

**Aus dem Universitätsklinikum Münster**

**Klinik und Poliklinik für Mund- und Kiefer – Gesichtschirurgie**

**-Direktor: Univ. Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Dr. h. c. U. Joos-**

**Quantitative Analyse von Entzündungszellen und Vaskularisation  
bei Kieferosteomyelitis**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae dentium

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms – Universität Münster

vorgelegt von Szostak, Caroline, geb. Koch

aus Detmold

**2005**

**Aus dem Universitätsklinikum Münster**

**Klinik und Poliklinik für Mund- und Kiefer – Gesichtschirurgie**

**-Direktor: Univ. Prof. Dr. med Dr. med. dent. Dr. h. c. U. Joos-**

**Quantitative Analyse von Entzündungszellen und Vaskularisation  
bei Kieferosteomyelitis**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae dentium

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms – Universität Münster

vorgelegt von Szostak, Caroline, geb. Koch

aus Detmold

**2005**

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Westfälischen Wilhelms – Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Priv.- Doz. Dr. Dr. J. Kleinheinz

2. Berichterstatter: Prof. Dr. U. Stratmann

Tag der mündlichen Prüfung: 04.10.2005

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Mund- und Kiefer-Gesichtschirurgie  
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Dr. h. c. U. Joos-

Referent: Priv.- Doz. Dr. Dr. J. Kleinheinz

Koreferent: Prof. Dr. U. Stratmann

### **Zusammenfassung**

Quantitative Analyse von Entzündungszellen und Vaskularisation  
bei Kieferosteomyelitis

Szostak, Caroline

Gegenstand dieser Arbeit war die quantitative Erfassung und Untersuchung der Entzündungszellen, die im Rahmen einer Osteomyelitiserkrankung der Kiefer auftreten. Dies erscheint im Hinblick auf die noch immer Schwierigkeiten bereitende Diagnose und Therapie der Erkrankung sowohl für den Erkrankten, als auch den Behandler von ungeheurer Wichtigkeit.

Da die Entzündungszellen und die Durchblutung bei einer Entzündungsreaktion und ihrer Heilung die zentrale Rolle spielen, wurde in Proben von osteomyelitisch veränderten Unterkieferknochen die Anzahl der Zellen und Kapillaren pro Flächeneinheit gemessen.

Um die Unterschiede zwischen erkranktem und gesundem Gewebe herauszuarbeiten, wurden zum Vergleich Proben von gesundem Knochen herangezogen.

27 Patientenproben mit einer histologisch gesicherten Osteomyelitis und 9 Vergleichsproben wurden formalinfixiert, in Paraffin eingebettet und geschnitten. Anschließend wurden die Präparate fotografiert. Die Bilder wurden am Computer durch Auszählen der Zellen und Kapillaren pro definierte Fläche quantitativ ausgewertet.

Dabei zeigte sich, dass bei der chronischen Osteomyelitis eine vermehrte Anzahl an Osteozyten, Osteoblasten, Osteoklasten und Immunzellen (spezifisch und unspezifisch) vorliegen. Die Kapillaranzahl und die Zahl der leeren Osteozytenhöhlen überwiegen jedoch in den gesunden Vergleichsproben.

Tag der mündlichen Prüfung: 04.10.2005

Meinen Eltern und Guido gewidmet.

## Abkürzungen

Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
dest.	destilliert
d.h.	dass heißt
et al.	und andere
M	Molar
mm	Millimeter
nl	Nanoliter
sog.	so genannt
u. a.	unter anderem
μ	Mikro ( $10^{-6}$ )
μm	Mikrometer
z.B.	zum Beispiel
%	Prozent

## Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

<b>Graphik 1:</b>	Altersverteilung Osteomyelitis	20
<b>Graphik 2:</b>	Präoperative Leukozytenzahl	21
<b>Graphik 3:</b>	Mittelwert der Zellanzahl im Vergleich (mit Standardabw.)	38
<b>Graphik 4:</b>	Mittelwert der Zellanzahl im Vergleich (mit Mittelwertabw.)	38
<b>Graphik 5:</b>	Mittelwerte in %	40
<b>Abbildung 1:</b>	Osteomyelitis- Übersichtsaufnahme	23
<b>Abbildung 2:</b>	gesunder Knochen- Übersichtsaufnahme	24
<b>Abbildung 3:</b>	leere und gefüllte Osteozytenhöhlen	25
<b>Abbildung 4:</b>	Osteozytenhöhlen, Abb. 3, Ausschnittvergrößerung	25
<b>Abbildung 5:</b>	aktive und inaktive Osteoblasten, Fibrozyten	26
<b>Abbildung 6:</b>	Osteoblasten, Abb. 5, Ausschnittvergrößerung	27
<b>Abbildung 7:</b>	Fibrozyten, Abb. 5, Ausschnittvergrößerung	27
<b>Abbildung 8:</b>	Osteoklasten	28
<b>Abbildung 9:</b>	Osteoklasten, Abb. 8, Ausschnittvergrößerung	28
<b>Abbildung 10:</b>	neutrophiler Granulozyt	29
<b>Abbildung 11:</b>	neutr. Granulozyt, Abb. 10, Ausschnittvergrößerung	30
<b>Abbildung 12:</b>	Lymphozyten und Kapillaren	31
<b>Abbildung 13:</b>	Lymphozyten und Kapillaren, Abb. 12, Ausschnittvergrößerung	31
<b>Tabelle 1:</b>	Gesamtübersicht Zellanzahl/ Knochen- u. Bindegewebsfläche Osteomyelitis	33
<b>Tabelle 2:</b>	Gesamtübersicht Zellanzahl/ Knochen- u. Bindegewebsfläche Kontrolle	34
<b>Tabelle 3:</b>	Mittelwerte der Ergebnisse aus Tabelle 1 und 2	35
<b>Tabelle 4:</b>	Standardabweichung der Proben	36
<b>Tabelle 5:</b>	Mittelwertabweichung der Proben	37
<b>Tabelle 6:</b>	Prozentverteilung der Zellen	39

# Inhaltsverzeichnis

## Liste der verwendeten Abkürzungen

## Abbildungsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>01</b>
1.1 Definition und Klassifikation	01
1.2 Ätiologie und Epidemiologie	03
1.3 Diagnostik und Therapie	05
1.3.1 Klinische Diagnostik	05
1.3.2 Erweiterte Diagnostik	07
1.3.3 Therapie	09
1.4 Pathohistologie	10
1.5 Zelluläre Aspekte	12
1.6 Ziel der Arbeit	14
<b>2. Material und Methode</b>	<b>15</b>
2.1 Patienten- und Kontrollgruppe	15
2.2 Aktenanalyse	15
2.3 Probenverarbeitung	16
2.4 Auswertung	18
2.4.1 Aktenauswertung	18
2.4.2 Gewebsmorphometrische Auswertung	18
2.4.3 Statistische Auswertung	19
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>20</b>
3.1 Allgemeine Auswertung	20
3.2 Histologische Auswertung	22

3.3 Zelluläre Auswertungen	32
3.3.1 Zellenverteilung	41
3.3.2 Aktenanalyse	41
<b>4. Diskussion</b>	<b>42</b>
Methodik	42
Auswertung	48
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>53</b>
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	<b>54</b>
<b>7. Danksagung</b>	<b>62</b>
<b>8. Lebenslauf</b>	<b>63</b>
<b>Anhang</b>	

# 1. Einleitung

Im Laufe der letzten Jahrzehnte ist die Zahl der Osteomyelitiserkrankungen, vor allem die akute Form der Entzündung, stark zurückgegangen (2).

Hier revolutionierte die Einführung der Antibiotika die Therapieformen drastisch. Man verzichtete zunehmend auf die chirurgische Behandlung und setzte verstärkt Antibiotika ein. Es musste jedoch in den letzten Jahren festgestellt werden, dass es trotz antibiotischer Maßnahmen verstärkt zum Auftreten von langwierigen chronischen Krankheitsverläufen kam.

Auch heute noch tritt bei einem Teil der betroffenen Patienten keine vollständige Heilung ein.

## 1.1 Definition und Klassifikation:

Bei der Osteomyelitis handelt es sich per definitionem um eine Entzündung des Knochenmarks, welche vorwiegend in den langen Röhrenknochen auftritt; bei der Osteomyelitis der Kiefer um eine Entzündung des Knochenmarks im Bereich des Gesichtsschädels.

Klinisch steht der Oberbegriff für Periostitis, Ostitis und Osteomyelitis.

Knocheninfektionen im Gesichtsskelettbereich sind in ihrem klinischen Ablauf und Erscheinungsbild durchaus vergleichbar mit Osteomyelitiden der Extremitäten oder des übrigen Knochensystems; andererseits bestehen aber immer wieder Besonderheiten, die sich zwangsläufig aus den anatomischen, regionalen und insbesondere aus den gefäßbezogenen Gesichtspunkten ergeben (37). Die gute Durchblutung und hohe Abwehrbereitschaft im Mund-, Kiefer- und Gesichtsbereich sind der Grund dafür, dass Knochenmarksentzündungen hier wesentlich seltener auftreten als beispielsweise an den Extremitäten.

Entzündungen der Kieferknochen können als lokales und umschriebenes Geschehen verlaufen, sich jedoch auch in größeren Kieferabschnitten ausdehnen.

Die Entzündung kann zudem auf benachbarte Weichgewebe und Skelettanteile, beispielsweise die Schädelbasis, übergreifen (16).

Als spezielle Form der Osteomyelitis gilt die Osteoradionekrose. Hier liegt ein Krankheitsbild vor, bei dem die Bestrahlung des Knochens zur Ausbildung umschriebener Nekrosen geführt hat. Eine infizierte Osteoradionekrose liegt vor, wenn es zu einer Infektion auf dem Boden einer Osteoradionekrose gekommen ist (16).

Man unterteilt die Osteomyelitiden klinisch je nach Ausprägung der Symptomatik in akute, sekundär chronische und primär chronische Verlaufsformen, sowie in Säuglings- und Kleinstkindosteomyelitis (41).

Die sekundär chronische Form stellt einen chronisch- persistierenden Krankheitsverlauf im Anschluss an eine akute Osteomyelitis dar.

Im Gegensatz dazu steht bei der primär chronischen Verlaufsform, die auch als die häufigste Form gilt (19), von Beginn an der subakute klinische Verlauf im Vordergrund.

Das akute entzündliche Geschehen kann zum Teil dramatisch verlaufen und das Allgemeinbefinden des Patienten stark beeinträchtigen, wohingegen sich chronische Osteomyelitiden im zeitlichen Ablauf oftmals ganz unterschiedlich darstellen. Solche Formen sind durch Auf- und Abbauvorgänge und durch Knochenmarksnekrosen charakterisiert und haben klinisch häufig eine unterschwellige Symptomatik (37).

Ehrenfeld und Winter (16) differenzieren noch genauer zwischen den akuten und chronischen Verlaufsformen und unterteilen diese in die:

1. akute bakterielle Knochenentzündung
  - a. periapikaler Abszess
  - b. akut eitrige Knochenentzündung
2. chronische bakterielle Knochenentzündungen
  - a. chronisch eitrige Knochenentzündung
  - b. chronisch nicht eitrige Knochenentzündung (Typ Garre)
  - c. (chronisch) fokal sklerosierende Knochenentzündung

- d. (chronisch) diffus sklerosierende Knochenentzündung
- 3. spezielle klinische Formen der Knochenentzündung des Kiefers
  - a. Knochenentzündungen bei Frakturen
  - b. „Säuglingsosteomyelitis“
  - c. fortgeleitete Knochenentzündung nach einer Otitis media
  - d. Entzündung des strahlengeschädigten Knochens  
(Osteoradionekrose)

Im Folgenden bleiben die Subunterteilungen unberücksichtigt, da sich die Pathogenese und die Knochenmorphologie bestimmter Osteomyelitisformen, wie z.B. der sklerosierenden Osteomyelitis, der „Säuglingsosteomyelitis“ oder auch der Osteoradionekrose deutlich von den anderen unterscheiden.

## 1.2 Ätiologie und Epidemiologie:

Osteomyelitiden können sich auf zwei Arten im Körper manifestieren. Zum einen entstehen sie hämatogen als Absiedlung im Blut zirkulierender Keime im Knochenmark, zum anderen durch eine fortgeleitete Infektion von einem benachbarten Entzündungsprozess. Ersteres wird vorwiegend in den langen Röhrenknochen beobachtet. Im Kiefer- und Gesichtsbereich hingegen ist eine hämatogene Entstehungsform nur selten und lediglich bei Säuglingen und Kleinkindern in Form von Zahnkeim- Osteomyelitiden zu diagnostizieren. Dieses schwere Krankheitsbild, das früher nur von 20% der Kinder überstanden wurde, hat heute durch die Behandlungsmöglichkeit der Chemotherapie eine weitaus günstigere Prognose. Durch den Verlust der Zahnkeime und einen möglichen Übertritt der Krankheit auf die Kiefergelenke ist mit Spätfolgen zu rechnen.

Die Kieferosteomyelitis findet man fast ausschließlich als fortgeleitete Infektion bakterieller Natur, von einem benachbarten und bei der Untersuchung noch erkennbaren, entzündlichen Herd (57). Häufigste Ursachen hierbei sind sowohl avitale oder verlagerte Zähne (über 80%) als auch Entzündungen in Zahnfleischtaschen (11, 32). Als Infektionspforten gelten aber auch physikalische

Reize, beispielsweise durch Bestrahlung mit energiereichen Strahlen oder durch mechanische Einwirkungen, wie okklusale Traumen (16). Darüber hinaus können jedoch auch Zysten, Fremdkörper, akzidentelle Traumen oder Osteotomiewunden nach kieferchirurgischen Operationen (durch die Speichelkontamination) und Infekte und Verletzungen der Epithelschicht (57) die Ursache für die Entstehung einer Osteomyelitis darstellen.

Oft können Knochenfragmente gegeneinander nicht funktionsstabil ruhig gestellt werden, was eine Infektion zusätzlich begünstigt. Bei der intraoralen, sagittalen Spaltung zur Korrektur der mandibulären Prognathie wird z. B. von einer Infektionshäufigkeit von 17,5 % berichtet (5).

Jedoch entsteht nicht prinzipiell nach jeder Kontamination des Knochens mit pathogenen Keimen eine klinisch manifeste Infektion, also eine Knochenentzündung. Erst wenn es durch lokale und systemische Störungen zur Verschiebung des Gleichgewichts zwischen abwehrendem Organismus und lokalem Infekt kommt, kann sich eine klinisch manifeste Infektion etablieren. Zu den lokalen Faktoren gehört neben der entzündlichen Erkrankung von Bindegewebe und Blutgefäßen und mangelhafter oraler Hygiene auch die Änderung der Durchblutungsverhältnisse. Diese können durch Gefäßprozesse, wie sie z. B. das Rauchen verursacht, negativ beeinflusst werden (16). Ebenso ist es ähnlich wie im Weichgewebe von der lokalen zellulären und humoralen Abwehr des Knochens abhängig, inwieweit sich eine Erkrankung klinisch manifestieren kann.

Als systemische Faktoren werden beispielsweise Stoffwechselerkrankungen wie Diabetes mellitus, eine Herabsetzung der körpereigenen Abwehr (z. B. iatrogene Immunsuppression), das Alter des Patienten oder systemische Gefäßerkrankungen genannt (4, 12, 27, 64). Darüber hinaus entscheidend ist die Virulenz und Pathogenität der eingedrungenen Bakterien.

Als Erreger kommen vorwiegend hämolysierende Staphylokokken, Streptokokken, Kolibakterien, Pneumokokken und andere in Betracht, wobei die Mischinfektionen überwiegen (41).

Während im Säuglingsalter noch eindeutig häufiger der Oberkiefer erkrankt,

dominiert bereits zum Ende des ersten Lebensjahres die Unterkieferosteomyelitis. Ist der Verlauf im Säuglingsalter noch hochakut und sehr bedrohlich, findet man im Kindesalter meist chronisch-eitrige-, manchmal chronische Verlaufsformen ohne klinische Eiterung (Osteomyelitis sicca). Beim Jugendlichen und Erwachsenen überwiegt die Unterkiefererkrankung mit einem Zahlenverhältnis von 75% zu 25% im Oberkiefer.

Dies erklärt sich aus dem unterschiedlichen strukturellen Aufbau beider Kiefer. So besitzt der Unterkiefer einen vermehrten Gehalt an anorganischer Substanz und eine ausgeprägtere Kompakta. Der Oberkiefer ist weicher und durch einen relativ größeren Anteil intraossären Bindegewebes charakterisiert.

Der Oberkiefer ist daher wahrscheinlich weniger anfällig für eine intraossäre Druckerhöhung und besitzt unter den Bedingungen einer Entzündung eine günstigere Durchblutung (16).

### 1.3 Diagnostik und Therapie:

#### 1.3.1 **Klinische Diagnostik:**

Bei der akuten Kieferosteomyelitis charakterisieren schwere Krankheitserscheinungen wie Fieber, Schüttelfrost und ein reduzierter Allgemeinzustand das klinische Erscheinungsbild. Die laborchemischen Befunde mit Leukozytose, beschleunigter Blutsenkungsgeschwindigkeit, sowie Proteinurie weisen auf die akute Entzündung hin. Oft kommt es zu einer rasch einsetzenden druckschmerzhaften Schwellung, die von heftigen, „bohrenden“ und „klopfenden“ Kieferschmerzen begleitet wird. Hierbei kann es sich um durch den Kortex durchgebrochenen Eiter handeln. Dadurch kann es zusätzlich zu einer Fistel- und Abszessbildung kommen. Dieser Abszess kann klinisch im Vordergrund stehen und so das primäre Krankheitsbild überdecken. Da der Röntgenbefund in dieser akuten Krankheitsphase noch unauffällig ist (gegebenenfalls sind pulpatote Zähne mit chronisch periapikalen Aufhellungen erkennbar), sind wichtige Frühsymptome der dumpfe Klopfeschall des betroffenen Kieferabschnitts, die ödema-

töse Schwellung der Gingiva mit eventueller Eiterentleerung aus der Zahnfleischtasche am 2. und 3. Krankheitstag, evtl. eine Kieferklemme, Zahnlockerungen und die frühzeitigen Sensibilitätsstörungen des N. alveolaris inferior und des N. mentalis (Vincent- Symptom) (1, 28, 63).

