven Knochenzellen mehr feststellbar. Neben leeren Osteozyten-Lakunen kommen vereinzelt pyknotische Zellkernreste vor. Im Lumen des Schnittspaltes sind vereinzelt neugebildete Blutgefäße erkennbar und nahe dem schwarzen Zone der Karbonisation am Rand sind einzelne Osteoklasten zu sehen. Der Randbereich ist nicht durch Resorptionsgruben unterbrochen und die ursprüngliche Schnittlinie ist beiderseits noch deutlich erkennbar.

Der rechte Laserspalt ist dagegen in weiten Teilen bereits knöchern durchbaut. Im Lumen sind zehn Inseln mit einem Durchmesser von ca. 100 µm zu erkennen, die vollständig von Bone-Lining-Cells umgeben sind und neben den zahlreichen Osteoblasten auch einige Osteozyten enthalten. Das die knöchernen Inseln umgebende Gewebe weist nicht mehr die blaue Färbung des ersten Bindegewebes auf, sondern erreicht mit dem zartrosafarbenen Ton fast die Farbe des umgebenen, alten Knochengewebes. Hier finden sich auch zahlreiche neu angelegte Blutgefäße. An der lateralen Seite des Schnittes ist ein Kallushügel mit einer Länge von 2000 µm und einer Höhe von 600 µm zu sehen. Das mediale Ende des Osteotomiespaltes dagegen ist flach und der Spalt bereits vollständig verknöchert (Abb. 52).

Histologische Auswertung: Sägeschnitt

Der linke Sägeschnitt zeigt auf beiden Seiten des Osteotomiespaltes eine deutliche karbonisierte, schwarze Bande mit einer Breite von 15 µm, die sich in der gesamten Länge von medial nach lateral zieht. In den Randbereichen sind keine Veränderungen oder Unterbrechungen durch Resorption des benachbarten Knochengewebes feststellbar. Im Lumen sind vereinzelte, neugebildete Blutgefäße zu sehen und im medialen Drittel auch Reste des eingesetzten Knochenwachses.

Bei dem Schnitt auf der rechten Unterkieferseite dagegen sind deutliche Veränderungen an beiden Schnittträgern zu erkennen. Auf der gesamten Länge des Spaltes ist die durch die Säge entstandene, gerade Schnittfläche durch Resorptionsvorgänge auf beiden Seiten völlig aufgelöst. Es liegt eine wellige, ungleichmäßige Spaltform vor, die von zahlreichen Resorptionsgruben unterbrochen sind. In diesen Knochen-Einstülpungen sind vermehrt Osteoklasten angesiedelt. Im Lumen sind neben mehreren neu angelegten Blutgefäßen im lateralen Drittel des Spaltes auch einige Inseln mit neugebildeten Geflechtknochen zu finden (Abb. 53). Geflechtknochen findet sich zudem auch in den Randbereichen um die mediale Schnittspaltöffnung herum. So kann der Osteotomiekanal dort an manchen Stellen fast zur Hälfte überbrückt werden.

3.3.1.5 Hund 5

Klinischer Verlauf post operationem

In den ersten zwei postoperativen Tagen tritt eine gering- bis mittelgradige Schwellung im Bereich beider Operationsseiten auf. Diese ist weder vermehrt warm noch schmerzhaft. Das Allgemeinbefinden ist während der gesamten Überwachungsphase ungestört und das Tier kann als lebhaft bezeichnet werden. Futteraufnahme und Kotabsatz sind normal.

Röntgenologische Verlaufsuntersuchungen

In den Röntgenaufnahmen, die von den Osteotomiestellen am Tag der Operation und an den postoperativen Tagen 6, 12, 17 und 22 angefertigt werden, ist bis zur letzten Aufnahmeserie der künstlich angelegte Knochenspalt deutlich sichtbar. Im direkten Vergleich der Bilder erscheint der Osteotomiespalt zu allen Zeitpunkten gleich groß.

Polychrome Sequenzmarkierung

Die an den postoperativen Tagen 6, 12 und 17 verabreichten Farbstoffe Calcein-Grün, Xylenol-Orange und Alizarin-Komplexon (Kap. 3.2.8.3) werden von Hund 5 in dem sich anschließenden Kontrollzeitraum von 60 Minuten ohne erkennbare Reaktionen auf den applizierten Farbstoff toleriert.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Laserschnitt

Das fluoreszenzmikroskopische Bild des linken Laserschnittes bei Hund 5 zeigt eine hochgradige Fluoreszenz im medialen Ende des Schnittkanals. Der Übergangsbereich vom

Schnittkanal zum Periost ist trichterförmig verbreitert und weist zahlreiche, kraterähnliche Vertiefungen auf. Die Fluoreszenz tritt nicht direkt am Schnitttrand auf, sondern sie liegt hinter einer schwarzen karbonisierten Gewebeschicht, die ca. 200 µm dick ist. Sowohl Calcein-Grün als auch Xylenol-Orange ist in gleichem Maße in diesen Flächen feststellbar. Die fluoreszierenden Flächen sind ca. 375.000 und 440.000 µm² groß. Im Schnittspalt selbst ist die gerade, knöcherne Randstruktur fast vollständig aufgelöst und es liegt eine unebene, von Kratern durchsetzte Oberfläche vor. Auf der einen Seite des Schnittkanals ist dabei eine geringe Spur von durch Calcein-Grün markierter Knochensubstanz erkennbar, während die andere Seite eine große Fläche mit sehr ausgeprägter Fluoreszenz aufweist. Diese ist sowohl auf die Anwesenheit von Calcein-Grün als auch von Xylenol-Orange zurückzuführen (Abb. 45).

Der rechte Laserschnitt weist am lateralen Rand eine Xylenol-Orange bedingte Fluoreszenz am Ende des Schnittkanals auf, die den Spalt vollständig überbrückt. Der Osteotomiespalt selbst wird, mit Ausnahme von mehreren Unterbrechungen durch Kraterartige Vertiefungen des Spaltrandes, fast vollständig von einer ca. 150 µm dicken, grün fluoreszierenden Bande beidseitig durchzogen. Im mittleren Drittel ist Xylenol-Orange an der Farbgebung mitbeteiligt.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Sägeschnitt

Das Präparat der linken Unterkieferseite zeigt auf beiden Seiten des Schnittkanals eine dünne, grün-fluoreszierende Bande. Zur medialen Seite des Schnittes hin endet die Bande jeweils in einer tiefen, kraterartigen Unterbrechung der geraden Knochenlinie. Im Schnittlumen sind vereinzelte kleine, fluoreszierende Inseln erkennbar. Sämtliche feststellbare Fluoreszenz ist auf Calcein-Grün zurückzuführen. Die Anwesenheit von Alizarin-Komplexon und Xylenol-Orange kann bei diesem Präparat nicht nachgewiesen werden (Abb. 39).

Bei der Auswertung des rechten Sägeschnittes kann eine deutliche periostale Fluoreszenz im Bereich des medialen Spaltendes festgestellt werden. Farblich ist sie alleine dem Fluorochrom Xylenol-Orange zuzuordnen. Calcein-Grün kann nur in Form einer kleinen Insel (ca. 25.000 µm²) im medialen Drittel des Schnittkanals nachgewiesen werden. Weitere Anzeichen für eine Fluoreszenz können bei der diesem Schnitt nicht festgestellt werden (Abb. 37).

Histologische Auswertung: Laserschnitt

Das Präparat aus der linken Unterkieferseite zeigt am medialen Ende des Osteotomiespaltes eine sehr starke Karbonisationszone (Abb. 51). Dieser tiefschwarze Bereich hat eine Dicke von bis zu 300 µm und ihm folgt eine gelblich verfärbte Zone mit einer Stärke von etwa weiteren 150 µm. In der schwarzen Karbonisationsschicht sind keine Zellen oder andere Gewebestrukturen mehr differenzierbar. In der angrenzenden, gelbgefärbten Zone sind zahlreiche leere Osteozyten-Lakunen erkennbar, jedoch keine Anzeichen von lebendem Zellmaterial. Erst ca. 300 µm vom schwarzen Karbonisationszentrum entfernt kommen erste Osteozyten und andere Zellen vor. Im weiteren Verlauf des Schnittspaltes ist der Randbereich des Osteotomiespaltes auf einer Seite fast vollständig erhalten. Nur an drei Stellen sind große Resorptionsgruben erkennbar. Auf der anderen Seite ist der ursprüngliche Randverlauf durch Resorptionsvorgänge völlig aufgelöst und es liegt eine wellige Übergangzone zum angrenzenden Knochengewebe vor.

Bei dem rechten Laserschnitt ist der Schnittrand einseitig vollständig resorbiert in einem Bereich von ca. 110 µm Breite. Hier liegen vermehrt Osteoklasten und Lymphozyten vor. Der andere Rand des Schnittspaltes ist fast vollständig erhalten und nur an wenigen Stellen durch kleinere Resorptionsgruben unterbrochen. Im Spatlumen sind keine Anzeichen einer beginnenden Verknöcherung feststellbar.

Histologische Auswertung: Sägeschnitt

Im linken Sägeschnitt ist in der lateralen Hälfte einseitig eine deutliche schwarze karbonisierte Schicht erkennbar, die den alten Knochen von dem Spalt trennt. Diese schwarze Bande ist ca. 25 µm dick und im benachbarten Knochengewebe sind vereinzelt leere Osteozyten-Lakunen zu finden. In diesem Bereich ist das Ersatzgewebe im Spalt zellarm und bis zu diesem Zeitpunkt ohne neu eingesprossete Blutgefäße. Im mittleren Bereich des Schnittes treten beidseits des Osteotomiekanals größere Resorptionsgruben auf und es sind vereinzelt Osteoklasten erkennbar. Im medialen Bereich des Schnittes dagegen ist eine fortgeschrittene Knochenheilung feststellbar. Das Lumen des Spaltes ist dabei zu etwa einem Drittel mit neugebildeten Geflechtknochen durchwachsen. Der übrige Teil ist angefüllt mit einer Vielzahl von kleinen Inseln, die unmittelbar vor der Verknöcherung stehen. Sie sind umrandet von vielen Bone-Lining-Cells und im Zentrum sind bereits einige Osteozyten erkennbar.

Der rechte Sägeschnitt weist auf beiden Seiten des Spatlumens eine Auflösung der knöchernen Begrenzung. Durch Resorption wird das Gewebe vollständig abgetragen. In diesem Bereich sind vereinzelt Osteoklasten nachweisbar. Im Spatlumen selbst sind keine neu eingesprossenen Blutgefäße oder andere Merkmale für einen beginnenden Umbau festzustellen.

3.3.1.6 Hund 6

Klinischer Verlauf post operationem

Am zweiten postoperativen Tag hat sich der Hund durch Eigenmanipulation an der linken Wundseite einen und an der rechten Seite zwei der Hautnähte herausgerissen. Die Wunden sind beidseits offen und bluten. In Narkose werden die Wunden mit Klammern wieder verschlossen und die Antibiose für weitere drei Tage wieder aufgenommen. Im weiteren Verlauf bleibt bis zum vierten Tag p.op. eine deutliche Schwellung an der rechten Wundseite bestehen, die nicht vermehrt warm und auch nicht schmerzhaft ist. Aus der Wunde tritt in dieser Zeit wässrige Flüssigkeit aus. Ab dem fünften Tag ist die Wunde unauffällig. Das Allgemeinbefinden ist während der gesamten Überwachungsphase ungestört. Futteraufnahme und Kotabsatz sind normal.

Röntgenologische Verlaufsuntersuchungen

In den Röntgenaufnahmen, die von den Osteotomiestellen am Tag der Operation und an den postoperativen Tagen 6, 12, 17 und 22 angefertigt werden, ist bis zur letzten Aufnahmeserie der künstlich angelegte Knochenspalt deutlich sichtbar. Im direkten Vergleich der Bilder erscheint der Osteotomiespalt zu allen Zeitpunkten gleich groß.

Polychrome Sequenzmarkierung

Hund 6 erhält ebenfalls an den postoperativen Tagen 6, 12 und 17 je einen Fluoreszenzfarbstoff gespritzt (Kap. 3.2.8.3). Als Fluorochrome werden Calcein-Grün, Xylenol-Orange und am letzten Applikationstag Alizarin-Komplexon injiziert. Alle Farbstoffe werden intravenös über Sterilfilter in die V. cephalica antebrachii gegeben.

In der darauffolgenden Überwachungsphase von 60 Minuten kommt es bei keinem der applizierten Fluorochromen zu einer sichtbaren Reaktion.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Laserschnitt

Der linke Laserschnitt weist im gesamten Verlauf des Osteotomiekanals eine beidseitige ca. 75 µm starke Fluoreszenz, die nur vereinzelt durch kraterartige Vertiefungen in das Knochengewebe hinein unterbrochen werden. Mit Ausnahme einer ca. 5.000 µm² großen Fläche im mittleren Drittel des Schnittkanals, die orange fluoresziert, sind alle übrigen Banden Calcein-Grün zuzuordnen. Im Spongiosa-Bereich ist eine sehr ausgeprägte, durch Xylenol-Orange bedingte, Fluoreszenz feststellbar, die sich beidseitig, pilzkopfförmig in das Gewebe ausbreitet und den spongiösen Bereich zu etwa einem Drittel ausfüllt (Abb. 47).

Das rechte Präparat weist eine sehr deutliche Fluoreszenz im gesamten Schnittbereich auf. Auf beiden Seiten des Osteotomiekanals ist eine durchgehende, grüne Bande zu sehen, die in medialer Richtung an Dicke zunimmt und in unmittelbarer Nähe zum Spaltausgang diesen von innen her vollständig überbrückt. Das Lumen ist im medialen Hälfte komplett mit orange-fluoreszierendem Gewebe durchbaut, während in dem lateralen Teil eine unvollständige, schwammartige Struktur erkennbar ist und der Spalt nur ungleichmäßig überbrückt ist. Während an der lateralen Ende des Schnittes keine periostale Fluoreszenz feststellbar ist, kommt es medial zu einer sehr deutlichen Reaktion von Calcein-Grün und Xylenol-Orange. Die Dicke der grünen Schicht beträgt etwa 200 µm und die durch Xylenol-Orange bedingte ca. 350 µm.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Sägeschnitt

Der Sägeschnitt des linken Unterkiefers weist im Lumen einseitig eine schmale Spur grüner Fluoreszenz auf, die von lateral bis medial nur vereinzelt von kraterartigen Knochenvertiefungen unterbrochen ist. Im Bereich des medialen Ende des Spaltes kommt es im Randbereich zu einer verstärkten orangefarbenen Fluoreszenz, die mit einer Dicke von ca. 150 µm deutlich stärker ist als die von Calcein-Grün zuvor (ca. 45 µm). An der medialen Seite des Schnittes ist im Gegensatz zur lateralen Seite eine deutliche periostale Fluoreszenz feststellbar, die ausschließlich von Xylenol-Orange bedingt ist (Abb. 42).

Das Präparat auf der rechten Unterkieferseite weist im lateralen Drittel des Schnittkanals an beiden Seiten eine dünne grünfluoreszierende Spur auf. Im Bereich des medialen Spaltendes ist eine deutliche orangefarbene Bande vorherrschend, die am Spaltrand endet und nach einer Unterbrechung in die periostale Fluoreszenz übergeht. Diese ist vornehmlich durch Xylenol-Orange geprägt und Calcein-Grün ist hier nur in Spuren nachweisbar.

Histologische Auswertung: Laserschnitt

Bei dem linken Laserschnitt ist auf der einen Seite des Spaltlumens eine deutliche schwarze Karbonisationsbande erkennbar. Sie reicht komplett von der lateralen zur medialen Seite des Schnittes und hat eine Breite von ca. 50 μm . Auf der anderen Seite des Spaltlumens ist der gesamte Randbereich durch eine Vielzahl von Resorptionsgruben aufgelöst. Durch die großflächigen Resorptionsvorgänge hat die Breite des Osteotomiekanals an manchen Stellen um das Doppelte zugenommen und den Spalt deutlich vergrößert. In einigen der Resorptionsgruben können bereits neugebildete knöcherne Inseln mit Osteoblasten, Osteozyten und Blutgefäßen nachgewiesen werden. Ebenfalls neuer Geflechtknochen kommt am medialen Schnittende vor. Hier ist der Spalt sichtbar durch äußere Kallusbildung überbrückt.

Der rechte Laserschnitt zeigt einen fast vollständig knöchern durchbauten Schnittspalt. Das gesamte Gewebe ist durch Geflechtknochen ersetzt und mit vielen neu eingesprossenen Blutgefäßen durchsetzt. Zum Teil sind noch Reste erster Knocheninseln mit Bone-Lining-Cells umgeben erkennbar. Im ehemaligen Schnittspalt sind in allen Bereichen Osteozyten nachweisbar.

Histologische Auswertung: Sägeschnitt

Im Präparat des linken Sägeschnittes von Hund 6 sind die Knochenstrukturen, die das Spaltlumen seitlich begrenzen, fast vollständig aufgelöst. Durch eine Vielzahl von Resorptionsgruben, die zum Teil bis zu 160 μm in das Knochengewebe hineinreichen, hat sich die Spaltbreite an manchen Stellen um fast die Hälfte vergrößert. In dem Bereich um diese kraterartigen Einstülpungen sind kaum Osteozyten, sondern nur leere Osteozytenhöhlen feststellbar. Erst in einer Entfernung von ca. 275 μm vom ursprünglichen Schnittspaltrand können Osteozyten nachgewiesen werden. Im Spaltlumen sind einige neu eingesprossene Blutgefäße erkennbar.

Der rechte Sägeschnitt zeigt im lateralen Bereich auf beiden Seiten des Spaltlumens eine deutliche Neubildung von Geflechtknochen. Dieser entspringt periostnah und kann den Spalt insgesamt zu etwa 50% überbrücken. In dem neugebildeten Geflechtknochen sind bereits viele Osteozyten und Blutgefäße und nur noch vereinzelte Inseln mit einigen Bone-Lining-Cells zu erkennen. Das mediale Schnittende ist ebenfalls fast zur Hälfte mit neugebildeten Geflechtknochen durchbaut und es ist auch eine deutliche äußere Kallusbildung feststellbar.

Im mittleren Bereich des Spaltlumens finden sich neben mehreren verknöcherten Inseln mit Blutgefäßen und Osteoblasten auch vereinzelt größere Bereiche mit abgeschlossenem Umbau zum Geflechtknochen.

3.3.1.7 Hund 7

Klinischer Verlauf post operationem

Hund 7 weist in den ersten zwei postoperativen Tagen eine geringgradige Schwellung im Bereich der Wunden an den beiden Unterkieferseiten auf. Wunde und Nähte sind während der gesamten Überwachungszeit unauffällig und das Allgemeinbefinden des Tieres ist ungestört. Futteraufnahme und Kotabsatz sind normal.

Röntgenologische Verlaufsuntersuchungen

Die Röntgenbilder, die in den postoperativen Tagen 0, 6, 12, 17 und 22 von den Osteotomiestellen angefertigt werden, weisen bis zur letzten Aufnahmen-Serie keine sichtbare Veränderung der künstlich angelegten Knochenspalten auf. Im direkten Vergleich der Bilder erscheint der Osteotomiespalt zu allen Zeitpunkten gleich groß.

Polychrome Sequenzmarkierung

Analog zu den Hunden 2-6 erhält auch Hund 7 die Farbstoffe Calcein-Grün, Xylenol-Orange und Alizarin-Komplexon intravenös injiziert. Alle drei Fluorochrome werden von dem Tier ohne sichtbare Reaktionen im Verlauf der Überwachungsphase toleriert.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Laserschnitt

Bei Hund 7 weist der Laserschnitt der linken Unterkieferseite sehr gut ausgeprägte fluoreszenzmikroskopische Banden auf. Der gesamte, den Schnittspalt umgebende Randbereich weist eine durchgehende Zone grüner Verfärbung auf. Am medialen blinden Ende dieses Schnittes kommt es sogar zur vollständigen Überbrückung des Spaltes vom Randbereich aus. Im Lumen selbst sind einzelne kleine Inseln erkennbar, die entweder durch Calcein-Grün oder durch Xylenol-Orange fluoreszierend angeregt werden. Im lateralen Teil des Osteotomiespaltes ist eine größere flächige Anhäufung von orangefarben markiertem Gewebe feststellbar die den Schnittbereich fast vollständig überbrückt. Eine periostale Fluoreszenz ist in diesem Präparat nicht feststellbar (Abb. 44).

