

Aus dem Zentrum für Zahnmedizin
Institut für Parodontologie und Synoptische Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

Dissertation

**Behandlung parodontaler Knochentaschen
mit Anwendung autologer Wachstumsfaktoren –
eine randomisierte klinische Studie**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Zahnärztin Marta Siódmok
aus Beuthen, Polen

Gutachter: 1. Prof. Dr. Dr. J.-P. Bernimoulin
2. Prof. Dr. B.-M. Kleber
3. Prof. Dr. med. Dr. med. dent. M. Herzog

Datum der Promotion: 14.06.2009

Abkürzungsverzeichnis.....	6
1. Einleitung.....	8
2. Wissenschaftliche Grundlagen der parodontalen Knochenregeneration	11
2.1 Anatomie des Parodonts.....	11
2.1.1 Orale Struktur	11
2.1.2 Blutversorgung des Parodonts	14
2.1.3 Lymphatisches System des Parodonts.....	15
2.2 Physiologie des Knochens.....	15
2.2.1 Knochenmodellierung und -remodellierung	15
2.2.2 Knochenzellen	16
2.3 Pathologie des Knochens	18
2.3.1 Knochendefekte.....	18
2.3.2 Behandlung von Knochendefekten.....	20
2.4 Wachstumsfaktoren	20
2.4.1 Definition.....	20
2.4.2 Klassifikation.....	22
2.4.3 Wirkungsweise	24
2.4.4 Anwendung.....	25
2.4.4.1 Anwendung in der Allgemeinmedizin	25
2.4.4.2 Anwendung bei Parodontitis	26
2.5 Parodontale Wundheilung.....	27
2.6 Regeneration des Parodonts	29
2.7 Regenerative Konzepte.....	32
2.7.1 Mitogene Faktoren zur parodontalen Regeneration	33
2.7.1.1 Regeneration mittels Bone Morphogenetic Proteins (BMP).....	33
2.7.1.2 Regeneration mittels autologer Wachstumsfaktoren.....	34
2.7.2 Tissue Engineering.....	36
2.7.3 Regeneration mit Schmelzmatrixproteinen.....	36
2.7.4 Transplantattechniken	38
2.7.5 Konditionierung der Wurzeloberfläche.....	40
2.7.6 Gesteuerte Geweberegeneration	40
3. Ziel der Studie	44
4. Material und Methode.....	45
4.1 Studiendesign	45

4.2 Patientenauswahl.....	45
4.3 Präparation des Thrombozytenkonzentrates - Plasma Rich in Growth Factor (PRGF).....	46
4.4 Verlauf der Studie	51
4.5 Operationsvorgänge.....	53
4.6 Messung der klinischen Parameter	55
4.7 Messung der Laborparameter	56
4.8 Statistische Analysen	58
5. Ergebnisse.....	59
5.1 Ergebnisse der klinischen Untersuchung	59
5.1.1 Ergebnisse der Hauptfragestellungen	59
5.1.1.1 Vergleich der Sondierungstiefe	60
5.1.1.2 Vergleich der Gingivarezession	62
5.1.1.3 Vergleich des klinischen Attachmentlevels	63
5.1.1.4 Vergleich der Knochentaschentiefe – Röntgenanalyse.....	65
5.1.2 Ergebnisse der Nebenfragestellungen – Hygieneindizes	66
5.1.2.1 API – Approximal Plaque Index (Lange et al. 1977)	66
5.1.2.2 PBI – Papillen-Blutungs-Index (Saxer et al. 1977)	67
5.1.2.3 PLI – Modified Plaque Index (Löe, 1967)	68
5.1.2.4 GI – Gingiva-Index	69
5.1.2.5 BOP – Bluten auf Sondierung	70
5.2 Ergebnisse der Blut- und Thrombozytenkonzentratuntersuchung	70
5.2.1 Ergebnisse der Untersuchung zur Thrombozyten- und Leukozytenkonzentration.....	71
5.2.2 Korrelation zwischen den klinischen Ergebnissen und den Laboruntersuchungsergebnissen	72
6. Fallbeispiel.....	73
7. Diskussion	83
7.1 Diskussion der Materialien und Methoden	83
7.1.1 Studiendesign.....	83
7.1.2 Probandenauswahl.....	84
7.1.3 Auswahl der klinischen Untersuchungsparameter	85
7.1.4 Auswahl der Behandlungsmethode	85
7.1.5 Vorbehandlung mit den Antibiotika	90

7.1.6 PRGF Präparation	91
7.1.7 Feststellung des Nachuntersuchungsintervalls.....	98
7.2 Diskussion der Ergebnisse.....	98
8. Schlussfolgerung	108
9. Zusammenfassung	109
10. Abstract	111
11. Literaturverzeichnis.....	113
12. Danksagung	127
13. Lebenslauf	128
14. Erklärung an Eides Statt.....	129

Abkürzungsverzeichnis

3D	dreidimensional
a	Arteria
A.a.	Actinobacillus actinomycetemcomitans
AFZ	Azelluläres Fremdfasermaterial
AIDS	acquired immunodeficiency syndrome
aK	autologer Knochen
ANOVA	Analysis of Variance
API	Approximal-Plaquescore
aTK	autologes Thrombozytenkonzentrat
β-TCP	Beta-Tricalciumphosphat
BOP	Bleeding on Probing
BMP	Bone Morphogenetic Proteins
BMU	Bone Multicellular Unit
CAL	Clinical Attachment Level
CT	Calcitonin
DFDBA	Demineralized Freeze Dried Bone Allograft
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGF	Epidermal Growth Factor
FDBA	Freeze-Dried Bone Allograft
FGF	Fibroblast Growth Factor
F.n.	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
GI	Gingiva-Index
GTR	Gesteuerte Geweberegeneration
IGF-I	Insulin-like Growth Factor
IL	Interleukin
KDB	Knochendefektboden
KG	Knochenniveaugewinn
KK	Knochenkamm
KT	Knochentasche
KZBV	Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung

Abkürzungsverzeichnis

NaCl	Natrium Chlorid Lösung 0,9%
OAF	Osteoklastenaktivierungsfaktor
OK	Oberkiefer
PBI	Papillen-Blutungs-Index
PCCS	Platelet Concentrate Collection System
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
PDL	parodontales Ligament
PDL-Zellen	parodontale Ligamentfibroblasten
P.g.	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
PGE	Prostaglandine
P.i.	<i>Prevotella intermedia</i>
PLI	Plaque-Index
PPP	Platelet Poor Plasma
PRGF	Plasma Rich in Growth Factors
PRP	Platelet Rich Plasma
PTFE	Polytetrafluoräthylen
PTH	Parathormon
PZR	professionelle Zahnreinigung
rhBMP	recombinant human Bone Morphogenic Protein
RT	Rezessionstiefe
SMP	Schmelzmatrixproteine
ST	Sondierungstiefe
SZG	Schmelz-Zement-Grenze
T.f.	<i>Tannerella forsyntensis</i>
TGF- β	Transforming Growth Factor beta
TK	Thrombozytenkonzentrat
TNF- α	Tumor Necrosis Factor alpha
UK	Unterkiefer
VEGF	Vascular Epithelial Growth Factor
WF	Wachstumsfaktoren
ZEZ	Zelluläres Eigenfaserzement
ZGZ	Zelluläres Gemischtfaserzement

1. Einleitung

Zur parodontalen Behandlung kommen immer häufiger auch jüngere Patienten. Die parodontalen Krankheiten sind weit verbreitet. Des Weiteren legen immer mehr Menschen gesteigerten Wert auf die Ästhetik ihrer gesamten Erscheinung und damit auch auf das Aussehen ihres Zahnfleisches und die Stellung ihrer Zähne. So kommt der Parodontologie eine vermehrte Bedeutung zu.

Trotz der Verringerungen beim Kariesbefall leiden immer noch viele Patienten unter Parodontitis.

Laut der Vierten Deutschen Mundgesundheitsstudie (KZBV et al., 2006) leiden rund 53% der Erwachsenen zwischen 35 und 44 Jahren unter einer mittelschweren und 20% unter einer schweren Parodontitis. Unter den Senioren (ab 65 Jahren) ist die Parodontitis am weitesten verbreitet. 48% dieser Altersgruppe sind von einer mittelschweren und 40% von einer schweren Ausprägung der Krankheit betroffen. In Berlin zum Beispiel bedürfen 54% der Erwachsenen (zwischen 45 und 54 Jahren) einer parodontalen Behandlung (Hohlfeld and Bernimoulin, 1993).

Parodontitis ist die tiefgehende Zahnbettentzündung, die zum Verlust von Stützgewebe, also sowohl Weich- als auch Knochengewebe führen kann.

Die chronische Parodontitis ist eine Entzündung, die durch eine bakterielle Mischinfektion, damit von gramnegativen, anaeroben Bakterien hervorgerufen wird und meistens bei Erwachsenen auftritt.

Die aggressive Parodontitis tritt eher bei den jungen Patienten auf, ist häufig lokalisiert und relativ schnell fortschreitend. Sie wird bei anfälligen Patienten ebenfalls durch pathogene Bakterienarten verursacht und ist oft mit genetischen oder anderen Kofaktoren assoziiert.

