

**Bearbeitung von oralen Knochen- und Weichgeweben  
mit einem Lasersystem auf Ultrakurzpulsbasis**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn

Christina Sabine Plötz

aus Landshut

2013

Angefertigt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. Matthias Frentzen
2. Gutachter: Prof. Dr. Christoph Bourauel

Tag der Mündlichen Prüfung: 09.10.2013

Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Poliklinik für Parodontologie, Zahnerhaltung und Präventive Zahnheilkunde  
Direktor: Prof. Dr. Dr. S. Jepsen

Meinen Eltern



## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>7</b>
1.1 Einführung .....	7
1.2 Anatomie und Histologie des oralen Knochengewebes und der Schleimhäute .....	8
1.3 Möglichkeiten der Bearbeitung von oralen Hart- und Weichgeweben .....	10
1.3.1 Mechanische Bearbeitung .....	10
1.3.1.1 Hartgewebe .....	10
1.3.1.2 Weichgewebe .....	10
1.3.2 Schall-/Ultraschall .....	11
1.3.3 Lasersysteme .....	12
1.3.3.1 Übersicht über unterschiedliche Lasertypen .....	12
1.4 Methoden zur Einschätzung der Bearbeitungseffektivität und -qualität .....	17
1.4.1 Bearbeitungseffektivität .....	17
1.4.2 Bearbeitungsqualität .....	18
1.5 Ziel der Untersuchung .....	20
<b>2. Material und Methoden .....</b>	<b>21</b>
2.1 Probenmaterial .....	21
2.2 UKP-Laser und Versuchsaufbau .....	23
2.3 Versuchssystematik .....	25
2.4 Versuchsphase I-Festlegung der Ablationsparameter .....	26
2.4.1 Spongiosa .....	26
2.4.2 Kompakta .....	28
2.4.3 Gingiva .....	31
2.5 Versuchsphase II-Systematische Bestimmung der Ablationsrate von Knochen ..	33
2.6 Beschreibung der Auswertungsmethoden .....	34
2.6.1 Profilometrische Auswertung .....	34
2.6.2 Histologische Auswertung .....	35
2.6.3 Datenauswertung .....	36
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>37</b>
3.1 Versuchsphase I-Festlegung der Ablationsparameter .....	37

3.1.1 Spongiosa.....	37
3.1.2 Kompakta .....	40
3.1.3 Gingiva .....	46
3.2 Versuchsphase II-Systematische Bestimmung der Ablationsrate von Knochen..	50
3.3 Histologische Beurteilung.....	53
3.3.1 Kompakta .....	53
3.3.1.1 Versuchsphase I .....	53
3.3.1.2 Versuchsphase II .....	56
3.3.2 Gingiva .....	57
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>60</b>
4.1 Bewertung der angewandten Methoden .....	60
4.2 Diskussion der Ergebnisse anhand von Literaturvergleichen .....	62
4.3 Klinische Relevanz.....	67
4.4 Ausblick.....	68
<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>69</b>
<b>6. Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>70</b>
<b>7. Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>72</b>
<b>8. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>73</b>
<b>9. Danksagung .....</b>	<b>82</b>

# 1. Einleitung

## 1.1 Einführung

Der Einsatz von Lasern im medizinischen Bereich hat heutzutage eine signifikante Bedeutung. Auf dem Gebiet der Laserzahnheilkunde gibt es zahlreiche Studien und Publikationen, die nicht immer zu übereinstimmenden Ergebnissen kommen. Daher ist es zur Zeit noch schwierig, evidenzbasierte Aussagen über die klinische Relevanz oder die Überlegenheit von Laseranwendungen gegenüber konventionellen Verfahren zu treffen. Laser werden sowohl in der Human- als auch in der Zahnmedizin eingesetzt. Im medizinischen Bereich wurde als erster Laser ein Rubinlaser bereits 1960 erforscht (American Academy of Periodontology, 2002a; Suter et al., 2010). Seitdem werden Laser in der Humanmedizin in nahezu allen Fachbereichen genutzt. Allen voran steht der Einsatz in der Augenheilkunde und Dermatologie (Bäuerle, 2009; Tiedemann, 2011). Zur Knochenbearbeitung existieren nur wenige Untersuchungen mit abhängig vom Lasertyp unterschiedlichem Erfolg (Horch, 1978; Jahn et al., 1994; Nuss et al., 1988).

Im Bereich der Zahnmedizin gab es 1964 erste Versuche, den Rubinlaser zur Entfernung von Karies einzusetzen (Goldman et al., 1964). Auch andere Studien beschäftigten sich zu dieser Zeit mit dem Versuch, Zahnhartsubstanzen abzutragen (Goldman et al., 1965; Stern und Sognaes, 1964). Mittlerweile sind Laser in der Zahnmedizin seit etwa 30 Jahren im Zuge vieler Behandlungsmaßnahmen zu finden. Hierzu zählen die Bearbeitung von Zahnhartsubstanzen (Kariesentfernung, Wurzelkanalbehandlung) und Knochen- sowie Weichgewebe. Außerdem wird die Lasertechnologie für diagnostische Verfahren (Kariesdetektion oder Diagnostik von Zahnstein und Konkrementen mittels Laserfluoreszenz) oder kosmetische Anwendungen (Bleaching) verwendet (Braun et al., 2012a; Braun et al., 2012b; Brede, 2011; Dederich und Bushick, 2004; Frentzen et al., 2003; Frentzen et al., 2005; Frentzen und Koort, 1991b; Moogi und Rao, 2010). Der Einsatz des Lasers in der Oralchirurgie erschien zunächst erfolgversprechender als der Abtrag von Zahnhartsubstanz. Für chirurgische Indikationen, wie zum Beispiel die schneidende Osteotomie von Knochen (Frentzen et al., 2003; Papadaki et al., 2007) oder die Pilotbohrung von Implantaten (Stübinger et al., 2010), stehen verschiedene La-

sersysteme zur Verfügung. Demgegenüber stehen konventionelle mechanische Verfahren wie das Skalpell, rotierende Instrumente oder die Elektrochirurgie.

Ziel der vorliegenden Studie war es, eine im medizinischen Bereich noch wenig erprobte Lasertechnologie in Bezug auf zahnmedizinische Anwendungen grundlegend zu erproben.

## **1.2 Anatomie und Histologie des oralen Knochengewebes und der Schleimhäute**

Der Kiefer wird aus zwei Anteilen gebildet, dem Oberkieferknochen (Maxilla) und dem Unterkieferknochen (Mandibula). Die Maxilla grenzt die Mundhöhle von der Nasenhöhle und der Orbitahöhle ab. Die Mandibula bildet mit ihrem Processus condylaris an der Fossa temporalis das Kiefergelenk. Beide Knochen haben Bereiche, die den zahntragenden Abschnitt darstellen, den sogenannten Alveolarknochen. Innerhalb des Knochens verlaufen zahlreiche Nerven und Blutgefäße zur Eigenversorgung und zur Versorgung der Zähne. Die Hauptarchitektur des Knochens setzt sich aus Kompakta (auch Kortikalis genannt) und Spongiosa zusammen. Die Kompakta stellt die unter dem Periost liegende äußere Schicht der Kieferknochen dar, die Spongiosa liegt im Inneren. Eine Besonderheit des Alveolarknochens stellt die stark perforierte Lamina cribiformis dar, eine Knochenschicht, welche das Desmodont des Zahnhalteapparats mit der Spongiosa verbindet und die Versorgung der Zähne sichert. Der Alveolarknochen besteht gewichtsteilhaftig zu etwa 67-70 % aus anorganischem, zu 22-23 % aus organischem Material und zu 8 % aus Wasser. Der anorganische Teil wird zu etwa 60 % von Hydroxylapatit und zu etwa 40 % von Kalziumphosphat gebildet. Der organische Teil besteht zu mehr als 90 % aus mineralisierten Kollagenfasern. Die Kompakta ist im Unterkiefer oft dicker als im Oberkiefer und entspricht dem Aufbau anderer Knochen im Körper. Sie besteht aus multiplen kleinen Baueinheiten. Etwa 5-20 konzentrische dicht benachbarte Lamellen bilden im Inneren einen Kanal, den sogenannten „Havers-Kanal“. Dieser enthält Blutgefäße, Bindegewebs- und gelegentlich Nervengewebe und ist mit Endost ausgekleidet. Diese Architektureinheit wird als „Osteon“ bezeichnet und hat einen Durchmesser von etwa 100-400 µm. Über viele Knochenkanälchen bestehen zur Versorgung der Zellen des Knochens radiäre Verbindungen vom Havers-Kanal in die Peripherie des Osteons. Die

Spongiosa ist netzartig aus dünnen, etwa 300 µm dicken Knochenbälkchen, den Trabekeln, aufgebaut. Die Trabekeln sind bevorzugt entlang der Trajektorien, der Spannungslinien des Knochens, angeordnet. Dazwischen liegen Knochenmarksräume, die beim Erwachsenen größtenteils mit Fettgewebe gefüllt sind. Da die Knochenlamellen eher flächig angeordnet sind und keine Blutgefäße besitzen, werden die Knochenzellen hier durch Gefäße des Knochenmarks versorgt. Die Knochenzellen sind Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten. Osteoblasten bilden neue Knochenmatrix an freien knöchernen Oberflächen und werden oft durch Einmauerung in den neu entstandenen Knochen zu Osteozyten. Diese liegen in Lakunen zwischen den Knochenlamellen und haben zahlreiche Ausläufer, die sich in die Knochenkanälchen ausstrecken und mit anderen Osteozyten kommunizieren. Es wird vermutet, dass sie an der Steuerung des Knochenumbaus beteiligt sind. Osteoklasten sind mehrkernige Riesenzellen, die der mineralisierten Knochenmatrix in kleinen Mulden, den sogenannten „Howship-Lakunen“, direkt anliegen und für den Knochenabbau, z.B. im Zuge von Umbauvorgängen, verantwortlich sind.

Die Mundschleimhaut kleidet die gesamte Mundhöhle vor und hinter den Zahnreihen bis in den Rachenraum aus. Der Mundschleimhaut sitzt mehrschichtiges Plattenepithel auf, was je nach Region verhornt oder unverhornt ist. Die Schichten des Epithels sind von innen nach außen: Stratum basale entlang der Basallamina, Stratum spinosum, Stratum granulosum und Stratum corneum. Es enthält auch nichtepitheliale Zellen, wie Melanozyten, Langerhans-Zellen und Merkelzellen, die unterschiedliche Aufgaben, wie z.B. lokale Abwehr, wahrnehmen. Unter dem Epithel liegt die Lamina propria, das subepitheliale Bindegewebe. Es ist derb und besitzt zahlreiche Zellen (Fibroblasten, Mastzellen, Abwehrzellen), Kollagenfasern (hauptsächlich Typ I und III) und Nervenfasern. Je nach Region befindet sich unter der Lamina propria noch eine Schicht lockeren Bindegewebes, die Submukosa, welche z.B. Speicheldrüsen enthält. Man unterscheidet verschiedene Bereiche der Mundschleimhaut: die mastikatorische Schleimhaut am Gaumen und am Zahnfleisch wird mechanisch stärker beansprucht, ist unverschieblich mit der Unterlage verbunden und hat verhorntes Epithel. Die auskleidende Schleimhaut ist an Lippen, Wangen, Vestibulum, Mundboden, Zungenunterseite und weichem Gaumen zu finden und ist nicht verhornt. Die spezialisierte Schleimhaut bildet die Oberfläche des Zungen-

rückens und enthält spezielle Papillen für Geschmacks-, Tast- und Temperaturempfindung. Am Übergang von der befestigten Schleimhaut des Zahnfleisches, der „Attached Gingiva“, zum Zahn ist eine spezielle Architektur zu finden. Der sogenannte gingivale Sulkus bildet eine etwa 0,5 mm tiefe Rinne zwischen Zahn und Zahnfleisch, an dessen Boden das sogenannte „Saumepithel“ zu finden ist. Das Saumepithel verbindet das Zahnfleisch manschettenartig und lückenlos über Hemidesmosomen mit dem Zahn, um die Kontinuität der Mundhöhle aufrecht zu erhalten (Lüllmann-Rauch, 2003; Schroeder, 1992).

### **1.3 Möglichkeiten der Bearbeitung von oralen Hart- und Weichgeweben**

#### **1.3.1 Mechanische Bearbeitung**

##### **1.3.1.1 Hartgewebe**

Zur Bearbeitung von Knochen werden niedrig- oder hochtourige Fräsen, Diamantbohrer oder Sägen eingesetzt. Diese verursachen oft eine mechanische Schädigung, starke Erhitzung und Blutungen des Gewebes (Frentzen et al., 2003). In einer vergleichenden Studie wurden unter anderem verschiedene hoch- (Lindemannfräse, Diamantbohrer) und niedrigtourige (Rundbohrer) Fräsen zur Bearbeitung von Knochen herangezogen, von denen alle eine mechanische Traumatisierung der Randbereiche der bearbeiteten Stellen (Knochenfragmente, unregelmäßige Tiefen und Formen) und teils auch thermische Schädigungen verursachten, vor allem die Lindemannfräse (Romeo et al., 2009).

##### **1.3.1.2 Weichgewebe**

Das Standardinstrument zur Bearbeitung von Weichgewebe ist das Skalpell, welches in den vielfältigsten Formen existiert. Unumstrittene Nachteile von Skalpellern sind die hohe Blutung während und nach der Operation, das dadurch unübersichtliche Operationsfeld und die aufwendige Nachbehandlung durch Nähte oder andere blutstillende Maßnahmen. Auch das Aufrechterhalten oder Erreichen steriler Bedingungen ist problematisch. Die einfache und kostengünstige Anwendung, die geringe Traumatisierung umliegender Gewebe und die normalerweise unkompliziert verlaufende Wundheilung von Skalpellenzisionen sprechen wiederum für sie (Christensen, 2008; Moritz et al., 2006). Als Alternative zum Skalpell bei der Bearbeitung von Weichgewebe kommt die Elektrochirurgie mit-

tels Elektrotom zum Einsatz. Die Vorteile und Nachteile der Elektrochirurgie wurden u.a. von den Autoren Moritz et al. (2006) und Christensen (2008) beschrieben und zusammengefasst. Positive Aspekte sind die geringen Kosten, die flexible Anwendungsmöglichkeit der Elektrode und die einfach durchzuführende und konsistente Schnitfführung (Christensen, 2008). Die Elektrotomie ermöglicht die gleichzeitige Durchführung von Exzision und Koagulation, so dass ein blutungsarmes, übersichtliches Operationsfeld mit erniedrigtem Risiko der Keim- oder Tumorzellverschleppung gegeben ist (Moritz et al., 2006). Negative Aspekte sind die geringe Akzeptanz des Gerätes durch Patienten, die geringe Kontrolle darüber, welche Gewebe geschnitten werden, die Hitzeentwicklung beim Schneiden, verzögerte Wundheilung im Vergleich zum Skalpell durch stärkere Traumatisierung des Gewebes und mögliche Störung von Herzschrittmachern (Christensen, 2008). Die Elektrochirurgie ermöglicht zwar eine einfache, effektive Anwendung, ist aber aufgrund des hohen Risikos der Schädigung umliegender Gewebe mit Vorsicht und nicht bevorzugt anzuwenden. Auf Vor- und Nachteile mechanischer Verfahren im Vergleich zu Lasern wird in Kapitel 4.2 näher eingegangen.

### **1.3.2 Schall-/Ultraschall**

Ultraschallwellen können z.B. durch piezoelektrische Phänomene erzeugt werden. Die piezoelektrische Chirurgie wird zur Bearbeitung von Knochengewebe angewandt. Lambrecht (2004) demonstrierte die Möglichkeit, orales Knochengewebe mit einem piezoelektrischen Handstück zu bearbeiten, nämlich zur Zahnentfernung, zur Gewinnung autologen Knochens, zum Sinuslift und zur Freilegung des N. alveolaris inferior. Er führte als größten Vorteil dieser Methode die selektive Bearbeitung von Knochen und damit Schonung aller umliegenden Weichgewebe (Schleimhaut, Nerven), Hartgewebe bzw. Hartschubstanzen (Zähne, Implantate) an. Als nachteilig erschienen ihm die nach der Bearbeitung rauere Oberfläche, der anfänglich etwas verlangsamte Regenerationsprozess und die nötige Erfahrung im Umgang mit diesem Gerät (Lambrecht, 2004). Neben den oben genannten Vorteilen ist auch eine komplikationsfreie Wundheilung zu nennen. Der hohe Zeitaufwand schränkt diese Methode als alleiniges Verfahren jedoch ein (Siervo et al., 2004).

### 1.3.3 Lasersysteme

„Laser“ steht für „Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation“ und bedeutet „Lichtverstärkung durch stimulierte Emission von Strahlung“. Diese Bezeichnung stellt die Gemeinsamkeit aller Laser heraus: Ihre Strahlung entsteht durch stimulierte Emission und ist monochromatisch. Die Lasertypen unterscheiden sich hauptsächlich durch das Lasermedium, welches bestimmt, mit welcher Wellenlänge (Farbe) die Strahlung emittiert wird. Im Folgenden sollen unterschiedliche Lasertypen und deren Anwendungsbereiche in der Zahnmedizin kurz beschrieben werden. Auf die Ergebnisse der Studien wird in der Diskussion näher eingegangen.

#### 1.3.3.1 Übersicht über unterschiedliche Lasertypen

Laser können in der Zahnheilkunde einige prinzipielle Vorteile haben:

- blutstillende Wirkung durch Koagulation der Wundränder; dadurch u.U. Ermöglichung der Behandlung von Patienten mit hämorrhagischen Diathesen ohne Substitution und stationäre Aufnahme
- Generierung eines trockenen und übersichtlichen Operationsfeldes
- aseptische bzw. lokal sterilisierende Wirkung
- Verhinderung der Ausbreitung von Keimen und Erregern über die Blutbahn (Bakteriämie)
- Ermöglichung präziser und komplizierter Schnittmuster
- Möglichkeit der selektiven Abtragung verschiedener Gewebe
- Minimierung postoperativer Beschwerden (Schmerzen, Schwellungen, Nachblutungen)
- geringe Narbenbildung
- subjektiv angenehme Wahrnehmung und dadurch hohe Akzeptanz durch Patienten (wenig Schmerzen, Geräusche oder Vibrationen)
- Material- und Zeitersparnis

(Frentzen et al., 2003, Frentzen et al., 2005; Moritz et al., 2006, Pié-Sánchez et al., 2012; Rossmann und Cobb, 2000).

Auch allgemeine Nachteile von Lasern sind zu nennen:

- schlechte Kontrolle der Tiefenwirkung des Laserstrahles und somit Gefahr der

#### Schädigung benachbarten Gewebes

- minimale, aber dennoch auftretende Verzögerung der Wundheilung durch Koagulationsnekrose an den Wundrändern
- keine Eignung für größere Lappenoperationen im Bereich der Parodontalchirurgie
- fehlende Möglichkeit der taktilen Rückkopplung für manche Lasertypen, wie z.B. den CO<sub>2</sub>-Laser
- Verzögerung der Wundheilung im Weichgewebe bzw. des Nachwachsens von Taschenepithel nach offener Lappenchirurgie (Israel et al., 1995), z.B. beim CO<sub>2</sub>-Laser für einige Tage (Fisher et al., 1983)
- deutlich höhere Kosten für Anwendungen, die auch mit konventionellen Verfahren möglich sind
- Vorhandensein bestimmter Risiken und die Erfordernis einer speziellen Ausbildung und besonderer Schutzmaßnahmen beim Einsatz von Lasern
- histologisch verifizierbare Nebeneffekte: siehe Kapitel 3.3

(American Academy of Periodontology, 2002a; Christensen, 2008; Dederich und Bushick, 2004; Frentzen et al., 2005; Sarver, 2005)

#### **CO<sub>2</sub>-Laser:**

CO<sub>2</sub>-Laser haben eine Wellenlänge von 10600 nm und können im Dauerstrich- oder Pulsbetrieb benutzt werden. Sie werden aufgrund der hervorragenden Blutstillung durch den Verschluss kleiner Blutgefäße bis zu 0,5 mm Durchmesser im umliegenden Gewebe (Dederich und Bushick, 2004; American Academy of Periodontology, 2002a) zur schneidenden oder abtragenden Bearbeitung von Weichgewebe verwendet, wie zum Beispiel für Schleimhautkorrekturen (Kao et al., 2008) oder zur Abtragung von oberflächlichen Neoplasien (Combes und Mellor, 2009; Sharon-Buller und Sela, 2004). Zur Exzisionsbiopsie von Schleimhautläsionen wurde der CO<sub>2</sub>-Laser beispielsweise durch Suter et al. (2010) in Dauerstrich- und Pulsbetrieb eingesetzt. Weiterhin wird der CO<sub>2</sub>-Laser in der Weichgewebschirurgie zur Frenektomie und Gingivektomie (Dederich und Bushick, 2004; Frentzen et al., 2005) und zur Entepithelialisierung im Zuge von parodontalregenerativen Behandlungen (Rossmann und Israel, 2000) verwendet. Zur Knochenbearbeitung existieren nur wenige Untersuchungen. Bei einer Studie zur schneidenden Osteotomie an Knochen aus dem Jahre 1978 stand ein CO<sub>2</sub>-Laser (10600 nm) im Fokus

der Untersuchung (Horch, 1978). In einer Studie von Frentzen et al. (2003) wurde ein kurzgepulster (80- $\mu$ s) CO<sub>2</sub>-Laser mit Scannersystem unter Wasserkühlung zur schneidenden Osteomie von Knochen angewandt.

#### **Er:YAG-Laser:**

Er:YAG-Laser haben eine Wellenlänge von 2940 nm und werden im Pulsbetrieb genutzt. Sie werden hauptsächlich zur Bearbeitung von Hartgewebe eingesetzt. Die Bearbeitung von Weichgewebe ist zwar auch möglich, jedoch ist hier die blutstillende Wirkung, wie sie beim CO<sub>2</sub>-Laser gegeben ist, kaum vorhanden (de Mello et al., 2008). Der Er:YAG-Laser wird durch seine hohe Absorption in Wasser und Hydroxylapatit als besonders geeignet für die Abtragung organischer Gewebe angesehen. Die hohe Absorption führt zur Verdampfung des Wassers in den Zellen und damit zu Mikroexplosionen. Dadurch wird die Temperatur im umliegenden Gewebe nur wenig erhöht (American Academy of Periodontology, 2002a; Niemz, 1996). In einer Studie von Stübinger et al. (2007) wurden impaktierte Zähne in vivo mit Unterstützung von verschiedenen Er:YAG-Lasern entfernt. In einer anderen Studie wurde der Er:YAG-Laser zur vertikalen Ramusosteotomie an einem in vitro-Modell erprobt (Papadaki et al., 2007). Auch Pilotbohrungen für Implantate wurden erprobt und zeigten gegenüber konventionellen Verfahren ähnlich gute Ergebnisse hinsichtlich Osseointegration und Implantatstabilität (Stübinger et al., 2010).

#### **Er,Cr:YSGG-Laser:**

Der Er,Cr:YSGG-Laser hat eine Wellenlänge von 2780 nm und läuft im gepulsten Modus. Er ist sowohl zur Bearbeitung von Knochen ohne thermische Nebeneffekte (Kimura et al., 2001; Wang et al., 2002), als auch zur Bearbeitung von Weichgewebe (Arnabat-Dominguez et al., 2003; Rizoiu et al., 1996) einsetzbar. Er kann auch für Zahnhartsubstanzen verwendet werden (Dederich und Bushick, 2004).

#### **Nd:YAG-Laser:**

Der Nd:YAG-Laser hat eine Wellenlänge von 1064 nm und läuft im Dauerstrich- und Pulsbetrieb. Er kann mithilfe einer flexiblen Glasfaser direkt an den Ort der gewünschten Applikation geführt werden, was für die Anwendung in der Mundhöhle von Vorteil ist. Im

Bereich der Parodontalchirurgie kann der Nd:YAG-Laser z.B. zur Deepithelialisierung von Taschenepithel bei mäßiger Parodontitis oder bei Lappenoperationen eingesetzt werden (Gold und Vilardi, 1994; Dederich und Bushick, 2004). Auch bei der ästhetisch motivierten Behandlung überpigmentierter Bereiche der Gingiva (Ko et al., 2010) kann er verwendet werden. Des Weiteren wird er aufgrund großer Hitzewirkung im Gewebe und der damit verbundenen Koagulationswirkung bevorzugt bei der operativen Therapie von stark vaskularisiertem Gewebe, wie z.B. der Entfernung von Hämangiomen, verwendet (Romanos, 1994). Aufgrund seiner antimikrobiellen Wirkung wurde er auch zur Desinfektion von Zahnfleischtaschen mittels Laser erforscht (Dederich und Bushick, 2004).