Ähnliche Verhältnisse liegen auch beim rechten Laserschnitt vor. Auch hier ist die knöchernen Umrandung des Schnittkanals von einer fast durchgehenden Calcein-Grün-Bande umgeben, die nur im lateralen Bereich durch mehrere kraterförmige Vertiefungen in den Knochen unterbrochen ist. Das Spaltlumen ist im mittleren Drittel mehrfach von einer orange-fluoreszierenden, netzartigen Gewebestruktur durchbaut. Im periostalen Bereich auf der lateralen Seite des Schnittspaltes ist eine deutliche Markierung durch das Fluorochrom Calcein-Grün feststellbar. Diese beginnt direkt am Osteotomiespalt und zieht sich in eine Dicke von ca. 200 µm über die gesamte sichtbare Strecke der Knochenoberfläche.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung: Sägeschnitt

Der Sägeschnitt auf der linken Seite des Unterkiefers zeigt einseitig eine schwache Fluoreszenz an einer der knöchernen Begrenzungsseiten des Schnittspaltes. Diese schmale grüne Bande zieht sich, mit einer Unterbrechung durch eine kraterförmige Einbuchtung des Knochens ausgenommen, vollständig von der lateralen bis zur medialen Seite des Osteotomiespaltes. Der andere den Schnittkanal begrenzende Rand ist von einer unebenen Oberfläche und fluoreszenzmikroskopisch unauffällig. Am medialen Ende des Spaltes ist eine auffällige Calcein-Grün markierte Fläche, die im Lumen liegt, mit diesem jedoch keine direkte Verbindung hat. Diese beschriebene Fläche geht im Anschluss in die periostale Fluoreszenz über. Die periostale Fluoreszenz ist sehr ungleichmäßig an der Knochenoberfläche verteilt und lässt die Gewebestruktur netzartig erscheinen. Sämtliche erkennbare Fluoreszenz in diesem Präparat ist auf Calcein-Grün zurückzuführen. Weder Xylenol-Orange noch Alizarin-Komplexon kann hier nachgewiesen werden.

Der Schnitt aus der rechten Seite des Unterkiefers weist lateral nur eine sehr geringe fluoreszenzmikroskopische Aktivität auf. Eine schmale grün- und orange-fluoreszierende Bande zieht sich auf der einen Seite des Schnittkanals vom Ende des lateralen Drittels bis zum medialen Spaltende hin. Auf der anderen Seite des Kanals ist nur im medialen Drittel eine ungleichmäßige und häufig unterbrochene Calcein-Grün markierte Spur feststellbar. Das mediale Spaltende selbst wird von einer deutlichen periostalen Fluoreszenz bestimmt, die bis in den Schnittspalt hineinreicht. Diese wird ausschließlich von Xylenol-Orange markiert. Im Lumen liegen neben mehreren kleinen grünfluoreszierenden Inseln zwei auffallend große mit einer Fläche von 42.000 bzw. 155.000 µm². Die Form dieser Inseln ist unregelmäßig (Abb. 41).

Histologische Auswertung: Laserschnitt

Im linken Laserschnitt ist eine der beiden an das Spaltlumen angrenzenden Knochenlinie im lateralen Hälfte durch Resorption aufgelöst und das Gewebe ist so stark bereits abgebaut, dass die Spaltbreite in diesem Bereich um ein Drittel zugenommen hat. Die Resorptionsgruben (Abb. 55) laufen zum Knochen hin spitz zu und enthalten zum Teil Osteoklasten. In allen Teilen des Spaltes ist eine Vielzahl neu eingesprosser Blutgefäße verschiedenen Durchmessers anzutreffen. Weitere Anzeichen auf eine beginnende Knochenheilung können nicht festgestellt werden.

Bei dem rechten Laserschnitt ist auf beiden Seiten des Schnittkanals eine deutliche, schwarze Bande als Folge von einer Karbonisation des betroffenen Gewebes erkennbar. Während auf der einen Seite keine Resorption als Folge dieser thermischen Schädigung erkennbar ist, kommt es auf der gegenüberliegenden Seite zu massiven Veränderungen. Ausgehend von einer Resorptionsstelle in der Mitte und einer am medialen Ende des Spaltes findet eine großflächige Auflösung des benachbarten Knochengewebes statt. Die Fläche in der die Resorptionsvorgänge stattfinden reicht vollständig vom lateralen zum medialen Schnittende und verläuft parallel zum ursprünglichen Schnittkanal. Der Schnitt verbreitert sich dadurch auf das Vierfache der normalen Breite (Abb. 56).

Histologische Auswertung: Sägeschnitt

Der Sägeschnitt der linken Unterkieferseite weist keine Veränderungen des umliegenden Gewebes durch Resorptionsvorgänge auf (Abb. 57). Im Lumen kann eine beginnende Knochenheilung festgestellt werden. Neu eingesprossene Blutgefäße sind dabei ebenso feststellbar wie erste Organisation von Osteoblasten zu unregelmäßigen Inseln.

Bei dem rechten Sägeschnitt sind beide den Schnittspalt begrenzenden Randflächen ohne Anzeichen von beginnenden oder fortschreitenden Resorptionsprozessen. Im Lumen selbst liegen auch keine Hinweise auf eine beginnende Knochenheilung vor.

3.3.2 Gesamtübersicht der Ergebnisse

3.3.2.1 Operationsverlauf

Die durchschnittliche Dauer der Operationen beträgt 155 Minuten (120-225 min). Die Osteotomiestelle der beiden Verfahren zueinander wird durch Randomisierung festgelegt (s. Tab. 4). Im Verlauf der Operationen kommt es bei den Hunden 1, 2 und 4 zu starken Blutungen aus dem Osteotomiespalt während des Laser- bzw. Sägeeinsatzes. Diese werden mit Knochenwachs gestillt. Unmittelbar vor dem Beginn jeder Osteotomie erhält der Patient zusätzlich 2 bis 3 ml Propofol, um eine optimalen Narkosetiefe zu gewährleisten. Alle Hunde überstehen die Narkose und die Operationen ohne größere Zwischenfälle. 20 Minuten nach Ausleitung der Narkose sind alle Hunde bereits vollständig bei Bewusstsein und laufen umher.

3.3.2.2 Laser-Schnitte

Die Schnitttiefe wird über die Lasersoftware auf 8 mm eingestellt. Die Dauer der Laserschnitte liegt im Schnitt bei ca. 100 Sekunden. Im einzelnen ist die Schnittzeit des Lasers für jeden einzelnen Hund in der Tabelle 6 zusammengefasst.

Tab. 6: Laser-Dauer in Sekunden

	Hund 1	Hund 2	Hund 3	Hund 4	Hund 5	Hund 6	Hund 7
Links	180	90	75	75	90	135	155
Rechts	150	90	45	120	120	120	140

3.3.2.3 Säge-Schnitte

Die Sägeschnitte werden unmittelbar im Anschluss zum Laserschnitt analog zu diesem an der vorgegebenen Stelle durchgeführt.

3.3.2.4 Klinischer Verlauf

In den ersten zwei bis postoperativen Tagen liegt bei allen Hunden eine gering- bis mittelgradige Schwellung auf einer oder auf beiden Wundseiten vor. Die Umfangsvermehrungen sind bei Palpation nicht schmerzhaft und auch nicht vermehrt warm. In einem Fall (Hund 4) kommt es am fünften Tag p.op. zu einer hochgradigen Schwellung im Bereich der Operationsstelle an der linken Unterkieferseite und es wird operativ ein losgelöstes Knochenfragment und ein Implantat aus einer parallel laufenden Studie

(KELLER, in Vorbereitung) aus der Wunde entfernt. Der weitere Wundheilungsverlauf ist ungestört. Ein weiteres Tier (Hund 6) eröffnet sich die Nähte auf beiden Seiten durch Kratzen. Die Wunden werden durch Klammern wieder verschlossen. Bei allen Tieren ist das Allgemeinbefinden im Verlauf der 21-tägigen Überwachungsphase nicht gestört und ab dem ersten postoperativen Tag findet eine normale Futteraufnahme in normalem Umfang ohne Probleme statt. Das Verhalten der Tiere ist unverändert und reicht von sehr lebhaft bis vorsichtig. Die Hunde spielen in gewohnter Weise mit Softbällen, die auch ohne sichtbare Beeinträchtigung im Maul getragen werden.

3.3.2.5 Röntgenologische Kontrolluntersuchungen

Bei der Auswertung der Röntgenbilder ist bei allen Tieren keine sichtbare Veränderung im Verlauf der dreiwöchigen Kontrollperiode an der Größe des Osteotomiespaltes erkennbar. Auch die farblichen Schattierungen des Gewebes im angrenzenden Spaltbereich heben sich bis zuletzt deutlich von denen im Schnittpalt ab (Abb. 13-20).

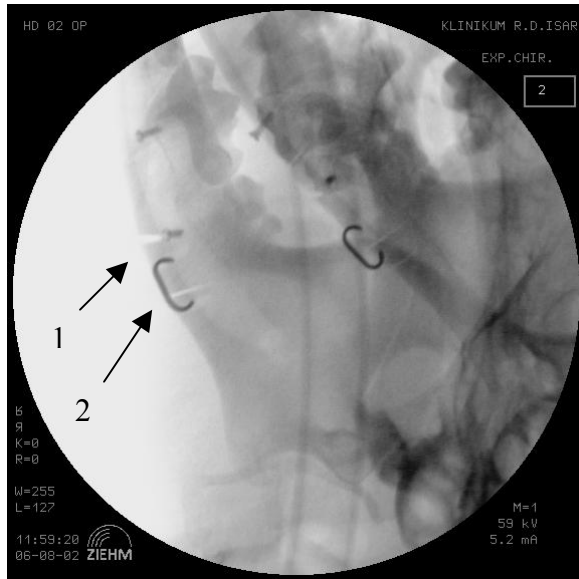


Abb. 13: Hund 2 - Röntgenaufnahme postoperativ - linke Unterkieferseite:
1: Laserschnittspalt
2: Klammer von KELLER
(in Vorbereitung)

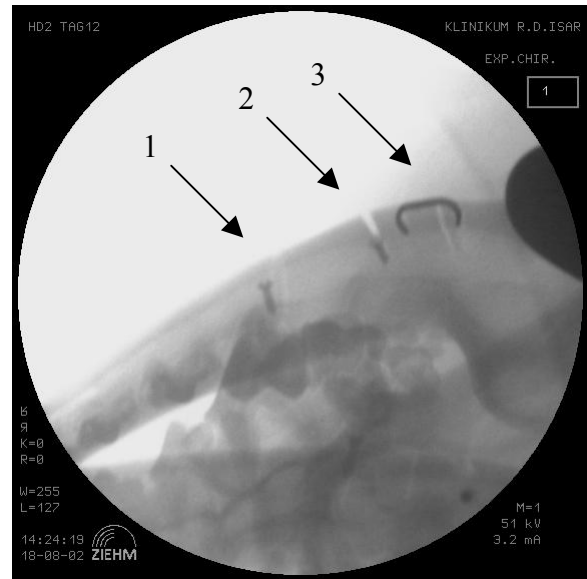


Abb. 14: Hund 2 - Röntgenaufnahme Tag 12 p.op. linke Unterkieferseite:
1: Sägeschnittspalt (überlagert)
2: Laserschnittspalt
3: Klammer von KELLER
(in Vorbereitung)

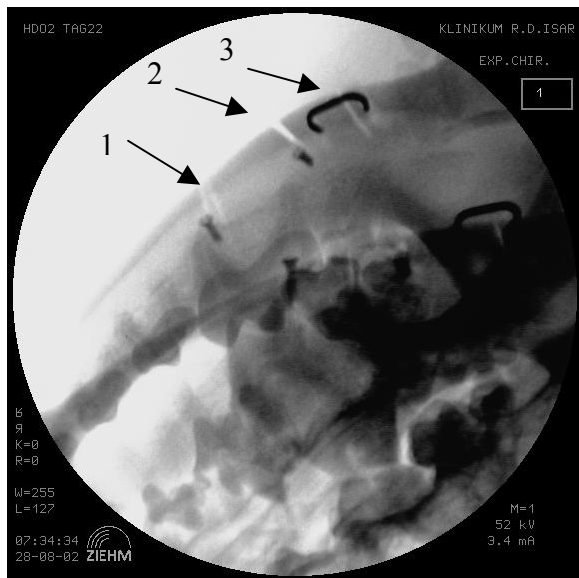


Abb. 15: Hund 2 - Röntgenaufnahme Tag 22 - linke Unterkieferseite:
1: Sägeschnittspalt (leicht überlagert)
2: Laserschnittspalt
3: Klammer von KELLER
(in Vorbereitung)

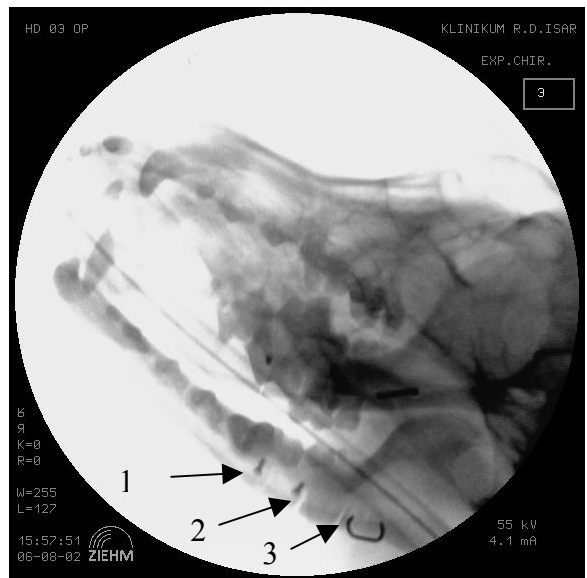


Abb. 16: Hund 3 - Röntgenaufnahme postoperativ - linke Unterkieferseite:
1: Sägeschnittspalt (überlagert)
2: Laserschnittspalt
3: Klammer von KELLER
(in Vorbereitung)

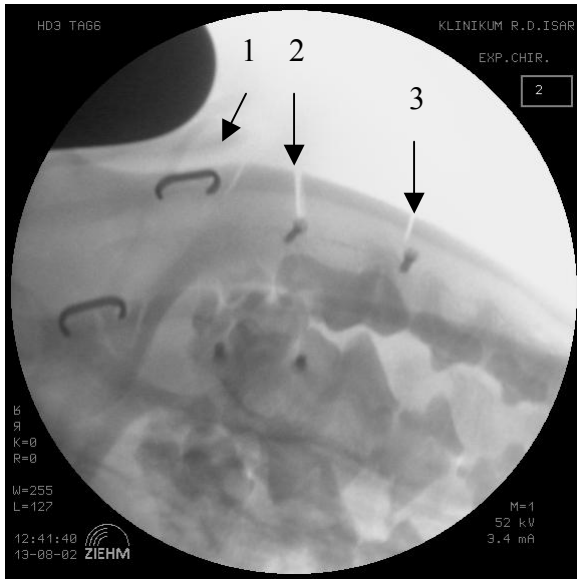


Abb. 17: Hund 3 - Röntgenaufnahme Tag 6 - linke Unterkieferseite:

- 1: Klammer von KELLER
(in Vorbereitung)
- 2: Laserschnittspalt
- 3: Sägeschnittspalt

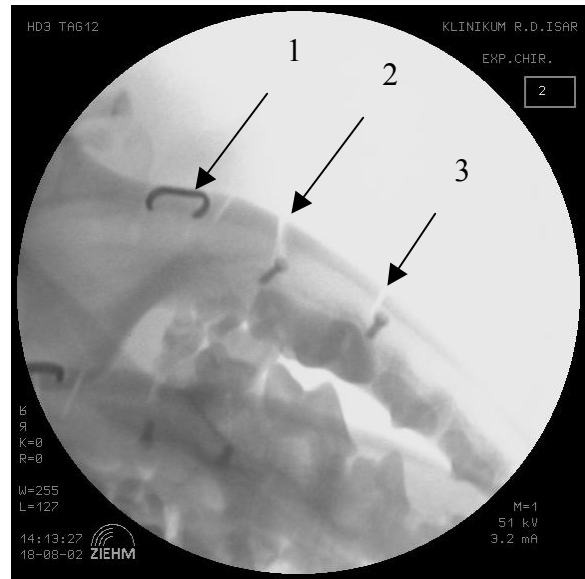


Abb. 18: Hund 3 - Röntgenaufnahme Tag 12 - linke Unterkieferseite:

- 1: Klammer von KELLER
(in Vorbereitung)
- 2: Laserschnittspalt
- 3: Sägeschnittspalt

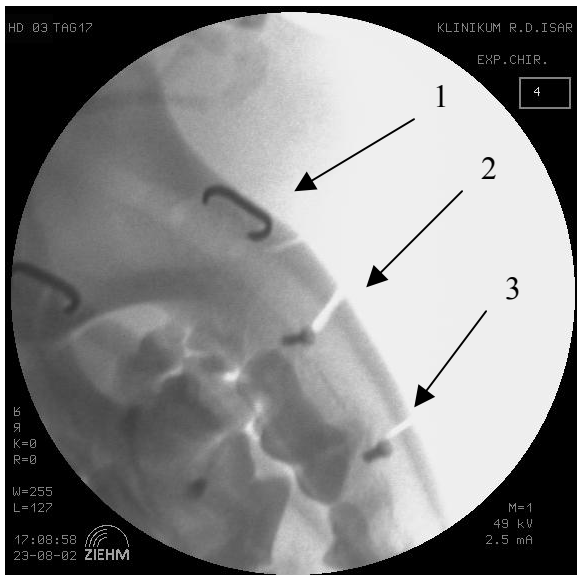


Abb. 19: Hund 3 - Röntgenaufnahme Tag 17 - linke Unterkieferseite

- 1: Klammer von KELLER
(in Vorbereitung)
- 2: Laserschnittspalt
- 3: Sägeschnittspalt

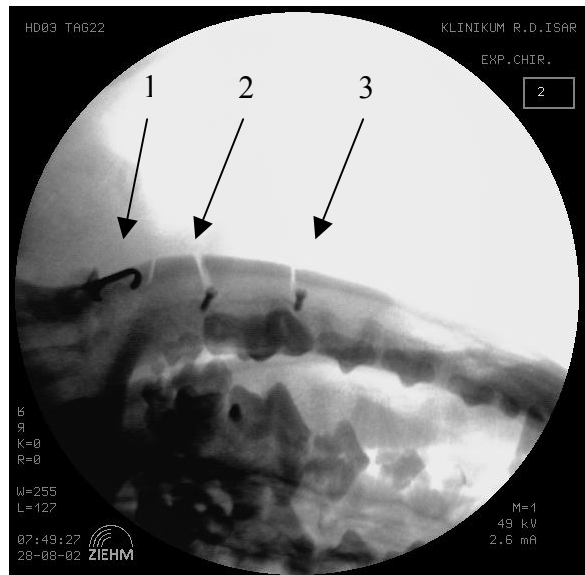


Abb. 20: Hund 3 - Röntgenaufnahme Tag 22 - linke Unterkieferseite

- 1: Klammer von KELLER
(in Vorbereitung)
- 2: Laserschnittspalt
- 3: Sägeschnittspalt

3.3.2.6 Sektionsbefunde

Unmittelbar nach der Tötung der Tiere am 22. postoperativen Tag werden die Tiere seziiert und die Unterkiefer entnommen. Bei der Sektion sind keine auffälligen Veränderungen am Tierkörper oder an der Mandibula feststellbar, die auf eine Beeinträchtigung der Knochen- oder Wundheilung schließen lassen.

3.3.2.7 Polychrome Sequenzmarkierung

Bei der fluoreszenzmikroskopischen Auswertung der Präparate fällt zunächst auf, dass unabhängig der Methode Laser/Säge bei allen Schnitten nur die beiden Fluorochrome Xylenol-Orange und Calcein-Grün nachweisbar sind (Abb. 21+22). Weder das bei Hund 1 eingesetzte Tetrazyklin noch Alizarin-Komplexon, das bei den Tieren 2 bis 7 verwendet wurde, kann anhand von farblichen Banden unter den entsprechenden Filtern festgestellt werden.

3.3.2.7.1 Auswertung: Sägeschnitt

Die Auswertung der Sägeschnitte gibt ein sehr gleichmäßiges Bild wieder. Die Präparate weisen alle eine nur sehr geringe Fluoreszenz auf. Die Banden sind unregelmäßig an den beiden Seiten des Osteotomiekanals verteilt und selten von größerer Dicke. Im Lumen selbst ist kaum durch die Fluorochrome markiertes Gewebe nachweisbar. Der Schnittspalt wird in keinem der Fälle knöchern durchbaut. Sowohl auf der medialen als auch auf der lateralen Seite des Schnittspaltes tritt bei der Mehrzahl der Präparate periostale Fluoreszenz auf, die jedoch von geringem Umfang ist (Abb. 25). Neben vereinzelt kleinen bis mittelgroßen, kraterartigen Resorptionsgruben kommt es zu keinen größeren optisch feststellbaren Veränderungen von Größe oder Form des Osteotomiespaltes.

3.3.2.7.2 Auswertung: Laserschnitt

Im Vergleich zu den Sägeschnitten fehlt bei den Laserpräparate diese Kontinuität. Das Volumen der Fluoreszenz weist von Hund 1 bis Hund 7 sehr unterschiedliche Werte auf. Während bei Hund 1 noch eine sehr geringe Menge an markiertem Gewebe nachgewiesen werden kann sind bei den Hunden 4 bis 6 die Hälfte der Präparate zum Teil knöchern durchbaut und bei Hund 7 schließlich alle Schnitte von neuem Knochengewebe überbrückt. Die Schädigungen des Knochens sind gegenüber den Sägeschnitten deutlich größer und bei zwei Tieren (Hund 3 und Hund 5) liegen sehr ausgeprägte Karbonisationen vor. Auch treten

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

bei fast allen Schnitten eine oder mehrere Resorptionsgruben auf und große Teile der an den Spalt angrenzenden Knochenränder weisen eine aufgelöste Randstruktur auf.