Die Entzündungsreaktion ist die lokale und systematische Antwort auf einen bakteriellen Faktor (Antigen) sowie bakterielle Stoffwechselprodukte.

Einerseits kämpft der Körper mit der Entzündung mittels verschiedenen Schutzmechanismen, andererseits führen sowohl Bakterien, ihre Toxine als auch die Entzündungsmediatoren des körpereigenen Immunsystems zu einer Destruktion der parodontalen Stützgewebe.

Klinisch zeigen sich die pathologischen Änderungen als parodontale Taschen. Das entzündete Zahnfleisch schwillt an und beginnt bei Berührung zu bluten. Es kommt zum Attachmentverlust, zur Zerstörung des Desmodonts und zum Knochenabbau (Lindhe et al., 1973).

Ohne geeignete Behandlung ist es nur eine Frage der Zeit, wann die entzündete Gingiva, blutende Zahnfleischtaschen und fortschreitender Attachmentverlust zu Zahnlockerung und Zahnverlust führen können.

Die richtige Behandlung der Parodontitis besteht im Wesentlichen aus antibakterieller Therapie, überwiegend durch mechanische Beseitigung (Kürettage), aber auch aus Medikamentöse oder chirurgischer Therapie.

Nach der Parodontalbehandlung kommt es zur Heilung der parodontalen Strukturen, also zur Reparatur des Gewebes.

Die Heilung führt jedoch nicht zur Regeneration. Eine langfristige Rekonstruktion eines verloren gegangenen oder verletzten Gewebes zur vollen, ursprünglichen Form und Funktion, also restitutio ad integrum, wird mittels chirurgischem Regenerationsverfahren wenn möglich angestrebt.

Zur Regeneration können verschiedene Methoden führen. Membrantechniken, Knochenersatzmaterialien, Tissue Engineering, Schmelzmatrixproteine, oder Wachstumsfaktoren sind die heutigen Therapiekonzepte.

Die Verwendung von autologen Blutprodukten (Wachstumsfaktoren) zur Unterstützung der knöchernen Regeneration wurde schon seit den sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts dokumentiert (Schulte, 1969).

In verschiedenen Studien wurde die Rolle von autologen Wachstumsfaktoren gut dokumentiert. Dabei wurde auch die aktuelle Hypothese bestätigt, dass ihre klinische Anwendung die Knochenregeneration steigern kann.

Wachstumsfaktoren sind eine Klasse natürlicher, biologischer Mediatoren, die durch Bindung an spezifische Rezeptoren an der Zelloberfläche eine Menge von Zellfunktionen steuern.

Ihre Schlüsselrolle kommt in der Wundheilung zum Tragen (Lynch et al., 1991).

Sie werden in den α -Granula der Thrombozyten synthetisiert und aus denen freigesetzt.

Die Wachstumsfaktoren, denen die entscheidende Rolle bei der parodontalen Regeneration zukommt, sind: Platelet-derived growth factor (PDGF), Transforming growth factor- β (TGF- β) als auch Insulin-like growth factor (IGF-I).

In vitro Untersuchungen weisen den regenerationsfördernden Effekt von Wachstumsfaktoren nach (Kawase et al., 2003; Okuda et al., 2003; Kawase et al., 2005).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob es bei lokaler Applikation der autologen Wachstumsfaktoren zu effektiver Regeneration parodontaler Knochendefekte kommt.

Dafür wurden 20 Patienten behandelt. Bei jedem Patient wurde eine Test- und eine Kontrollseite nach dem Zufallsprinzip bestimmt, die dann parodontal chirurgisch therapiert wurden. Die Testseite wurde zusätzlich mit den autologen Wachstumsfaktoren thrombozytärer Herkunft behandelt.

Die vorliegende Untersuchung ist die erste randomisierte und kontrollierte klinische Studie, die den Einsatz von autologen Wachstumsfaktoren ohne weitere Zusätze, wie z.B. Knochenersatzmaterialien, untersucht.

2. Wissenschaftliche Grundlagen der parodontalen Knochenregeneration

2.1 Anatomie des Parodonts

2.1.1 Orale Struktur

Der Name Parodont stammt aus dem Griechischen:

περι = *um, herum* und οδοντος = *Zahn*

Bei den Bestandteilen des Parodonts handelt es sich um Gewebearten, die strukturell und funktionell unterschiedlich sind. Dennoch bilden sie gemeinsam eine funktionelle Einheit (Abb.1). Im Einzelnen werden unterschieden:

1. Gingiva,
2. parodontales Ligament,
3. Wurzelzement,
4. Alveolarknochen,
 - Eigentlicher Alveolarknochen – er ist stetig mit dem Alveolarprozess verbunden und bildet eine Knochenplatte direkt lateral des parodontalen Ligaments.
5. Alveolarfortsatz.

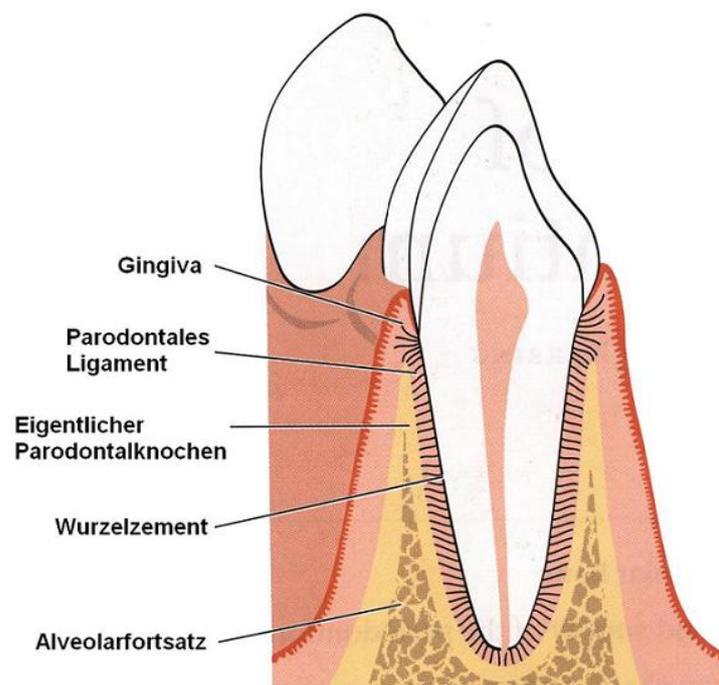


Abb. 1: Zahnschema mit Darstellung des Parodonts (Lindhe et al., 2003)

Die Gingiva ist der Teil der mastikatorischen Mukosa (Schleimhaut), der direkt auf dem Alveolarfortsatz aufliegt und die Zähne zervikal umgibt.

Makroskopisch unterscheidet man:

1. Freie (marginale) Gingiva – sie bedeckt den zervikalen Schmelz, hat eine glatte Oberfläche und eine feste Konsistenz. Koronal endet sie als Zahnfleischsaum, apikal ist sie normalerweise durch die gingivale Furche begrenzt.
2. Befestigte Gingiva – sie erstreckt sich apikal bis zur mukogingivalen Grenze, wo sie in die Alveolarschleimhaut übergeht. Die Gingiva ist durch die Kollagenfasern mit dem darunter liegenden Alveolarknochen sowie mit dem Zement verbunden. Die Fasern strahlen vom Periost des Alveolarfortsatzes und vom Wurzelzement in den subepithelialen Raum der Gingiva ein.
3. Interdentale Gingiva – sie formt die interdentalen Papillen.

Das parodontale Ligament (PDL, Desmodont) ist das weiche, die Zahnwurzel umgebende gefäß- und zellreiche Bindegewebe. Es ist zwischen der Wurzeloberfläche des Zahnes und dem Alveolarknochen lokalisiert und verbindet den Wurzelzement mit dem Alveolarknochen.

Die PDL-Zellen, wie auch diejenigen des Wurzelzements und des Alveolarknochens, entstammen dem eigentlichen Zahnsäckchen.

Alle PDL-Zellen bilden eine außerordentlich große Population, die vielfältige funktionell unterschiedliche Zelltypen beinhaltet. Außer ihrer Beteiligung an allen physiologischen Prozessen im Desmodont nehmen sie an der Remodellierung des Wurzelzementes und des Alveolarknochens teil.

Die Gesamtpopulation der PDL-Zellen setzt sich aus Fibroblasten, Osteo- und Zementoprogenitorzellen, Osteoblasten, Osteoklasten, Zementoblasten, Dentoklasten, Epithelzellen und Leukozyten zusammen.

Regelmäßig und ständig sind Fibroblasten, Progenitorzellen, Epithelzellen und Leukozyten anzutreffen, während Knochen und Zement remodellierende Zellen unregelmäßig auftreten.

Die Zellen des Desmodonts sind maßgeblich an der parodontalen Regeneration beteiligt und besitzen das Potential, durch parodontale Erkrankungen verloren gegangenes Gewebe zu regenerieren (Nyman et al., 1982; Nyman et al., 1982).

Die desmodontalen Fasern, die vorwiegend aus Kollagen und zum Teil aus Oxytalan bestehen, werden im Wurzelzement wie auch im Alveolarknochen verankert. Dadurch, dass sie über Gefäßkanäle mit den Markräumen des Alveolarknochens in Verbindung stehen, entsteht ein Kontakt zwischen Wurzelzement und Lamina dura des Alveolarknochens (Schröder, 1992).