### **Diodenlaser:**

Diodenlaser arbeiten mit Wellenlängen zwischen 810 und 930 nm und können im Dauerstrich- oder Pulsbetrieb verwendet werden. Es besteht die Möglichkeit, die Laserstrahlung über flexible Glasfasern direkt an den gewünschten Ort der Applikation zu führen, was einen breit gefächerten Einsatz dieses Lasertypes in der Zahnheilkunde ermöglicht. Diodenlaser haben eine antibakterielle Wirkung (Moritz et al., 2006). Sie können, ähnlich den Nd:YAG-Lasern, in der Parodontalchirurgie verwendet werden, auch wenn diese Anwendungen heutzutage nicht unumstritten sind (Dederich und Drury, 2002; American Academy of Periodontology, 2002b).

### **Excimer-Laser:**

Excimer-Laser erzeugen elektromagnetische Strahlung im ultravioletten Wellenlängenbereich (193-380 nm), welche zum Teil durch eine Glasfaser geleitet werden kann. Das laseraktive Medium besteht aus diatomaren Molekülen, vorrangig Edelgasen und Halogeniden. Diese können nur dann existieren, wenn eines der beiden sich im angeregten Zustand befindet. Das Molekül zerfällt unter Abgabe von Energie in Form von Licht (Haffner et al., 2004).

Mit einem Excimer-Laser wurden Gewebeproben des Kiefergelenks, bestehend aus Kompakta, Spongiosa, Knorpel, Diskus und Muskelgewebe, bearbeitet. Alle Gewebetypen konnten abgetragen werden (Haffner et al., 2004), so auch bei Liesenhoff und Funk (1994) in einer ähnlichen Studie. Studien von Frentzen et al. (1991a, 1992) und Liesenhoff und Funk (1994) belegen jedoch, dass es unter der Anwendung des Excimer-La-

sers zur Präparation des Wurzelkanals bzw. der Gewebe des Kiefergelenks zwar nur zu minimalen thermischen Nebeneffekten kommt, allerdings der Abtrag zu gering ist, um den Excimer-Laser im Bereich der Zahnmedizin effektiv klinisch nutzen zu können. Auch das Gefahrenpotential der UV-Strahlung dieses Lasertyps ist zudem als nachteilig anzusehen (Niemz, 1996).

#### **Ho:YAG-Laser:**

Der Ho:YAG-Laser hat eine Wellenlänge von 2100 nm und läuft im gepulsten Modus. Er wird hauptsächlich im Zuge der chirurgischen Kiefergelenksbehandlung eingesetzt (Gerard und Hender, 1995; Koslin und Martin, 1993).

#### **Argonlaser:**

Argonlaser haben Wellenlängen zwischen 457 und 524 nm (genutzt werden vor allem 488/514 nm) und laufen in Dauerstrich- oder Pulsbetrieb. Sie werden für einige Anwendungen innerhalb der Weichgewebschirurgie verwendet (Powell und Blankenau, 2002), da sie hervorragend in Hämoglobin absorbiert werden (Brunetaud und Jensen, 1986).

#### **Ultrakurzpuls laser („UKP“):**

Der Ultrakurzpuls laser („UKP“) repräsentiert eine neue Generation von Lasern im Bereich biophotonischer Anwendungen. Laserstrahlquellen, die Pulsdauern im Bereich von Pikosekunden (ps,  $10^{-12}$ ) und Femtosekunden (fs,  $10^{-15}$ ) aussenden, werden per definitionem als Ultrakurzpuls laser bezeichnet. Die Wellenlänge liegt bei diesen Lasern im Bereich von etwa 1000 nm. Die besondere Eigenschaft dieser Art von Lasern, die sie für den Gebrauch in der Zahnmedizin so interessant machen könnten, besteht in der Möglichkeit, alle möglichen Arten von Gewebe bzw. Biomaterialien abtragen zu können. Diese Eigenschaft ist dadurch begründet, dass die Intensität der einzelnen Pulse zum einen durch die sogenannte Modenkopplung, zum anderen durch eine gute Fokussierung der Laserstrahlung bis auf einige Gigawatt pro Quadratzentimeter erhöht werden kann. Dadurch erfolgt die Ablation unter Entstehung eines Plasmas durch direkte Vaporisation des Materials (Frentzen et al., 2010). Es finden sich bisher keine Hinweise in der Literatur, dass diese Art von Laser bereits zur Bearbeitung von Knochen- oder oralem Weichgewebe herangezogen wurde.

## **1.4 Methoden zur Einschätzung der Bearbeitungseffektivität und -qualität**

### **1.4.1 Bearbeitungseffektivität**

Um die Effektivität einer Bearbeitungsmethode einschätzen zu können, wird das Maß des Abtrags von Gewebe mit dem Laser als Ablationsrate gemessen. Das bedeutet, dass das Ablationsvolumen pro Zeit ermittelt wird. Die ermittelten Werte können graphisch dargestellt werden. Dazu ist die Kenntnis des Kavitätenvolumens, der Zeit, die zur Entstehung der Kavität benötigt wird, sowie der dazugehörigen Energiedichte erforderlich. Es ist allerdings auch möglich, das abgetragene Material unabhängig von der dazu benötigten Zeit zu bestimmen.

Um das Volumen einer Kavität zu bestimmen, stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung. Eine häufig durchgeführte Methode besteht darin, erzeugte Kavitäten mit einem optischen Mikrometer zu vermessen, welches mit Laserlicht arbeitet. Dies wurde für verschiedene orale Weichgewebs- und Knochenmaterialien genutzt (Krause et al., 1997, Nakamura et al., 1999, Romeo et al., 2009). Eine Kavität kann aber auch mithilfe eines Lichtmikroskops vermessen werden (Armstrong et al., 2002; Schwab et al., 2004). Es besteht darüber hinaus die Möglichkeit, mithilfe eines computergesteuerten Bildverarbeitungsprogramms die Ablationstiefe anhand digitalisierter lichtmikroskopischer Bilder zu berechnen (Spencer et al., 1999). Der Einsatz eines Rasterelektronenmikroskops zur Vermessung des Volumens von Kavitäten ist ebenfalls möglich (Lizarelli et al., 1999; Wieger et al., 2007). Kavitäten, die mit bloßem Auge gut zu erkennen sind, können auch mit ganz simplen Messlehren, beispielsweise mit einem Lineal, vermessen werden. Bei de Mello et al. (2008) wurde zur Vermessung der Kavitäten lediglich eine Parodontalsonde und ein Messzirkel nach Castroviejo herangezogen.

Aus der vorliegenden Literatur lässt sich ableiten, dass das Ausmaß der Ablation bei der Abtragung von oralem Knochen- und Weichgewebe, insbesondere mit Lasern, bisher nur wenig erforscht wurde, da das Hauptaugenmerk der meisten Arbeiten vorrangig auf histologischen Untersuchungen zur Ermittlung von Nebeneffekten lag. Auch für Studien, die sich mit der Abtragung von nicht oralem Knochen- oder Weichgewebe beschäftigten, gilt dies. Meistens wurden lediglich die Tiefen oder das Volumen der Kavitäten ermittelt

und diese Werte ohne Abhängigkeit von der Zeit herangezogen, um die Ablation zu beschreiben; die erhaltenen Werte wurden aber auch als Ablationsrate bezeichnet. Studien, die, wenn auch nicht für Knochen- oder Weichgewebe, auch die Bearbeitungszeit zur Ermittlung der Ablationsrate mit einbeziehen, finden sich bei Lizarelli et al. (1999) und Wieger et al. (2007). Beide ermittelten das Ablationsvolumen von Zahnhartsubstanzen (Schmelz, Dentin) bzw. Restaurationsmaterialien mithilfe eines Rasterelektronenmikroskops und berechneten die Ablationsrate in  $\mu\text{m}^3/\text{s}$  bzw.  $\text{mm}^3/\text{s}$  für eine Sekunde.

Bei technischen Anwendungen wird häufig auch ein optischer Streifenlichtsensor genutzt, unter anderem in der Zahnheilkunde zur Ermittlung der Ablationsmuster von Zirkon-Implantaten oder zur Untersuchung anderer Metalle oder Kunststoffe nach Bearbeitung mit einem Laser (Delgado-Ruiz et al., 2011; Dorronsoro et al., 2009; Galbács et al., 2010). Für die Anwendung dieser analytischen Technik bei Versuchen mit oralem Hart- und Weichgewebe finden sich bisher keine Hinweise. Vorversuche im Rahmen der vorliegenden Arbeit zeigten, dass neben der Oberflächenbeschaffenheit auch die Tiefe der Kavitäten von Knochen und Weichgewebe mit diesem Verfahren ohne biologische Aufbereitung der Proben ad hoc mit hoher Auflösung ausgemessen werden kann. Der Vorteil liegt hier in der Vermeidung von Verfälschungen durch Trocknungsartefakte.

#### **1.4.2 Bearbeitungsqualität**

Um die Bearbeitungsqualität biologischer Proben zu beurteilen, stehen verschiedene histologische Aufbereitungsmethoden zur Verfügung. Für Probekörper aus der Gingiva kommt die Paraffinhistologie mit HE-Färbung in Frage, welche aufgrund der sehr präzisen, bis in die zelluläre Ebene reichenden Darstellung der organischen Strukturen das Standardverfahren für die histologische Aufbereitung von organischem Weichgewebe darstellt und zum Beispiel von Suter et al. (2010) verwendet wurde. Auch Probekörper aus Knochen wurden in zahlreichen Studien, beispielsweise von de Mello et al. (2008), Ivanenko et al. (2002), Krause et al. (1997), McDavid et al. (2001), Nakamura et al. (1999), Romeo et al. (2009) oder Yoshino et al. (2009), mit dieser Methode aufbereitet. Probekörper aus Knochen können jedoch auch mittels Dünnschliff-Histologie und Toluidinblaufärbung histologisch untersucht werden. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass im Gegensatz zur Paraffinhistologie keine Entkalkung des Knochens notwendig ist.

Vorversuche im Rahmen dieser Arbeit zeigten, dass mit dieser Methode die zelluläre Struktur des Knochens genauestens dargestellt werden kann und Unterschiede zwischen den einzelnen Komponenten des Knochens gut detektiert werden können. Auch andere Autoren nutzten erfolgreich diese Methode zur histologischen Aufbereitung von Knochen (Pourzarandian et al., 2004; Spencer et al., 1999). Eigene vergleichende Untersuchungen mittels Kryostathistologie zeigten sowohl für die Gingiva, als auch für Knochen ein deutlich schlechteres Ergebnis hinsichtlich der Darstellung der zellulären Strukturen, so dass diese Methode verworfen wurde.

Es existieren noch weitere Verfahren, um die Oberflächenbeschaffenheit von Probekörpern zu untersuchen. Neben dem bereits erwähnten optischen Streifenlichtsensor (Delgado-Ruiz et al., 2011) gehören dazu die Rasterelektronenmikroskopie (Armstrong et al., 2002; Jahn et al., 1994; Kimura et al., 2001; Krause et al., 1997; Nakamura et al., 1999; Schwab et al., 2004; Yoshino et al., 2009), die Transmissionselektronenmikroskopie (Pourzarandian et al., 2004), die Fluoreszenzmikroskopie (Kuttenberger et al., 2010), die Stereoskopie (Kimura et al., 2001) oder die energiedisperse Röntgenspektroskopie zur Erfassung atomarer Veränderungen (Kimura et al., 2001).

## 1.5 Ziel der Untersuchung

Im Sinne einer Machbarkeitsstudie soll an einem in vitro-Modell untersucht werden, ob es möglich ist, Knochen- bzw. Weichgewebe auf schonende Art und Weise mit einem Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser abzutragen. Es sollen zunächst Laserparameter ermittelt werden, mit denen eine Abtragung von Gewebe möglich ist, also die Schwelle der Ablation ermittelt werden.

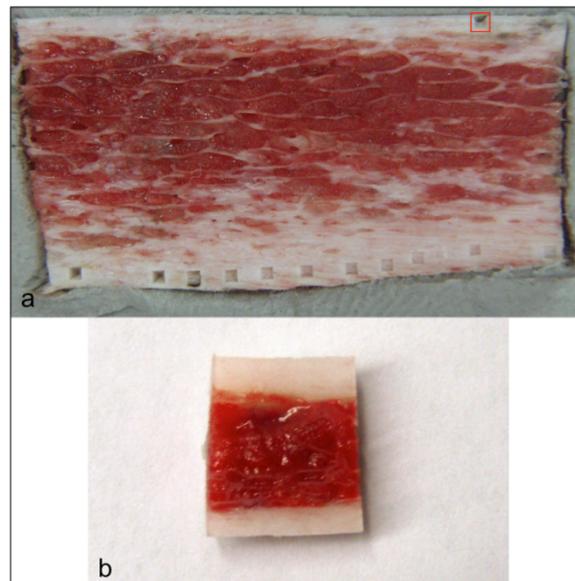
Die Bearbeitungseffektivität und die daraus abzuleitende Effizienz des untersuchten Lasersystems ist eine wichtige Kenngröße, um die Einsetzbarkeit des Nd:YVO<sub>4</sub>-Lasers in der klinischen Praxis beurteilen zu können. Die Effizienz soll anhand von Ablationsraten, welche das abgetragene Volumen pro Zeit darstellen, ermittelt und bewertet werden.

Die Bearbeitungsqualität sollte möglichst hoch sein. Das bedeutet, dass eine negative Beeinträchtigung der dem Abtrag umliegenden Bereiche durch thermische Schädigung im Sinne von Erhitzungen, Verschmelzungen, Koagulation, Denaturierung von Proteinen, Austrocknung, Blasenbildungen oder Karbonisierung des Gewebes, im besten Falle vollständig zu verhindern ist. Dazu sollen die maximal möglichen Ablationsparameter, die nicht zur Karbonisation der umliegenden Bereiche der Bearbeitungszone führen, ermittelt werden. Neben einer rein optischen Begutachtung soll die Oberflächenbeschaffenheit sowie der Zustand des umliegenden Gewebes der bearbeiteten Proben durch Anfertigung histologischer Schnitte untersucht werden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Probenmaterial

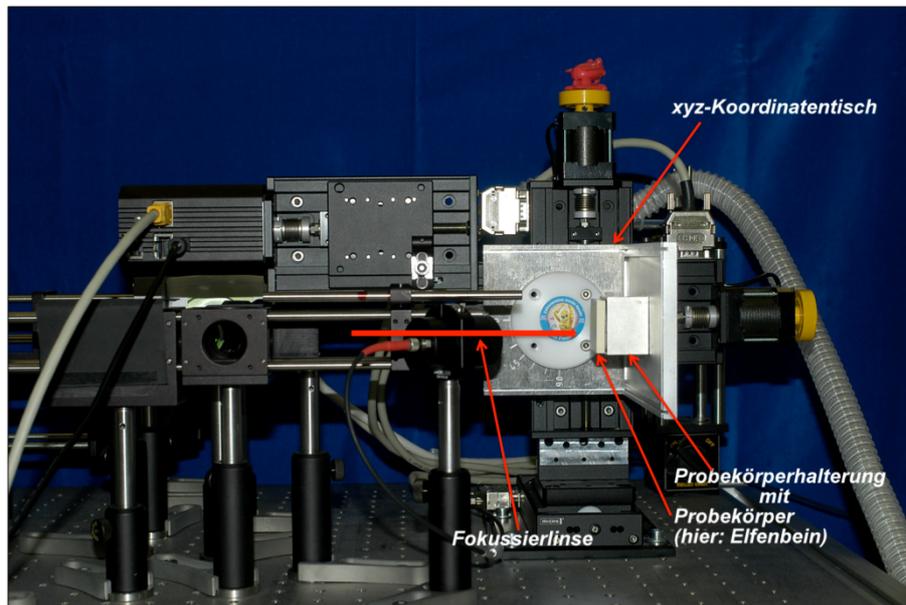
Für die Versuche wurde schlachtfrisches Material vom Schwein (deutsche Landrasse, 8 Wochen alt, 30-40 kg) bezogen. Schlachtfrisch bedeutet, dass die Tiere am Vorabend des Versuchstages geschlachtet, das Material gekühlt aufbewahrt und die Probekörper am Versuchstag aus den frischen Kiefern bzw. Rippen hergestellt und verwendet wurden. Für die Vorversuche mit Knochen wurden mithilfe eines Trennschleifsystems (ETS, Firma EXAKT, Norderstedt) anfangs etwa 3 cm lange, längs aufgespaltete Stücke aus den Rippen hergestellt, um eine plane Fläche zur Bearbeitung zu erhalten. Für den Hauptversuch wurde die Länge der Präparate auf etwa 1,5 cm Länge modifiziert (Abb. 1).



**Abb.1a:** Längs aufgespalteter, bearbeiteter Probekörper von etwa 3 cm Länge aus einer Schweinerippe. Die Kavität auf der oberen rechten Seite (rotes Kästchen) stellt den Probeschuss für die Fokuseinstellung dar, die Kavitäten auf der unteren Seite sind beispielhaft für die Ermittlung geeigneter Laserparameter zur Abtragung des Gewebes  
**b:** Längs aufgespalteter, unbearbeiteter Probekörper aus Schweinerippe von etwa 1,5 cm Länge für den Hauptversuch

Die Präparate wurden dann jeweils so in die Probenhalter einer optischen Bank platziert,

dass die plane Oberfläche parallel zum Magnettisch des Probenhalters stand, um die Proben aus senkrechter Richtung mit dem Laserstrahl bearbeiten zu können (Abb. 2).



**Abb. 2:** Ausschnitt des optischen Versuchsaufbaus des Lasers im Bereich des Laser-austritts auf den Probekörper. Der rote Pfeil stellt den Strahlengang des Lasers dar. Der xyz-Tisch mit dem Probekörperhalter kann in 3 Ebenen bewegt werden

Zur Bearbeitung dienten anfangs sowohl die freigelegte plane Oberfläche der Spongiosa als auch die schmalen Streifen Kompakta an den Rändern der Probekörper.

Für die Vorversuche mit oralem Weichgewebe wurden von den Schweinekiefern mithilfe eines Skalpell und eines stumpfen Raspatoriums vorsichtig die Bereiche der "Attached Gingiva" bis auf das Periost abpräpariert, so dass die Probekörper eine Länge von etwa 3-4 cm aufwiesen (Abb. 3). Die Proben wurden dann auf Glasobjektträger (Superfrost Plus, Gerhard-Menzel-GmbH, Braunschweig) aufgebracht und wieder senkrecht zum Laserstrahl in die Probekörperhalterung drapiert. Für die Haftung auf den Glasobjektträgern war kein weiteres Hilfsmittel nötig.



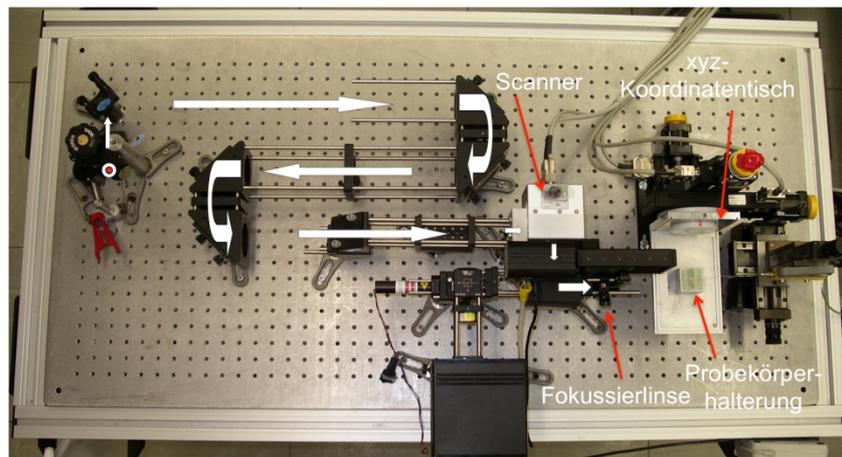
**Abb. 3:** Vom Kieferknochen abpräparierter, etwa 3-4 cm langer Probekörper aus "Attached Gingiva" vom Schwein

Bearbeitet wurden die Bereiche des Probekörpers, die senkrecht zur optischen Achse des Versuchsaufbaus (Abb. 2) platziert werden konnten. Alle Probekörper wurden bis zu deren Verwendung gekühlt bei 5° Celsius in steriler Kochsalzlösung (0,9 % NaCl, Fresenius Medical Care, Bad Homburg) aufbewahrt, um eine Austrocknung und Zellzerstörung zu verhindern. So sollte versucht werden, trotz der in vitro-Bedingungen eine möglichst lebensnahe Beschaffenheit des Gewebes zu erhalten. Lediglich für orientierende Vorversuche wurden auch Probekörper verwendet, die nach der Herstellung bei -20° Celsius gelagert und für den jeweiligen Versuch bei Raumtemperatur aufgetaut wurden.

## 2.2 UKP-Laser und Versuchsaufbau

Der in dieser Untersuchung verwendete „Super Rapid Laser“ ist ein diodengepumpter Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser (Neodym-dotierter Yttrium-Vanadat-Laser, Lumera Laser GmbH, Kaiserslautern) der Klasse 4. Er arbeitet mit einer Wellenlänge von 1064 nm und einer Pulsdauer von etwa 9 Pikosekunden bei einer Repetitionsrate von 500 kHz. Bei dem in dieser Untersuchung verwendeten Laser sind Repetitionsraten zwischen 50 und 500 kHz wählbar. Der Laser selbst befindet sich unterhalb des in Abb. 4 dargestellten Versuchsaufbaus. Der Pulsdurchmesser des Laserstrahls beträgt 0,85 mm. Nach Austritt aus der Strahlquelle wird der Laserstrahl zunächst über eine Anordnung von neun Spiegeln gelenkt, um ein „Delivery System“ im Sinne eines Spiegelgelenkarmes zu simulieren. Die Strahlung wird dann in ein Scanner-System (Scan Cube 7, Scanlab AG, Puchheim, Deutschland) eingespeist, damit sie in ein durch die Scansoftware (SAMLIGHT,

Scaps GmbH, Deisenhofen, Deutschland) einstellbares Muster abgelenkt werden kann. Durch die Fokussierlinse, die eine Brennweite von 75 mm hat, trifft der Laserstrahl mit einem Durchmesser von 30  $\mu\text{m}$  auf die Probekörper. Die Rayleighlänge beträgt 0,55 mm.



**Abb. 4:** Optischer Versuchsaufbau aus der Vogelperspektive (modifiziert nach Wehry, 2012). Der Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser, der sich direkt unter dem Tisch befindet, erzeugt einen Laserstrahl, der über einen Austrittspunkt (weißer Kreis mit rotem Punkt) auf die Tischebene, und entlang der weißen Pfeile auf den Probekörper umgelenkt wird

Mithilfe von Probekörperhaltern und Knete (Haftpast, Hama GmbH & Co KG, Monheim) wurden die Probekörper auf einem mit einer Präzision von 0,001 mm justierbaren Verschiebetisch (xyz-Tisch VT-80, Micos, Eschbach, Deutschland) positioniert. Im Experiment wurde der Probekörper mithilfe des Verschiebetisches bewegt, um beliebig wählbare Bereiche bearbeiten zu können. Dies konnte manuell oder mittels einer PC-Software (LabView) durchgeführt werden. Im Verlauf der Versuchsreihen wurden neben der oben genannten Scansoftware zwei weitere Softwareversionen verwendet, da laufend Verbesserungen der Grundversion durchgeführt wurden. Für näher gehende Informationen sei der interessierte Leser auf die Dissertation von Herrn Dr. Wehry verwiesen (Wehry, 2012). Ein möglicher Einfluss auf die Untersuchungsergebnisse wird in Kapitel 4.1 diskutiert.

### 2.3 Versuchssystematik

Da es sich bei dieser Arbeit um eine Machbarkeitsstudie handelt, sollte zunächst innerhalb der ersten Versuchsreihen (Versuchsphase I) ermittelt werden, ob die Ablation von Knochen und oralem Weichgewebe überhaupt möglich ist und welche Laserparameter sich dafür eignen. Dazu sollte für die jeweiligen Materialien der Schwellenwert ermittelt werden, bei welchem eine Ablation zu vermerken ist. In einer zweiten Versuchsphase (Versuchsphase II) sollten möglichst schonende und effiziente Parameter (Repetitionsrate, Leistung, Energiedichte = Fluenz, Gesamtenergie), zur Abtragung des Gewebes gefunden werden. Nach Ermittlung der aus den ersten Versuchen vielversprechendsten Parameter, wurde eine systematische Untersuchung der Ablationsrate mit dieser Lasereinstellung an einer größeren Probenzahl durchgeführt. Allerdings erfolgte dies aufgrund des großen Aufwandes für Versuchsphase I lediglich für das Probenmaterial Knochen. Die entsprechende Untersuchung von Gingivaproben wird in einer weiteren Studie erfolgen.