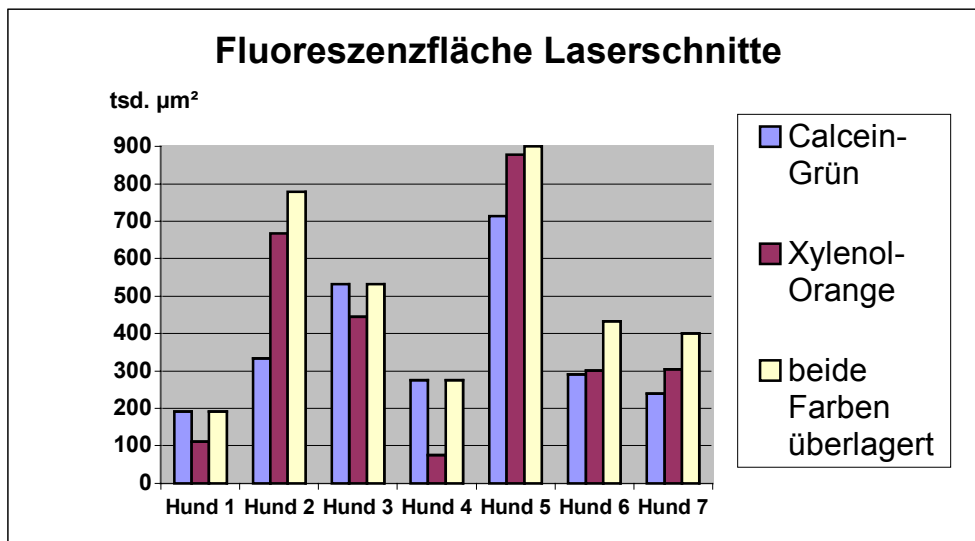


Abb. 21: Fluoreszenzfläche Laserschnitte

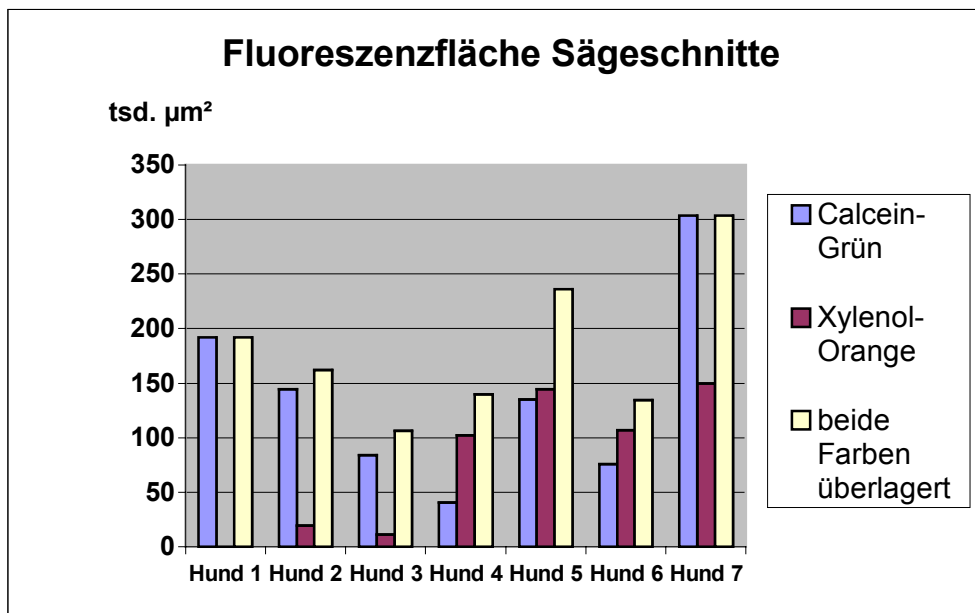


Abb. 22: Fluoreszenzfläche Sägeschnitte

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tab. 7: Daten Spaltbreite

Hund Nr.	1		2		3		4		5		6		7	
Seite	l	r	l	r	l	r	l	r	l	r	l	r	l	r
Spaltbreite: Laser	-	1698	882	-	1176	1190	818	212	650	394	218	226	246	202
Spaltbreite: Säge	964	1150	588	466	476	526	388	508	426	524	462	572	465	436

l= links
r= rechts

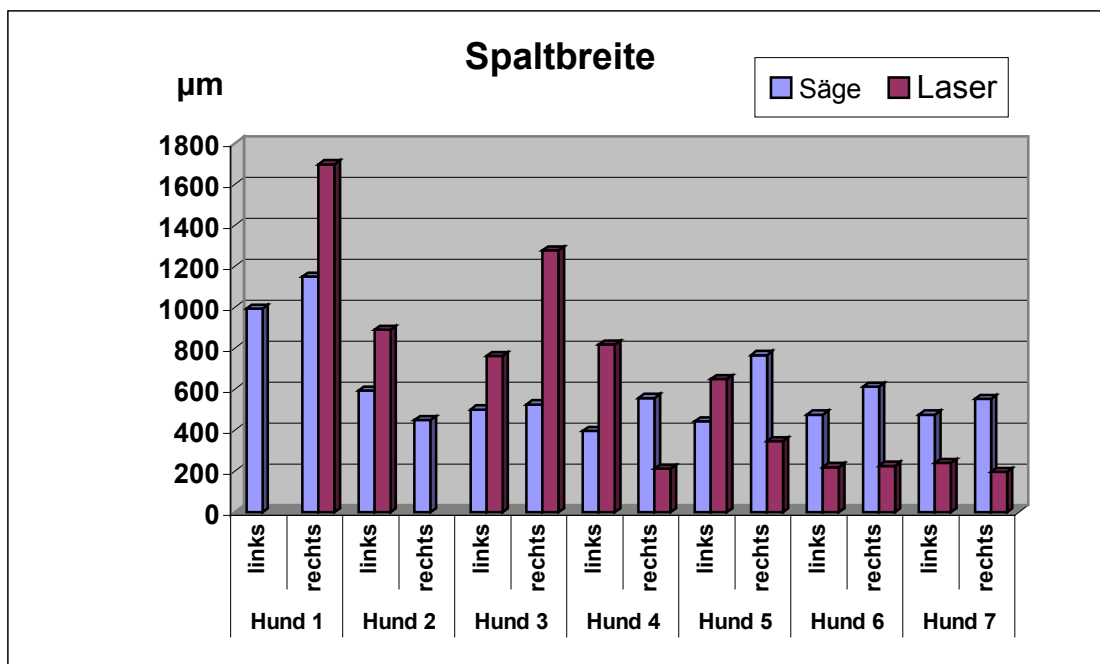


Abb. 23 Daten Spaltbreite

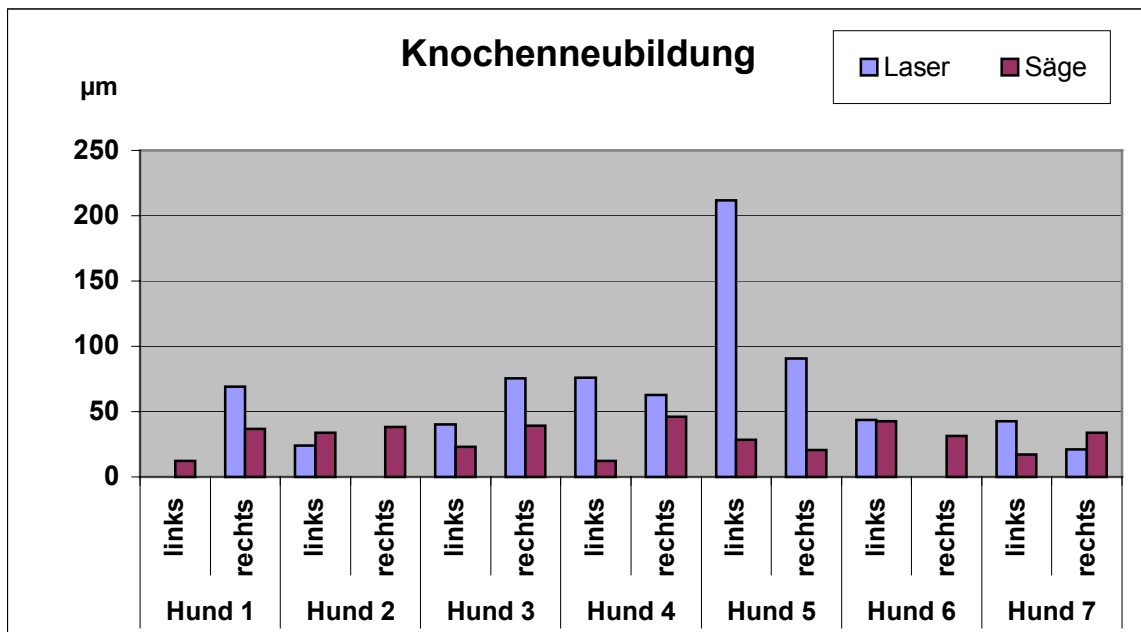


Abb. 24: Fluoreszenz: Durchschnittliche Knochenneubildung im Schnittspalt im Methodenvergleich

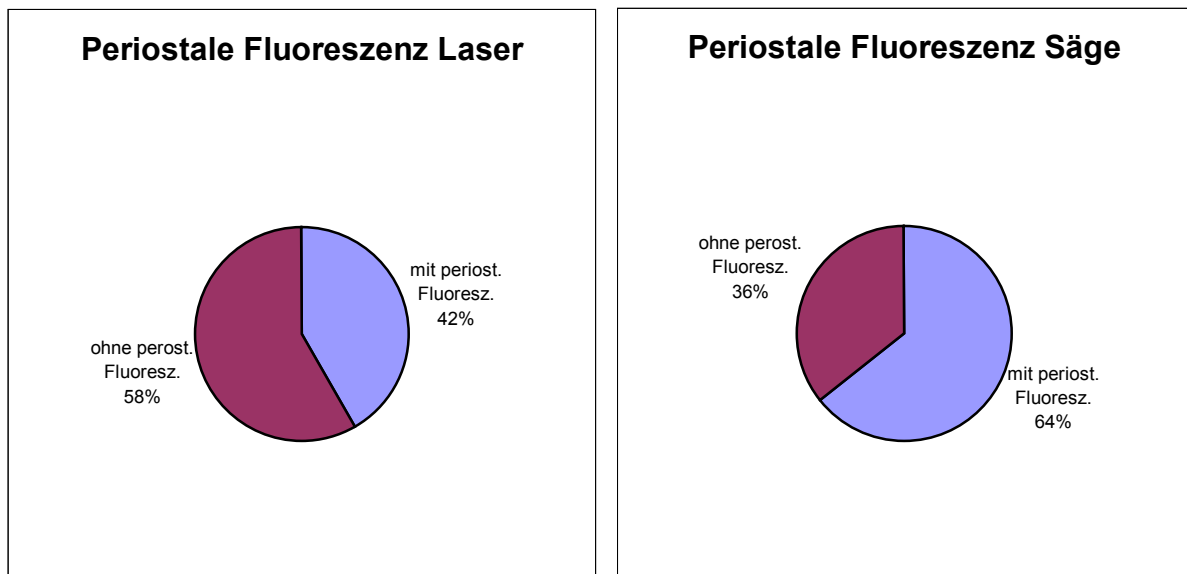


Abb. 25: Anteil an Präparaten mit periostaler Fluoreszenz im Vergleich Säge/Laser

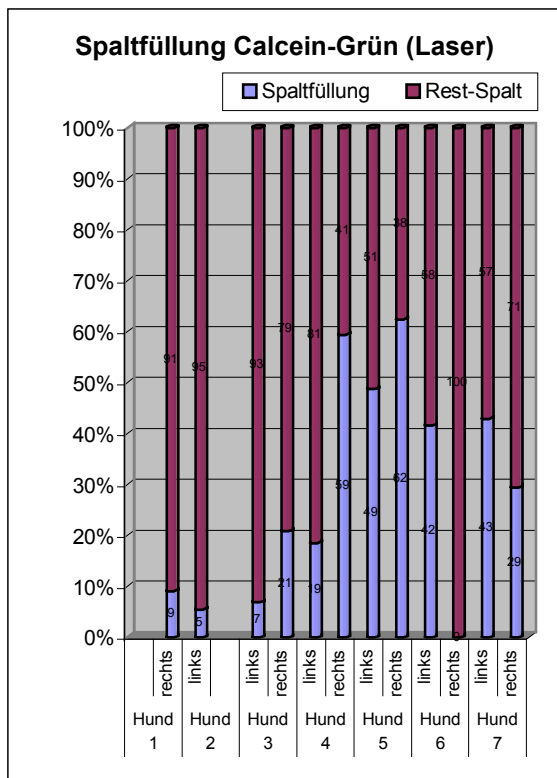


Abb. 26: Spaltfüllung Calcein-Grün (Laser)

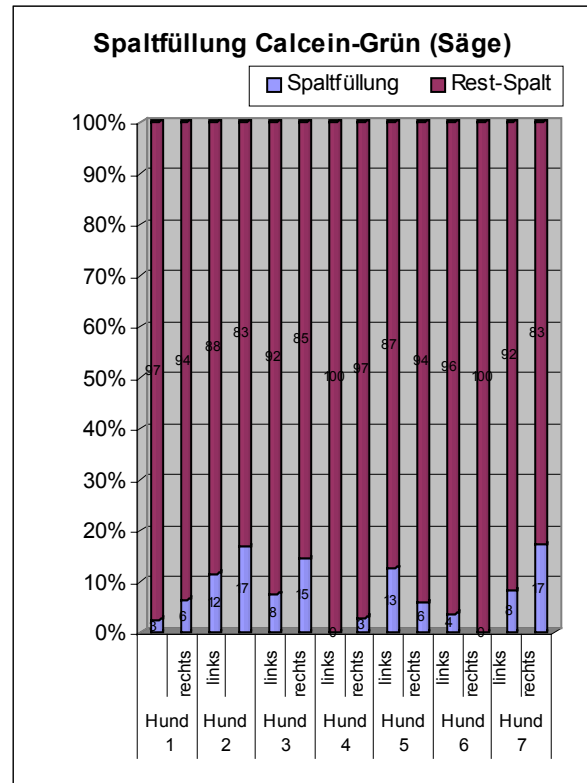


Abb. 27: Spaltfüllung Calcein-Grün (Säge)

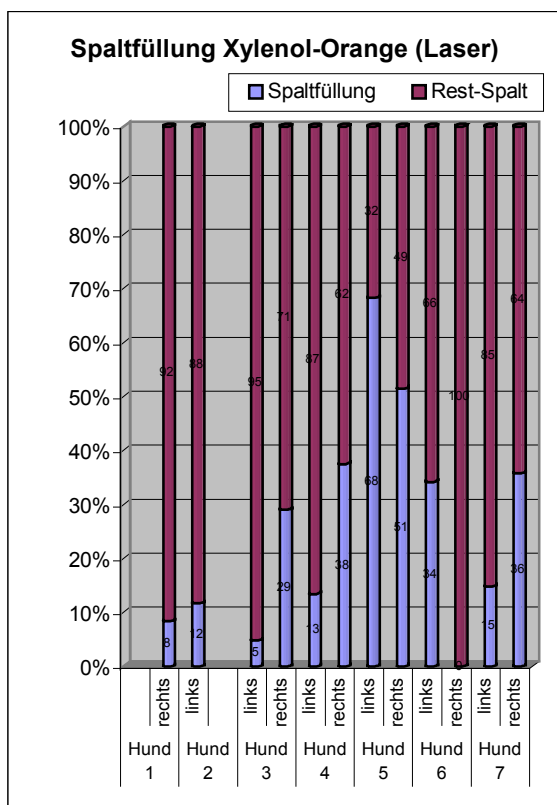


Abb. 28: Spaltfüllung Xylenol-Orange (Laser)

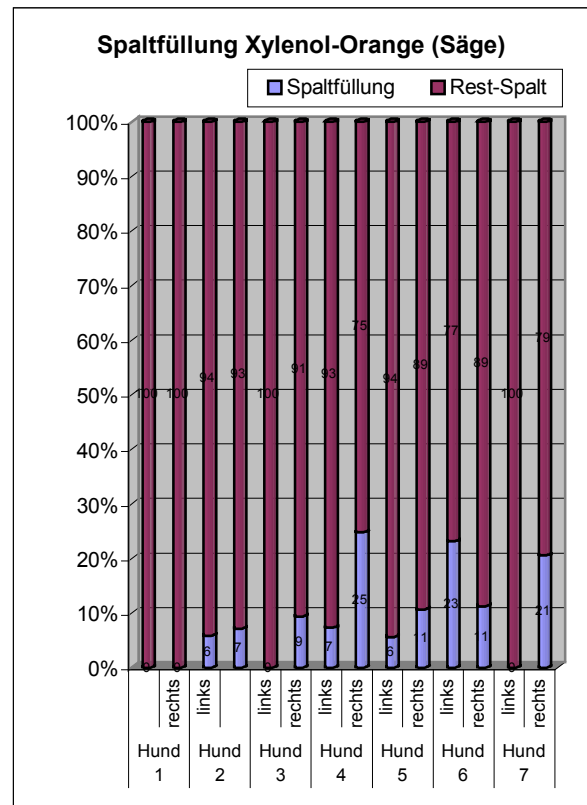


Abb. 29: Spaltfüllung Xylenol-Orange (Säge)

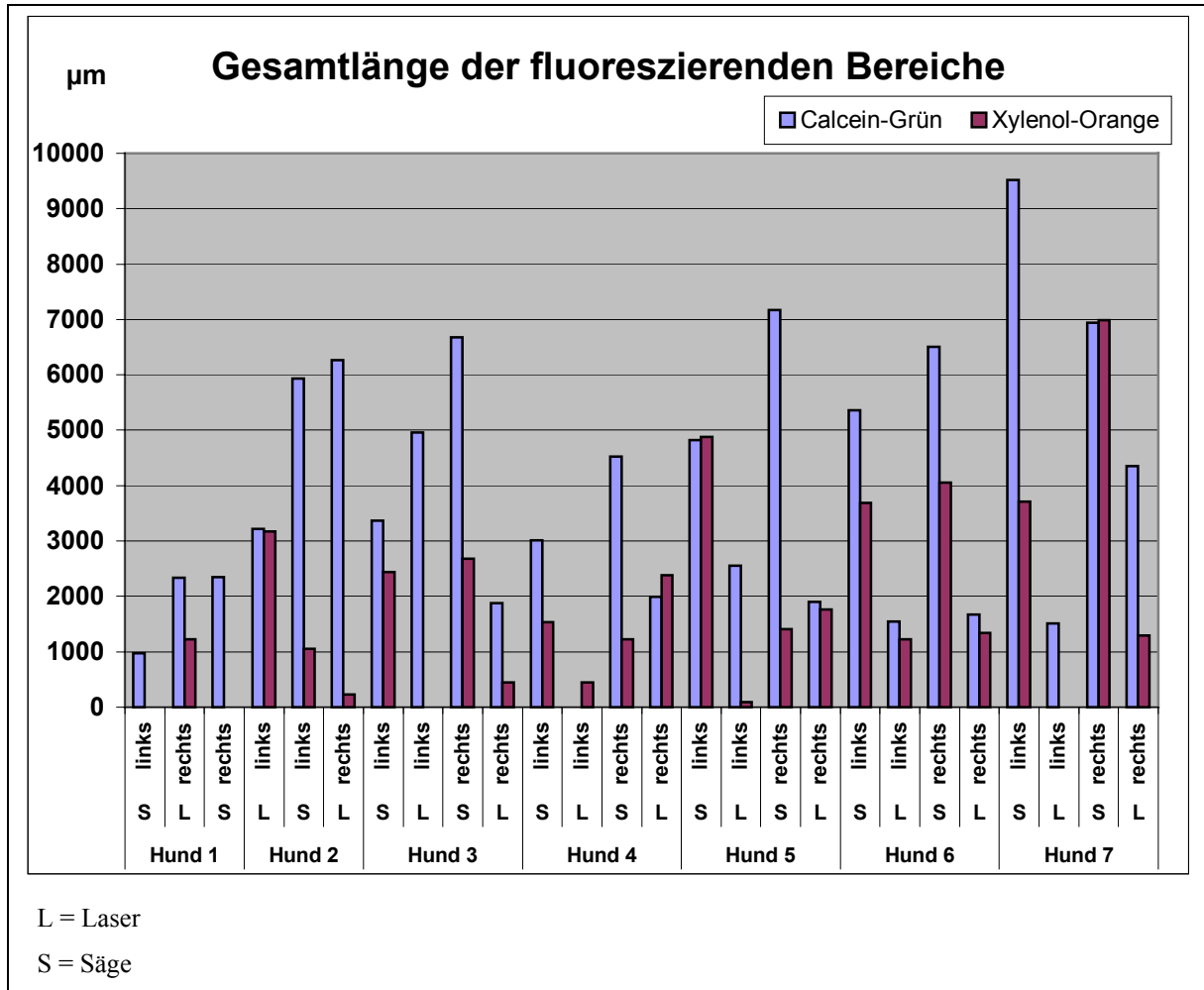


Abb. 30: Gesamtlänge der fluoreszierenden Bereiche in jedem Schnitt

Tab. 8: Qualitative Parameter der Fluoreszenz-Auswertung

Qualitative Parameter der Fluoreszenz-Auswertung

	Seite	Karbonisationen (0/+/++/+++)	Calcein-Grün: Fluoreszenz (0/+/++/+++)	Xylenol-Orange: Fluoreszenz (0/+/++/+++)	Resorptions- Gruben: (n)	periostale Fluoreszenz Calcein-Grün: (0/+/++/+++)	periostale Fluoreszenz Xylenol-Orange: (0/+/++/+++)	periostale Fluoreszenz gesamt (0/+/++/+++)
Hund 1	Lasert	0	+	+	1	0	0	0
	Säget	0	0	0	2	0	0	0
Hund 2	Lasert	0	+	0	0	0	0	0
	Lasert	0	++	++	1	0	0	0
	Lasert	0	+	0	0	+	+	+
	Säget	0	+	0	2	+	+	+
Hund 3	Lasert	0	+	+	5	0	0	0
	Lasert	++	+	0	0	0	0	0
	Lasert	0	+	0	3	0	++	++
	Säget	0	+	0	2	0	0	0
Hund 4	Lasert	0	+	+	0	+	+	+
	Lasert	0	++	++	0	++	+++	+++
	Lasert	0	0	0	0	++	++	++
	Säget	0	0	0	3	+	+	+
Hund 5	Lasert	+++	0	0	5	0	0	0
	Lasert	0	++	+	1	0	+	+
	Lasert	0	+	0	2	+	+	+
	Säget	0	0	0	2	0	+	+
Hund 6	Lasert	0	++	+	3	0	0	0
	Lasert	0	++	++	0	0	0	0
	Lasert	0	+	+	3	0	++	++
	Säget	0	+	+	2	+	+	+
Hund 7	Lasert	0	++	+	0	0	0	0
	Lasert	0	+	+	2	+	0	+
	Lasert	0	0	0	1	0	0	0
	Säget	0	+	0	0	0	++	++