Das parodontale Ligament hat folgende Funktionen zu erfüllen:

1. Verankerung des Zahnes im Knochen,
2. Verteilung der funktionellen Kräfte über den Alveolarknochen auf den Alveolarfortsatz, und
3. Gewährung der Zahnbeweglichkeit.

Der Wurzelzement ist ein mineralisiertes Bindegewebe, das auf der äußeren Oberfläche der Zahnwurzel aufliegt. Im Gegensatz zum Knochen enthält der Zement weder Nerven noch Blut- oder Lymphgefäße. Es gibt auch keine Perioden von Resorption und Apposition. Er wird aber das ganze Leben lang durch Anlagerung immer neuer Schichten dicker. Die Schichten (zelluläre und azelluläre) und Fasern (Fremd- und Eigenfasern), die sich unmittelbar an der Wurzeloberfläche befinden, werden mineralisiert – dadurch entstehen vier verschiedene Arten von Zement:

1. Azelluläres-afibrilläres Zement,
2. Azelluläres Fremdfaserzement (AFZ),
3. Zelluläres Eigenfaserzement (ZEZ),
4. Zelluläres Gemischtfaserzement (ZGZ).

Azellulärer Zement ist generell stärker mineralisiert als zellulärer. Azellulärer Fremdfaserzement bedeckt ein bis zwei Drittel der Wurzeloberfläche und bildet den eigentlichen Verankerungszement.

Durch die Ablagerung von Hydroxylapatitkristallen zwischen Kollagenfibrillen der extrazellulären Matrix erfolgt die Mineralisation des Zements.

Der Alveolarknochen ist ein Teil des Alveolarfortsatzes, der selbst einen Teil des Ober- und Unterkiefers (OK/UK) bildet.

Die beiden Alveolarfortsätze des Ober- und Unterkiefers bestehen aus:

1. einer äußeren Knochenplatte (Kortikalis), die unterschiedlich dick sein kann und von Periost bedeckt ist,

2. dem Alveolarknochen, einer inneren und stark durchlöchernten Knochenplatte (Lamina ciribriformis),
3. sowie aus der zwischen beiden befindlichen Spongiosa.

Der alveolare Knochenkamm ist der äußere, kompakte Teil des Alveolarfortsatzes, der am Eingang der Alveole in die Lamina propria übergeht.

Im Oberkiefer ist der Knochen, der die Wurzeloberflächen bedeckt, palatinal dicker als bukkal. Die Spongiosa bildet den größten Teil der interdentalen Septen, aber nur einen kleinen Bereich der bukkalen und palatinalen Knochenwände. Die Stärke der bukkalen Knochenschicht des Alveolarfortsatzes im Unterkiefer ist variabel. Generell ist die Kortikalis im Bereich der Inzisivi bukkal dünner als lingual, während der Knochen im Molarenbereich bukkal stärker als lingual ist.

2.1.2 Blutversorgung des Parodonts

Die Zahnarterie, die ein Zweig der Arteria alveolaris superior bzw. inferior ist, spaltet vor dem Eintritt in die Zahnalveole eine interseptale Arterie ab (Schröder, 1992). Die Endäste der interseptalen Arterie dringen als Rami perforantes im gesamten Alveolarbereich in kleinen Kanälen durch die Lamina dura.

Sie anastomosieren im Desmodontalraum mit Gefäßen aus dem apikalen Teil des Desmodonts und mit anderen Endgefäßen der interseptalen Arterie.

Vor ihrem Eintritt in den Zahn geht von der Zahnarterie ein Zweig zur Versorgung des apikalen parodontalen Ligaments ab.

Die Gingiva empfängt ihre Blutversorgung durch suprapariostale Gefäße, die Endäste der:

- Arteria sublingualis,
- A. mentalis,
- A. buccalis,
- A. facialis,
- A. superior posterior sind.

Die Gefäße anastomosieren nach ihrem Eintritt in das parodontale Ligament und bilden um die Wurzel ein polyedrisches Geflecht, das die Wurzel strumpffartig umgibt.

2.1.3 Lymphatisches System des Parodonts

Die kleinsten Lymphgefäße, die Lymphkapillaren, bilden ein ausgedehntes Netzwerk im Bindegewebe. Aus den Kapillaren fließt die Lymphe dann in größere Gefäße, die in Nachbarschaft zu den korrespondierenden Blutgefäßen liegen. Vor der Aufnahme ins Blut passiert die Lymphe einen oder mehrere Lymphknoten. Dort wird sie gefiltert und mit Lymphozyten versorgt.

Die Lymphe aus dem parodontalen Gewebe drainiert in die folgenden Lymphknoten des Kopfes und des Nackens:

- submentaler Lymphknoten,
- Zervikallymphknoten,
- submandibulärer Lymphknoten,
- jugulodigastrischer Lymphknoten.

2.2 Physiologie des Knochens

2.2.1 Knochenmodellierung und -remodellierung

Das Knochengewebe besteht zu 67-70% seines Trockengewichts aus organischer und zu 22-33% aus anorganischer Substanz. Die restlichen 8% sind Wasser.

Sobald sich das Knochengewebe formiert hat, beginnt sich das neumineralisierte Gewebe umzubilden. Es finden zwei gegensätzliche Prozesse statt: Resorption und Apposition, d.h. Modellierung und Remodellierung.

Die Modellierung stellt den Prozess in der Eingangsknochenarchitektur dar, während unter Remodellierung die Änderung im schon mineralisierten Knochen ohne begleitenden Umbau der Knochenarchitektur verstanden wird.

Die Remodellierung hat eine große Bedeutung sowohl während der Knochenentstehung als auch während der Knochenumbauprozesse. Remodellierung besteht aus gleichzeitig stattfindender Resorption und Apposition. Dafür ist die mehrzellige Knocheneinheit (BMU – Bone Multicellular Unit) charakteristisch.

Die BMU besteht aus:

1. den Osteoklasten, die zu Beginn an der Front tätig sind,
2. einer Gefäßschicht und

3. den Osteoblasten, die auf der neu gebildeten organischen Matrix anwesend sind.

Der Alveolarfortsatz unterliegt, wie alle anderen Knochen des Körpers, ständig diesen zur Erneuerung der Knochensubstanz führenden Prozessen. Sie basieren auf der Tätigkeit vier morphologisch und funktionell verschiedener Zelltypen – Osteoblasten, jungen Osteozyten, älteren Osteozyten und Osteoklasten (Schröder, 1992).

2.2.2 Knochenzellen

Osteoblasten sind relativ große Zellen, mit großem Kern, basophilem Zytoplasma und langen zytoplasmatischen Fortsätzen, durch die sie mit anderen Osteozyten ein Netzwerk formen. Osteoblasten sind knochenbildende Zellen mesenchymalen Ursprungs, sie entstehen aus stromalen Stammzellen oder Progenitorzellen.

Beide Typen treten im Knochenmark, an Knochenoberflächen und wahrscheinlich auch perivaskulär auf. Die Differenzierung und Entwicklung der Osteoblasten aus Osteoprogenitorzellen ist zum einen durch Hormone des Knochenstoffwechsels, wie Parathormon (PTH) und Vitamin D3 reguliert, zum anderen von der Anwesenheit der Bone morphogenetic proteins (BMP) und anderen Wachstumsfaktoren, wie dem Insulin-growth factor (IGF), dem Platelet-derived growth factor (PDGF), dem Transforming growth factor- β (TGF- β) und dem Fibroblast growth factor (FGF) abhängig.

Die Osteoblasten produzieren die aus Grundsubstanz und Kollagenfasern (Typ I) bestehende Interzellulärsubstanz des Knochengewebes. In die vorerst nicht mineralisierte Grundsubstanz (Osteoid) wird nach Abschluss der Matrixproduktion Calciumphosphat in Form von Hydroxylapatit-Kristallen ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) eingelagert. Im Grunde genommen begrenzt das Osteoid also immer die Stellen der aktiven Knochenbildung auf der äußeren Oberfläche des Knochens und liegt somit unter dem Periost.

Die Zellen, die peripher im neu gebildeten Knochen lokalisiert sind und die Ausreifung und Mineralisation regulieren, sind zwar viel kleiner, aber strukturell den Osteoblasten ähnlich aufgebaut und heißen **junge Osteoblasten**.

Die Osteoblasten, die am Anfang eng benachbart stehen, entfernen sich durch die anhaltende Matrixproduktion immer mehr voneinander. Dadurch verschlechtern sich zunehmend die Bedingungen für den Stoffwechsel und die Matrixproduktion. Sie wird

schließlich fast vollständig eingestellt. Die "eingemauerten" Osteoblasten, die jetzt fast inaktiv sind, wandeln sich in **Osteozyten** und ihre Aktivität besteht weiterhin in der Proteinsynthese, die aber nicht mehr so intensiv ist. Osteozyten sind für die Osteolyse und Osteoplasie verantwortlich und am Mineralstoffwechsel weiter beteiligt.