Vor jeder Laserbearbeitung musste der Fokus manuell bei niedriger Leistung ermittelt werden. Die Leistung wurde so niedrig eingestellt, dass eine Ablation nur im Fokus stattfinden konnte und dann sowohl optisch als auch hörbar leicht wahrzunehmen war. Der Fokus wurde auf einer Stelle der planen Oberfläche des Probekörpers ermittelt, die nicht den späteren Ablationsexperimenten diente. Für die Versuche wurde kein Autofokus verwendet, da dieser zum Zeitpunkt der Versuchsserien noch nicht zur Verfügung stand. Alle verwendeten Probekörper für die systematischen Versuchsreihen wurden an einem Tag hergestellt, bearbeitet, profilometrisch ausgemessen und für die weitere histologische Aufbereitung weiter verarbeitet.

Der Abtrag ist mit der hier verwendeten Technologie eines Scanner-Systems auch abhängig von verschiedenen Scannerparametern, die in der Software wählbar sind. Dazu gehören die Scannergeschwindigkeit, der Zeilenabstand oder die Festlegung definierter Abtragsgeometrien. Bei der vorliegenden Arbeit waren diese Parameter für alle Versuche gleich (Scannergeschwindigkeit 2000 mm/s, Zeilenabstand 12,5 µm). Lediglich durch eine Veränderung der Repetitionsrate verändert sich der horizontale Überlapp der

einzelnen Pulse in folgender Weise: Je höher die Repetitionsrate gewählt wird, desto größer ist der Überlapp. Ein möglicher Einfluss dieser Gegebenheit auf die Versuchsergebnisse wird in Kapitel 4.1 diskutiert.

## 2.4 Versuchsphase I-Festlegung der Ablationsparameter

### 2.4.1 Spongiosa

Da die vorhandene Fläche im Bereich der Spongiosa am größten war, wurde diese als Erstes für die orientierenden Vorversuche verwendet. Es wurden zunächst Kavitäten mit einer Kantenlänge von etwa 1 mm erzeugt. Die Gesamtenergie betrug konstant 10 J, während die Repetitionsrate zwischen 100 und 500 kHz, die Leistung von 1-9 W und die Energiedichte von 0,7-4,2 J/cm<sup>2</sup> variiert wurden (Tab. 1).

<b>Repetitions- rate [kHz]</b>	500	500	500	500	500	500	500	500	500	100	100	100	100	100
<b>Leistung [W]</b>	2,5	3	4	5	6	7	8	9		1	1,5	2	2,5	3
<b>Energiedichte [J/cm<sup>2</sup>]</b>	0,7	0,8	1,1	1,4	1,7	2	2,3	2,5		1,4	2,1	2,8	3,5	4,2

**Tab. 1:** Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an Spongiosa (a)

Dieser Versuch führte aufgrund auftretender Karbonisierung noch nicht zum gewünschten Ergebnis (Abb. 8). Die Seitenlänge wurde daraufhin auf 5 mm modifiziert, die Gesamtenergie bei 500 kHz Repetitionsrate zwischen 5 und 15 J, die Leistung von 2,5-9 W und die Energiedichte von 0,7-2,5 J/cm<sup>2</sup> variiert (Tab. 2).

<b>Repetitionsrate [kHz]</b>	500	500	500	500	500	500	500	500
<b>Leistung [W]</b>	2,5	3	4	5	6	7	8	9
<b>Energiedichte [J/cm<sup>2</sup>]</b>	0,7	0,8	1,1	1,4	1,7	2	2,3	2,5
<b>Gesamtenergie [J]</b>	5/15	5/15	5/15	5/15	5/15	5/15	15	15

**Tab. 2:** Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an Spongiosa (b)

Diese Messung verhinderte zwar die Karbonisierung, führte aber nicht zu ausreichender Kavitätentiefe. Da die Kavitäten als solche nur schwer zu erkennen waren und das Knochenmark deutlich früher und tiefer abgetragen wurde als die Knochenbälkchen, wurde die Energiedichte erhöht, da die Vermutung bestand, dass die Trabekel erst bei höherer Energiedichte abgetragen werden können. Dazu wurde die Repetitionsrate auf 100 kHz gesenkt, die Leistung war konstant bei 7 Watt, die Energiedichte konstant bei 10 J/cm<sup>2</sup> und die Gesamtenergie variierte von 15-35 J (Tab. 3).

<b>Repetitionsrate [kHz]</b>	100	100	100
<b>Leistung [W]</b>	7	7	7
<b>Energiedichte [J/cm<sup>2</sup>]</b>	10	10	10
<b>Gesamtenergie [J]</b>	15	31	35

**Tab. 3:** Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an Spongiosa (c)

Mit einer Energiedichte von 10 J/cm<sup>2</sup> war eine Ablation des Knochens nun deutlich erkennbar, allerdings konnte die Karbonisierung wiederum nicht verhindert werden (Abb. 9). Daraufhin wurde in einem 2-Phasen-Abtragsversuch zuerst das Knochenmark mit kleiner Energiedichte (Phase 1), anschließend die Trabekel mit hoher Energiedichte (Phase 2) ablatiert, mit dem Ziel, eine effiziente Kavitätenbildung ohne thermische Beschädigung an den Kavitätenrändern zu erreichen (Tab. 4).

	Phase 1	Phase 2
Repetitionsrate [kHz]	500	500
Leistung [W]	7	7
Energiedichte [J/cm <sup>2</sup> ]	2	10

**Tab. 4:** Übersicht über die verwendeten Parameter für den 2-Phasen-Versuch an Spongiosa

Aufgrund erneuter Karbonisierung der Ränder wurde der Versuch mit einer kleineren Kantenlänge in der zweiten Phase wiederholt. Auch hier konnte die Karbonisierung nicht vollständig verhindert werden (Abb. 10).

#### 2.4.2 Kompakta

Da die Energiedichte von 10 J/cm<sup>2</sup> für den Abtrag von Knochenbälkchen recht hoch erschien, und die Beurteilung der alleinigen Ablation von Knochen innerhalb des inhomogenen Gewebes der Spongiosa sich als sehr schwierig erwies, wurden in weiteren Vorversuchen zunächst die Grenzwerte der Ablation nur für Kompakta ermittelt.



**Abb. 5:** Beispielhafter Probekörper aus Schweinerippe von etwa 3 cm Länge  
**1:** Kavität zur Ermittlung des Fokus (rotes Kästchen auf der oberen linken Seite)  
**2:** Kavitäten aufsteigender Tiefe zur Ermittlung geeigneter Laserparameter zur Abtragung des Knochengewebes (rote Kästchen auf der unteren Seite als Beispiele)

Dafür wurden die Kavitäten mit einer Kantenlänge von 1 mm auf die Ränder der Probekörper im Bereich der Kompakta präpariert (vergl. Abb. 5). Durch Variation verschiedener Laserparameter konnten der Schwellenwert und die Karbonisierungsgrenze für

100 kHz bei einer Gesamtenergie von 15 J ermittelt werden. Da die Kavitäten allerdings für nachfolgende Messungen mit dem Profilometer zu tief waren, wurde die Gesamtenergie verringert (Abb. 11).

Nach Verringerung der Gesamtenergie (durch Verkürzung der Bestrahlungszeit) auf 4,5 J konnten die übrigen Parameter so verwendet werden wie im vorherigen Versuch. Allerdings zeigte sich, dass die Karbonisierungsgrenze etwas später eintrat (vorher bei 3,5 W, jetzt bei 4,5 W). Zur besseren Reproduzierbarkeit wurden die weiteren Vorversuche ab diesem Zeitpunkt mit einer Kantenlänge von 1 mm und einer Gesamtenergie von 4,5 J durchgeführt. Es gelang, die Schwellenwerte und maximal möglichen Ablationswerte (= Ablationskurven) für die Repetitionsraten von 50, 100, 200 und 500 kHz zu ermitteln (Abb. 12 und Tab. 12). Die Ablationskurven sind die Grundlage zur Ermittlung der Ablationsraten (= statistische Belegung der Ablationskurven mit höherer Probenzahl). Da für die Repetitionsraten von 200 und 500 kHz keine Karbonisierung eintrat, erschienen diese Einstellungen am gewebeschonendsten und die Versuche wurden mit den entsprechenden Parametern fortgeführt. Zudem war der Abtrag bei diesen beiden Einstellungen am höchsten. Um ein statistisch verwertbares Ergebnis zu erhalten, wurden für jedes Parameterset jeweils zehn Kavitäten auf einem Probenkörper hergestellt. Bei sieben Parametersets für die Repetitionsrate von 200 kHz ergaben sich sieben Probekörper. Die Einstellungen variierten von 1,5-6 Watt Leistung und von 1,1-4,2 J/cm<sup>2</sup> Energiedichte (Tab. 5).

<b>Repetitionsrate [kHz]</b>	200	200	200	200	200	200	200
<b>Leistung [W]</b>	1,5	2	2,5	3	4	5	6
<b>Energiedichte [J/cm<sup>2</sup>]</b>	1,1	1,4	1,8	2,1	2,8	3,5	4,2

**Tab. 5:** Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an Kompakta bei einer Repetitionsrate von 200 kHz

Die graphische Auswertung dieser Messreihe ist in Abb. 13 zu sehen.

Analog ergab diese Versuchsreihe bei sieben Parametersets für die Repetitionsrate von

500 kHz auch sieben Probekörper. Die Einstellungen variierten von 3,5-9 Watt Leistung und 1-2,5 J/cm<sup>2</sup> Energiedichte (Tab. 6).

<b>Repetitionsrate [kHz]</b>	500	500	500	500	500	500	500
<b>Leistung [W]</b>	3,5	4	5	6	7	8	9
<b>Energiedichte [J/cm<sup>2</sup>]</b>	1	1,1	1,4	1,7	2	2,3	2,5

**Tab. 6:** Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an Kompakta bei einer Repetitionsrate von 500 kHz, vergl. auch Tab 11

Die graphische Auswertung dieser Messreihe ist in Abb. 14 zu sehen.

Innerhalb dieser Versuchreihe wurde außerdem die probekörperabhängige Streuung der Kavitätentiefe anhand von sieben Kavitäten mit identischem Parameterset (Tab. 7) auf sieben unterschiedlichen Probekörpern untersucht (Abb. 16):

<b>Repetitionsrate [kHz]</b>	200
<b>Leistung [W]</b>	5
<b>Energiedichte [J/cm<sup>2</sup>]</b>	3,5

**Tab. 7:** Übersicht über die verwendeten Parameter für die Untersuchung der probekörperabhängigen Streuung in Kompakta

Weiterhin wurde die lokale Abhängigkeit der Kavitätentiefe untersucht, indem fünf Kavitäten desselben Parametersets (Tab. 8) auf einem einzigen Probekörper, aber an unterschiedlichen Positionen, erzeugt wurden.

Repetitionsrate [kHz]	100
Leistung [W]	4,5
Energiedichte [J/cm <sup>2</sup> ]	6,4

**Tab. 8:** Übersicht über die verwendeten Parameter für die Untersuchung der lokalen Abhängigkeit der Kavitätentiefe in Kompakta

### 2.4.3 Gingiva

Um die Ablationsgrenzen für orales Weichgewebe zu ermitteln, wurde ähnlich vorgegangen wie beim Knochen. Ein beispielhafter Probekörper für diese Versuche ist in Abb. 6 zu sehen.



**Abb. 6:** Etwa 3-4 cm langer, vom Kieferknochen abpräparierter beispielhafter Probekörper aus "Attached Gingiva" vom Schwein, der auf einen Glasobjektträger und den Probekörperhalter aufgebracht ist. Die Kavitäten mit aufsteigender Tiefe von links nach rechts demonstrieren die Ermittlung geeigneter Laserparameter zur Abtragung des Weichgewebes

Durch die Variation verschiedener Laserparameter konnten in Vorversuchen die Ablationskurven bei 50, 100, 200 und 500 kHz Repetitionsrate für die "Attached Gingiva" ermittelt werden (Abb. 17 und Tab. 13). Da hier, ähnlich wie beim Knochen, der Abtrag bei 200 und 500 kHz Repetitionsrate am größten war und aufgrund fehlender Karbonisierung, v.a. bei 500 kHz, am gewebeschonendsten erschien, wurden die Versuche mit diesen beiden Einstellungen fortgeführt. Wie bei den Versuchen mit Kompakta wurden für jedes Parameterset jeweils zehn Kavitäten auf einen Probekörper präpariert. Bei sie-

ben Parametersets für die Repetitionsrate von 200 kHz ergaben sich sieben Probekörper. Die Einstellungen variierten von 1,5-7 Watt Leistung und von 1,1-5 J/cm<sup>2</sup> Energiedichte (Tab. 9).

<b>Repetitionsrate [kHz]</b>	200	200	200	200	200	200	200
<b>Leistung [W]</b>	1,5	2	3	4	5	6	7
<b>Energiedichte [J/cm<sup>2</sup>]</b>	1,1	1,4	2,1	2,8	3,5	4,2	5

**Tab. 9:** Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an “Attached Gingiva” bei einer Repetitionsrate von 200 kHz

Die graphische Auswertung dieser Messreihe ist in Abb. 18 zu sehen.

Analog ergab diese Versuchsreihe bei sieben Parametersets für die Repetitionsrate von 500 kHz auch sieben Probekörper. Die Einstellungen variierten von 3,5-9 Watt Leistung und von 1-2,5 J/cm<sup>2</sup> Energiedichte (Tab. 10).

<b>Repetitionsrate [kHz]</b>	500	500	500	500	500	500	500
<b>Leistung [W]</b>	3,5	4	5	6	7	8	9
<b>Energiedichte [J/cm<sup>2</sup>]</b>	1	1,1	1,4	1,7	2	2,3	2,5

**Tab. 10:** Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an “Attached Gingiva” bei einer Repetitionsrate von 500 kHz

Die graphische Auswertung dieser Messreihe ist in Abb. 19 zu sehen. Aufgrund der aufwändigen ersten Versuchsphase und dem daraus abzuleitenden Zeitaufwand für das weitere Vorgehen, wurde ein systematischer Hauptversuch mit einer größeren Probenzahl (Versuchsphase II) lediglich für Knochen durchgeführt.

## 2.5 Versuchsphase II-Systematische Bestimmung der Ablationsrate von Knochen

Da die Ablation bei einer Repetitionsrate von 500 kHz am höchsten war und keine unerwünschten Nebeneffekte (Karbonisation) auftraten, wurden die entsprechenden Parametersets der Ablationskurve bei 500 kHz (Tab. 11) für die systematische Bestimmung der Ablationsrate von Knochen mittels einer großen Probenzahl in Abhängigkeit von der Energiedichte und der entsprechenden Leistung in der zweiten Versuchsphase herangezogen.

<b>Repetitionsrate [kHz]</b>	500	500	500	500	500	500	500
<b>Leistung [W]</b>	3,5	4	5	6	7	8	9
<b>Energiedichte [J/cm<sup>2</sup>]</b>	1	1,1	1,4	1,7	2	2,3	2,5

**Tab. 11:** Übersicht über die verwendeten Parameter für die statistisch untermauerte Ermittlung der Ablationsrate von Schweinerippenkompakta in Versuchsphase II

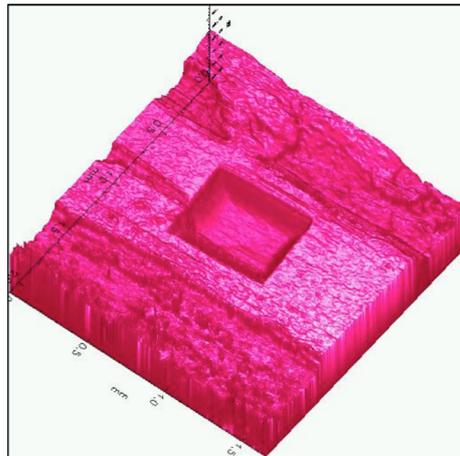
Für jedes Parameterset aus der Ablationskurve wurden in zehn Probekörpern drei Kavitäten erzeugt. So ergaben sich für sieben Parametersets siebenzig Probekörper. Da auf jeden Probekörper nur drei Kavitäten erzeugt wurden, wurde die Größe der Probekörper auf 1,5 cm Länge verringert. Jede Kavität wurde profilometrisch ausgemessen und aus diesen Werten wurde die Ablationsrate ermittelt. Die Auswertung dieser Messreihe in Abb. 21 zu sehen.

## 2.6 Beschreibung der Auswertungsmethoden

Um die Ablationstiefe, die Ablationskurven und -raten und die Auswirkungen auf umliegende Gewebe zu ermitteln und zu beschreiben, wurden verschiedene Auswertungsmethoden angewandt.

### 2.6.1 Profilometrische Auswertung

Mithilfe eines optischen Streifenlichtsensors, der mit einem Konfokalmikroskop (MicroSpy Topo, Fries Research & Technology GmbH, Bergisch Gladbach, Deutschland) und monochromatischem Licht arbeitet, wurden die Probekörper unmittelbar nach deren Bearbeitung mit dem Laser untersucht. Der optische Streifenlichtsensor ermöglicht es, die Oberflächentopographie der Probekörper mit einer vertikalen Auflösung bis zu wenigen Nanometern berührungsfrei zu untersuchen (Abb. 7). Somit konnte die Tiefe der Kavitäten ermittelt werden.



**Abb. 7:** Beispielhafte Darstellung einer Kavität in Schweinerippen-Kompakta mithilfe des Profilometers. Die Kavität ist deutlich im dreidimensionalen Modell zu erkennen und kann sehr genau vermessen werden

Da die Kavitäten einen quadratischen Umriss und eine bekannte Kantenlänge haben, kann mithilfe der Tiefe auch das Volumen des ablatierten Materials berechnet, und in Folge mit der von der Lasersoftware gemessenen Bestrahlungszeit die Ablationsrate mit folgender Formel ermittelt werden:

$$\frac{\text{Kavitätentiefe [mm]} \times (\text{Kantenlänge [mm]})^2}{\text{Bestrahlungszeit [min]}}$$

Diese Berechnung ermöglicht es, eine Aussage über die Effizienz des Abtrags zu tätigen. Zur korrekten Veranschaulichung der physikalischen Wechselwirkungen sollte die Ablationsrate gegen die jeweils zugehörige Energiedichte dargestellt werden. Die Energiedichte, auch Fluenz genannt, lässt sich mit folgender Formel beschreiben:

$$\frac{\text{Pulsenergie [J]}}{\text{Fläche pro Puls [cm}^2\text{]}}$$

### 2.6.2 Histologische Auswertung

Für die histologische Aufbereitung wurden die Probekörper unmittelbar nach der Ausmessung mit dem optischen Profilometer in mit einer Formaldehydlösung (Formaldehyd 4% gepuffert, Merck, Darmstadt) gefüllte Szintillationsgefäße (Art. Nr. 0794.1, Fa. Roth, Karlsruhe) gelegt, um den Zustand des organischen Materials zu konservieren. Danach wurden die Probekörper histologisch aufbereitet. Für die "Attached Gingiva" wurde die Paraffinhistologie herangezogen, für den Knochen die Dünnschliffhistologie. Diese beiden Verfahren haben sich beim vergleichenden Ausprobieren verschiedener Methoden für die jeweiligen Materialien hinsichtlich der Schonung des Gewebes und der Darstellungsgenauigkeit als am Besten geeignet erwiesen. Die Kryostathistologie lieferte für die beiden organischen Materialien unzufriedenstellende Ergebnisse (siehe auch Kapitel 1.4.2). Die Weichgewebsschnitte wurden auf Glasobjektträger (Superfrost Plus, Gerhard-Menzel-GmbH, Braunschweig), die Knochenschnitte auf Plastikobjektträger (Objektträger 25x75x1, 5mm, EXAKT, Norderstedt) aufgezogen. Im nächsten Schritt wurden die Schnitte gefärbt. Für die Paraffinhistologie kam die HE-Färbung zur Anwendung, für die Dünnschliffhistologie die Toluidinblaufärbung nach Donath. Zweck der histologischen Aufbereitung war es, die Auswirkungen der Ablation mit dem Laser auf das die Kavität umgebende Gewebe bewerten zu können. Wichtige Aspekte waren hierbei die Präzision des Abtrags, mögliche Blasenbildung, Koagulation oder Karbonisierung. Dazu wurden die Schnitte mit einem Durchlichtmikroskop (Leica DM 1000, Leica Microsystems

GmbH, Wetzlar) betrachtet und mithilfe eines digitalen fire-wire-Farbkamerasystems (Leica DFC 420C, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar) und der entsprechenden PC-Software (Leica Application Suite, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar) fotografiert und dokumentiert.

### **2.6.3 Datenauswertung**

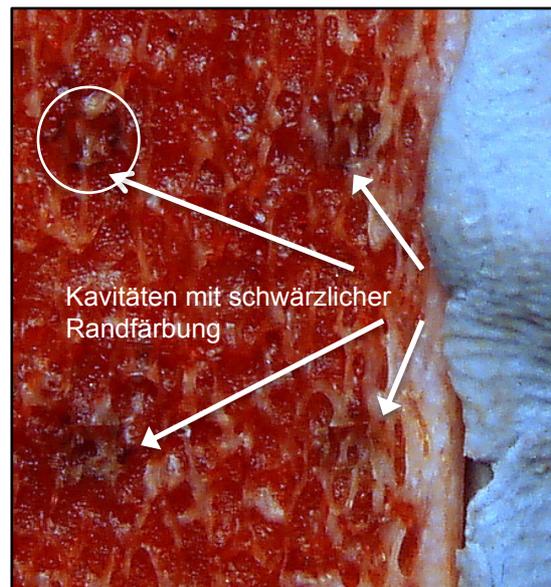
Die durch die Profilometrie erhaltenen Ablationstiefen wurden in einem Tabellenkalkulationsprogramm (Excel, Microsoft, Seattle, USA) zur Ermittlung der Ablationsraten aufbereitet. Die graphische Darstellung der Ablationskurven in Versuchsphase I erfolgte mit dem Datenanalyse - und Grafik -Programm Origin (Origin 8, Additive, Software für Technik und Wissenschaft GmbH, Friedrichsdorf, Deutschland). Die statistische Auswertung in Versuchsphase I und II erfolgte mittels IBM SPSS Release 20.0.0. Der Hauptversuch mit einer größeren Probenzahl von Kompakta wurde mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse („ANOVA“) und angeschlossenen post-hoc-Tests,  $\alpha$ -Niveau korrigiert nach Bonferroni, zum paarweisen Vergleich der Parametersets analysiert. Die Fehlerwahrscheinlichkeit 1. Art wurde auf 0,05 zweiseitig festgelegt. Eine graphische Auswertung der jeweiligen Werte mit Hilfe von Box-Whisker-Plots zeigte den Median, erstes und drittes Quartil und die oberen und unteren Haarlinien (Minimum und Maximum) (Tukey, 1977). Messwerte, die das 1,5-fache des Interquartilsabstands überschreiten und somit etwas von den übrigen Werten abweichen, wurden mit einem Kreis markiert. Werte, die den dreifachen Interquartilsabstand überschreiten und somit stärker von den übrigen Werten abweichen, wurden mit einem Sternchen gekennzeichnet. Die Beschreibung der Messergebnisse erfolgte durch die Angabe von Mittelwert, Median, Standardabweichung, Minimum und Maximum.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Versuchsphase I-Festlegung der Ablationsparameter

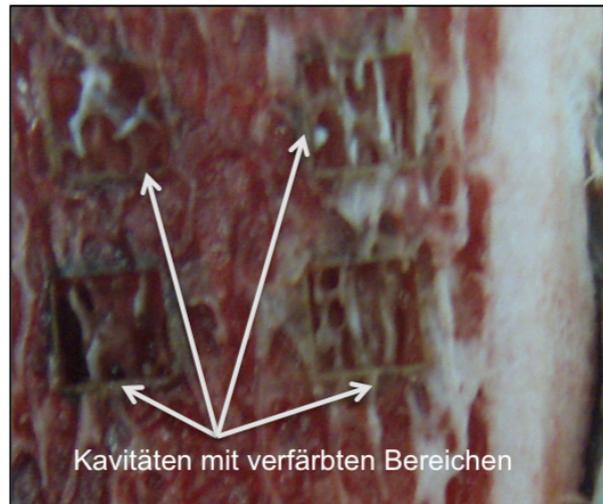
##### 3.1.1 Spongiosa

Bei ersten orientierenden Vorversuchen (Tab. 1) trat bei den deutlich erkennbaren Kavitäten eine schon makroskopisch sichtbare schwärzliche Verfärbung aller Kavitätenränder ein (Abb. 8). Die Karbonisierung ist ein Zeichen dafür, dass es bei der Bearbeitung des Gewebes mit dem Laser zu einer Temperaturerhöhung gekommen ist, welche die Auflösung des Gewebes zu seinen Kohlenstoffbestandteilen ausgelöst hat. Dieser Vorgang ist mit einem Verbrennungsvorgang zu vergleichen und wird umgangssprachlich auch als Verkohlung bezeichnet.