Gelingt es nicht, die akute Osteomyelitis auszuheilen, bildet sich im weiteren Krankheitsverlauf die im akuten Stadium vorhandene massive Weichteilschwellung zurück und an ihre Stelle treten mehr umschriebene druckschmerzhaft Infiltrate.

Diese können bei neuen akuten Schüben jedoch schnell wieder anschwellen. Zusätzlich ist das klinische Krankheitsbild durch die mangelhafte Durchblutung und den reduzierten Stoffwechsel im Erkrankungsgebiet gekennzeichnet (41). Diese Phase wird auch als sekundäre chronische Osteomyelitis bezeichnet.

Die primär chronische Osteomyelitis beginnt oft nahezu symptomlos, ohne akuten Krankheitsbeginn. Es kommt zur allmählichen, manchmal mächtigen Auftreibung des Kieferknochens, bedingt durch den periostalen Knochenanbau. Daneben treten rezidivierende Weichteilschwellungen auf.

Als arbiträre Trennlinie zwischen der akuten und chronischen Form wird eine Krankheitsdauer von einem Monat vorgeschlagen (32). Dabei handelt es sich um langsam ablaufende Prozesse.

### 1.3.2 Erweiterte Diagnostik:

Neben der klinischen Symptomatik werden verschiedene bildgebende Verfahren zur Diagnosestellung herangezogen. Dabei ist von der sich im Krankheitsverlauf ergebenden Fragestellung abhängig, welches Verfahren angewandt wird.

Zur routinemäßigen Diagnostik gehören Panoramaschichtaufnahmen, die durch eine Röntgenaufnahme zweiter Ebene ergänzt werden können.

Um osteolytische Prozesse im Röntgenbild zu erkennen, bedarf es einer über 50% igen Auflösung der anorganischen Substanz. Hieraus geht hervor, dass erst ca. 20 Tage nach Ausbruch der Krankheit die ersten Demineralisationseffekte mit einem entsprechenden Äquivalent auf dem Röntgenbild zu erkennen sind. Bei der Knochenneubildung ist im Röntgenbild ein neu kalzifizierter Osteoidsaum ab 10  $\mu\text{m}$  Stärke zu erkennen. Die Mineralisationsgeschwindigkeit beträgt etwa 1 $\mu\text{m}$  in 24 Stunden im Osteoidsaum (57). Knochenneubildungen sind deshalb erst frühestens nach 10 Tagen an Hand von röntgenologischen Zeichen erkennbar. Massive Sklerosierungen im Röntgenbild weisen auf einen mindestens 1 Monat bestehenden Prozess hin.

Durch den langen Zeitabstand zwischen Krankheitsausbruch und ersten erkennbaren radiologischen Zeichen wird klar, wie schwer eine, für den weiteren Verlauf der Krankheit so wichtige, schnelle klinische Diagnose ist.

Daher ist die konventionelle Röntgentechnik nur im Falle der chronischen Verlaufsform aussagekräftig. Bessere Beurteilungen über Größe und Ausdehnung der Erkrankung werden durch das Einsetzen von Computertomographien oder Dental-CT erreicht.

Darüber hinaus bestehen Diagnostikhilfen in Form von Magnetresonanztomographie, Positronenemissionstomographie und Blutuntersuchungen (16).

Die Knochenszintigraphie basiert auf der gesteigerten Dynamik des Stoffwechsels in osteomyelitisch befallenen Kieferknochenabschnitten. Man benutzt dafür Isotope des Technetiums, überwiegend in Form von Technetium-99-Diphosphaten als Tracer und kann damit Aussagen über die entzündeten Knochenbereiche sowie Therapieverlaufskontrollen tätigen.

Ursachen für die Anreicherung radioaktiver Stoffe im osteomyelitisch befallenen Areal sind sofortige Veränderungen der Blutzufuhr und Osteoblastenaktivität im Infektionsbereich. Dadurch ist eine eindeutige Identifizierung eines osteomyelitisch befallenen Knochenabschnitts schon nach zweitägiger Erkrankungsdauer möglich (57).

Ein weiterer Vorteil der Knochenszintigraphie ist die im Vergleich zur konventionellen Röntgentechnik geringere Strahlenbelastung. Auch bei 3-4 Untersuchungen in 8-wöchigem Abstand wird die maximal zulässige Äquivalenzdosis nicht erreicht (18).

Darüber hinaus steht mit der Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) ein weiteres Diagnosemittel zur Verfügung. Dieses ist in der Bewertung der Weichteilbeteiligung allen anderen Verfahren überlegen (33, 51).

Mikrobiologische Erreger- und Resistenzbestimmungen sind Voraussetzung für eine gezielte antibiotische Therapie von akuten und auch chronischen Knochenentzündungen. Bei akuten Entzündungen reicht dafür in der Regel ein Abstrich, bzw. ein Eiteraspirat aus den Weichteilen. Bei der chronischen Form ist eine Knochengewebsentnahme zur Erregerbestimmung von Nöten. Bei den nichteitrigen Formen gelingt ein Erregernachweis in der Regel nicht.

In diesem Zusammenhang wird auch die Indikation zur Knochenbiopsie gestellt, die differentialdiagnostische Aussagen (z. B. die Abgrenzung gegenüber Knochenmalignomen oder Knochensystemerkrankungen) und eine gezielte Antibiose ermöglicht (36).

Bei entsprechender Indikation besteht die Möglichkeit, aus dem betroffenen Bereich eine Gewebeprobe zu gewinnen und so eine histologische Klärung der Diagnose herbeizuführen.

### 1.3.3 Therapie:

Die Hauptindikation zur antibiotischen Therapie bilden die akuten Verlaufsformen, die jedoch in den letzten Jahrzehnten abgenommen haben (2, 53), was auf den Fortschritt der antibiotischen Behandlung zurückzuführen sein dürfte. Der akute Krankheitsbeginn wird immer seltener beobachtet (ca. 27%), wo hingegen die chronischen Verlaufsformen bei ca. 73% der Erkrankten festgestellt wurden. Diese sind zudem auf umschriebeneren Kieferabschnitten lokalisiert (41).

Frühzeitige, hochdosierte und systemisch verabreichte Antibiotika, gegebenenfalls in Kombination mit begrenzten chirurgischen Maßnahmen wie Inzision und Drainage lokalisierter, fluktuierender Schwellungen, sind die Behandlung der Wahl.

Auch bei chronischem Krankheitsverlauf stellt die antibiotische Behandlung die wichtigste Therapieform dar.

Darüber hinaus sind hier jedoch auch häufig ausgedehntere chirurgische Interventionen von Nöten. Zahlreiche Autoren empfehlen als primäre Therapie eine Kombination aus systemischer Antibiose und operativer Entfernung des nekrotischen Knochenmaterials, etwa in Form eines Debridements oder der von Mowlem 1945 erst beschriebenen Dekortikation (7, 24, 42).

Je nach Ausmaß des erkrankten Bereichs ist radikaleres Vorgehen bis zur Segmentresektion mit Spongiosaanlagerung angezeigt.

Eine adjuvante Therapie mit Rheologika und physikalischen Maßnahmen wird empfohlen (24).

Der Einsatz der hyperbaren Oxygenierung wird kontrovers diskutiert. Die überwiegende Zahl der Autoren empfiehlt die Anwendung von HBO in Kombination mit chirurgischer und antibiotischer Therapie, vor allem bei resistenten Fällen (7, 31). Andere Veröffentlichungen haben widersprüchliche Ergebnisse hervorgebracht (28, 62).

## 1.4 Pathohistologie:

Pathohistologisch bildet sich im Zentrum der Infektion als Antwort auf den infektiösen Reiz eine durch Entzündungsmediatoren vermittelte lokale Steigerung der Durchblutung, woraus ein Ödem mit pH- Wert Verschiebung resultiert. Es kommt zur Leukozytenimmigration. Die kortikale Hartschicht umgibt das Knochenmarksgewebe vollständig, so dass es durch die Ödembildung zu einem hohen intramedullären Druckanstieg kommt. Dem folgt eine zentrale Nekrotisierung des Bindegewebes.

Bei dem gesamten Geschehen spielen vaskuläre Veränderungen mit den dazugehörigen Störungen der Durchblutung eine wichtige Rolle. Das Bindegewebe des Marks schmilzt ein und die eitrige Entzündung breitet sich im Markraum sowie in den Volkmannschen und Haversschen Kanälen aus. Die darin liegenden nutritiven Knochengefäße obliterieren durch thromboembolische Prozesse (6). Diese führen zu Störungen der Mikrozirkulation und zu topischen Störungen mit konsekutivem Zell- und Gewebeuntergang, vergleichbar einem Infarktgeschehen (49). Es entsteht eine Kompartimentierung, die die Immunantwort behindert, da immunkompetente Zellen nicht mehr zum Zentrum der Entzündung gelangen können. Durch die Unterbrechung der Blutzufuhr sterben große Knochenanteile ab. Die Markräume sind leer oder mit Eiter gefüllt. Da die Hartschicht des Knochens durch die Leukozytenenzyme nicht aufgelöst werden kann und Osteoklasten nicht mehr vorhanden sind, findet kein Hartschichtabbau statt. Es bildet sich Granulationsgewebe zum noch blutversorgten Gebiet.

Dort lösen die noch intakten Osteoklasten den nekrotischen Knochen lakunär auf. Auf diese Weise wird die tote, nekrotische Zone durch Auflösung des anorganischen Knochenbälkchenverbundes aus ihrer mechanischen Verbindung mit dem übrigen Knochen ausgelöst. Man spricht jetzt von einem Sequester, der lose im infektiösen Zentrum liegt.

Als Reaktion auf die Granulationsgewebeschicht, die alle Zeichen einer akuten Entzündung zeigt, bildet sich darum eine Mantelzone mit fibröser Gewebsneubildung und Knochenanlagerung. Der neu gebildete Knochen in dieser Mantel-

zone kann außerordentlich dicht sein und den nekrotischen und entzündlichen Anteil vollständig einmauern. Dies wird dann als Totenlade bezeichnet.

Falls diese Abgrenzung nicht gelingt, breitet sich die Entzündung im gesamten Markraum des Knochens aus und durchbricht an einer oder mehreren Stellen die Rinde. Bei stürmischem Verlauf schließen sich Weichteilinfektionen und -prozesse an.

Je nach Progredienz der Krankheit und klinischem Verlauf dominiert im histologischen Bild eine dieser Erscheinungen (57).

Die akute Osteomyelitis ist durch eine Infiltration der Markräume mit neutrophilen Granulozyten gekennzeichnet. Osteoblasten verschwinden im betroffenen Bereich vollständig. Dafür sind vermehrt Osteoklasten zu beobachten, die einen lakunären Abbau der Knochensubstanz bedingen. Mit dem Fortschreiten der entzündlichen Reaktion entwickeln sich Gewebeschmelzungen mit Bildung kleiner Abszesse, in denen sich nekrotische Knochenbälkchen finden. In der Nähe des osteomyelitischen Zentrums treten vermehrt neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Plasmazellen auf. Diese finden sich dann in den Markräumen des Knochens. Durch die Proliferationstendenz des umliegenden Bindegewebes kann es zur bindegewebigen Abgrenzung des Prozesses kommen. Gelingt es nicht, die akute Form auszuheilen, geht die Krankheit in eine chronische Verlaufsform über. In diesem Fall spricht man wie bereits erläutert von der sekundär chronischen Osteomyelitis, als mögliche Folgeerscheinung der akuten Form, im Gegensatz zu der primär chronischen Osteomyelitis, die meist schleichend, ohne akuten Krankheitsbeginn anfängt. Jedoch zeigen beide Arten der chronischen Osteomyelitis in ihren umschriebenen Formen keine Unterschiede in der Histomorphologie (41).

Der Knochenmarkraum ist von Narbengewebe ausgefüllt. Statt des ursprünglichen Spongiosagerüsts trifft man unregelmäßige, plumpe Trabekel inmitten des Narbengewebes an. Das medulläre Bindegewebe kann an einigen Stellen aufgelockert und von Kapillaren durchzogen sein. Dort finden sich auch lockere Ansammlungen von Plasmazellen, Lymphozyten und Histozyten sowie von

gelapptkernigen Leukozyten, die den noch schwelenden Entzündungsprozess anzeigen (59).

Gleichzeitig bahnt sich der Eiter einen Weg durch die Kortikalis nach außen, wo es zur Fistelbildung kommt.

Vor allem im Bereich des Periosts kann es zu Knochenanbauvorgängen kommen, die sich klinisch dann als Auftreibungen des Kiefers darstellen, jedoch bleibt dieser Prozess hinter den Abbauvorgängen zurück, so dass große Abschnitte der Nekrose verfallen können. Das normalerweise vorhandene Fettmark kann vollständig durch das in den Markräumen enthaltene gefäßreiche Granulationsgewebe ersetzt und der Knochen durch osteoklastische, lakunäre Resorption saniert werden.

Im Laufe der Erkrankung wird das zunächst noch zellreiche Granulationsgewebe durch gefäßärmeres und faserreicheres Bindegewebe ersetzt. In diesem können nur noch Reste der Spongiosabälkchen liegen.

### 1.5 Zelluläre Aspekte:

Eine im Körper ablaufende Entzündung stellt einen Abwehrvorgang des lebenden Organismus dar. Dieser setzt sich aus komplexen Reaktionen der Blutgefäße, bestimmter Blutplasmabestandteile und Blutzellen sowie zellulärer und struktureller Bestandteile des Bindegewebes auf eine lokale Gewebeschädigung zusammen (52). Abwehrvorgänge können durch vielerlei Reize ausgelöst werden, z.B. durch Infektionen eines Organismus mit Mikroorganismen, aber auch durch Zellschädigung bzw. -nekrosen, durch Toxine oder Noxen wie z.B. Sauerstoffmangel infolge von Gefäßverschlüssen (Infarkt) und durch neoplastische Entartung körpereigener Zellen (34).

Abhängig vom zeitlichen Ablauf einer Entzündung dominieren unterschiedliche Zelltypen das histologische Krankheitsbild. Bei akuten Entzündungen treten u.a. vor allem die neutrophilen Granulozyten auf den Plan, welche zum unspezifischen Abwehrsystem des Körpers zählen. Darüber hinaus spielen die Osteoklasten, die zur Gruppe der Makrophagen gehören, eine besondere Rolle,

da sie den Lymphozyten die phagozytierten Antigene präsentieren und sie somit eine Brücke zum erworbenen, spezifischen Immunsystem schlagen.

Die Lymphozyten selbst, die sich in B- und T-Lymphozyten aufteilen (humorale und zelluläre Immunität), dominieren eher das Bild einer chronischen Entzündung.

Die Therapieresistenz einiger chronischer Osteomyelitiserkrankungen gegenüber einer Antibiotikagabe kann zum einen an einer vorliegenden abakteriellen Entzündungsform liegen, zum anderen wird, bedingt durch die angiopathischen Veränderungen, keine ausreichende Antibiotikakonzentration am Ort der Infektion erzielt (24). Darüber hinaus entstehen auf Seiten der Bakterien durch teilweise übereilige Antibiotikagaben Resistenzen gegen antibakterielle Substanzen.

Zusätzlich reichen alleinige Antibiotikagaben bei der Therapie gerade chronischer Krankheitsverläufe allein oft nicht aus und es ist ein gezielter chirurgischer Eingriff von Nöten.

Dahin gehend drängt sich die Frage auf, ob es nicht vielmehr auch durch immunologische Reaktionen zu der Erkrankung kommen kann. Es wäre dann auch von großer Bedeutung, die Subpopulationen der Lymphozyten zu untersuchen und die Therapieansätze neu zu diskutieren.

## 1.6 Ziel der Arbeit:

Trotz aller Fortschritte in Diagnostik und Therapie bereitet die Diagnose „Osteomyelitis“ sowohl den Patienten, als auch den Therapeuten gleichermaßen Schwierigkeiten. Häufige Rezidive und langjährige Verläufe stellen unge löste Probleme dar und lassen viele Fragen offen.

Von entscheidender Bedeutung für den Krankheitsverlauf ist das Vorhandensein von körpereigenen Abwehrzellen. Im Rahmen dieser Arbeit untersuchten wir die Zellanzahl und –verteilung der ortsständigen Zellen, wie Fibrozyten und Osteoblasten, aber auch der sogenannten „freien Zellen“, wie Granulozyten und Plasmazellen, die bei der körpereigenen Abwehr von Mikroorganismen eine herausragende Rolle spielen.

## **2. Material und Methode**

### **2.1 Patienten und Kontrollgruppe:**

Im Rahmen dieser Studie wurden im Zeitraum von 1998- 2001 Knochenproben von allen Patienten, welche an chronischer Osteomyelitis erkrankt waren und am Uniklinikum Münster behandelt und operiert wurden, entnommen. Dies geschah während eines operativen Eingriffs zur Dekortikation oder Teilresektion. Es wurden nur die Proben einbezogen, für die eine eindeutige pathohistologische Beurteilung vorlag.

Bei dem untersuchten Material handelte es sich um Knochenpräparate, die sowohl Teile der Spongiosa als auch der Kompakta enthielten.

Als Vergleichsgruppe wurden Knochenproben von Körperspendern des Anatomischen Instituts herangezogen. Eine Knochenerkrankung wurde hier jeweils histologisch ausgeschlossen.