Osteoklasten sind mobile, vielkernige Riesenzellen, sie stammen von hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks ab, haben also eine andere Herkunft als die anderen Knochenzellen. Ihre unmittelbaren Vorläuferzellen sammeln sich als Monozyten an Orten der Knochenresorption an und verschmelzen bei Bedarf zu Osteoklasten. Sie liegen unmittelbar auf der nicht mit Osteoid bedeckten Knochenoberfläche. Mittels saurer Phosphatase und anderer hydrolytischer Enzyme bauen Osteoklasten erst die Interzellulärschicht des Knochengewebes ab und dann resorbieren die Abbauprodukte. Strukturell charakteristisch ist ein organellenarmer Zytoplasmaraum. Im Gegenzug dazu ist der für die Resorption zuständige Bereich der Zellmembran durch Mikrovilli erheblich vergrößert und lichtmikroskopisch als Bürstensaum zu erkennen.

Stimuliert werden die Osteoklasten durch das Parathormon aus der Nebenschilddrüse. Es regt ihre Vermehrung an und steigert ihre Aktivität. Demgegenüber mindert das Calcitonin aus den C-Zellen der Schilddrüse ihre Zahl und Leistungsfähigkeit.

Die Abbauleistung eines Osteoklasten entspricht annähernd der Aufbauleistung von zehn Osteoblasten. Obwohl beide Zellarten entgegengesetzt agieren, arbeiten sie im Rahmen der Umbauvorgänge im Knochengewebe – hormonell gesteuert – aufeinander abgestimmt zusammen.

Die Knochenremodellierung wird in Richtung Knochenabbau durch:

- Parathormon (PTH),
- IL1,6, 8 und 11
- TNF- α und
- Prostaglandine (PGE_{1;2})

stimuliert, während die Steuerung in Richtung Knochenaufbau durch:

- Calcitonin (CT),
- Östrogene,

sowie einige andere Faktoren, wie z.B. Vit.D₃, erfolgt (Piche et al., 1989; Nojima et al., 1990; Somerman et al., 1990; Nohutcu et al., 1995; Ouyang et al., 2000; Ouyang et al., 2000).

2.3 Pathologie des Knochens

Parodontitis ist die tiefgehende entzündliche Zahnbettentzündung, die zum Verlust sowohl von Weich- als auch Knochengewebe führen kann. Die Entzündungsreaktion ist die lokale und systematische Antwort auf einen bakteriellen Faktor (Antigen) sowie auf bakterielle Stoffwechselprodukte.

Einerseits kämpft der Körper mit der Entzündung mittels verschiedener Schutzmechanismen, andererseits führen sowohl Bakterien, deren Toxine, als auch die Entzündungsmediatoren des körpereigenen Immunsystems zu einer Destruktion der parodontalen Hart- und Weichgewebe.

Klinisch zeigen sich die pathologischen Änderungen als parodontale Taschen. Das entzündete Zahnfleisch schwillt an und beginnt zu bluten. Es kommt zu einem Attachmentverlust, zur Zerstörung des Desmodonts und zum Knochenabbau. (Lindhe et al., 1973).

2.3.1 Knochendefekte

Klassifikation nach den verbleibenden Knochenwänden

Die Progression parodontalen Knochenabbaus kann unterschiedlich verlaufen (siehe Abb. 2, 3, 4).

Eine Klassifikation parodontaler Knochendefekte führten 1958 Goldman und Cohen ein (Goldman and Cohen, 1958). Die klinisch relevante Einteilung bezieht sich auf den Zustand des umgebenden Knochens.

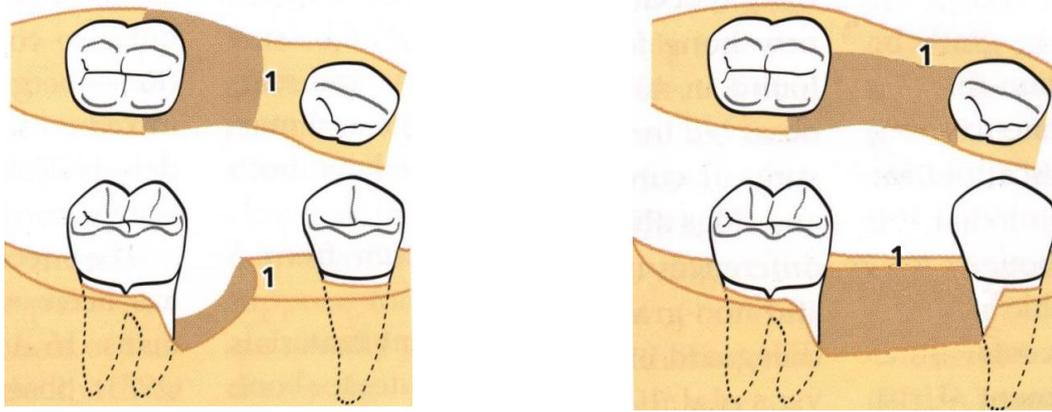


Abb. 2: Einwandige Defekte – der Defekt wird nur durch eine Wand begrenzt (Lindhe et al., 2003).

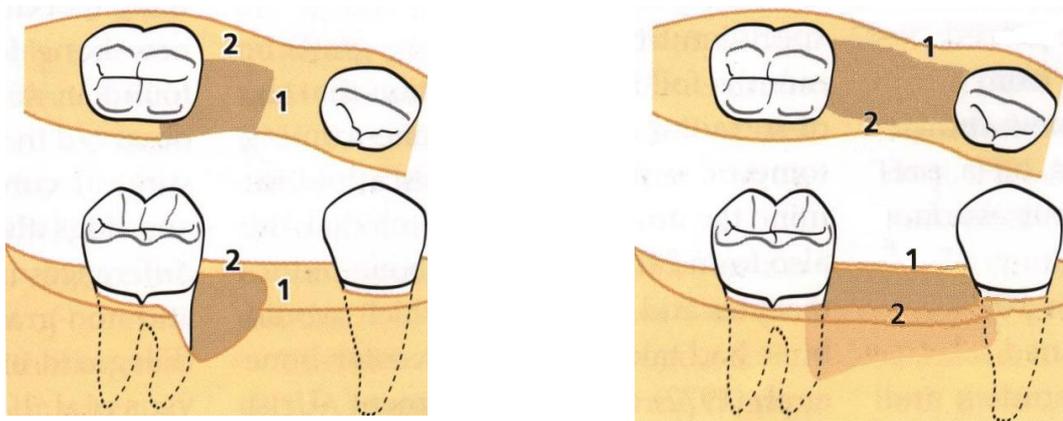


Abb. 3: Zweiwandige Defekte – zwei Wände umgeben den Defekt (Lindhe et al., 2003).

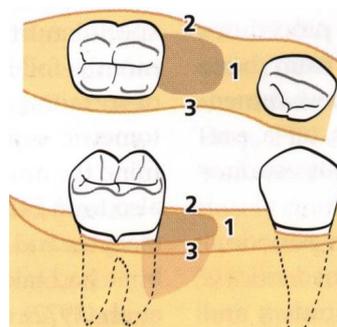


Abb. 4: Dreiwandige Defekte – drei Knochenwände umgeben den Defekt. In diesem Fall sind die Prognosen für eine erfolgreiche Regeneration wesentlich besser als in den anderen Fällen (Lindhe et al., 2003).

2.3.2 Behandlung von Knochendefekten

Die Behandlung der durch parodontale Entzündung geschädigten Gewebe zielt auf eine Wiedergewinnung der verlorenen Strukturen ab. Dazu muss das Stützgewebe wieder aufgebaut werden. Es müssen also sowohl Weich- als auch Hartgewebe regeneriert werden.

Bei den Eingriffen zur Beseitigung eines Knochendefekts gibt es folgende Alternativen (Lindhe et al., 2003):

1. Eliminieren des Knochendefekts durch Knochenresektion (Ostektomie / Osteoplastik),
2. Erhalten des Knochens ohne Resektion, in der Hoffnung auf parodontale Ausheilung wie Knochenauffüllung und klinischen Attachmentgewinn,
3. Eingeschränkte Knochenresektion mit Akzeptieren gewisser Resttaschen,
4. Anwendung regenerativer Verfahren:
 - Einsatz von BMP (Bone Morphogenic Proteins),
 - Einsatz von Wachstumsfaktoren (Growth factors),
 - Bio-Modifizierung (Oberflächekonditionierung)
 - GTR (Gesteuerte Geweberegeneration),
 - Einsatz von Knochenersatzmaterialien,
 - Einsatz von Schmelzmatrixproteine,
5. Zahnextraktion bei zu stark fortgeschrittenen Knochendefekten.

2.4 Wachstumsfaktoren

2.4.1 Definition

Wachstumsfaktoren (WF) bilden eine Klasse natürlicher, biologischer Mediatoren, die viele zelluläre Schlüsselreaktionen durch Bindung an spezifische Rezeptoren an der Zelloberfläche steuern.

Wachstumsfaktoren sind Proteine, die sich im α -Granula der Thrombozyten befinden.

Zu den oben genannten Schlüsselfunktionen zählen: Proliferation, Chemotaxis, Differenzierung und die Produktion extrazellulärer Matrixproteine (Terranova and Wikesjo, 1987).

Thrombozyten sind kernlose, diskusähnliche Blutzellen. Ihr Zytoplasma enthält zahlreiche Granula, in denen Stoffe unterschiedlicher Natur gespeichert sind, z.B. befinden sich in α -Granula die oben definierten Wachstumsfaktoren, die dort in unvollständiger Form synthetisiert und gelagert werden um nach der Freisetzung lösbar zu sein.