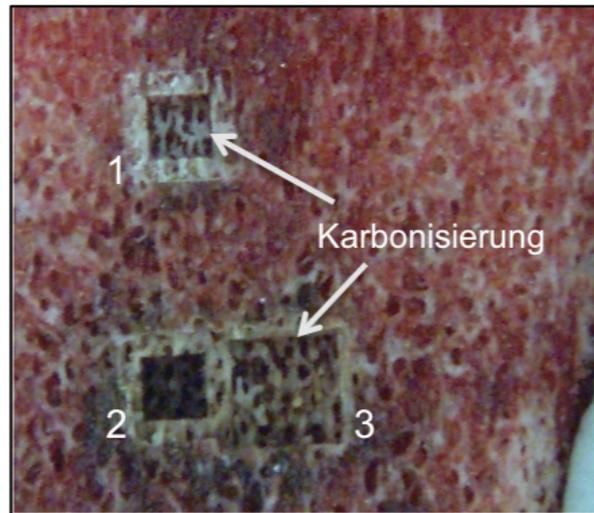
**Abb. 8:** Ausschnitt von 4 Kavitäten (weiße Kästchen, Kantenlänge Kavitäten: ca. 1 mm) im spongiösen Knochen in Schweinerippe. Die schwärzliche Karbonisierung der Randbereiche der Kavitäten (weiße Pfeile) ist bereits makroskopisch zu erkennen (Laserparameter: 500 kHz, 5 W, 1,4 J/cm<sup>2</sup>)

Da es das Ziel der vorliegenden Arbeit war, eine Verkohlung von Gewebe vollständig zu verhindern, wurden die Laserparameter variiert. Bei dem Versuch, größere Kavitäten mit veränderten Parametern (Tab. 3) zu produzieren, trat ebenfalls eine makroskopisch sichtbare Karbonisation ein, welche vor allem durch deutlich verfärbte Randbereiche zum Ausdruck kam (Abb. 9).



**Abb. 9:** Ausschnitt von 4 Kavitäten im spongiösen Knochen (Kantenlänge: ca. 5 mm) in Schweinerippe. Die Karbonisierung ist sowohl am Grund der Kavitäten, vor allem aber auch an den Kavitätenrändern (weiße Pfeile), deutlich zu erkennen (Laserparameter: 100 kHz, 7 W, 10 J/cm<sup>2</sup>)

Das Ergebnis eines 2-Phasen-Abtragsversuchs (Tab. 4), bei dem Knochenmark und Knochen trabekel hintereinander ablatiert werden sollten, erwies sich als wenig geeignet zur Verhinderung von Karbonisierungserscheinungen, da auch hier eine deutliche Temperaturerhöhung in den Randbereichen auftrat, welche sich in einer Verkohlung dieser Bereiche bereits makroskopisch zeigte (Abb. 10).

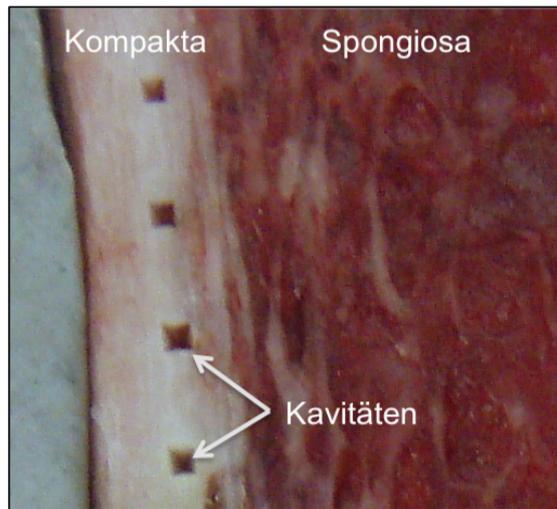


**Abb. 10:** Ausschnitt aus Schweinerippenspongiosa, Versuch des 2-Phasen-Abtrags  
**1 und 2:** Die Karbonisierung ist im Randbereich der kleineren, zweiten Kavität (Kantenlänge: ca. 3 mm) deutlich zu sehen  
**3:** Variation der Kantenlänge der zweiten Kavität (ca. 4 mm). Auch hier sind karbonisierte Randbereiche zu erkennen (Laserparameter: 500 kHz, 7 W, 2/10 J/cm<sup>2</sup>)

Für Spongiosa konnten insgesamt bisher keine Parameter gefunden werden, um eine vielversprechende Abtragung ohne Nebeneffekte wie Karbonisierung zu erreichen.

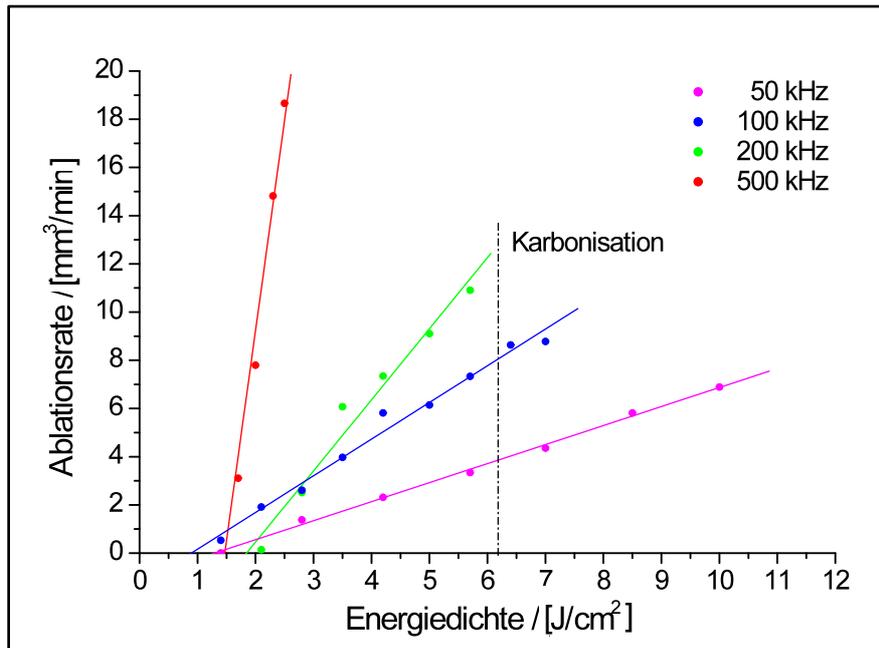
### 3.1.2 Kompakta

Erste orientierende Versuche mit Kompakta bei einer Gesamtenergie von 15 J führten dazu, dass die Kavitäten zu tief waren, um sie mit dem Profilometer ausmessen zu können (Abb. 11).



**Abb. 11:** Ausschnitt eines Probekörpers im Bereich der Kompakta. Die Kavitäten (Kantenlänge: ca. 1 mm) sind sehr tief und konnten mit dem Profilometer nicht vermessen werden (Laserparameter: 100 kHz, 3,6 W, 5,2 J/cm<sup>2</sup>)

Für die Repetitionsraten von 50, 100, 200 und 500 kHz konnten Ablationskurven für Schweinerippenkompakta ermittelt werden (Abb. 12). Die dazugehörigen Parametersets sind in Tab. 10 zu sehen. Für diese Versuchsreihe wurde die erste Scannersoftware verwendet.



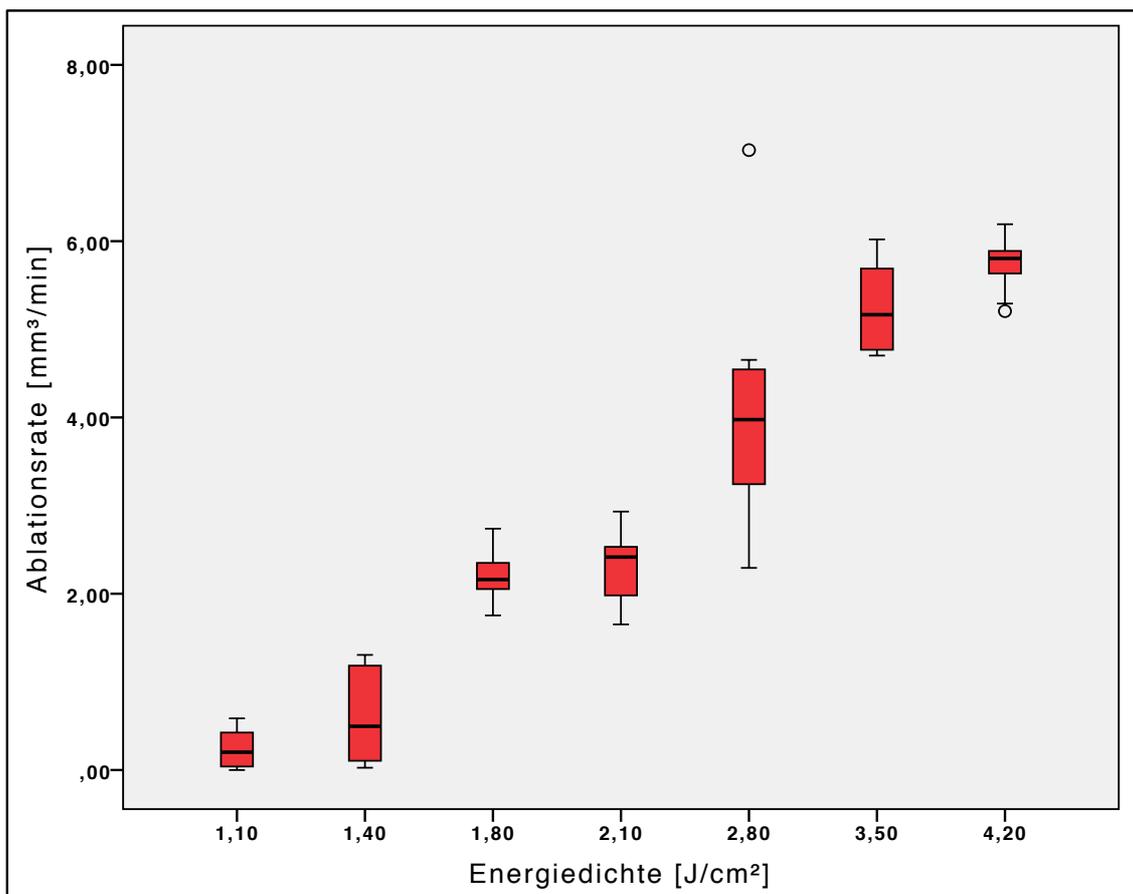
**Abb. 12:** Graphische Darstellung der Ablationskurven von Schweinerippen-Kompakta für 50-500 kHz. Dargestellt ist die Ablationsrate in Bezug auf die Energiedichte. Der Abtrag ist bei 500 kHz am höchsten. Bei Energiedichten oberhalb von 6 J/cm<sup>2</sup> kommt es bei 50 und 100 kHz zur Karbonisation

Bei 200 kHz wurde eine Ablationsrate von etwa 10,9 mm<sup>3</sup>/min erreicht, bei 500 kHz eine Ablationsrate von etwa 18,7 mm<sup>3</sup>/min. Bei 200 und 500 kHz fand keine makroskopisch sichtbare Karbonisierung innerhalb der möglichen Leistung des Lasers statt (Tab. 12).

Repetitionsrate [kHz]	Schwellenwert		Karbonisation	
	Leistung [W]	Energiedichte [J/cm <sup>2</sup> ]	Leistung [W]	Energiedichte [J/cm <sup>2</sup> ]
50	0,5	1,4	2,5	7
100	1,0	1,4	4,5	6,4
200	3,0	2,1	>8	>5,7
500	5,0	1,4	>9	>2,5

**Tab. 12:** Übersicht über Ablationsschwellen (Schwellenwert) und Karbonisierungsgrenzen (Karbonisation) bei verschiedenen Repetitionsraten, Leistungen und Energiedichten für Schweinerippen-Kompakta. Bei 200 und 500 kHz wurde keine Karbonisierung beobachtet

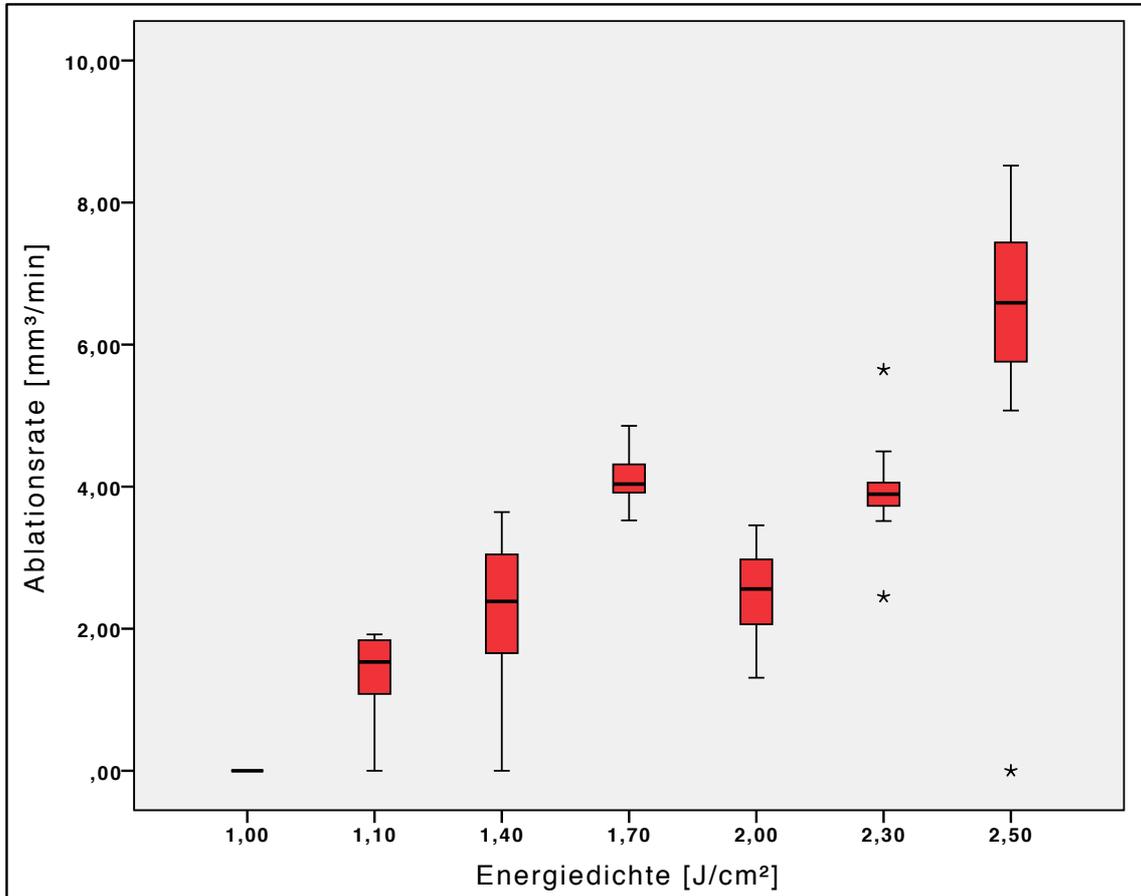
Um die Ablationskurven der Kompakta zu belegen, wurde der vorhergehende Versuch mit den Repetitionsraten 200 und 500 kHz mit einer größeren Anzahl an Kavitäten für Schweinerippen-Kompakta wiederholt. Dazu wurden für jedes Parameterset zehn Kavitäten auf einem Probekörper erzeugt, so dass sieben Probekörper je Repetitionsrate bearbeitet wurden. Die Auswertung wurde graphisch mit Hilfe von Boxplot-Diagrammen (Abb. 13 und Abb. 14) dargestellt. Für diese Versuchsreihe wurde die zweite Scanner-Software verwendet.



**Abb. 13:** Ablationsrate von Schweinerippen-Kompakta bei 200 kHz. Jeder Boxplot steht für einen Probekörper, auf dem zehn Kavitäten des jeweiligen Parametersets (Tab. 5) erzeugt wurden. Die Kreise bei 2,8 J/cm<sup>2</sup> und 4,2 J/cm<sup>2</sup> markieren Werte, die das 1,5-fache des Interquartilsabstands überschreiten

Es wird deutlich, dass die Ablationsrate mit steigender Energiedichte bei konstanter Gesamtenergie von 4,5 J stetig erhöht wird. Bei maximal hoher Gesamtleistung unter diesen Bedingungen, nämlich bei 4,2 J/cm<sup>2</sup> Energiedichte und 6 W Leistung, beträgt die

Ablationsrate minimal etwa 5,2 mm<sup>3</sup>/min und maximal etwa 6,2 mm<sup>3</sup>/min; der Medianwert liegt bei 5,8 mm<sup>3</sup>/min.

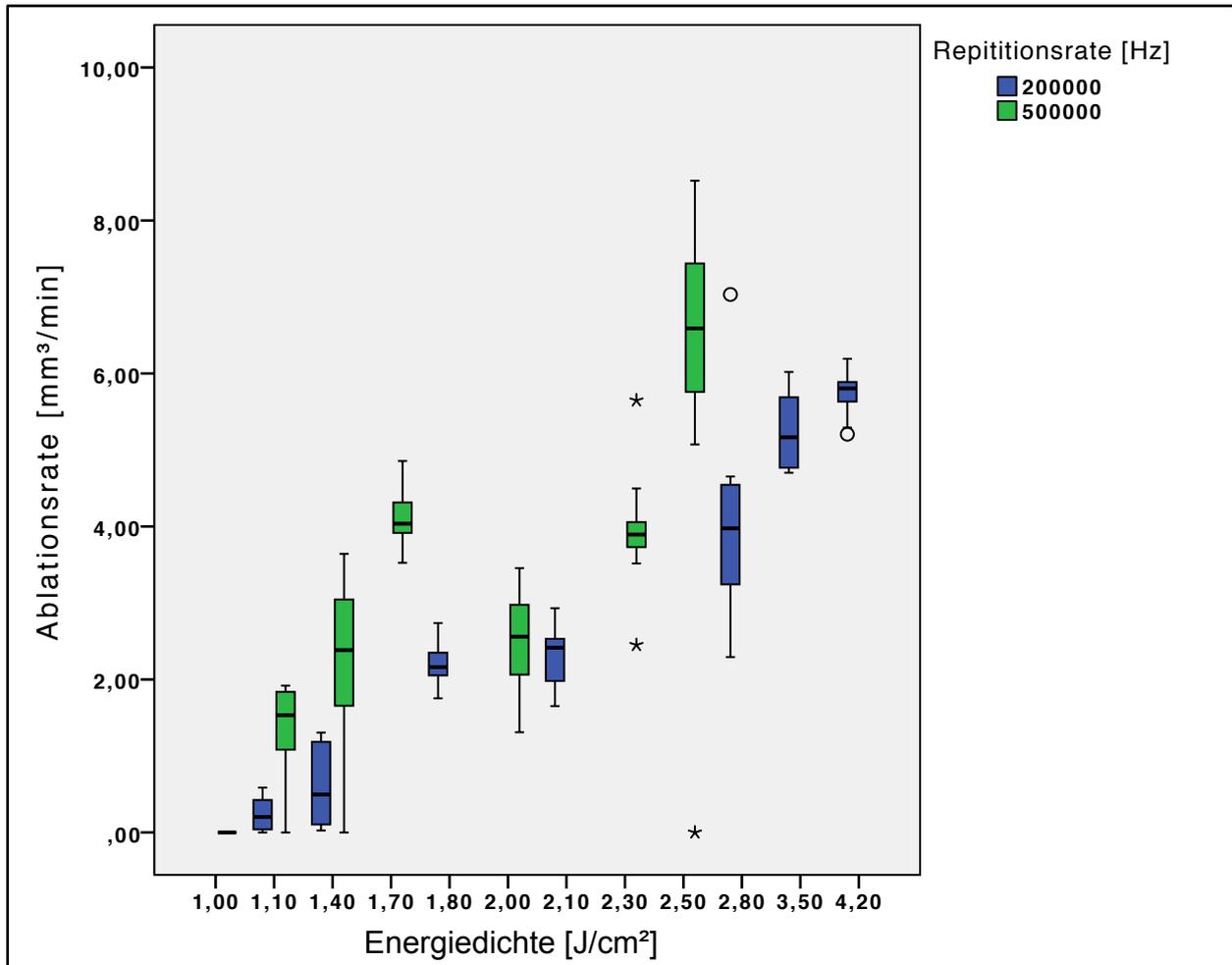


**Abb. 14:** Ablationsrate von Schweinerippen-Kompakta bei 500 kHz. Jeder Boxplot steht für einen Probekörper, auf dem zehn Kavitäten des jeweiligen Parametersets (Tab. 6) erzeugt wurden. Die Sternchen bei 2,3 J/cm<sup>2</sup> markieren Werte, die den dreifachen Interquartilsabstand überschreiten

Auch bei 500 kHz wird deutlich, dass die Ablationsrate mit steigender Energiedichte bei konstanter Gesamtenergie von 4,5 J zunimmt. Bei maximal hoher Gesamtleistung innerhalb dieses Parametersets, nämlich 2,5 J/cm<sup>2</sup> Energiedichte und 9 W Leistung, beträgt die Ablationsrate minimal etwa 1,5 mm<sup>3</sup>/min und maximal etwa 8,5 mm<sup>3</sup>/min; der Medianwert beträgt etwa 6,6 mm<sup>3</sup>/min.

Zur besseren Anschaulichkeit wurden die Ablationsraten von 200 und 500 kHz Repetiti-

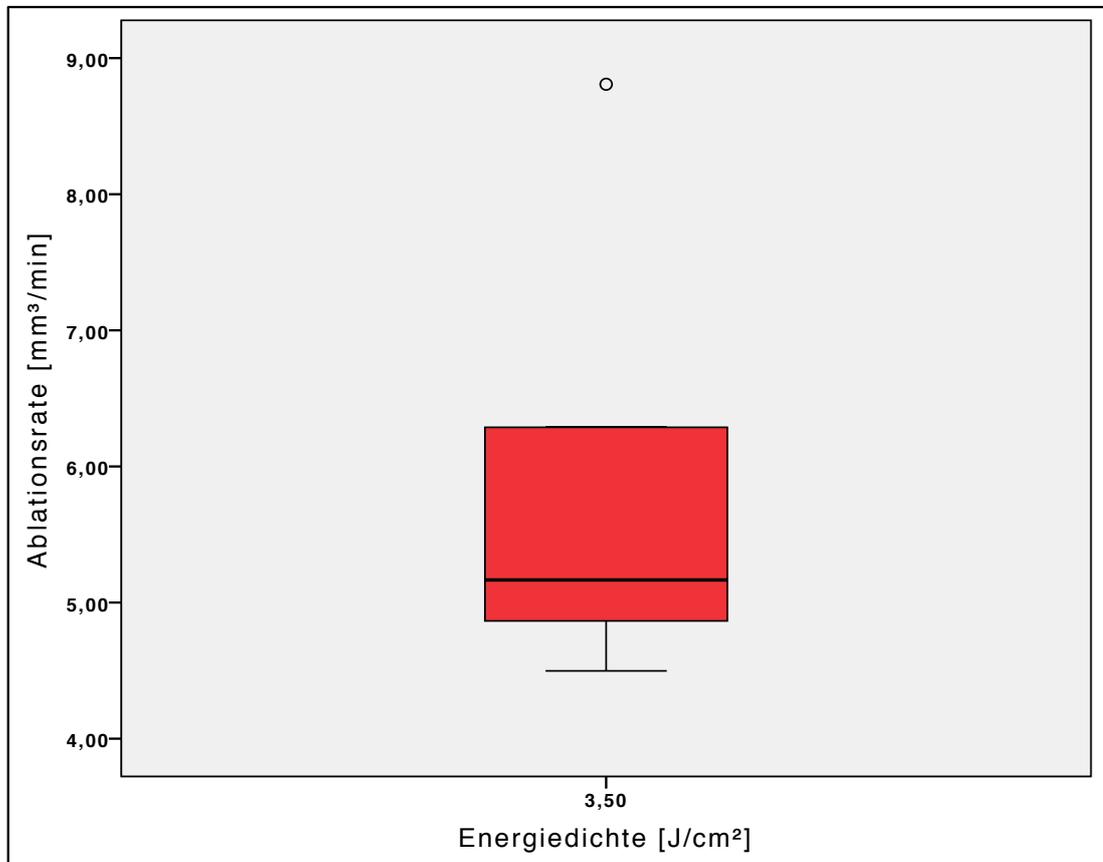
onsrate in einer Graphik (Abb. 15) zusammengefasst. Die Ablationsrate liegt bei 500 kHz höher als bei 200 kHz, was den Beobachtungen der vorherigen Versuchsreihe entspricht (Abb. 12). Ein Unterschied ist jedoch in der absoluten Höhe der Ablationsraten zu sehen. Bei der vorherigen Versuchsreihe wurden jeweils etwas höhere Werte erreicht. Zu möglichen Ursachen siehe Kapitel 4.1.