### **2.2 Aktenanalyse:**

Mit Hilfe der Krankenakten der selektierten, an Osteomyelitis erkrankten Patienten sollte zusätzlich ein Profil des klinischen Bildes erstellt werden. Soweit dies eruiert war, wurden die Aufnahmebefunde nach nachvollziehbaren Ursachen, Erkrankungsalter und Leukozytenwerten untersucht.

### 2.3 Probenverarbeitung:

Die Proben wurden nach Gewinnung umgehend in 4%igem Paraformaldehyd in 0,1M PBS-Puffer (7,4pH) nach Sørensen für vier Stunden fixiert.

Anschließend erfolgte das dreimalige Auswaschen der Proben mit 0,1M PBS-Puffer. Daraufhin wurde die vorsichtige, in Verhältnis zur Größe und Härte der Proben stehende Entkalkung der Proben vorgenommen. Dazu wurden die Proben in 20%igem EDTA mit 0,2%igem Paraformaldehyd gelagert. Einmal wöchentlich wurde die Entkalkungslösung gewechselt. Nach vollständiger Entkalkung, die röntgenologisch kontrolliert wurde und bis zu 6 Wochen dauern konnte, erfolgte die Dehydrierung der Präparate mittels einer Alkoholreihe, beginnend in 50%-,70%-,90%- und dann in 100%igem Alkohol jeweils für 24 Stunden. Zur Eliminierung des Alkohols wurden die Präparate für einen Tag in Zedernholzöl gelegt, danach in eine Mischung aus Zedernholzöl und Paraffin. Die Durchtränkung der Präparate wurde durch Paraffin I, II, III und IV bei 60°C für jeweils 24 Stunden erreicht. Die Proben wurden dann mit Hilfe zuvor angefertigter Skizzen in individuell nach Größe vorbereiteten Blockformen eingebettet.

Es wurden dann Serienschnitte am Mikrotom angefertigt. Die Schichtdicke betrug 8-10 µm. Die Schnitte wurden anschließend in ein auf 40°C temperiertes Wasserbad gelegt, damit sie sich entfalten konnten. Von dort aus wurden die Schnitte auf die mit Eiweißglycerin beschichteten Objektträger aufgezogen und daraufhin in einem Trockenschrank bei 40°C getrocknet.

Für die Lichtmikroskopie wurden die Präparate in der Hämatoxylin- Eosin Färbung nach Mayer angefärbt.

Dazu wurden die Präparate für jeweils zwei mal 10 Minuten in Xylol, absoluten Alkohol und 96% Alkohol, für jeweils 5 Minuten in Celloidin- Alkohol- Äther, für jeweils 10 Minuten in 70% Alkohol, dest. Wasser und Hämatoxylin nach Meyer gelegt und anschließend für 30 Minuten fließend gewässert. Daraufhin wurden die Präparate 2 bis 5 Minuten in Eosin getaucht, dann kurz in dest. Wasser gegeben und im Weiteren in eine aufsteigende Alkoholreihe von 50-100% Alkohol gelegt. Zum Schluss wurden die Präparate für 10 Minuten in Carboxylol und für zweimal 10 Minuten in Xylol gegeben.

Eingedeckt wurden die Präparate mit Metacrylat (DePeX).

Bei der Hämatoxylin- Eosin Färbung werden die Kerne blau angefärbt, der Knochen rot und die zytoplasmatischen Bestandteile rosa bis rot.

## 2.4 Auswertung:

### 2.4.1 Aktenauswertung:

Bei den ausgewählten Patienten mit histologisch gesicherter Osteomyelitis sollte anhand der Krankenakte festgestellt werden, ob die klinischen Untersuchungen in Bezug auf die Leukozytenzahl und die eruierbare Ursache mit den histologisch untersuchten Proben korrelierten.

### 2.4.2 Gewebsmorphometrische Auswertung:

Zur Durchführung der Gewebsmorphometrie wurden die Proben unter dem Fotomikroskop unter 16-facher Vergrößerung fotografiert. Je nach Probengröße wurden mindestens 8 bis maximal 36 Bilder angefertigt. Durch ein Rastersystem wurde gewährleistet, dass jeder Bildausschnitt nur einmal aufgenommen wurde. Anschließend wurden die entwickelten Dias in den Computer eingescannt. Hier erfolgte nun, mit Hilfe eines zuvor fotografierten Größenmaßstabs, eine Bewertung der Probenbilder in Bezug auf Bindegewebs- zu Knochengewebsstrukturen. Dafür wurden die Knochenumrisse umfahren und die Knochenfläche und die Bindegewebsfläche berechnet. Ebenso wurde die Anzahl der Osteoblasten, der Osteozyten, der Osteoklasten, der Granulozyten, der Lymphozyten und der Kapillaren pro Gewebebereich (- pro mm<sup>2</sup>) ausgewertet. Anschließend setzten wir die Anzahl der Zellen zur Knochen- bzw. Bindegewebsfläche ins Verhältnis.

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Bildbearbeitungsprogrammes Image Tool 2.0. Die Zählung der Zellen geschah durch unterschiedliche, zellspezifische farbliche Markierung der einzelnen Zellen, bzw. Zelltypen mit Hilfe des Computerprogramms und automatisches Zählen dieser, um Doppelzählungen vorzubeugen.

Die histomorphometrischen Parameter erfolgten konform mit dem American Society for Bone and Mineral Research Histomorphometry Nomenclature Committee (46).

Die Auswertung wurde stichprobenartig unabhängig von einer zweiten Person nach denselben Parametern kontrolliert und ebenfalls von derselben Person nach mehreren Stunden, Tagen und auch Wochen nachkontrolliert.

### **2.4.3 Statistische Auswertung:**

Die gewonnenen Daten wurden in das Statistikprogramm SPSS (Version 10.0) übertragen und zueinander ins Verhältnis gesetzt. Aus den Osteomyelitisfällen und Kontrollgruppen wurde ein Mittelwert für jede Zellart und die Standardabweichung berechnet.

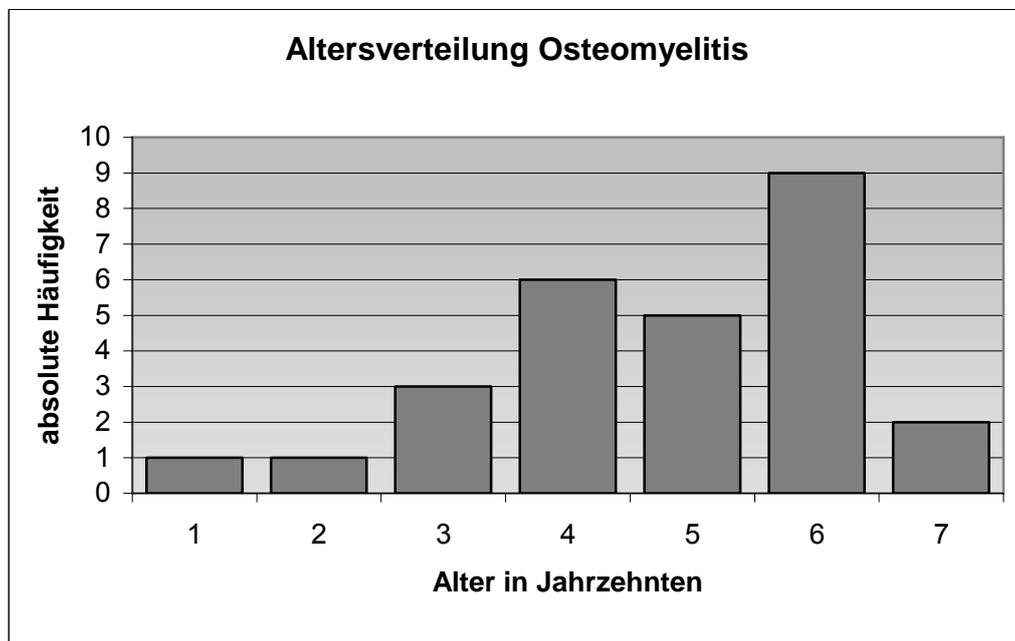
Die gewonnenen Werte wurden zunächst rein deskriptiv ausgewertet und anschließend wurde der Trend der Ergebnisse ermittelt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Allgemeine Auswertung:

27 Proben konnten ausgewertet werden. Davon waren 9 weiblich und 18 männlich, so dass sich ein Verhältnis Frauen zu Männern von 1:2 ergab. In Prozenten ausgedrückt war das männliche Geschlecht im Untersuchungszeitraum mit 66,6% am häufigsten vertreten, wohingegen lediglich 33,3% der Patienten Frauen waren.

Der jüngste Patient war zur Zeit der Erkrankung 19 Jahre, der älteste 72 Jahre alt. Eine Häufung der an Osteomyelitis erkrankten Patienten war zwischen dem 31. und 69. Lebensjahr erkennbar, wobei der Schwerpunkt zwischen dem 61. und 70. Lebensjahr lag. Der Altersmittelwert der Erkrankten liegt bei 53 Jahren.

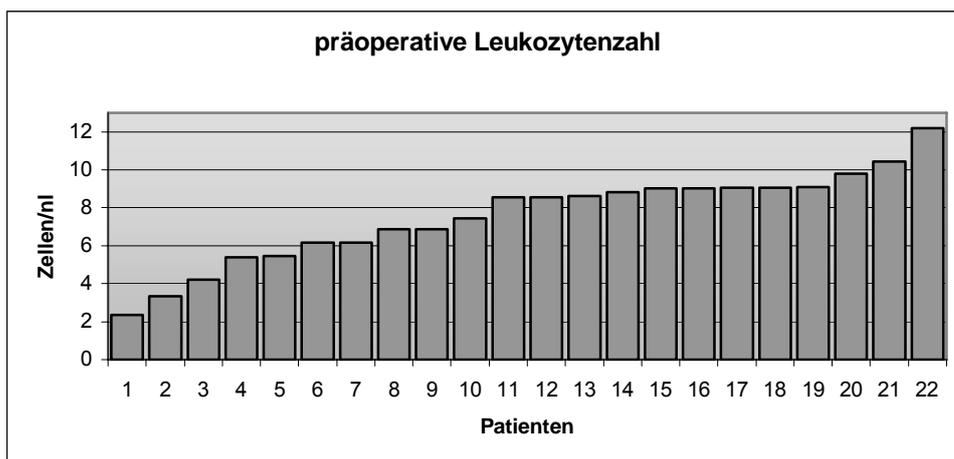


Graph.1: Altersverteilung Osteomyelitis

Bei den 30 untersuchten Patienten gab es drei verschiedene nachvollziehbare Ursachen. Diese splitten sich wie folgt:

	1. nach Extraktion	23%
	2. nach Trauma	10%
	3. nach Tumor und Radiatio	20%
Sowie die Gruppe der	4. unbekannt nicht eruierbaren Ursachen	47%

Die untersuchten präoperativen Leukozytenwerte bewegten sich bei 18 von 27 Patienten im Normalen, d.h. zwischen 4,0 Zellen/nl und 10,0 Zellen/nl bei Männern und Frauen (Referenzwerte von der Laborgemeinschaft Hamburg vom April 2002). Lediglich bei zwei Patienten lag eine Erhöhung der Werte vor (10,43 Zellen/nl und 12,19 Zellen/nl) und bei zwei weiteren eine Erniedrigung der Werte (3,33 Zellen/nl und 2,35 Zellen/nl). Bei 5 weiteren Patienten waren die Werte nicht bekannt.



**Graph.2:** Präoperative Leukozytenzahl

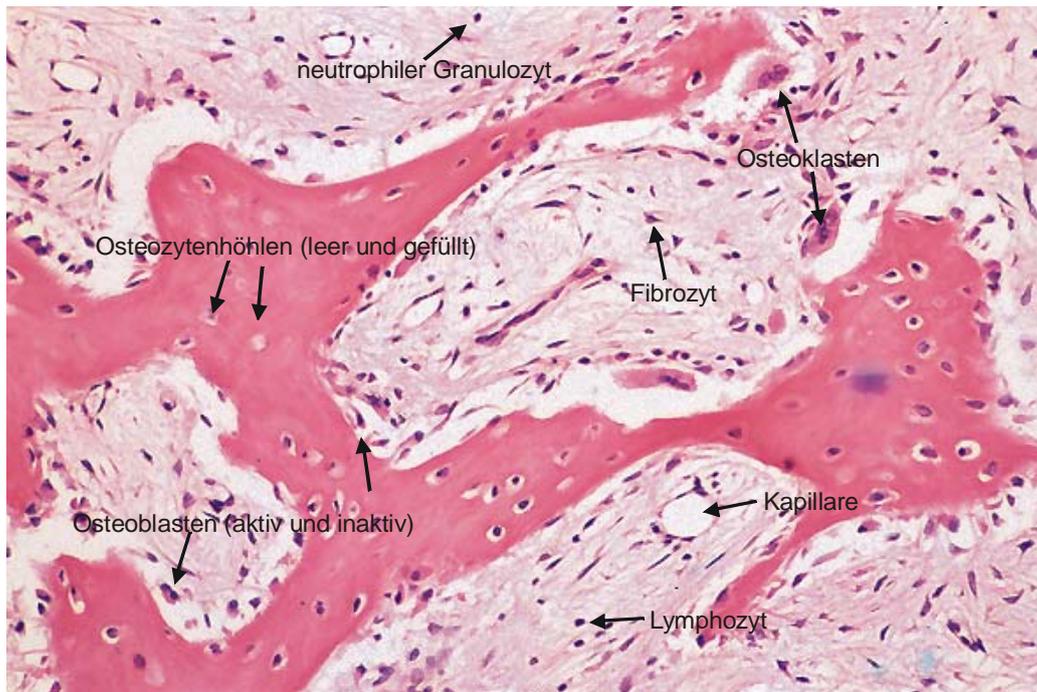
### 3.2 Histologische Auswertung:

Es wurden 29 Knochenproben untersucht. Bei zwei Präparaten ergab die histologische Untersuchung die Diagnose der Osteoradionekrose. Somit konnten Proben von insgesamt 27 erkrankten Patienten in die Studie eingeschlossen und ausgewertet werden.

Die Kontrollgruppe wurde von 9 Präparaten der gesunden Probanden gebildet.

Alle 36 Proben wurden zunächst mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt und anschließend histologisch untersucht. Die Osteomyelitis-Diagnose der 27 erkrankten Patienten konnte in allen Fällen bestätigt werden.

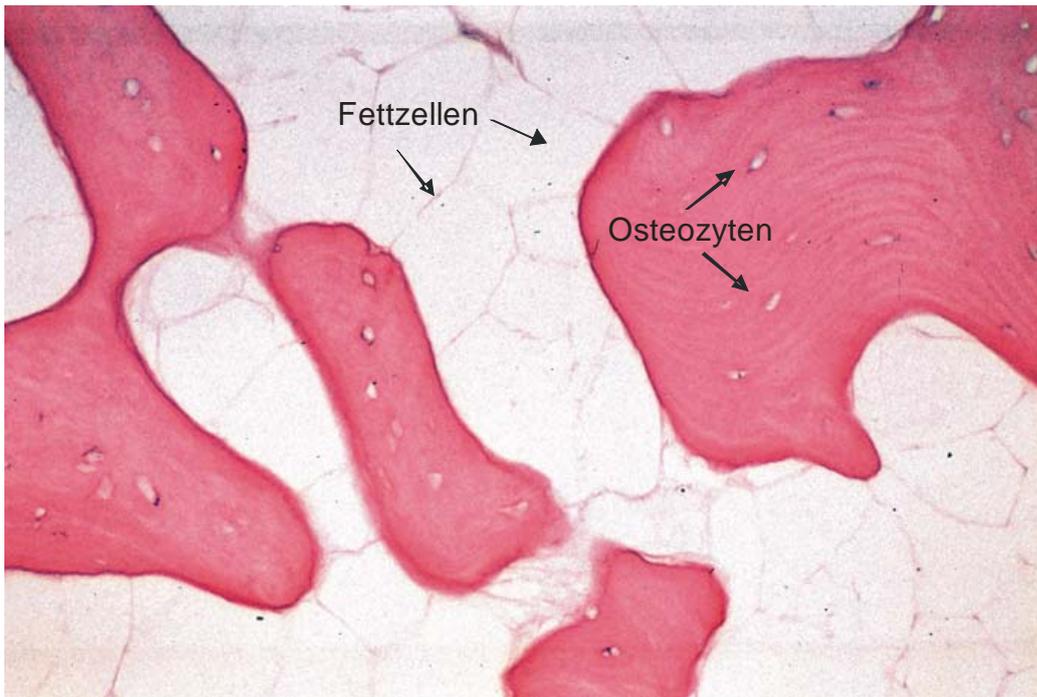
Die **Abbildungen 1** und **2** zeigen jeweils HE-gefärbte Übersichtsaufnahmen der Osteomyelitis und des gesunden Knochens.



**Abb.1 Osteomyelitis-Übersichtsaufnahme** 16-fache Vergrößerung

Im obigen Bild ist ein typischer histologischer Befund für eine osteomyelitische Erkrankung dargestellt. So kann man die in den Knochen eingemauerten Osteozyten sowie die am Knochen aufgereihten aktiven und inaktiven Osteoblasten erkennen. Darüber hinaus sind vereinzelt neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und mehrere Gefäßanschnitte zu sehen. Ebenfalls im Bild sichtbar sind drei Osteoklasten.

Zum Vergleich wurde das histologische Bild einer gesunden Knochenprobe beigefügt.



**Abb.2 gesunder Knochen-Übersichtsaufnahme** 16-fache Vergrößerung

Auffällig ist der große Anteil an Fettzellen. Der Fettanteil des Knochens nimmt im Alter zu. Erkennbar sind darüber hinaus die in den Knochen eingemauerten Osteozyten.

Die **Abbildungen 3 bis 9** zeigen die untersuchten Zelltypen mit einer kurzen Beschreibung der morphologischen Erkennungsmerkmale.

Die Gestalt der Osteozyten lässt sich als flach und mandelförmig bezeichnen. Ihre dünnen Fortsätze erstrecken sich bis in die Knochenkanälchen hinein.