Bei der Aktivierung der Thrombozyten wird die Thrombozytenaggregation ausgelöst. Sobald die Thrombozyten durch die Gerinnung aktiviert sind, werden die WF aus den Zellen durch die Zellmembranen ausgeschieden. In diesem Prozess verbinden sich die α -Granula der Zellmembran.

Dabei bekommen die WF ihre vollständige Funktion. Deswegen sind Thrombozyten, die während einer Zentrifugierung beschädigt wurden, nicht mehr in der Lage die biologisch wirkenden Wachstumsfaktoren freizusetzen.

Um die Blutgerinnung auszulösen ist eine Interaktion der Thrombozyten untereinander, aber auch mit adhäsiven Proteinen oder anderen Aktivatoren erforderlich.

Die oben genannten Proteine sind z.B. Faktor VIII (von Willebrand), Fibrinogen oder Vitronektin; zu den Aktivatoren zählt z.B. Calcium.

Die WF binden sich im Anschluss an die Sekretion via transmembrane Rezeptoren an die äußeren Oberflächen der Zielzellmembranen. Sie wirken, indem sie die Zielzellen durch auto-, endo- und parakrine Absonderungen stimulieren. Die reiferen, mesenchymalen Zellen, wie Osteoblasten, Fibroblasten, Endothelial- oder Epithelialzellen haben in der Zellmembran Rezeptoren, die spezifisch für die geeigneten WF sind (Marx et al., 1998).

Die aktivierten Transmembranrezeptoren rufen intrazelluläre Mechanismen hervor. Dadurch kommt es zur Aktivierung des intrazellulären Signalweges, wodurch die Transkription der Messenger RNA sowie die Synthese der Proteine, die für die Regeneration gebraucht werden, hervorgerufen wird. Dadurch wird dann die Proliferation, Matrixsynthese, Osteoidproduktion und Kollagensynthese verursacht.

Die WF treten niemals in die Zellen oder ihre Kerne ein und führen deshalb nicht zu einer Erbgutschädigung (Saygin et al., 2000)

Sie bewirken eine Stimulation des natürlichen Heilungsprozesses und beschleunigen ihn damit. Nach dem ersten Austritt der WF aus den Zellen synthetisieren diese die Plättchen für weitere 7 Tage. Danach ist der Thrombozyt „verbraucht“ und stirbt.

Die Makrophagen, die am selben Ort anwesend sind, übernehmen die weitere Steuerung der Heilung. Sie setzen ebenfalls einige WF ein.

Die vermehrte Zahl der WF in dem autologen Thrombozytenkonzentrat (aTK), das an einem bestimmten Ort wirksam wird, bestimmt das Maß der Wundheilung.

2.4.2 Klassifikation

Thrombozyten enthalten in ihren α -Granula u. a. die folgenden Wachstumsfaktoren (Weibrich et al., 2002; Christgau et al., 2006):

- PDGF (Platelet-Derived Growth Factor),
- TGF- β 1, TGF- β 2 (Transforming Growth Factor β 1;2),
- IGF-I, IGF-II (Insulin-like Growth Factor),
- FGF (Fibroblast Growth Factor),
- VEGF (Vascular Epithelial Growth Factor),
- EGF (Epidermal Growth Factor).

Sie alle spielen eine bedeutende Rolle bei der Homöostase der verschiedenen Gewebe und natürlich auch beim Knochenumbau.

Für die Knochenphysiologie besonders wichtige Wachstumsfaktoren sind:

1. Transforming growth factor-beta (TGF- β),
2. Platelet derived growth factors (PDGF),
3. Insulin like growth factors (IGF).

Durch ihre Freisetzung werden der Metabolismus, die Proliferation und die Matrixsynthese benachbarter Knochenzellen reguliert. Der Heilungsprozess kann entsprechend durch diese Faktoren initiiert und kontrolliert werden.

Normalerweise werden die Wachstumsfaktoren im Blut des Patienten zur Wunde oder zur Defektheilungsstelle transportiert.

Wachstumsfaktoren	Sekretion von	Funktion
PDGF-AA PDGF-BB PDGF-AB (platelet-derived growth factor)	<ul style="list-style-type: none"> ü Blutplättchen ü Makrophagen ü Monozyten ü Fibroblasten ü Endothelialzellen 	<ol style="list-style-type: none"> 1. steuern die Proliferation der parodontalen Fibroblasten 2. fördern die Produktion der extrazellulären Matrix 3. chemotaktische Wirkung auf Monozyten und Makrophagen 4. stimulieren Phagozytose bei Neutrophilen und Monozyten 5. fördern die Angiogenese, durch Aktivierung der Makrophagen
TGF- β (transforming growth factor- β)	<ul style="list-style-type: none"> ü Blutplättchen ü Makrophagen ü Fibroblasten ü Leukozyten 	<ol style="list-style-type: none"> 1. hemmt die Funktion der Osteoklasten und beeinflusst dadurch auch die Knochenresorption 2. fördert die Kollagen-Synthese 3. ist ein wirksamer Stimulator der Fibronektinbildung
IGF-I, IGF-II (insulin-like growth factor I und II)	<ul style="list-style-type: none"> ü Osteoblasten ü Fibroblasten 	<ol style="list-style-type: none"> 1. stimuliert parodontale Ligamentzellen 2. stimuliert die Proliferation und Differenzierung der Osteoblasten

<p>EGF (epidermal growth factor)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ü Makrophagen ü Epithelialzellen 	<p>1. stimuliert die Proliferation und Differenzierung epidermaler Zellen</p>
<p>VEGF (vascular endothelial growth factor)</p>		<ol style="list-style-type: none"> 1. stimuliert die Angiogenese 2. hat eine chemotaktische Wirkung auf die Osteoblasten

Tab.1: Thrombozytäre Wachstumsfaktoren, ihre Funktion und Sekretionsstelle.

2.4.3 Wirkungsweise

PDGF ist ein Glykoprotein, von dem es die möglichen Isoformen AA, BB und AB gibt. Alle drei werden im α -Granula der Thrombozyten gebildet und nach der Thrombozytenaggregation freigegeben.

In vitro haben alle Isoformen proliferative und chemotaktische Wirkungen auf die parodontalen Fibroblasten und Osteoblasten (Weibrich et al., 2002).

Zudem stimuliert der PDGF die Kollagen- und Proteinsynthese (Kawase et al., 2003) und hat darüber hinaus eine chemotaktische Wirkung auf Monozyten und Makrophagen. Außerdem stimuliert er die Phagozytose bei Neutrophilen und Monozyten.

TGF- β ist ebenfalls in drei Formen vorhanden: TGF- β 1, TGF- β 2 und TGF- β 3.

TGF- β 1 (allgemein als TGF- β bezeichnet) ist in hoher Konzentration in Knochen und Blutplättchen zu finden. Nach der Aktivierung der Thrombozyten und Sekretion des TGF- β übt dieser Faktor seine Wirkung auf die Nachbarzellen aus. Er stimuliert die DNA-Synthese sowie die Proliferation und Differenzierung verschiedener Zelltypen. Seine bedeutendste Funktion besteht darin, dass er für Stammzellen oder Progenitorzellen ein starker Chemo-Attraktor ist. Er fördert außerdem die Kollagensynthese im Bindegewebe.

IGF ist in zwei Typen vorhanden: IGF-I und IGF-II.

IGF-I ist der im Knochen am häufigsten vorkommende Wachstumsfaktor und wird von Osteoblasten produziert.

Der IGF-I stimuliert das Knorpelwachstum durch die Knochenmatrixproduktion, Kollagen-I-Biosynthese und die Differenzierung der Osteoblasten.

Auch in den Blutplättchen ist dieser Wachstumsfaktor vorhanden. Von diesen freigesetzt entfaltet er eine stark chemotaktische Wirkung auf die vaskulären Endothelzellen und löst eine verstärkte Gefäßneubildung an der Wunde aus.

2.4.4 Anwendung

2.4.4.1 Anwendung in der Allgemeinmedizin

Der Körper baut während der Knochenheilung mit Hilfe von Wachstumsfaktoren verloren gegangenes Knochengewebe allmählich wieder auf. Die Verwendung von autologen Blutprodukten zur Unterstützung der Knochenregeneration wurde bereits in den sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts beschrieben.

Die Rolle autologer Wachstumsfaktoren wurde in zahlreichen Studien gut dokumentiert und bestätigt die aktuelle Hypothese, dass die klinische Anwendung autologer Wachstumsfaktoren die Knochenregeneration steigern kann.

Schulte hat seine Erkenntnisse über die Anwendung von Eigenblut zur Füllung von Zysten in der zahnärztlichen Therapie publiziert. 1969 wurde von ihm ebenfalls die Verwendung zentrifugierten Eigenbluts zur Füllung von Zysten mit dem Ziel der verminderten Koagulumretraktion bzw. vermehrten Koagulumstabilisierung zur verbesserten Infektionsreduktion veröffentlicht (Schulte, 1969).

Yamamoto et al. publizierten 1996 die Verwendung von mit Thrombozyten angereichertem Plasma als Ersatz für einen Gewebekleber mit dem Ziel einer beschleunigten Blutstillung nach operativen Eingriffen (Yamamoto et al., 1996).