- Abb. 31:** Hund 6 – Laserschnitt rechts:
Schnitt unter Filter für Calcein-Grün (2,5-fach)
- Abb. 32:** Hund 4 – Laserschnitt rechts:
Schnitt unter Filter für Calcein-Grün (2,5-fach)
- Abb. 33:** Hund 6 – Laserschnitt rechts:
Schnitt unter Filter für Xylenol-Orange (2,5-fach)
- Abb. 34:** Hund 4 – Laserschnitt rechts:
Schnitt unter Filter für Xylenol-Orange (2,5-fach)
- Abb. 35:** Hund 6 – Laserschnitt rechts:
Überlagerung der Fluorochrome Calcein-Grün und Xylenol-Orange (2,5-fach)
- Abb. 36:** Hund 4 – Laserschnitt rechts:
Überlagerung der Fluorochrome Calcein-Grün und Xylenol-Orange (2,5-fach)

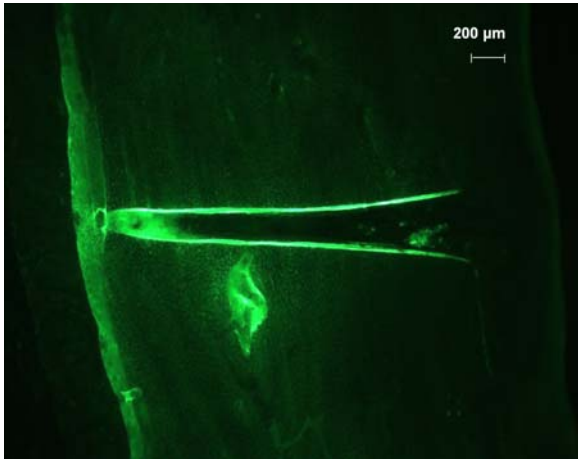


Abb. 31: Hund 6 Laserschnitt rechts

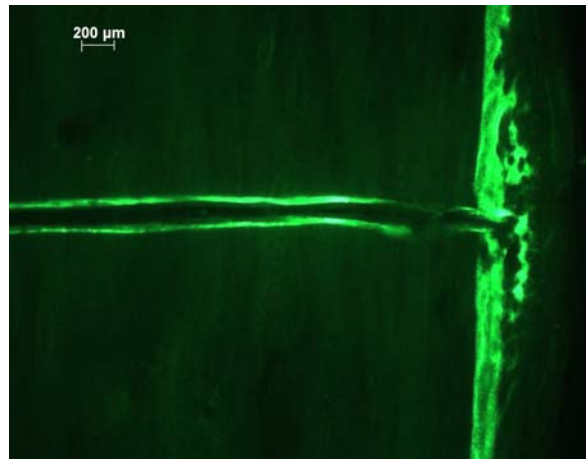


Abb. 32: Hund 4 Laserschnitt rechts

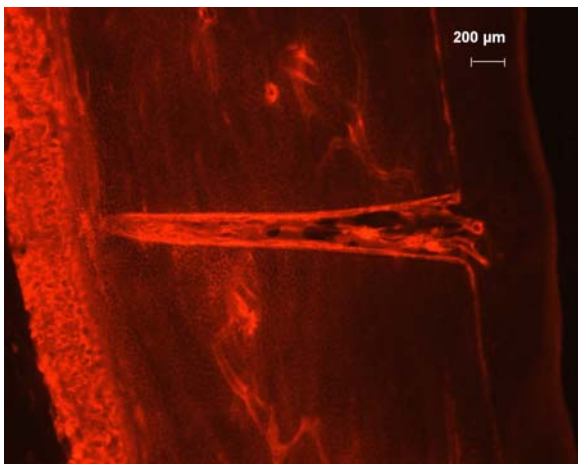


Abb. 33: Hund 6 Laserschnitt rechts

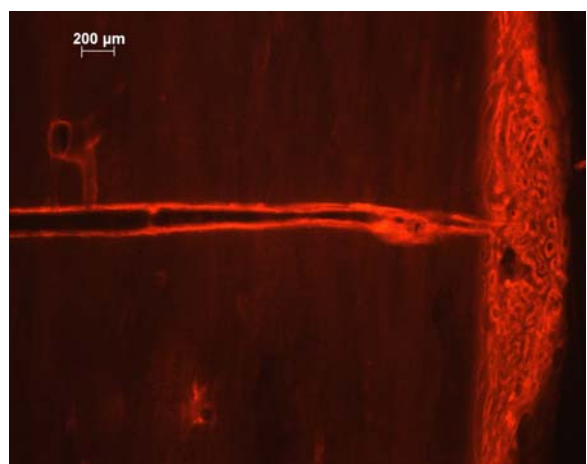


Abb. 34: Hund 4 Laserschnitt rechts

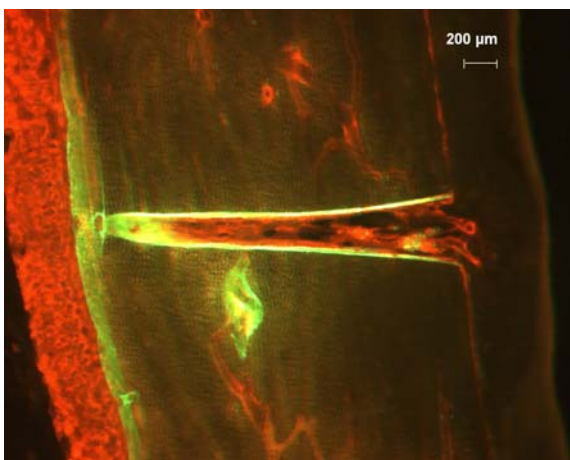


Abb. 35: Hund 6 Laserschnitt rechts

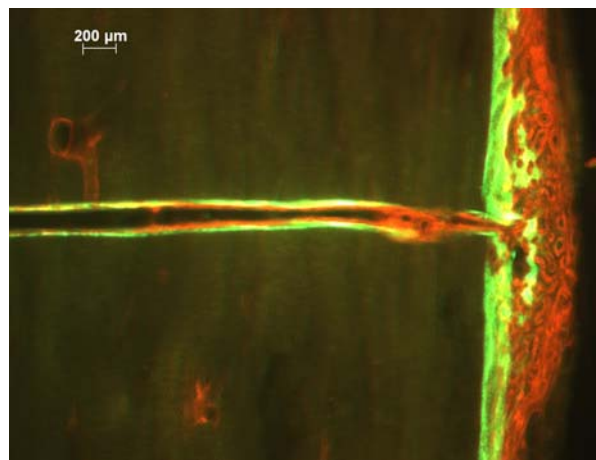


Abb. 36: Hund 4 Laserschnitt rechts

- Abb. 37:** Hund 5 – Sägeschnitt rechts – medial:
Deutliche periostale Fluoreszenz, die in den Schnittspalt hineinzieht (2,5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.5)
- Abb. 38:** Hund 4 – Sägeschnitt rechts – medial:
Ausgeprägte Fluoreszenz durch Xylenol-Orange am Rand des Spaltes (2,5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.4)
- Abb. 39:** Hund 5 – Sägeschnitt links – medial:
Zwei große Resorptionsgruben am Beginn des Schnittspaltes (2,5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.5)
- Abb. 40:** Hund 2 – Sägeschnitt rechts – medial:
Einseitige periostale Fluoreszenz; zwei Resorptionsgruben;
beidseitige Calcein-Grün-Banden im Spaltbereich (2,5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.2)
- Abb. 41:** Hund 7 – Sägeschnitt rechts – medial:
Deutliche periostale Fluoreszenz (2,5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.7)
- Abb. 42:** Hund 6 – Sägeschnitt links – medial:
Periostale Fluoreszenz; Resorptionsgruben (2,5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.6)

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

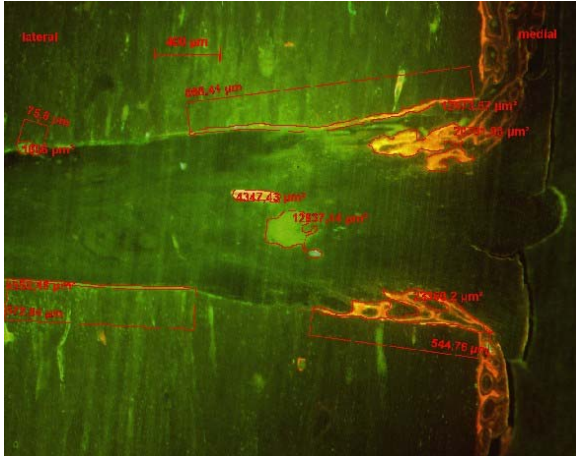


Abb. 37: Hund 5 – Sägeschnitt rechts – medial
(2,5-fach)

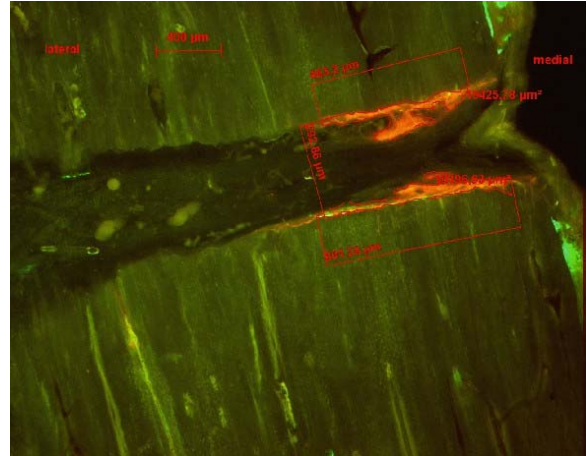


Abb. 38: Hund 4 – Sägeschnitt rechts – medial
(2,5-fach)

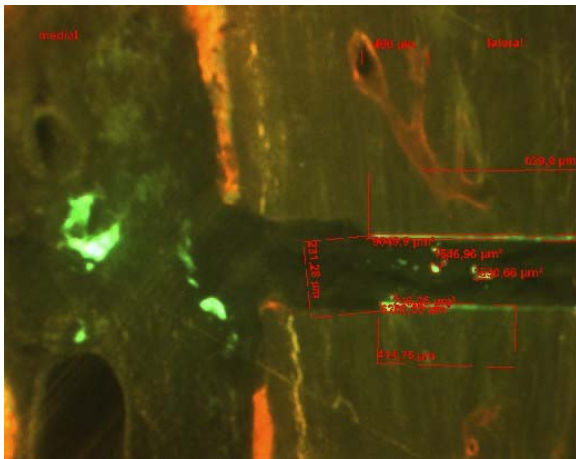


Abb. 39: Hund 5 – Sägeschnitt links – medial
(2,5-fach)

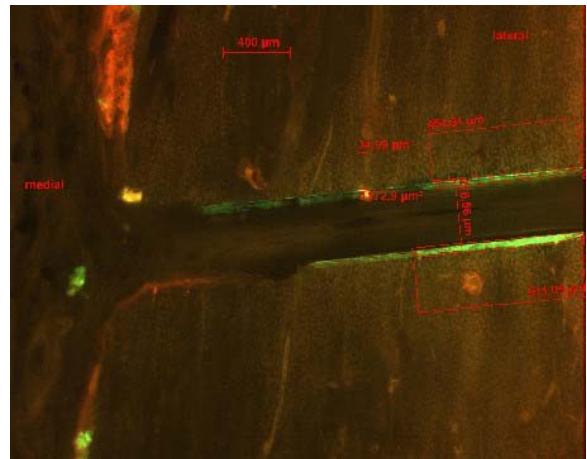


Abb. 40: Hund 2 – Sägeschnitt rechts – medial
(2,5-fach)

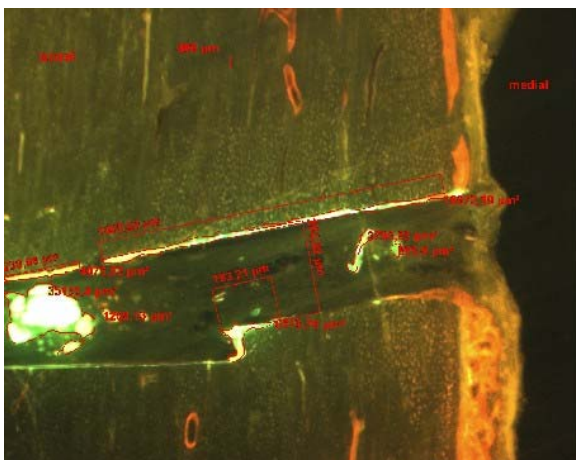


Abb. 41: Hund 7 – Sägeschnitt rechts – medial
(2,5-fach)

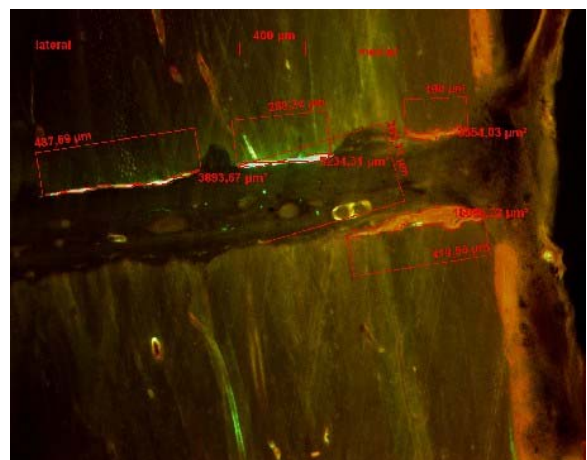


Abb. 42: Hund 6 – Sägeschnitt links – medial
(2,5-fach)

- Abb. 43:** Hund 2 – Laserschnitt links – lateral:
Calcein-Grün-Banden am Rand des Schnittkanals und Xylenol-Orange im Lumen (links); Xylenol-Orange am Rand des Schnittkanals (rechts) (2,5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.2)
- Abb. 44:** Hund 7 – Laserschnitt links – medial:
Vollständige Überbrückung des Spaltes: Calcein-Grün in der Spalttiefe und Xylenol-Orange am Spalteingang (2,5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.7)
- Abb. 45:** Hund 5 – Laserschnitt links – medial:
Sehr starke, beidseitige Karbonisationen (2,5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.5)
- Abb. 46:** Hund 3 – Laserschnitt rechts – lateral:
Einseitige, sehr ausgeprägte Karbonisationen im Schnittspalt (2,5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.3)
- Abb. 47:** Hund 6 – Laserschnitt links – medial:
Sehr stark ausgeprägte periostale Fluoreszenz durch Xylenol-Orange (2,5-fach)
- Abb. 48:** Hund 4 – Laserschnitt rechts – lateromedial:
Sehr ausgeprägte periostale Fluoreszenz auf beiden Seiten des Schnittes; der Schnittkanal ist z.T. vollständig überbrückt (2,5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.4)

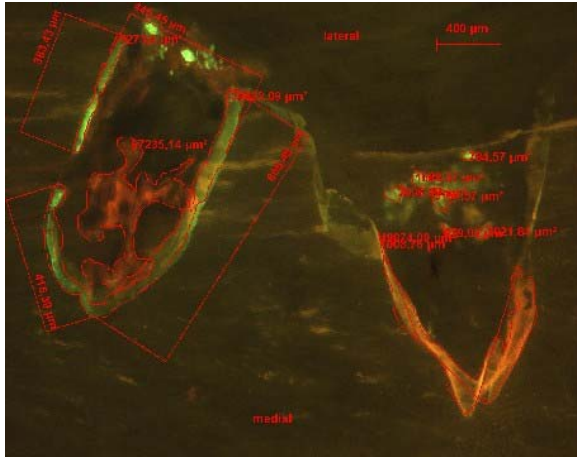


Abb. 43: Hund 2 – Laserschnitt links – lateral
(2,5-fach)

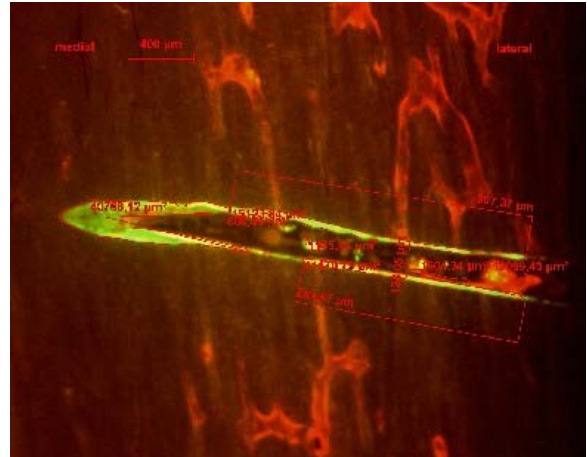


Abb. 44: Hund 7 – Laserschnitt links – medial
(2,5-fach)

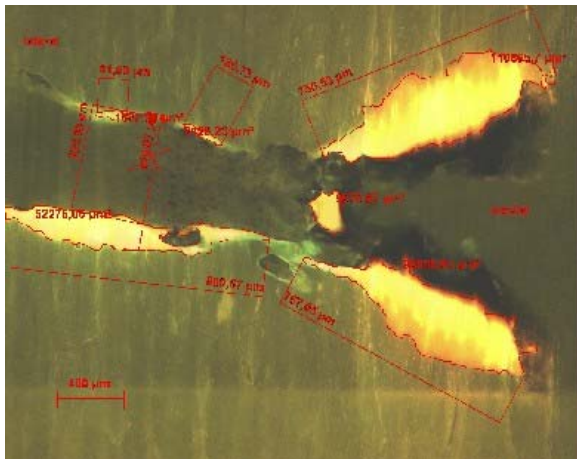


Abb. 45: Hund 5 – Laserschnitt links – medial
(2,5-fach)

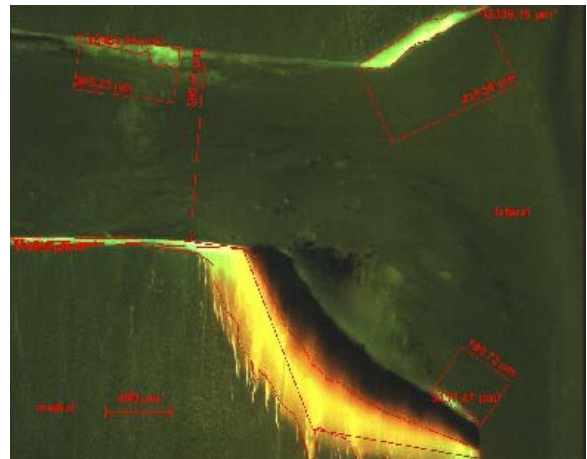


Abb. 46: Hund 3 – Laserschnitt rechts – lateral
(2,5-fach)