**Abb. 15:** Direkter Vergleich der Ablationsraten von Kompakta bei 200 (blau) und bei 500 (grün) kHz Repetitionsrate. Die Ablation ist bei 500 kHz höher als bei 200 kHz. Die Kreise markieren Werte, die das 1,5-fache des Interquartilsabstands überschreiten, die Sternchen markieren Werte, die den dreifachen Interquartilsabstand überschreiten

Die probekörperabhängige Streuung der Kavitätentiefe wurde anhand von sieben Kavitäten der selben Parameter (Tab. 7) auf sieben unterschiedlichen Probekörpern untersucht (Abb. 16). Ziel war es, zu ermitteln, ob sich die Probekörper in ihren Eigenschaften

untereinander stark unterscheiden und ob dies einen Einfluss auf die Ablationsrate hat.

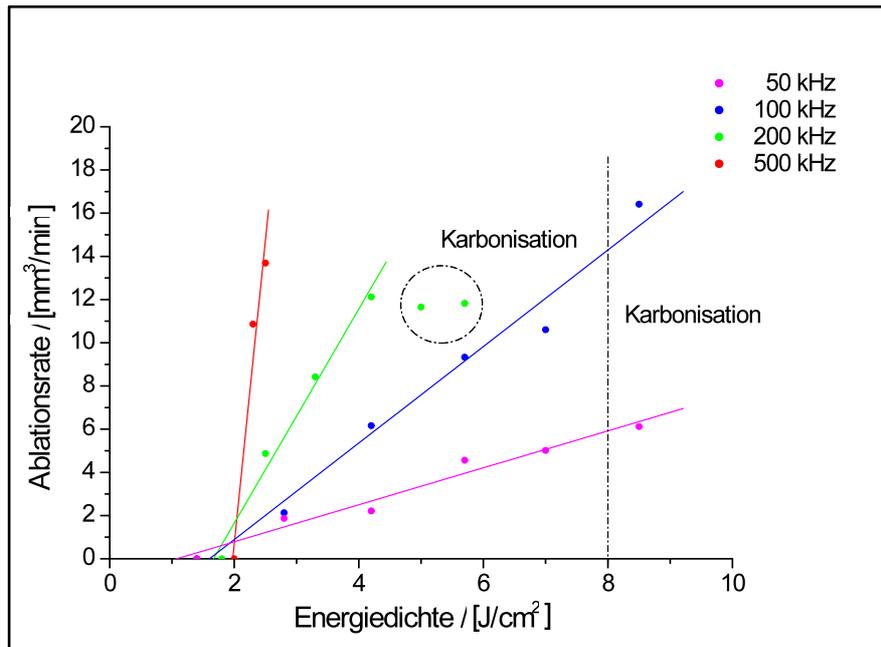


**Abb. 16:** Darstellung der probekörperabhängigen Streuung der Kavitätentiefe für Kompakta. Der Kreis markiert einen Wert, der das 1,5-fache des Interquartilsabstands überschreitet. Der Medianwert liegt bei etwa 5,2 mm<sup>3</sup>/min, die Standardabweichung liegt bei etwa 1,5 %

Die Standardabweichung ergab bei dieser Messung 1,5 %. Dieser Wert muss als mögliche Fehlerquelle berücksichtigt werden, siehe dazu auch Kapitel 4.1. Weiterhin wurde die lokale Abhängigkeit der Kavitätentiefe anhand von fünf Kavitäten derselben Parameter (Tab. 8) auf einem einzigen Probekörper, aber an unterschiedlichen Positionen, untersucht. Damit sollte ermittelt werden, ob die Ablationsrate innerhalb desselben Probekörpers unter den gleichen Bedingungen beim Bearbeiten starken Schwankungen unterliegt. Die lokale Abhängigkeit der Kavitätentiefe innerhalb desselben Probekörpers ergab eine Standardabweichung von 0,66 %. Dieser Wert ist vernachlässigbar klein.

### 3.1.3 Gingiva

Die Ablationskurven von "Attached Gingiva" konnten für Repetitionsraten von 50, 100, 200 und 500 kHz ermittelt werden (Abb.17). Für diese Versuchsreihe wurde die erste Lasersoftware verwendet. Die Vorgehensweise war analog der von Kompakta (siehe oben).



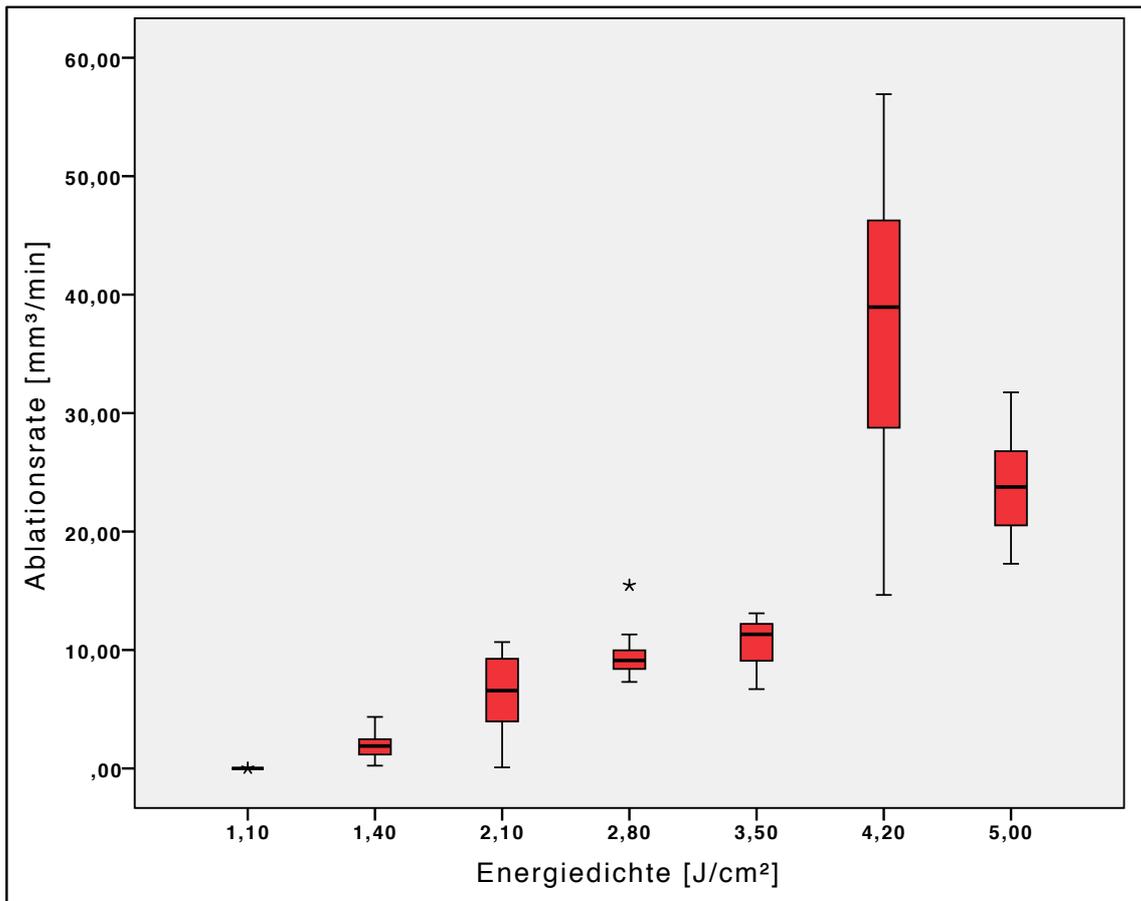
**Abb. 17:** Graphische Darstellung der Ablationkurven von "Attached Gingiva" für 50-500 kHz. Dargestellt ist die Ablationsrate in Bezug auf die Energiedichte. Bei Energiedichten oberhalb von 8 J/cm<sup>2</sup> kommt es bei 50 und 100 kHz, sowie etwas früher auch bei 200 kHz (schwarzer Kringel), zur Karbonisation. Der Abtrag ist bei 500 kHz am höchsten

Bei 200 kHz wurde eine Ablationsrate von etwa 11,7 mm<sup>3</sup>/min erreicht, bei 500 kHz eine Ablationsrate von etwa 16,4 mm<sup>3</sup>/min. Bei 100 kHz wurde eine noch höhere Ablationsrate erreicht, allerdings nur unter Auftreten von Karbonisationserscheinungen. Bei einer Repetitionsrate von 500 kHz trat, wie beim Knochen, keine Karbonisierung ein. Bei einer Repetitionsrate von 200 kHz trat diese, im Gegensatz zur Kompakta, einmalig bei einer Leistung von 7 Watt und einer Energiedichte von 5 J/cm<sup>2</sup> ein. Diese Beobachtung hat sich in den folgenden Versuchen nicht wiederholt. Die Ablationsschwelle lag sowohl bei 200, als auch bei 500 kHz etwas niedriger als beim Knochen (Tab. 13).

Repetitionsrate [kHz]	Schwellenwert		Karbonisation	
	Leistung [W]	Energiedichte [J/cm <sup>2</sup> ]	Leistung [W]	Energiedichte [J/cm <sup>2</sup> ]
50	0,35	1	3	8,5
100	0,7	1	5	8,5
200	1,5	1,1	7	5
500	3,5	1	>9	>2,5

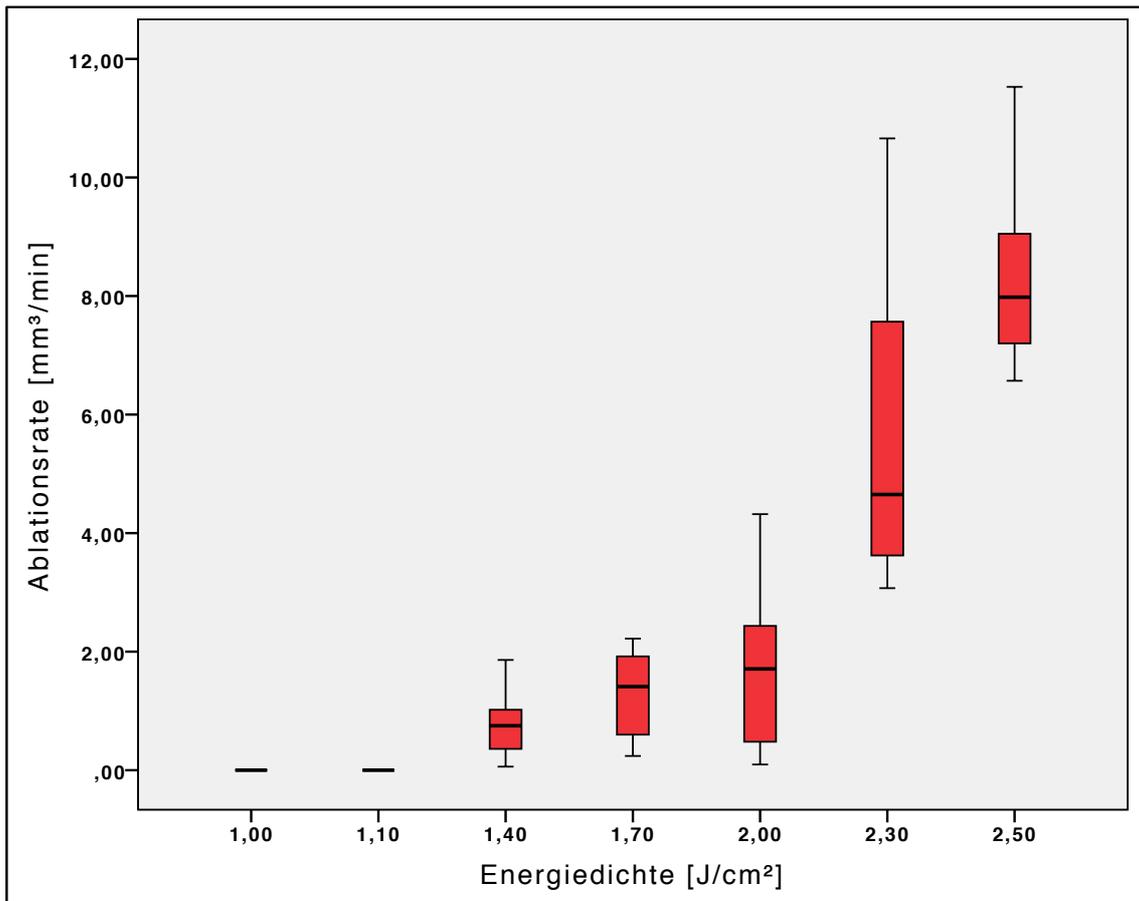
**Tab. 13:** Übersicht über Ablationsschwellen (Schwellenwert) und Karbonisierungsgrenzen (Karbonisation) bei verschiedenen Repetitionsraten, Leistungen und Energiedichten für Gingiva. Anders als bei Schweinerippenknochen (Tab. 12) trat hier einmalig eine Karbonisation bei 200 kHz ein

Um die Ablationskurven der Gingiva zu belegen, wurde der vorhergehende Versuch mit den Repetitionsraten 200 und 500 kHz mit einer größeren Anzahl an Kavitäten für Gingiva wiederholt. Dazu wurden für jedes Parameterset zehn Kavitäten auf einem Probekörper erzeugt, so dass sieben Probekörper je Repetitionsrate bearbeitet wurden. Die Auswertung wurde graphisch mit Hilfe von Boxplot-Diagrammen (Abb. 18 und Abb. 19) dargestellt. Für diese Versuchreihe wurde die zweite Lasersoftware verwendet.



**Abb. 18:** Ablationsrate von “Attached Gingiva” vom Schwein bei 200 kHz. Jeder Boxplot steht für einen Probekörper, auf dem zehn Kavitäten des jeweiligen Parametersets (Tab. 9) erzeugt wurden. Das Sternchen bei 2,8 J/cm<sup>2</sup> markiert einen Wert, der den dreifachen Interquartilsabstand überschreitet

Es wird deutlich, dass die Ablationsrate mit steigender Energiedichte bei konstanter Gesamtenergie von 4,5 J stetig erhöht wird. Bei maximal hoher Gesamtleistung unter diesen Bedingungen, nämlich bei 5 J/cm<sup>2</sup> Energiedichte und 7 W Leistung, beträgt die Ablationsrate minimal etwa 17,3 mm<sup>3</sup>/min und maximal etwa 31,8 mm<sup>3</sup>/min; der Medianwert liegt bei 23,76 mm<sup>3</sup>/min. Bei 4,2 J/cm<sup>2</sup> ist eine ungewöhnlich hohe Ablationsrate von etwa 57 mm<sup>3</sup>/min im Maximum und 39 mm<sup>3</sup>/min im Median zu erkennen, auf welche später eingegangen wird.

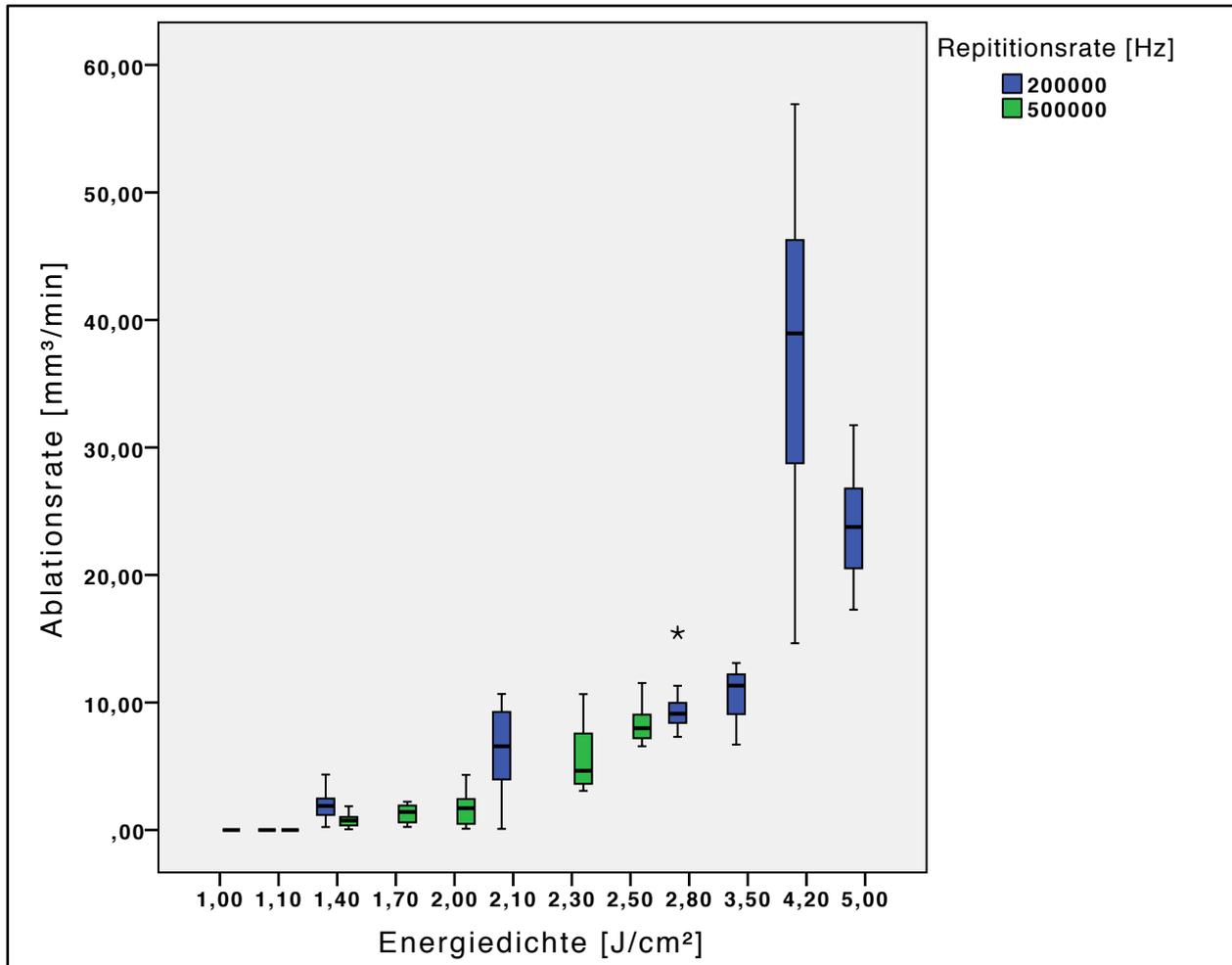


**Abb. 19:** Ablationsrate von “Attached Gingiva” vom Schwein bei 500 kHz. Jeder Boxplot steht für einen Probekörper, auf dem zehn Kavitäten des jeweiligen Parametersets (Tab. 10) erzeugt wurden

Auch bei 500 kHz wird deutlich, dass die Ablationsrate mit steigender Energiedichte bei konstanter Gesamtenergie von 4,5 J zunimmt. Bei maximal hoher Gesamtleistung innerhalb dieses Parametersets, nämlich 2,5 J/cm<sup>2</sup> Energiedichte und 9 W Leistung, beträgt die Ablationsrate minimal etwa 6,6 mm<sup>3</sup>/min und maximal etwa 11,5 mm<sup>3</sup>/min; der Medianwert beträgt etwa 8 mm<sup>3</sup>/min.

Zur besseren Anschaulichkeit wurden die Ablationsraten von 200 und 500 kHz Repetitionsrate in einer Graphik (Abb. 20) zusammengefasst. Die Ablationsrate liegt insgesamt bei 200 kHz höher als bei 500 kHz, was von den Beobachtungen der vorherigen Versuchsreihe für Gingiva (Abb. 17) abweicht. Da die Ermittlung der Ablationsraten von Gingiva in dieser Arbeit nicht vollständig durchgeführt werden konnte, wurde diese Gelegenheit nicht näher untersucht. Ein Unterschied ist jedoch auch hier in der absoluten

Höhe der Ablationsraten, hauptsächlich bei 500 kHz, zu sehen. Bei der vorherigen Versuchsreihe wurden analog der Kompakta etwas höhere Werte erreicht. Zu möglichen Ursachen siehe Kapitel 4.1.

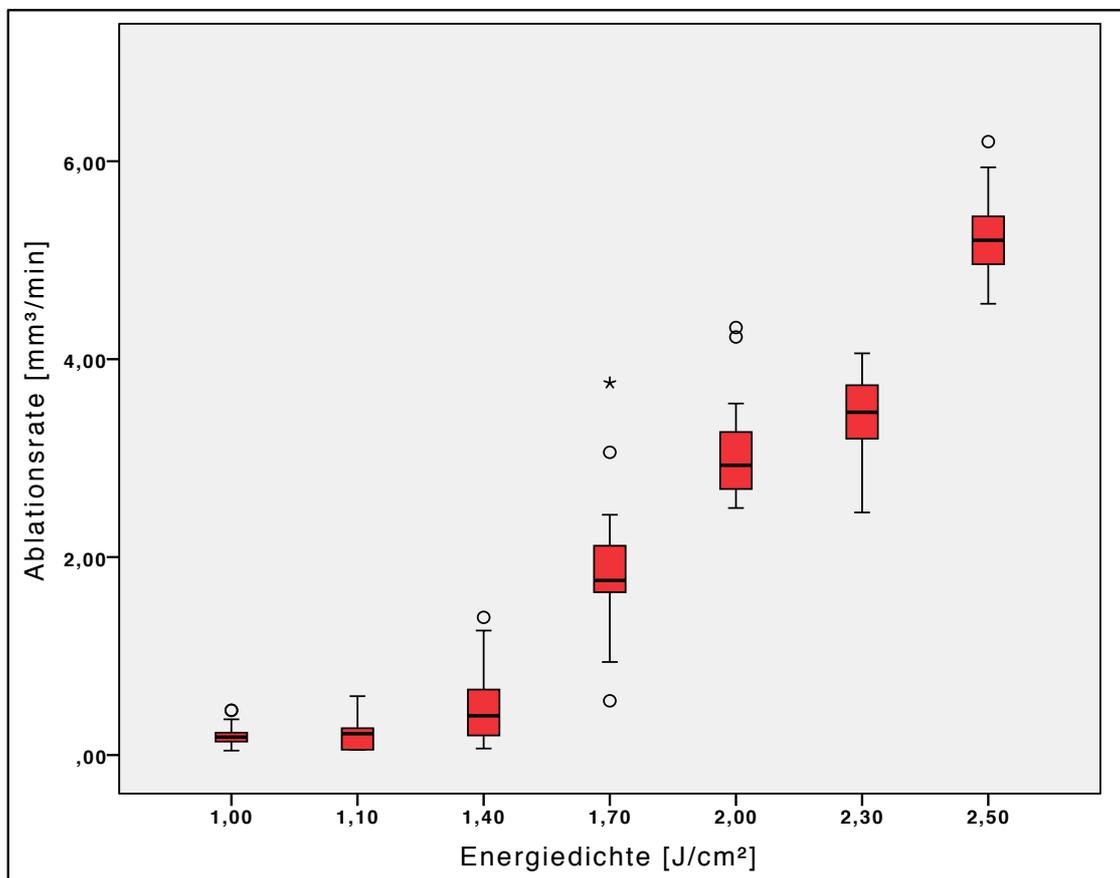


**Abb. 20:** Direkter Vergleich der Ablationsraten von Gingiva bei 200 (blau) und bei 500 kHz (grün) Repetitionsrate. Das Sternchen bei 2,8 J/cm<sup>2</sup> markiert einen Wert, der den dreifachen Interquartilsabstand überschreitet. Bei 4,2 J/cm<sup>2</sup> Energiedichte war die Ablation bei Gingiva überraschend hoch. Dieses Ergebnis weicht von den vorherigen Ergebnissen in den Vorversuchen ab. Insgesamt ist die Ablation bei 200 kHz höher als bei 500 kHz. Auch dieses Ergebnis weicht von vorherigen Untersuchungen ab

### 3.2 Versuchsphase II-Systematische Bestimmung der Ablationsrate von Knochen

Im Hauptversuch dieser Arbeit wurde zur statistischen Belegung der vielversprechendsten Parametersets (Tab.11) bei einer Repetitionsrate von 500 kHz bei Knochen jedes

Parameterset insgesamt dreißig Mal auf zehn verschiedenen Probekörpern erzeugt. Da es bei 500 kHz sieben Parametersets gab, ergab dies eine Probenzahl von siebenzig Probekörpern. Die Parametersets bei 500 kHz wurden deshalb als am vielversprechendsten angesehen, weil sich in Versuchsphase I gezeigt hat, dass unter diesen Bedingungen für Knochen in keinem Fall Karbonisation eintrat, gleichzeitig aber die Ablationsrate am höchsten war und damit eine möglichst gewebeschonende und effiziente Abtragung von Gewebe erwartet werden konnte. Die so erhaltene Verteilung der Werte wurde in einem Boxplot-Diagramm dargestellt (Abb. 21). Für diese Versuchsreihe wurde die dritte Scannersoftware verwendet.