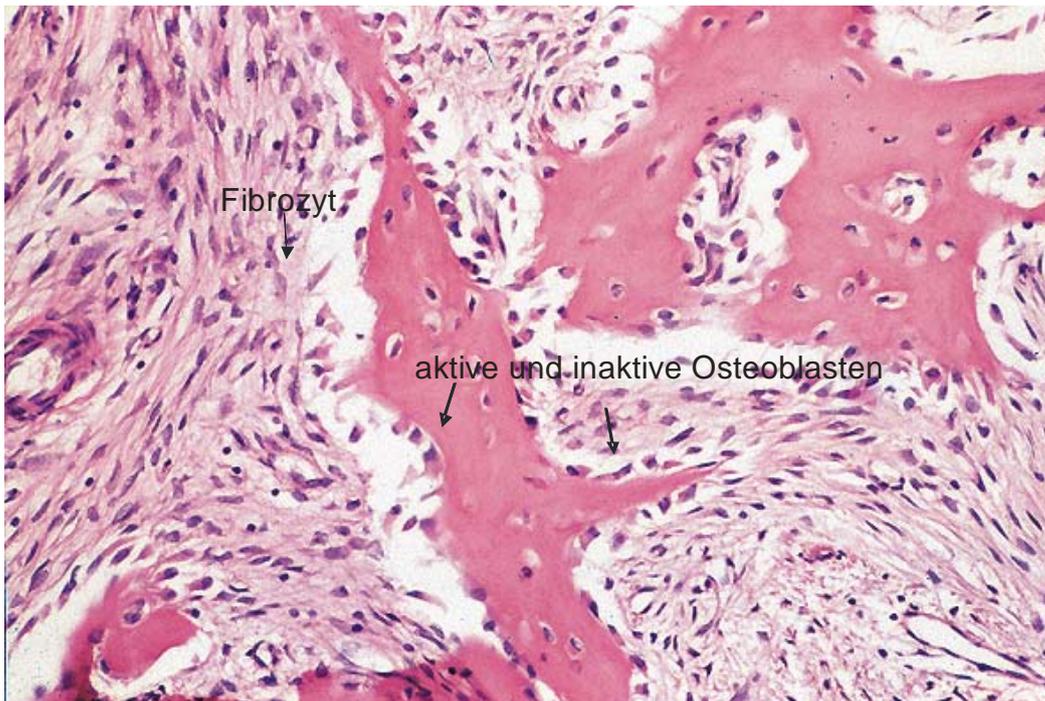
**Abb.3 leere und gefüllte Osteozytenhöhlen 16-fache Vergrößerung**



**Abb.4 leere und gefüllte Osteozytenhöhlen (Abb.3 Ausschnittvergrößerung)**

Die aktiven Osteoblasten stellen sich als kubisch- hochprismatisch, perlschnurartig angeordnete Zellen direkt am Knochen gelegen dar, wohingegen die inaktiven ruhenden Osteoblasten eher lang gestreckt und flach erscheinen.

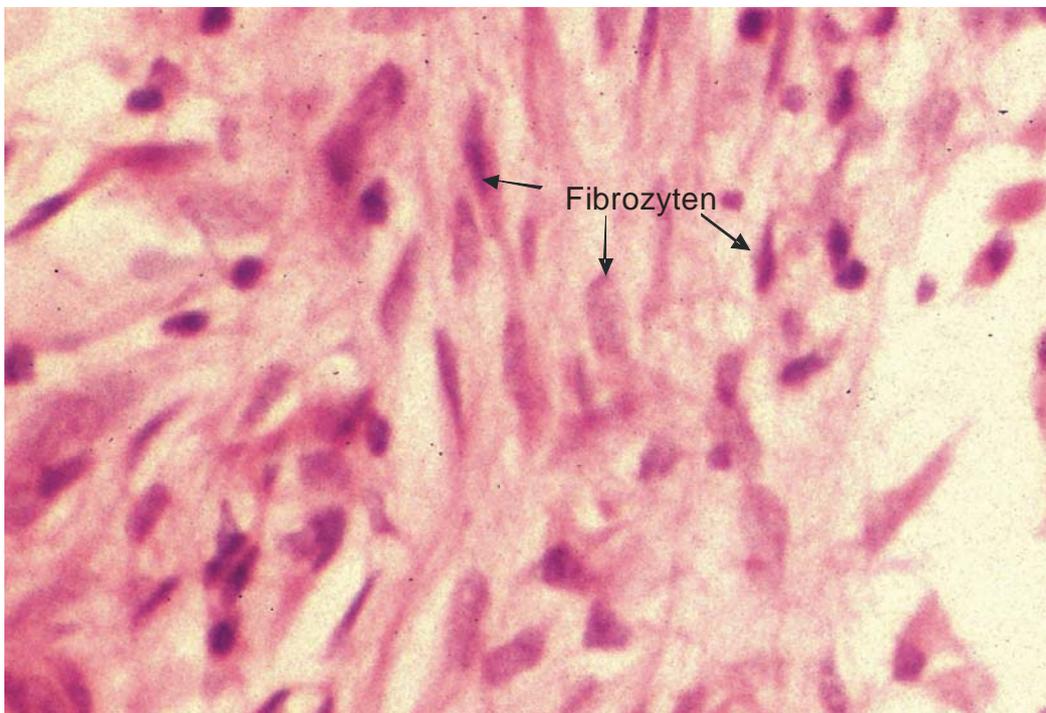
Fibrozyten erkennt man an ihren fortsatzreichen, flächenhaft ausgebreiteten und im Schnitt dünnen Zellkörpern.



**Abb.5 aktive und inaktive Osteoblasten, Fibrozyten** 16-fache Vergrößerung

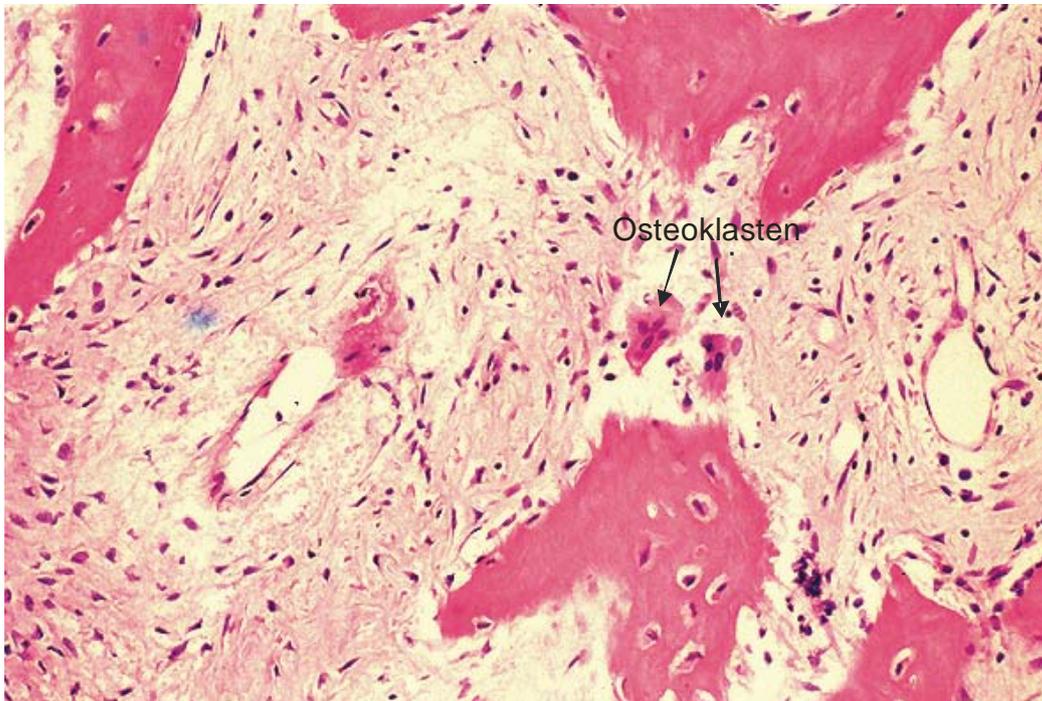


**Abb.6 aktive und inaktive Osteoblasten** (Abb.5 Ausschnittvergrößerung)

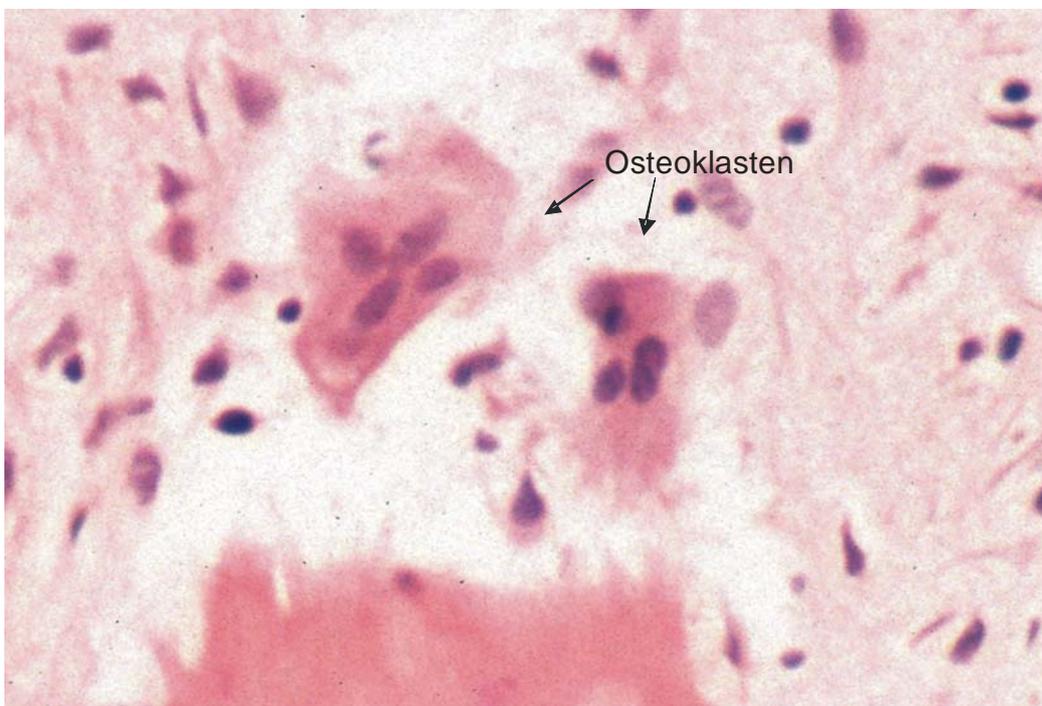


**Abb.7 Fibrozyten** (Abb.5 Ausschnittvergrößerung)

Die Osteoklasten haben 10-30 bläschenförmige Kerne und liegen in tiefen Howshipschen Resorptionslakunen.



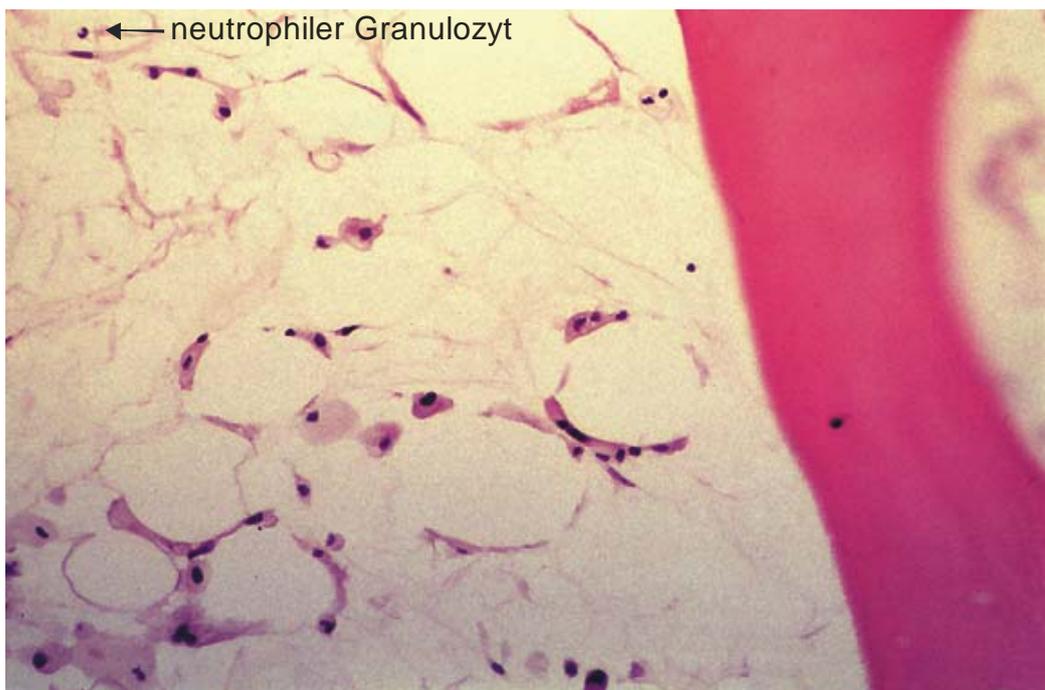
**Abb.8 Osteoklasten** zentral, leicht vom Knochen abgeschwemmt 16-fache Vergrößerung



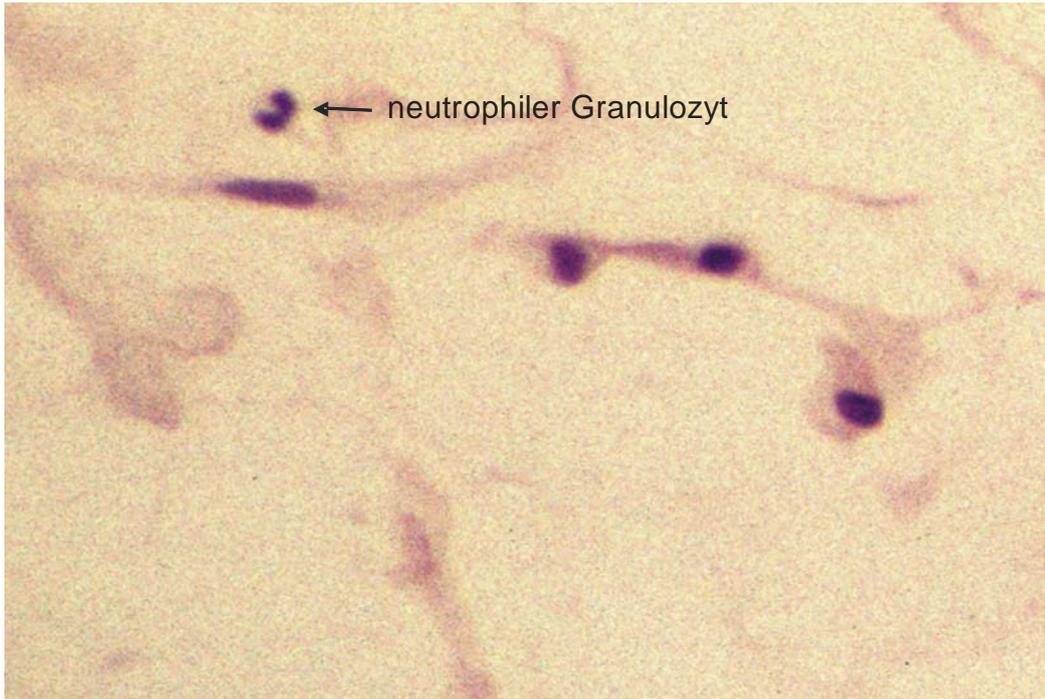
**Abb.9 Osteoklasten** (Abb.8 Ausschnittvergrößerung)

Die neutrophilen Granulozyten und die Lymphozyten gehören zur Gruppe der Leukozyten. Diese entfalten ihre Tätigkeit hauptsächlich im Bindegewebe und verlassen dazu die Blutgefäße, indem sie durch die Wand der Kapillaren und postkapillaren Venen treten (Leukozytendiapedese).

Die neutrophilen Granulozyten sind im fixierten Präparat rund und an ihren gelappten, bzw. segmentierten Kernen zu erkennen.