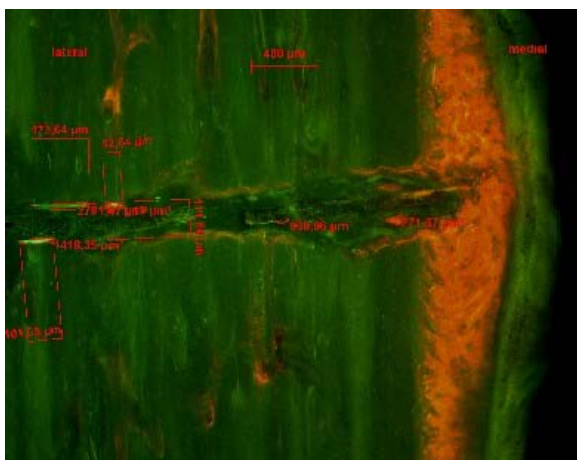


Abb. 47: Hund 6 – Laserschnitt links – medial
(2,5-fach)

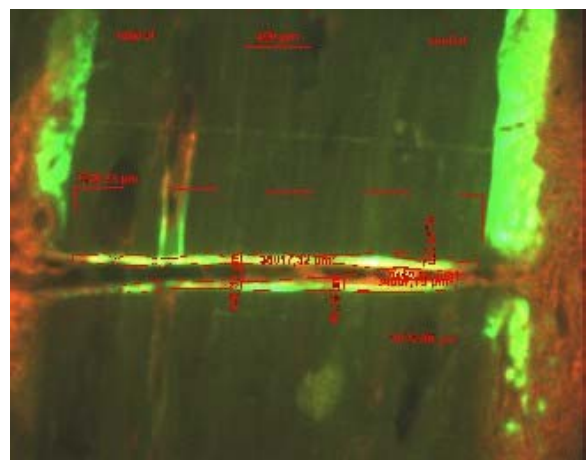


Abb. 48: Hund 4 – Laserschnitt rechts – latero-medial
(2,5-fach)

3.3.2.8 Histologische Auswertung

3.3.2.8.1 Auswertung: Laserschnitt

Die histologische Auswertung der Laserschnitte zeigt ein sehr unregelmäßiges Erscheinungsbild aller bewerteten Parameter. Besonders aussagekräftig ist jedoch der Anteil an Schnitten mit beginnender oder voranschreitender Resorption. 75 % der Präparate weisen Veränderungen von einzelnen Resorptionsgruben bis hin zu großflächiger Auflösung ganzer Knochenbereiche. Besonders auffällig ist dabei der rechte Schnitt bei Hund 7. Hier hat sich durch Resorptionsvorgänge die Spaltbreite vervierfacht. Dagegen treten bei den Hunden 3 und 4 kaum nachweisbare Veränderungen auf. Bei 33 % der ausgewerteten Schnitte ist eine Bildung von Geflechtknochen am 21. Tag p.op. nachweisbar. Darunter sind eher kleinere Anlagerungen ebenso vertreten wie vollständige Durchbauung des gesamten Schnittspaltes. 58 % der Schnitte zeigen dagegen Karbonisationen, die z.T. sehr ausgeprägt sind wie bei Hund 3 und 5, während andere Tiere keine Anzeichen von thermischer Schädigung aufweisen (Hund 6) (Abb.49). Osteoklasten können nur bei Präparaten ohne auftretende Karbonisation nachgewiesen werden und treten ausschließlich in Verbindung mit ausgeprägten Resorptionsgruben auf.

3.3.2.8.2 Auswertung: Sägeschnitt

Die Auswertung der Präparate der Sägemethode zeigt eine deutliche Konstanz in dem Umfang der auftretenden Veränderungen. Karbonisationen treten bei diesen Präparaten deutlich weniger auf wie es bei den Laserpräparaten der Fall ist. Aber auch ganz ausbleibende Reaktionen sind nicht zu beobachten. Großflächige Resorptionsvorgänge sind in ähnlichem Umfang zu beobachten wie bei den Laserschnitten. Auch die Bildung von neuem Geflechtknochen ist von Präparat zu Präparat bei den Sägeschnitten sehr ähnlich und es kommt zu keinen großen Abweichungen innerhalb der Sägegruppe.

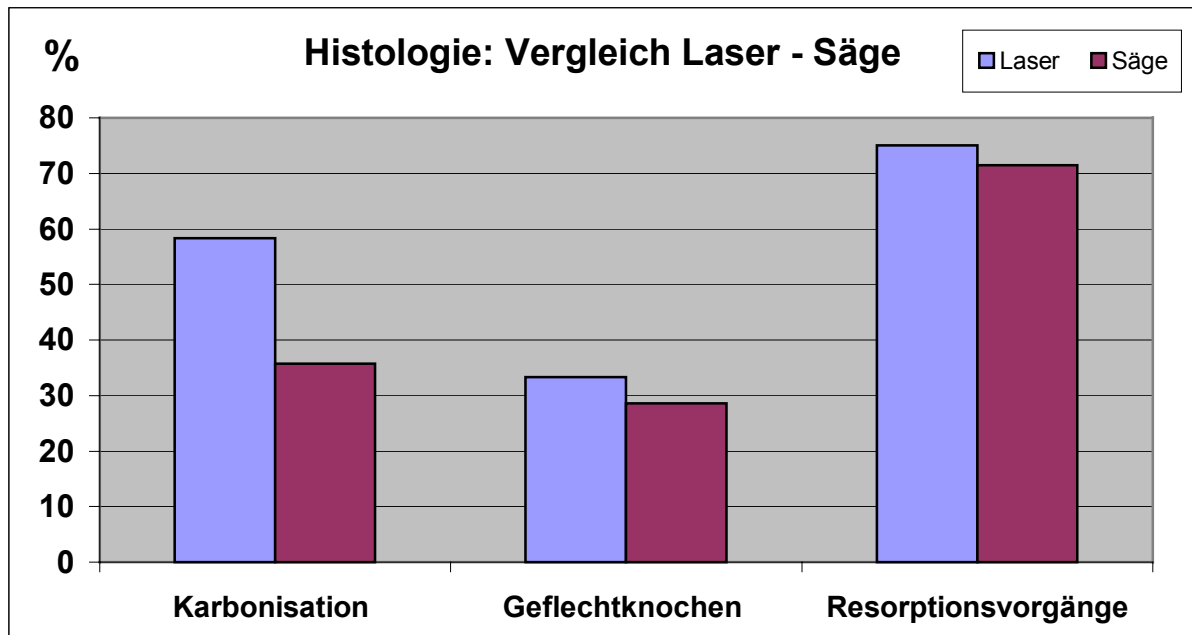


Abb. 49: Qualitativer histologischer Vergleich: Laserschnitte - Sägeschnitte

- Abb. 50:** Hund 1 – Sägeschnitt links:
Durchschnittlich ausgeprägte karbonisierte, schwarze Übergangszone (Pfeile)
vom Spatlumen zum begrenzenden Knochengewebe (10-fach)
(s. Kap. 3.3.1.1)
- Abb. 51:** Hund 5 – Laserschnitt links – medial:
Extrem starke Karbonisation am medialen Spaltausgang (Pfeile); die Breite der
Verkohlungszone beträgt ca. 300 µm (5-fach)
(s. Kap. 3.3.1.5)
- Abb. 52:** Hund 4 – Laserschnitt rechts:
Neu gebildete Inseln (1) aus Geflechtknochen haben den Spalt bereits in vollem
Umfang durchbaut; gut sichtbare Bone-Lining-Cells (2) im Randbereich und
spindelförmige Osteozyten (3) im Zentrum der Insel (20-fach)
(s. Kap. 3.3.1.4)
- Abb. 53:** Hund 4 – Sägeschnitt rechts:
Geflechtknochen bildet sich vom Randbereich des Osteotomiespaltes aus; erste
Inselbildung (1) mit Bone-Lining-Cells am Rand (2) und neu eingesprossenen
Blutgefäßen (3) im Zentrum (10-fach)
(s. Kap. 3.3.1.4)



Abb. 50: Hund 1 – Sägeschnitt links (10-fach)

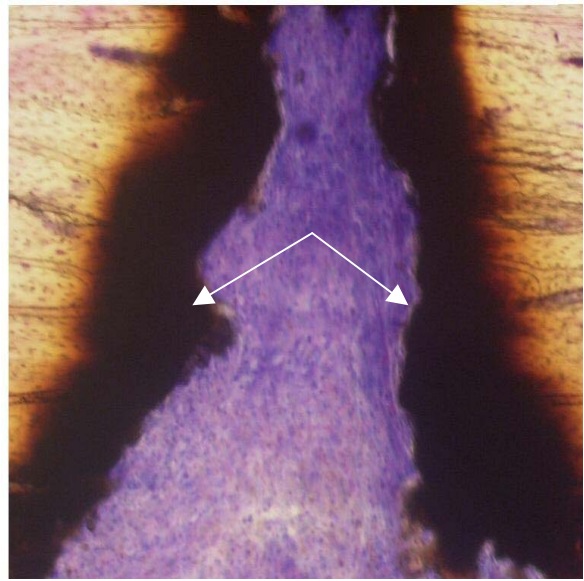


Abb. 51: Hund 5 – Laserschnitt links medial (5-fach)

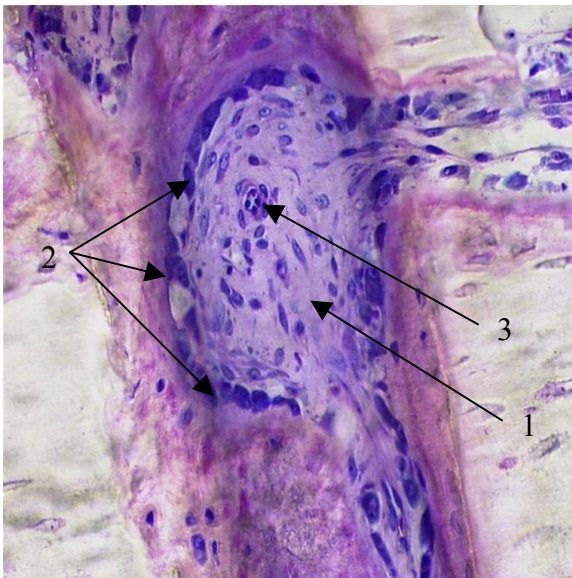


Abb. 52: Hund 4 – Laserschnitt rechts (20-fach)

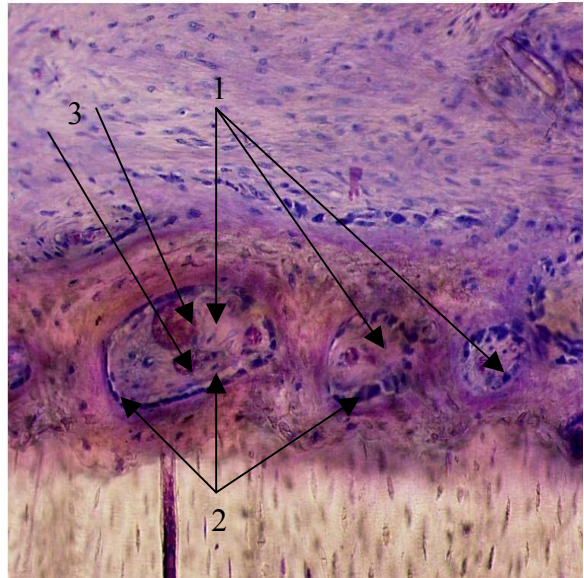


Abb. 53: Hund 4 – Sägeschnitt rechts (10-fach)

Abb. 54: Hund 3 – Sägeschnitt links:

Die knöcherne Randbegrenzung des Spaltes wird teilweise aufgelöst und es entstehen Resorptionsgruben (1); Osteoklastenaktivität (2) am Knochenrand (10-fach)

(s. Kap. 3.3.1.3)

Abb. 55: Hund 7 – Laserschnitt links:

Ausgeprägte Resorptionsgruben (Pfeile) auf einer der Randseiten mit deutlicher Vergrößerung der Spaltbreite als Folge (10-fach)

(s. Kap. 3.3.1.7)

Abb. 56: Hund 7 – Laserschnitt rechts:

Massive Resorption des angrenzenden Knochengewebes (1) mit einen verbindenden Kanal (2); die Schnittbreite wird dabei fast vervierfacht (5-fach)

(s. Kap. 3.3.1.7)

Abb. 57: Hund 7 – Sägeschnitt links:

Keine sichtbare Reaktion erkennbar; weder Resorptions- noch Appositionsvorgänge sind feststellbar (2,5-fach)

(s. Kap. 3.3.1.7)

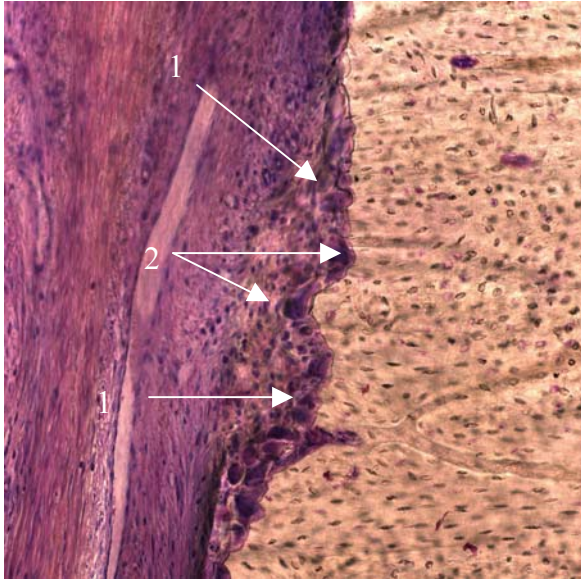


Abb. 54: Hund 3 – Sägeschnitt links (10-fach)

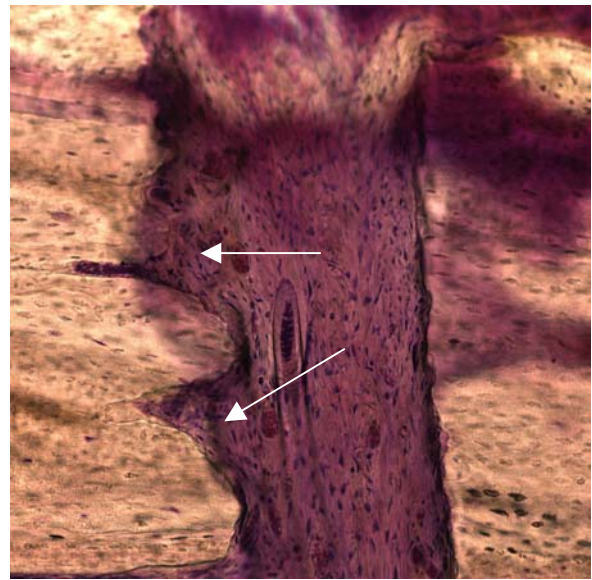


Abb. 55: Hund 7 – Laserschnitt links (10-fach)

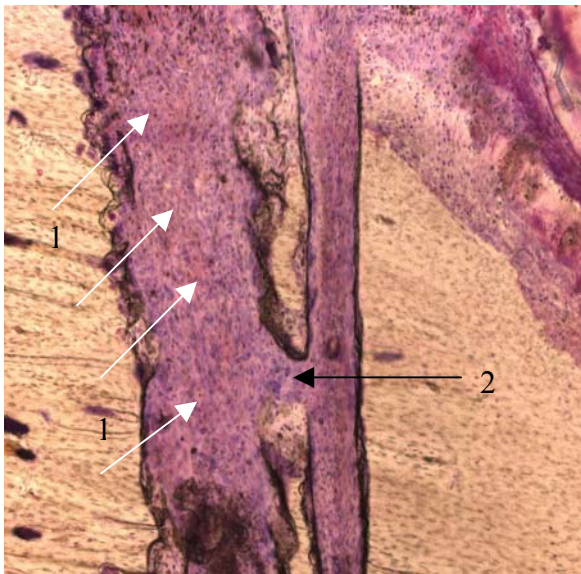


Abb. 56: Hund 7 – Laserschnitt rechts (5-fach)

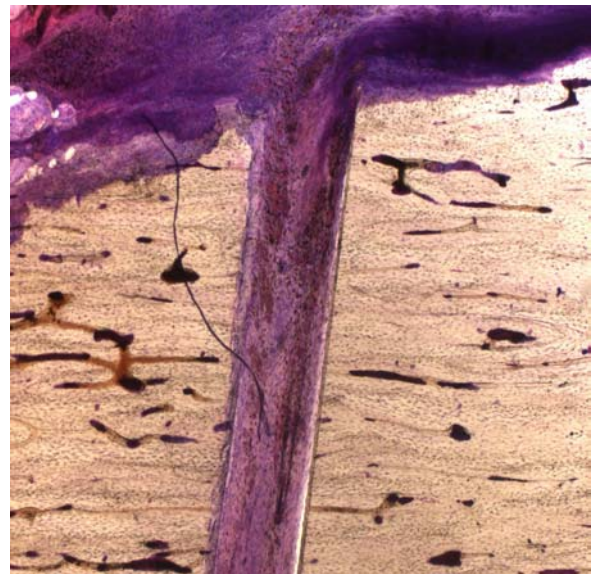


Abb. 57: Hund 7 – Sägeschnitt links (2,5-fach)

4 DISKUSSION

4.1 Material und Methoden

4.1.1 Wahl des Versuchstieres

Unter den verfügbaren Versuchstierspezies ist der Hund diejenige Tierart, die der histomorphologischen Knochenstruktur des Menschen am ähnlichsten ist. Das gilt in gleichem Maße auch für den Revaskularisations- und Regenerationsprozess (EITEL et al., 1981). Unter den Hunderassen ist der Beagle, wie er in dieser Studie verwendet wurde, aufgrund des unkomplizierten Wesens und der einfachen Haltung anderen, schwereren Rassen überlegen. Die Tatsache, dass Eingriffe wie die durchgeführten Laser-Osteotomien am Unterkiefer eine Simulation der Operation mit den dazu entwickelten Instrumenten für eine Anwendung am Menschen simulieren sollen, schließt Versuchstierspezies von kleinerer Größe aus.

Aufgrund der nun vorliegenden Ergebnisse stellt sich jedoch die Frage, ob für die ersten In-vivo-Versuche eines neuentwickelten Lasersystems die Versuchstierspezies Hund und auch der Unterkiefer an sich eine primäre Rolle spielen müssen. Der Einsatz von Lasersystemen in der Orthopädie hat sich aufgrund großer thermischen Schädigungen bis zum heutigen Zeitpunkt nicht durchsetzen können. Daher ist es zwingend notwendig sich in ersten Versuchen zu vergewissern, dass diese bisherigen Schadwirkungen auch tatsächlich abgestellt werden können. Dabei können auch Situationen wie plötzlich auftretende Blutungen aus dem Knochen selbst, die in In-vitro-Untersuchungen nicht praxisnah zu simulieren sind, durchgespielt werden. Erst wenn neu entwickelte Systeme den Test dieser Vorversuche bestehen, sollten sie für weiterführende Untersuchungen wie den hier durchgeführten Heilungsvergleich zweier Methoden verwendet werden. Im vorliegenden Fall waren die In-vitro-Vorversuche des verwendeten Lasersystems jedoch so sehr überzeugend, dass man aus tierschützerischer Überzeugung auf zwei oder mehr Untersuchungsreihen mit einer Vielzahl weiterer Tiere verzichtet hat und die Heilung sowie den Einfluss von thermischer Schädigung auf den Knochen kombiniert in einer Versuchsreihe analysieren wollte.

Als ein alternatives Tiermodell für Vorversuche zur Überprüfung der In-vivo-Eigenschaften eines Lasersystems in der orthopädischen Chirurgie würde sich auch das Schaf anbieten (WISSING et al., 1991), da dessen Knochen von Größe und Form der des Menschen vergleichbar sind. Nur wenn die daraus gewonnenen Ergebnisse überzeugen, kann im weiteren Verlauf der Hund als vergleichbares Muster für die Knochenfeinstruktur des Menschen für Versuche zur Knochenheilung eingesetzt werden.

