Aus dem Med. Zentrum für Zahn-Mund und Kieferheilkunde Geschäftsführende Direktorin: Prof. Dr. Heike Korbmacher-Steiner

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Marburg

Effektivität und histologische Auswertung von Gewebeproben nach Bearbeitung mit einem 445nm Halbleiterlaser

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Zahnmedizin dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

> vorgelegt von Moritz Kettner aus Heppenheim

> > Marburg, 2018

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

am: _____

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan:	Prof. Dr. Helmut Schäfer
Referent:	Prof. Dr. Andreas Braun
1. Korreferent:	Prof. Dr. Knabe-Duchyene

Inhaltsverzeichnis

1. Eir	nleitung	1			
1.1	1 Zusammenfassung				
1.2	Abstract	2			
1.3	Einführung	4			
1.4	Geschichte der Laserzahnheilkunde	5			
1.5	Laserphysik Grundlagen	6			
1.5	5.1 Wechselwirkung zwischen Atomen und Photonen	7			
1.5	5.2 Wechselwirkung Laser-Gewebe	8			
2. La:	seranwendung in der Zahnheilkunde	10			
2.1	Diagnostik	10			
2.2	Endodontie	11			
2.3	Parodontologie	12			
2.4	Chirurgie	12			
2.5	Dentin-Hypersensibilität	13			
3. His	stologische Aufbereitung von Gewebe	13			
3.1	Chemischen Bausteine von Gewebe und deren Fixierung	14			
3.2	1.1 Wasser	14			
3. 2	1.2 Proteine	14			
3. 2	1.3 Lipide	15			
3. 2	1.4 Kohlenhydrate	16			
3.2	Alkohol als Fixierungsflüssigkeit	16			
3.3	Einbettung	17			

3.4	Entwässern	18
3.5	Plexiglase in bettung	18
3.6	Trenn-Dünnschliff-Technik	19
3.7	Färben von Schnittpräparaten zur histologischen Auswertung	19
3.8	Kernfärbung	19
3.9	Plasmafärbung	20
4. Fra	agestellung und Hypothese	21
		,
5. Ma	aterial und Methode	22
5.1	Gewebe	22
5. 2	1.1 Histologie der Mundschleimhaut	22
5.2	Hochfrequenz-Chirurgie Gerät	23
5.3	Laser rot (970nm)	24
5.4	Laser Blau (445nm)	26
5.5	Material zur Herstellung von Semi-Dünnschliffen	27
5.5	5. 1 Technovit 7200 VLC/7210 VCL	27
5.5	5. 2 DIAMANT BANDSÄGE EXAKT 300	28
5.5	5. 3 MIKRO SCHLEIFGERÄT EXAKT 400 CS	29
5.6	Versuchsaufbau	29
5.6	6.1 Vorbereitung der Gewebeproben	29
5.6	6. 2 Schnittführung	30
5.6	6. 3 Fixierung der Gewebeproben	33
5.6	6. 4 Einbetten in Technovit 7200VLC	33
5.6	6.5 Anfertigen von Semidünnschliffpräparaten	33
5.6	6.6 Färbung	35

5.	6.7	Digitalisieren	37
5.	6.8	Auswertung	37
5.7	Statis	stik	38
6. Er	gebni	sse	. 40
6.1	Schn	ittparameter	40
6.	1.1	Schnitttiefe	40
6.	1.2	Schnittbreite	41
6.	1.3	Schnittfläche	42
6.2	Gewe	ebeveränderung	43
6.	2.1	Nekrosetiefe	43
6.	2.2	Nekrosefläche	44
7. Di	iskussi	on	. 45
7.1	Disku	ussion der Methodik	45
7.2	Disku	ussion der Ergebnisse	46
7.3	Klinis	sche Relevanz	47
7.4	Ausb	lick	49
8. Ai	nhang		. 50
8.1	Vorve	ersuche	50
8.	1.1	Versuch: Laser auf Restaurationsmaterialien	50
8.	1.2	Versuch 445nm und 970nm Laser auf Zahn, Knochen, Kera	amik
ur	nd Kom	posit	52
8.	1.3	Detallierte Ergebnis-Tabellen	65
9. Al	obildu	ngsverzeichnis	81

10. Tabellenverzeichnis	. 85
11. Literaturverzeichnis	. 87
12. Tabellarischer Lebenslauf	. 94
13. Verzeichnis der Hochschullehrer	. 95
14. Danksagung	. 96
15. Ehrenwörtliche Erklärung	. 97

1. Einleitung

1.1 Zusammenfassung

Bei Gewebeinzisionen mit einem 445nm Halbleiterlaser wird eine effektive Schnittführung mit räumlich begrenzter Hitzewirkung beschrieben. Daher war das Ziel der vorliegenden Studie die histologische Beurteilung von Gewebeproben nach Inzision mit einem 445nm Diodenlaser.

Vierzig Mukosalappen aus dem Vestibulum von zwanzig Schweinekiefern wurden präpariert, die anschließend auf den Träger einer mechanischen Lineareinheit gespannt wurden. Das Handstück eines HF-Chirurgie-Geräts, 970nm- und 445nm Halbleiterlasers wurde auf dem Verfahrschlitten der Lineareinheit befestigt, so dass alle Gewebeinzisionen mit gleicher Geschwindigkeit und im gleichen Abstand von der Gewebeoberfläche durchgeführt werden konnten. Auf den jeweils zwei Mukosalappen eines Kiefers wurden acht Inzisionen durchgeführt: (I-III): 445nm Laser ohne konditionierte Spitze, 90°, mit Gewebekontakt bei 1, 2 und 4W, (IV-V): 445nm Laser ohne konditionierte Spitze, 90°, ohne Kontakt (1mm) zum Gewebe bei 2 und 4W cw, (VI): 445nm Laser ohne konditionierte Spitze, 45°, mit Kontakt zum Gewebe bei 2W cw, (VII): 970nm Laser mit konditionierter Spitze, 90°, mit Gewebekontakt bei 3W cw, (VIII): HF-Chirurgie-Gerät mit gerader Spitze, 90°, mit Gewebekontakt bei 50W. Die histologische Auswertung erfolgte nach H.E.-Färbung der eingebetteten Präparate bei 35facher Vergrößerung.

Der Vergleich der Inzisionstiefen zeigte einen signifikanten Unterschied in Abhängigkeit von der Laserwellenlänge und den gewählten Laserparametern. Dabei konnte die größte Inzisionstiefe mit dem 445nm Laser im direkten Gewebekontakt mit einer Leistungseinstellung von 2W erreicht werden (p<0,05). Die geringste Inzisionstiefe wurde nach Verwendung des HF-Chirurgie-Geräts gemessen. Bei Verwendung eines 445nm Halbleiterlasers kann im Vergleich zu einem 970nm Diodenlaser und einem Elektrotom mit einer höheren Schneideffizienz gerechnet werden. Auch eine Anwendung im Nicht-Kontakt-Modus zeigt klinisch akzeptable Inzisionstiefen ohne Anzeichen ausgedehnter Nekrosezonen.

1.2 Abstract

When using a 445nm semiconductor laser for incisions precise cutting lines and a moderate, local heat exposure is described. Therefor the purpose of this study was the histologic observation of tissue examples after the incision with a 445nm diode laser.

Forty mucosal flaps from the oral vestibule of twenty pig jaws were dissected to be mounted on a mechanical linear unit. The hand piece of a high frequency electrosurgical unit, 970nm diode laser and 445nm diode laser where mounted on the slide of the linear unit. Therefore, all incisions could be operated with the same speed and distance to the tissue surface. Eight incisions where performed on each of the two mucosal flaps from one jaw: (I-III): 445nm Laser without blackened tip, 90° in tissue contact at 1, 2, and 4W cw, (IV-V): 445nm Laser without blackened tip, without tissue contact (1mm) at 2 and 4W cw, (VI): 445nm Laser without blackened tip, 45° in tissue contact at 2W cw, (VII): 970nm Laser with blackened tip, 90°, in tissue contact at 3W cw, (VIII): High frequency electrosurgical unit with a straight tip, 90°, in tissue contact at 50W. The histological analysis took place after HE-staining of the embedded specimen at a 35-fold magnification.

Comparing the depth of the incisions, a significant difference depending on wavelength and chosen parameter setup could be observed. The highest depth was seen with the 445nm Laser in tissue contact at 2W cw (p<0.05). The lowest depth was measured after using the HF electrosurgical unit.

Using a 445nm semiconductor laser, a higher cutting efficiency compared to a 970nm diode laser and a HF-electrosurgical unit can be expected. Also the non-contact-mode shows acceptable clinical incision depth without signs of extensive necrosis.

1.3 Einführung

Die Notwendigkeit, Schnitte in der Mundschleimhaut zu setzen kann verschieden Gründe haben. So sind beispielsweise die Entnahme von auffälligen Gewebsveränderungen (z.B. Fibrom, Papillom) zur histologischen Tumorabklärung oder der Gewebeabtrag, um tief subgingival liegende Präparationsgrenzen freizulegen, rechtfertigende Indikationen.

Da das Zahnfleisch gut durchblutet und mit vielen sensorischen Nervenendigungen und Mechanorezeptoren versehen ist, sollte vor chirurgischen Eingriffen lokal anästhesiert werden. Adrenalinzusatz in geeigneten Präparaten führt durch Vasokonstriktion zu verringerter Einblutung in das Operationsfeld (Bock et al. 1955), eine komplette Blutstillung wird allerdings nicht erreicht. Um dies zu gewährleisten, können die durch den Schnitt lädierten Blutgefäße kauterisiert, das heißt durch Hitzeeinwirkung verschlossen werden. Geeignete Geräte hierzu sind beispielsweise Hochfrequenz-Chirurgie-Geräte oder Elektrokauter.

Seit etwa 20 Jahren besteht auf dem Markt eine weitere Produktgruppe, die dem klassischen Skalpell Konkurrenz bieten soll: Lasersysteme, die durch Emission gebündelten Lichts in Gewebe schneiden und zeitgleich Gefäße koagulieren (Romanos et al. 2009; Gorisch et al. 1982). Da ihre Schneidleistung auf thermischer Reaktion des Gewebes durch Absorption der Laserstrahlung basiert, kann es bei zu hoher Hitzeentwicklung zur Karbonisierung von Zellen und Nekrosen um den Schnittbereich kommen (Ansari et al. 2013), ein Phänomen, das auch bei Hochfrequenz-Chirurgie-Geräten zu beobachten ist. Diese Arbeit soll die Vor- und Nachteile in Effektivität und Nekrose-Entwicklung eines 445nm Lasers mit einem 970nm Laser und einem Hochfrequenz-Chirurgie-Gerät vergleichen.

1.4 Geschichte der Laserzahnheilkunde

Die Formulierung der theoretischen Grundlagen des Lasers liegt über ein ganzes Jahrhundert zurück. Max Planck arbeitete von 1894 bis 1900 an der Herleitung des Strahlungsgesetzes und beschrieb darin die Verteilung elektromagnetischer Energie der thermischen Strahlung eines schwarzen Körpers (Planck 1900). Diese Herleitung des Strahlengesetzes gilt heute als Geburtsstunde der Quantenphysik. 1905 wurde die Planck'sche Quantentheorie durch Albert Einstein um die Hypothese der Lichtquanten, also den photoelektrischen Effekt ergänzt (Einstein 1905).

1916 postulierte Einstein die theoretischen Grundlagen der Lichtverstärkung durch erzwungene Aussendung (stimulierte Emission), die 1928 von Rudolph Ladenburg und Hans Kopfermann experimentell bestätigt wurden. 1957 gab der US-Physiker Gordon Gould dem Laser in Anlehnung an seinen Effekt seinen Namen. Das Prinzip der "Light <u>Amplification by Stimulated Emission of Radiation" diente den Physikern Arthur Schawlow und</u> Charles Townes als Grundlage zur Entwicklung des Masers (<u>Microwave</u> <u>Amplification by Stimulated Emission of Radiation</u>).

1960 wurde der erste Laser, ein Rubinlaser von Theodor Maiman, gebaut. Ein Jahr später (1961) wurde in Amerika ein Rubinlaser erstmals in der Augenheilkunde eingesetzt. Der Laser entwickelte sich zum Lichtskalpell, das in der Chirurgie das minimalinvasive Arbeiten ermöglicht.

1962 wurde in den USA der Halbleiterlaser entwickelt; es gelang aber erst in den 1980er Jahren, Laserdioden in Glasfasern zu übertragen und somit für die breite medizinische Anwendung interessant zu werden.

Der erste Kongress der "International Society of Laser Dentistry" (ISLD), die seit 2006 "The World Federation for Laser Dentistry" (WFLD) heißt, wurde 1988 in Tokio abgehalten. Drei Jahre später wurde die Deutsche Gesellschaft für Laserzahnheilkunde e.V. (DGL) gegründet.

1.5 Laserphysik Grundlagen

Ein Laser besteht prinzipiell aus drei Bauteilen: Einer Energiepumpe, einem aktiven Medium und einem Resonator. Die Energiepumpe kann beispielsweise eine Lichtquelle sein, die Energie in Form von Photonen in das aus erregbaren Atomen bestehende Medium strahlt. Der Resonator ist eine Spiegelanordnung, die dafür sorgt, das Licht möglichst oft zu reflektieren und den Laserstrahl zu formen. Das aktive Medium ist je nach Art des Lasers entweder ein Gasgemisch (Gaslaser) oder ein Kristall (Festkörperlaser). Abbildung 1 zeigt diesen Aufbau schematisch.



Abbildung 1: schematischer Laseraufbau

Eine besondere Form der Festkörperlaser sind die Dioden- oder Halbleiterlaser. Sie besitzen keinen Resonator, denn das Lasermedium besteht aus einem Halbleiterchip. Dieser besteht wie alle Halbleiter aus einer pdotierten und einer n-dotierten Schicht, an deren Grenzschicht zueinander die Laserstrahlen erzeugt werden. Hierbei ist der Vorteil, dass keine Blitzlampe zur optischen Erregung des Lasermediums benötigt wird, sondern das Laserelement direkt mit elektrischem Strom angeregt wird. Resultat ist ein sehr hoher Wirkungsgrad (ca. 35%; Vgl.: YAG-Laser: ca. 1–5%) (Kneubühl 2009), weshalb keine großen Kühlelemente benötigt werden und eine kompakte Bauweise möglich ist. LASER steht kurz für Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation. Dieses Akronym ergibt sich aus dem wichtigsten Merkmal von Laserlicht im Vergleich zu konventionellen Lichtquellen. Induzierte Emission wird im Englischen als "stimulated emission" übersetzt. Diese Lichtverstärkung durch stimulierte Emission ist nur bei Laserlicht zu finden, wohingegen konventionelle Lichtquellen stets auf der spontanen Emission von Licht beruhen. Emission (von lateinisch emittere "herausschicken, senden") bedeutet in diesem Fall das Aussenden von elektromagnetischen Wellen.

1. 5. 1 Wechselwirkung zwischen Atomen und Photonen

Trifft Licht auf ein Atom, lassen sich drei Wechselwirkungen zwischen Atomen und Photonen zusammenfassen:

1. Absorption:

Wird ein Atom von einem Photon getroffen, ist es möglich, dass es dessen gesamte Energie aufnimmt. Durch die aufgenommene (=absorbierte) Energie geht das Atom in einen Zustand höherer Energie über. Dieser Zustand wird "angeregter Zustand" genannt.

2. Stimulierte Emission:

Bei der stimulierten Emission wird im einfachsten Fall ein Atom durch Energiezufuhr (im speziellen Fall durch die Absorption von Licht aus der Lichtquelle im Laser) in einen angeregten Zustand überführt. Wenn nun ein weiteres Photon auf das bereits angeregte Atom trifft, ist dieses gezwungen, wieder in den energieärmeren Zustand zu fallen und die Energie in Form von zwei Photonen abzugeben. Diese sind in Phase, Richtung und Polarisation mit der einfallenden Lichtwelle identisch. Das einfallende Licht wird dadurch verstärkt.

3. Spontane Emission:

Die spontane Emission läuft ohne äußere Einwirkung ab. Atome im angeregten Zustand geben ihre Energie (das Photon) willkürlich ab und gehen so in ihren Grundzustand zurück.

Die freigesetzte Energie entspricht genau der Differenz zwischen dem Atom im Normalzustand und Atom im angeregten Zustand.