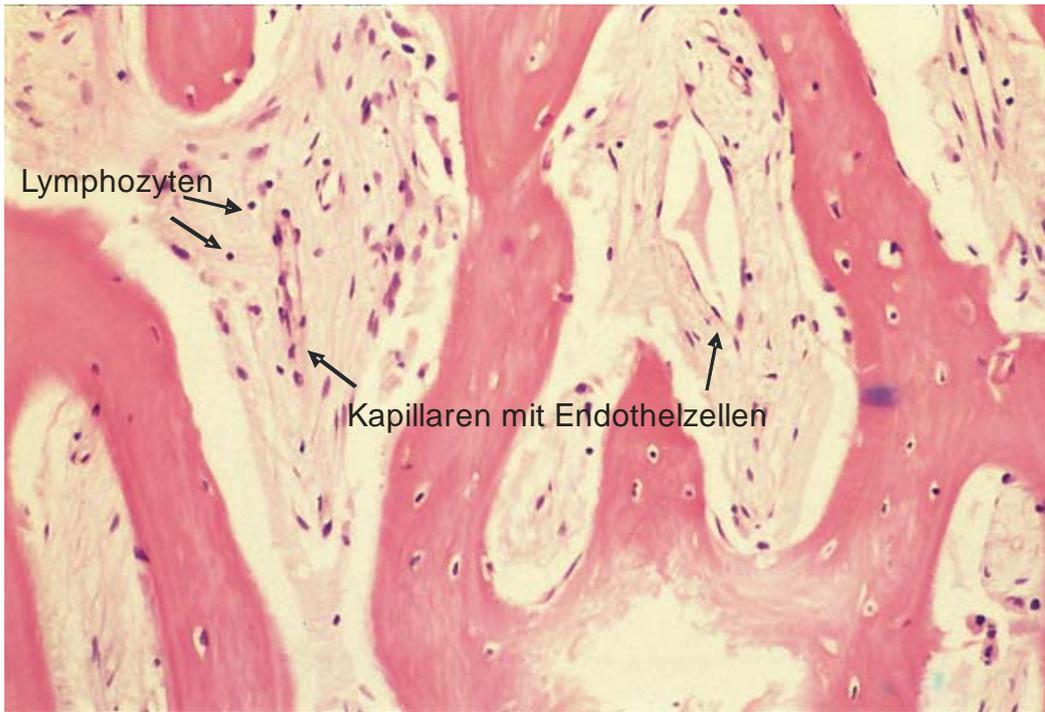


**Abb.10 neutrophiler Granulozyt** in linker oberer Ecke 16-fache Vergrößerung

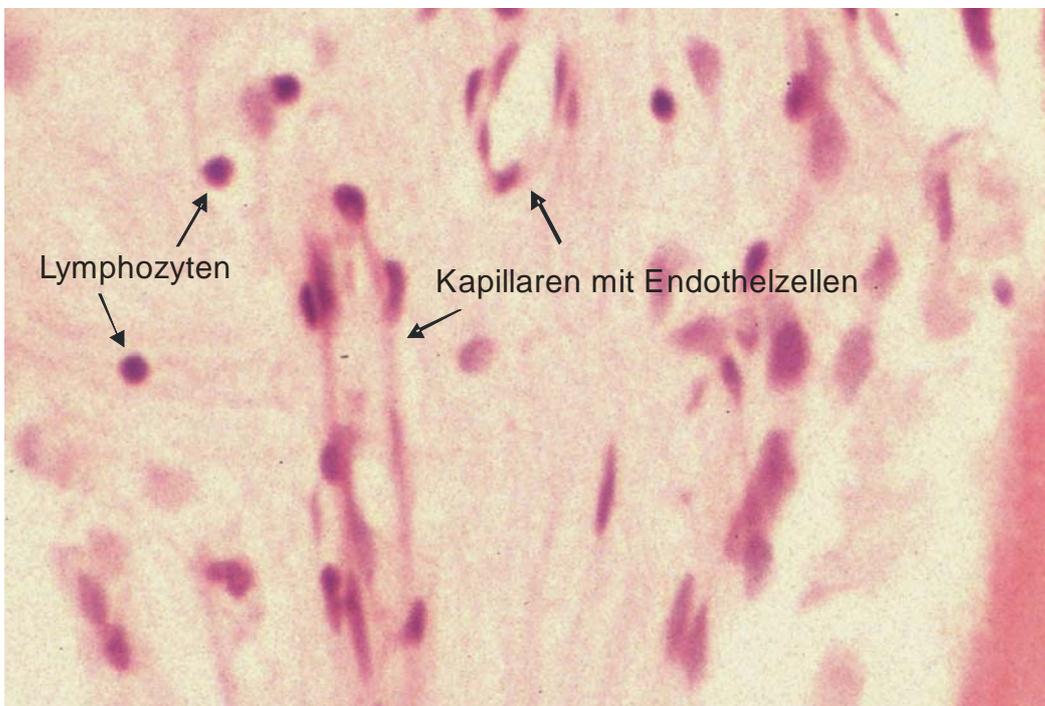


**Abb.11 neutrophiler Granulozyt** (Abb.10 Ausschnittvergrößerung)

Die Lymphozyten besitzen einen runden, sehr chromatinreichen Zellkern. Sie haben einen schmalen, häufig kaum sichtbaren Zytoplasmasaum. Lymphozyten können weiter transformiert werden. So gibt es immunologisch noch nicht kompetente Lymphozyten aus dem Knochenmark, immunologisch kompetente T- und, weniger zahlreich, B- Lymphozyten u. a., die alle annähernd gleich aussehen.



**Abb.12 Lymphozyten und Kapillaren** 16-fache Vergrößerung



**Abb.13 Lymphozyten und Kapillaren** (Abb.12 Ausschnittvergrößerung)

### 3.3 Zelluläre Auswertungen:

Um die Zellanzahl pro Knochen-/ Bindegewebsfläche zu ermitteln, wurden zunächst die Knochenflächen, bzw. Bindegewebsflächen der 27 Osteomyelitisproben und 9 Kontrollen ermittelt. Anschließend wurden die einzelnen Zellarten pro Osteomyelitisprobe und Kontrolle gezählt und die Ergebnisse wurden in Relation gesetzt, um eine Aussage treffen zu können. Nachfolgende **Tabelle 1** gibt eine Gesamtübersicht über die Zellanzahl pro Knochen-, bzw. Bindegewebsfläche der 27 Osteomyelitisproben. In **Tabelle 2** wird die Zellanzahl pro Knochen-, bzw. Bindegewebsfläche bei den untersuchten 9 Kontrollen gezeigt. Um eine übersichtlichere Darstellung zu erhalten, wurden die Zahlen mit 1000 multipliziert.

Die Werte in den **Tabellen 3-5** wurden sowohl in [ $1/\mu\text{m}^2$ ], als auch der besseren Darstellung halber in [ $1/\text{mm}^2$ ] angegeben.

Die **Graphiken 3 und 4** verdeutlichen als Histogramme die Resultate.

Patient	Nr.	Probenbez.	Zellenanzahl pro Knochen / BG - Fläche x 1000 Osteomyelitis									
			Osteozyten leer	Osteozyten gefüllt	Osteoblasten aktiv	Osteoblasten inaktiv	Osteo- klasten	Fibro- zyten	neutroph. Granulozyt.	Lympho- zyten	unklare Klassifikation	Kapillaren
			OZ-l/A(B)	OZ-g/A(B)	OB-a/A(B)	OB-i/A(B)	OK/A(B)	FZ/A(ST)	NGZ/A(ST)	LYZ/A(ST)	UKN/A(ST)	KAP/A(ST)
Patient	1	OM29-06-99liHE	0,0897	0,6186	0,7856	0,3078	0,0008	0,7919	0,0110	0,1317	0,0923	0,0362
Patient	2	OM29-06-99reHE	0,0586	0,3000	0,2834	0,0607	0,0022	0,4180	0,0056	0,0833	0,0259	0,0141
Patient	3	OM09-06-99HE	0,0415	0,4239	0,1901	0,1857	0,0051	0,6104	0,0071	0,0659	0,0213	0,0152
Patient	4	OM06-09-99MHE	0,0737	0,3090	0,1459	0,0925	0,0031	1,0999	0,0152	0,1273	0,0239	0,0087
Patient	5	OM22-06-99HE	0,2837	0,0207	0,0104	0,0038	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0066	0,0000
Patient	6	OM25-08-99HE	0,1150	0,6214	0,2375	0,1763	0,0030	0,4055	0,0117	0,0472	0,0151	0,0083
Patient	7	OM06-09-99R-HE	0,8520	0,0755	0,0826	0,0330	0,0094	0,4937	0,0182	0,0972	0,6380	0,0395
Patient	8	OM09-07-99HE	0,1357	0,1507	0,0451	0,0295	0,0021	0,5419	0,0017	0,0948	0,1064	0,0299
Patient	9	OM19-07-99B-HE	0,0535	0,2455	0,0890	0,0486	0,0000	0,2373	0,0019	0,0598	0,0934	0,0299
Patient	10	OM01-04-99B-HE	0,4206	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Patient	11	OM26-10-99-HE	0,1610	0,1843	0,0122	0,0159	0,0000	0,5957	0,0000	0,0265	0,4104	0,0265
Patient	12	OM28-10-99HE	0,2207	0,1408	0,0216	0,0216	0,0002	0,3958	0,0081	0,0559	0,0570	0,0179
Patient	13	OM22-9-99B-HE	0,1423	0,5687	0,1398	0,0631	0,0000	1,0999	0,0016	0,1109	0,0748	0,0329
Patient	14	OM17.3.00 I HE	0,0490	0,5766	0,3952	0,2648	0,0357	1,2242	0,0051	0,1041	0,0249	0,0109
Patient	15	OM29.3.00 B HE	0,0558	0,1880	0,0209	0,0221	0,0000	0,2177	0,0065	0,0032	0,2892	0,0032
Patient	16	OM29.3.00 U HE	0,2402	0,6005	0,0086	0,0000	0,0000	0,1000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Patient	17	OM30.3.00 HE	0,2544	0,0435	0,0000	0,0000	0,0000	0,0561	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Patient	18	OM08.3.00 HE	0,1494	0,0492	0,0510	0,0546	0,0030	0,3828	0,0345	0,0354	0,0572	0,0047
Patient	19	OM04.3.00 HE	0,2864	0,0000	0,0000	0,0000	0,0006	0,1413	0,6087	0,0174	0,2686	0,0000
Patient	20	OM19-10-00	0,2445	0,2389	0,0037	0,0031	0,0000	1,3995	0,0000	0,0000	0,0000	0,0107
Patient	21	OM27-10-00N1	0,0174	1,2068	0,0440	0,1034	0,0010	2,7117	0,0081	0,0136	0,2847	0,0461
Patient	22	OM27-10-00H1	0,0150	0,4091	0,0244	0,0882	0,0206	2,2066	0,0066	0,0124	0,0091	0,0322
Patient	23	OM27-10-00H2	0,1749	0,0042	0,0000	0,0000	0,0097	0,3743	0,0322	0,0201	0,0201	0,0040
Patient	24	OM22-11-00	0,2295	0,0000	0,0321	0,0000	0,0161	4,1572	0,1263	0,0505	0,0038	0,0122
Patient	25	OM28-11-00	0,1572	0,0000	0,0000	0,0000	0,0034	0,1909	0,0961	0,0267	0,0254	0,0000
Patient	26	OM29-11-00	0,1651	0,1033	0,0005	0,0047	0,0000	1,2179	0,0404	0,0354	0,0000	0,0202
Patient	27	OM16-10-00	0,0996	0,3457	0,3556	0,0715	0,0074	2,0832	0,1588	0,0234	0,0046	0,0169

**Tabelle 1:** Gesamtübersicht Zellanzahl/ Knochen-, u. Bindegewebsfläche Osteomyelitis

Probenbez.	Zellenanzahl pro Knochen / BG - Fläche x 1000 Kontrolle									
	Osteozyten leer	Osteozyten gefüllt	Osteoblasten aktiv	Osteoblasten inaktiv	Osteoklasten	Fibrozyten	neutroph. Granulozyten	Lymphozyten	unklare Klassi- fikation	Kapillaren
	OZ-l/A(B)	OZ-g/A(B)	OB-a/A(B)	OB-i/A(B)	OK/A(B)	FZ/A(ST)	NGZ/A(ST)	LYZ/A(ST)	UKN/A(ST)	KAP/A(ST)
KO 1	0,319004	0,077467	0	0,0230209	0	0,9407	0,031355	0,08266	0,0912157	0,04276
KO 2	0,273324	0,054898	0,001168	0,0210249	0	0,098	0,002391	0,00717	0,0669599	0,01196
KO 3	0,259534	0,025055	0	0	0	0,0012	0	0	0,0090153	0,0006
KO 4	0,573128	0,00125	0	0	0	0,0034	0	0	0	0
KO 5	0,193445	0,254758	0,00097	0,0029104	0	0,368	0,011018	0	0,0418699	0,01322
KO 6	0,56761	0,001434	0	0	0	0,0128	0	0	0,005113	0
KO 7	0,004319	0,000583	0	1,895E-05	0	0,2031	0,010921	0	0,050237	0,03713
KO 8	0,394445	0,043898	0	0	0	0,438	0,003369	0	0,0707584	0,05728
KO 9	0,314215	0,201572	0	0,0036484	0	0,2085	0	0	0,1564028	0,04345

**Tabelle 2:** Gesamtübersicht Zellanzahl/ Knochen-, u. Bindegewebsfläche Kontrolle

### Mittelwert der Zellenanzahl pro Knochen / BG - Fläche Osteomyelitis

Osteozyten leer	Osteozyten gefüllt	Osteoblasten aktiv	Osteoblasten inaktiv	Osteoklasten	Fibrozyten	neutroph. Gra- nulozyten	Lymphozyten	unklare Klassifi- kation	Kapillaren
[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00017727	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00027501	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000110337	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000061146	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000004574	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00085754	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000044645	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000046028	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000094539	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000015569
[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,17726721	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,27500593	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,110336572	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,061146417	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,004574833	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,85753716	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,044645677	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,046028385	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,094539517	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,015569843

### Mittelwert der Zellenanzahl pro Knochen / BG - Fläche Kontrolle

Osteozyten leer	Osteozyten gefüllt	Osteoblasten aktiv	Osteoblasten inaktiv	Osteoklasten	Fibrozyten	neutroph. Gra- nulozyten	Lymphozyten	unklare Klassifi- kation	Kapillaren
[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00032211	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00007343	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000000237	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000005624	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00025264	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000006561	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000009982	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000054619	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,000022932
[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,3221137	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,07343503	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,000237576	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,005624836	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,25264049	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,006561753	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,009982059	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,054619129	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,022932792

**Tabelle 3:** Mittelwerte der Ergebnisse aus Tabelle 1 und 2

### Standardabweichung der Zellenanzahl pro Knochen / BG - Fläche Osteomyelitis

Osteozyten leer	Osteozyten gefüllt	Osteoblasten aktiv	Osteoblasten inaktiv	Osteoklasten	Fibrozyten	neutroph. Granulozyten	Lymphozyten	unklare Klassi- fikation	Kapillaren
[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00016335	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00027904	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,0001731	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00008116	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00000795	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00094668	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00011739	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00004137	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00015096	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00001372
[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,16335018	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,27904358	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,17310114	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,08116134	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,00795936	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,94667833	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,11738738	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,04137222	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,15096442	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,01372204

### Standardabweichung der Zellenanzahl pro Knochen / BG - Fläche Kontrolle

Osteozyten leer	Osteozyten gefüllt	Osteoblasten aktiv	Osteoblasten inaktiv	Osteoklasten	Fibrozyten	neutroph. Granulozyten	Lymphozyten	unklare Klassi- fikation	Kapillaren
[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00016747	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00008728	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00000044	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00000887	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00028524	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00000973	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00002579	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00004691	[1 / $\mu\text{m}^2$ ] 0,00002097
[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,16747335	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,08728762	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,00044691	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,00887594	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,28523742	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,00973767	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,02579422	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,04691311	[1 / $\text{mm}^2$ ] 0,02097737

**Tabelle 4:** Standardabweichung der Proben

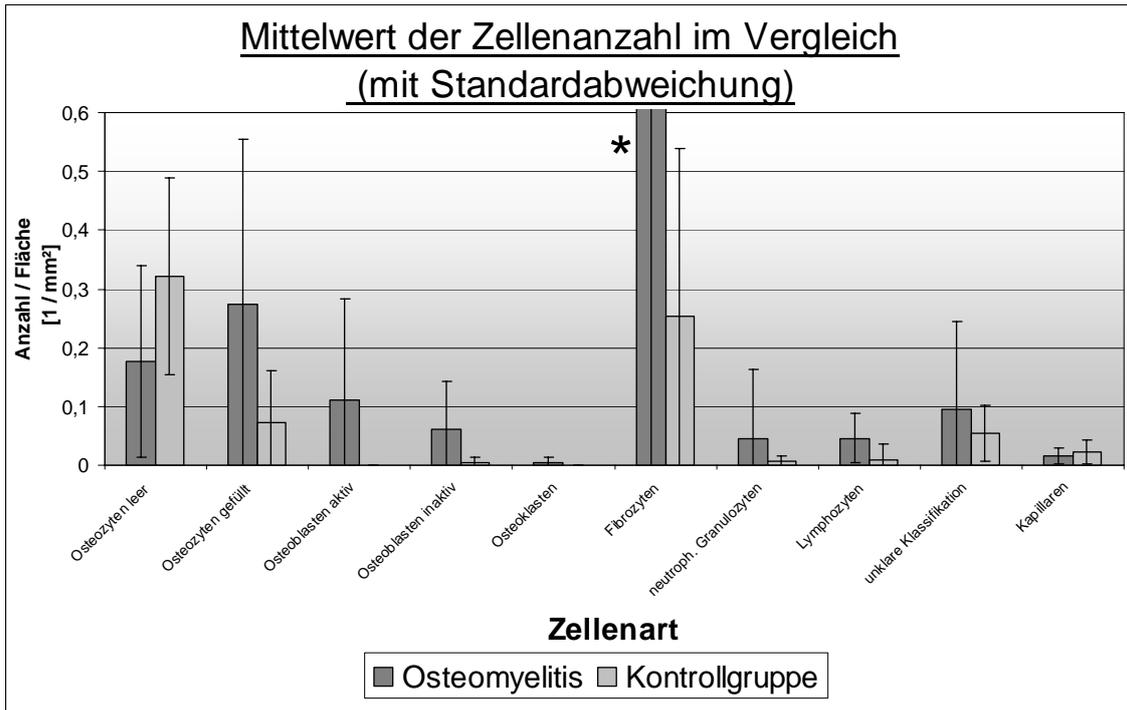
### Mittelwertabweichung der Zellenanzahl pro Knochen/ BG-Fläche Osteomyelitis

Osteozyten leer	Osteozyten gefüllt	Osteoblasten aktiv	Osteoblasten inaktiv	Osteoklasten	Fibrozyten	neutroph. Granulozyten	Lymphozyten	unklare Klassifikation	Kapillaren
[1 / $\mu\text{m}^2$ ]									
0,0001064	0,00021893	0,00012226	0,00005948	0,00000533	0,00070239	0,00006009	0,00003528	0,00010592	0,00001162
[1 / $\text{mm}^2$ ]									
0,10640037	0,21892521	0,12225667	0,05948188	0,00533598	0,70239253	0,06009361	0,03528241	0,10592399	0,01162772