Zu Anfang der achtziger Jahre wurden von Knighton und Hunt entsprechende Tierversuche vorgenommen (Knighton et al., 1982). Die Ergebnisse zeigten, dass zusätzlich eingebrachte autologe Thrombozyten eine wesentliche Verbesserung der Wundheilung im Rahmen der Angiogenese, Fibrinbildung und bei der Kollagensynthese bewirken.

Verschiedene Wundheilungsstörungen, wie z.B. bei Chemotherapie, Infektionen, Bestrahlung, Medikamentose mit Steroiden, Diabetes oder Durchblutungsstörungen, wurden durch Greenhalgh erforscht. Dabei ergab sich, dass die autologen Wachstumsfaktoren eine verbesserte und schnellere Wundheilung auch unter dem Einfluss solcher Störungen auslösten (Greenhalgh, 1996).

Mehrere Studien an Patienten mit chronischen Hautulzera – insbesondere bei Patienten mit schwerem Diabetes mellitus – haben nachgewiesen, dass PDGF eine beschleunigte Epithelisation und Wundheilung verursacht (Krupski et al., 1991; Sanchez et al., 2003; Anitua et al., 2004; Anitua et al., 2005).

2.4.4.2 Anwendung bei Parodontitis

Es liegen auch mehrere Fallberichte über die Anwendung autologer Wachstumsfaktoren allein oder in Kombination mit der gesteuerten Geweberegeneration (GTR) zur Behandlung parodontaler Knochendefekte vor.

Bei Kaninchen wurde die GTR an chirurgisch geschaffenen Knochendefekten durchgeführt. Die Defekte wurden dabei mit autologem Knochen (aK), autologem Thrombozytenkonzentrat (aTK) oder gleichzeitig mit beiden gefüllt. Die Kontrollseite wurde gar nicht behandelt.

Die Ergebnisse zeigten, dass im Vergleich zur Regeneration mit dem aTK allein eine wesentliche Steigerung der Knochendichte in den Fällen mit autologem Knochen oder mit der Kombination aus aK und aTK eintrat. Andererseits wurde kein signifikanter Unterschied in der Knochenbildung zwischen der Kontrollseite und den mit dem aTK allein behandelten Fällen registriert (Aghaloo et al., 2002). Obwohl Wachstumsfaktoren im autologen Thrombozytenkonzentrat nachgewiesen werden können, bleibt unter den gewählten Untersuchungsbedingungen ihr möglicher Einfluss auf die parodontale Regeneration weiterhin unklar. Die meisten bis heute publizierten Humanstudien enthalten nur die Fallberichte. So konnte z.B. Anitua eine beschleunigte Epithelisation und Regeneration des Gewebedefekts sowie eine Erhöhung der Knochendichte nach Zahnextraktion beobachten (Anitua, 1999; Anitua, 2001).

2.5 Parodontale Wundheilung

Eine „Verletzung“ des Parodonts, die durch chronische Entzündung und zusätzlich durch einen chirurgischen Eingriff verursacht worden sein kann, schädigt oder zerstört unterschiedliche Körpergewebe. Häufig wird beim Regenerationsprozess nur eine Gewebeart ersetzt. Einzig bei der parodontalen Heilung werden sowohl Weichgewebe (Epithel-, Bindegewebe) als auch Hartgewebe (Wurzelzement und Alveolarknochen) neu gebildet (Nyman et al., 1982; Bartold et al., 2000).

Der Körper reagiert auf ein Trauma mit einer Reihe von Reparaturschritten. Die Abfolge dieser Reparaturschritte ist als „Wundheilungskaskade“ bekannt. Die Wundheilungskaskade sieht folgendermaßen aus:

1. Hämostase – exsudative Phase: Werden bei der Verletzung Endothelzellen der Blutgefäße zerstört, kommt das Kollagenetz in direkten Kontakt mit den Thrombozyten (Abb. 5). Die in diesem Bereich hängenden Thrombozyten verändern unmittelbar ihre Form indem sie Zellfortsätze bilden. In der Zellmembran dieser Fortsätze werden verschiedene Rezeptoren aktiviert. Einige dieser Rezeptoren binden sich an das im Plasma gelöste Fibrinogen, andere an ein spezifisches Plasmaprotein (von Willebrand-Faktor, vWF) das seinerseits eine Affinität für das Kollagen aufweist. Dadurch kommt es auch zur Thrombozytenaggregation.

Aktiviert Thrombozyten sekretieren Thrombin, mit dem das Fibrinogen in zwei Fibrinmonomere aufgespaltet wird.

Die Monomere verbinden sich miteinander und bilden ein dreidimensionales Netz von Fibrinfasern, in das die Thrombozyten eingeschlossen werden.

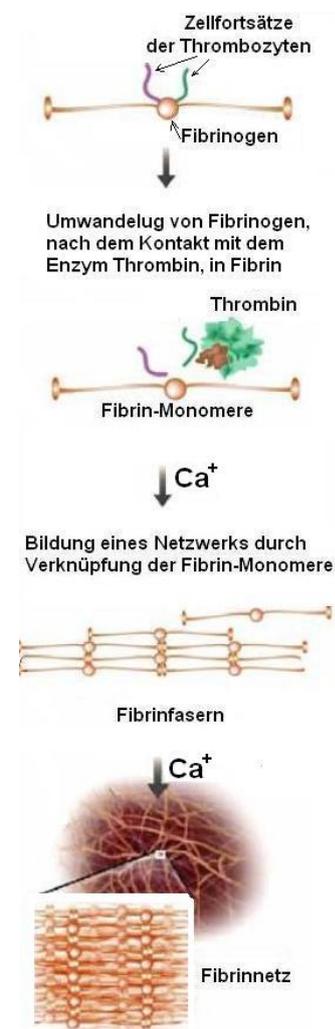


Abb. 5: Exsudative Phase der Endzündung

2. Entzündung – resorptive Phase: Im Blutgerinnsel eingeschlossene aktivierte Thrombozyten beginnen u.a. Serotonin, Thromboxan und anderen in ihre Umgebung zu sekretieren. Diese stimulieren die Einwanderung von Leukozyten, Neutrophilen aus Blutgefäßen des gesunden Grenzbereichs der Wunde sowie von Makrophagen aus dem umgebenden Bindegewebe. Es folgt die Beseitigung nekrotischer Gewebetrümmer (Haegewald, 2002).

3. Geweberegeneration – proliferative Phase: Die Thrombozyten, die im unauflöslchen Netz der Fibrinfasern eingeschlossen sind, setzen aus den α -Granula zunehmend Wachstumsfaktoren frei (Abb. 6). Die wichtigste Rolle spielen dabei PDGF, IGF, TGF- β . Die WF lösen die Einwanderung und Vermehrung undifferenzierter Mesenchymalzellen aus, die dann zu funktionstüchtigen spezifischen Zellen ausreifen.



Abb. 6: Proliferative Phase der Endzündung

4. Geweberestrukturierung – reparative Phase

In der reparativen Phase (Abb. 7) findet die gewebstypische Differenzierung der undifferenzierten Mesenchymzellen statt.



Abb. 7: Reparative Phase der Endzündung

2.6 Regeneration des Parodonts

Das Ziel der parodontalen Regeneration ist den Alveolarknochen, den Wurzelzement und ein funktionell ausgerichtetes Desmodont wieder aufzubauen.

Restitutio ad integrum also die vollständige Regeneration wird als Reproduktion oder Rekonstruktion eines verloren gegangen oder verletzten Teils zur vollen, ursprünglichen Form und Funktion definiert.

Weil die folgenden Prozesse die hauptsächlichen Mechanismen der parodontalen Regeneration darstellen, leisten die Wachstumsfaktoren bei der **Restitutio ad integrum** eine bedeutende Hilfe.

Die Mechanismen, die die parodontale Regeneration begleiten, laufen sowohl auf der molekularen als auch auf der zellulären Ebene ab.

Zur molekularen Ebene zählen:

- Wachstumsfaktoren und
- Matrixproteine (sowohl kollagene als auch nicht-kollagene).

Zur zellulären Ebene zählen:

- Proliferation,
- Migration,
- Differenzierung,
- Adhäsion der Zellen (Abb. 8).

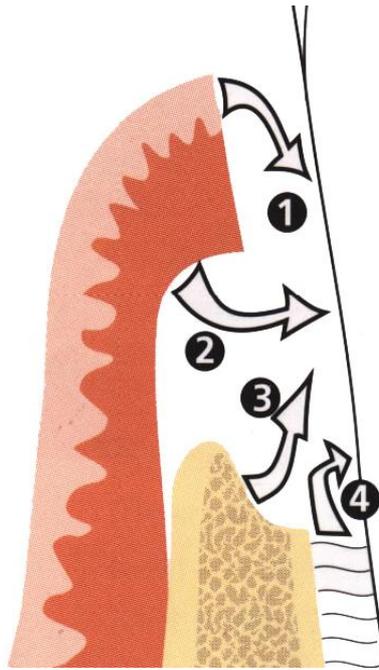


Abb. 8: Nach der Kürettage können die Wurzeloberfläche 1) Epithelzellen, 2) gingivalen Bindegewebszellen, 3) Knochenzellen oder 4) Wurzelhautzellen besiedeln.