Durch die Spiegel wird der Lichtstrahl, der durch das optische Medium strahlt, reflektiert. Die Wahrscheinlichkeit der Wechselwirkung, zwischen Photonen und Atomen zu reagieren, wird erhöht und es erfolgen vermehrt stimulierte Emissionen. Durch den nicht zu 100% reflektierenden Spiegel tritt ein Teil der erzeugten amplifizierten Strahlung aus, wird gebündelt und verlässt das System als Laserstrahl (Lange 1994; Donges 1988)^{*}.

1. 5. 2 Wechselwirkung Laser-Gewebe

Trifft ein Laserstrahl auf Gewebe, so können vier verschiedene Wechselwirkungen eintreten: Reflexion, Transmission, Absorption und Streuung (Ansari et al. 2011) (Abb. 2).

1. Reflexion:

Der Lichtstrahl wird an der Gewebeoberfläche abgelenkt und tritt nicht in das Gewebe ein. Diese Wirkung kann an Oberflächen oder an Gewebegrenzen entstehen (Bsp.: Schmelzoberfläche, Schmelz-Dentin Grenze).

2. Transmission:

Der Lichtstrahl setzt sich über bestehende Gewebegrenzen hinweg und gelangt in tiefer liegende Strukturen.

3. Absorption:

Der Lichtstrahl interagiert direkt mit einzelnen Atomen oder Molekülen, die die Energie des Lichtes aufnehmen. Auf diese Weise wird elektrochemische Energie in Wärmeenergie umgewandelt (Dederich 1993; Frentzen et al. 1991).

8

4. Streuung:

Im Rahmen der Absorption kommt es durch die Wechselwirkung bzw. den direkten Zusammenhang von Molekülen und Atomen in Form von Zellen oder intrazellulären Strukturen zur Streuung. Das Ausmaß der Streuung steht mit dem Grad der Absorption in antiproportionalem Zusammenhang. Wird viel Energie absorbiert, ist die Streuung gering. Durch die Streuung wird das gebündelte Licht auf eine größere Fläche verteilt und wird dadurch in seiner Energie geschwächt. Resultat ist eine verringerte thermische Wirkung. Abbildung 2 zeigt diese Wechselwirkungen schematisch



Abbildung 2: Wechselwirkung zwischen Laser und Materie. Quelle: Sirona Dental Systems GmbH

Welche Wechselwirkung stattfindet, ist von den Materialeigenschaften des bestrahlten Gewebes abhängig. Soll das Gewebe bearbeitet werden, muss das Licht absorbiert werden, da reflektierte oder transmittierte Strahlung an getroffener Stelle nicht energetisch wirksam ist. Jedes Gewebe hat ein eigenes Absorptionsspektrum, das sich aus der Zusammensetzung seiner zellulären Bestandteile ergibt. Um eine effektive Bearbeitungsleistung zu erzielen, muss die Wellenlänge des Lasers an die zu bearbeitende Oberfläche angepasst werden. Abbildung 3 zeigt die Absorptionskoeffizienten von Hämoglobin, Melanin und Wasser in Abhängigkeit unterschiedlicher Wellenlängen.

Wird Laserlicht absorbiert, erfolgt die Umwandlung von elektromechanischer in thermische Energie. Wird hierbei der Siedepunkt des bestrahlten Gewebes überschritten, kommt es zur Verdampfung von Zellen und somit zu einer Schneidleistung des Lasers. Wird die Temperatur weiter erhöht, karbonisiert das betroffene Gewebe, es verkohlt durch chemische Zersetzung.



Abbildung 3: Absorptionskoeffizient in Abhängigkeit der Wellenlänge von Hämoglobin, Melanin und Wasser. Quelle: Braun et al. 2015

2. Laseranwendung in der Zahnheilkunde

Je nach genutzter Wellenlänge und Intensität der Laserstrahlung können Laser in unterschiedlichen Teilgebieten der Zahnmedizin genutzt werden.

2.1 Diagnostik

Mit Hilfe der Laserfluoreszenztechnik können kariöse Läsionen detektiert und qualifiziert werden. Das Prinzip der Messung beruht auf den unterschiedlichen Fluoreszenzeigenschaften von gesunder Zahnhartsubstanz im Vergleich zu kariös verändertem Gewebe. Es gibt verschieden Geräte von unterschiedlichen Herstellern auf dem Markt. Das System Diagnodent der Firma KaVo (Biberach) beispielsweise arbeitet mit einer Wellenlänge von 655nm bei einer Ausgangsleistung von 1mV. Eine Lasersonde strahlt Licht in das getroffene Gewebe, welches dadurch angeregt wird. Die zugeführte Energie wird auf verschiedenen Wegen abgebaut (Absorption, Reflexion, Transmission). Die gleiche Sonde ist in der Lage, die im Gewebe entstandenen Fluoreszenzen zu erfassen und zu qualifizieren (Skala 0-99). Dieser Wert wird auf dem Display des Gerätes angezeigt und ist gleichzeitig durch ein akustisches Signal unterschiedlicher Tonhöhe wahrnehmbar (Momeni et al. 2006; Kühnisch et al. 2007).

2.2 Endodontie

Die Endodontie ist ein Teilgebiet der Zahnerhaltungskunde, das sich hauptsächlich mit Erkrankungen des Zahnnervs und dem apikalen Gewebe befasst. Entzündet sich der Nerv eines Zahnes (die Pulpa) durch äußere Einflüsse, wie z.B. thermische, chemische oder mechanische Reize, durch kariöse bis zur Pulpa reichende Läsionen oder Frakturen des Zahnes chronisch, muss der Nerv des Zahnes entfernt und durch ein geeignetes Material substituiert werden. Der Misserfolg einer endodontischen Behandlung ist meist auf eine unzureichende Keimreduktion im Wurzelkanal zurückzuführen (Koçkapan 2003; Sjögren et al. 1997). Eine Eliminierung der Keime im Wurzelkanalsystem wird durch chemomechanische Aufbereitung des Zahninnenraumes erreicht, die eine Keimreduktion um über 95% erzielen kann (Blome et al. 2008). Additional zu diesem Procedere können Diodenlaser eingesetzt werden, die durch thermische Effekte eine weitere antibakterielle Wirkung haben. Es wird eine Wellenlänge von 980nm als effektiv beschrieben (Gutknecht et al. 2004).

2.3 Parodontologie

Ein Ziel der systematischen Parodontitistherapie ist es, bakterielle Beläge von tief unter dem Zahnfleisch liegenden Wurzeloberflächen zu entfernen, um ein Abheilen von entzündlichen Prozessen des Zahnhalteapparates zu gewährleisten. Konventionell erfolgt dies durch offene oder geschlossene Kürettage mit Handscalern, Küretten oder Schall-/Ultraschallscalern. Der adjuvante Einsatz von Lasersystemen beruht auf thermischer oder athermischer (=photodynamischer) Keimreduktion im Parodontalraum (Braun et al. 2008). So kann das Hinzuführen von Laserenergie vor Ultraschalleinsatz eine Bakteriämie verhindern oder nach dem konventionellen Reinigen der Wurzeloberflächen eine zusätzliche Keimreduktion bewirken (Assaf et al. 2007). Hierfür werden unter anderem Lasersysteme mit 980nm empfohlen (Caruso et al. 2008). Es ist zu beachten, dass die Lasereinstellung bei solchen Behandlungen mit großer Vorsicht gewählt werden muss, da ein Einblick in das direkte Arbeitsfeld nicht möglich ist.

2.4 Chirurgie

Bei der Laseranwendung auf dem Gebiet der Chirurgie kommt vor allem das Schneiden von Gewebe mit gleichzeitigem Koagulieren von Gefäßen und reduziertem Bakteriämierisiko im Schnittbereich als Vorteil gegenüber dem Skalpell zum Tragen (Lopes et al. 2010; Kneubühl et al. 2008). Als Anwendungsbereich wird unter anderem das Entfernen von pathologisch verändertem Gewebe (Vescovi et al. 2010), Biopsien, Gingivektomien (Soares et al. 2009) und Frenektomien (Haytac et al. 2006) beschrieben. Für diese Techniken stehen z.B. Diodenlaser, CO2 Laser oder Nd:YAG Laser zur Verfügung.

Zur Exzision von benignen Mundschleimhaut-Tumoren oder prämalignen Läsionen (z.B. Leukoplakie) ist die Therapie mit CO2 Lasern eine geeignete Methode. Sie bietet gegenüber konventionellen Behandlungsformen zahlreiche Vorteile (Abt et al. 1987; Apfelberg et al. 1985; Frame 1992; Horch 1985, 1991; Pick 1993).

2.5 Dentin-Hypersensibilität

Im gesunden Gebiss sind die in die Mundhöhle ragenden Zahnkronenanteile mit Zahnschmelz überzogen, die Wurzelanteile werden von Wurzelzement bedeckt. Darunter liegt das sensible Dentin. Wird durch Erosion, Abrasion, Rezessionen oder Habbits das Dentin freigelegt, kann es zu Hypersensibilitäten kommen (Petersson 2012). Das Dentin enthält mit Flüssigkeit (Dentinliquor) gefüllte Dentintubuli, die von der Pulpa zentrifugal zur Schmelz-Dentin-Grenze laufen. Nach der Theorie von Brännström (1963) kommt es durch chemische oder mechanische Reize zu einer Änderung der Flüssigkeitsdichte in den Dentintubuli (Expansion bei Hitze oder Kontraktion bei Kälte), die eine Weiterleitung über die Odontoblastenfortsätze zu in direkter Nachbarschaft liegenden freien Nervenendigungen bewirkt (Brännström 1963). Der empfundene Reiz wird von Patienten als kurz, heftig und scharf beschrieben (Umberto et al. 2012; Asnaahari et al. 2013)⁷. Der Effekt der Lasertherapie beruht wahrscheinlich auf einem Verschweißen der Dentintubuli (Kantola et al. 1973; Morlock et al. 1992; Nelson et al. 1987; Renton-Harper et al. 1992; Walsh et al. 1989). Zur Schädigung der Pulpa soll es hierbei bei korrekter Anwendung der Lasersysteme nicht kommen (Yonaga et al. 1999).

3. Histologische Aufbereitung von Gewebe

Um Gewebe unter dem Mikroskop beurteilen zu können, muss es in seinem derzeitigen Zustand fixiert, auf einen Objektträger gebracht, dünn geschnitten und gefärbt werden. Das folgende Kapitel beschreibt die Notwendigkeit dieser Arbeitsschritte und umreißt die Komplexität des Themas.

3.1 Chemischen Bausteine von Gewebe und deren Fixierung

Jeder Organismus ist aus organischen und anorganischen Bestandteilen aufgebaut, wobei die anorganischen Bestandteile nach Zahl und Konzentration den geringeren Bestandteil ausmachen (Bruck 1973). Ziel der histologischen Fixierung ist es, ein statisches Bild der dynamisch im Gewebe ablaufenden Prozesse festzuhalten (fixus: unveränderlich, fest). Hierbei muss der Ab- und Umbau aller in der Zelle vorhandenen Stoffe verhindert werden.

3.1.1 Wasser

Dem Wasser kommt im Organismus eine besonders wichtige Rolle zu, da in ihm alle Stoffe transportiert werden und alle Reaktionen ablaufen. Zwar ist die durchschnittliche Wasserkonzentration in den unterschiedlichen Organen sehr verschieden, in Geweben derselben Art jedoch ziemlich konstant. Wasser ist mit histologischen Methoden nicht direkt nachweisbar. Es ist nicht färbbar, man kann es nicht fixieren und es lässt sich bei Zimmertemperatur nicht schneiden. Bei der Fixierung von Geweben wird es dem Präparat entzogen. Es lässt sich nur durch zuverlässige Hinweise (z.B. optisch leere Hohlräume) auf seine Anwesenheit schließen.

3. 1. 2 Proteine

Proteine (Eiweiße) sind in Funktion, Form und Fixierbarkeit sehr komplex. Sie stehen in enger struktureller Verbindung zu Enzymen und Hormonen, stellen die wesentliche strukturelle Grundlage des Zellbaus dar und sind auf Grund ihrer Verbrennbarkeit Teil des Energiestoffwechsels. Die tierischen Proteine sind aus etwa 20 verschiedenen Aminosäuren aufgebaut, die auf Grund ihrer Reihenfolge zu einer Vielzahl an verschiedenen Proteinen zusammengelagert werden können. Die Verbindungen dieser Proteinuntereinheiten zueinander und zu umliegenden Strukturen wie Wasser (Wasserstoffbrückenbindungen, kovalente Bindungen, elektrostatische Kräfte, Van der Waals Kräfte, hydrophobe Bindungen und koordinative Bindungen) sind Grund für die Schwierigkeit ihrer Fixierung. Die gängige Methode ist es, die Eiweißmoleküle zu denaturieren. Hierbei wird in die Helix-Struktur der Proteine eingegriffen, wobei die Anordnung der Aminosäuren (Primärstruktur) nicht verändert wird, die Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur jedoch aufgelöst wird. Dieser Vorgang führt das Protein im Vergleich zu seiner nativen (ursprünglichen) Konfiguration in eine thermodynamisch stabilere Form. Die Denaturierung kann durch Substanzen geschehen, die an das Eiweiß binden und verbraucht werden (*Formalin-Typ* der Fixierung) oder durch Substanzen die zur Denaturierung lediglich den Anstoß geben (*Alkohol-typ, Salz-* und *Säuretyp* der Fixierung).

3. 1. 3 Lipide

Als Lipide fasst man die Stoffe zusammen, die in Pyridin, Benzin, Benzol Äther, Aceton oder Tetrachlorkohlenstoff löslich sind. Dies ist auf ihre geringe Polarität zurückzuführen (lipophil). Lipide sind wegen ihrer langen Kohlenwasserstoffreste wasserunlöslich (hydrophob). Fette nennt man nach strengerer Definition nur die Neutralfette, die von den anderen Fettarten, den Lipoiden, abgegrenzt werden. Neutralfette setzten sich aus dem Stoff Glycerin und an dessen drei OH-Gruppen gelagerte Fettsäurereste (Kohlenwasserstoffketten mit endständiger Karboxylgruppe (C_nH_{2n+1} -COOH)) zusammen. Sie sind die Hauptstrukturkomponente der Zellmembran, dienen als Energiespeicher und haben Funktionen als Signalmoleküle. Ihre Fixierung kann nur durch die Änderung ihres chemischen Aufbaus erzielt werden, da Lipide über keine zusätzliche Raumordnung verfügen. Dies wird entweder durch Oxidation, möglichst ohne Spaltung, mit daraus resultierender geringerer Löslichkeit oder durch erzwungene unlösliche Salzbildung erzielt.

3. 1. 4 Kohlenhydrate

Der Name Kohlenhydrat ergibt sich aus der für Zucker charakteristischen chemischen Zusammensetzung. Jeweils ein Kohlenstoff (C) Atom kommt auf Wasserstoff- und Sauerstoffatome im gleichen Verhältnis wie im Wasser (H₂O). Daraus ergibt sich die Summenformel: $C_n[H_2O]_n$. Ihre chemische Definition ist: Einfach oxidierte Ployalkohole. Je nach Anzahl der Kohlenstoffatome unterscheidet man Triosen (3-C-Atome), Pentosen (5-C-Atome), Hexosen (6-C-Atome), und Heptosen (7-C-Atome). Zu den Hexosen zählt zum Beispiel die Glucose, welche den Brennstoff zur zellulären Energieproduktion darstellt.

Die Fixierung von niedermolekularen Kohlehydraten ist praktisch nicht möglich, da der Zucker mit der Fixierungsflüssigkeit in Lösung geht. Höher molekulare Kohlenhydrate können durch eine fixierte Eiweißumgebung zunächst umschlossen werden ("trapping"), diffundieren aber anschließend langsam aus dem Gewebe. An Proteine gebundene Zucker (Glykoproteine) werden über ihren Proteinanteil fixiert. Es muss während der Fixierung zum Zweck des Kohlenhydratnachweises auf längeres Lagern der Proben in wässrigen Lösungen verzichtet werden. Vor der Färbung in wässrigen Farbstofflösungen empfiehlt es sich, die Schnitte mit einem Celloidinhäutchen zu überziehen, um so die gefällte Substanz im Präparat zurückzuhalten.