**Abb. 21:** Ablationsrate von Schweinerippen-Kompakta bei 500 kHz in Versuchsphase II. Jeder Boxplot steht für zehn Probekörper á drei Kavitäten für das jeweilige Parameterset (Tab. 11). Die Kreise markieren Werte, die das 1,5-fache des Interquartilsabstands überschreiten, das Sternchen markiert einen Wert, der den dreifachen Interquartilsabstand überschreitet

Die statistische Auswertung dieser Versuchsphase anhand der in 2.6.3 beschriebenen Methoden ergab, dass die einzelnen Parametersets ausgenommen der ersten drei Gruppen (7,8 und 10  $\mu\text{m}$ ) einen deutlichen Unterschied in der Ablationsrate aufwiesen (Tab. 14). Das bedeutet, dass der Abtrag ab einer Energiedichte von 1,7  $\text{J}/\text{cm}^2$  aufwärts mit steigender Leistung auch deutlich variiert bzw. gesteigert wird. Es wird deutlich, dass die Ablationsrate wie erwartet mit steigender Energiedichte bei konstanter Gesamtenergie von 4,5 J zunimmt. Bei maximal hoher Gesamtleistung innerhalb dieses Parametersets, nämlich 2,5  $\text{J}/\text{cm}^2$  Energiedichte und 9 W Leistung, beträgt die Ablationsrate minimal etwa 4,8  $\text{mm}^3/\text{min}$  und maximal etwa 5,8  $\text{mm}^3/\text{min}$ ; der Medianwert beträgt etwa 5,2  $\text{mm}^3/\text{min}$ . Diese Werte sind erneut geringer als in den vorherigen Versuchen in Versuchsphase I. Zu möglichen Ursachen und Fehlerquellen siehe Kapitel 4.1.

Energiedichte [ $\text{J}/\text{cm}^2$ ]	Stichprobengröße	Mittelwert [ $\text{mm}^3/\text{min}$ ]	Standardabweichung	p-Wert zur jeweils höheren Energie- dichte
1	30	0,1905	0,10173	1,000
1,1	30	0,2229	0,14767	0,209
1,4	30	0,4815	0,35986	0,000
1,7	30	1,8311	0,60547	0,000
2	30	3,0474	0,45005	0,003
2,3	30	3,4367	0,41124	0,000
2,5	30	5,2209	0,36930	0,000

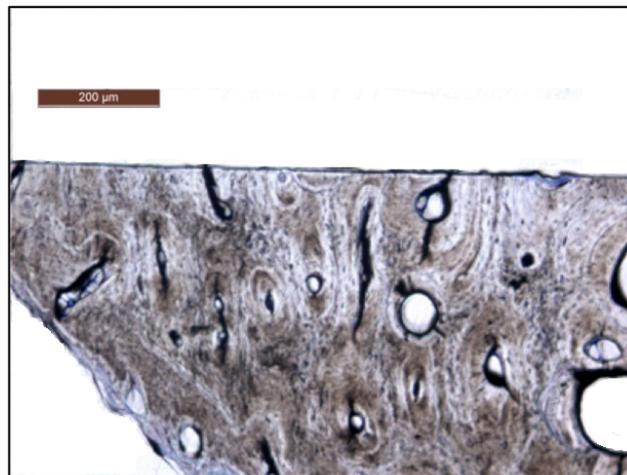
**Tab. 14:** Übersicht über die Daten der statistischen Auswertung (ANOVA) des Hauptversuchs

### 3.3 Histologische Beurteilung

#### 3.3.1 Kompakta

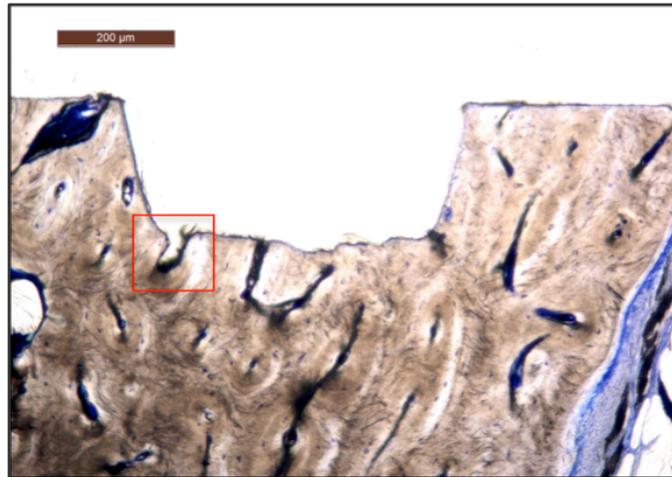
##### 3.3.1.1 Versuchsphase I

In Versuchsphase I wurden Parameter ermittelt, die zur Abtragung von Knochen führen, ohne dabei Karbonisationserscheinungen zu verursachen. Um die Ergebnisse vergleichen zu können, zeigt Abb. 22 beispielhaft eine unbearbeitete Fläche:



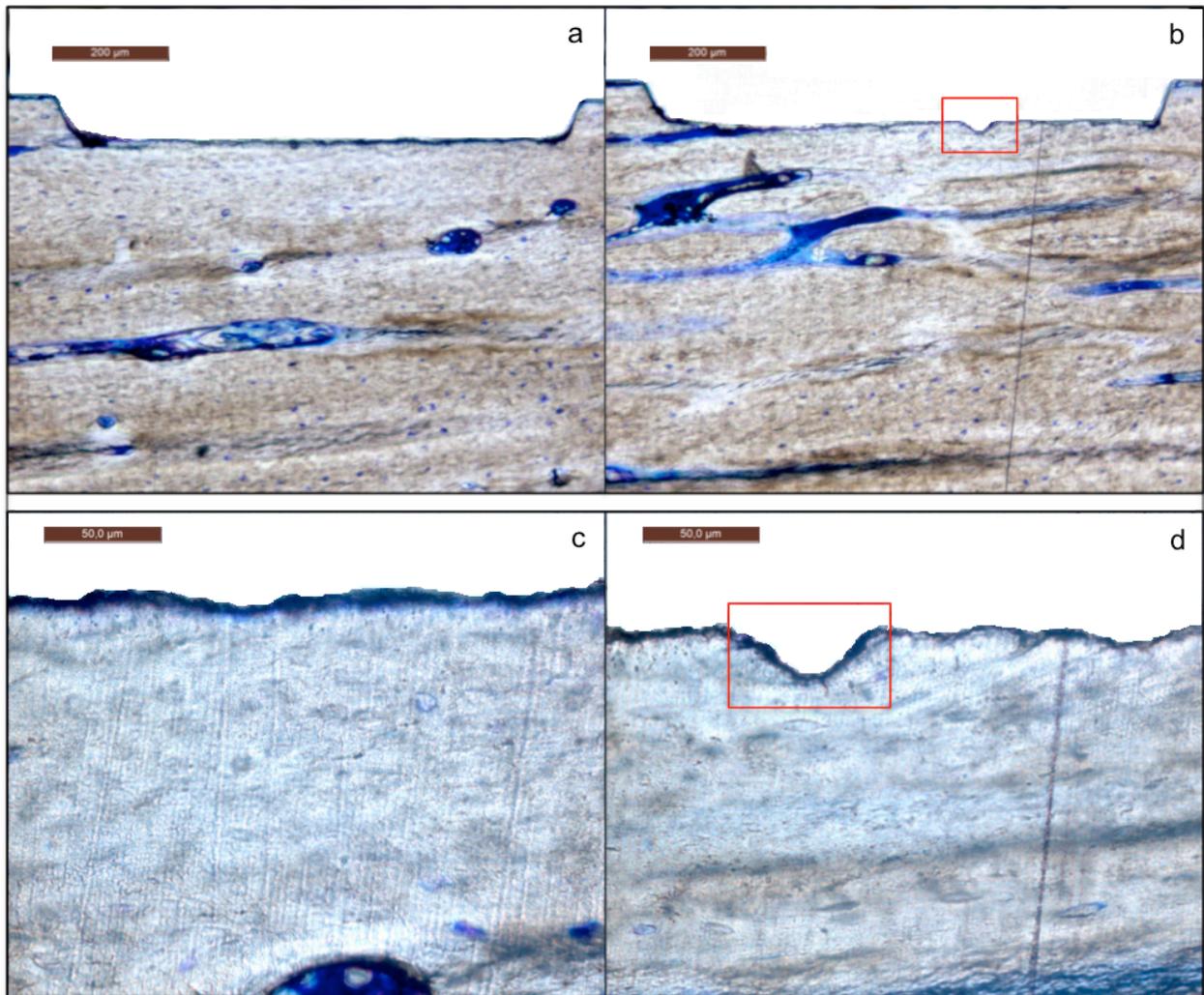
**Abb. 22:** Schweinerippenkompakta vor Bearbeitung mit dem Laser in 10-facher Vergrößerung. Zu sehen ist die lamelläre Knochenstruktur mit zahlreichen Osteozyten und Blutgefäß-Anschnitten (Toluidin-Blau)

Die Kavitäten zeigten einen deutlichen, kastenförmigen Umriss mit scharf begrenzten Kavitätenrändern. Thermische Schädigungen des umliegenden Gewebes konnten nicht beobachtet werden (Abb. 23). Hierbei ist zu erwähnen, dass trotz der eingestellten Kantenlänge von 1 mm die tatsächliche Kantenlänge mit dieser Software 0,6 mm betrug. Die Kavitäten sind daher deutlich tiefer als in nachfolgenden Versuchen, da die Energie auf eine kleinere Fläche appliziert wurde.



**Abb. 23:** Kavität in 10-facher Vergrößerung in Kompakta (Laserparameter: 100 kHz, 4 W, 5,7 J/cm<sup>2</sup>). Die Oberfläche ist gleichmäßig, es gibt keine Anzeichen von thermischer Schädigung benachbarter Strukturen. In der linken unteren Ecke (rotes Kästchen) ist ein Blutgefäß angeschnitten (Toluidin-Blau).

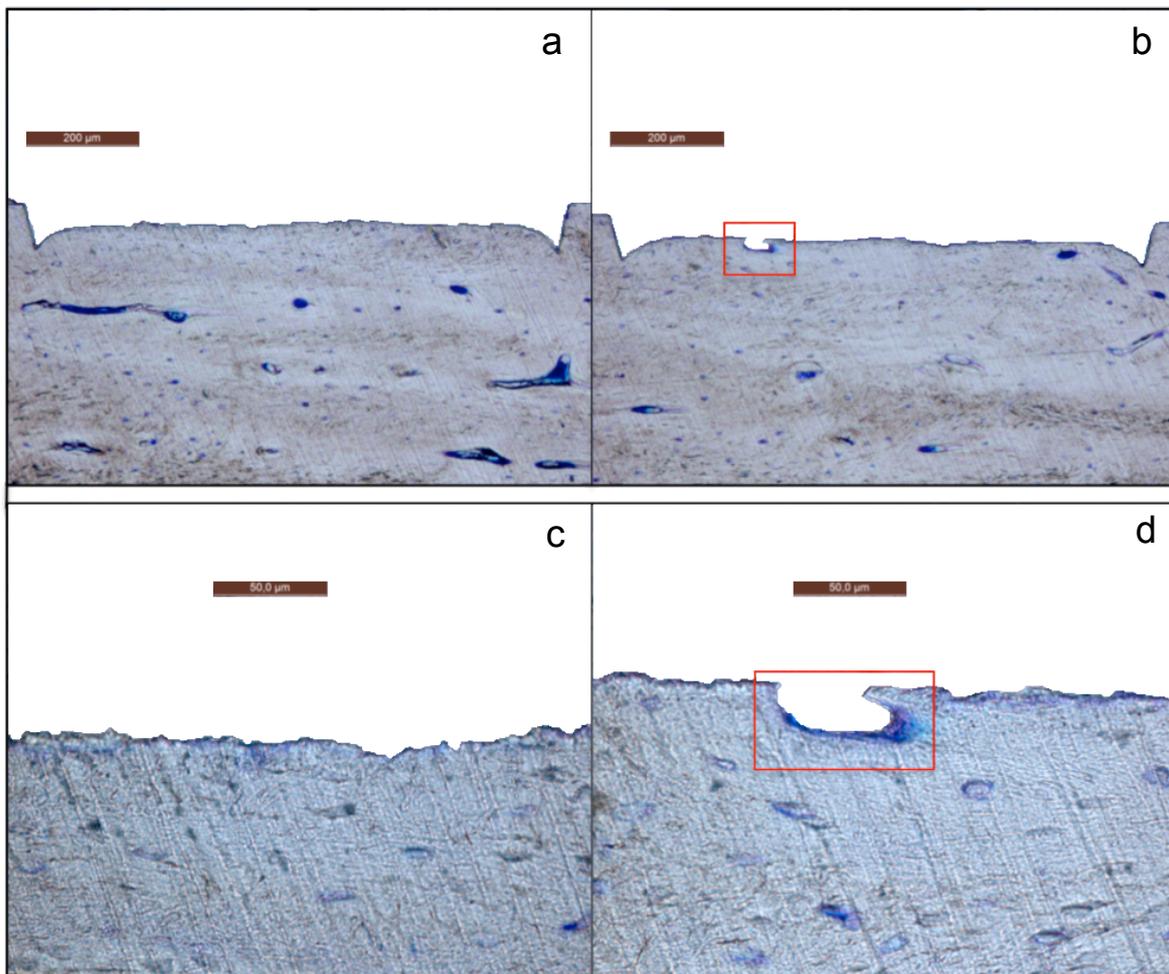
Auch bei den weiteren Versuchen zeigte sich, dass mit dem Laser präzise und scharfkantige Kavitäten im Knochen erzeugt werden konnten. Thermische Nebeneffekte, wie Karbonisierungserscheinungen, waren nicht zu erkennen (Abb. 24).



**Abb. 24:** Kavitäten in jeweils 10-facher (a und b) und 40-facher (c und d) Vergrößerung in Kompakta (Laserparameter: 200 kHz, 6 W, 4,2 J/cm<sup>2</sup>). Die Kavitätenränder sind scharf abgegrenzt, der Kavitätenboden ist plan. Das umgebende Gewebe zeigt keinerlei Anzeichen von Karbonisation, Blasenbildung oder Zellerstörung an. In der rechten Kavität ist eine kleine Mulde (rotes Kästchen) im Kavitätenboden zu sehen, welche wahrscheinlich ein angeschnittenes Blutgefäß oder eine Osteoklastenlakune darstellt.

### 3.3.1.2 Versuchsphase II

In Versuchsphase II wurde die Repetitionsrate auf 500 kHz eingeschränkt, da in den Vorversuchen ermittelt wurde, dass bei dieser Einstellung neben dem höchsten Abtrag die größte Gewebeschonung möglich war. Die erzeugten Kavitäten (Abb. 25) waren präzise und scharfkantig. Thermische Nebeneffekte wie Blasenbildung oder Karbonisation konnten bei keinem der sieben Probekörper beobachtet werden. Die Abtragstiefe erschien geringer als bei den Vorversuchen, was bereits weiter oben erläutert wurde.

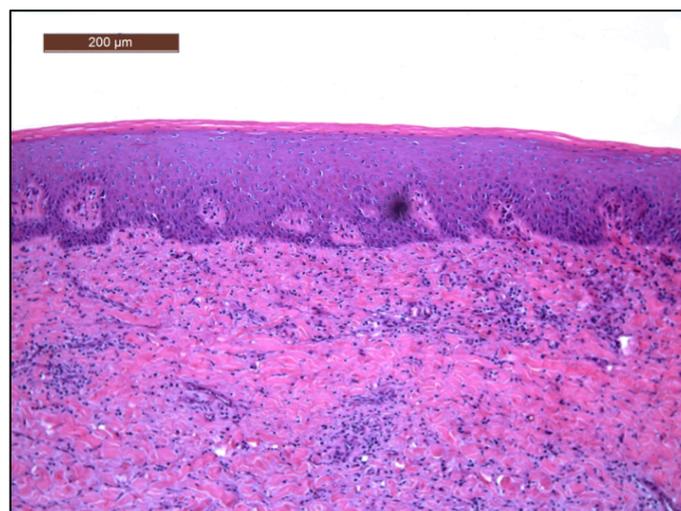


**Abb. 25:** Kavitäten in 10-facher (a und b) und 40-facher (c und d) Vergrößerung in Kompakta (Laserparameter: 500 kHz, 9 W, 2,5 J/cm<sup>2</sup>). Die Kavitätenränder sind scharf begrenzt, der Kavitätenboden ist plan. Anzeichen von Karbonisation, Blasenbildung oder Zellerstörung sind nicht zu erkennen. Die rechte Kavität zeigt eine kleine Mulde (rotes Kästchen) im Kavitätenboden, wahrscheinlich ein angeschnittenes Blutgefäß. Die erhöhte Abtragstiefe an den Ecken des Kavitätenbodens ist auf die Pulsüberlagerung, die durch das Scannersystem des Lasers bedingt ist, zurück zu führen

Wie in Abb. 25 zu sehen, zeigen die Kavitäten in Versuchsphase II eine Art Kraterbildung an den seitlichen Kavitätenrändern auf. Diese entstehen aufgrund von sogenannten Erstpulsüberhöhungen nach Wiedereinschalten des Lasers. Im Vergleich zur vorherigen Software wurde der Laser in den Umlenkpunkten beim Wechsel der Zeile innerhalb des Abtragsbereichs ausgeschaltet. Dies bietet den Vorteil, dass eine durch Abbremsen der Scanbewegung in den Umlenkpunkten übermäßige Energieakkumulation (und damit Wärmeentwicklung) vermieden wird. Bedingt durch den Verstärkertyp der Laserquelle hatte dies jedoch ebenso eine Erstpulsüberhöhung durch Wiedereinschalten zur Folge. Dies bedeutet, dass der jeweils erste Puls nach Einschalten des Lasers eine zu hohe Energie in Relation zu den übrigen Pulsen aufwies, was zur verstärkten Einbuchtung im Bereich der Kavitätenränder führte. Dieses Problem soll durch Verwendung eines regenerativen Verstärkers in späteren Funktionsmustern vermieden werden.

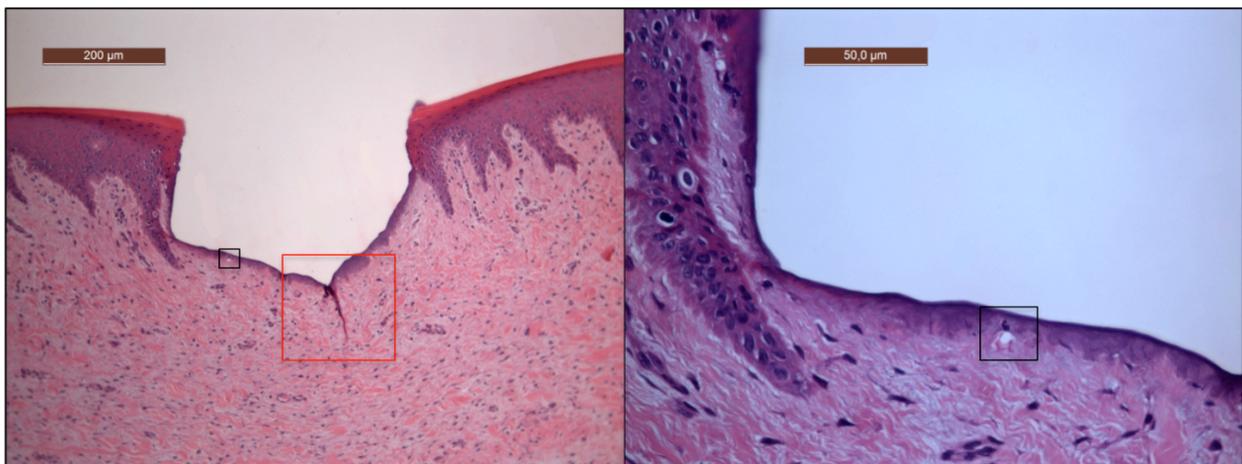
### 3.3.2 Gingiva

In Versuchsphase I wurden auch für „Attached Gingiva“ Parameter ermittelt, die zur Abtragung von Gewebe führen, ohne dabei Karbonisationserscheinungen zu verursachen. Um die Ergebnisse analog denen des Knochens vergleichen zu können, zeigt Abb. 26 beispielhaft eine unbearbeitete Fläche:



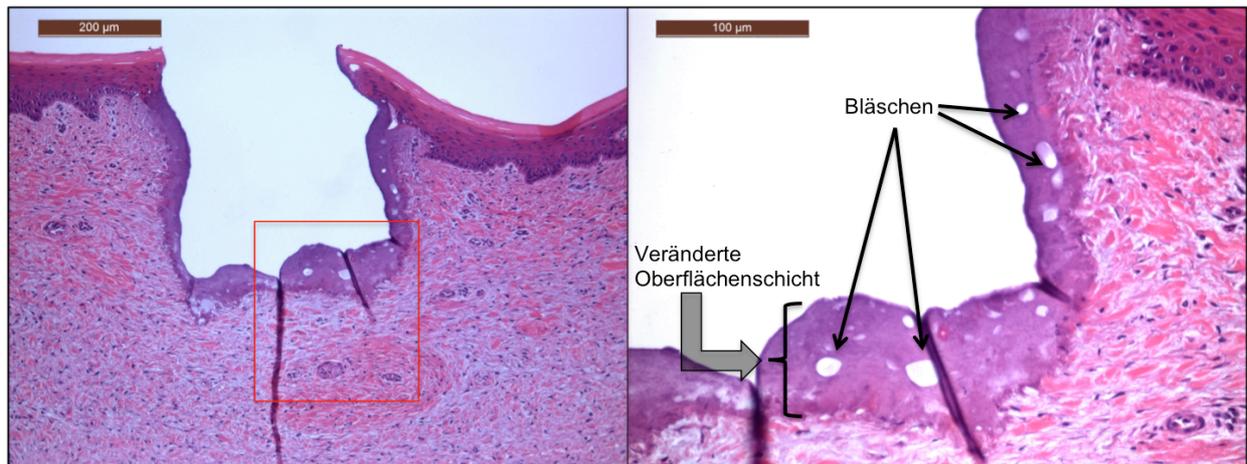
**Abb. 26:** Unbearbeitete Gingiva in 10-facher Vergrößerung. Gut zu sehen ist die Gliederung des Epithels in seine vier Anteile (Str. basale, Str. spinosum, Str. granulosum, Str. corneum) und die papillenartige Verzäpfung mit der darunter liegenden Lamina propria

In den Vorversuchen war es möglich, Kavitäten in der Gingiva zu erzeugen. Die thermische Schädigung des umliegenden Gewebes war zunächst gering. Der Oberfläche der Kavität lag eine schmale Schicht veränderten Gewebes von lediglich wenigen  $\mu\text{m}$  (etwa 10-20  $\mu\text{m}$ ) auf (Abb. 27). Hierbei ist erneut zu erwähnen, dass trotz der eingestellten Kantenlänge von 1 mm die tatsächliche Kantenlänge mit dieser Software 0,6 mm betrug. Die Kavitäten sind daher deutlich tiefer als in nachfolgenden Versuchen, da die Energie auf eine kleinere Fläche appliziert wurde.