4.1.2 Lasersystem und Operationstechniken

Die durchgeführten Osteotomien am Unterkiefer der sieben Hunde mit dem neu entwickelten Lasersystem und der Säge wurden in drei verschiedenen Operationszeiträumen durchgeführt. Dabei wurde zum ersten Termin ein Hund, am zweiten Termin zwei Hunde und zuletzt die übrigen vier Hunde operiert. Dazwischen gab es für die Entwickler des Lasersystems die Möglichkeit, aufgrund der Erkenntnisse aus dem Ablauf der ersten Eingriffe kleinere Verbesserungen durchzuführen wie die Konstruktion längerer Gelenkarme für die Sprühdüsen, einen schwenkbaren Aufsatz für den Scanner oder die Komprimierung des gesamten Aufbaus von einem großen, starren Tisch auf einen kleineren, fahrbaren Wagen zur besseren Beweglichkeit. Durch diese Veränderungen am Laser konnten die Ergebnisse der Laser-Osteotomien von einer Operationssitzung zur nächsten verbessert werden. Das lassen sowohl die Ergebnisse der Fluoreszenz als auch die der Histologie erkennen. Durch die Umstellung auf ein anderes Design in der Laserstrahlführung konnte die Schnittbreite des Laserspaltens um mehr als 75% reduziert werden (Abb. 23 und Tab. 7). Dies geht zwar auf Kosten einer etwas höheren thermischen Belastung, der im Anschluss mit effektiveren Schnittpaltkühlung und längeren Relaxationsphasen entgegengearbeitet wurde. Die Ergebnisse der vielen zum Teil vollständig knöchern durchbauten Präparate sprechen für diese Modifikation. Weitere Veränderungen müssen jedoch noch folgen. Beispielsweise ist das Lasergerät mit all den erforderlichen Komponenten noch deutlich zu groß und unhandlich für einen Routine-Einsatz in der Praxis. Die Vorbereitungen für jeden Schnitt von der Justage des Lasers am Patienten bis zum Einstellen des genauen Abstandes des Scanners und der Sprühdüsen zum Patienten dauerten pro Schnitt zwischen 15 und 25 Minuten. Auch dieses Procedere muss dringend vereinfacht und verkürzt werden. Zudem wurde der Laser jeweils von zwei bis drei Physikern des Entwicklerteams bedient. Der Einsatz in der Praxis muss diesbezüglich noch soweit vereinfacht werden, dass das übliche Klinik-Personal das Lasersystem leicht bedienen kann.

Der in der Literatur oft angesprochene Vorteil des Koagulierens kleinerer Gefäße (NELSON et al., 1989; NEIBURGER und MISERENDINO, 1988) konnte ebenfalls nicht bestätigt werden. Mehrfach kam es bei der Laserosteotomie zu stärkeren Blutungen aus dem Knochen, welche nur durch den Einsatz von Knochenwachs gestillt werden konnten. Folge davon war eine weitere Heilungsverzögerung, da die nicht entfernbar Resten des Wachses vor Heilungsbeginn erst abgebaut werden müssen.

Weiter ungeklärt sind die Ursachen der aufgetretenen massiven Karbonisationen an der Austrittsstelle des Lasers an der medialen Knochenfläche. Eine mögliche Ursache könnten

Rückstrahleffekte durch die zum Schutz des angrenzenden Weichgewebes verwendete matte Metallplatine sein.

Aufgrund der vielen Versuche in den vergangenen 30 Jahren, Knochen mit dem CO₂-Laser zu schneiden ohne dabei größere Schäden zu verursachen, liegt die Frage auf der Hand, ob ein anderer Lasertyp diesen Anforderungen nicht auch oder sogar besser gerecht werden könnte. In der Literatur gehen dabei die Meinungen stark auseinander. Während HORCH und KEIDITSCH (1980) der Meinung sind, dass die Heilungsverzögerung und die anderen Folgen in bezug auf die vielen Vorteile des CO₂-Lasers toleriert werden könnten, schließen DINKELAKER et al. (1989) einen klinischen Einsatz unter diesen Voraussetzungen kategorisch aus. WALSH et al. (1989) vermuten, dass, um die Zone der thermischen Schädigung weiter reduzieren zu können, ein Laser benötigt wird, dessen Strahlung noch mehr absorbiert wird als die des CO₂-Lasers. KELLER et al. (1991) sehen nach eingehenden Untersuchungen mit dem Er:YAG Laser am Unterkiefer von Beagle-Hunden diesen Lasertyp anderen gegenüber im Vorteil. Sie konnten keine thermischen Schädigungen an den Schnittträgern feststellen, während die Präparate des CO₂-Lasers im direkten Vergleich eine 80 bis 320 µm breite Karbonisationszone und darüber hinaus eine weitere 100 µm breite Nekrosezone aufwiesen. Sie halten daher den Er:YAG Laser für eine effektive, schädigungsarme Osteotomie besser geeignet als den CO₂-Laser. LEWANDROWSKI et al. (1996) sehen in dem gepulsten Er:YAG Laser ebenfalls eine attraktive Alternative zum CO₂-Laser und seine Ergebnisse zeigen auch ein deutlich geringeres Risiko durch thermische Schäden beim Einsatz am Knochen. FORRER et al. (1993) stellen bei dem CO₂-Laser eine 4-fach und GONZALEZ et al. (1990) sogar eine 10-fach höhere Gewebeschädigung fest als beim Er:YAG-Laser.

4.1.3 Untersuchungstechniken

Zur Beurteilung der Knochenheilung nach der Laser- bzw. Sägeosteotomie wurden folgende Untersuchungstechniken angewendet: röntgenologische Bewertung der Schnittspaltgröße, polychrome Sequenzmarkierung mit drei verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen und Hartschnitthistologie nach Paragon-Färbung.

Die Probleme der röntgenologischen Bewertung des Schnittspaltes liegen vor allem in der exakten Lagerung für die Aufnahme. Bei einer Breite des Osteotomiespaltes von zum Teil unter 200 µm ist es trotz Narkose des Tieres und Ausrichtung des Unterkiefers unter Sichtkontrolle mit dem C-Bogen nur sehr schwer möglich, eine sichere Aussage über Veränderungen in der Mineralisation des Knochens zu treffen.

Bei der polychromen Sequenzmarkierung besteht das Problem, dass nur die zum Zeitpunkt der Applikation des Fluorochroms aktiven Umbauvorgänge erfasst werden können. Herrscht zum Zeitpunkt der Farbstoffgabe eine temporäre Unterbrechung oder Pause der Um- und Anbildungsphase im Knochen, so können keine Ergebnisse mit diesem Fluorochrom erzielt werden. Auch die Hemmung der Knochenneubildung durch Fluoreszenzfarbstoffe wie z.B. Tetrazyklin sind nachgewiesen und können die Ergebnisse verfälschen. Ähnliche Reaktionen können auch bei Unverträglichkeitsreaktionen mit dem Fluorochrom entstehen (RAHN und PERREN, 1975).

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Fluoreszenzmikroskopie

Röntgenologische Verlaufskontrollen und histologische Untersuchungen geben nur unzureichende Auskunft über die zeitlichen Abläufe von Aufbau, Umbau und Reparationsvorgängen im Knochen. Zur dynamischen Darstellung der Umbauvorgänge im Zuge der Knochenheilung wurde intravital eine polychrome Sequenzmarkierung nach RAHN und PERREN (1971) mit 3 Farbstoffen durchgeführt, die in einem Abstand von je 6 Tagen appliziert wurden. Sie gibt Rückschlüsse auf Ort, Richtung und Geschwindigkeit der Knochenregeneration (KNÖFLER et al., 1990).

Der zeitliche Abstand verhindert auch die Überlagerung der einzelnen Vitalfarbstoffe. Durch diese zeitversetzte wiederholte Markierung mit verschiedenen fluoreszierenden Farbstoffen entstehen sogenannte Banden, welche die Dynamik der Knochenneubildung wiedergeben. Fehlen einzelne Farbmarkierungen, so kann auf lokale Inaktivität bzw. auf Ruhephasen geschlossen werden. Auch während der Resorptionsphase werden Bindungsstellen für die Fluorochrom-Anlagerung frei, wodurch die Osteoklastenhöhlen markiert werden (RAHN und PERREN, 1975).

Die Vitalfarbstoffe gehen während der Mineralisation der organischen Matrix eine Chelatbindung mit Kalzium-Ionen an der Oberfläche der neugebildeten Hydroxyl-Apatit-Kristalle ein. Aufgrund der höheren Affinität zu den Kalzium-Ionen an der Oberfläche der neugebildeten Kristalle binden sie sich an diese eher als an ältere Kristalle (TONNA, 1984). Als Produkt der entstandenen Komplexbindungen entsteht auch die erwünschte Sekundärfluoreszenz. Sie steht im Gegensatz zur Eigen- oder Primärfluoreszenz der Knochen selbst und wird im Rahmen der Auswertung durch Zuführung von Energie in Form von kurzweiligem Licht (UV-Anregung durch Fluoreszenzmikroskopie) angeregt und sichtbar gemacht. Einzelne Elektronen werden dabei auf höhere Energieniveaus befördert. Die

DISKUSSION

Rückkehr in den Normalzustand findet unter Abgabe von längerwelligem Licht statt, das unter speziellen Filtern für die entsprechenden Wellenlängen des Fluorochroms sichtbar gemacht werden kann (RAHN und PERREN, 1971; 1975).

Die Fluoreszenz dauert im Gegensatz zur Phosphoreszenz nur solange an, wie Energie zugeführt wird (RAHN und PERREN, 1971).

Bei der Auswertung der fluoreszenzmikroskopischen Parameter beider Methoden fällt auf, dass weder Tetrazyklin noch Alizarin-Komplexon in den Präparaten nachgewiesen werden konnte. Bei Tetrazyklin traten nach der Applikation bei Hund 1 schwere anaphylaktische Reaktionen auf. Daher wird angenommen, dass das Fluorochrom entweder aufgrund von Unverträglichkeitsreaktionen vom Körper nicht angenommen und daher auch nicht in den Knochen eingebaut wurde oder dass es zum Zeitpunkt der Applikation noch keine beginnende Knochenheilung gab und der Farbstoff aus diesem Grund nicht angelagert werden konnte. Im weiteren Verlauf wurde auf Tetrazyklin verzichtet und ab Hund 2 wurde stattdessen Alizarin-Komplexon verwendet. Calcein-Grün wurde ab diesem Zeitpunkt als erster zu applizierender Farbstoff eingesetzt. Bei der Auswertung der Hunde 2 bis 7 konnte Calcein-Grün stets nachgewiesen werden und daher kommt für das Fehlen von Tetrazyklin nur die Unverträglichkeitsreaktion auf Basis einer Fremdkörperabwehr in Frage. Das Fehlen von Knochenumbauaktivitäten in diesem frühen Stadium kann daher ausgeschlossen werden.

Dass Alizarin-Komplexon dagegen nicht nachgewiesen werden konnte gibt weit größere Fragen auf. Es erscheint unwahrscheinlich, dass bei allen Hunden, bei denen das Fluorochrom eingesetzt wurde, eine inaktive Phase der Knochenneubildung im Zeitraum der Applikation vorlag. Weit realistischer ist die Auffassung von RAHN und PERREN (1975), dass es bei Alizarin-Komplexon durch die Kunststoffeinbettung zur Farbveränderung und Abschwächung der Intensität kommen kann. Hinzu kommt in der vorliegenden Studie, dass bei der Einbettung auf ein langsames und gründlicheres Durchziehen der Präparate mit dem verwendeten Methylmetacrylat geachtet wurde und die angesprochene Abschwächung der Intensität so zugenommen haben könnte.

Als weitere Ursache für das Fehlen von Tetrazyklin und Alizarin-Komplexon kann das Fixans eine Rolle spielen. Um das in der Literatur bekannte Phänomen des Auswaschens von mineralgebundenen Farbstoffen aus dem Gewebe durch formalin- oder säurehaltige Substanzen zu vermeiden, wurde dafür die für Fluoreszenzfarbstoffe empfohlene Schaffersche Lösung verwendet (ROMEIS, 1989).

Auch die von RAHN und PERREN (1975) angesprochene Möglichkeit, dass durch die Knochenresorption die Markierungen infolge dieses fortschreitenden Abbaus wieder verschwinden, kann in diesem Fall außer Acht gelassen werden, da es unwahrscheinlich ist, dass genau diese fehlenden Fluorochrome bei allen Präparaten aller Hunde in vollem Umfang resorbiert worden sind.

Schließlich spielt Wärme noch eine große Rolle. Die Farbstoffe tolerieren keine zu hohen Temperaturen. Sie müssen daher auch über einen Sterilfilter appliziert werden, um so die Hitzesterilisation zu umgehen. Bei der Einbettung entstehen während des exothermen Polymerisationsprozesses des MMA sehr hohe Temperaturen. Daher wurde bei der vorliegenden Studie dieser Vorgang auch in einem Wasserbad durchgeführt, um die entstehende Hitze ableiten zu können. Andere positive Erfahrungen mit Alizarin-Komplexon bei Hartschnitten sprechen zudem für die Verträglichkeit dieser Kombination.

Quantitative Auswertung:

Im direkten Vergleich der fluoreszenzmikroskopischen Auswertung der beiden Methoden fällt auf, dass bei den Sägeschnitt-Präparaten die Farbstoffanlagerung bei allen Hunden sehr konstant bleibt. Es liegt nur sehr wenig Gesamtfluoreszenz vor. Karbonisationen und großflächige Resorptionsvorgänge bleiben aus. Bei den Laserschnitten dagegen ist das Bild sehr unterschiedlich. Bei den hochgradigen Veränderungen durch Karbonisation bei den Hunden 2 und 5 tritt ebenfalls eine starke Fluoreszenz im betroffenen Bereich auf. Da das verbrannte Material jedoch zuerst resorbiert werden muss, bevor die Knochenneubildung mit sich anschließender Mineralisation – und der Einlagerung der Fluorochrome – beginnen kann, lässt dies verschiedene Schlüsse zu: Zum einen könnte die massive Fluoreszenz durch Einlagerung in das verbrannte Knochengewebe entstanden sein. Dieser Vorgang ist jedoch bislang noch in keiner Arbeit nachgewiesen worden.

Andererseits sprechen RAHN und PERREN (1975) von einer weiteren Möglichkeit, warum es zur Fluoreszenz kommt: Während der Knochenresorption nach einer Schädigung lösen zuerst die Osteoklasten den Kalk aus der Knochengrundsubstanz. Entlang der von den knochenresorbierenden Osteoklasten erzeugten Nischen werden damit die Bindungsmöglichkeiten für die Fluorochrome wieder freigelegt, die auch bei der Knochenneubildung von den Fluorochromen zur Anlagerung genutzt werden. Erst dann kommt es zur Entfernung auch des organischen Gerüsts der Knochensubstanz und die Farbstoffe werden somit ebenfalls wieder abgebaut. Diese sehr kurze Zeit der Fluoreszenz könnte im vorliegenden Fall die Erklärung der ungewöhnlich starken Fluoreszenz in der

Karbonisationszone sein. Eine Langzeitstudie könnte hierbei Aufschluss geben, da die Resorption wenige Monate nach der Knochenschädigung abgeschlossen ist und die Dauer der Fluoreszenz in neuangebildetem Knochen mindestens 6 Monate (MILCH 1958) und maximal 9 Jahre (HARRIS, 1962) nach Applikation noch nachgewiesen werden kann.

Qualitative Auswertung:

Neben den starken Karbonisationen in 2 der 12 ausgewerteten Laserpräparate ist die Heilung bei den übrigen Laserpräparaten auch in anderen Punkten sehr unterschiedlich. Ein Drittel der Osteotomiespalten ist nach fluoreszenzmikroskopischer Auswertung knöchern durchbaut, während bei den Sägeschnitten dies bei keinem der Präparate der Fall ist. Andere Laser-Präparate weisen nicht die geringsten Spuren einer Fluoreszenz auf und machen diese Diskrepanz in der Heilung bei der selben Methode um so deutlicher.

4.2.2 Histologie

Die histologische Auswertung der mit Paragon gefärbten Präparate zeigt, wie auch schon bei der Fluoreszenz, ein sehr unterschiedliches Bild. Während die Sägeschnitte auch hier eine große Konstanz zeigen und nur eine geringe Heilung erkennbar ist, sind bei den Schnitten der Laserosteotomie große Abweichungen feststellbar. Es kommen sowohl vollständig mit Geflechtknochen durchbaute Präparate vor wie auch solche mit massiven Karbonisationen und keinem sichtbaren Heilungsbeginn. Bei der histologischen Auswertung ist besonders auffällig, dass auf Zellebene sowohl bei vielen Laserpräparaten als auch bei den meisten Sägepräparaten eine Nekrosezone auftritt. Nur bei wenigen Schnitten aus Laser-Osteotomien ist nur eine minimale Schädigung erkennbar. Dabei handelt es sich um die Schnitte, die fast vollständig in den 22 postoperativen Tagen knöchern durchbaut worden sind. Bei den Sägeschnitten tritt diese Schädigung nur in geringem Ausmaß auf, während sie bei den meisten Laserschnitten sehr ausgeprägt ist. Man kann dabei vier verschiedene Zonen unterteilen:

1. Karbonisationszone:

Hier liegt ein vollkommen zerstörter Schnittfugenrand aus karbonisiertem Material mit einer Breite von 15 bis über 300 μm vor. Die Farbe dieses Bereiches ist schwarz.

2. Zone totaler thermischer Nekrose:

Diese Zone grenzt unmittelbar an die Karbonisationszone und reicht bis zu 250 µm in das ursprüngliche Knochengewebe hinein. Bei einer Auswertung auf zellulärer Ebene sind hier leere Osteozytenhöhlen feststellbar. Dieser Bereich ist farblich unverändert.

3. Zone geringer thermischer Nekrose:

Diese Zone ist bis zu 500 µm breit und zeigt einen Bereich thermischer Schädigung mit Heilungsfähigkeit. Die meisten der Osteozyten sind unverändert. Manche Osteozytenhöhlen enthalten nur noch Chromatinreste oder pyknotische oder verzerrte Zellkerne in leeren Osteozyten-Lakunen.

4. Übergangszone:

Ab dieser Zone ist keine Abweichung der Zellstruktur mehr von unverändertem Knochengewebe feststellbar.

Eine ähnliche Aufteilung der histologisch veränderten Bereiche wurde auch von anderen Autoren festgestellt (RAYAN, 1992; McKEE, 1993; McDAVID et al., 2001). Dass diese Zonen in geringem Ausmaß auch bei den Sägeschnitten auftreten zeigt, dass die thermische Belastung bei dieser Methode ebenfalls erhöht ist. DRESSEL et al. (1991) geben dazu in ihrer Studie an, dass es beim Einsatz von mechanischen Werkzeugen wie der Säge ebenfalls zu Temperaturerhöhungen auf 80 bis 100 °C am Knochen kommen kann. Eine Folge davon wäre eine Heilungsverzögerung, da bei dem thermischen Effekt von Säge und Laser, wie er in der vorliegenden Studie aufgetreten ist, sich durch die Verkohlung die Osteoidstruktur des Knochens so verändert, dass sie nicht durch Makrophagen oder Osteoklasten erkannt und entfernt werden kann. Auch eine Revaskularisation kann nicht mehr stattfinden. Die verkohlten Enden werden nicht mehr in die neue Knochenbildung einbezogen, sondern als Fremdkörper angesehen (NUSS et al., 1988) und umkapselt. Erst dann kann eine neue Knochenbildung stattfinden (CALLAHAN, 1990). Die verbleibenden, nekrotischen Teile bleiben nach ihrer Inkarzation noch lange nachweisbar (CLAYMAN et al., 1978). Da einige der Laserpräparate vollständig mit neugebildetem Geflechtknochen durchbaut sind kann man davon ausgehen, dass bei den Sägeschnitten der Heilungsbeginn zeitlich versetzt stattfand. PERREN (2002) geht dagegen davon aus, dass eine geringgradige lokale Nekrose am Knochen als Stimulus für die Remodellierung des Haversschen Systems mit dem

DISKUSSION

umliegenden, unveränderten Knochengewebe dient. Zudem ist nachgewiesen, dass es bei der Heilung von Kortikalisschäden immer zu einer Resorption der Knochenoberfläche kommt.

Am medialen Ende des Spaltes trat bei den Laser-Osteotomien in zwei Fällen (Hund 2 und 5) eine sehr starke Karbonisation auf. Während des Lasereinsatzes wurden dabei keine Auffälligkeiten gegenüber den anderen Lasereingriffen festgestellt. Es muss in diesen Fällen zu einem extremen Anstieg der Temperaturen gekommen sein. Die erwünschte Verdampfung des Wassers zur Photoablation findet bei dessen Siedepunkt um 100°C statt. Viel früher kommt es jedoch schon zu thermischen Auswirkungen im Gewebe. Ab 43°C kommt es bereits zu ersten Anpassungsreaktionen mit Zellschrumpfung. Über 50°C findet ein Rückgang der Enzymaktivität statt (v.a. alkalische Phosphatase) und der Blutfluss stoppt in kleineren Gefäßen durch Gefäßdilatationen (ERIKSSON und ALBREKTSSON, 1983). Ab 60°C kommt es zur Protein- und ab 80°C zur Kollagen-Denaturierung (BOULNOIS, 1986). Steigt im weiteren Verlauf die Temperatur nicht weiter an bis zur Photoablation und die Wärme kann nicht schnell genug abgeleitet werden, so kommt es in diesem Bereich zu Karbonisationen. GIRAUD et al. (1991) sprechen bereits ab einer Erwärmung des Knochens auf über 70°C von irreversiblen Gewebeschäden. Daher ist es so wichtig, dass es zu der Photoablation mit dem Abtragen und explosionsartigen Herausschleudern der Knochenpartikel kommt. Nur so kann die Wärme abgeführt werden und staut sich nicht im Knochengewebe und eine thermische Diffusion wird vermieden. Schwarze Verkohlungszone treten dagegen bei zu hohen Temperaturen von weit über 150°C. auf. BIYIKLI und MODEST (1987) vermuten, dass durch Laserablation Temperaturen von über 600°C. entstehen können. Bei allen Osteotomien wurde im medialen Austrittsbereich des Laserstrahls eine matte, nicht-reflektierende Metallplatine als Strahlfänger verwendet, um das hinter dem Spalt liegende Gewebe bei Strahlaustritt nicht zu verletzen. Eine Reflexion des Strahls ist aufgrund der matten Oberfläche der Platine nur schwer möglich und hätte bei den übrigen Tieren ebenfalls Schäden hervorrufen müssen. Eine weitere Erklärung für die Karbonisationen ist eine zu geringe Wärmeableitung durch das zugeführte Wasser. Es wurden zwei Sprühdüsen verwendet wobei keine davon während der Laser-Osteotomien ausfiel. Zudem ist die Wassermenge mit 2,5 ml/min genau auf die Erfordernisse eines solchen Eingriffes eingestellt worden (TODOROV et al., 1998). Eine minimale Abweichung der Ausrichtung der Sprühdüsen zum Schnittspalt könnte daher für eine unzureichende Versorgung mit dem für die Wärmeableitung notwendigen Wasser und somit zur Temperaturerhöhung im Spaltinneren geführt haben.