3.2 Alkohol als Fixierungsflüssigkeit

In der Regel wird zum Fixieren von Gewebepräparaten Ethylalkohol (CH₃-CH₂OH) benutzt. Ethanol ist klar, farblos, flüchtig und brennbar. Er entfaltet seine stärkste Wirkung in 96%iger (handelsüblich) oder 100%iger (absolut) Lösung. Bei diesen Konzentrationen besteht (vor allem bei größeren Gewebestücken) jedoch die Gefahr, dass eine verhärtete Außenschale am Gewebeblock entsteht, die ein Eindringen des Alkohols in tiefer liegende Gewebeschichten verhindert. Es ist daher ratsam, eine 70%ige Alkohollösung zu verwenden, da diese einen guten Kompromiss zwischen optimalem Wasserentzug und optimalem Durchdringen verspricht. Da Wasser schwerer ist also Alkohol, setzt sich dieser am Gefäßboden ab, weshalb sich die Fixierung auf einem Schüttler empfiehlt. Es ist zu erwähnen, dass handelsüblicher, unverzollter Alkohol vergällt (Zugabe von Petrolbenzin) und daher giftig ist. Bei Spezialkernfärbungen kann diese "Verunreinigung" das gewünschte Resultat vereiteln.

Alkohol fällt Proteine und Glykogen schnell, wobei sie wasserlöslich bleiben. Hämoglobin wird langsam, Lipide werden schnell gelöst. Trotz der bei Alkoholfixierungen auftretenden Schrumpfung und Härtung des Gewebes, sind die Resultate gut.

Andere Fixierungsmittel sind beispielsweise Aceton (CH₃-CO-CH₃), Sublimat (HgCl₂), Kaliumbichromat (K₂Cr₂O₇) oder Formalin (HCHO) auf deren Eigenschaften und Wirkung an dieser Stelle nicht eingegangen werden soll. Es ist jedoch zu erwähnen, dass diese Fixierungsmittel nach abgeschlossener Fixierung aus dem Gewebe ausgewaschen werden müssen, um eine ungünstige Beeinflussung der im Gewebe verbliebenen Fixierungssubstanzen auf die anschließende Färbung oder Einbettung auszuschließen. Hierzu wird je nach Fixierungsmittel Alkohol in verschiedener Konzentration oder Leitungswasser verwendet.

3.3 Einbettung

Das Einbetten beschreibt den Vorgang, Gewebe mit einem flüssigen Stoff zu durchtränken, der sich in eine feste, homogene Phase umwandelt, um somit eine für dünne Schnitte notwendige Härte und Stabilität der Probe zu bekommen. Das Einbettmittel kann sich in Hohlräumen ablagern, oder aber in Bereichen, denen im Rahmen der Aufbereitung zum Beispiel Wasser entzogen wurde.

3.4 Entwässern

Einbettmittel wie Paraffin, Celloidin oder Kunstharze sind wasserunlöslich, weshalb es nötig ist, das einzubettende Gewebe zu entwässern und das Gewebswasser durch das Lösungsmittel des Einbettstoffes zu ersetzten. Erst danach kann das Lösungsmittel mit dem Einbettungsmittel gesättigt und durch dieses ersetzt werden. Die Entwässerung des Gewebes erfolgt mit organischen Lösungsmitteln mit großer Affinität zu Wasser. Hierbei eignen sich Ethylalkohollösungen mit steigender Konzentration (aufsteigende Alkoholreihe). Die Konzentrationen, beginnend mit 70%iger Alkohollösung werden in mehreren Schritten auf 96-100%ige Lösungen gesteigert. Die Verweildauer des Gewebes in den einzelnen Lösungen richtet sich individuell nach Wassergehalt und Größe der Gewebeprobe.

3.5 Plexiglaseinbettung

Das Prinzip der Einbettung in Kunstharze basiert auf der Polymerisation eines niedermolekularen Stoffes zu einer durchsichtigen, festen Substanz. Dieser Methode muss eine gründliche Entwässerung des Gewebes vorausgehen da die Monomere von Kunstharzen wasserunlöslich sind. In der Regel wird das zu Plexiglas polymerisierende Methylmethacrylat verwendet. Da reines Plexiglas (Polymethylmethacrylat) zu hart wird, stellt man Mischungen mit Butylmethacrylat her. Um den Polymerisationsvorgang der Monomere zu initiieren, wird dem Methacrylat Benzoylperoxid (0,2%) zugesetzt, wovon das Benzoyl in die Reaktion eingeht.

Das Resultat der Einbettung ist eine mit Kunstharz durchtränkte, sehr feste Gewebeprobe, die anschließend per Dünnschnitt- oder Dünnschlifftechnik auf extrem dünne Präparatstärken gebracht werden kann. Neben diesem Verfahren besteht die Möglichkeit der Paraffineinbettung, zur Einbettung in Celloidin (dem Dinitrat der Zellulose), in Gelatine oder Carbowachs.

3.6 Trenn-Dünnschliff-Technik

Die Trenn-Dünnschliff-Technik ist eine Methode zum gezielten Zerteilen und Aufbereiten empfindlicher Präparate. Die beispielsweise in Kunstharz eingebetteten Gewebeproben werden auf einen Objektträger geklebt, unter Wasserkühlung mit einer diamantierten Bandsäge auf eine Schichtstärke von etwa 500µm geschnitten und im Anschluss unter einem Präzisionsschleifgerät mit Schleifpapier unterschiedlicher Körnung auf bis zu 100µm dünn geschliffen und poliert. Dieses Verfahren stellt eine Alternative zur Mikrotomschnitttechnik dar.

3.7 Färben von Schnittpräparaten zur histologischen Auswertung

Dem naturbelassenen Präparat fehlt es meist an Kontrast, um eine adäquate histologische Auswertung zu gewährleisten. Es wirkt gräulich weiß und lässt keine genaue Beurteilung einzelner Zellbestandteile zu. Um dieses Problem zu überwinden, macht man sich die Eigenschaft verschiedener Zell- und Gewebsanteile an bestimmte Farbstoffe mit unterschiedlicher Intensität zu binden zu Nutze. Das bedeutet, dass jede Struktur im Gewebe eine andere Affinität zu Farbstoffen unterschiedlicher Art hat.

3.8 Kernfärbung

Die Färbbarkeit des Zellkernes basiert auf der negativen Ladung der DNS Phosphatgruppen (Chromatin). Kernfarbstoffe mit positiver Ladung und daher basischem Charakter werden aufgrund Ihrer Ladungseigenschaften daran gebunden. Als den am meisten benutzten Kernfarbstoff ist das Hämatoxylin zu nennen. Es handelt sich um einen natürlichen, durch Etherextraktion aus Blauholz (Haematoxylon campechianum) gewonnenen Pflanzenfarbstoff. Hämatoxylin ist zunächst farblos und wird durch Oxydation in Hämatein überführt. Dieser Schritt wird in der umgangssprachlichen Nomenklatur vernachlässigt. Hämatein ist ein leicht saurer Farbstoff mit rötlich-gelber Farbe ohne färbenden Nutzen. Um diese Eigenschaft zu entfalten, muss das Hämatein mit mehrwertigen in Alaunsalzen vorliegende Metall-Kationen (z.B. Eisen(Fe³⁺), Aluminium(Al³⁺)) zu Farbstoffkomplexen in Reaktion gebracht werden (Beizen). Die hierbei entstandenen stark positiv geladenen Verbindungen werden als Alaun-Hämatoxyline (=Hämalaune) bezeichnet. Die charakteristische blaue Farbe des Hämalauns tritt bei einem pH-Wert über 3 ein. Unter pH=3 erscheint die Färbelösung rot-braun.

Weitere gängige Substanzen für die Kernfärbung sind Karmin, Fuchsin, Safranin und Kernechtrot.

3.9 Plasmafärbung

Ziel der Plasmafärbung ist es, einen Kontrast zur Färbung der Zellkerne herzustellen. Das hierzu am häufigsten genutzte Präparat ist das Eosin. Dieser schwach saure Farbstoff besitzt vier Brommoleküle und wird in 0,1%igen Lösungen verwendet. Es färbt das Plasma in kräftigem Rot, was mit einem Tropfen Eisessig auf 100ml Lösung noch verstärkt werden kann. Tauscht man die Brom-Atome des Eosinmoleküls gegen Jod-Atome aus, erhält man Erythrosin (B). Dieser Farbstoff wird hauptsächlich in Kombination mit Hämatoxylin zur Übersicht H.E.-Färbung benutzt.

Ein anderes gängiges Färbemittel zur Kolorierung des Zellplasmas ist Orange G, das an Tyrosin und Tryptophan der Plasmaproteine bindet.

4. Fragestellung und Hypothese

Bei Gewebeinzisionen mit einem 445nm Halbleiterlaser wird eine effektive Schnittführung mit räumlich begrenzter Hitzewirkung beschrieben. Daher ist das Ziel der vorliegenden Studie, die histologische Beurteilung von Gewebeproben nach Inzision mit einem 445nm Diodenlaser. Es sollen Schnitttiefe, Schnittbreite, Schnittfläche, sowie die Nekrose um den Schnitt in Breite und Fläche unter verschiedenen Parametereinstellungen (in Ausgangsleistung und Abstand zum Gewebe) beurteilt werden. Als Referenz dienen ein 970nm Diodenlaser und ein Hochfrequenz-Chirurgie-Gerät. Es wird verglichen, inwieweit der 445nm Diodenlaser diesen Systemen tatsächlich überlegen ist.

Um dieser Fragestellung nachzugehen, sollen die folgenden Hypothesen überprüft werden:

1. Die Inzisionstiefe mit einem 445nm Laser ist bei geringerer Energieleistung größer als mit einem 970nm Laser

2. Die bei der Inzision mit einem 445nm Laser entstehende Nekrose um den Schnitt ist bei gleicher Ausgangsleistung kleiner als die bei der Inzision mit einem 970nm Laser.

5. Material und Methode

5.1 Gewebe

Für die Studie wurden 20 Mukosalappen aus dem Vestibulum von Schweinekiefern mit einer Größe von etwa 3x5cm präpariert. Das tierische Material wurde von der Metzgerei Meier III Marburg bezogen.

Die Studie wurde unter Beachtung erklärter ethischer Prinzipien (niedergelegt in der World Medical Association Declaration of Helsinki, Version VI, 2002) durchgeführt.

5. 1. 1 Histologie der Mundschleimhaut

Die Schleimhaut der Mundhöhle besteht im Bereich des Vestibulums aus unverhorntem mehrschichtigem Plattenepithel und einer bindegewebigen Lamina propria. Unter der Lamina propria befindet sich die bindegewebige Submukosa, in der kleine Speicheldrüsen eingebettet sind. Es handelt sich bei dieser Epithelform um eine stets durch Sekrete befeuchtete Oberfläche, die den Beginn und das Ende des Verdauungstraktes auskleidet. Das Epithel besteht aus mehr als 20 Zelllagen, bei denen nur die unterste Zellschicht über Hemidesmosomen im Kontakt zur Basallamina steht. Durch ein besonders dichtes Netz aus Zytokeratinfilamenten und ein hohes Vorkommen von Desmosomalverbindungen ist das Epithel in der Lage, hohen mechanischen Belastungen standzuhalten. Neben den Epithelzellen finden sich regelmäßig nicht-epitheliale Zellen wie Melanozyten, Zellen der Immunabwehr und sensorische Zellen.

Schweine haben in Bezug auf die Anatomie, die Physiologie und pathologische Entwicklungen dem Menschen ähnliche orale und maxillofaziale Strukturen (Sullivan et al. 2001; Bermejo et al. 1993; Wang et al. 2007). Die Ergebnisse dieser Studie können deshalb für humane Gingiva als Referenz-Modell dienen.

5.2 Hochfrequenz-Chirurgie Gerät

Als Referenz zur Inzision mit den Lasersystemen wurde ein Hochfrequenz-Chirurgie Gerät der Firma KaVo benutzt. Dieses ist als integriertes Element in der Einheit "SYSTEMATICA®1062" verbaut. Es fällt nach MedGV in die Geräte der Gruppe 1 und ist daher zulassungspflichtig.

Das Prinzip der Hochfrequenz-Chirurgie ist es, hochfrequente Ströme von einer großflächigen Neutralelektrode über den Patientenkörper zu einer kleinflächigen Aktivelektrode zu leiten, wobei im Bereich der Aktivelektrode eine hohe spezifische Stromdichte entsteht. Überschreitet diese einen gewissen Mindestwert (A/mm^2), entsteht zum Schneiden erforderliche Hitze im Gewebe (Abb. 4).



Abbildung 4: Schematische Darstellung Prinzip der Hochfrequenz-Chirurgie.

Quelle: Gebrauchsanweisung KaVo SYSTEMATICA®1062

Es werden Hochfrequenzströme oberhalb 500 KHz benötigt, um die faradische Reizung der sich in der Strombahn befindlichen Nerven und Muskeln auszuschließen.

Das verwendete Hochfrequenz-Chirurgie Gerät benötigt keine Neutralelektrode. Dieses Funktionsprinzip wird als monoterminal bezeichnet. Die Hochfrequenzströme werden hierbei über einen Kondensator geleitet, dessen Widerstand von der Kapazität und der Frequenz abhängig ist. Hohe Frequenzen und große Kapazitäten verringern den Widerstand. Bei entsprechender Bemessung treten keine großen Leistungsverluste auf. Der Patient/das Probegewebe bildet gegenüber dem Behandlungsstuhl/der Lineareinheit und dem Fußboden eine sehr große Kapazität. Da der Anschluss für die Neutralelektrode im Gerät geerdet ist, kann das hochfrequente



Abbildung 5: Skizze Stromkreis des KaVO HF-Chirurgiegerätes. Quelle: Gebrauchsanweisung KaVo SYSTEMATICA®1062

Spannungspotential über den Fußboden und den Behandlungsstuhl/die Lineareinheit durch kapazitive Kopplung an den Patienten/die Probe gelangen (Schließen des Stromkreises) (Abb. 5).

Das Hochfrequenz-Chirurgie Gerät lässt sich auf verschiedene Ausgangsleistungen (max. 50W) einstellen, die der Indikation der Behandlung anzupassen sind. Des Weiteren steht dem Behandler eine Dosierautomatik zur Verfügung, die durch die Verwendung unterschiedlich großer Elektroden und deren wechselnde Eindringtiefe nicht vermeidbare Belastungsschwankungen kompensiert (KaVo Werk Dentale Einrichtungen. Gebrauchsanweisung SYSTEMATICA).

5.3 Laser rot (970nm)

Bei dem roten Lasersystem handelt es sich um das Produkt SIROLaser Advance (Sirona, Bensheim, Germany), einen Diodenlaser der Klasse IV (gemäß IEC 60825-1). Dieses mit einer Quarzfaser in 200 μ m und 320 μ m Kerndurchmesser nutzbare Gerät operiert bei einer Wellenlänge von 970nm \pm 15nm. Der Strahlungsmodus lässt sich auf Dauerstrich (Continuous

Wave), gepulst (Chopped; 1 Hz bis 10 kHz) oder Spitzenimpuls (Peakpulse; ca. 1,5 kHz -20 kHz) einstellen. Im Chopped Mode beträgt die Puls Frequenz 10µs bis 0,99s, im Peak-pulse Modus ist sie bei 23µs unveränderlich.

Der Dauerstrich Modus bewirkt einen kontinuierlichen, ununterbrochenen Laserstrahl solange der Laser aktiv ist. Durchschnittsleistung und Maximalleistung stimmen überein (Abb.6).



Abbildung 6: Diagramm Continous Wave Modus. 970nm Laser bei 3 W Ausgangsleistung

Quelle: Gebrauchsanweisung SiroLASER Advance, Sirona Dental System GmbH.

Beim gepulsten Modus wird der Laserstrahl in regelmäßigen Abständen unterbrochen (z.B. 50% AN und 50% AUS). In den Ausschaltzeiten kann sich das Gewebe thermisch entspannen, wodurch eine Temperaturkontrolle im Gewebe erreicht werden soll (Abb. 7).



Abbilaung 7: Diagramm gepuister Moaus. Pulsfrequenz: 970nm Laser. 10µs bis 0,99s einstellbar.

Beim Peak-pulse Modus pulsiert der Laserstrahl mit einer sehr kurzen Pulsdauer (23µs) bei hoher Impulsleistung (14W) und hoher Frequenz (20kHz). Hierbei werden längere Abkühlzeiten erreicht (Abb.8).