1. Epithelzellen überziehen sehr schnell das Granulationsgewebe und behindern dadurch die Regeneration. Sie bilden ein so genanntes **langes Kontaktepithel** (langes Saume epithel) welches auf der Wurzeloberfläche liegt und damit die Möglichkeit einer neuen Zementbildung versperrt.
2. Gingivale Bindegewebszellen sind ebenfalls nicht in der Lage ein bindegewebiges Attachment zur Wurzeloberfläche, die vorher pathologisch verändert war, herzustellen. Nach konservativer Behandlung erfolgt meistens eine bindegewebige Wiederanheftung, wobei sich die Fasern parallel der Wurzeloberfläche anlegen, ohne in den Zement einzudringen.
3. Knochenzellen besitzen ebenfalls keine Fähigkeit ein neues Bindegewebsattachment zu induzieren. Außerdem zeigen sich Resorption und Ankylose an den Stellen, wo Knochenzellen unmittelbaren Kontakt mit den vorher kürettierten Wurzeloberflächen hatten.
4. Wurzelhautzellen waren ursprünglich für die Produktion von Knochen, Zement und Desmodont zuständig. Sie sind daher fähig durch mitotische Aktivität in einem erneuten Zellzyklus einzutreten und sich neu zu differenzieren. Es kommt dadurch zu einer
 - Synthese einer extrazellulären Matrix sowie zu einer

- Differenzierung in Zementoblasten und Osteoblasten.

Ausschließlich nach der parodontalen Behandlung kommt es bei der parodontalen Regeneration zur Wiedergewinnung der verlorenen Strukturen. Das geschieht durch die Wiederholung der embryonalen Gewebeentwicklung aus Stammzellen, die auch im postfetalen Organismus lebenslang möglich ist. Zahnentwicklung und Regeneration verlaufen nach einem ähnlichen Muster.

Im Falle der Knochenneubildung wird der Prozess der Knochenregeneration als **Osteoinduktionskaskade** bezeichnet.

Embryonale Stammzellen werden vom Organismus postfetal konserviert um bei Bedarf zur Ausheilung eines Knochendefekts aktiviert zu werden (Heijl et al., 1997).

Durch ein molekulares Signal, ein synthetischer Faktor (wie dem Bone Morphogenetic Protein (BMP) oder einem autologen Wachstumsfaktor) oder durch Matrixproteine werden Bindegewebestammzellen aktiviert, die sich anschließend in Vorläuferzellen differenzieren. Die molekularen Mediatoren üben ihre Wirkung durch Anbindung an spezifische Oberflächenrezeptoren aus. Die Aktivierung des Rezeptors regt die intrazellulären Signalwege an (Saygin et al., 2000).

PDL-Zellen besitzen die Fähigkeit *in vitro* auf einem Mineralisationsmedium zu mineralisieren. Deshalb wird vermutet, dass PDL-Zellen in der Lage sind zu Zementoblasten und Osteoblasten zu differenzieren (Mukai et al., 1993; Carnes et al., 1997).

Zahlreiche Untersuchungen lassen darauf schließen, dass Vorläuferzellen von Zementoblasten und Osteoblasten für die parodontale Regeneration rekrutiert werden können (Nyman et al., 1982; Lin et al., 1994). Die Knochenvorläuferzellen teilen sich unter dem Einfluss von Wachstumsfaktoren und bilden später Geflechtknochen, der anschließend zu reifem Knochen umgebaut wird. Diese Kaskade terminiert sich später selbstständig.

Beim Parodont bildet sich außerdem neuer azellulärer Fremdfasorzement, der fest mit dem Dentin verbunden ist und darüber hinaus das neue parodontale Ligament, dessen Fasern in den neu gebildeten Zement einstrahlen.

Mit Bezug auf das regenerative Potenzial des gingivalen Bindegewebes untersuchten Karring, Nyman, aber auch andere wie z.B. Melcher und Isidor, welche Zellen fähig sind, verlorenes Parodont zu regenerieren (Melcher, 1976; Karring et al., 1980; Isidor et al., 1985; Karring et al., 1985; Melcher et al., 1987).

Nur da, wo Reste des parodontalen Ligaments verblieben sind, kann sich ein neues parodontales Ligament bilden. Die Knochenzellen allein haben also kein bzw. nur ein geringes Potenzial, um das Desmodont zu regenerieren.

Des Weiteren besitzt das gingivale Bindegewebe vermutlich keine Zellen, die ein neues bindegewebiges Attachment induzieren könnten.

Vom Lappen nach apikal ausgewachsene gingivale Bindegewebszellen zeigten die aktive Resorption an den Wurzeloberflächen über die koronale Grenze des neuen Attachments hinaus.

Ein regeneratives Potenzial besitzen hauptsächlich die PDL-Zellen. Sie sind fähig, an einer entblößten, beschädigten Wurzeloberfläche neues bindegewebiges Attachment zu bilden.

Die Progenitorzellen für die Zementbildung sind meist im parodontalen Ligament zu finden, nicht aber im Knochen.

Ein im Zahnfach verbliebener Wurzelreste dient als Quelle für PDL-Zellen, die z.B. auf die Implantatoberfläche proliferieren können. Auf der Fläche des Implantates, das beim Affen eingesetzt wurde, konnte sich eine Zementschicht mit Fasern bilden, die sowohl in die Zementschicht als auch in den Knochen insertieren können (Buser et al., 1990).

2.7 Regenerative Konzepte

Eine optimale Parodontaltherapie setzt die Regeneration des Parodonts voraus.

Regeneration des Parodonts heißt seine Struktur und Funktion wieder aufzubauen.

Die Hauptfunktionen des Parodonts sind:

- den Zahn im Kieferknochen zu verankern und
- die Integrität der Mundhöhlenschleimhaut aufrechtzuerhalten.

Durch die Möglichkeit des Knochenaufbaus und der Regeneration des zerstörten Weichgewebes erhalten die Zähne ihr natürliches Stützgewebe zurück.

Es gibt folgende Möglichkeiten der parodontalen Regeneration (Knochenaufbau):

1. Einsatz von mitogenen Faktoren, u.a. Wachstumsfaktoren und BMP,
2. Tissue Engineering,
3. Einsatz von Schmelzmatrixproteinen,
4. Transplantattechniken,
5. Konditionierung der Wurzeloberfläche (Bio-Modifizierung),
6. Gesteuerte Geweberegeneration (GTR).

2.7.1 Mitogene Faktoren zur parodontalen Regeneration

Mitogene Faktoren sind alle Peptide, die die Funktion der entsprechenden Zellen anregen. Dazu zählen Bone Morphogenetic Proteins, autologe Wachstumsfaktoren, Zytokine (IL, TNF- α) sowie Hormone.

2.7.1.1 Regeneration mittels Bone Morphogenetic Proteins (BMP)

Bone Morphogenetic Proteins (BMP) sind eine Klasse von körpereigenen Mediatoren, die eine besondere Rolle beim Aufbau von Knochengewebe spielen (Urist, 1965).

Das Knochenwachstum wird nicht nur von körpereigenen Faktoren gesteuert, sondern kann auch von rekombinanten Faktoren, die gentechnisch produziert worden sind, stimuliert werden. Wang et al. (Wang et al., 1990) konnten die BMP Strukturen weiter aufklären und BMP auch rekombinant herstellen. Im Falle von BMPs werden sie rhBMP (recombinant human Bone Morphogenic Proteins) genannt.

Sie sorgen für Differenzierung von mesenchymalen Progenitorzellen zu reifen Osteoblasten oder Chondroblasten und können die phänotypische Expression von PDL-Zellen verändern. Eine hohe Wirksamkeit der BMPs wurde bereits, auch in der parodontalen Regeneration, experimentell nachgewiesen (Ripamonti et al., 1994; Wozney, 1995; Cochran et al., 1999; Terheyden et al., 1999; Wikesjo et al., 2004).

Allerdings werden die BMPs im Gewebe sehr schnell wirkungslos, da sie rasch freigesetzt und ausgewaschen werden. Man weiß noch wenig darüber, wie die BMPs in mehreren Stufen die Entwicklung von Knochenzellen aus Vorläuferzellen steuern und in welchem Ausmaß BMPs alleine für die Knochenbildung verantwortlich sind. Mehrere Tierstudien zeigten, dass die Applikation von BMPs, vornehmlich BMP-2 und BMP-7,

die parodontale Regeneration mit Neubildung von Zement, Faserapparat und Knochen fördern konnte (Sigurdsson et al., 1995; Kinoshita et al., 1997; Terheyden et al., 1999).

2.7.1.2 Regeneration mittels autologer Wachstumsfaktoren

Der Einsatz biologischer Mediatoren, wie z.B. Wachstumsfaktoren, zeigte bereits in der Vergangenheit sowohl in in-vivo-Studien als auch in in-vitro-Studien, in den Kulturen mit fetal Kalb Serum, viel versprechende Ergebnisse.

