



Histologische, molekularbiologische und Micro-CT-Analyse der Knochenheilung nach ultraschallgestützter versus konventioneller Osteotomie

S. Hollstein¹, P. Maurer¹

¹Klinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie der Ruhr-Universität Bochum (Direktor: Prof. Dr. Dr. M. Kunkel)



Abb. 1: Von links nach rechts: Rosenbohrer, Diamantbohrer, OT7 (Piezosurgery®)

Einleitung

Osteotomien sind Standardmethoden der Kieferchirurgie, die heute meist durch Sägen oder rotierende Instrumente ausgeführt werden. Eine iatrogene Traumatisierung benachbarter vulnerabler Strukturen, wie Nerven oder Gefäße, ist nicht immer auszuschließen, was beim Einsatz ultraschallgestützter Osteotomieverfahren aufgrund ihrer Selektivität während des Trennvorgangs vermieden werden soll. Maurer et al. zeigten 2008 mikromorphologische Unterschiede bezüglich der Rauheit zwischen ultraschallgestützter und konventioneller Osteotomie.

Ziel der vorliegenden Studie ist es, die Wundheilung nach dem Einsatz rotierender Instrumente und der ultraschallgestützten Osteotomie am Kaninchenmodell zu evaluieren.

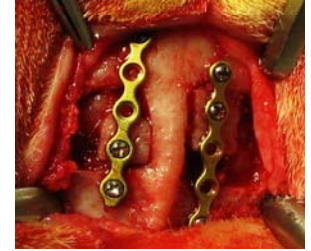


Abb. 2: Intraoperativer Situs nach Mikroplattenosteosynthese des Kallotendeckels

Material und Methoden:

Es wurden 27 weibliche, ausgewachsene Weiße Neuseeländerkaninchen randomisiert auf zwei Gruppen mit konventionellen Osteotomieverfahren (Rosenbohrer, Diamantbohrer, Komet, Lemgo, Deutschland) und eine Gruppe mit ultraschallgestützter Osteotomie (Piezosurgery®-3, OT7-Aufsatz, Mectron, Carasco, Italien) aufgeteilt (Abb.1.). Paramedian wurden je zwei 6 x 6 mm große Knochendeckel osteotomiert, unter Schonung der Meningen abgehoben und refixiert (Abb. 2).

Zur Beurteilung der Knochenneubildung wurden den Tieren vier calciumaffine, chelatbildende Knochenfluoreszenzfarbstoffe i.m. injiziert: Tetracyclin am OP-Tag, Xylenolorange am 4. postoperativen Tag, Calcein am 18. postoperativen Tag und Alizarinkomplexon am 42. postoperativen Tag (Knöfler et al. 1990).

Je drei Tiere pro Gruppe wurden am 7., 21. bzw. 42. postoperativen Tag geopfert (Tab.1). Unmittelbar nach Euthanasie erfolgte die Probenentnahme aus dem Osteotomiespalt für die quantitative real-time-PCR (qPCR)-Analyse von Tartrat-saurer-Phosphatase (TRAP) und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-α).

Nach 2-wöchiger Fixierung in 4% (v/v) Paraformaldehyd erfolgte die Micro-CT (μ-CT)-Analyse (ScanCo, Brüttisellen, Schweiz) der Knochenneubildung im Osteotomiespalt.

Für die histologische Untersuchung wurden entkalkte Hämatoxylin-Eosin (HE)-Präparate, für die histomorphometrische Analyse per konfokaler Lasermikroskopie (CLSM, LSM 510 Meta, Zeiss, Jena, Deutschland) unentkalkte Präparate mittels der Säge-Schliff-Technik nach Donath und Breuner (1982) angefertigt.

Tab. 1: Aufteilung der Tiere nach Osteotomieverfahren und Euthanasiezeit

	Piezo®	Ros	Dia	Σ
T1 (7d)	3	3	3	9
T2 (21d)	3	3	3	9
T3 (42d)	3	3	3	9
Σ	9	9	9	27

Ergebnisse:

Histologisch fand sich generell eine beschleunigte Osteoneogenese bei ultraschallgestützter Osteotomie im Vergleich zu konventionellen Verfahren (Abb. 3).

Die μ-CT-Untersuchung zeigte eine frühere und stärkere Mineralisierung für Piezosurgery® (Abb. 4 und 5).

Nach ultraschallgestützter Osteotomie war die TNF-α-Expression signifikant vermindert ($p < 0,05$). Die TRAP-Expression war initial signifikant erhöht ($p < 0,05$), erniedrigte sich jedoch über die Beobachtungszeit. (Abb. 6a und b). Mittels CLSM konnten klar voneinander getrennte Wachstumsbanden identifiziert werden, die eine gesteigerte Knochenwachstumskinetik für die ultraschallgestützte Methode zeigte (Abb. 7).