Quelle: Gebrauchsanweisung SiroLASER Advance, Sirona Dental System GmbH



Abbildung 8: Diagramm Peak-pulse Modus. 970nm Laser. Pulsdauer (23µs); Impulsleistung (14W); Frequenz (20kHz)

Quelle: Gebrauchsanweisung SiroLASER Advance, Sirona Dental System GmbH

Die Laserstrahlung des SIROLaser Advance wird im Steuergerät durch eine Laserdiode erzeugt und über einen Lichtleiter an die Behandlungsstelle geführt. Durch die Absorption der Strahlung im Gewebe entsteht Wärme, die zum Schneiden, Koagulieren, zur Keimreduktion und zur Desensibilisierung genutzt werden kann (Sirona Dental Systems GmbH. Gebrauchsanweisung SIROLaser Advance. 2012).

5.4 Laser Blau (445nm)

Bei dem 445nm Lasersystem handelt es sich um das Produkt SIROLaser Blue, einem Klasse IV Diodenlaser (gemäß IEC 60825-1) der Firma Sirona (Sirona, Bensheim Germany). Dieses Produkt kann auf drei verschiedene Wellenlängen für unterschiedliche Hauptindikationen eingestellt werden:

- 1. 445 ± 5 nm, ca. 0.2 3.0 W (CW): Chirurgie
- 2. 970 -10/+15nm, ca. 0.2 2.0 W (CW): Keimreduktion
- 660 ± 5nm, ca0.5 100 mW (CW): Behandlung von Hypersensibilitäten

In dieser Studie wurde nur die 445nm Einstellung dieses Gerätes genutzt, deshalb soll hier nur auf die blaue Laserkonfiguration eingegangen werden. Wie der SIROLaser Advance verfügt auch der SIROLaser Blue über einen Continuous Wave und einen gepulsten Modus (siehe Kapitel 5.3 Laser Rot). Im gepulsten Modus können Frequenzen zwischen 1Hz bis 10KHz bei einer Pulsdauer von 10µs bis 0.99 Sekunden gewählt werden, ein Peakpulse Modus ist nicht vorhanden. Die optische Faser ist aus elastischem Quarzglas, in einer Stärke von 200µm und 320µm Kerndurchmesser wählbar. Die Ausgangsleistung des 445nm Laser ist zwischen 0,2W und 3W frei wählbar und der jeweiligen Indikation anzupassen (Sirona Dental Systems GmbH. Operating Instructions SIROLaser Blue. 2015).

5.5 Material zur Herstellung von Semi-Dünnschliffen

5. 5. 1 Technovit 7200 VLC/7210 VCL

Technovit 7200 VCL ist ein lichthärtender Einkomponentenkunststoff auf Methacrylatbasis, zum Einbetten und anschließendem Anfertigen von Dünnschliffen in Medizin und Zahnmedizin, der Firma Heraeus Kulzer (Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland). Es ist sowohl für die Einbettung von Weich- als auch von Hartgeweben nutzbar. Das zuvor entwässerte Gewebe wird erst in ein 1:1 Technovit7200 VCL Alkoholgemisch überführt und anschließend mit reinem Technovit7200 VCL unter Vakuum infiltriert. Die Dauer dieser Schritte ist der Präparatdicke anzupassen. Anschließend wird das infiltrierte Präparat in einer Einbettform in zwei Stufen polymerisiert. Dies geschieht im Photopolymerisationsgerät Histolux (Heraeus Kulzer), wobei die erste Phase bei geringer Lichtintensität eine weitgehende Polymerisation des Einbettmediums erzielt, die zweite Phase bei hoher Lichtintensität das im Gewebe infiltrierte Einbettmaterial polymerisiert. Hierbei werden Temperaturen von über 40°C vermieden, um keine Spannungsrisse zu erzeugen. Die Gesamtzeit der Polymerisation beträgt maximal 6 Stunden.

Die eingebetteten Präparate können im Anschluss mit Technovit 7210 VLC oder anderen Photopolymerisationsklebern auf einen Plexiglasobjektträger geklebt werden, um in Anschluss die Arbeitsschritte der Trenn-Dünnschliff-Technik zu durchlaufen (Abb.9).



Abbildung 9: Zur Vorbereitung für Trenn-Dünnschliff-Technik Eingebettete Präparate auf Objektträger geklebt

5. 5. 2 DIAMANT BANDSÄGE EXAKT 300

Die Diamant Bandsäge der Firma Exakt (Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) eignet sich zum Zersägen von eingebetteten oder frischen Präparaten mit unterschiedlichen Gewebestrukturen. Die eingebetteten Proben werden auf einen Objektträger geklebt, der über eine Vakuumpumpe in die Sägeapparatur auf einen beweglichen Träger befestigt wird. Unter Wasserkühlung durch zwei Düsen (eine oberhalb des zu trennenden Objektes, die andere unterhalb, zur Reinigung des Sägebandes) können bis zu 100µm dünne Schnitte angefertigt werden, wobei gewählt werden kann, ob der Objektträger während des Schneidevorgangs rotieren soll oder nicht. Das Trennband ist statisch. Es besteht aus einem Stahlband, das an der Stirnseite diamantiert ist und in 0,1mm und 0,2mm Stärke bei unterschiedlicher Diamantkörnung erhältlich.

5. 5. 3 MIKRO SCHLEIFGERÄT EXAKT 400 CS

Das Mikroschleifgerät der Firma Exakt (Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) ist das Gerät für den letzten Arbeitsschritt in der Trenn-Dünnschliff-Technik vor dem Färben der Präparate. Es besteht aus einem rotierenden Teller, der entweder selbst diamantiert ist oder auf dem nassen Schleifpapier befestigt wird, einer linear beweglichen Halterung für Objektträger (Befestigung mittels Vakuumpumpe) und einem Präzisionsmessgerät, um die Dicke der Präparate und deren Substanzverlust im Laufe des Schleifprozesses zu kontrollieren. Die Rotationsgeschwindigkeit des Schleiftellers ist regulierbar, ebenso wie der Anpressdruck des Präparates auf den Schleifteller.

5.6 Versuchsaufbau

Um die Schneidleistung des 445nm Halbleiterlasers zu testen und zu vergleichen, wurde folgendermaßen vorgegangen:

5. 6. 1 Vorbereitung der Gewebeproben

Aus dem Vestibulum von frischen Schweinekiefern wurden 20 Mukosalappen mit einer Größe von etwa 3x5x1cm (Länge x Breite x Dicke) präpariert (Abb.10). Um einem Austrocknen der einzelnen Präparate vorzubeugen, wurden diese anschließend in Kunststoffröhrchen mit isotonischer Kochsalzlösung (0,9Gew.-%) und Natriumazid-Zusatz (0,001Gew.-%) gelagert. Natriumazid stört den Elektronentransport der Atmungskette und verhindert so das Wachstum von Mikroorganismen (Jeney et al. 1957).



Abbildung 10: Mukosalappen aus dem Vestibulum eines Schweinekiefers

5. 6. 2 Schnittführung

Es wurden die folgenden Parametereinstellungen für die Inzisionen gewählt:

- HF-Chirurgie-Gerät mit gerader Spitze, 90° mit Gewebekontakt bei 50W
- 2. 445nm Laser ohne konditionierte Spitze 90° mit Gewebekontakt, 1W, cw.
- 445nm Laser ohne konditionierte Spitze 90° mit Gewebekontakt, 2W, cw.
- 4. 445nm Laser ohne konditionierte Spitze 90° mit Gewebekontakt, 4W, cw.
- 5. 445nm Laser ohne konditionierte Spitze 90° ohne Gewebekontakt (1mm), 2W, cw.
- 6. 445nm Laser ohne konditionierte Spitze 90° ohne Gewebekontakt (1mm), 4W, cw.
- 445nm Laser ohne konditionierte Spitze 45° mit Gewebekontakt, 2W, cw.
- 970nm Laser mit konditionierter Spitze 90° mit Gewebekontakt, 3W, cw.
Um zu gewährleisten, dass alle Schnitte mit konstanter und identischer Geschwindigkeit von statten gehen, wurden alle Inzisionswerkzeuge auf einem sich mit festgelegter Rapidität bewegenden Schlitten befestigt (Abb. 11). Die Bewegungsgeschwindigkeit wurde grob einer natürlichen Handbewegung beim Schneiden mit einem Skalpell nachempfunden und beträgt 2mm/s. Der Winkel von Werkzeugspitze zu Gewebe wurde auf 90° festgelegt. Eine Ausnahme bildet eine Einstellung des 445nm Lasers bei 2W cw und 0mm Abstand zum Gewebe, bei der die Laserspitze auf 45° eingestellt wurde.



Abbildung 11: Verfahrschlitten mit 445nm Laser Handstück zur Gewährleistung identischer Inzisionsgeschwindigkeit in allen Versuchsreihen

Die Mukosalappen wurden auf einen in der Führungsapparatur eingebauten, verstellbaren Träger gespannt und leicht mit einer planen Kunststoffplatte geglättet. So wurde gewährleistet, dass der Abstand von Laserfaser zu Gewebe pro Parametereinstellung konstant ist. Anschließend wurde die Schleimhaut leicht mit frischer Kochsalz-Lösung benetzt, um die im Mund herrschenden, feuchten Bedingungen zu imitieren.

Vor dem Aktivieren der Diodenlaser wurden die Räumlichkeiten mit einer Warnlampe versehen und alle beteiligten Personen mit einer geeigneten Schutzbrille ausgestattet.

Das 445nm Halbleiter Lasermodul, der 970nm Laser und das HF-Chirurgie-Gerät wurden auf die vorgesehenen Leistungen eingestellt und der Abstand Gewebe zu Laserfaser manuell entsprechend der gewünschten Konfiguration mit einem Lineal positioniert. Jede Parametereinstellung wurde auf zwanzig von unterschiedlichen Kieferhälften stammenden Mukosapräparaten angewandt. Es wurde darauf geachtet, dass der Schlitten einige Zentimeter Vorlauf und Nachlauf vor bzw. nach Ein- und Ausschalten der Inzisionswerkzeuge hat, um die durch Reibung beim Start des Motors bedingte geringere Geschwindigkeit des Schlittens als Fehlerquelle auszuschalten.

Die Schnittlänge wurde auf ca. 2cm festgelegt. Es entstanden folglich 160 Schnitte (8 Parametereinstellungen auf 20 Mukosalappen) mit 2cm Länge aus denen jeweils mittig ein Dünnschliffpräparat gefertigt wurde. Jeder Mukosalappen erhielt zusätzlich eine punktförmige Lasermarkierung am unteren Rand, um eine spätere Zuordnung der Schnitte zu ihren Parametern zu ermöglichen.

Vor und nach jedem Schnitt wurde die Ausgangsleitung des 445nm und 970nm Lasers mit einem Laserenergiesensor mit Photodiodensensor von Thorlabs (THORLABS GmbH, Dachau, Deutschland) überprüft.



Abbildung 12: In Kochsalz-Lösung eingelegte Gewebeproben in Kunststoffröhrchen

Die mit Inzisionen versehenen Mukosalappen wurden anschließend in frischer Kochsalz-Lösung mit Natriumacid-Zusatz in beschrifteten Kunststoffröhrchen eingelegt, um anschließend eine Alkoholreihe zur Fixierung zu durchlaufen (Abb. 12).

5. 6. 3 Fixierung der Gewebeproben

Die Entwässerung der Präparate erfolgte über eine aufsteigende Alkoholreihe (60%, 80%, 96% ad Aqua dest. 100%).

Im Einzelnen:

- 1. 60% vergälltes Ethanol: 7 Tage bei RT auf dem Schüttler
- 2. 80% vergälltes Ethanol: 7 Tage bei RT auf dem Schüttler
- 3. 96% vergälltes Ethanol: 7 Tage bei RT auf dem Schüttler
 - 7 Tage bei RT auf dem Schüttler
- 4. 100% Ethanol absolut:

Da das Gewebe während der Entwässerung hart und spröde wird, wurden die Mukosalappen für diesen Vorgang in flache Einbettförmchen mit Deckel umgelagert.

5. 6. 4 Einbetten in Technovit 7200VLC

Dem Entwässern folgte die Infiltration des Gewebes mit dem Einbettmaterial Technovit 7200VCL (Heraeus Kulzer). Zuerst in 1:1 Alkohol/Technovit für 7 Tage, anschließend in 100% Technovit 7200VCL für weitere 14 Tage. Nach diesem Arbeitsschritt wurden die infiltrierten Gewebestücke in beschriftete Einbettförmchen gelegt, welche mit 100% Technovit 7200VLC befüllt wurden, das die Präparate vollständig bedeckte. Die Polymerisation des Einbettmaterials erfolgte im Gerät Histolux (Heraeus Kulzer), einem Photopolymerisationsapparat, für sechs Stunden.

5. 6. 5 Anfertigen von Semidünnschliffpräparaten

Nach vollständigem Polymerisationsvorgang wurden die Semidünnschliffe hergestellt.

Hierzu wurden die im Kunststoffblock eingebetteten Präparate grob mit einer diamantierten Bandsäge unter Wasserkühlung zurechtgeschnitten und auf einen großen, zur Kennung beschrifteten Kunststoffobjektträger der



Abbildung 13: Auf Objektträger geklebtes in Technovit eingebettetes Präparat

Firma Exakt (Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) (50x 100x2mm) geklebt (Locktite 4305) (Henkel AG & Co.KGaA, Düsseldorf, Deutschland) (Abb. 13). Locktite 4305 ist ein unter UV-Licht härtender Kleber.



Abbildung 14: Diamant Trennsystems (EXAKT Apparatebau, Nordenstedt). Herstellung 500µm starker Dünnschnitte

Der große Objektträger wurde für die Montage der Präparate im folgenden Bearbeitungsabschnitt benötigt. Es folgte die Herstellung ca. 500µm starker Dünnschnitte auf einem kleinen Kunststoffobjektträger (25x75x2mm) mittels des Diamant Trennsystems der Marke Exakt (EXAKT Apparatebau, Nordenstedt) (Abb. 14), welche anschließend mit dem Mikro Schleifgerät (EXAKT) mit Sandpapier der Körnung 1200, 2400, 3000 und 4000 (aufsteigende Reihenfolge) auf eine Stärke von 200µm poliert wurden (Abb. 15). Zur Kontrolle der Präparatdicke wurden die Objektträger zusätzlich manuell mit einem Präzisionsmessgerät überprüft (Abb. 16).



Abbildung 15: Mikro Schleifgerät (EXAKT Apparatebau, Nordenstedt). Herstellung 200µm starker Dünnschliffe



Abbildung 16: Manuelle Messung der Präparatdicke zu Kontrolle

5.6.6 Färbung

Die Färbung der Semi-Dünnschliffpräparate mit Hämatoxylin-Eosin erfolgte nach folgendem Rezept:

Lösungen:

- 1. Hämatoxylin nach Gill:
 - 1. 6g Hämatoxylin (C.l. 75290)
 - 2. 0,6g Natriumjodat
 - 3. 52,8g Natriumsulfat
 - 4. 690ml Aqua dest.

- 5. 250ml Ethylenglykol
- 6. 60ml Eisessig
- 2. Eosin
 - 1. 0,5g Eosin Y-ethanolisch (C.l. 45380)
 - 2. 100ml 96% Ethanol
 - 3. 2 Tropfen Eisessig

Methode:

- 1. 15 min Färben der Kunststoffschnitte in Hämatoxylin nach Gill
- 2. Bläuen in Leitungswasser (10 min)
- 3. Aqua dest. Spülen
- 4. Eosin 2-5 min (Abb. 13)
- 5. Entwässern über Ethanol 96% und 100%
- 6. Xylol eindecken

Das Ergebnis sind Präparate mit gut beurteilbarer Zellstruktur:

Zellkerne: blau, basophiles Zytoplasma: blau, acidophiles Zytoplasma: rosa, Muskel- und Bindegewebe: rosa.



Abbildung 17: Präparat beim Färben mit Eosin

5. 6. 7 Digitalisieren

Die Präparate nach HE-Färbung wurden unter 40facher Vergrößerung (Objektiv: 10x Olympus; Okular: 4x Olympus) digital fotografiert (Kamera: Canon EOS 550D; Belichtungszeit: 1/160s, ISO: 400) (Abb. 18). Zur Maßstabkorrektur wurde unter selbigen Einstellungen eine Skala fotografiert, welche digital als Streckenreferenz diente (Abb. 19). Auf diese Weise entstanden 180 Bilddateien mit individueller Kennung zur späteren Zuordnung (Abb. 20+21).