**Abb. 27:** Kavität in 10-facher (links) und 40-facher (rechts) Vergrößerung in “Attached Gingiva” (Laserparameter: 200 kHz, 6 W, 4,2 J/cm<sup>2</sup>). Die Kavitätenränder sind klar abgegrenzt. Am Kavitätenboden ist ein Gefäßanschnitt (schwarzes Kästchen) zu erkennen, die oberflächliche Schicht der Kavität ist leicht verändert, vermutlich im Sinne von koagulierte Gewebe. Diese Zone beläuft sich auf eine lediglich etwa 10-12  $\mu\text{m}$ . Der Riss (rotes Kästchen) ist ein Artefakt, das durch die Herstellung der Schnitte entstand

Im Gegensatz zum Knochen kam es bei der Gingiva bei 200 kHz Repetitionsrate zur Karbonisation des Gewebes. Um das Aussehen der Oberflächenbeschaffenheit von Gingiva bei zu großer Wärmeapplikation zu verdeutlichen, zeigt Abb. 28 diese einmalig aufgetretene Erscheinung. Als mögliche Ursachen kommen eine eventuell aufgetretene Defokussierung des Laserstrahles oder eine lokale Austrocknung des Gewebes in Frage. Bei den nachfolgenden Versuchsreihen mit 200 und 500 kHz kam es nicht erneut zur Karbonisation bei diesen Einstellungen, die Histologien zeigten den Vorversuchen analoge Ergebnisse (vergl. Abb. 27).



**Abb. 28:** Kavität in 10-facher (links) und 25-facher (rechts) Vergrößerung in Gingiva (Laserparameter: 200 kHz, 8 W, 5,7 J/cm<sup>2</sup>). Am Kavitätenboden sind als Zeichen von Überhitzung des Gewebes multiple Bläschen innerhalb einer Zone von veränderter Oberflächenschicht (maximale Breite etwa 80-90 µm) zu sehen. Die Bläschen entstehen vermutlich durch die Verdampfung von Zellflüssigkeit. Die Rissbildungen (rotes Kästchen) sind Artefakte, die bei der Herstellung der Histologien entstanden sind

## 4. Diskussion

### 4.1 Bewertung der angewandten Methoden

Zur Bearbeitung der Probekörper musste zunächst der Fokus des Laserstrahls eingestellt werden. Da zum Zeitpunkt der Versuchsreihen noch kein funktionierendes Autofokussystem zur Verfügung stand, musste der Fokus manuell ermittelt und eingestellt werden. Dies führte unausweichlich zu Ungenauigkeiten der Messungen, da nicht garantiert werden kann, dass der Fokus bei jeder Messung exakt getroffen wurde. Zum Zeitpunkt der Durchführung der Versuchsreihen gab es keine Möglichkeit, die Temperatur im Laserlabor durch eine automatische Klimaanlage zu kontrollieren. Da die Versuche teils bei warmen, teils bei kalten Außentemperaturen durchgeführt wurden, waren Schwankungen der Raumtemperatur nicht vollständig zu vermeiden. Organisches Material verhält sich aufgrund seines hohen Wassergehaltes (80-90 %) je nach Temperatur unterschiedlich (Horch, 1978). Unregelmäßigkeiten in den Messergebnissen können also teilweise auch auf den unterschiedlichen Eigenschaften des organischen Materials bei verschiedenen Temperaturen beruhen.

Während der Durchführung der Versuchsreihen wurde die verwendete Scannersoftware mehrfach verändert und verbessert, da die ersten beiden Software-Versionen zu einer ungleichmäßigen Verteilung der Pulse innerhalb der Kavität geführt haben (vergl. auch S. 28). Insgesamt wurden drei verschiedene Versionen verwendet, so dass auch aus diesem Grund die Ergebnisse variieren können. Der Laseraufbau stellt ein sehr komplexes System dar, welches auf Veränderungen relativ sensibel reagiert. Vor allem die im Vergleich zu ersten Versuchsreihen der Versuchsphase I weniger tiefen Kavitäten und die daraus resultierende geringere Ablationsrate in Versuchsphase II zeugen von dieser Tatsache, da die Laserparameter und die Vorgehensweise im Vergleich zu den Versuchsphase I nicht variiert wurden. Daneben wurden auch verschiedene Laseraufbauten getestet, um den Versuchsaufbau ständig zu optimieren bzw. für Versuchsreihen im Zuge anderer Forschungsarbeiten einzurichten, was ebenfalls dazu geführt haben könnte, dass die Ergebnisse der Messungen abwichen. Möglicherweise aufgetretene optische Verluste aufgrund einer eventuellen Verunreinigung oder auch nur minimalen Ver-

änderung der Position der Spiegel sind ebenfalls nicht auszuschließen.

Zu berücksichtigen sind weiterhin organische Materialschwankungen des verwendeten Probenmaterials. Die Gewebszusammensetzung ist von Probekörper zu Probekörper unterschiedlich, da es sich um komplexes organisches Material handelt, dessen Zusammensetzung natürlichen Schwankungen unterliegt. Die organischen Materialschwankungen wurden durch die Ermittlung der probekörperabhängigen Streuung (Abb. 16) untersucht. Die Untersuchung ergab eine Standardabweichung von 1,5 %, so dass eine geringe Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch diese Gegebenheit nicht auszuschließen ist.

Die Probekörper wurden unter in vitro-Bedingungen mit dem Lasersystem bearbeitet. Trotz der nicht mehr vorhandenen Durchblutung und der künstlich verringerten Temperatur wurde das Versuchsmaterial zum frühesten möglichen Zeitpunkt nach der Schlachtung der Tiere bearbeitet, und die Probekörper weisen bei der Begutachtung der histologischen Schnitte keine typischen Zerfallserscheinungen auf. Diese Tatsache lässt vermuten, dass eine Restvitalität einzelner Zellen nicht auszuschließen ist und somit die Versuchsbedingungen denen einer in vivo-Untersuchung möglichst nahe kommen.

Vorteile der profilometrischen Messung sind, dass die erzeugten Kavitäten mit dem optischen Streifenlichtsensor bis auf wenige Mikrometer genau ausgemessen werden können und so das ablatierte Volumen exakt berechnet werden kann. Gleichzeitig gibt die Profilometrie schon im Vorfeld orientierende Hinweise darauf, wie die Oberfläche des Kavitätenbodens beschaffen ist, da auch geringe Höhenunterschiede im Sinne von Rauigkeiten detektiert und im Programm angezeigt werden. Die Profilometrie stellte sich grundsätzlich als geeignetes Verfahren dar, um die Tiefe der Kavitäten zu ermitteln. Allerdings zeigte sich im Verlauf der Versuchreihen, dass die Ausmessung des organischen Materials teilweise aufgrund dessen Feuchtigkeitsgehalt erschwert wurde und eventuelle Ungenauigkeiten der Messungen dadurch nicht auszuschließen sind.

Der optische Aufbau des Lasers auf dem Lasertisch ermöglicht gute Bedingungen für standardisierte Messungen innerhalb der Versuchreihen, da durch den xyz-Tisch und

den Probekörperhalter konstante Bedingungen für die Ausrichtung des Probekörpers geschaffen werden. Über die Fokussierlinse und den Ziellaser wird eine exakte Platzierung des Laserstrahls auf das zu bearbeitende Ziel ermöglicht. Für den klinischen Einsatz jedoch ist dieser starre Aufbau kaum zu gebrauchen, da eine Platzierung des Patienten für die Bearbeitung von Gewebe innerhalb der Mundhöhle so nicht möglich wäre.

Die histologische Aufbereitung und Untersuchung des Probenmaterials bietet vielfältige Vorteile. Sie ermöglicht eine Begutachtung des bearbeiteten Probekörpers bis in den Mikrometerbereich, so dass eine exakte Aussage über die Beschaffenheit der umliegenden Gewebe nach Bestrahlung mit dem Laser getroffen werden kann. So können beispielsweise die Oberflächenbeschaffenheit, vorhandene Zellen, Knochen- und Weichgewebsstrukturen genauestens beurteilt werden. Zum anderen bietet sie die Möglichkeit, die Ergebnisse anderer Untersuchungen zur Bearbeitung von Hart- und Weichgewebe mit der vorliegenden Studie vergleichen zu können. Ein Nachteil der histologischen Aufbereitung in dieser Arbeit ist, dass aufgrund der geringen Größe und Tiefe der Kavitäten und der enormen Anzahl derselben, die histologische Aufbereitung äußerst umfangreich war und die Kavitäten trotz Markierung der Probekörper vor der Aufbereitung auf den histologischen Schnitten nicht vollständig zu sehen waren. Dadurch ist eine umfassende statistische Auswertung der histologischen Ergebnisse dieser Arbeit erschwert, da nur ein Teil der Kavitäten auch histologisch beurteilt werden konnte.

#### **4.2 Diskussion der Ergebnisse anhand von Literaturvergleichen**

Hinsichtlich der Anwendung von Lasern an Knochen finden sich innerhalb der Humanmedizin bisher nur wenig Anwendungen (Bäuerle, 2009; Tiedemann, 2011). In vitro-Studien zur Bearbeitung von Knochen mit verschiedenen Lasern (Nd:YAG, Tm:YAG, Ho:YAG, Ho:YSGG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG, CO<sub>2</sub>) verdeutlichten das Problem thermischer Nebeneffekte, es kam immer zur Schädigung oder Karbonisation umliegender Gewebe (Jahn et al., 1994; Nuss et al., 1988). In einer in vivo-Studie von Kuttenger et al. (2008) wurde ein CO<sub>2</sub>-Laser zur Osteotomie eines Tibiaknochens vom Schaf verwendet, die Anwendung in der Praxis jedoch auf Knochen von 7-10 mm Dicke begrenzt. Eine nachfolgende Studie zu diesem Ziel ermöglichte eine zufriedenstellende Osteoto-

mie bis zu 20 mm Tiefe, zeigte aber die signifikant längere Dauer der Laserosteotomie im Vergleich zu konventionellen Verfahren (Kuttenberger et al., 2010).

Der in der vorliegenden Arbeit verwendete Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser wurde zur Bearbeitung oraler Schleimhäute und Knochen bisher kaum erforscht. Generell wurde bei den meisten Studien, welche den Gebrauch von Ultrakurzpulslasern untersuchten, das Hauptaugenmerk eher auf histologische Untersuchungen gelegt, und nicht, wie in der vorliegenden Arbeit, auch auf quantitative Messungen in Abhängigkeit von der Bearbeitungszeit. Vielversprechende Ergebnisse mit Ultrakurzpulslasern in der Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde zeigen zwei in vitro-Studien, bei denen Ti:Saphirlaser mit Pulsdauern von < 200 fs bzw. 350 fs zur Bearbeitung von Schweinekomakta und humanen Gehörknöchelchen herangezogen wurden. Der Abtrag verlief präzise und ohne nennenswerte thermische Schädigung des umliegenden Gewebes (Armstrong et al., 2002; Schwab et al., 2004). Im Bereich der orthopädischen Chirurgie wurde die Bearbeitung von Femurknochen vom Schwein unter in vitro-Bedingungen, ebenfalls unter Anwendung eines Scanner-Systems, mit einem diodengepumpten Yb:Glass-Laser untersucht (Liu und Niemz, 2007). Auch hier konnte eine präzise, nahezu nebenwirkungsfreie Ablation festgestellt werden. In dieser Studie wurde die Ablationsrate ähnlich der vorliegenden Arbeit in Abhängigkeit von der Bearbeitungszeit untersucht. Die höchste Ablation wurde mit 0,022 mm<sup>3</sup>/s bei 80 µJ Pulsenergie erreicht, dies entspricht etwa 1,32 mm<sup>3</sup>/min. In der vorliegenden Arbeit wurde in Versuchsphase II bei 18 µJ Pulsenergie (entsprechend einer Energiedichte von 2,5 J/cm<sup>2</sup>, vergl. Abb. 21) eine Ablationsrate von etwa maximal 5,8 mm<sup>3</sup>/min erreicht, lag also deutlich höher. Dieses Ergebnis ist vielversprechend. Vergleichende Ablationsraten bei Anwendung konventioneller Verfahren lassen sich in der Literatur nicht finden.

Im Bereich der Zahnmedizin finden sich einige Studien zur Bearbeitung von oralem Knochen und Weichgewebe mit anderen Lasern, die nicht zu den Ultrakurzpulslasern zählen. In Bezug auf Weichgewebe zeigte sich bei der Exzisionsbiopsie von Schleimhautläsionen mit einem CO<sub>2</sub>-Laser in vivo durch Suter et al. (2010) in Dauerstrich- und Pulsbetrieb eine thermische Schädigungszone von etwa 225-234 µm. In der vorliegenden Arbeit mit dem Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser kam es einmalig zur Karbonisierung beim Bearbei-

ten von Gingiva (Abb. 26). Die Zone der thermischen Schädigung betrug im Maximum lediglich etwa 90  $\mu\text{m}$ , war also deutlich geringer. In einer in vitro-Studie von Frentzen et al. (2003) zur schneidenden Osteotomie von Knochen, also Hartgewebe, mittels eines 80- $\mu\text{s}$   $\text{CO}_2$ -Laser unter Wasserkühlung zeigten die Histologien eine schmale Zone thermischer Schädigungen von 5  $\mu\text{m}$ . In Bezug auf thermische Nebeneffekte beläuft sich die Zone der thermischen Schädigung des Gewebes beim  $\text{CO}_2$ -Laser generell vor allem auf die Oberfläche (Dederich und Bushick, 2004; Fisher et al., 1983; American Academy of Periodontology, 2002a) und ist geringer als beispielsweise bei der Behandlung mit einem Diodenlaser (Suter et al., 2010), jedoch ist das Ausbleiben von Nebeneffekten kaum möglich. Eine Veröffentlichung der American Academy of Periodontology (2002a) beschreibt, dass sich beim  $\text{CO}_2$ -Laser vor allem im Dauerstrichbetrieb eine Schicht verkohlten Gewebes bildet, welche bei erneutem Kontakt mit dem Laserstrahl durch extrem hohe Temperaturen bis zu 2000 °C entflammen kann und das Gewebe stark schädigen kann. In der vorliegenden Arbeit konnte bei der Bearbeitung von Knochen mit dem Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser sogar das komplette Ausbleiben thermischer Schädigungen erreicht werden (Abb. 20-23). Die auf das Material übertragene Energiemenge liegt bei diesem Laser im Bereich von lediglich einiger  $\mu\text{J}$ , so dass die Wärmeentwicklung im umgebenden Gewebe sehr gering ist (Frentzen et al., 2010).

Mittels zweier verschiedener Er:YAG-Laser (Glasfaserzuführsystem/ Gelenkarmzuführsystem) konnte bei der Entfernung von impaktierten Zähnen in vivo eine Ablation des Knochens zwar ohne sichtbare thermische Nebeneffekte oder Schädigung des umliegenden Gewebes erreicht werden (Stübinger et al., 2007). Der Zeitaufwand war jedoch sehr groß und bei zwanzig Prozent der Patienten musste die Osteotomie mithilfe von konventionellen mechanischen Abtragsinstrumenten beendet werden; hier mangelte es also an Effizienz. Die Effizienz des Abtrags ist bei der vorliegenden Arbeit mit einem Maximum von 5,8  $\text{mm}^3/\text{min}$  bei Kompakta im Hauptversuch (Abb. 21) ein Faktor, der im Vergleich zu anderen Studien (siehe oben) deutlich höher ist und gegebenenfalls noch gesteigert werden könnte (Kapitel 4.4).

Da im Kapitel 1.3.1. auch auf die mechanische Bearbeitung von Knochen und Weichgewebe eingegangen wird, sollen diese Verfahren mit der Laserbearbeitung verglichen

werden. Neben dem bloßen Aussehen der bearbeiteten Flächen wurde oft auch die Knochenheilung nach der Bearbeitung mit unterschiedlichen Methoden in mehreren Studien untersucht. In einer Studie im Vergleich von Inzisionen mit einer diamantbeschichteten Bandsäge zu denen eines CO<sub>2</sub>-Lasers in vitro zeigten die Säge-Inzisionen raue Ränder und Zeichen von mechanischer Schädigung (Frentzen et al., 2003). Friesen et al. (1999) verglichen die Knochenheilung in vivo nach Defektverursachung am Tibiaknochen von Ratten mit einer dentalen Rundfräse im Vergleich zu verschiedenen Lasern (Nd:YAG, CO<sub>2</sub>). Unabhängig vom Lasertyp war die Heilung nach einundzwanzig Tagen bei den Lasern im Vergleich zur Rundfräse verzögert. Dieses Ergebnis wurde auch durch eine Langzeitstudie nach 63 Tagen gestützt (McDavid et al., 2001). In einer in vivo-Studie von de Mello (2008) wurde die Osteotomie an Ratten-Tibiaknochen mit einem Er:YAG-Laser und einer niedrigtourigen Stahlfräse durchgeführt. Der Laser erzeugte hier geringe thermische Schäden und nach einundzwanzig Tagen war eine oberflächlich veränderte Schicht auszumachen, nicht jedoch bei der Stahlfräse. Eine ähnliche Studie verglich die Knochenheilung in vivo von mandibulärem Knochen von Ratten nach Bearbeitung mit Er:YAG-Lasern unterschiedlicher Einstellungen auf der einen, und einer chirurgischen Rundfräse auf der anderen Seite. Auch hier zeigte sich eine geringe Schicht thermischer Schädigung und eine anfänglich verzögerte Knochenheilung (Martins et al., 2011). Diese vier Studien zeigen, dass die Knochenheilung unter Anwendung konventioneller Verfahren überlegen ist, zumindest im Vergleich zu den dort eingesetzten Lasern. Im Gegensatz dazu kamen Pourzarandian et al. (2004) bei einer vergleichenden Untersuchung der Knochenheilung von Ratten-Kalottenknochen in vivo nach Bearbeitung mit einem Er:YAG-Laser gegenüber einem CO<sub>2</sub>-Laser oder einer Stahlfräse zu dem Ergebnis, dass die anfängliche Knochenheilung nach Bearbeitung mit dem Er:YAG-Laser am schnellsten vonstatten ging und der konventionellen Methode überlegen war.

Ein Nachteil des CO<sub>2</sub>-Lasers ist, dass die Wundheilung im Weichgewebe bzw. das Nachwachsen von Taschenepithel nach offener Lappenchirurgie in vivo (Israel et al., 1995) einige Tage verzögert sein kann (Fisher et al., 1983). Bei der bereits oben erwähnten Studie zur Untersuchung der Knochenheilung nach Behandlung von Ratten mit einem Er:YAG-Laser im Vergleich zur Behandlung mit einem CO<sub>2</sub>-Laser und einer Kno-

chensäge stellte sich heraus, dass die Heilung nach der Behandlung mit dem Er:YAG-Laser derjenigen nach Behandlung mit dem CO<sub>2</sub>-Laser überlegen war, allerdings wurde beim CO<sub>2</sub>-Laser auf die Wasserkühlung verzichtet (Pourzarandian et al., 2004). Vergleichende Studien zur Knochenheilung nach Bearbeitung mit dem in dieser Arbeit verwendeten Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser, besonders unter in vivo-Bedingungen, wurden bisher nicht durchgeführt.

Eine Untersuchung von Azzi et al. (1983) an Hunden in vivo zeigte, dass der Kontakt einer elektrochirurgischen Elektrode mit Alveolarknochen bei der Präparation eines parodontalchirurgischen Lappens zu verstärkten Anzeichen von Zelluntergang, Nekrosen und Entzündungen führt und daher möglichst zu vermeiden ist. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam eine andere in vivo-Studie, die die Überlegenheit des Er:YAG-Lasers auch ohne Wasserkühlung im Vergleich zur Elektrochirurgie herausstellte, wenn es zum Kontakt der Elektroden mit Knochen kommt (Yoshino et al., 2009). Die Vor- und Nachteile von Lasern, auch im Vergleich zu konventionellen Verfahren, wurden im Kapitel 1.3.3.1 bereits beschrieben.

Da der CO<sub>2</sub>-Laser von Glasfasern absorbiert wird und ein spezielles Zuführsystem für das Handstück benötigt wird, ist eine taktile Rückkopplung nicht umsetzbar (Dederich und Bushick, 2004; American Academy of Periodontology, 2002a; Sarver und Yanosky, 2005). Für andere Lasertypen, wie z.B. den Diodenlaser oder den Er:YAG-Laser, ist dies möglich. Die Umsetzung eines „Delivery Systems“ ist auch für den Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser grundsätzlich möglich.

### 4.3 Klinische Relevanz

Auf dem jetzigen Stand befindet sich die Ultrakurzpuls-Laser-Technologie im Bereich der Grundlagenforschung. Die Abtragung von Knochen und Weichgewebe mit einem Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser wurde erstmals in der vorliegenden Arbeit an einem in vitro-Modell erforscht. Einige Vorzüge aus klinischer Sicht konnten belegt werden:

- es erfolgte eine präzise Abtragung von Knochen und Weichgewebe
- die Möglichkeit, durch den Scanner auch komplexe Schnittmuster durchzuführen, ist gegeben
- die Abwesenheit thermischer Nebeneffekte, auch ohne Kühlung mit Wasser/Luft, konnte belegt werden

Die Ablationsraten waren in den Vorversuchen bereits sehr vielversprechend, wenn sie auch im Hauptversuch nicht in der gleichen Größenordnung bestätigt werden konnten. Die Effizienz ist daher als limitierender Faktor anzusehen, gibt es doch konventionelle Verfahren, mit denen die Bearbeitung von Knochen schneller vonstatten geht. Ein weiterer limitierender Faktor für die klinische Anwendung stellt momentan das Fehlen eines geeigneten „Delivery Systems“ für den bisher nur in der Industrie genutzten Lasertypus dar, um die Anwendung in der Mundhöhle zu ermöglichen.

#### 4.4 Ausblick

Der Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser ermöglicht eine präzise und gewebeschonende Abtragung von Knochen und Weichgewebe. Auch Zahnhartsubstanzen und Restaurationsmaterialien konnten in anderen Studien innerhalb des Verbundprojektes MILADI (Minimalinvasive Laserablation und Diagnose von oralem Hartgewebe, Leitung: Prof. Dr. M Frentzen) erfolgreich abgetragen werden. Der Einsatz in der zahnmedizinischen Praxis ist momentan noch nicht möglich, die vorliegende Arbeit bildet jedoch den Grundbaustein weiterer Studien, um dieses Ziel zu erreichen. Die Möglichkeit, die Effizienz des Abtrags zu steigern, erscheint aussichtsreich, da die Gesamtenergie durchaus noch erhöht werden kann und Maßnahmen zur gleichzeitigen Kühlung des Gewebes, wie Wasser- oder Luftzufuhr bisher nicht zum Einsatz gekommen sind. Die Entwicklung und Anwendung eines Autofokus-Systems ist ein notwendiger Schritt, um den Zeitaufwand zu minimieren und die Genauigkeit der Laseranwendung zu gewährleisten. Auch die Erstellung größerer Kavitäten bzw. komplizierterer Bearbeitungsmuster sollte durchgeführt werden, um einem Einsatz im klinischen Alltag näher zu kommen.

Weiterhin wäre es sinnvoll, auch andere Verfahren zur Ermittlung des Kavitätenvolumens zu erproben, da die Profilometrie insbesondere bei großen Kavitäten nicht vollständig zufriedenstellende Ergebnisse liefern konnte (vergl. Kapitel 4.1). Die Entwicklung und Erprobung eines geeigneten „Delivery Systems“ für den Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser zur vereinfachten Versuchsdurchführung und zur Verbesserung der klinischen Anwendbarkeit ist bereits in Planung. Zur Belegung des Potenzials dieses Lasers für die tatsächliche Anwendung in der Praxis wird es notwendig sein, die bisherigen Ergebnisse anhand von in vivo-Studien zu bestätigen. Auch Studien zur Wundheilung von oralem Hart- und Weichgewebe nach Bearbeitung mit dem Ultrakurzpulslaser wären für zukünftige Anwendungen in der Praxis von Bedeutung.

Da es mithilfe der Ultrakurzpulstechnologie möglich ist, alle möglichen Arten von Gewebe oder Materialien mit einem einzigen Gerät abtragen zu können, könnte dieser Laser in naher Zukunft bisher angewandte konventionelle Verfahren und andere Laser ersetzen.

## 5. Zusammenfassung

Die vorliegende Studie ist Teil einer experimentellen Grundlagenforschung auf dem Gebiet der Ultrakurzpuls-Laser-Technologie, mit dem Ziel, den verwendeten Nd:YVO<sub>4</sub>-Laser in naher Zukunft in vielfältigen Bereichen der Zahnmedizin einsetzen zu können. Das Ziel dieser Arbeit war es, die effiziente Abtragung von oralem Knochen- und Weichgewebe bei gleichzeitig hoher Bearbeitungsqualität, d.h. unter Abwesenheit thermischer Nebeneffekte, wie Blasenbildung oder Karbonisation, zu ermöglichen. Dazu wurden zunächst in orientierenden Vorversuchen Parameter ermittelt, um die jeweiligen Gewebe ablatieren zu können und die Grenzen hinsichtlich Karbonisationserscheinungen festgelegt. Die einzelnen Laserparameter (Repetitionsrate, Leistung, Energiedichte, Gesamtenergie) wurden dabei so variiert, dass ein größtmöglicher und zeitgleich gewebeschonender Abtrag erfolgte. Die mit dem Ultrakurzpuls-Laser bearbeiteten Probekörper wurden profilometrisch ausgemessen und histologisch untersucht, um die Effizienz des Abtrags hinsichtlich der Bearbeitungszeit anhand von Ablationsraten beurteilen zu können und genaue Aussagen über den Zustand der bearbeiteten Oberflächen auf zellulärer Ebene treffen zu können.