4.3 Schlussfolgerung und klinischer Ausblick

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass prinzipiell der neu modifizierte CO₂-Laser geeignet ist, vitalen Knochen zu schneiden ohne die Heilung durch thermische Nebenwirkungen zu behindern. Zum Erreichen dieses Zieles mussten jedoch die Lasereinstellparameter während des laufenden Versuches weiter optimiert werden, um sie an die Vorgaben eines lebenden, d.h. blutenden Knochens anzupassen. Hierdurch erklärt sich die Heterogenität der gefundenen histologischen Ergebnisse, denn in vielen Fällen konnte weder die Heilungsverzögerung noch das Auftreten von ausgeprägten Karbonisationen verhindert werden. Bei den optimal geschnittenen Präparaten ist jedoch eine sich andeutende Trendwende in der bisherigen Überlegenheit der Säge über den Laser erkennbar.

Während nahezu alle Präparate der Sägegruppe sehr konstante Ergebnisse aufweisen und dabei nur sehr geringe Umbauaktivitäten erkennen lassen, zeigen die Laser-Präparate aufgrund der unterschiedlichen Versuchsparemeter ein sehr heterogenes Erscheinungsbild und lassen drei Gruppen erkennen. Neben einer Reihe Schnitte, die wegen Karbonisationen eine deutlich verzögerte Knochenheilung aufweisen, zeigen andere Präparate aus der Lasergruppe einen vollständig mit neugebildetem Geflechtknochen durchbauten Osteotomiespalt. Eine dritte Gruppe zeigt interessanterweise kaum sichtbare Hinweise auf einen Heilungsbeginn. Dieser überraschende Effekt soll weiter abgeklärt werden.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Verwendung eines Lasersystems in der Knochenchirurgie mit Sicherheit eine Methode mit einer sehr hoffnungsvollen Zukunft ist. Insgesamt fehlt in dem durchgeführten Versuch jedoch noch die Konstanz in der sich andeutenden Überlegenheit des Lasers über der Säge. Aufgrund der vielen bedeutsamen Vorteile eines Lasereinsatzes in der Chirurgie steht es außer Frage, dass sich ein solches System gegenüber herkömmlichen, mechanischen Instrumenten in der Zukunft durchsetzen wird. Bis es dazu kommen wird sind noch eine Vielzahl an Verbesserungen und intensiven Forschungen notwendig. Wichtigstes Ziel der weiteren Forschungen wird sein, dass die zum Teil schweren Karbonisationen, die vermutlich durch einen Rückstreueffekt hervorgerufen wurden, verhindert werden können. Auch das gesamte Lasersystem muss bedienerfreundlicher und für eine größere Flexibilität das Gerät kompakter und mobiler gemacht werden.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass das Ziel, den CO₂-Laser als überlegenes Instrument in der Knochenchirurgie einsetzen zu können, näher gerückt ist.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Laser-Osteotomie hat eine Vielzahl von Vorteilen gegenüber herkömmlichen Schneideinstrumenten wie z.B. der Knochensäge. In früheren Untersuchungen war die Knochenheilung jedoch aufgrund der ausgedehnten thermischen Schädigungen gegenüber den konventionellen mechanischen Osteotomien deutlich verzögert.

In der vorliegenden tierexperimentellen Studie mit 7 Beagle-Hunden wurde die Knochenheilung nach einer Osteotomie mit einem neuen, modifizierten CO₂-Lasersystem und einer herkömmlichen Knochensäge verglichen. Am ventralen Rand beider Unterkiefer wurde dabei je ein ca. 8 mm tiefer Schnitt mit dem Laser und der Knochensäge durchgeführt.

In der anschließenden Einheilungszeit wurden zur Markierung des neu angebildeten Knochengewebes den Tieren drei verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe injiziert.

Nachdem die Hunde am 22. postoperativen Tag getötet worden waren, wurden die Knochenveränderungen fluoreszenzmikroskopisch und histologisch an unentkalkten und mit Paragon gefärbten Hartschliffpräparaten untersucht.

Die Auswertung ergab, dass bei den Sägeschnitt-Präparaten eine gleichmäßige Heilungsverzögerung vorlag und der Schnittpalt in keinem der Fälle knöchern durchbaut war. Die Befunde der Lasergruppe waren dagegen – aufgrund der wechselnden Lasereinstellparametern – sehr unterschiedlich. Einige der Schnitte wiesen wie die Sägepräparate einen kaum sichtbaren Heilungsbeginn auf. Die sehr starken Karbonisationen, die am medialen Ende des Schnittkanals gefunden wurden, sind vermutlich durch einen photothermischen Effekt des Lasers verursacht worden. Ursache könnte eine nicht berücksichtigte Rückstreuung sein, die durch das hinter dem Knochen liegende metallische Abdeckmaterial verursacht wurde. Die Heilungsverzögerung dieser Präparate ist auf die verkohlten Ablagerungen zurückzuführen, die erst abgebaut werden müssen. Eine dritte Gruppe an Laserschnitten wies eine vollständige Ausfüllung des Schnittspaltes mit neu angebildetem Geflechtknochen auf. Bei diesen Präparaten ist keine thermische Schädigung des Knochengewebes feststellbar.

Wenn es gelingt bei den Laserschnitten eine Kontinuität der Ergebnisse zu erreichen und die Ursache der Karbonisationen abzustellen, dann hat der Einsatz von Lasern in der Knochenchirurgie eine große Zukunft.

6 SUMMARY

Osteogenesis after laser osteotomy with a carbon dioxide laser in comparison with common saw technique

Laser osteotomy has several potential advantages in comparison to classical bone incision by mechanical saws. In previous studies the bone healing was delayed due to the damage of the thermal effects compared to mechanical instruments like the bone saw.

With 7 Beagles as an experimental model, a comparative study was done to assess the healing of bone in response to osteotomy by a new modified carbon dioxide laser system and a mechanical bone saw. Using sterile technique, an approximately 6 mm deep incision was made in the ventral aspect of both mandibles with each method. During the follow-up period three intravital stains were injected to mark the surface of new-bone growth.

After the dogs were killed 22 days following the surgical procedure the tissue response was examined by polychrome sequential labelling and undecalcified paragon-stained ground sections.

The sawed mandibles demonstrated a retarded rate of healing and a persistent superficial defect at the impact site.

The results of the laser group were quite different. Some of the specimen showed a similar delay in bone healing like in the saw group. In some cases a large layer of carbonised debris was recognized. This retarded healing was most likely due to a surface deposit of charred tissue elements, produced by the thermal effects of the laser. In a third group of laser specimen showed a complete reconstruction of the incision by new Haversian bone and no signs of any damage by thermal effects due to the laser application.

This modified carbon dioxide laser appears to be an effective and precise bone ablator. According to the results of previous studies the appearance of carbonisation could be prevented in some cases. If the key is found to reduce the risk of carbonisation to the maximum the future is open for the laser in orthopaedic surgery.

7 LITERATURVERZEICHNIS

- 1.) Allen G.W., Adrian J.C.
Effects of carbon dioxide laser radiation on bone: an initial report.
Milit Med; 1981; 146: 120-123
- 2.) Banks W.J.
Applied veterinary histology.
Waverly Press, Baltimore; 1981: 154-161
- 3.) Biyikli S., Modest M.F.
Energy requirements for osteotomy of femora and tibiae with a moving cw CO₂ laser.
Lasers Surg Med; 1987; 7: 512-519
- 4.) Boulnois J.-L.
Photophysical processes in recent medical laser developments: a review.
Laser Med Sci; 1986; 1: 47-66
- 5.) Caesar (Center of Advanced European Studies and Research)
Triplet "Computer aided Surgery".
Bonn, 2001
- 6.) Callahan D.J.
Osseous healing after CO₂ laser osteotomy.
Foot and Ankle; 1990; 11: 146-151
- 7.) Campbell C.J., Rittler M.C.
The effects of lasers on the eye.
Ann N.Y. Acad Sci; 1970; 168: 627-634
- 8.) Chen I.I.H., Saha S.
Thermal analysis of the bone surface induced by laser radiation.
Ann Biomed Eng; 1987; 15: 457-466
- 9.) Clark G.N., Sinibaldi K.R.
Use of a carbon dioxide laser for treatment of elongated soft palate in dogs.
JAVMA; 1994; 204: 1779-1781
- 10.) Clauser C.
Comparison of depth and profile of osteotomies performed by rapid superpulsed and continuous-wave CO₂ laser beams at high power output.
J Oral Maxillofac Surg; 1986; 44: 425-430
- 11.) Clayman L., Fuller T., Beckman H.
Healing of continuous-wave and rapid superpulsed, carbon dioxide, laser-induced bone defects.
J Oral Surg; 1978; 36: 932-937

LITERATURVERZEICHNIS

- 12.) Coticchia J.M., Fredrickson J.M., El-Mofty S., Miller D.A.
Effect of KTP laser ablation of endochondral bone on bone healing.
Am J Otol; 1993; 14: 230-237
- 13.) Dellman H.-D., Brown E.M.
Textbook of veterinary histology.
3. Auflage; Lea & Febiger-Verlag; Philadelphia; 1987: 55-68
- 14.) Dinkelaker F., Scholz C., Grothues-Sprok M., Rahmzadeh R., Müller G.
Fluoreszenzmikroskopische Befunde nach CO₂-Laserosteotomie an der Schafstibia.
Hefte Unfallheilk; 1989; 207: 459-461
- 15.) Dressel M., Jahn R., Neu W., Jungbluth K.-H.
Studies in fiber guided eximer laser surgery for cutting and drilling bone and meniscus.
Lasers Surg Med; 1991; 11: 569-579
- 16.) Eitel F., Schenk R.K., Schweiberer L.
Corticale Revitalisierung nach Marknagelung an der Hundetibia
Unfallheilkunde; 1980; 83: 202-207
- 17.) Eitel F., Seiler H., Schweiberer L.
Vergleichende morphologische Untersuchungen zur Übertragbarkeit
tierexperimenteller Ergebnisse auf den Regenerationsprozeß des menschlichen
Röhrenknochens (Teil I und II).
Unfallheilkunde; 1981; 84: 250-264
- 18.) Eriksson A.R., Albrektsson T.
Temperature threshold levels for heat-induced bone tissue injury: a vital-microscopic
study in the rabbit.
J Prosth Dent; 1983; 50: 101-107
- 19.) Forrer M., Frenz M., Romano V., Altermatt H.J., Weber H.P., Silenok A., Istomyn M.,
Konov V.I.
Bone-ablation mechanism using CO₂ lasers of different pulse duration and wavelength.
Appl Phys B; 1993; 56: 104-112
- 20.) Fortune D.S., Huang S., Soto J., Pennington B., Ossoff R.H., Reinisch L.
Effect of pulse duration on wound healing using a CO₂ laser.
Laryngoscope; 1998; 108: 843-848
- 21.) Friesen L.R., Cobb C.M., Rapley J.W., Forgas-Brockman L., Spencer P.
Laser irradiation of bone: II. Healing response following treatment by CO₂ and
Nd:YAG lasers.
J Periodontol; 1999; 70: 75-83
- 22.) German A., Bunimovich D., Katzir A.
Transmission of pulsed CO₂ laser beams through „opaque“ liquids by a cavitation
effect.
Appl Phys; 1997; Lett. 70: 3262-3264

LITERATURVERZEICHNIS

- 23.) Giraud J.Y., Villemin S., Darmana R., Cahuzac J.Ph., Autefage A., Morucci J.P.
Bone cutting.
Clin Phys Physiol Meas; 1991; 12: 1-19
- 24.) Goldman L., Hobeika C., Rockwell R.J. jun., Hishimoto K., Naprstek Z., Polanyi T., Siler V.E., Bredmeier H.C., Hoefler R.
Some parameters of high output CO₂ laser experimental surgery.
Nature; 1970; 228: 1344-1345
- 25.) Gonzalez C., Van De Merve W.P., Smith M., Reinisch L.
Comparison of the Erbium-Yttrium Aluminium Garnet and carbon dioxide lasers for in vitro bone and cartilage ablation.
Laryngoscope; 1990; 100: 14-17
- 26.) Günter H., Härb H., Korab W., Kyrle P.
Anwendung der Laserstrahlen in der Chirurgie.
Zbl Chir; 1979; 104: 23-29
- 27.) Harris W.H., Jackson R.H., Jowsey J.
The in vivo distribution of tetracyclines in canine bone.
J Bone Joint Surg; 1962; 44-A: 1308-1320
- 28.) Hendrick D.A., Meyers A.
Wound healing after laser surgery.
Otolaryngol Clin North Am; 1995; 28: 969-986
- 29.) Hönig J.F., Merten H.A.
Das Göttinger Miniaturschwein (GMS) als Versuchstier in der human-medizinischen osteologischen Grundlagenforschung.
Z Zahnärztl Implantol; 1993; 9: 244-254
- 30.) Horch H.-H.
Laser-Osteotomie und Anwendungsmöglichkeiten des Lasers in der oralen Weichteilchirurgie.
Quintessenz-Verlag, Berlin 1983
- 31.) Horch H.-H.
Zum aktuellen Stand der Laser-Osteotomie.
Orthopäde; 1984; 13: 125-132
- 32.) Horch H.-H., Keiditsch E.
Morphologische Befunde über die Gewebsschädigung und Knochenregeneration nach Laser-Osteotomie.
Dtsch Zahnärztl Z; 1980; 35: 22-24
- 33.) Horch H.-H., McCord R.C.
Neue Ergebnisse über die Laser-Osteotomie.
Laser Elektroopt; 1977; 3: 36-37

LITERATURVERZEICHNIS

- 34.) Horch H.-H., McCord R.C., Schäffer E., Ruprecht L.
Aspects of laser osteotomy.
Proc Symp Laser Med Biol; 1977; GSF-Bericht; BPT 5: 40
- 35.) Imhoff A.B.
Orthopaedic laser systems.
In: Gerber B.E./Knight M./Siebert W.E. (Hrsg.): Lasers in the musculoskeletal system;
Springer-Verlag; Hamburg; 2001: 12
- 36.) Ivanenko M.M., Hering P.
Hard tissue ablation with a mechanically Q-switched CO₂ laser.
Proc SPIE; 1998 (a); 3565: 110-115
- 37.) Ivanenko M.M., Hering P.
Wet bone ablation with mechanically Q-switched high-repetition-rate CO₂ laser.
Appl Phys B; 1998 (b); 67: 395-397
- 38.) Izatt J.A., Albagli D., Itzkan I., Feld M.S.
Pulsed laser ablation of calcified tissue: physical mechanisms and fundamental parameters.
Proc SPIE; 1990; 1202: 141-148
- 39.) James H.E., Wiley C.A., Schneider S.
The effect of carbon dioxide laser irradiation on cranial bone healing: An experimental study.
Child's Nerv Syst; 1986; 2: 248-251
- 40.) Kaplan I., Ger R.
The carbon dioxide laser in clinical surgery.
Israel J Med Sci; 1973; 9: 79-83
- 41.) Kaplan I., Sharon U.
Current laser surgery.
Ann NY Acad Sci; 1976; 267: 247-253
- 42.) Keller T.
Osseointegration einer mit Plasma-Immersionen-Ionen-Implantation behandelten Autokompressionsklammer aus Nitinol - eine tierexperimentelle Studie.
Vet med Diss, München (In Vorbereitung)
- 43.) Keller U., Hibst R., Mohr W.
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Laserosteotomie mit dem Erbium:YAG-Laser.
Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir; 1991; 15: 197-199
- 44.) Knöfler W., Graf H.-L., Gröschel Th., Löwicke G.
Zur Knochenreaktion auf Biomaterialien.
Z Zahnärztl Implantol; 1990; 4: 145-152

LITERATURVERZEICHNIS

- 45.) Königsmann G., Karbe E., Beck R.
Application of CO₂ lasers and the CO laser as a surgical instrument compared with other IR lasers and conventional instruments.
Proc Symp Laser Med Biol; 1977; GSF-Bericht; BPT 5: 38
- 46.) Krause L.S., Cobb C.M., Rapley J.W., Killoy W.J., Spencer P.
Laser irradiation of bone. I. An in vitro study concerning the effects of the CO₂ laser on oral mucosa and subjacent bone.
J Periodontol; 1997; 68: 872-880
- 47.) Kubo U., Hashishin Y., Okada K.
Optical beam guides for medical CO₂ and eximer lasers.
Proc SPIE; 1988; 906: 214-219
- 48.) Kyzer M.D., Aly A.S., Davidson J.M., Reinisch L., Ossoff R.H.
Sub ablation effects of the KTP laser on wound healing.
Lasers Surg Med; 1993; 13: 62-71
- 49.) Lentrodt J., Bull H.G.
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Knochenregeneration nach Bohrvorgängen am Knochen.
Dtsch Zahnärztl Z; 1976; 31: 115-124
- 50.) Lewandrowski K.U., Lorente C., Schomacker K.T., Flotte T.J., Wilkes J.W., Deutsch T.F.
Use of the Er:YAG laser for improved plating in maxillofacial surgery: comparison of bone healing in laser and drill osteotomies.
Lasers Surg Med; 1996; 19: 40-45
- 51.) Maimann T.H.
Optical and microwave-optical experiments in ruby.
Phys Rev Let; 1960: 564-566
- 52.) McDavid V.G., Cobb C.M., Rapley J.W., Glaros A.G., Spencer P.
Laser irradiation of bone: III. Long-term healing following treatment by CO₂ and Nd:YAG lasers.
J Periodontol; 2001; 72: 174-182
- 53.) McKee M.D.
Effects of CO₂ laser irradiation in vivo on rat alveolar bone and incisor enamel, dentin and pulp.
J Dent Res; 1993; 72: 1406-1417
- 54.) Mester E., Nagy E.J., Bácsy E., Korényi-Both A., Naményi J., Kovács I., Tisza S.
Laser in der Medizin – experimentelle und klinische Erfahrungen.
In: Kaul A. (Hrsg.): Medizinische Physik in Forschung und Praxis
De Gruyter-Verlag; Berlin – New York; 1976: 117-135
- 55.) Meyer H.-J., Grotelüschen B., Buchholz J.
Schnittcharakteristik beim Schneiden mit Laserstrahlen.
Zbl Chir; 1979; 104: 30-37

LITERATURVERZEICHNIS

- 56.) Milch R.A., Rall D.P., Tobie J.E.
Fluorescence of tetracycline antibiotics in bone.
J Bone Joint Surg; 1958; 40-A: 897-910
- 57.) Mitra T.
Ablation biologischen Hartgewebes mit gepulsten Infrarot-Lasern.
Phys Diss; Düsseldorf; 2002
- 58.) Müller G., Berlien P.
Der Laser in der Medizin.
Laser Med Chir; 1986; 2: 26-30
- 59.) Mullins F., Jennings B., McClusky L.
Liver resection with the continuous wave carbon dioxide laser: some experimental observations.
Am Surg; 1968; 34: 717-722
- 60.) Myers T.D.
Lasers in dentistry.
J Am Dent Assoc; 1991; 122: 47-50
- 61.) Nakamura Y., Hossain M., Watanabe H., Tokonabe H., Matsumoto N., Matsumoto K.
A study of morphological changes of the rat mandibular bone with TEA CO₂ laser.
J Clin Laser Med Surg; 1999; 17: 211-215
- 62.) Neiburger E.J., Miserendino L.
Laser reflectance: hazard in the dental operatory.
Oral Surg; 1988; 66: 659-661
- 63.) Nelson J.S., Orenstein A., Liaw L.-H.L., Berns M.W.
Mid-infrared Erbium:YAG laser ablation of bone: The effect of laser osteotomy on bone bone healing.
Lasers Surg Med; 1989; 9: 362-374
- 64.) Nuss R.C., Fabian R.L., Sarkar R., Puliafito C.A.
Infrared laser bone ablation.
Lasers Surg Med; 1988; 8: 381-391
- 65.) Parrish J.A., Walsh J.T.
Potentials for progress in laser medicine.
Yale J Biol Med; 1985; 58: 535-545
- 66.) Patel C.K.N.
Interpretations of CO₂ optical maser experiments.
Phys Rev Lett; 1964; 12: 588-590
- 67.) Payne J.T., Peavy G.M., Reinisch L., van Sickle D.C.
Cortical bone healing following laser osteotomy using 6.1 µm wavelength.
Lasers Surg Med; 2001; 29: 38-43