Abbildung 20: Mikroskop mit Kameraaufsatz



Abbildung 18: Digitalisiertes Präparat

5. 6. 8 Auswertung



Abbildung 19: Skala als Streckenreferenz durch ein Mikroskop fotografiert



Abbildung 21: Digitalisiertes Präparat

Zum Messen von Schnittliefe, Schnittbreite, Schnittfläche, tiefste Nekrose senkrecht zum Schnitt und Nekrosefläche wurde das Programm Dr. Regener Version 7 (Dr. Erhard Regener, Magdeburg, Deutschland) benutzt. In diesem Programm erfolgten die Maßstabkorrektur der Fotos und sämtliche Vermessungen. Per Mausklick können in der Software Strecken und Flächen digital markiert und ausgemessen werden.

5.7 Statistik

Die aus den Fotos erhobenen Daten der Vermessung wurden zunächst in Microsoft Excel (Microsoft Deutschland, GmbH, Unterschleißheim) zusammengefasst. Anschließend erfolgte die Auswertung mit der Statistiksoftware Statistical Package for Social Sciences (SPSS; SPSS Inc, Chicago, USA). Um die Signifikanz der einzelnen Versuchsgruppen zu untersuchen, wurden der parameterfreie Kruskal-Wallis-Test und der Mann-Whitney-Test durchgeführt. Für die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde der Wert α =0,05 festgelegt. Dieser auch Signifikanzniveau genannte Wert gibt die maximal zulässige Wahrscheinlichkeit an, einen Alpha-Fehler zu begehen, also die Wahrscheinlichkeit, die Nullhypothese zu Unrecht abzulehnen.



gramms

Zur übersichtlichen graphischen Darstellung der Messergebnisse wurden die Daten mit Hilfe der Software SPSS in Boxplot-Diagramme überführt. Das Boxplot-Diagramm stellt eine Übersicht der in Quartile zerlegten Messergebnisse um den Median herum dar.

Das Diagramm besteht aus einer Box, in der die mittleren 50% der gemes-

senen Werte liegen. Die untere Kante liegt auf dem ersten, die obere auf dem dritten Quartil. In der Box wird der Median als waagrechte Linie angezeigt. Er unterteilt das gesamte Diagramm in zwei Hälften. Über und unter der Box befindet sich jeweils eine Antenne (Whiskers), die jeweils 25% der gemessenen Werte beinhalten. Das untere Ende des Whiskers markiert das Minimum, das obere das Maximum. Ausreißer, die nicht innerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstands liegen, werden gesondert als einzelne Kreise markiert. Werte außerhalb des dreifachen Interquartilsabstands werden mit Sternen dargestellt. Abbildung 22 zeigt den schematischen Aufbau eines Boxplot Diagrammes.

Als Median wird in der Statistik der Wert definiert, der genau in der Mitte der Datenverteilung liegt, er ist gegenüber Ausreißern stabil. Bei einer geraden Anzahl an Messwerten wird aus den beiden in der Mitte liegenden Werten (Ober- und Untermedian) das arithmetische Mittel errechnet. Der Mittelwert gibt das arithmetische Mittel an. Er errechnet sich durch die Addition aller gemessener Werte und anschließender Division durch deren Anzahl.

Die Standardabweichung ist die durchschnittliche Entfernung aller gemessenen Werte zum arithmetischen Mittel. Sie errechnet sich über die Quadratwurzel der Varianz und wird mit dem griechischen Buchstaben " σ " (Sigma) angegeben. Die Varianz ist folglich das Quadrat der Standardabweichung. Sie errechnet sich durch das Addieren aller quadrierten Abweichungen der Messreihe, dividiert durch ihre Anzahl.

Als Interquartilsabstand wird die Differenz zwischen dem ersten und dem dritten Quartil bezeichnet. Dieses Streuungsmaß gibt an, wie groß der Bereich der Verteilung ist, in dem sich 50% der Daten um den Median befin

den. Er ist, wie der Median, sehr stabil, da die Ausreißer nicht berücksichtigt werden (Sachs 2013).

6. Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Studie dargestellt. Es sollen die verschiedenen Inzisionsmethoden in Bezug auf ihre Effektivität (Schnittbreite, Schnitttiefe, Schnittfläche) und unter Betrachtung ihres Einflusses auf in unmittelbarer Nähe liegendes Gewebe (größte Nekrosetiefe orthogonal zum Schnitt, Nekrosefläche) dargestellt und verglichen werden. Detaillierte Ergebnisse finden sich in den Tabellen 3 - 18 im Anhang.

6.1 Schnittparameter

Beim Vergleich der effektiven Schneidleistung, gemessen in Schnitttiefe, Schnittbreite und Schnittfläche der acht Versuchsgruppen mit je n=20 zeigt sich im Einzelnen:

6. 1. 1 Schnitttiefe

Die Median größte Schnitttiefe wurde mit dem 445nm Laser bei 2W, cw und Gewebekontakt im 45° Winkel erzielt.



Abbildung 23: Ergebnisse Schnitttiefe, Boxplot: Größte Schnittiefe: 445nm Laser 2Wcw Gewebekontakt 45° Winkel: Median 0,87mm (Minimum: 0,52mm, Maximum: 2,58mm, Interquartilabstand: 0,45mm), Geringste Schnitttiefe: Elektrotom: Median 0,36mm (Minimum:0,12mm, Maximum: 1,12mm, Interquartilabstand: 0,23mm)

Sie betrug im Median 0,87mm (Minimum: 0,52mm, Maximum: 2,58mm, Interquartilabstand: 0,45mm). Dieser Wert ist gegen folgende Parametereinstellungen signifikant unterschiedlich (p<0,05): SLA 0mm 3W geschwärzt, SLB 0mm 4Wcw, SLB 1mm 2Wcw und Elektrotom. Die im Median geringste Schnitttiefe generierte das Elektrotom mit einem Wert von 0,36mm (Minimum: 0,12mm, Maximum: 1,12mm, Interquartilabstand: 0,23mm). Dies ist signifikant unterschiedlich zu: SLB 0mm 2Wcw 45° und SLB 1mm 4Wcw (p<0,05) (Abb. 23).

6. 1. 2 Schnittbreite

Die generierte Schnittbreite der einzelnen Systeme und Parametereinstellungen zeigte keine signifikanten Unterschiede zueinander (p>0,05)(Abb. 24).



Abbildung 24: Ergebnisse Schnittbreite Boxplot: Keine signifikanten Unterschiede (p>0,05)

6. 1. 3 Schnittfläche

Die im Median größte Fläche der Inzision wurde mit dem 445nm Laser bei 2Wcw und Gewebekontakt im 45° Winkel erzielt (p<0,05). Sie betrug 0,25mm² (Minimum: 0,08mm², Maximum: 0,80mm², Interquartilabstand: 0,14mm²). Dieser Wert ist statistisch signifikant unterschiedlich zu: SLA 0mm 3W geschwärzt und SLB 1mm 2Wcw (p<0,05). Die geringste Schnittfläche wurde vom Elektrotom erzeugt (p<0,05). Sie betrug im Median 0,07mm² (Minimum: 0,01mm², Maximum: 0,71mm², Interquartilabstand: 0,18mm²). Dieser Wert ist signifikant unterschiedlich zu: SLB 1mm 4Wcw (Abb. 25).



Abbildung 25: Ergebnisse Schnittfläche, Boxplot:Größte Schnittfläche: 445nm Laser 2Wcw Gewebekontakt 45° Winkel: Median 0,25mm² (Minimum: 0,08mm², Maximum: 0,80mm², Interquartilabstand: 0,14mm²), Geringste Schnittfläche: Elektrotom: Median 0,07mm² (Minimum: 0,01mm², Maximum: 0,71mm², Interquartilabstand: 0,18mm²).

6.2 Gewebeveränderung

Die Gewebeveränderung wird in der größten Nekrosetiefe senkrecht zur Inzision und in der gesamten Nekrosefläche um den Schnitt beurteilt. Im Vergleich der acht Versuchsgruppen mit je n=20 zeigt sich hierbei:

6. 2. 1 Nekrosetiefe

Die im Median geringsten Nekrosetiefen wurden mit dem Elektrotom bei Einstellung 9,75 und dem blauen Laser in Kontakt bei 2Wcw Einstellung im 45° Winkel zum Gewebe erzielt. Sie betrug bei beiden 0,04mm (Elektrotom: Minimum: 0,01mm, Maximum: 0,11mm, Interquartilabstand: 0,04mm; SLB 2W, cw, 0mm, 45°: Minimum: 0,02mm, Maximum: 0,09mm, Interquartilabstand: 0,03mm). Signifikant unterschiedlich sind beide Parametereinstellungen zu: SLA 0mm 3W geschwärzt, SLB 1mm



Abbildung 26: Ergebnisse Nekrosetiefe Boxplot:Geringsten Nekrosetiefen: Elektrotom bei Einstellung 9,75 und 445nm Laser in Kontakt 2Wcw 45° Winkel: Median 0,4mm (Elektrotom: Minimum: 0,01mm, Maximum: 0,11mm, Interquartilabstand: 0,04mm; SLB 2W, cw, 0mm, 45°: Minimum: 0,02mm, Maximum: 0,09mm, Interquartilabstand: 0,03mm), Höchste Nekrosetiefe: 970nm Laser 3W Gewebekontakt geschwärzte Spitze: Median 0,6mm. (Minimum: 0,03mm, Maximum: 0,18mm, Interquartilabstand: 0,03mm)

2Wcw, SLB 0mm 2Wcw und SLB 1mm 4Wcw. Beide sind zueinander nicht signifikant unterschiedlich (p>0,05).

Die höchsten Nekrosetiefen generierte mit im Median 0,06mm der rote Laser bei 3W im Kontakt zum Gewebe mit geschwärzter Spitze (Minimum: 0,03mm, Maximum: 0,18mm, Interquartilabstand: 0,03mm) (Abb. 26).

6. 2. 2 Nekrosefläche

Die im Median geringste Nekrosefläche wurde mit dem blauen Laser in Kontakt bei 2Wcw Einstellung im 45° Winkel zum Gewebe erzielt. Sie betrug $0,02 \text{ mm}^2$ (Minimum: $0,01 \text{ mm}^2$, Maximum: $0,16 \text{ mm}^2$, Interquartilabstand: $0,02 \text{ mm}^2$). Dies ist signifikant unterschiedlich zu: Elektrotom, SLB 0mm 2Wcw, SLB 1mm 4Wcw, SLB 0mm 4Wcw und SLB 1mm 2Wcw (p<0,05).



Abbildung 27: Ergebnisse Nekrosefläche, Boxplot: Geringste Nekrosefläche: 445nmLaser Gewebekontakt 2Wcw 45° Winkel: Median 0,02mm² (Minimum: 0,01 mm², Maximum: 0,16 mm², Interquartilabstand: 0,02 mm²). Größte Nekrosefläche: Elektrotom bei Einstellung 9,75 Gewebekontakt: Median 0,07mm² (Minimum: 0,01 mm², Maximum: 0,47 mm², Interquartilabstand: 0,09 mm²).

Die im Median größte Nekrosefläche generierte mit $0,07mm^2$ (Minimum: $0,01 mm^2$, Maximum: $0,47 mm^2$, Interquartilabstand: $0,09 mm^2$) das Elektrotom bei Einstellung 9,75 im Kontakt zum Gewebe. Diese ist signifikant unterschiedlich zu: SLB 0mm 2Wcw 45°, SLB 0mm 4Wcw und SLB 1mm 2Wcw (p<0,05) (Abb. 27).

7. Diskussion

7.1 Diskussion der Methodik

Ziel der Studie war es, beurteilen zu können, in wie weit sich ein Hochfrequenz-Chirurgie-Gerät, ein 970nm Laser und ein 445nm Laser bei unterschiedlichen Einstellungen der Ausgangsleistung und unterschiedlichem Abstand zum Gewebe in ihrer Wirkung unterscheiden. Es wurde ausschließlich von Schweinekiefern vestibulär präpariertes Mukosagewebe verwendet. Sämtliche Schnitte erfolgten, indem die Inzisionshandstücke auf einer Lineareinheit, mit einer Bewegungsgeschwindigkeit von 2mm/s, befestigt wurden. Die Ausgangsleistung der Lasersysteme wurde vor und nach der Inzision mit einem Laserenergiesensor der Firma Thorlabs (Thorlabs GmbH Dachau/München, Deutschland) überprüft. Es wurde keine signifikante Differenz festgestellt. Alle Gewebeproben durchliefen dieselbe Entwässerungs- und Einbettungsprozedur, die dadurch mögliche Gewebsschrumpfung ist daher für alle Proben vergleichbar.

Bei den Inzisionen mit Kontakt der Instrumentenspitze zum Gewebe und 90° Winkel (*HF-Chirurgie-Gerät mit gerader Spitze*, 90°; 445nm Laser ohne konditionierte Spitze 90° 1W, cw; 445nm Laser ohne konditionierte Spitze 90° 2W, cw; 445nm Laser ohne konditionierte Spitze 90° 4W, cw; 970nm Laser mit konditionierter Spitze 90° mit Gewebekontakt 3W, cw) kam es zeitweise zu einer Verhakung der Lichtleiterfaser (Laser) bzw. der Nadel (HF-Chirurgie). Es ist deshalb nicht auszuschließen, dass zu diesem Zeitpunkt keine definierte Geschwindigkeit der Inzision von exakt 2mm/s stattgefunden hat. Dieses Phänomen kann durch ein kontaktloses Schneiden oder einen Winkel der Instrumentenspitze >90° vermieden werden.

7.2 Diskussion der Ergebnisse

Ziel der vorliegenden Studie war die histologische Beurteilung von Gewebeproben nach Inzision mit einem 445nm Diodenlaser. Als Nullhypothese wurde angenommen, dass der 445nm Diodenlaser dem 970nm Diodenlaser und dem HF-Chirurgie Gerät überlegen ist. Dabei wurden die folgenden Parameter beurteilt:

- 1.Schnitttiefe
- 2.Schnittfläche
- 3.Schnittbreite
- 4.Nekrose in Tiefe und Fläche

Tatsächlich ist der 445nm Laser nach der in dieser Arbeit durchgeführten Versuchsreihe den anderen Systemen überlegen. Es ergab sich, dass die Einstellung in Kontakt bei 2W, cw Einstellung im 45° Winkel zum Gewebe die positivsten Ergebnisse zeigte. Hierzu zählt die signifikant höchste Schnitttiefe (p<0,05), bei damit einhergehender größter Inzisionsfläche. Alle gewählten Einstellungen des 445nm Lasers erzeugten eine größere Schnitttiefe als das Elektrotom oder der 970nm Laser.

Die Schnittbreite zeigte keine signifikanten Unterschiede (p<0,05), dies kann damit zusammen hängen, dass sich die Gewebeproben bei der histologischen Fixierung in gewissem Maße verformen und sich die Schnittränder dabei einander annähern oder voneinander entfernen können.

Die Nekrosetiefe des 445nm Lasers ist bei dieser Einstellung gleich gering wie die des Elektrotoms. Betrachtet man jedoch die Nekrosefläche des 445nm Lasers in dieser Einstellung, fällt auf, dass hier der geringste Wert erzielt wurde, während das Elektrotom die größte Nekrosefläche generierte. Dieser Wert wiegt noch schwerer, bedenkt man, dass der 445nm Laser in Kontakt bei 2Wcw Einstellung im 45° Winkel zum Gewebe eine deutlich größere Schnitttiefe erzeugte, sprich die an die Inzisionsränder grenzende Fläche deutlich größer ist. Da der 970nm Laser die größte Nekrosetiefe erzeugte, sind ihm alle Einstellungen des 445nm Lasers überlegen.

7.3 Klinische Relevanz

Der Vorteil der größeren Schneidleistung in Hinblick auf Schnitttiefe und Schnittfläche ist es, innerhalb kürzerer Zeit mehr Gewebe abtragen und somit effektiver arbeiten zu können. Des Weiteren kommt der Wirtschaftlichkeit der Laserbehandlung zugute, dass aufgrund der Koagulation auf eine Naht und folglich auch auf eine Nahtentfernung verzichtet werden kann (D'Arcangelo et al. 2007). Dies gilt allerdings ebenfalls für das Elektrotom und stellt folglich nur dem Skalpell gegenüber einen Vorteil dar.