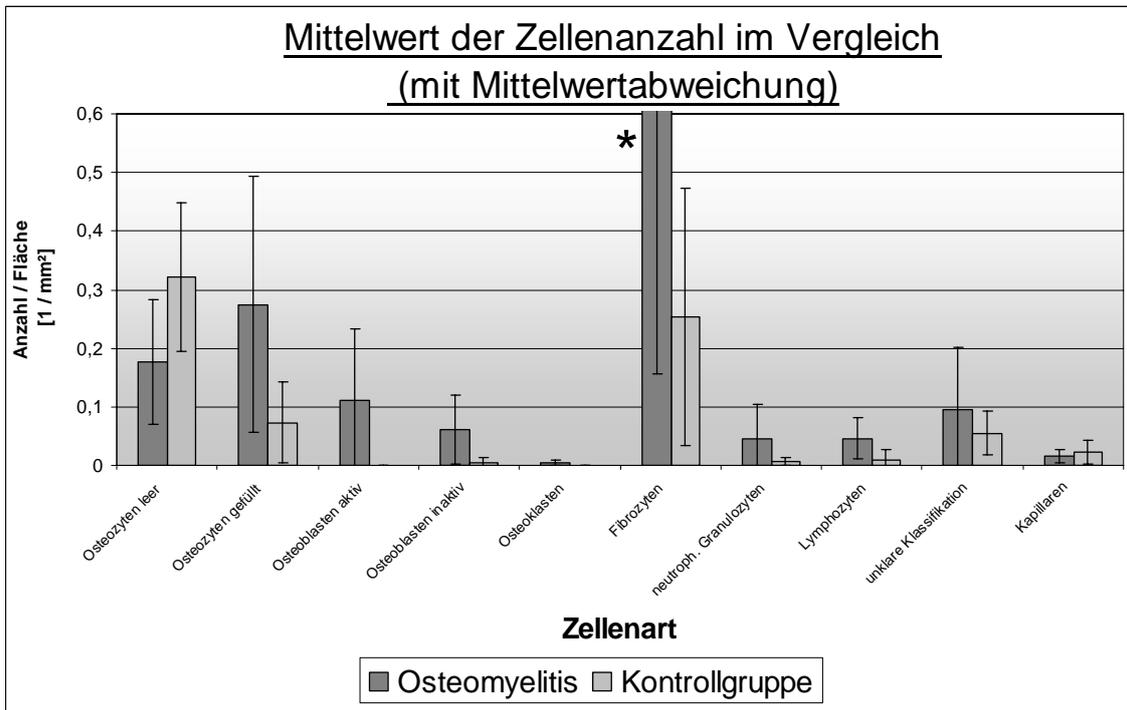
### Mittelwertabweichung der Zellenanzahl pro Knochen/ BG-Fläche Kontrolle

Osteozyten leer	Osteozyten gefüllt	Osteoblasten aktiv	Osteoblasten inaktiv	Osteoklasten	Fibrozyten	neutroph. Granulozyten	Lymphozyten	unklare Klassifikation	Kapillaren
[1 / $\mu\text{m}^2$ ]									
0,00012641	0,00006966	0,00000036	0,00000728	0	0,00021973	0,00000746	0,00001615	0,00003708	0,00001975
[1 / $\text{mm}^2$ ]									
0,12640915	0,0696648	0,00036956	0,00728803	0	0,21972957	0,00746881	0,016151597	0,03708007	0,01975194

**Tabelle 5:** Mittelwertabweichung der Proben



**Graphik 3:** Mittelwert der Zellanzahl im Vergleich (mit Standardabweichung)



**Graphik 4:** Mittelwert der Zellanzahl im Vergleich (mit Mittelwertabweichung)

\* Fibrozyten-Wert mit Standard- und Mittelwertabweichung wurde zur besseren Übersicht der anderen Werte nicht komplett dargestellt (vergleiche hierzu Tabelle 3 und 4)

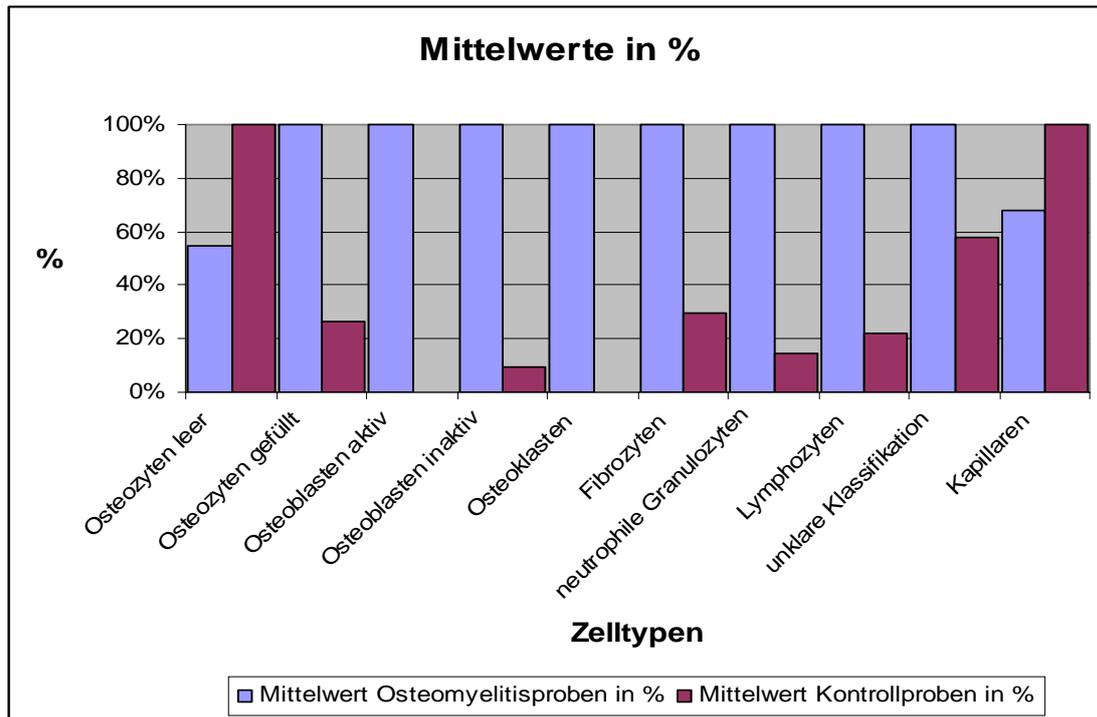
Um eine vereinfachte Anschauung zu erhalten, wurden die absoluten Zahlen mit 100 000 multipliziert ( $1/\text{dm}^2$ ) und mittels Prozentrechnung ins Verhältnis gesetzt (relativer Wert).

So wurde der jeweils größere Wert (Osteomyelitisprobe und Kontrolle) gleich 100 % gesetzt, der jeweils kleinere mittels Dreisatz zugeordnet.

Zum Vergleich ist **Tabelle 3** hinzuzuziehen.

	<b>Prozentverteilung der Zellen</b>			
	Osteomyelitisproben		Kontrollproben	
	[ $1/\mu\text{m}^2$ ] x100.000	% Wert	[ $1/\mu\text{m}^2$ ] x100.000	% Wert
Osteozyten leer	17,727	<b>55%</b>	32,221	<b>100%</b>
Osteozyten gefüllt	27,501	<b>100%</b>	7,343	<b>26,70%</b>
Osteoblasten aktiv	11,0337	<b>100%</b>	0,0237	<b>0,20%</b>
Osteoblasten inaktiv	6,1146	<b>100%</b>	0,5624	<b>9,20%</b>
Osteoklasten	0,4574	<b>100%</b>	0	<b>0%</b>
Fibrozyten	85,754	<b>100%</b>	25,264	<b>29,50%</b>
neutrophile Granulozyten	4,4645	<b>100%</b>	0,6561	<b>14,70%</b>
Lymphozyten	4,6028	<b>100%</b>	0,9982	<b>21,70%</b>
unklare Klassifikation	9,4539	<b>100%</b>	5,4619	<b>57,80%</b>
Kapillaren	1,5569	<b>67,90%</b>	2,2932	<b>100%</b>

**Tabelle 6:** Prozentverteilung der Zellen



**Graphik 5:** Mittelwerte in %

In der Graphik 5 erkennt man deutlich, dass auf 100% Osteozyten leer und Kapillaren der Kontrollproben, ca. 55%, bzw. 68% jener Zellen bei den Osteomyelitisproben entfällt.

Fast genau gegenteilig zeigt sich dies bei der Gruppe der unklaren Zellen, hier kommt auf 100% bei den Osteomyelitisproben ca. 58% bei den Kontrollen.

Hingegen ist bei den anderen untersuchten Zelltypen ein wesentlich größerer prozentualer Unterschied ersichtlich. So kommen auf 100% Osteozyten gefüllt bei den Osteomyelitisproben nur ca. 27% bei den Kontrollen. Ebenso verhält es sich bei den Fibrozyten. Auf 100% bei den Osteomyelitis Proben kommen ca. 30% bei den Kontrollen. Bei den Lymphozyten ist der Unterschied noch etwas größer, so kommen auf 100% bei den Krankproben ca. 22% bei den Gesunden. Es folgen die neutrophilen Granulozyten mit 100% bei den OM Proben zu ca. 15% bei den Gesunden; inaktive Osteoblasten stellen eine noch größere Differenz her, so dass auf 100% Osteomyelitis nur ca. 10% bei den Kontrollproben entfallen. Die größte Differenz stellen jedoch die Gruppen der aktiven Osteoblasten (100%:0,2%) und der Osteoklasten (100%:0%).

### **3.3.1 Zellenverteilung:**

Der zentrale Untersuchungspunkt war der Vergleich der Zellanzahl pro Knochen-, bzw. Bindegewebsfläche zwischen den Osteomyelitisproben und den gesunden Kontrollgruppen.

Beim Vergleich der Mittelwerte lässt sich ein Trend beschreiben.

Mit Ausnahme der leeren Osteozyten und der Kapillaren wurde in jeder untersuchten Zellgruppe ein deutliches Überwiegen der Zellanzahl bei den Osteomyelitisproben festgestellt.

### **3.3.2 Aktenanalyse:**

Die Auswertung der Akten in der Retrospektive war nicht ausreichend standardisiert, da sich in den untersuchten Anamnesebögen häufig nur stichpunktartige Beschreibungen verschiedener Verfasser finden lassen.

Dementsprechend beschreiben die Ergebnisse lediglich einen Trend.

Die Anzahl der präoperativ gemessenen Leukozytenzahl bewegt sich bei 18 dokumentierten Werten im Normbereich. Bei lediglich zwei Patienten kam es zu einer Erniedrigung der Werte, bei zwei Patienten zu einer Erhöhung. Bei 5 Patienten lagen keine Werte vor.

Der Mittelwert liegt bei 7,57 Zellen/ $\mu$ l, die Mittelwertabweichung beträgt 1,95 Zellen/ $\mu$ l und die Standardabweichung liegt bei 2,34 Zellen/ $\mu$ l.

## 4. Diskussion

### **Methodik**

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, in einer vergleichenden Darstellung die Zellanzahl und Zellverteilung bestimmter Zelltypen der menschlichen Mandibula bei Osteomyelitis und im gesunden Knochen zu untersuchen.

Dazu wurden Knochenproben histologisch aufbereitet und ausgewertet.

Die histomorphometrische Untersuchung eines bestimmten Organs oder Gewebes geht schon auf die Anfänge der Mikroskopie zurück.

Dabei hilft die histomorphometrische Untersuchung in Bezug auf die eindeutige Diagnosestellung, als auch für die Vorhersage eines Krankheitsverlaufs (61).

Es gibt verschiedene Methoden, Gewebe histomorphometrisch zu untersuchen und die Ergebnisse auszuwerten.

In der Studie von True (61) wird unter manueller, teilautomatischer, automatischer (mit Benutzerinteraktion) und voll automatischer Technik unterschieden. Im Bereich der quantitativen Auswertung der Zellen wird auf die manuelle Methode verwiesen, da dies effizient und systematisch durchführbar ist. Es sollte in jedem Fall die Technik gewählt werden, die die maximale Effizienz mit der minimalsten Variabilität kombiniert.

Eine Untersuchung von de Vernejoul (15) zur Reproduzierbarkeit von histomorphometrischen Untersuchungen am Knochen, kam zu keinen Unterschieden in den Ergebnissen, unabhängig, wer die Histomorphometrie durchführte, bzw. wie die Untersuchung durchgeführt worden war.

Die pathologisch veränderte mikroskopische Anatomie kommt im histologischen Präparat direkt zur Darstellung und ist standardisiert und reproduzierbar quantifizierbar. Damit ist die Aussagekraft der gefundenen Ergebnisse sehr groß.

Die Untersuchung selbst ist völlig unabhängig von der Person des Patienten, da nur dessen Gewebe untersucht wird.

Durch die Möglichkeit des Archivierens der Präparate ist auch retrospektiv ein interindividueller Vergleich verschiedener Präparate möglich.

Nachteilig ist jedoch, dass zur Untersuchung grundsätzlich eine Knochenprobe gewonnen werden muss.

Die histomorphometrische Untersuchung stellt ein sehr präzises, jedoch aufwendiges Verfahren dar, Gewebe und deren Erkrankungen besser verstehen zu lernen. Die Verarbeitung der Knochenproben erfordert tagelange, wenn nicht sogar wochenlange Bearbeitungszeiten des Knochens, bevor eine histomorphometrische Untersuchung erfolgen kann.

Bei der Untersuchung von Weichgeweben ist die Histologie, bzw. Immunhistochemie ein gängiges Verfahren. In kalzifizierten Geweben wie dem Knochen ergeben sich allerdings bei der Aufbereitung der Proben einige Schwierigkeiten. Der erste Schritt auf dem Weg vom lebenden Gewebe zum histologischen Präparat ist die Fixierung des Gewebes. Dazu bedient man sich in der Regel des Paraformaldehyds.

Während das Paraformaldehyd ohne Schwierigkeiten in Weichgewebe diffundiert, scheint eine schnelle und gleichmäßige Verteilung im Knochengewebe nicht selbstverständlich zu sein. Um eine gleichmäßigere Aufnahme in den Knochen zu gewährleisten, ist in Tierversuchen eine in-vivo Fixierung durchführbar, indem das Paraformaldehyd intracardial appliziert wird (8, 56).

Bjurholm (8) verglich die immunhistochemische Anfärbbarkeit von mit Paraformaldehyd perfundiertem Knochen mit Knochengewebe, das lediglich in die Fixierlösung eingetaucht worden war. Dabei stellte sich heraus, dass sich die gesuchten Strukturen in perfundiertem Knochen intensiver angefärbt darstellten. Es handelte sich bei dieser Arbeit um den Nachweis von Neuropeptiden in Knochengewebe.

Weichgewebe werden nach dem Fixieren in ein Medium eingebettet, welches ein weiteres Bearbeiten und, falls notwendig, ein dauerhaftes Lagern des Präparates ermöglicht.

Damit fixierte Knochenproben geschnitten werden können, um eine histologische Untersuchung erst zu ermöglichen, müssen sie vor dem Einbetten zu-

nächst demineralisiert werden. Für diesen Entkalkungsprozess gibt es eine Vielzahl von Möglichkeiten.

Die für die Entkalkung vorgeschlagenen Lösungen unterscheiden sich auf Grund ihrer chemischen Zusammensetzung und der damit verbundenen Wirkung auf das Gewebe zum Teil deutlich. Zum einen durch die notwendige Einwirkungszeit, auf der anderen Seite hinsichtlich der Aggressivität auch den organischen Bestandteilen des Gewebes gegenüber.

Bjurholm (8) testete vor einer immunhistochemischen Anfärbung vier Entkalkungsverfahren auf EDTA-Basis, denen die Knochenpräparate 21 Tage lang ausgesetzt waren. Die beste Anfärbbarkeit zeigten Präparate, die mit einer sog. EDTA-Kakodylat-Lösung entkalkt worden waren.

In neueren Verfahren, wie z. B. Hillman (26) beschrieb, wurden die Präparate nach der Fixierung mit Paraformaldehyd ohne Demineralisierung direkt in ein Methacrylat eingebettet. Anschließend wurden 100 µm dicke Schnitte hergestellt, die mit einer Schleifmaschine auf eine Dicke von 10 µm reduziert wurden und so mikroskopierbar waren.

In der vorliegenden Studie wurden Knochenpräparate histomorphometrisch bearbeitet und untersucht, die in den Jahren 1998-2001 im Gerhard Domagk Institut für Pathologie der Universität Münster begutachtet worden waren. Nach der Fixierung in 4%iger Formalin-Lösung wurden sie in EDTA-Lösung demineralisiert und in Paraffin eingebettet.

Dieser Ablauf stellt das Routineverfahren dar, mit dem Knochengewebe zur histologischen Begutachtung vorbereitet wird. Anschließend wurden die histologischen Präparate geschnitten und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Die sehr guten Färbeergebnisse, die Bjurholm (8) an Knochen beschrieb, der 21 Tage lang in einer EDTA-Lösung entkalkt wurde, geben einen Anhalt für die Relevanz einer schonenden Demineralisation.

Das im Rahmen unserer Untersuchung erfolgte Zählen der Zellen ist einer der primären histomorphometrischen Indizes. Etwaige Schwierigkeiten bei der

Auswertung können zum einen in der eindeutigen Identifizierung der Zellen, bei z.B. sich überlappenden Zellkernen, zum anderen in der Einstellung der mikroskopischen Vergrößerung selbst liegen.