- 68.) Perren S.M.
Evolution of the internal fixation of long bone fractures
J Bone Joint Surg; 2002 ; 84-B: 1093-1110
- 69.) Perren S.M., Huggler A., Russenberger M., Straumann F., Müller M.E., Allgöwer M.
Cortical bone healing.
Acta Orthop Scand; 1969; Suppl. 125: 19-28
- 70.) Pierce M.C., Jackson S.D., Dickinson M.R., King T.A., Sloan P.
Laser tissue interaction with a cw 3µm fibre laser: preliminary studies with soft tissue.
Lasers Surg Med; 2000; 26: 491-495
- 71.) Prestele K., Franetzki M., Mockwitz J.
Schnittversuche mit dem CO₂ Laser an Arterien und Knochen.
Biomed Tech; 1975; 20: 285-286
- 72.) Rahn B.A.
Die polychrome Sequenzmarkierung des Knochens.
In: Matzen P.F. (Hrsg.): Nova Acta Leopoldina, Neue Folge Band 44 (Nr. 223)
Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina, Halle (Saale); 1976: 249-254
- 73.) Rahn B.A., Fleisch H., Moor R., Perren S.M.
The effect of fluorescent labels on bone growth and calcification in tissue culture.
Europ Surg Res; 1970; 2: 137-138
- 74.) Rahn B.A., Perren S.M.
Xylenol orange, a fluorochrom useful in polychrome sequential labeling of calcifying tissues.
Stain Technol; 1971; 46: 125-129
- 75.) Rahn B.A., Perren S.M.
Alizarinkomplexon – Fluorochrom zur Markierung von Knochen- und Dentinanbau.
Experientia; 1972; 28: 180
- 76.) Rahn B.A., Perren S.M.
Die mehrfarbige Fluoreszenzmarkierung des Knochenbaus.
Chem Rundsch; 1975; 28: 12-15
- 77.) Rayan G.M., Pitha J.V., Edwards J.S., Everett R.B.
Effects of CO₂ laser beam on cortical bone.
Lasers Surg Med; 1991; 11: 58-61
- 78.) Rayan G.M., Stanfield D.T., Cahill S., Kosanke S.E., Kopta J.A.
Effects of rapid pulsed CO₂ laser beam on cortical bone in vivo.
Lasers Surg Med; 1992; 12: 615-620
- 79.) Romeis B.
Mikroskopische Technik.
17. Auflage; Urban und Schwarzenberg-Verlag, München; 1989: 527-558

LITERATURVERZEICHNIS

- 80.) Sanders D.L., Reinisch L.
Wound healing and collagen thermal damage in 7.5- μ sec pulsed CO₂ laser skin incisions.
Lasers Surg Med; 2000; 26: 22-32
- 81.) Scholz C., Grothues-Spork M.
Die Bearbeitung von Knochen mit dem Laser.
In Berlien H.P./Müller G. (Hrsg.): Angewandte Lasermedizin. Lehr- und Handbuch für Praxis und Klinik; Kap. III-3.11.1; 5. Ergänzungslieferung 7/92, ecomed-Verlag, 1992: 1-23
- 82.) Schweiberer L., van de Berg A., Dambe L.
Das Verhalten der intraossären Gefäße nach Osteosynthese der frakturierten Tibia des Hundes.
Therapiewoche; 1970; 20: 1330-1332
- 83.) Siebert W.
Osteotomie mit experimentellen Lasersystemen.
Orthopädische Klinik der Medizinischen Hochschule Hannover; 1992
- 84.) Small I.A., Osborn T.P., Fuller T., Hussain M., Kobernick S.
Observations of carbon dioxide laser and bone bur in the osteotomy of the rabbit tibia.
J Oral Surg; 1979; 37: 159-166
- 85.) Spencer P., Cobb C.M., Wieliczka D.M., Glaros A.G., Morris P.J.
Change in temperature of subjacent bone during soft tissue laser ablation.
J Periodontol; 1998; 69: 1278-1282
- 86.) Spencer P., Payne J.M., Cobb C.M., Reinisch L., Peavy G.M., Drummer D.D., Suchmann D.L., Swafford J.R.
Effective laser ablation of bone based on the absorption characteristics of water and proteins.
J Periodontol; 1999; 70: 68-74
- 87.) Sutter E.
Klassifizierung von Lasereinrichtungen und Grenzwerte zulässiger Bestrahlung.
Braunschweig, 2001: 1-22
- 88.) Swift J.Q., Jenny J.E., Hargreaves K.M.
Heat generation in hydroxyapatite-coated implants as a result of CO₂ laser application.
Oral Surg; 1995; 79: 410-415
- 89.) Tauber C., Farine I., Horoszowski H., Gassner S.
Fracture healing in rabbits after osteotomy using the CO₂ laser.
Acta Orthop Scand; 1979; 50: 385-390
- 90.) Todorov L., Lademann J., Weigmann H.-J., Berlien H.-P., Müller G.
Reduzierung der Schadstoffe beim Laserschneiden von Gewebe durch Einsatz von Wassersprühung.
Jahresbericht 1995-1997 der Laser- und Medizin-Technologie GmbH, Berlin: 110-111

LITERATURVERZEICHNIS

- 91.) Tonna E.A., Singh I.J., Sandhu H.S.
Fluorochromes.
In: Dickson G.R. (Hrsg.): Methods of calcified tissue preparation; Elsevier-Verlag,
Amsterdam-New York-Oxford; 1984: 341-354
- 92.) Walsh J.T., Flotte T.J., Deutsch T.F.
Er:YAG laser ablation of tissue: effect of pulse duration and tissue type on thermal
damage.
Lasers Surg Med; 1989; 9: 314-326
- 93.) Walsh L.J.
The use of lasers in implantology: an overview.
J Oral Impl; 1992; 18: 335-340
- 94.) Weber H., Herziger W.
Laser-Grundlagen und Anwendungen.
Physik-Verlag; Weinheim/Bergstraße; 1978: 221-224
- 95.) Weigant K.
Minimalinvasive Laserchirurgie am Beispiel des Kleinhirnbrückenwinkels.
Vet med Diss; München; 1993
- 96.) Welling H., Bödecker V., Grotelüschen B.
Untersuchungen zum blutlosen Schneiden der Leber mit Laserstrahlen.
In Kaul A. (Hrsg.); Medizinische Physik in Forschung und Praxis
De Gruyter-Verlag; Berlin-New-York; 1976: 175-184
- 97.) Wissing H., Stürmer K.M., Breidenstein G.
Die Wertigkeit verschiedener Versuchstierspezies für experimentelle Untersuchungen
am Knochen.
Hefte Unfallheilk; 1991; Heft 212: 478-488

8 TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1: Knochenzusammensetzung.....	6
Tab. 2: Versuchstiere.....	23
Tab. 3: Versuchsanordnung.....	24
Tab. 4: Schnittanordnung.....	31
Tab. 5: Fluoreszenzschema.....	35
Tab. 6: Laserschnitt-Dauer.....	60
Tab. 7: Daten Spaltbreite	67
Tab. 8: Qualitative Parameter Fluoreszenz.....	71

9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1:	Der Lamellenknochen 1 (mod. nach BANKS, 1981).....	3
Abb. 2:	Der Lamellenknochen 2 (mod. nach BANKS, 1981).....	4
Abb. 3:	Der Aufbau eines Osteons (mod. nach BANKS, 1981).....	5
Abb. 4:	Das Osteon (mod. nach BANKS, 1981).....	5
Abb. 5:	Der schematische Aufbau eines Lasers (CAESAR, 2001).....	9
Abb. 6:	Abnahme der Strahlungsintensität im Gewebe (mod. nach WELLING et al., 1976).....	15
Abb. 7:	Der Laser RS SC x30 von Rofin Sinar (CAESAR, 2001).....	26
Abb. 8:	Das Osteoskalpell (Foto: HÖSLE, 2003).....	26
Abb. 9:	Osteoskalpell mit Handstück und Bohrer (Foto: HÖSLE, 2003).....	26
Abb. 10:	Hundebecken mit 5 verschiedenen Dreieckschnitten (Foto: CAESAR, 2001)...	28
Abb. 11:	Schnitte am Unterkieferast in der Simulation.....	28
Abb. 12:	Herausgeschnittenes Fragment (Foto: CAESAR, 2002).....	28
Abb. 13:	Hund 2 - Röntgenaufnahme postoperativ – linke Unterkieferseite.....	62
Abb. 14:	Hund 2 - Röntgenaufnahme Tag 12 p.op. – linke Unterkieferseite.....	62
Abb. 15:	Hund 2 - Röntgenaufnahme Tag 22 – linke Unterkieferseite.....	62
Abb. 16:	Hund 3 - Röntgenaufnahme postoperativ – linke Unterkieferseite.....	62
Abb. 17:	Hund 3 - Röntgenaufnahme Tag 6 – linke Unterkieferseite.....	63
Abb. 18:	Hund 3 - Röntgenaufnahme Tag 12 – linke Unterkieferseite.....	63
Abb. 19:	Hund 3 - Röntgenaufnahme Tag 17 – linke Unterkieferseite.....	63
Abb. 20:	Hund 3 - Röntgenaufnahme Tag 22 – linke Unterkieferseite.....	63
Abb. 21:	Fluoreszenzfläche Laserschnitte.....	66
Abb. 22:	Fluoreszenzfläche Sägeschnitte.....	66
Abb. 23:	Daten Spaltbreite	67
Abb. 24:	Durchschnittliche Knochenneubildung im Schnittspalt im Vergleich Laser – Säge.....	68
Abb. 25:	Anteil an Präparaten mit periostaler Fluoreszenz im Vergleich Säge – Laser.....	68
Abb. 26:	Spaltfüllung Calcein-Grün (Laser).....	69
Abb. 27:	Spaltfüllung Calcein-Grün (Säge).....	69

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 28:	Spaltfüllung Xylenol-Orange (Laser).....	69
Abb. 29:	Spaltfüllung Xylenol-Orange (Säge).....	69
Abb. 30:	Gesamtlänge der fluoreszierenden Bereiche in jedem Schnitt.....	70
Abb. 31:	Hund 6 – Fluoreszenzmikroskopie: Laserschnitt rechts – Schnitt unter Filter für Calcein-Grün (2,5-fach).....	73
Abb. 32:	Hund 4 – Fluoreszenzmikroskopie: Laserschnitt rechts – Schnitt unter Filter für Calcein-Grün (2,5-fach).....	73
Abb. 33:	Hund 6 – Fluoreszenzmikroskopie: Laserschnitt rechts – Schnitt unter Filter für Xylenol-Orange (2,5-fach).....	73
Abb. 34:	Hund 4 – Fluoreszenzmikroskopie: Laserschnitt rechts – Schnitt unter Filter für Xylenol-Orange (2,5-fach).....	73
Abb. 35:	Hund 6 – Fluoreszenzmikroskopie: Laserschnitt rechts – Schnitt unter Filter für Calcein-Grün und Xylenol-Orange (2,5-fach).....	73
Abb. 36:	Hund 4 – Fluoreszenzmikroskopie: Laserschnitt rechts – Schnitt unter Filter für Calcein-Grün und Xylenol-Orange (2,5-fach).....	73
Abb. 37:	Hund 5 – Sägeschnitt rechts – medial: Deutliche periostale Fluoreszenz, die in den Schnittspalt hineinzieht (2,5-fach).....	75
Abb. 38:	Hund 4 – Sägeschnitt rechts – medial: Ausgeprägte Fluoreszenz durch Xylenol-Orange am Rand des Spaltes (2,5-fach).....	75
Abb. 39:	Hund 5 – Sägeschnitt links – medial: Zwei große Resorptionsgruben am Beginn des Schnittspaltes (2,5-fach).....	75
Abb. 40:	Hund 2 – Sägeschnitt rechts – medial: Einseitige periostale Fluoreszenz; zwei Resorptionsgruben; beidseitige Calcein-Grün-Banden im Spaltbereich (2,5-fach).....	75
Abb. 41:	Hund 7 – Sägeschnitt rechts – medial: Deutliche periostale Fluoreszenz (2,5-fach).....	75
Abb. 42:	Hund 6 – Sägeschnitt links – medial: Periostale Fluoreszenz; Resorptionsgruben (2,5-fach).....	75
Abb. 43:	Hund 2 – Laserschnitt links – lateral: Calcein-Grün-Banden am Rand des Schnittkanals und Xylenol-Orange im Lumen (links); Xylenol-Orange am Rand des Schnittkanals (rechts) (2,5-fach).....	77
Abb. 44:	Hund 7 – Laserschnitt links – medial: Vollständige Überbrückung des Spaltes: Calcein-Grün in der Spalttiefe und Xylenol-Orange am Spalteingang (2,5-fach).....	77
Abb. 45:	Hund 5 – Laserschnitt links – medial: Sehr starke, beidseitige Karbonisationen (2,5-fach).....	77

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 46:	Hund 3 – Laserschnitt rechts – lateral: Einseitige, sehr ausgeprägte Karbonisationen im Spalt (2,5-fach).....	77
Abb. 47:	Hund 6 – Laserschnitt links – medial: Sehr stark ausgeprägte periostale Fluoreszenz durch Xylenol-Orange (2,5-fach).....	77
Abb. 48:	Hund 4 – Laserschnitt rechts – latero-medial: Sehr ausgeprägte periostale Fluoreszenz auf beiden Seiten des Schnittes; der Spaltkanal ist z.T. vollständig überbrückt (2,5-fach).....	77
Abb. 49:	Qualitativer histologischer Vergleich Laserschnitte – Sägeschnitte.....	79
Abb. 50:	Hund 1 – Sägeschnitt links: Durchschnittlich ausgeprägte karbonisierte, schwarze Übergangszone vom Spaltlumen zum begrenzenden Knochengewebe (10-fach).....	81
Abb. 51:	Hund 5 – Laserschnitt links – medial: Extrem starke Karbonisation am medialen Spaltausgang; die Breite der Verkohlungszone beträgt ca. 300 µm (5-fach).....	81
Abb. 52:	Hund 4 – Laserschnitt rechts: Neu gebildeter Inseln aus Geflechtknochen haben den Spalt bereits in vollem Umfang durchbaut; gut sichtbare Bone-Lining-Cells im Rand- bereich und spindelförmige Osteozyten im Zentrum der Insel (20-fach).....	81
Abb. 53:	Hund 4 – Sägeschnitt rechts: Geflechtknochen bildet sich vom Randbereich des Osteotomiespalt aus; erste Inselbildung mit Bone-Lining-Cells am Rand und neu eingesprossenen Blutgefäßen im Zentrum (10-fach)	81
Abb. 54:	Hund 3 – Sägeschnitt links: Die knöcherne Randbegrenzung des Spaltes wird teilweise aufgelöst und es entstehen Resorptionsgruben; Osteoklastenaktivität am Knochenrand (10-fach).....	83
Abb. 55:	Hund 7 – Laserschnitt links: Ausgeprägte Resorptionsgruben auf einer der Randseiten mit deutlicher Vergrößerung der Spaltbreite als Folge (10-fach).....	83
Abb. 56:	Hund 7 – Laserschnitt rechts: Massive Resorption des angrenzenden Knochengewebes über einen verbindenden Kanal; die Schnittbreite wird dabei fast vervierfacht (5-fach).....	83
Abb. 57:	Hund 7 – Sägeschnitt links: Keine sichtbare Reaktion erkennbar; weder Resorptions- noch Appositionsvorgänge sind feststellbar (2,5-fach).....	83

10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.:	Arteria
Abb.:	Abbildung
bzw.:	beziehungsweise
ca.:	circa
cm:	Zentimeter
cm ² :	Quadratmeter
cm ³ :	Kubikmeter
CO ₂ :	Kohlendioxid
DNS:	Desoxyribonukleinsäure
EKG :	Elektro-Kardiogramm
Er:YAG:	Erbium-Yttrium Aluminium Garnet
et al.:	et altera
Fa.:	Firma
°C.:	Grad Celsius
g:	Gramm
histol.:	histologisch
HNO:	Hals-Nasen-Ohren-Medizin
Hz:	Hertz
i.m.:	intramuskulär
i.v.:	intravenös
Kap.:	Kapitel
kg:	Kilogramm
KGW:	Körpergewicht
kV:	Kilovolt
M.:	Musculus
m:	Meter
m ² :	Quadratmeter
mA:	Milliampere
max.:	maximal
mg:	Milligramm
min.:	Minuten
ml:	Milliliter

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Mm.:	Musculi
mm:	Millimeter
µm:	Mikrometer
µm ² :	Quadratmikrometer
MMA:	Methylmetacrylat
mod.:	modifiziert
mrاد:	Milliradiant
µs:	Mikrosekunden
N.:	Nervus
NaCl:	Natrium-Chlorid
Nd:YAG:	Neodym-Yttrium Aluminium Garnet
nm:	Nanometer
Nl.:	Nodus lymphaticus
Nr.:	Nummer
o.ä.:	oder ähnliches
OP:	Operation
PC:	Personal Computer
p.o.:	per os
p.op.:	post operationem
Proc.:	Processus
s.:	siehe
s.c.:	subkutan
sek.:	Sekunde
Tab.:	Tabelle
Tsd.:	Tausend
u.a.:	unter anderem
U/min:	Umdrehungen pro Minute
UV:	Ultraviolett
V.:	Vena
v.a.:	vor allem
Vol %:	Volumenprozent
W:	Watt
z.B.:	zum Beispiel
z.T.:	zum Teil

11 DANKSAGUNG

Herrn Univ.-Prof. Dr.med.vet. Dr.med.vet.habil. Wolfgang Schmahl danke ich für seine Freundlichkeit und die Übernahme der Arbeit an die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München.

Bei Herrn Prof. Dr.med. Bernd Gänsbacher, Direktor des Instituts für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung im Klinikum Rechts der Isar der TU München, bedanke ich mich für die freundliche Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

An dieser Stelle möchte ich mich ebenfalls bei Herrn Priv.-Dozent Dr.med. Dr.med.dent. Dr.med.habil. Robert Sader für die Überlassung des Themas bedanken.

Ganz herzlich danke ich Herrn Prof. Dr.med.vet. Dr.med.habil. Wolf Erhardt als Vermittler der Arbeit, für die Durchsicht des Skriptes, die unendlichen diplomatischen, psychologischen und organisatorischen Bemühungen ohne die das Projekt sich um viele Monate verzögert hätte und die nicht enden wollende Motivation immer für uns Doktoranden da zu sein.

Ebenso Frau Dr.med.vet. Julia Henke und Frau Dr.med.vet. Barbara Eißner, die nie müde wurden für alle Fragen und Probleme rund um die Operationen offen zu sein und uns in allen Dingen nach Möglichkeit unterstützten.

Weiter gilt ein besonderer Dank Dr. Mikhail Ivanenko, Dipl.-Phys. Said Afilal und Dipl.-Phys. Martin Werner der Abteilung für Lasertechnologie der Stiftung Caesar unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Peter Hering für die Bereitstellung und Bedienung des Lasers wie auch für nicht enden wollenden Improvisationen, die ein Gelingen der Versuche erst möglich gemacht haben.

Für die freundliche Unterstützung und die angenehme Atmosphäre möchte ich den Schwestern und ganz besonders den Tierpflegern des Instituts für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung des Klinikums Rechts der Isar der TU-München und ebenso den Tierpflegern des Hundehauses 1 der GSF in Neuherberg danken.

DANKSAGUNG

Ferner möchte ich noch Frau Dr.med.vet. Marie-Luise Schmeller und ganz besonders Dr.med. Stefan Milz aus dem anatomischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität, München für die ausgezeichnete Beratung und Betreuung bei den fluoreszenzmikroskopischen und histologischen Auswertungen danken – stellvertretend für die Vielzahl von Personen, die mir in beratender Funktion im Laufe des gesamten Projektes sehr zuverlässig zur Seite standen.

Dr.med.vet. Sven Reese danke ich für die Bereitstellung der Räumlichkeiten zur Sektion und Probengewinnung im Institut für Tieranatomie der tiermedizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Prof. Dr.oec.publ. Dr.med.vet.habil. Klaus Osterkorn bin ich sehr verbunden für seine Unterstützung bei der statistischen Auswertung dieser Arbeit.

Herrn Heinz Hösle danke ich für die Fotos und das Bereitstellen der Instrumente für die Osteotomien.

Tanja Keller danke ich ganz besonders für die Motivation, die Geduld und die liebevolle Unterstützung von der Planung bis zur beendeten Erstellung dieser Arbeit.

Ganz persönlich möchte ich noch meinen Eltern danken, die mich stets motiviert und mit kritischen Fragen in die richtige Richtung unterstützt haben und meinem Bruder Nicolas, der mit seiner filmischen Begabung einen tollen Dokumentarfilm über diese Arbeit erstellt hat.