Eine erhöhte Schneidleistung kann mit dem Risiko unkontrollierter Verletzungen angrenzender Strukturen im Inzisionsbereich einher gehen. Dieses Risiko ist beim 445nm Laser, im Vergleich zu Lasern mit höherer Wellenlänge, wegen seiner geringen Eindringtiefe ins Gewebe reduziert (Braun et al. 2017). Auch die thermische Schädigung des umliegenden Gewebes ist aufgrund der geringen Absorption des 445nm Lasers in Wasser reduziert (Braun et al. 2017).

Der Vorteil der geringeren Nekrosefläche wird Vielfältig diskutiert. Zum einen ist eine kleinere Nekrosezone in Präparaten wichtig, da karbonisiertes Gewebe histopathologisch weniger aussagekräftig ist. Wird also eine Gewebeprobe, beispielsweise zur histologischen Malignitätsprüfung entnommen, so ist es von Bedeutung, dass das zu untersuchende Gewebe nicht thermisch durch die Inzision verändert oder zerstört wurde, da dies die Aussagekraft einschränken könnte (Braun et al. 2015). Auch führt die Karbonisierung im Gewebe zu einer "Kohleschicht", die das tiefere eindringen von Photonen in das Gewebe durch Absorption verhindert (Vogl et al 2000). Zum anderen hat die Nekrosezone Einfluss auf die Wundheilung, da das koagulierte Gewebe nicht durchblutet wird, sprich Zelldetritus nicht bzw. nur schlecht abtransportiert werden kann, was zur entzündlichen Infiltration des Inzisionsbereiches führt (Hendrick et al. 1995). Diese Wundheilungsverzögerung zeigt sich histologisch in Form von entzündlicher Infiltration des Inzisionsbereiches mit neutrophilen Granulozyten und polymorph kernigen Leukozyten und Vasodilatation. Nach 14 Tagen Heilungsphase ist das klinische Ergebnis jedoch von gleicher Erscheinung, egal ob der Inzisionsbereich eine thermische Schädigung erfuhr oder nicht. In den Zwischenschritten der Heilungsphase ist die Heilungsgeschwindigkeit vom Ausmaß der Nekrose abhängig, weshalb die Inzisionsparameter in Bezug auf Wellenlänge und Ausgangsleitung mit Bedacht zu wählen sind (Bryant et al 1998).

Im Jahrbuch Laserzahnmedizin 2017 wurde eine Studie veröffentlicht, die unter anderem die Hämostase und die Wechselwirkung auf zellulärer Ebene von 445nm Dioden-Lasern und 980nm Dioden-Lasern vergleicht. Hier wird von weiteren klinisch relevanten Vorzügen der 445nm Wellenlänge berichtet (Skora et al 2017). Die Studie zeigt ausgeprägte koagulierende Effekte, begründet durch die gute Ankopplung der 445nm Wellenlänge an Hämoglobin. Weiterhin berichtet sie von signifikanten antimikrobiellen Effekten des blauen Lasers bei geringer Temperaturentwicklung. Diese Effekte unterstützen nach Aussage von Masson-Meyers et al. in klinisch relevanter Weise die Anwendung eines 445 nm-Lasers für chirurgische Indikationsfelder (Masson-Meyers et al. 2016). Ein Resultat, das mit den Forschungsergebnissen dieser Arbeit übereinstimmt.

7.4 Ausblick

Diodenlaser-Systeme mit 445nm gewährleisten eine präzise Schnittführung bei gleichzeitiger Koagulation kleiner Gefäße und Keimreduktion im Schnittbereich. Die Effektivität des getesteten Systems ist in Hinblick auf Schnittliefe und Schnittfläche im Vergleich zu dem getesteten HF-Chirurgie-Gerät und dem 970nm Laser deutlich erhöht. Es wird bei sorgfältig gewählter Ausgangsleistung und adäquater Führung des Instrumentes eine verringerte thermische Schädigung der Inzisionsränder beobachtet, was positiven Einfluss auf die Wundheilung haben kann. Außerdem berichten Patienten nach Inzision mit einem Dioden-Laser über ein geringeres postoperatives Schmerzempfinden im Vergleich zu Inzisionen mit dem Skalpell (Kalakonda et al. 2016). Diese positiven Eigenschaften erweitern die Attraktivität von Lasern als Inzisionsinstrumente in der Zahnheilkunde und vergrößern das Spektrum ihrer Einsetzbarkeit.

8. Anhang

8.1 Vorversuche

Vor dem Beginn der eigentlichen Studie wurden einige Vorversuche mit dem 445nm Diodenlaser durchgeführt, um dessen Auswirkung auf zahnärztliche Restaurationsmaterialien, Zähne (Schmelz, Dentin) und Knochen zu beurteilen. Als Referenz diente ein 970nm Laser. Die beiden Versuchsreihen sollen hier nur der Vollständigkeit halber dargestellt werden.

8. 1. 1 Versuch: Laser auf Restaurationsmaterialien

Einführung: An einem mit unterschiedlichen Restaurationsmaterialien bestückten Eppendorf- Gefäßständer sollten zwei verschiedene Lasergeräte getestet und verglichen werden. Für den Versuch wurden in der Zahnmedizin gängige Restaurationsmaterialien ausgewählt: Voco Grandio A2 (VOCO GmbH, Cuxhaven),Voco Grandio A3,5 (VOCO GmbH, Cuxhaven), Ketac Fil (3M ESPE, Neuss), Ketac Cem (3M ESPE, Neuss, Deutschland), Relyx Unicem (3M ESPE, Neuss, Deutschland), Temp Bond (Eugenol) (KERR GmbH, Biberach, Deutschland), Harvard Zement (DENTSPLY DETREY GmbH, Konstanz)), Keramik (Cerec® Vitablocs® Mark II) (VITA Zahnfabrik, Bad Säckingen), Titan-Implantat (Ankylos D3,5; Dentsply Implants, Mannheim) (Abb. 28+29). Beide Laser (blau und rot) wurden hierbei für chirurgische Eingriffe konfiguriert.

Beim roten Laser entsprach dies 3W Puls-Frequenz, beim blauen 2W Puls-Frequenz. Beide Laser wurden per Hand und im Kontakt zum Material geführt. Der Bewegungsablauf wurde hierbei dem einer Gewebsinzision nachempfunden. Ziel des Versuchs war es einzuschätzen welche strukturellen Veränderungen ein Kontakt der Laser auf diese Materialien zur Folge hat.



Abbildung 28: Eppendorf Gefäßständer Legende

- 1: Voco Grandio A2
- 3: Voco Grandio A3,5
- 5: Ketac Fil
- 11: Ketac Cem
- 13: Relyx Unicem (3M ESPE)
- 15: Temp Bond (Eugenol)
- 21: Harvard Zement (Densply)
- 23: Keramik (Cerec® Vitablocs® Mark II)
- 25: Titan (Implantat)



Abbildung 29: Eppendorf Gefäßständer vor Laser-Kontakt

Präsentation der Ergebnisse: Beim Beobachten der Proben mit bloßem Auge waren in der Mehrzahl der Proben Veränderungen festzustellen. Einzelheiten sind Tabelle 1 und Abbilung 30 zu entnehmen.

	SLA bei 3W	SLB bei 2W
	(Laser rot)	(Laser blau)
Voco Grandio A2	-	-
Voco Grandio A3,5	+	+
Ketac Cem	+	+
Ketac Fil	-	+
Relyx Unicem (3M ES-	+	+
Temp Bond (Eugenol)	+	+
Harvard Zement	+	+
Keramik (Cerec® Vita-	-	-
Titan (Implantat)	-	-

Tabelle 1: Veränderung der Materialoberflächen nach Laser-Kontakt



Abbildung 30: Eppendorf Gefäßständer nach Laser-Kontakt links in der Probe: Kontakt durch roten Laser, rechts in der Probe: Kontakt durch blauen Laser

Fazit: Beide Systeme verursachten Defekte an einem Großteil der getesteten Restaurationsmaterialien. Lediglich das Komposit "Voco Grandio A2", Die Keramik und das Titan Implantat zeigten keinerlei Veränderungen. Jedoch waren beide Systeme im Ausmaß der Schädigung vergleichbar. Auffällig war, dass das Präparat "Ketac Cem" als einzige Probe nur von einem der beiden Systeme (Laser blau) beschädigt wurde.

8. 1. 2 Versuch 445nm und 970nm Laser auf Zahn, Knochen, Keramik und Komposit

Einführung: In diesem Versuch sollte die Wirkung von zwei Diodenlasern der Firma Sirona (445nm und 970nm) auf diversen Materialien dargestellt werden. Hierzu wurden extrahierte Zähne mit intakter Wurzel und Krone (Schmelz und Dentin), Rinderknochen, Keramikproben und Komposit (A3) herangezogen. Am Zahn sollten die Schnitte in kompletter Länge in kornalapikale Richtung über Schmelz und Dentin erfolgen. Beide Laser (445nm = blau und 970nm = rot) wurden hierbei für chirurgische Eingriffe konfiguriert. Beim roten Laser entsprach dies 3W Puls-Frequenz, beim blauen 2W und 4W Puls-Frequenz. Beide Laser wurden per Hand und im Kontakt zum Material geführt. Der Bewegungsablauf wurde hierbei dem einer Gewebeinzision nachempfunden. Ziel des Versuchs war es einzuschätzen, welche strukturellen Veränderungen ein Kontakt der Laser auf diese Materialien zur Folge hat. Die Abbildungen 31,32,33 und 34 zeigen die Proben vor Lasereinwirkung.



Abbildung 31: Zahn



Abbildung 33: Komposit



Abbildung 32: Knochen



Abbildung 34: Keramik

Präsentation der Ergebnisse: Beim Beobachten der Proben waren bei etwa der Hälfte der Proben Veränderungen festzustellen. Für Einzelheiten siehe Tabelle 2 und Abb. 45.

	SLA bei 3W	SLB bei 2W	SLB bei 4W
	(Laser rot)	(Laser blau)	(Laser blau)
Knochen	-	+	+
Schmelz	-	-	-
Dentin	+	+	+
Keramik	-	-	-
Komposit	+	+	+

Tabelle 2: Übersicht der Veränderungen der Proben nach Laserkontakt (+ für sichtbar feststellbare Veränderung durch den Laser, - für keine sichtbare Veränderung)



Abbildung 35: Proben Übersicht nach Versuch



Weder der 970nm Laser bei 3W, noch der 445nm Laser bei 2W und 4W zeigten auf der Keramik Wirkung (Abb. 36,37,38).



Abbildung 39: Schmelz und Dentin nach Kontakt mit 445nm Laser 4W



Abbildung 40: Schmelz und Dentin nach Kontakt mit 970nm Laser 3W



Abbildung 41: Schmelz und Dentin nach Kontakt mit 455nm Laser 2W

Der Zahnschmelz wurde weder vom 970nm Laser bei 3W, noch vom 445nm Laser bei 2W und 4W beschädigt. Das Dentin hingegen wurde von allen dreien sichtlich beeinträchtigt (Abb. 39,40,41).

Auf dem Knochen zeigte sich durch den 970nm Laser keine Veränderung der Struktur. Das blaue Lasermodul hatte bei 2W und 4W Einstellung einen deutlichen Effekt (Abb. 42). Auf Komposit war die Wirkung aller 3 Schnitte vergleichbar (Abb. 43).



Abbildung 43: Knochen Nach Kontakt 970nm Laser 3W (kein Effekt oben) 455nm Laser 2W (mittig) 445nm Laser 4W (unten)



Abbildung 42: Komposit nach Kontakt: 790nm Laser 3W (oben) 455nm Laser 2W (mittig) 445nm Laser 4W(unten)

Fazit: Beide Systeme verursachten ein vergleichbares Maß an Veränderung an den getesteten Proben. Bei 4W war der Einfluss des 445nm Lasers erwartungsgemäß etwas stärker als bei 2W. Auffällig war, dass der 970nm Laser im Gegensatz zum 445nm Laser keinen Einfluss auf Knochen hatte.

Detallierte Ergebnis-Tabellen 8.1.3

Versuchsreihe.

Elektrotom 9,75	Schnitttiefe [mm]	Schnittbreite [mm]	Schnittfläche [mm]
1	0,309	0,105	0,030112
2	0,295	0,19	0,030023
3	0,331	0,17	0,028665
4	0,322	0,189	0,04522
5	0,335	0,223	0,067984
6	0,389	0,27	0,088128
7	0,245	0,292	0,070297
8	0,124	0,135	0,014837
9	0,54	0,318	0,0116925
10	0,482	0,186	0,062093
11	0,335	0,206	0,065461
12	0,381	0,178	0,053703
13	0,283	0,425	0,108275
14	0,228	0,391	0,078669
15	0,595	0,537	0,271277
16	0,538	0,309	0,202224
17	0,593	0,507	0,263398
18	1,123	0,56	0,589208
19	1,069	0,603	0,708697
20	0,406	0,776	0,392409
Mittelwert	0 44615	0 3285	0 159118625
Standardahweichung	0,25453038	0,18399785	0 196306738
Median	0.358	0.281	0.0691405
Minimum	0.124	0.105	0.0116925
Maximum	1 123	0 776	0 708697
Interquartilabstand	0.233	0 25725	0 1760745
Anzahl	20	20	20

Die folgenden Tabelllen zeigen die detallierten Ergebnisse der

Tabelle 3: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm), Schnittfläche (in mm²) mit dem Hoch-Frequenz-Chirurgiegerät

SLA 0mm 3W geschwärzt	Schnitttiefe [mm]	Schnittbreite [mm]	Schnittfläche [mm]
1	0 339	0 297	0 103225
2	0.310	0.328	0,103223
2	0,309	0,328	0 112122
Δ	0.375	0,193	0,073933
	0,579	0,175	0,073733
6	0,326	0,200	0,076783
0 7	0,347	0,212	0,070785
8	0,747	0.261	0,071455
9	0.932	0.281	0,250205
10	0,254	0,261	0,201470
10	0,234	0,401	0,102422
12	0.162	0,375	0,001244
12	0,102	0,303	0,04025
17	0,788	0,357	0,277000
14	0.342	0,354	0,210048
16	0,542	0,334	0,101075
10	0,107	0,205	0,077700
17	0,225	0,304	0,080272
10	0,441	0,393	0,207397
20	0,401	0,383	0,10979
20	0,021	0,548	0,219175
Mittelwert	0 43215	0 31675	0 14558135
Standardabweichung	0.21405909	0 07197724	0.076391928
Median	0.361	0 321	0 1078045
Minimum	0.162	0,181	0.04625
Maximum	0.932	0 461	0 299666
Interquartilabstand	0 293	0.08125	0 12852875
Anzahl	20	20	20

Tabelle 4: Gemessene Schnitttiefe (in mm, Schnittbreite (in mm), Schnittfläche (in mm²) mit dem 970nm Laser bei 3W und geschwärzter Spitze

SLB 0mm 2Wcw 45°	Schnitttiefe [mm]	Schnittbreite [mm]	Schnittfläche [mm]
1	1,199	0,235	0,276929
2	0,845	0,287	0,228507
3	1,179	0,304	0,325857
4	0,634	0,289	0,174607
5	0,904	0,417	0,276812
6	1,578	0,308	0,357032
7	1,536	0,224	0,344103
8	0,521	0,282	0,125301
9	2,579	0,349	0,798269
10	0,707	0,158	0,159647
11	0,904	0,279	0,185393
12	0,581	0,132	0,079266
13	0,658	0,251	0,129954
14	0,588	0,318	0,160947
15	0,849	0,39	0,310608
16	0,883	0,251	0,203672
17	1,089	0,285	0,303028
18	1,134	0,306	0,3129
19	0,815	0,327	0,264675
20	0,775	0,189	0,202232
Mittelwert	0,9979	0,27905	0,26098695
Standardabweichung	0,47502708	0,07010254	0,149790121
Median	0,866	0,286	0,246591
Minimum	0,521	0,132	0,079266
Maximum	2,579	0,417	0,798269
Interquartilabstand	0,4505	0,0635	0,139989
Anzahl	20	20	20

Tabelle 5: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm), Schnittfläche (in mm²) mit dem 445nm Laser bei 2Wcw mit 0mm Abstand, im 45° Winkel zur Gewebeprobe