Es stellte sich heraus, dass mithilfe des Nd:YVO<sub>4</sub>-Lasers eine präzise Ablation von Hart- und Weichgewebe möglich ist, und selbst ohne Kühlung mithilfe von Luft oder Wasser oben genannte thermische Nebeneffekte grundsätzlich vermieden werden können. Die Effizienz des Abtrags liegt zwischen 5,8 mm<sup>3</sup>/min - 52 mm<sup>3</sup>/min für Knochen und zwischen 11,5 mm<sup>3</sup>/min - 38 mm<sup>3</sup>/min für Weichgewebe (Repetitionsrate 500 kHz) und erweist sich zum jetzigen Zeitpunkt als noch nicht ausreichend, um für den klinischen Einsatz des Lasers konventionelle Bearbeitungsmethoden ersetzen zu können. Weitere Studien zur Erhöhung der Effizienz, eventuell auch unter gleichzeitiger Kühlung des Gewebes, sollten durchgeführt werden. Für den klinischen Einsatz des Nd:YVO<sub>4</sub>-Lasers fehlt die Entwicklung und der Einsatz eines geeigneten „Delivery Systems“ zur Anwendung des Lasers in in-vivo Studien und Studien zur Defektheilung nach Bearbeitung. Die vorliegende Arbeit lässt hoffen, durch Optimierung der Versuchsbedingungen und des Lasersystems ein geeignetes Laser-Therapiegerät für ein breites Behandlungsspektrum der Zahnmedizin entwickeln zu können.

## 6. Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Probekörper aus Schweinerippe, teils bearbeitet, teils unbearbeitet
- Abb. 2: Ausschnitt des optischen Versuchsaufbaus des in der Arbeit verwendeten Lasers
- Abb. 3: Probekörper aus "Attached Gingiva" vom Schwein, unbearbeitet
- Abb. 4: Optischer Versuchsaufbau des in der Arbeit verwendeten Lasers aus der Vogelperspektive (modifiziert nach Wehry, 2012)
- Abb. 5: Beispielhafter Probekörper aus Schweinerippe, bearbeitet
- Abb. 6: Beispielhafter Probekörper aus "Attached Gingiva" vom Schwein, bearbeitet
- Abb. 7: Profilometrische Darstellung einer Kavität in Schweinerippen-Kompakta
- Abb. 8: Ausschnitt von 4 Kavitäten im spongiösen Knochen (Kantenlänge 1 mm) in Schweinerippe
- Abb. 9: Ausschnitt von 4 Kavitäten im spongiösen Knochen (Kantenlänge 5 mm) in Schweinerippe
- Abb. 10: Ausschnitt aus Schweinerippenspongiosa, Versuch des 2-Phasen-Abtrags
- Abb. 11: Ausschnitt eines Probekörpers im Bereich der Kompakta mit Kavitäten (Kantenlänge 1 mm)
- Abb. 12: Graphische Darstellung der Ablationskurven von Schweinerippen-Kompakta für 50-500 kHz
- Abb. 13: Ablationsrate von Schweinerippen-Kompakta bei 200 kHz
- Abb. 14: Ablationsrate von Schweinerippen-Kompakta bei 500 kHz
- Abb. 15: Direkter Vergleich der Ablationsraten von Kompakta bei 200 und 500 kHz Repetitionsrate
- Abb. 16: Darstellung der probekörperabhängigen Streuung der Kavitätieftiefe für Kompakta
- Abb. 17: Graphische Darstellung der Ablationkurven von "Attached Gingiva" für 50-500 kHz
- Abb. 18: Ablationsrate von "Attached Gingiva" vom Schwein bei 200 kHz
- Abb. 19: Ablationsrate von "Attached Gingiva" vom Schwein bei 500 kHz

- Abb. 20: Direkter Vergleich der Ablationsraten von Gingiva bei 200 und 500 kHz Repetitionsrate
- Abb. 21: Ablationsrate von Schweinerippen-Kompakta bei 500 kHz in Versuchsphase II
- Abb. 22: Schweinerippenkompakta vor Bearbeitung mit dem Laser in 10-facher Vergrößerung
- Abb. 23: Kavität in 10-facher Vergrößerung in Kompakta (Laserparameter: 100 kHz, 4 W, 5,7 J/cm<sup>2</sup>)
- Abb. 24: Kavitäten in jeweils 10-facher und 40-facher Vergrößerung in Kompakta (Laserparameter: 200 kHz, 6 W, 4,2 J/cm<sup>2</sup>)
- Abb. 25: Kavitäten in 10-facher und 40-facher Vergrößerung in Kompakta. (Laserparameter: 500 kHz, 9 W, 2,5 J/cm<sup>2</sup>)
- Abb. 26: Unbearbeitete Gingiva in 10-facher Vergrößerung
- Abb. 27: Kavität in 10-facher und 40-facher Vergrößerung in "Attached Gingiva" (Laserparameter: 200 kHz, 6 W, 4,2 J/cm<sup>2</sup>)
- Abb. 28: Kavität in 10-facher und 25-facher Vergrößerung in Gingiva (Laserparameter: 200 kHz, 8 W, 5,7 J/cm<sup>2</sup>)

## 7. Tabellenverzeichnis

- Tab. 1: Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an Spongiosa (a)
- Tab. 2: Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an Spongiosa (b)
- Tab. 3: Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an Spongiosa (c)
- Tab. 4: Übersicht über die verwendeten Parameter für den 2-Phasen-Versuch an Spongiosa
- Tab. 5: Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an Kompakta bei einer Repetitionsrate von 200 kHz
- Tab. 6: Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an Kompakta bei einer Repetitionsrate von 500 kHz
- Tab. 7: Übersicht über die verwendeten Parameter für die Untersuchung der probekörperabhängigen Streuung in Kompakta
- Tab. 8: Übersicht über die verwendeten Parameter für die Untersuchung der lokalen Abhängigkeit der Kavitätentiefe in Kompakta
- Tab. 9: Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an "Attached Gingiva" bei einer Repetitionsrate von 200 kHz
- Tab. 10: Übersicht über die verwendeten Parameter für Vorversuche an "Attached Gingiva" bei einer Repetitionsrate von 500 kHz
- Tab. 11: Übersicht über die verwendeten Parameter für die statistisch untermauerte Ermittlung der Ablationsrate von Schweinerippenkompakta in Versuchsphase II
- Tab. 12: Übersicht über Ablationsschwellen und Karbonisierungsgrenzen bei versch. Repetitionsraten, Leistungen und Energiedichten für Schweinerippen-Kompakta
- Tab. 13: Übersicht über Ablationsschwellen und Karbonisierungsgrenzen bei versch. Repetitionsraten, Leistungen und Energiedichten für Gingiva
- Tab. 14: Übersicht über die Daten der statistischen Auswertung (ANOVA) des Hauptversuchs

## 8. Literaturverzeichnis

American Academy of Periodontology. Lasers in Periodontics. J Periodontol 2002a; 73: 1231-1239

American Academy of Periodontology. Statement regarding gingival curettage. J Periodontol 2002b; 73: 1229-1230

Armstrong WB, Neev JA, Da Silva LB, Rubenchik AM, Stuart BC. Ultrashort pulse laser ossicular ablation and stapedotomy in cadaveric bone. Lasers Surg Med. 2002; 30: 216-220

Arnabat-Domínguez J, España-Tost AJ, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C. Erbium:YAG laser application in the second phase of implant surgery: a pilot study in 20 patients. Int J Oral Maxillofac Implants. 2003; 18: 104-112

Azzi R, Kenney EB, Tsao TF, Carranza FA Jr. The effect of electrosurgery on alveolar bone. J Periodontol. 1983 ; 54: 96-100

Bäuerle D. Laser-Grundlagen und Anwendungen in Photonik, Technik, Medizin und Kunst. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009: 175-183

Braun A, Beisel C, Brede O, Krause F. Laser fluorescence of dentin caries covered with a novel nano-filled sealant. Lasers Med Sci. 2013; 28: 133-138

Braun A, Wehry RJ, Brede O, Dehn C, Frentzen M, Schelle F. Heat generation caused by ablation of restorative materials with an ultrashort pulse laser (USPL) system. Lasers Med Sci. 2012b; 27: 297-303

Brede O. Konkremententfernung mit einem durch Laserfluoreszenz kontrollierten Er:YAG Laser. Med Diss Universität Bonn, 2011

Brunetaud JM, Jensen DM. Current status of argon laser hemostasis of bleeding ulcers. *Endoscopy* 1986; 18: 40-45

Christensen GJ. Soft-tissue cutting with laser versus electrosurgery. *J Am Dent Assoc.* 2008; 139: 981-984

Christensen GJ. Soft-tissue cutting with laser versus electrosurgery. *J Am Dent Assoc.* 2008; 139: 981-984

Combes J, Mellor TK. Treatment of chronic lip fissures with carbon dioxide laser. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 47: 102-105

Dederich DN, Bushick RD. Lasers in dentistry: Separating science from hype. *J Am Dent Assoc* 2004; 135: 204-212

Dederich DN, Drury GI. Laser curettage: where do we stand? *J Calif Dent Assoc* 2002; 30: 376-382

Delgado-Ruíz RA, Calvo-Guirado JL, Moreno P, Guardia J, Gomez-Moreno G, Mate-Sánchez JE, Ramirez-Fernández P, Chiva F. Femtosecond laser microstructuring of zirconia dental implants. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011; 96: 91-100

Dorransoro C, Remon L, Merayo-Lloves J, Marcos S. Experimental evaluation of optimized ablation patterns for laser refractive surgery. *Opt Express.* 2009; 17: 15292-15307

Fisher SE, Frame JW, Browne RM, Tranter RM. A comparative histological study of wound healing following CO<sub>2</sub> laser and conventional surgical excision of canine buccal mucosa. *Arch Oral Biol.* 1983; 28: 287-91

Frentzen M, Braun A, Brede O, Dehn C, Oehme B, Bourauel C, Reimann S, Schelle F, Brede O, Dehn C. Grundlagen und Anwendung der Ultrakurzpuls-Laser-Technologie in der Zahnheilkunde. Lampertheim: ALPHA Informations-GmbH, 2010: 8-87

Frentzen M, Götz W, Ivanenko M, Afilal S, Werner M, Hering P. Osteotomy with 80- $\mu$ s CO<sub>2</sub> laser pulses-histological results. *Lasers Med Sci* 2003; 18: 119-124

Frentzen M, Koort HJ, Nolden R. Root canal preparation using Excimer lasers. *Dtsch Zahnärztl Z*. 1991a; 46: 288-289

Frentzen M, Koort HJ, Thiensiri I. Excimer lasers in dentistry: future possibilities with advanced technology. *Quintessence Int*. 1992; 23: 117-133

Frentzen M, Koort HJ. Lasertechnik in der Zahnheilkunde. *Dtsch Zahnärztl Z*. 1991b; 46: 443-452

Frentzen M, Sculean A, Visser H. Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK: Laser in der Parodontologie. *Dtsch Zahnärztl Z* 2005; 60

Friesen LR, Cobb CM, Rapley JW, Forgas-Brockman L, Spencer P. Laser irradiation of bone: II. Healing response following treatment by CO<sub>2</sub> and Nd:YAG lasers. *J Periodontol*. 1999; 70: 75-83

Galbács G, Jedlinszki N, Herrera K, Omenetto N, Smith BW, Winefordner JD. A study of ablation, spatial, and temporal characteristics of laser-induced plasmas generated by multiple collinear pulses. *Appl Spectrosc*. 2010; 64: 161-172

Gerard N, Hendler BH. Laser arthroscopy of the temporomandibular joint. *Compend Contin Educ Dent*. 1995; 16: 350-354

Gold SI, Vilardi MA. Pulsed laser beam effects on gingiva. *J Clin Periodontol*. 1994; 21: 391-396

Goldman L, Gray JA, Goldman J, Goldman B, Meyer R. Effect of laser beam impacts on teeth. *J Am Dent Assoc*. 1965; 70:601-606

Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the laser on dental caries. *Nature*. 1964; 25: 401-417

Haffner C, Folwaczny M, Hickel R, Horch H. Ablation of temporomandibular joint structures of a pig with a fibre-guided 308 nm excimer laser light-an in vitro investigation. *J Craniomaxillofac Surg*. 2004; 32: 360-364

Horch HH. Laser-Osteotomie und Anwendungsmöglichkeiten des Lasers in der oralen Weichteilchirurgie. Habilitationsschrift Universität Düsseldorf 1978

Israel M, Rossmann JA, Froum SJ. Use of the carbon dioxide laser in retarding epithelial migration: a pilot histological human study utilizing case reports. *J Periodontol*. 1995; 66: 197-204

Ivanenko MM, Fahimi-Weber S, Mitra T, Wierich W, Hering P. Bone tissue ablation with sub-microS pulses of a Q-switch CO(2) laser: histological examination of thermal side effects. *Lasers Med Sci*. 2002; 17: 258-264

Jahn R, Bleckmann A, Duczynski E, Huber G, Lierse W, Struve B, Jungbluth KH. Thermal side effects after use of the pulsed IR laser on meniscus and bone tissue. *Unfallchirurgie*. 1994; 20: 1-10

Kao RT, Dault S, Frangadakis K, Salehieh JJ. Esthetic crown lengthening: appropriate diagnosis for achieving gingival balance. *J Calif Dent Assoc*. 2008; 36: 187-191

Kimura Y, Yu DG, Fujita A, Yamashita A, Murakami Y, Matsumoto K. Effects of erbium,chromium:YSGG laser irradiation on canine mandibular bone. *J Periodontol*. 2001; 72: 1178-1182

Ko HJ, Park JW, Suh JY, Lee JM. Esthetic treatment of gingival melanin hyperpigmentation with a Nd:YAG laser and high speed rotary instrument: comparative case report. *J Periodontal Implant Sci*. 2010; 40: 201-205

Koslin MG, Martin JC. The use of the holmium laser for temporomandibular joint arthroscopic surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993; 51: 122-123

Krause LS, Cobb CM, Rapley JW, Killoy WJ, Spencer P. Laser irradiation of bone. I. An in vitro study concerning the effects of the CO<sub>2</sub> laser on oral mucosa and subjacent bone. *J Periodontol.* 1997; 68: 872-880

Kuttenberger JJ, Stübinger S, Waibel A, Werner M, Klasing M, Ivanenko M, Hering P, Von Rechenberg B, Sader R, Zeilhofer HF. Computer-guided CO<sub>2</sub>-laser osteotomy of the sheep tibia: technical prerequisites and first results. *Photomed Laser Surg.* 2008; 26: 129-136

Kuttenberger JJ, Waibel A, Stübinger S, Werner M, Klasing M, Ivanenko M, Hering P, von Rechenberg B, Sader R, Zeilhofer HF. Bone healing of the sheep tibia shaft after carbon dioxide laser osteotomy: histological results. *Lasers Med Sci.* 2010; 25: 239-249

Lambrecht JT. Intraoral piezo-surgery. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2004; 114: 28-36

Liesenhoff T, Funk A. Treatment of temporomandibular joint structures by 308-nm excimer laser-an in vitro investigation. *J Oral Maxillofac. Surg.* 1994; 23: 425-427

Liu Y, Niemz M. Ablation of femoral bone with femtosecond laser pulses--a feasibility study. *Lasers Med Sci.* 2007; 22: 171-174

Lizarelli RF, Kurachi C, Misoguti L, Bagnato VS. Characterization of enamel and dentin response to Nd:YAG picosecond laser ablation. *J Clin Laser Med Surg.* 1999; 17: 127-131

Lüllmann-Rauch R. *Histologie Verstehen-Lernen-Nachschnitten.* Stuttgart-New York: Thieme, 2003: 94-112, 122-134, 295-296, 310-311

Martins GL, Puricelli E, Baraldi CE, Ponzoni D. Bone healing after bur and Er:YAG laser

ostectomies. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011; 69: 1214-1220

McDavid VG, Cobb CM, Rapley JW, Glaros AG, Spencer P. Laser irradiation of bone: III. Long-term healing following treatment by CO<sub>2</sub> and Nd:YAG lasers. *J Periodontol.* 2001; 72: 174-182

De Mello ED, Pagnoncelli RM, Munin E, Filho MS, de Mello GP, Arisawa EA, de Oliveira MG. Comparative histological analysis of bone healing of standardized bone defects performed with the Er:YAG laser and steel burs. *Lasers Med Sci.* 2008; 23: 253-260

Moogi PP, Rao RN. Cleaning and shaping the root canal with an Nd:YAG laser beam: A comparative study. *J Conserv Dent* 2010; 13: 84-88

Moritz A, Beer F, Goharkhay K, Schoop U, Strassl M, Verheyen P, Walsh LJ, Wernisch J, Wintner E. *Orale Lasertherapie.* Berlin: Quintessenz Verlags-GmbH, 2006

Nakamura Y, Hossain M, Watanabe H, Tokonabe H, Matsumoto N, Matsumoto K. Morphological changes of rat mandibular bone with ArF excimer laser in vivo. *J Clin Laser Med Surg.* 1999; 17: 145-149

Niemz MH. *Laser-tissue interactions-Fundamentals and applications.* 3rd, enlarged edition. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag; 1996; 178-195

Nuss RC, Fabian RL, Sarkar R, Puliafito CA. Infrared laser bone ablation. *Lasers Surg Med.* 1988; 8: 381-391

Papadaki M, Doukas A, Farinelli WA, Kaban L, Troulis M. Vertical ramus osteotomy with Er:YAG laser: a feasibility study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 36: 1193-1197

Pié-Sánchez J, Espana-Tost AJ, Arnabat-Dominguez J, Gay-Escoda C. Comparative study of upper lip frenectomy with the CO<sub>2</sub> laser versus the Er,Cr:YSGG laser. *Med Pral Patol Oral Cir Bucal* 2012; 17: 228-232

Pourzarandian A, Watanabe H, Aoki A, Ichinose S, Sasaki KM, Nitta H, Ishikawa I. Histological and TEM examination of early stages of bone healing after Er:YAG laser irradiation. *Photomed Laser Surg.* 2004; 22: 342-350

Powell GL, Blankenau RJ. The use of the argon laser for soft tissue procedures: case report. *J Oral Laser Applications* 2002; 2: 235-237

Rizoiu IM, Eversole LR, Kimmel AI. Effects of an erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium, garnet laser on mucocutaneous soft tissues. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996; 82: 386-395

Romanos GE. Clinical applications of the Nd:YAG laser in oral soft tissue surgery and periodontology. *J Clin Laser Med Surg.* 1994; 12: 103-108

Romeo U, Del Vecchio A, Palaia G, Tenore G, Visca P, Maggiore C. Bone damage induced by different cutting instruments--an in vitro study. *Braz Dent J.* 2009; 20: 162-168

Rossmann JA, Cobb CM. Lasers in periodontal therapy. *Periodontology* 2000; Vol. 9, 1995, 150-164

Rossmann JA, Israel M. Laser de-epithelialization for enhanced guided tissue regeneration. A paradigm shift? *Dent Clin North Am.* 2000; 44: 793-809

Sarver DM, Yanosky M. Principle of cosmetic dentistry in orthodontics: Part 2. Soft tissue laser technology and cosmetic gingival contouring. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 2005; 127, 85-90

Schroeder HE. *Orale Strukturbiologie: Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle und des Kiefergelenks.* Stuttgart-New York: Thieme, 1992: 190-208, 349-390

Schwab B, Hagner D, Müller W, Lubatschowski H, Lenarz T, Heermann R. Bone ablation

using ultrashort laser pulses. A new technique for middle ear surgery. *Laryngorhinootologie*. 2004; 83: 219-225

Sharon-Buller A, Sela M. CO<sub>2</sub>-laser treatment of ulcerative lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004; 97: 332-334

Siervo S, Ruggli-Milic S, Radici M, Siervo P, Jäger K. Piezoelectric surgery. An alternative method of minimally invasive surgery. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 2004; 114: 365-377

Spencer P, Payne JM, Cobb CM, Reinisch L, Peavy GM, Drummer DD, Suchman DL, Swafford JR. Effective laser ablation of bone based on the absorption characteristics of water and proteins. *J Periodontol*. 1999; 70: 68-74

Stern RH, Sognnaes RF. Laser effect on dental hard tissues. A preliminary report. *J South Calif Dent Assoc*. 1965; 33:17-19

Stübinger S, Biermeier K, Bächli B, Ferguson SJ, Sader R, von Rechenberg B. Comparison of Er:YAG laser, piezoelectric, and drill osteotomy for dental implant site preparation: a biomechanical and histological analysis in sheep. *Lasers Surg Med*. 2010; 42: 652-661

Stübinger S, von Rechenberg B, Zeilhofer HF, Sader R, Landes C. Er:YAG laser osteotomy for removal of impacted teeth: clinical comparison of two techniques. *Lasers Surg Med*. 2007; 39: 583-588

Suter VG, Altermatt HJ, Sendi P, Mettraux G, Bornstein MM. CO<sub>2</sub> and diode laser for excisional biopsies of oral mucosal lesions. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2010; 120: 664-671

Tiedemann S. *Lasertechnik in der Medizin-Ein Überblick*. München, GRIN-Verlag GmbH, 2011; 7-15

Tukey JW. Exploratory Data Analysis (Addison-Wesley Series in Behavioral Science). Reading: Addison Wesley Pub Co Inc, 1977

Wang X, Ishizaki NT, Suzuki N, Kimura Y, Matsumoto K. Morphological changes of bovine mandibular bone irradiated by Er,Cr:YSGG laser: an in vitro study. J Clin Laser Med Surg. 2002; 20: 245-250

Wehry R. Thermische Auswirkung eines Lasers auf Ultrakurzpuls-Basis bei der Ablation von zahnmedizinischen Restaurationsmaterialien. Med Diss Universität Bonn 2012

Wieger V, Strassl M, Winter E. Pico- and microsecond laser ablation of dental restorative materials. Laser and Particle Beams 2006, 24: 41-45

Wieger V, Wernisch J, Wintner E. Novel oral applications of ultra-short laser pulses. SPIE--The International Society for Optical Engineering 2007; 6460: 1-10

Yoshino T, Aoki A, Oda S, Takasaki AA, Mizutani K, Sasaki KM, Kinoshita A, Watanabe H, Ishikawa I, Izumi Y. Long-term histologic analysis of bone tissue alteration and healing following Er:YAG laser irradiation compared to electrosurgery. J Periodontol. 2009; 80: 82-92

## 9. Danksagung

Mein Dank gilt dem Bundesministerium für Bildung und Forschung für die Möglichkeit, diese Arbeit innerhalb des Verbundprojektes MiLaDi (Minimalinvasive Laserablation und Diagnose von oralem Hartgewebe, Leitung: Prof. Dr. M Frentzen) anfertigen zu können.

Ich möchte mich vor allem bei Herrn Prof. Dr. M. Frentzen für die Bereitstellung des Themas, die Unterstützung bei der Durchführung, Auswertung und Korrektur der Arbeit sowie für die finanziellen Mittel bedanken.

Mein ausdrücklicher Dank gilt Florian Schelle, Dr. Olivier Brede und Jörg Meister für die jederzeit bereitgestellte und weiterführende Hilfe bei der Durchführung und Auswertung der Versuchsreihen und für die nette Atmosphäre im Labor.

Den Damen des wissenschaftlichen Labors des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Frau Beate Schiermeyer, Frau Imke Beier und Frau Silke van Dyck, danke ich für die Unterstützung bei der Herstellung der für die Arbeit benötigten Probekörper und der Erstellung der Histologien.

Außerdem möchte ich mich bei Frau Dr. Dehn für die Unterstützung bei der Literaturrecherche bedanken. Ein besonderer Dank gilt vor allem Lydia Berghoff für ihre großartige Hilfe bei der formellen Gestaltung.

Liebe Eltern, ich danke Euch für die Ermöglichung meines Studiums und dafür, dass Ihr auch in sonstiger Hinsicht immer und jederzeit für mich da seid und mich unterstützt.

Zu guter Letzt danke ich Ali, auf den ich in jeder Lebenslage zählen kann.