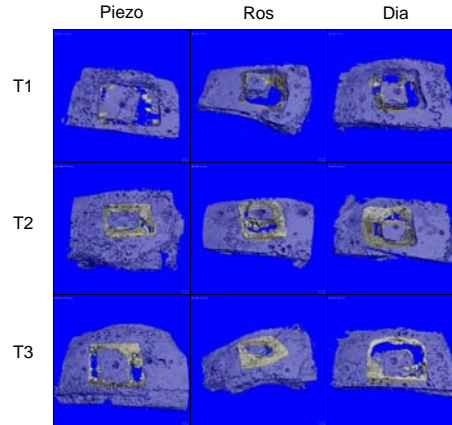


Abb. 4: 3D-Micro-CT (weiß: neu gebildeter Knochen)

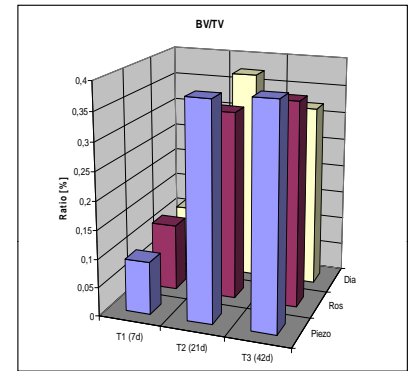


Abb. 5: Knochenneubildung als Knochenvolumen (BV) im Verhältnis zum Osteotomiespaltvolumen (TV).

Diskussion:

Osteotomien in der Kiefer-Chirurgie sind häufig mit passageren Schluck- und Sprechstörungen, Schwellungen und Schmerzen und somit einer Minderung der Lebensqualität verbunden. Daher ist eine Verkürzung der Knochenheilungszeit wünschenswert.

Nach Einsatz von Piezosurgery® wurde der Entzündungsmediator TNF-α vermindert exprimiert, was wahrscheinlich auf die geringere Debrisbildung und somit verringerte Makrophagen- und Osteoklastenrekruiting zurückzuführen ist. Frühere Knochenheilung und geringere Entzündungsreaktion nach Piezoosteotomie in Kombination mit den bekannten Vorteilen der geringeren Blutungsneigung und präzisen, selektiven Schnittführung, könnten gerade in der Implantologie einschließlich augmentativer Verfahren und der orthognathen Chirurgie mit weniger postoperativen Beschwerden verbunden sein und eine frühere Belastungsstabilität ermöglichen.

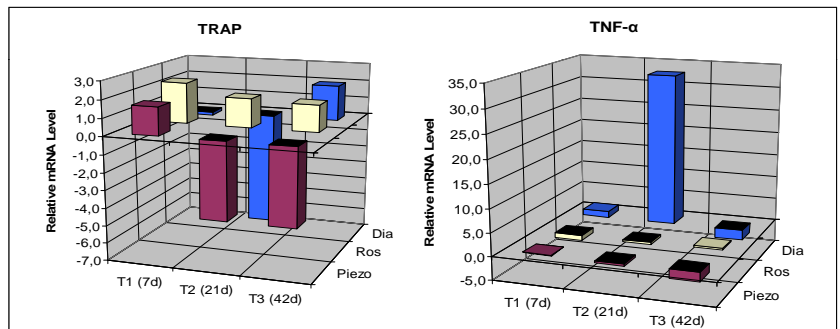


Abb. 6a und b: Relative mRNA-Level von TRAP (a) und TNF-α (b).

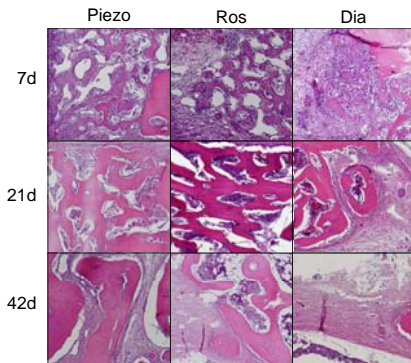


Abb. 3: Entkalkte histologische Sagittalschnitte. (Hämatoxylin & Eosin-Färbung, 5µm Dicke, 100fach)

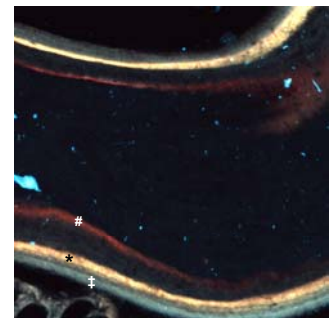


Abb. 7: Fluoreszenzbanden 21 Tage nach Piezosurgery® (*Tetracyclin, #Xylenolorange, †Calcein), 200fach

Literatur:
 1. Maurer P, Kriwalski MS, Veras RB, Vogel J, Syrowatka F, Heiss C. Micromorphometrical analysis of conventional osteotomy techniques and ultrasonic osteotomy at the rabbit skull. *Clin. Oral Impl. Res.* 2008;19(6):570-575
 2. Knöfler W, Graf H-L, Gröschel T, & Löwike G. Bone reaction caused by biomaterials. *Zeitschrift für Zahnärztliche Implantologie* 1990;6:145-152
 3. Donath K & Breuner G. (1982) A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *Journal of Oral Pathology* 1982;11(4): 318-326
 4. Preti G, Martinasso G, Peirone B, Navone R, Manzella C, Muzio G, Russo C, Canuto RA, Schierano G. Cytokines and growth factors involved in the osseointegration of oral titanium implants positioned using piezoelectric bone surgery versus a drill technique: a pilot study in minipigs. *J Periodontol.* 2007 Apr;78(4):716-22.

Das vorliegende Forschungsprojekt wurde durch das FORUM-Programm der Ruhr-Universität Bochum gefördert.

Schlussfolgerung:

Nach ultraschallgestützter Osteotomie ist eine beschleunigte Knochenheilung mit restituito ad integrum bei gleichzeitig verminderter Entzündungsreaktion zu beobachten, was mit geringeren postoperativen Beschwerden und früherer Belastbarkeit einhergehen kann.