Olah (45) stellte bereits 1980 den Zusammenhang zwischen den Resultaten einer histomorphometrischen Untersuchung und dem eingestellten Vergrößerungsfaktor des Mikroskops dar. Er untersuchte dies am Os ilii und bestimmte die Oberflächendichte und die zellbezogenen Parameter zwischen 25- facher und 400- facher Vergrößerung. Dabei stellte er fest, dass die Oberflächendichte der Osteoidsäume, der Trabekel und der Howshipschen Lakunen signifikant mit der Vergrößerung stiegen, dieses jedoch deutlicher in der Zunahme der kleineren Vergrößerungsschritte stattfand. Das gleiche galt für die zellbezogenen Parameter. Zuvor war man davon ausgegangen, dass z.B. die Bestimmung der Zellen, unabhängig vom Vergrößerungsfaktor ist. Es lagen aber bereits in den siebziger Jahren Studien vor, dass die Veränderung des Vergrößerungsfaktors die Ergebnisse von histomorphometrischen Untersuchungen signifikant verändert. 1976 wurde dies an den Interaveolarsepten der Lunge von Gehr (20) und 1975 von Keller (30) dargestellt. Für die Trabekeloberfläche des spongiösen Knochen des Os ilii konnte Olah (44) dies 1977 aufzeigen.

In der Studie von Olah (45) von 1980 wurde jedoch deutlich klargestellt, dass die unterschiedlichen Knochenzellen auf Grund ihrer Anfärbbarkeit, ihrer Lage zum Knochen und ihrer Zellmorphologie auch bei geringeren Vergrößerungen eindeutig zu bestimmen sind.

Hierbei liegt die größte Schwierigkeit in der eindeutigen Identifizierung der Zellen unter dem Lichtmikroskop. Die Bestimmung der Zellen kann sich zum einen durch die sich überlappenden Zellwände, bzw. deren Anschnitt erschweren. Zum anderen kann die relative Unschärfe der Präparate bei der Auswertung, die sich durch die in einer Schnittebene befindlichen unterschiedlichen Zellebenen ergeben, Probleme bereiten.

Dies ist optisch nur durch ein unterschiedliches Fokussieren zu umgehen (17).

In unserer Untersuchung wurden die nicht eindeutig zu identifizierenden Zellen darüber hinaus in der Gruppe der „unklaren Zellen“ berücksichtigt, dadurch

kann auch eine klare Aussage bei einer 16-fach starken Vergrößerung wie in diesem Fall getätigt werden. Dieses Messergebnis wurde in der statistischen Auswertung mit berücksichtigt.

Alternativ wird in der Literatur auch beschrieben, dass man bei histomorphometrischen Untersuchungen die relative Unschärfe und die damit verbundene fast unmögliche eindeutige Zuordnung einzelner Zellen zu bestimmten Zellgruppen mit Hilfe einer Berechnungsformel in die Auswertung einbeziehen kann (43).

Darüber hinaus wurde in dieser Untersuchung einem, vom Zähler der Zellen abhängigen Falschergebnis mittels der Kontrollzählungen eines zweiten unabhängigen Zählers vorgebeugt.

Die Ergebnisse der Altersverteilung stimmen in etwa mit den Ergebnissen von Feifel, Friebel und Riediger (19) überein, bei denen das durchschnittliche Erkrankungsalter mit 45,4 Jahren angegeben wurde. Dagegen lag das durchschnittliche Erkrankungsalter in einer Studie von Polansky (50) bei 39 Jahren. In der Dissertation von Meier (39) von 1999 an der Uniklinik Münster, die einen Untersuchungszeitraum von 1985-1991 umfasste, betrug das Durchschnittsalter der Männer 39, der Frauen 53 Jahre. In unserer Untersuchung lag das Durchschnittsalter bei ca. 53 Jahren, wobei kein Unterschied zwischen dem Durchschnittsalter der Geschlechter vorgenommen wurde. Der prozentual höhere Anteil an Patienten über dem 40. Lebensjahr könnte auf die schlechtere Durchblutungssituation der Kiefer mit zunehmendem Alter zurückzuführen sein.

Wie alle Organe und Organsysteme ist auch der Knochen und mit ihm das Gefäßsystem und die Zellen des Kiefers einem Alterungsprozess unterworfen. In der Literatur herrscht keine Klarheit darüber, ob ein Unterschied in der Durchblutung und der Zellanzahl, bzw. – verteilung bei verschiedenen Altersgruppen quantifizierbar ist.

Bei Untersuchungen der Blutgefäße bei gerade verstorbenen Patienten zwischen 18 und 92 Jahren beispielsweise, konnten keine Unterschiede der Gefäßdurchmesser und/oder der Gefäßlumina entdeckt werden. Haesman und Adamson (23) schlossen daraus in ihrer 1987 veröffentlichten Untersuchung,

dass die Blutversorgung des Unterkiefers mit zunehmendem Alter konstant bleibt, was für die Versorgung des Knochens mit Immunzellen von entscheidender Bedeutung ist.

## Auswertung

Die Auszählung der verschiedenen Zellarten ergab einen eindeutigen Trend. Danach lässt sich feststellen, dass in den Knochenpräparaten der Kontrollgruppe gesunder Patienten mehr Kapillaren und leere Osteozytenhöhlen zu finden waren als bei den Osteomyelitis Patienten. Alle anderen untersuchten Zellarten überwogen bei den Osteomyelitis Patienten.

Dieses Ergebnis mag gerade in Bezug auf die Kapillarenanzahl überraschen. Bereits 1991 untersuchten Wannfors und Gazelius (65) den Blutfluss in an Osteomyelitis erkrankten Kieferknochen. Zur Bestimmung des Blutflusses wurde die Laser Doppler Flowmetry (LDF) angewandt und dann mit der gesunden Kieferseite verglichen. Zuvor wurde ausgeschlossen, dass die untersuchten Patienten bereits zuvor an einer vaskulären Erkrankung gelitten haben. Dabei wurde ein signifikant reduzierter Blutfluss während der nicht aktiven Entzündungsphase und ein zunehmender Blutfluss bei beginnender, bzw. akuter entzündlicher Phase festgestellt. Dies lässt den Schluss zu, dass eine lange vorhandene Entzündung mit einer bestehenden Reduktion der Durchblutung einhergeht, was wiederum eine geschwächte nutritive Versorgung des Knochens zur Folge hat.

In der Arbeit von Rottke (55) 2002 fand sich ein vergleichbares Ergebnis. Dort wurde die Durchblutung von 48 Unterkieferknochenpräparaten mittels Endothelanfärbung mit Anti- von Willebrand Faktor untersucht. Die Präparate von Patienten mit symptomatischer Osteomyelitis zeigten eine signifikant höhere Gefäßdichte als die gesunden Vergleichsknochenproben.

Interessant ist in diesem Zusammenhang sicherlich, dass in diese Studie nur Kapillaren mit gleich, bzw. weniger drei Endothelzellen eingegangen sind. So wurden angeschnittene Blutgefäße, bzw. Kapillaren mit mehr Endothelzellen nicht berücksichtigt. Auf diese Weise wurde jedoch gewährleistet, dass nur eindeutig zu identifizierende Kapillaren in die Auswertung einbezogen wurden.

Wir gingen davon aus, dass die größeren Gefäße bereits vor Beginn der Erkrankung das Gebiet versorgten und nur kleine bis kleinste Gefäße eine Neueinsprossung darstellten. Darüber hinaus ist insbesondere die Einsprossung von Kapillaren in die Gewebe, eine aussagekräftige Kenngröße für Entzündungsreaktionen.

Die Auswertung der Anamnesebögen, in Hinblick auf aussagekräftige Daten des Krankheitsverlaufs, belegt, dass die große Mehrzahl der untersuchten Patienten in unserer Studie an einer chronischen Osteomyelitis litt. Dies erklärt auch die bessere Durchblutung der gesunden Vergleichsproben

Das häufigere Auffinden von leeren Osteozytenhöhlen bei den gesunden Vergleichsproben lässt sich zum Einen durch das Abschwimmen der Osteozyten bei der Probenverarbeitung erklären, zum anderen kann es seine Ursache im Alter der Probenspender haben. Bereits 1973 untersuchte Delling (13) altersbedingte Knochenveränderungen. Unter anderem stellte er damals dar, dass mit zunehmendem Alter vermehrt Osteozytenhöhlen leer liegen.

In unserer Studie konnte ein größerer Anteil an Lymphozyten als in den gesunden Vergleichsproben gemessen werden. Dies erklärt sich ebenfalls durch die Untersuchung von Proben chronisch erkrankter Patienten.

In einer Untersuchung von Paukov (47) konnte ebenfalls eine Zunahme der T-Lymphozyten und deren Aktivität festgestellt werden. Im Gegensatz dazu konnte in einer Untersuchung von Bohm und Josten (9) eine Verringerung der absoluten T-Lymphozytenzahl bei der chronischen Osteomyelitis festgestellt werden. Dabei war eine Abnahme der T-Helferzellen mit einer Zunahme der T-Suppressorzellen festzustellen. Yoon (66) fand heraus, dass die Enterotoxine der Staphylokokken die T-Zellen erschöpfen.

Hierholzer und Hierholzer (25) untersuchten 1979 die Phagozytenaktivität bei Patienten mit akuter und chronischer post-traumatischer Osteomyelitis mit Hilfe von zwei in vitro Tests. Dabei stellten sie fest, dass sowohl die Monozyten, als auch die makrophagenabhängige Phagozytenaktivität vermindert waren. Bei Patienten mit einer akuten Verlaufsform war dies nicht der Fall. Dies stützt die

Annahme, dass die Funktionsbeeinträchtigung der Phagozyten kein angeborener, sondern ein während des Übergangs von der akuten zur chronischen Entzündung erworbener Defekt ist. Dieses Ergebnis lässt den Schluss vermuten, dass Phagozyten durch einen während der chronischen Infektion erworbenen veränderten Zellmetabolismus in ihrer Funktion vermindert sind.

Im Rahmen unserer Untersuchung stellten wir fest, dass der Anteil an neutrophilen Granulozyten der Osteomyelitisproben höher war, als in den gesunden Vergleichsproben. Ebenso war ein höherer Anteil an Fibrozyten und Osteoklasten festzustellen als bei den zum Vergleich herangezogenen gesunden Knochenproben. Dies deutet auf ein chronisches Krankheitsstadium hin und stimmt mit der in den letzten Jahrzehnten vermerkten Rückläufigkeit der akuten Osteomyelitisfälle hin zur Chronifizierung der Erkrankung überein.

Die Zahl der gefüllten Osteozyten war in unserer Untersuchung größer als bei den gesunden Vergleichsproben. Es ist aber festzustellen, dass die trabekuläre Knochenmasse signifikant mit zunehmendem Alter abnimmt (21, 14). So ist fraglich, ob in diesem Fall eine eindeutige Aussage im Vergleich Osteomyelitispatienten und gesunde Vergleichsproben getätigt werden kann.

In unserer Untersuchung war ein Anstieg der Osteoblasten zu verzeichnen.

Torholm (60) stellte bei der chronischen Osteomyelitis mit dem klinischen Symptom des Schmerzes ebenfalls eine Zunahme der Osteoblastenaktivität fest. Diese kann durch die Behandlung mit nichtsteroidalen Antiphlogistika behandelt werden.

In einer Studie von Pesanti und Lorenzo (48), in der die Osteoklasten und die Effekte von Interleukin 4 in der Entstehung der chronischen Osteomyelitis untersucht wurden, konnte eine deutlich gesteigerte Osteoklastenaktivität nachgewiesen werden. So konnte nach einem sterilen Trauma in einem Tierversuch der komplette Abbau des toten Knochens innerhalb einer Woche festgestellt werden. Bei Tieren mit einer darüberliegenden Infektion, hatten die Osteoklasten die Funktion einer „Entzündungsantwort“, mit verstärkter Aktivität an den Rändern der betroffenen Seite. Dort konnte trotz der nachgewiesenen verstärkten Aktivität der Osteoklasten keine Resorption der knöchernen Fragmente nachgewiesen werden. Es entwickelte sich Sequester und der neue Knochen

wurde über dem morphologisch toten Knochen gebildet. In unserer Untersuchung konnte ebenfalls eine höhere Osteoklastenzahl als in der gesunden Vergleichsgruppe dargestellt werden. Melsen (40) veröffentlichte 1978 in seiner Studie, dass die Knochenresorption altersunabhängig ist.

Ein Versuch, die Zellanzahl und -verteilung mit der Häufigkeit oder Art der Erkrankungsursache, bzw. der Leukozytenzahl präoperativ zu korrelieren, wurde nicht unternommen. Dazu schien das Anamneseverfahren nicht ausreichend standardisiert. Hier zeigt sich der Nachteil der retrospektiven Erhebung. Dahin gehend interessant wäre sicherlich die Fragestellung gewesen, ob die eruierbare Krankheitsursache für den zellulären Verlauf der Erkrankung eine Rolle spielt, bzw. wie sich die Leukozytenzahlen prä- und postoperativ verändern.

Die vorliegende Untersuchung kommt also zu zwei wesentlichen Erkenntnissen:

Bei der chronischen Osteomyelitis liegt eine vermehrte Anzahl an Osteozyten, Osteoblasten, Osteoklasten und Immunzellen (spezifisch und unspezifisch) vor. Im Rahmen der Kapillarverteilung und Anzahl, als auch der leeren Osteozytenhöhlen überwiegen jedoch die gesunden Vergleichsproben.

Als Konsequenz für die Therapie einer chronischen Osteomyelitis lassen sich verschiedene Überlegungen anstellen.

So wurde in unserer Studie allein eine quantitative Aussage getroffen, wo hingegen keine Untersuchung der qualitativen Funktion der Zellen stattfand.

In Hinblick hierauf sind verschiedene Studien angefertigt worden, die zum Teil Ideen der 30er Jahre wieder aufgreifen, die sich mit der Rolle der immunologischen Reaktion bei der chronischen Knocheninfektion befassen und sogar ein immunotherapeutisches Eingreifen befürworten (10, 54). Durch die Entdeckung der Antibiotika gerieten diese Überlegungen jedoch wieder in Vergessenheit.

1975 untersuchte Lob (35) 80 an chronischer Osteomyelitis erkrankte Patienten, wobei 50% eine hypoaktive und 50% eine hyperaktive Immunantwort aufwiesen. Als Seifert (58) 1977 36 Patienten mit chronischer post-traumatischer

Osteomyelitis der langen Röhrenknochen untersuchte, stellte er bei einigen Probanden eine übertriebene humorale, bei einigen eine übertriebene zelluläre, bei anderen eine verminderte gesamte Immunantwort und bei einigen eine normale Antwort fest. Die meisten dieser Untersuchungen wurden jedoch bei Patienten durchgeführt, die Osteomyelitis an anderen Knochen als den Kieferknochen aufwiesen.

In einer Studie aus dem Jahr 1983 von Malström, Fyhrquist, Kosunen und Tasanen (38), in der die immunologischen Merkmale bzw. Besonderheiten der chronischen, sklerosierenden Unterkieferosteomyelitis untersucht wurden, konnte lediglich eine verstärkte Chemokinesis der neutrophilen Granulozyten nachgewiesen werden. Die phagozytierenden Eigenschaften waren normal. Die meisten der untersuchten Patienten wiesen eine hyperaktive humorale Immunantwort auf.

Ebenfalls im Jahr 1983 stellte Antalovská (3) bei der Untersuchung der Wirkung der unspezifischen Immunotherapie bei der sklerotisierenden Kieferosteomyelitis einen signifikanten Anstieg der T-Lymphozyten Werte und der Aktivität des phagozytären Systems fest. Dabei zeigte sich, dass die unspezifische Immunotherapie den klinischen Verlauf günstig beeinflusste.

Bereits 1974 berichtete Govallo (22) bei der Unterkieferosteomyelitis von einer verstärkten humoralen und zellulären Antwort.

Jacobsson and Hollender (29) behandelten Patienten mit chronischer, sklerosierender Osteomyelitis des Unterkiefers mit gutem Erfolg mit Immunsuppressiva. Dies könnte indirekt darauf hinweisen, dass auch hier ein hyperaktives Immunsystem vorlag. Allerdings ist auch bekannt, dass die Wirkung von Steroiden auf einen entzündlichen Prozess völlig unspezifisch sein kann.

So wäre also eine gezielte Untersuchung der Immunsituation des Patienten in Hinblick auf die Qualität der Immunzellen wünschenswert.

## **5. Zusammenfassung**

Gegenstand dieser Arbeit war die quantitative Erfassung und Untersuchung der Entzündungszellen, die im Rahmen einer Osteomyelitiserkrankung der Kiefer auftreten. Trotz des rückläufigen Auftretens der akuten Krankheitsformen, erscheint dies v. a. im Hinblick auf die noch immer Schwierigkeiten bereitende Diagnose und Therapie der Erkrankung sowohl für den Erkrankten, als auch den Behandler von ungeheurer Wichtigkeit.

Da die Entzündungszellen und die Durchblutung bei einer Entzündungsreaktion und ihrer Heilung die zentrale Rolle spielen, wurde in Proben von osteomyelitisch veränderten Unterkieferknochen die Anzahl der Zellen und Kapillaren pro Flächeneinheit gemessen.

Um die Unterschiede zwischen erkranktem und gesundem Gewebe herauszuarbeiten, wurden zum Vergleich Proben von gesundem Knochen herangezogen.

27 Patientenproben mit einer histologisch gesicherten Osteomyelitis und 9 Vergleichsproben wurden formalinfixiert, in Paraffin eingebettet und geschnitten. Anschließend wurden die Präparate fotografiert. Die Bilder wurden am Computer durch Auszählen der Zellen und Kapillaren pro definierte Fläche quantitativ ausgewertet.

Dabei zeigte sich, dass bei der chronischen Osteomyelitis eine vermehrte Anzahl an Osteozyten, Osteoblasten, Osteoklasten und Immunzellen (spezifisch und unspezifisch) vorliegen. Die Kapillaranzahl und die Zahl der leeren Osteozytenhöhlen überwiegen jedoch in den gesunden Vergleichsproben.