SLB 0mm	Schnitttiefe [mm]	Schnittbreite [mm]	Schnittfläche [mm]
2Wcw			
1	0,647	0,354	0,205679
2	0,379	0,286	0,103245
3	0,354	0,346	0,150045
4	0,337	0,274	0,129625
5	0,576	0,353	0,188362
6	0,686	0,346	0,228863
7	1,116	0,343	0,400888
8	1,171	0,262	0,284257
9	0,376	0,369	0,098805
10	0,904	0,172	0,157667
11	1,142	0,214	0,228722
12	0,963	0,228	0,248925
13	0,751	0,419	0,301489
14	0,478	0,294	0,136467
15	0,393	0,248	0,114537
16	0,26	0,25	0,081844
17	0,405	0,259	0,117065
18	0,571	0,339	0,141698
19	0,988	0,483	0,428638
20	1,012	0,429	0,412769
Mittelwert	0,67545	0,3134	0,2079795
Standardabweichung	0,30698559	0,0784685	0,108256004
Median	0,6115	0,3165	0,1730145
Minimum	0,26	0,172	0,081844
Maximum	1,171	0,483	0,428638
Interquartilabstand	0,57975	0,0965	0,131273
Anzahl	20	20	20

 Tabelle 6: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm), Schnittfläche (in mm²) mit dem 445nm Laser bei 2Wcw mit 0mm Abstand zum Gewebe

SLB 1mm	Schnitttiefe [mm]	Schnittbreite [mm]	Schnittfläche [mm]
4Wcw			
1	1,996	0,769	1,372107
2	1,674	0,791	1,213917
3	1,644	0,926	1,307415
4	0,884	0,387	0,276847
5	0,548	0,306	0,155779
6	0,503	0,71	0,367319
7	0,419	0,593	0,288345
8	0,496	0,355	0,196412
9	0,509	0,234	0,125704
10	0,793	0,172	0,150795
11	0,991	0,296	0,251981
12	0,313	0,881	0,405334
13	0,435	0,268	0,122044
14	0,429	0,255	0,110651
15	0,669	0,229	0,150292
16	0,573	0,249	0,115725
17	0,475	0,285	0,15155
18	2,948	0,418	1,409452
19	0,571	0,508	0,166563
20	0,595	0,533	0,284941
Mittelwert	0,87325	0,45825	0,43115865
Standardabweichung	0,67697445	0,24032278	0,467530555
Median	0,572	0,371	0,2241965
Minimum	0,313	0,172	0,110651
Maximum	2,948	0,926	1,409452
Interquartilabstand	0,42	0,3575	0,2261535
Anzahl	20	20	20

Tabelle 7: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm), Schnittfläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 4Wcwmit 1mm Abstand zum Gewebe

Tabelle 8: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm), Schnittfläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 1Wcw mit 0mm Abstand zum Gewebe

SLB 0mm 4Wcw	Schnitttiefe [mm]	Schnittbreite [mm]	Schnittfläche [mm]
1	0,494	0,255	0,105188
2	0,587	0,193	0,10541
3	0,601	0,462	0,237694
4	1,029	0,299	0,301353
5	0,601	0,277	0,210659
6	0,451	0,111	0,055771
7	0,629	0,178	0,095684
8	0,409	0,159	0,057785
9	0,778	0,433	0,274721
10	0,481	0,292	0,155104
11	0,613	0,414	0,25763
12	0,386	0,378	0,127581
13	0,352	0,372	0,102369
14	0,373	0,375	0,106951
15	0,375	0,516	0,287267
16	0,165	0,509	0,158598
17	0,509	0,451	0,280642
18	0,343	0,406	0,121122
19	0,295	0,263	0,075752
20	0,301	0,292	0,069561
Mittelwert	0,4886	0,33175	0,1593421
Standardabweichung	0,19306677	0,11788079	0,085054802
Median	0,466	0,3355	0,1243515
Minimum	0,165	0,111	0,055771
Maximum	1,029	0,516	0,301353
Interquartilabstand	0,23325	0,15775	0,14198025
Anzahl	20	20	20

Tabelle 9: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm), Schnittfläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 4Wcw mit 0mm Abstand zum Gewebe

SLB 1mm 2Wcw	Schnitttiefe [mm]	Schnittbreite [mm]	Schnittfläche [mm]
1	0,375	0,744	0,178942
2	0,357	0,369	0,155754
3	0,463	0,178	0,058228
4	0,508	0,295	0,133094
5	0,447	0,168	0,057694
6	0,488	0,208	0,083425
7	0,619	0,322	0,152607
8	0,251	0,414	0,121641
9	0,518	0,412	0,16471
10	0,269	0,355	0,090931
11	0,409	0,255	0,097451
12	0,406	0,236	0,08265
13	0,423	0,212	0,09368
14	0,125	0,351	0,034269
15	0,212	0,326	0,058198
16	0,459	0,312	0,163039
17	0,503	0,393	0,184103
18	0,636	0,358	0,209833
19	0,682	0,336	0,193466
20	0,281	0,256	0,069283
Mittelwert	0,42155	0,325	0,1191499
Standardabweichung	0,14420471	0,12392145	0,053124211
Median	0,435	0,324	0,109546
Minimum	0,125	0,168	0,034269
Maximum	0,682	0,744	0,209833
Interquartilabstand	0,16625	0,1105	0,0841485
Anzahl	20	20	20

Tabelle 10: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm), Schnittfläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 2Wcw mit 1mm Abstand zum Gewebe

Elektrotom 9,75	Nekrosetiefe [mm ²]	Nekrosefläche [mm ²]
1	0,037	0,06989
2	0,041	0,037
3	0,017	0,01604
4	0,029	0,03523
5	0,055	0,07767
6	0,033	0,05923
7	0,023	0,06911
8	0,009	0,00155
9	0,041	0,32826
10	0,076	0,16382
11	0,018	0,012171
12	0,018	0,01487
13	0,021	0,06907
14	0,026	0,01548
15	0,068	0,31922
16	0,094	0,19383
17	0,048	0,1066
18	0,108	0,46925
19	0,091	0,09818
20	0,041	0,05533
Mittelwert	0,0447	0,11059005
Standardabweichung	0,02861192	0,12590112
Median	0,039	0,06909
Minimum	0,009	0,00155
Maximum	0,108	0,46925
Interquartilabstand	0,03575	0,0904725
Anzahl	20	20

Tabelle 11: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mit dem Hoch-Frequenz-Chirurgiegerät

SLA 0mm	Nekrosetiefe [mm ²]	Nekrosefläche [mm ²]
3W geschwärzt		
1	0,182	0,128645
2	0,164	0,125066
3	0,129	0,135231
4	0,088	0,068028
5	0,084	0,055439
6	0,034	0,006437
7	0,085	0,02685
8	0,077	0,07489
9	0,071	0,082569
10	0,035	0,007559
11	0,061	0,017401
12	0,037	0,009397
13	0,061	0,036205
14	0,058	0,018527
15	0,027	0,005349
16	0,061	0,012876
17	0,062	0,030038
18	0,045	0,025614
19	0,079	0,025169
20	0,057	0,022766
Mittelwert	0,07485	0,0457028
Standardabweichung	0,04102025	0,0426739
Median	0,0615	0,026232
Minimum	0,027	0,005349
Maximum	0,182	0,135231
Interquartilabstand	0,03025	0,05347375
Anzahl	20	20

Tabelle 12: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm²) mit dem 970nm Laser bei 3W mit 0mm Abstand zum Gewebe und geschwärzter Spitze

SLB 0mm	Nekrosetiefe [mm ²]	Nekrosefläche [mm ²]
2Wcw 45°		
1	0,039	0,040084
2	0,035	0,014511
3	0,019	0,010644
4	0,032	0,008411
5	0,044	0,014818
6	0,057	0,046727
7	0,041	0,032997
8	0,043	0,00899
9	0,086	0,157878
10	0,072	0,023119
11	0,055	0,020806
12	0,057	0,025929
13	0,032	0,01687
14	0,019	0,005965
15	0,038	0,02069
16	0,061	0,029902
17	0,066	0,041095
18	0,081	0,069887
19	0,029	0,011041
20	0,031	0,016419
Mittelwert	0,04685	0,03083915
Standardabweichung	0,01929078	0,03381443
Median	0,042	0,020748
Minimum	0,019	0,005965
Maximum	0,086	0,157878
Interquartilabstand	0,026	0,02112525
Anzahl	20	20

Tabelle 13: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 2Wcw im 45° Winkel, mit 0mm Abstand zum Gewebe
SLB 0mm	Nekrosetiefe [mm ²]	Nekrosefläche [mm ²]
2Wcw		
1	0,042	0,016744
2	0,044	0,013495
3	0,062	0,021156
4	0,043	0,018235
5	0,044	0,038897
6	0,074	0,058726
7	0,089	0,087015
8	0,77	0,09589
9	0,049	0,016441
10	0,047	0,019608
11	0,043	0,086886
12	0,065	0,078636
13	0,076	0,072467
14	0,057	0,040611
15	0,045	0,027418
16	0,051	0,02223
17	0,086	0,035779
18	0,032	0,03535
19	0,076	0,096245
20	0,086	0,122437
Mittelwert	0,09405	0,0502133
Standardabweichung	0,16004028	0,03392032
Median	0,054	0,037338
Minimum	0,032	0,013495
Maximum	0,77	0,122437
Interquartilabstand	0,032	0,0599295
Anzahl	20	20

Tabelle 14: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 2Wcw mit 0mm Abstand zum Gewebe

SLB 1mm 4Wcw	Nekrosetiefe [mm ²]	Nekrose [mm ²] Fläche
1	0.083	0 17702
2	0.091	0.215549
3	0.101	0.186481
4	0.068	0.034656
5	0,046	0,017931
6	0,065	0,035462
7	0,056	0,029186
8	0,064	0,043513
9	0,061	0,045286
10	0,054	0,038489
11	0,056	0,04286
12	0,027	0,008719
13	0,054	0,045695
14	0,049	0,0293
15	0,1	0,106742
16	0,059	0,041224
17	0,045	0,032022
18	0,093	0,245193
19	0,041	0,025836
20	0,064	0,043772
Mittelwert	0 06385	0 0722468
Standardabweichung	0,02023877	0,0721546
Median	0,06	0,042042
Minimum	0,027	0,008719
Maximum	0,101	0,245193
Interquartilabstand	0,019	0,02961525
Anzahl	20	20

Tabelle 15: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 4Wcw mit 1mm Abstand zum Gewebe

SLB 0mm	Nekrosetiefe [mm ²]	Nekrosefläche [mm ²]
1Wcw		
1	0,075	0,023416
2	0,023	0,011033
3	0,022	0,004871
4	0,021	0,006785
5	0,045	0,039105
6	0,068	0,114226
7	0,072	0,101171
8	0,073	0,104305
9	0,078	0,77813
10	0,035	0,026119
11	0,021	0,013744
12	0,121	0,142036
13	0,051	0,031452
14	0,041	0,016548
15	0,06	0,037544
16	0,143	0,182555
17	0,074	0,111719
18	0,1	0,082596
19	0,049	0,009222
20	0,038	0,007464
Mittelwert	0,0605	0,09220205
Standardabweichung	0,03330797	0,1698888
Median	0,0555	0,034498
Minimum	0,021	0,004871
Maximum	0,143	0,77813
Interquartilabstand	0,037	0,09309225
Anzahl	20	20

Tabelle 16: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 1Wcw mit 0mm Abstand zum Gewebe

SLB 0mm	Nekrosetiefe [mm ²]	Nekrosefläche [mm ²]
4Wcw		
1	0,053	0,035266
2	0,048	0,014248
3	0,055	0,022384
4	0,026	0,022876
5	0,025	0,017257
6	0,048	0,027383
7	0,047	0,038731
8	0,071	0,025615
9	0,034	0,046828
10	0,043	0,026874
11	0,083	0,04066
12	0,027	0,033709
13	0,061	0,04837
14	0,106	0,072544
15	0,058	0,088715
16	0,033	0,049449
17	0,061	0,043456
18	0,076	0,038131
19	0,038	0,015184
20	0,031	0,015381
Mittelwert	0,0512	0,03615305
Standardabweichung	0,02115009	0,01914765
Median	0,048	0,0344875
Minimum	0,025	0,014248
Maximum	0,106	0,088715
Interguartilabstand	0,02725	0,021546
Anzahl	20	20

Tabelle 17: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm²) mit dem 445nm Laser bei 4Wcw mit 0mm Abstand zum Gewebe

SLB 1mm	Nekrosetiefe [mm ²]	Nekrosefläche [mm ²]
2Wcw		
1	0,049	0,039545
2	0,047	0,021741
3	0,021	0,017916
4	0,071	0,033542
5	0,054	0,017975
6	0,072	0,052914
7	0,05	0,049265
8	0,071	0,053091
9	0,046	0,040487
10	0,078	0,049238
11	0,113	0,053998
12	0,063	0,040343
13	0,094	0,049901
14	0,042	0,019573
15	0,087	0,040233
16	0,139	0,076896
17	0,066	0,033303
18	0,055	0,044095
19	0,037	0,037636
20	0,053	0,003489
Mittelwert	0,0654	0,03875905
Standardabweichung	0,0273157	0,01670149
Median	0,059	0,040288
Minimum	0,021	0,003489
Maximum	0,139	0,076896
Interquartilabstand	0,025	0,0190115
Anzahl	20	20

Tabelle 18: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 2Wcw mit 1mm Abstand zum Gewebe

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: schematischer Laseraufbau6
Abbildung 2: Wechselwirkung zwischen Laser und Materie. Quelle: Sirona
Dentai Systems Ginon
Abbildung 3: Absorptionskoeffizient in Abhängigkeit der Wellenlänge von
Hämoglobin, Melanin und Wasser. Quelle: Braun et al. 201510
Abbildung 4: Schematische Darstellung Prinzip der Hochfrequenz-
Chirurgie
Abbildung 5: Skizze Stromkreis des KaVO HF-Chirurgiegerätes
Abbildung 6: Diagramm Continous Wave Modus. 970nm Laser bei 3 W
Ausgangsleistung
Abbildung 7: Diagramm gepulster Modus. Pulsfrequenz: 970nm Laser.
10μs bis 0,99s einstellbar
Abbildung 8: Diagramm Peak-pulse Modus. 970nm Laser. Pulsdauer
(23µs); Impulsleistung (14W); Frequenz (20kHz)26
Abbildung 9: Zur Vorbereitung für Trenn-Dünnschliff-Technik Eingebettete
Präparate auf Objektträger geklebt28
Abbildung 10: Mukosalappen aus dem Vestibulum eines Schweinekiefers
Abbildung 11: Verfahrschlitten mit 445nm Laser Handstück zur
Gewährleistung identischer Inzisionsgeschwindigkeit in allen
Versuchsreihen
Abbildung 12: In Kochsalz-Lösung eingelegte Gewebeproben in
Kunststoffröhrchen
Abbildung 13: Auf Objektträger geklebtes in Technovit eingebettetes

Präparat
Abbildung 14: Diamant Trennsystems (EXAKT Apparatebau,
Nordenstedt). Herstellung 500µm starker Dünnschnitte
Abbildung 15: Mikro Schleifgerät (EXAKT Apparatebau, Nordenstedt).
Herstellung 200µm starker Dünnschliffe
Abbildung 16: Manuelle Messung der Präparatdicke zu Kontrolle35
Abbildung 17: Präparat beim Färben mit Eosin
Abbildung 18: Digitalisiertes Präparat
Abbildung 19: Skala als Streckenreferenz
Abbildung 20: Mikroskop mit Kamera
Abbildung 21: Digitalisiertes Präparat
Abbildung 22: Aufbau eines Boxplot Diagramms
Abbildung 23: Ergebnisse Schnitttiefe, Boxplot: Größte Schnittiefe: 445nm
Laser 2Wcw Gewebekontakt 45° Winkel: Median 0,87mm (Minimum:
0,52mm, Maximum: 2,58mm, Interquartilabstand: 0,45mm), Geringste
Schnitttiefe: Elektrotom: Median 0,36mm (Minimum:0,12mm, Maximum:
1,12mm, Interquartilabstand: 0,23mm)
Abbildung 24: Ergebnisse Schnittbreite Boxplot: Keine signifikanten
Unterschiede (p>0,05)
Abbildung 25: Ergebnisse Schnitttfläche, Boxplot:Größte Schnittfläche:
445nm Laser 2Wcw Gewebekontakt 45° Winkel: Median 0,25mm ²
(Minimum: 0,08mm ² , Maximum: 0,80mm ² , Interquartilabstand: 0,14mm ²),
Geringste Schnittfläche: Elektrotom: Median 0,07mm ² (Minimum:
0,01mm ² , Maximum: 0,71mm ² , Interquartilabstand: 0,18mm ²)42
Abbildung 26: Ergebnisse Nekrosetiefe Boxplot:Geringsten Nekrosetiefen:

Abbildung 27: Ergebnisse Nekrosefläche. Boxplot:Geringste Nekrosefläche: 445nmLaser Gewebekontakt 2Wcw 45° Winkel: Median 0,02mm² (Minimum: 0,01 mm², Maximum: 0,16 mm², Interguartilabstand: 0,02 mm²) Größte Nekrosefläche: Elektrotom bei Einstellung 9,75 Gewebekontakt: Median 0.07mm² (Minimum: 0.01 mm², Maximum: 0.47 Abbildung 30: Eppendorf Gefäßständer nach Laser-Kontakt links in der Probe: Kontakt durch roten Laser, rechts in der Probe: Kontakt durch

Abbildung 39: Schmelz und Dentin	.64
Abbildung 40: Schmelz und	.64
Abbildung 41: Schmelz und	.64
Abbildung 42: Komposit nach Kontakt:	.64
Abbildung 43: Knochen Nach Kontakt	.64

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Veränderung der Materialoberflächen nach Laser-Kontakt 51
Tabelle 2: Übersicht der Veränderungen der Proben nach Laserkontakt (+
Veränderung)
Tabelle 3: Gemessene Schnitttiefe (in mm) , Schnittbreite (in mm), Schnittfläche (in mm ²) mit dem Hoch-Frequenz-Chirurgiegerät
Tabelle 4: Gemessene Schnitttiefe (in mm , Schnittbreite (in mm),Schnittfläche (in mm²) mit dem 970nm Laser bei 3W und geschwärzter
Spitze
Tabelle 5: Gemessene Schnitttiefe (in mm) , Schnittbreite (in mm),Schnittfläche (in mm²) mit dem 445nm Laser bei 2Wcw mit 0mm Abstand,im 45° Winkel zur Gewebeprobe
Tabelle 6: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm), Schnittfläche (in mm²) mit dem 445nm Laser bei 2Wcw mit 0mm Abstand zum Gewebe
Tabelle 7: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm),Schnittfläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 4Wcwmit 1mm Abstandzum Gewebe
Tabelle 8: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm),Schnittfläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 1Wcw mit 0mm Abstandzum Gewebe
Tabelle 9: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm),Schnittfläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 4Wcw mit 0mm Abstandzum Gewebe
Tabelle 10: Gemessene Schnitttiefe (in mm), Schnittbreite (in mm),

Schnittfläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 2Wcw mit 1mm Abstand
zum Gewebe
Tabelle 11: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mitdem Hoch-Frequenz-Chirurgiegerät
Tabelle 12: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm ²) mit
dem 970nm Laser bei 3W mit 0mm Abstand zum Gewebe und geschwärzter Spitze
Tabelle 13: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mit
dem 445nm Laser bei 2Wcw im 45° Winkel, mit 0mm Abstand zum
Gewebe
Tabelle 14: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mit dem 445nm Laser bei 2Wcw mit 0mm Abstand zum Gewebe76
Tabelle 15: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mit
dem 445nm Laser bei 4Wcw mit 1mm Abstand zum Gewebe77
Tabelle 16: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mit
dem 445nm Laser bei 1Wcw mit 0mm Abstand zum Gewebe78
Tabelle 17: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm ²) mit
dem 445nm Laser bei 4Wcw mit 0mm Abstand zum Gewebe79
Tabelle 18: Gemessene Nekrosetiefe (in mm), Nekrosefläche (in mm2) mit
dem 445nm Laser bei 2Wcw mit 1mm Abstand zum Gewebe

11. Literaturverzeichnis

Abt E, Wigdor H, Lobraico R. Removal of benign intraoral masses using the CO2 laser. JADA, 1987;115: 7-29.

Ansari MA, Erfanzadeh M, Mohajerani E. Mechanisms of Laser-Tissue Interaction: II. Tissue Thermal Properties. Journal of Lasers in Medical Sciences. 2013;4(3): 99-106.

Ansari MA, Mohajerani E. Mechanisms of Laser-Tissue Interaction: I. Optical Properties of Tissue, J Lasers Med Sci. 2011;2(3): 119-25.

Apfelberg DB, Maser MR, Lash H, White DN. Benefits of the CO2 laser in oral hemangioma excision. Plast Reconstr Surg. 1985;75: 46-52.

Asnaahari M, Moeini M. Effectivness of Lasers in the Treatment of Dentine Hypersensitivity. Journal of Lasers in Medical Sciences. 2013;4(1): 1-7.

Assaf M, Yilmaz S, Kuru B, Ipci SD, Noyun U, Kadir T. Effect of the diode laser on bacteremia associated with dental ultrasonic scaling: a clinical and microbiological study. Photomed Laser Surg. 2007;25: 250-256.

Bermejo A, Gonzblez O, Gonzblez JM. The pig as an animal model for experimentation on the temporomandibular articular complex. 1993;75: 18-23.

Blome B, Braun A, Sobarzo V et al. Molacular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using realtime polymerase chainreaction. Oral Microbial Immunol. 2008;23: 384-390.

Bock KD, Hensel H. Ruef J. Pflügers Archiv 1955;261: 322.

Brännström M. Dentin sensitivity and aspiration of odontoblasts. The Jour-

nal of the American Dental Association. 1963;66: 366-370.

Braun A, Dehn C, Krause F, Jepsen S. Short term clinical effects of adjunctive antimicribial photodynamic therapy (aPDT) in periodontal treatment-a randomized clinical trial. J Clin Periodontol. 2008;35: 877-884.

Braun A, Berthold M, Frankenberger R. Der 445-nm-Halbleiterlaser in der Zahnmedizin – Einführung einer neuen Wellenlänge. Quintessenz. 2015;66(2): 205–211

Braun A, Wenzler JS, Berthold M, Frankenberger R. Auf neuen Wegen – Der 445-nm-Laser in der klinischen Anwendung. Quintessenz. 2017;68(2):213-220.

Bruck HC. Histologische Technik. Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis. 1973.

Bryant GL, Davidson JM, Ossoff RH, Garrett CG, Reinisch L. Histologic study of oral mucosa wound healing: a comparison of a 6.0- to 6.8-micrometer pulsed laser and a carbon dioxide laser. Laryngoscope 1998;108(1 Pt 1): 7-13.

Caruso U, Nastri L, Piccolomini R, d'Ercole S, Mazza C, Guida L. Use of diode laser 980 nm as adjuvantive therapy in the treatment of chronic periodontitis. A randomized controlled clinical trial. New Microbiol. 2008;31: 513-518.

D'Arcangelo C, Di Nardo Di Maio F, Prosperi GD, Conte E, Baldi M, Caputi S. A preliminary study of healing of diode laser versus scalpel incisions in rat oral tissue: a comparison of clinical, histological, and immunohistochemical results. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;103(6): 73-764. Dederich DN. Laser/tissue interaction: What happens to laser light when it strikes tissue?. JADA, 1993; 124(2): 57-61

Donges A. Physikalische Grundlagen der Lasertechnik. 1988.

Einstein A. Über einen die Erzeugung und Verwandlung des Lichts betreffenden heuristischen Gesichtspunkt. Annalen der Physik 1905;17: 132ff.

Frame JW. Carbon dioxide laser surgery for benign oral lesions. Br Dent J. 1992;71: 221-228.

Frame JW. Carbon dioxide laser surgery for benign oral lesions. Br Dent J. 1985; 158: 125-132.

Frentzen M, Koort HJ. Lasertechnik in der Zahnheilkunde. Dtsch Zahnärztl Z. 1991;46: 443-454.

Gorisch W, Boergen KP. Heat-induced contraction of blood vessels. Lasers Surg Med. 1982;2(1): 1-13.

Gutknecht N, Franzen R, Schippers M, Lampert F. Bactericidal effect of a 980 nm diode laser in the root canal wall dentin of bovine teeth. J Clin Laser Med Surg. 2004;22: 9-13.

Haytac MC, Ozcelik O. Evaluation of patient perceptions after frenectomy operations: a comparison of carbon dioxide laser and scalpel techniques. J Periodontol. 2006;77: 1815-1819.

Hendrick DA, Meyers A. Wound healing after laser surgery. Otolaryngol Clin North Am. 1995;28(5): 86-969.

Horch HH. Die Laserchirurgie im Mund-, Kiefer-, Gesichtsbereich. Zahnärztl Mitt. 1985;75: 2554-2562. Horch HH. Laser in Zahn-, Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie-Workshop zur Thematik: Laser in der Zahnheilkunde, 23. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung in der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, 1991.

Jeney E, Zsolnai T. Untersuchung der bakteriostatischen und fungistatischen Wirkung von Natriumazid und Kaliumcyanid. Zbl. Bukt. I. 1957; 171: 117.

Kalakonda B, Farista S, Koppolu P, Baroudi K, Uppada U, Mishra A, Savarimath A, Lingam AS. Evaluation of Patient Perceptions After Vestibuloplasty Procedure: A Comparison of Diode Laser and Scalpel Techniques. J Clin Diagn Res. 2016;10(5): 96-100.

Kantola S, Laine E, Tarna T. Laser induced effects on tooth structure, VI; X-ray diffraction study of dental enamel exposed to a CO2 laser. Acta Odontol Scand. 1973;31: 381-386.

KaVo Werk Dentale Einrichtungen. Gebrauchsanweisung SYSTEMATI-CA®1062. 1995;6: 121ff.

Kneubühl F, Sigrist M. Laser. 7. Auflage. Vieweg+Teubner, Wiesbaden 2008: 229ff.

Koçkapan C. Curriculum Endodontie. Berlin: Quintessenz; 2003.

Kühnisch J, Haak R, Buchalla W, Heinrich-Weltzien R. Kariesdetektion und -diagnostik bei Kindern und Jugendlichen. Oralprophylaxe & Kinderzahnheilkunde. 2007;29.

Lange W. Einführung in die Laserphysik. 1994.

Lopes BM, Theodoro LH, Melo RF, Thompson GM, Marcantonio RA.

Clinical and microbiologic follow-up evaluations after non-surgical periodontal treatment with erbium:YAG laser and scaling and root planning. J Periodontol. 2010;81: 682-691.

Lüllmann-Rauch R. Taschenlehrbuch Histologie. 2012.

Masson-Meyers DS, Bumah VV, Enwemeka CS. Blue light does impair wound healing in vitro. J Photochem Photobiol B. 2016;160: 53-60

Momeni A, Hartmann T, Born C, Pieper K. Kariesprävalenz und Behandlungsbedarf bei 12-Jährigen im Kreis Marburg-BiedenkopfOralprophylaxe & Kinderzahnheilkunde. 2006;26.

Morlock BJ, Pippin DJ, Cobb CM, Killoy WJ, Rapley JW. The effect of Nd:YAG laser exposure on root surfaces when used as an adjunct to root planing: an in vitro study. J Periodontol. 1992;7: 637-641.

Nelson DGA, Wefel JS, Jongebloed WL, Featherstone JDB. Morphology, histology and crystallography of human dental enamel treated with pulsed low energy infrared laser radiation. Caries Res. 1987;21: 411-426.

Petersson LG. The role of fluoride in the preventive management of dentin hypersensitivity and root caries. Clinical Oral Investigations. 2012;17 (S1): 63-71.

Pick RM. Using laser in clincal dental practice. JADA, 1993;124(2): 37-47.

Planck M. Zur Theorie des Gesetzes der Energieverteilung im Normalspectrum. Verhandlungen der Deutschen physikalischen Gesellschaft. 1900;2(17): 245.

Renton-Harper P, Midda M. Nd:YAG laser treatment of dentinal hypersensitivity. Br Dent J. 1992;172: 13-16. Romanos GE, Gutknecht N, Dieter S, Schwarz F, Crespi R, Sculean A. Laser wavelengths and oral implantology. Lasers Med Sci. 2009;24: 961–970.

Sachs L. Angewandte Statistik: Anwendung statistischer Methoden. Springer-Verlag, 2013.

Sirona Dental Systems GmbH. Gebrauchsanweisung SIROLaser Advance. 2012.

Sirona Dental Systems GmbH. Operating Instructions SIROLaser Blue. 2015.

Sjögren U, Figdor D, Persson S et al. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical parodontitis. Int Endod J. 1997;30: 297-360.

Soares FM, Tarver EJ, Bimstein E, Shaddox LM, Bhattacharyya I. Gingival overgrowth in a child with arthrogryposis treated with a Er,Cr:YSGG laser: a case report. Pediatr Dent 2009;31: 8-13.

Skora P, Kraus D, Meister J, Frentzen M. Neues Diodenlasersystem im blauen Lichtspektrum. Jahrbuch Laserzahnmedizin. 2017: 25-31

Sullivan TP, Eaglstein WH, Davis SC, Mertz P. The pig as a model for human wound healing. Wound Repair Regen. 2001;9: 66-76.

Umberto R, Russo C, Palaia G, Tenore G, Del Vecchio A. Treatment of Dentine Hypersensitivity by Diode Laser: A Clinical Study. International Journal of Dentistry. 2012.

Vogl T J, Mack M, Straub R, Eichler K, Engelmann K, Roggan A, Zangos S Perkutane interstitielle Thermotherapie maligner Lebertumoren. ROFO 2000; 172: 12-22.

Vescovi P, Corcione L, Meleti M, Merigo E, Fornaini C, Manfredi M, Bonanini M, Govoni P, Rocca JP, Nammour S. Nd:YAG laser versus traditional scalpel. A preliminary histological analysis of specimens from the human oral mucosa. Lasers Med Sci. 2010;25: 685-691.

Walsh JT, Deutsch TF. Er:YAG laser ablation of tissue: measurement of ablation rates. Lasers Surg Med. 1989;9: 327-329.

Wang S, Liu Y, Fang D, Shi S. The miniature pig: a useful large animal model for dental and orofacial research. Oral Diseases 2007;13: 530-537.

Yonaga K, Rimura Y, Matsumoto K. Treatment of cervical dentin hypersensitivity by various methods using pulsed Nd:YAG laser. J Clin Laser Med Surg 1999;17: 205-210

12. Tabellarischer Lebenslauf

13. Verzeichnis der Hochschullehrer

Meine akademischen Lehrer an der Philipps - Universität Marburg waren die Damen und Herren Professoren und Dozenten:

Arweiler, Auschill, Braun, Cetin, Czubayko, Feuser, Fischer, Frankenberger, Gente, Gloerfeld, Hellak, Himpel, Höffken, Jablonski-Momeni, Jacob, Kanngießer, Korbmacher-Steiner, Lamp, Lill, Lotzmann, Maier, Mandic, Mandrek, Mengel, Milani, Mittag, Moll, Mutters, Neff, Neumüller, Nonnenmacher, Pieper, Ramaswamy, Rausch, Richter, Roessler, Roggendorf, Teymoortash, Weber, Westermann, Wrocklage.

14. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Andreas Braun, Leitender Oberarzt und Stellvertreter des Direktors der Abteilung für Zahnerhaltungskunde im Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Philipps Universität Marburg, der mir dieses Dissertationsthema nicht nur zur Verfügung gestellt hat, sondern mir auch bei der Umsetzung jeder Zeit mit bestem Rat beiseite stand. Die Zusammenarbeit war mir eine besondere Freude und hat das Projekt Doktorarbeit für mich zu einem sehr angenehmen uns spannenden Unterfangen gemacht.

Danke auch an Frau Grimmelbein, medizinisch-technische Assistentin des zahnmedizinischen Bereichs der Universität Marburg, für die fleißige Unterstützung im Labor und den vielen Kaffee.

Meinen lieben Eltern und meiner Familie danke ich herzlich für all die Unterstützung, die ich im Laufe meines Lebens und meiner akademischen Ausbildung bekommen habe.

Und zu guter Letzt, Danke an meine Freundin Nadine, für die viele Geduld und Unterstützung in so vielerlei Hinsicht.

15. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel "Effektivität und histologische Auswertung von Gewebeproben nach Bearbeitung mit einem 455nm Halbleiterlaser" in der Klinik für Zahnerhaltungskunde (Leiter: Prof. Dr. R. Frankenberger) im Medizinischen Zentrum für Zahn- Mundund Kieferheilkunde der Philipps-Universität Marburg mit Unterstützung durch Prof. Dr. A. Braun ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Ich versichere, dass ich sämtliche wörtlichen oder sinngemäßen Übernahmen und Zitate kenntlich gemacht habe.