## **6. Literaturverzeichnis**

- 01. Adekeye, E. O.,** Cornah, J.: Osteomyelitis of the jaw: A review of 141 cases. British Journal of oral and maxillofacial surgery 23: 24-35 (1985)
- 02. Andrä, A.:** Osteomyelitis der Kieferknochen. In: Andrä, A.; Naumann, G.: Odontogene pyogene Infektionen, 1. Aufl. J. A. Barth, Leipzig: 169 (1991)
- 03. Antalovská, Z.,** Bartáková, V., Chýlková, V., Procházková, J., Turková, M., Opravilová, H., Skalská, H.: Ergebnisse der unspezifischen Immunotherapie bei den sklerotisieren den Kieferosteomyelitiden. Zahn-, Mund- und Kieferheilkd. 71: 810-819 (1983)
- 04. Asseri, L.,** Nguvumali, H. I., Matee, M. I., Chindia, M. L.: Chronic osteomyelitis of the mandible following tooth extraction in HIV infection. Oral Dis 3 (3): 193-195 (1997)
- 05. Balan, E.- H.:** Entzündliche Komplikationen bei der chirurgischen Dysgnathiebehandlung nach sagittaler retromolarer Osteotomie im aufsteigenden Unterkieferast, in Pfeiffer, G., N. Schwenzer: Fortschritte der Kiefer- und Gesichtschirurgie, Bd. XXIX. Thieme, Stuttgart: 63 ( 1984)
- 06. Bartkowski, S. B.,** Zapala, J., Heczko, P., Szuta, M.: Actinomycotic osteomyelitis of the mandible: review of 15 cases. J Craniomaxillofac Surg 26: 63-67 (1998)
- 07. Bernier, S.,** Clermont, S., Maranda, G., Turcotte, J. Y.: Osteomyelitis of the jaws. J Can Dent Assoc 61: 441-448 (1995)
- 08. Bjurholm, A.,** Kricbergs, A., Schultzberg, M.: Fixation and demineralisation of bone tissue for immunohistochemical staining of neuropeptides. Calcif Tissue Int 45 (4): 227-231 (1989)

- 09. Bohm, E.,** Josten, C.: What's new in exogenous osteomyelitis? Pathol Res Pract 188: 254-258 (1992)
- 10. Burri, C.:** Posttraumatische Osteitis, Huber, Bern 1974
- 11. Calhoun, K. H.,** Shapiro, R. D., Stiernberg, C. M., Calhoun, J.H., Mader, J. T.: Osteomyelitis of the mandible. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 114: 1157-1162 (1988)
- 12. Cierny, G.,** Mader, J. T., Pennick, J. J.: A clinical staging system for osteomyelitis. Contemp Orthop 10: 17 (1985)
- 13. Delling, G.:** Age- related bone changes. In Current topics in pathology von E. Grundmann u. W.H. Kirsten. Volume 58: 117-143 (1973)
- 14. Delling, G.:** Endokrine Osteopathien. Thesis, Gustav Fischer Verlag, 1975
- 15. De Vernejoul, M. C.,** Kuntz, D., Miravet, L., Goutallier, D., Ryckewaert, A.: Bone histomorphometric reproducibility in normal patients. Calcif Tissue Int. 33 (4): 369-74 (1981)
- 16. Ehrenfeld, M.,** Winter, W.: Entzündungen des Knochens. In: Schwenzen, N., Ehrenfeld, M.(Hrsg.): Allgemeine Chirurgie, Bd.1, Thieme, Stuttgart, New York: 193-214 (2000)
- 17. Eriksen, E. F.,** Axelrod, D. W., Melsen, F.: Bone Histomorphometry, Raven Press, New York: 39-41 (1994)
- 18. Ewers, R.,** Scharf, F., Duker, J., Pohle, W.: Diagnose, Verlaufskontrolle und Transplantateminierung mit Hilfe des 99mTC- Phosphamat- Knochenscans, 58. Röntgenkongress, Münster : 914-918 (1978)

- 19. Feifel, H.,** Friebel, S., Riediger, D.: Verlauf und Therapie der Osteomyelitis des Gesichtsschädels. Dtsch Zahnärztl Z 52: 691-693 (1997)
- 20. Gehr, P.,** Keller, H. J., Weibel, E. R.: Effects of optical resolution on the estimation of stereological parameters. Proc. Vith Europ. Congr. Electr. Micr., Jerusalem: 151-152 (1976)
- 21. Giroux, J. - M.,** Coupron, P., Meunier, P.: Histomorphometrie de osteopenie physiologique senile. Thesis, Lyon, 1975
- 22. Govallo, V. I.,** Kaplan, A. V., Grigorieva, M. P., Ushakova, O. A., Shelepina, T. A., Frolova, L. M.: Approaches of study of reactivity in patients with chronic osteomyelitis. Ortop. Travmatol. Protez. 6: 41-43 (1974)
- 23. Haesman, P. A.,** Adamson, J.: An investigation of possible age- related changes in the inferior alveolar artery in man. Br J Oral Maxillofac Surg 25 (5): 406-409 (1987)
- 24. Handschel, J.,** Kleinheinz, J., Ahrberg, W., Joos, U.: Chronische Kieferosteomyelitis nach Zahnextraktion. Der freie Zahnarzt (3): 56-60 (1998)
- 25. Hierholzer, S.,** Hierholzer, G.: Untersuchungen zur Leistung phagozytischer Zellen bei Patienten mit posttraumatischer Osteomyelitis. Unfallheilkunde 82: 192-199 (1979)
- 26. Hillmann, G.,** Hillmann, B., Donath, K.: Enzyme, lectin and immunohistochemistry of plastic embedded undecalcified bone and other hard tissues for light microscopic investigations. Biotech Histochem 66 (4): 185–193 (1991)
- 27. Hovi, L.,** Saarinen, U. M., Donner, U., Lindquist, C.: Opportunistic osteomyelitis in the jaws of children on immunosuppressive chemotherapy. J Pediatr Hematol Oncol. 18 (1): 90-94

- 28. Hudson, J. W.:** Osteomyelitis of the jaws: a 50- year perspective. J Oral Maxillofac Surg 51: 1294-1301 (1993)
- 29. Jacobsson, S.,** Hollender, L.: Treatment and prognosis of diffuse sclerosing osteomyelitis (DSO) of the mandible. Oral Surg. 49: 7-14 (1980)
- 30. Keller, H. J.,** Friedli, H. P., Gehr, P., Bachofen, M., Weibel, E. R.: The effects of resolution on estimating stereological parameters. Proc. IVth Int. Congr. Stereol.: 409, Washington (1975)
- 31. Kindwall, E. P.,** Gottlieb, L. J., Larson, D. L.: Hyperbaric oxygen therapy in plastic surgery: a review article. Plast Reconstr Surg 88: 898- 902 (1991)
- 32. Koorbusch, G. F.,** Fotos, P., Goll, K. T.: Retrospective assessment of osteomyelitis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 74: 149- 152 (1992)
- 33. Korner, T.,** Kreuzsch, T., Bohuslavizki, K. H., Brinkmann, G., Kohnlein, S.: Magnetresonanztomographie vs. 3- Phasen- Skelettszintigraphie bei der Diagnostik und Verlaufskontrolle der Unterkieferosteomyelitis. Mund Kiefer Gesichtschir 1 (6): 324- 327 (1997)
- 34. Leonhardt, H.:** Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen, Thieme Verlag Stuttgart: 158-160 (1990)
- 35. Lob, G.,** Ring, J., Seifert, J., Probst, J., Brendel, W.: Immunologische Reaktionen bei Patienten mit Chronischer post-traumatischer Osteomyelitis. Munch. Wschr. 117: 417 (1975)
- 36. Luhr, H. G.,** Ehrmann, G.: Differentialdiagnose und Therapie der chronischen Unterkieferosteomyelitis. Dtsch Zahnärztl Z 31: 787 (1976)

- 37. Machtens, E.:** Spezielle Infektionslehre. In PDZ-Reihe, Zahnärztliche Chirurgie, Bd. 9, Urban- Schwarzenberg, München- Wien- Baltimore: 151-158 (1995)
- 38. Malmström, M.,** Fyhrquist, F., Kosunen, T. U., Tasanen, A.: Immunological features of patients with chronic sclerosing osteomyelitis of the mandible. *Int. J. Oral Surg.* 12: 6-13 (1983)
- 39. Meier, H.:** Die Osteomyelitis des Kiefers- eine retrospektive Analyse, Dissertation, Münster 1999
- 40. Melsen, F.,** Melsen, B., Mosekilde, L., Bergmann, S.: Histomorphometric analysis of normal bone from the iliac crest. *Acta path. Microbial. Scand. Sect. A* 86: 70-81 (1978)
- 41. Morgenroth, K.,** Bremerich, A., Lange, D. E.: Pathologie der Mundhöhle, Thieme, Stuttgart: 49-53 (1996)
- 42. Mowlem, R.:** Osteomyelitis of the jaw. *Proc Roy Soc Med* 38452 (1945)
- 43. Oberholzer, M.:** Morphometrie in der klinischen Pathologie, Springer, Berlin (1983)
- 44. Olah, A. J.:** Influence of microscop resolution on the estimation of structural parameters in cancellous bone. In: P. J. Meunier (Hrsg.): Bone histomorphometry. Armour Montagu, Paris (1977)
- 45. Olah, A. J.:** Effects of microscopic resolution on histomorphometrical estimates of structural and remodelling parameters in cancellous bone. *Pathol Res Pract* 166: 312-322 (1980)

- 46. Parfitt, A. M.,** Drezner, M. K., Glorieux, F. H., Kanis, J. A., Malluche, H., Meunier, P. J., Ott, S. M., Recker, R. R.: Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols and units. *J Bone Miner. Res.* 2: 595-610 (1987)
- 47. Paukov, V. S.,** Gortishev, V. K., Ermakova, N. G., Shkrob, L. O., Shalchko, L. P. : Immunopathology and morphology of chronic inflammation. *Arkh Patol* 58:28-33 (1996)
- 48. Pesanti, E. L.,** Lorenzo, J .A.: Osteoclasts and effects of interleukin 4 in development of chronic osteomyelitis. *Clin Orthop* 355: 290-299 (1998)
- 49. Podlesh, S. W.,** Boyden, D. K.: Diagnosis of acute bone/ bone marrows infarction of the mandible in sickle hemoglobinopathy. Report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 81: 547-549 (1996)
- 50. Polansky, R. A.,** Kärcher, H.: Osteomyelitis im Unterkiefer. *Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir* 17: 135-138 (1993)
- 51. Reinert, S.,** Fürst, G., Lentrodt, J., Mödder, U., Vosberg, H.: Die Wertigkeit der Kernspintomographie in der Diagnostik der Unterkiefer- Osteomyelitis. *Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir* 19: 15-18 (1995)
- 52. Riede, U. N.:** Entzündungspathologie. In: Riede U. N. und Wehner H. (Hrsg.): *Allgemeine und spezielle Pathologie*. Thieme, Stuttgart, New York (1986)
- 53. Riediger, D.,** Schmelzle, R., Fischbach, H.: Diagnostische und therapeutische Probleme bei der chirurgischen Behandlung der Osteomyelitis. In: Schuchardt, K., Pfeifer, G., Schwenger, N. (Hrsg.): *Fortschritte der Kiefer- und Gesichtschirurgie*, Bd. XXIX, Thieme, Stuttgart, New York : 58-61 (1984)

- 54. Ring, J.,** Seifert, J., Zinn, K., Stickl, H., Probst, W., Brendel, W.: Humorale und zelluläre Immunphänomene im klinischen Verlauf der chronischen post-traumatischen Osteomyelitis. *Infection* 4 (2): 84-89 (1976)
- 55. Rottke, St.:** Immunhistochemische Untersuchungen der Mikrozirkulation bei Unterkieferosteomyelitis mit endothelspezifischen Antikörpern, Dissertation, Münster 2002
- 56. Schwab, W.,** Bilgicyildirim, A., Funk, R. H.: Microtopography of the autonomic nerves in the rat knee: a fluorescence microscopic study. *Anat Rec* 247 (1): 109-118 (1997)
- 57. Schilli, W.:** Knocheninfektionen. In: Schwenzer, N., Grimm, G. ( Hrsg.): Allgemeine Chirurgie, Entzündungen, Mundschleimhauterkrankungen, Röntgenologie, Georg- Thieme- Verlag, Stuttgart- New York: 231-250 (1988)
- 58. Seifert, J. :** Chronische post-traumatische Osteomyelitis und ihre Behandlung. *Fortschr. Med.* 95: 1376- 1380 (1977)
- 59. Thomas, C.:** Histopathologie, Schattauer Verlag, Stuttgart, New York : 303 (1992)
- 60. Torholm, C.,** Hedstrom, S. A., Herrlin, K., Johnell, O., Lidgren, L.: Chronic progressive os teoblastic osteomyelitis: A new approach to treatment. *J Pediatr Orthop* 8: 326-332 (1988)
- 61. True, L. D.:** Morphometric applications in anatomic pathology. *Human pathology.* Volume 27, No.5: 450-467 (1996)
- 62. Van Merkesteyn, J. P.,** Groot, R. H., van den Akker, H. P., Bakker, D. J.: Treatment of chronic suppurative osteomyelitis of the mandible. *Int J Oral Maxillofac Surg* 26: 450- 454 (1997)

**63. Waldvogel, F. A.,** Medhoff, G., Swartz, M. N.: Osteomyelitis: a review of clinical features, therapeutic considerations and unusual aspects. *New Engl J Med* 3: 316- 322 (1970)

**64. Wannfors, K.:** Vascular changes after experimentally- induced inflammation in the mandible. *Int. J Oral Maxillofac Surg* 188: 79- 82 (1989)

**65. Wannfors, K.,** Gazelius, B.: Blood flow in jaw bones affected by chronic osteomyelitis. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 29: 147-153 (1991)

**66. Yoon, K. S.,** Sud, S., Song, Z., Fitzgerald, R. H., Wooley, P. H.: Influence of staphylococcus aureus infection upon T cell immunity in experimental acute hematogenous osteomyelitis. *Orthop Trans* 20: 646 (1996)

## **7. Danksagung**

Herrn PD Dr. Dr. Kleinheinz danke ich herzlich für die Überlassung dieses interessanten und fesselnden Themas. In ihm fand ich einen Betreuer, der bei Fragen aller Art jederzeit ansprechbar war und aufkommende Probleme schnell zu lösen vermochte.

Ebenso möchte ich Herrn Dr. Dr. Kleier für die Betreuung in der Vorbereitungsphase danken.

Herrn Prof. Dr. U. Stratmann sei herzlich für die Betreuung im Rahmen der histologischen Fragen und der Anleitung zur Auswertung der gewonnenen Daten gedankt.

Frau K. Cebulla, Institut für Anatomie, danke ich besonders für die Hilfestellung bei der Anfertigung der Probenschnitte.

Den Referenten dieser Arbeit sei recht herzlich für ihre Gutachtertätigkeit gedankt.

## 8. Lebenslauf

<b>Name</b>	Caroline Szostak, geb. Koch
<b>Geboren am</b>	01.09.1974 in Detmold
<b>Eltern</b>	Reinhard Koch (Berufsschullehrer im Gastronomiebereich) Rosemarie Koch (Pensionsinhaberin)
<b>Geschwister</b>	Wiltrud Holzmüller, geb. Koch (Pastorin) Susanne Koch (Berufsschullehrerin im Gastronomiebereich) Robert Koch (Assistenzarzt)
<b>Ausbildung</b>	
1980 – 1984	Grundschule Bad Meinberg (NRW)
1984 – 1993	Gymnasium Leopoldinum Detmold (NRW)
1993	allgemeine Hochschulreife
1993 - 1996	Ausbildung zur Zahntechnikerin
1996	Gesellinnenprüfung vor der Handwerkskammer zu Bielefeld
ab Okt. 1996	Studium der Zahnmedizin an der WWU – Münster
1997	naturwissenschaftliche Vorprüfung
1999	zahnärztliche Vorprüfung
14.12.2001	Abschluss Staatsexamen der Zahnmedizin
21.12.2001	Approbation als Zahnärztin

## **Berufspraxis**

02/03 2001

Famulatur in Kapstadt

01.02- 12. 03

Assistenzärztin der Klinik und Poliklinik für zahnärztliche Prothetik der Westfälischen – Wilhelms – Universität in Münster

02.04- 06.04

Assistenz Zahnärztin in der Praxis Dr. G. Szostak in Herne

seit 01.07.2004

Gemeinschaftspraxis mit Dr. G. Szostak in Herne

## Anhang

### 1. Geräte

Trockenschrank US/UL-Typ	Memmert, Schwabach
Wasserbad	Walter F. C. Ebel, Hamburg
Serienschnitt-Mikrotom, D –Messer	Jung, Heidelberg
Fotomikroskop, Phomi III	Leica, Düsseldorf

### 2. Verbrauchsmaterial

Diafilm, Kodak Turachrome	Kodak
Objektträger	Superfrost, Dako, Hamburg
Deckgläser Typ 38116, 24 x 60	Menzel, Braunschweig
Probengefäße	Glasküvetten, Waldech

### 3. Chemikalien

Alkohol 100% Isopropanol	Zentralapotheke der Uniklinik-Münster
Alkohol 96%	Zentralapotheke der Uniklinik-Münster
Alkohol 90%	Zentralapotheke der Uniklinik-Münster
Alkohol 70%	Zentralapotheke der Uniklinik-Münster
Alkohol 50%	Zentralapotheke der Uniklinik-Münster
Aqua dest	Zentralapotheke der Uniklinik-Münster
Glutardialdehyd	Merck, Darmstadt
Hämatoxylin nach Meyer	Merck, Darmstadt
Paraffin 1,2,3,4 (DMSO)	Sherwood- Medical, St. Louis, (USA)
Paraformaldehyd, Formalin	Merck, Darmstadt
PBS-Puffer, Phosphatpuffer nach	Merck, Darmstadt

Sörensen ( pH 7,4)

200 ml  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 800 ml  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Xylol

Merck, Darmstadt

EDTA

Serva, Heidelberg

Polypylenoxid

Serva, Heidelberg

DePeX: Polystyrol u. Weichmacher

Serva, Heidelberg