Weibrich hat die Wachstumsstimulation von humanen osteoblastenähnlichen Zellen durch Thrombozytenkonzentrate in vitro durchgeführt. Die Steigerung der Proliferationsrate von humanen Zellen ossärer Herkunft ist in vitro durch die Zugabe von Thrombozyten konzentrationsabhängig bis zu einem Plateau realisierbar. Eine Übertragung der in vitro verwendeten Thrombozytenkonzentrationen auf die in-vivo-Situation ist nur theoretisch möglich (Weibrich et al., 2002). Jedoch sollte das Prinzip der durch Zugabe von Thrombozyten bis zu einem Plateau steigerbaren Proliferationsrate auch in einem komplexen biologischen System gelten.

Die Stimulation der Kollagensynthese in parodontalen Ligamentzellen und in den humanen Osteoblasten kann in vitro durch eine hohe Thrombozytenkonzentration verursacht werden (Kawase et al., 2003; Okuda et al., 2003).

Fibrin, das nach der Abspaltung von Fibrinogen entsteht, kann in Kombination mit den Wachstumsfaktoren die parodontale Wundheilung fördern.

Thrombozytenkonzentraten können als Quelle für Wachstumsfaktoren, besonders für PDGF und TGF- β , dienen. Außerdem haben Thrombozytenkonzentraten auch die Fähigkeit zum Hemmen der Proliferation von Epithelzellen, was für die parodontale Wundheilung besonders vorteilhaft ist (Okuda et al., 2003).

Die relevanten Wachstumsfaktoren wurden schon umfassend beschrieben. Ihre Rolle bei der parodontalen Regeneration ist besonders bedeutsam, da sie sowohl allein als auch in Kombination mit Knochenersatzmaterialien gute und viel versprechende Ergebnisse hervorbringen.

Kassolis hat eine Fallserie mit dem autologen Thrombozytenkonzentrat (aTK) in Kombination mit gefriergetrocknetem Knochen bei der Sinusbodenelevation und/oder

Kammaugmentation beschrieben (Kassolis et al., 2000). Dabei hat er berichtet, dass seine klinischen und histologischen Ergebnisse darauf hinweisen, dass FDDB (Freeze-Dried Bone Allograft) mit thrombozytenreichem Plasma eine aussichtsreiche therapeutische Alternative zur alleinigen Implantation darstellt.

Es wurden auch zahlreiche Studien durchgeführt (siehe unten), in denen man die Knochenregeneration durch die Mischung des aTK und Knochen, bzw. Knochenersatzmaterialien, gefördert hat.

Wiltfang et al. haben eine Studie durchgeführt, in der Knochendefekte von kritischer Größe im vorderen Schädelbereich eines Meerschweinchens mit autologen Knochen, Körnern aus Tri-Calcium-Phosphat, Spongiosablöcken aus Rinderknochen oder einem aus Rinderknochen gewonnenen Kollagenschwamm aufgefüllt wurden. All diese Präparate wurden entweder mit oder ohne aTK eingesetzt (Wiltfang et al., 2004). Es hat sich ergeben, dass ein plättchenangereichertes Plasma bei kombiniertem Einsatz mit einem Xenotransplantat keine zusätzlichen Vorteile brachte. Man konnte jedoch mit dem Zusatz von aTK zum autologen Knochen in der Anfangsphase der Heilung einen signifikanten Einfluss auf die Knochenregeneration feststellen.

Im Gegensatz dazu existiert eine weitere Studie, in der erfolgreiche Ergebnisse beim Einsatz von aTK mit FDDB publiziert wurden. Lynch et al. berichten über Anfangsbeobachtungen nach dem Aufbringen von PDGF und IGF-1 auf Zähne von Beagle Hunden mit Parodontitisschäden (Lynch et al., 1991). An den mit den WF behandelten Stellen waren nach zwei Wochen neu gebildeter Knochen sowie Zementneubildungen vorhanden. Den neu gebildeten Knochen bedeckte eine fast vollständige Osteoblastenschicht. Dies wurde darauf zurückgeführt, dass eine Kombination von PDGF und IGF-1 die Regeneration des Parodonts verbessert hatte.

2.7.2 Tissue Engineering

Damit Zellen sich teilen und geeignetes Gewebe bilden können ist eine Umgebung erforderlich, die die Zelldifferenzierung und -aktivität stimuliert.

In der Parodontologie konzentrieren sich zahlreiche Forschungsprojekte auf Osteoblasten und PDL-Fibroblasten (Briem et al., 2005).

Beim Tissue Engineering bildet eine Matrixstruktur die stimulierende Umgebung. Sie trägt auf ihrer Oberfläche induktive Faktoren oder Zellen. Dazu gehören z.B.:

- rekombinante Wachstumsfaktoren,
- autologe Wachstumsfaktoren – aufgereinigt und konzentriert aus dem Blut des Patienten,
- Zellen autologen Knochens, die in der Zellkultur vermehrt werden, und
- autologes Knochenmark, das knochenbildende Zellen und Wachstumsfaktoren enthält.

In der Knochenregeneration verfolgt die Technik des Tissue Engineering folgende Ziele:

- beschleunigte Heilung von Hart- und Weichgewebe,
- Vergrößerung des Volumens des Transplantats,
- Behandlung von Grenzindikationen, die bisher nicht erfolgreich behandelt werden konnten.

2.7.3 Regeneration mit Schmelzmatrixproteinen

Schmelzmatrixproteine (SMP) sind Proteine, die während der Wurzelentwicklung durch die Zellen der Hertwigschen Scheide, bei der Sekretionsphase, produziert werden.

Die Hertwigsche Epithelscheide ist ein vom zervikalen Rand des glockenförmigen Schmelzorgans apikalwärts wachsender Schlauch des Schmelzepithels, der die Wurzel formiert (Slavkin et al., 1988; Schröder, 1992; Hammarstrom et al., 1996). Hauptbestandteile der SMP sind Amelogenine, daneben können Enameline (Non-Amelogenin azidische Proteine), Ameloblastin, Tuftelin, Dentin- Sialophosphoprotein, Enamelysin (MMP-20), Enamel Matrix Serine-Protease-I und weitere Peptide

nachgewiesen werden (Deutsch et al., 1995; Deutsch et al., 2002). Diese Proteine, von denen Amelogenin einen etwa 90-prozentigen Anteil bildet, sind entscheidend bei der Genese von azellulärem Wurzelzement, parodontalem Ligament und Knochen (Slavkin, 1976).

Kurz nach der Sekretionsphase bilden sich Fibroblastennester, in denen sich relativ undifferenziertes Bindegewebe der dentalen Follikel befindet. Undifferenzierte Progenitorzellen reagierten auf die SMP vermehrt mit Proliferation und reifere Zellen differenzierten sich zu mineralisierenden Phänotypen (Schwartz et al., 2000). Die PDL-Zellen migrieren dann durch das sich reduzierende Schmelzepithel und produzieren, wenn sie an der Wurzeloberfläche angekommen sind, azelluläres Zement (Slavkin et al., 1989; MacNeil and Somerman, 2000).

Bisher hat man angenommen, dass die Schmelzmatrixproteine nur bei der Bildung von Hydroxyapatitkristallen im Schmelz beteiligt sind.

Mit der Entdeckung, dass das Amelogenin auch die Bildung von azellulärem Zement induziert, eröffnen sich neue Perspektiven für die parodontale Regeneration (Hammarstrom et al., 1997; Heijl, 1997). Dabei spielt der Wurzelzement eine wichtige Rolle.

Bei der Parodontitisbehandlung werden porcine Schmelzmatrixproteine (Emdogain®; EMD, Biora, Malmö, Schweden) auf die Zahnwurzeloberfläche appliziert und führen zur Wiederherstellung von Zahnzement, Fasern und Kieferknochen. Zahlreiche klinische Untersuchungen zeigten signifikant mehr Attachmentgewinn nach Anwendung der SMP, vor allem bei infraalveolären Defekten (Okuda et al., 2000; Camargo et al., 2001; Sculean et al., 2001). Dabei wird sowohl natürlicher azellulärer Zahnzement (Heijl et al., 1997; Hirooka, 1998; Mellonig, 1999; Sculean et al., 1999; Gestrelus et al., 2000; Schwartz et al., 2000; Sakallioğlu et al., 2004) als auch, im Fall der Sculean Studie der zelluläre Zement wiederhergestellt (Sculean et al., 1999).

Wirkmechanismus

Die genauen biologischen Mechanismen können noch immer nicht komplett erklärt werden. Bei einem niedrigen pH-Wert löst sich das Amelogenin in Propylenglykolalginat (PGA) (kommerziell verfügbares Präparat - Emdogain®). Nach Applikation im Mund bei

neutralem pH-Wert und Körpertemperatur nimmt die Viskosität des Gels (Emdogain®) ab und das Amelogenin fällt aus.

Amelogenin lagert sich an Hydroxylapatit, Kollagen und an der gesäuberten Zahnwurzel ab, bindet und formt dort in Gegenwart divalenter Kationen (Ca^{2+} und Mg^{2+}) unlösliche kugelförmige Komplexe und fördert Zelladhäsion (Hoang et al., 2002).

Diese Amelogeninkomplexe sind hinreichend lange beständig (etwa zwei Wochen), um eine Protein-Zell Interaktion zu bewirken. Daraufhin spezifizieren sich Mesenchymzellen zu Zementoblasten und beginnen neues azelluläres Wurzelzement zu produzieren.

Die Schmelzmatrixproteinen induzieren auch die Freisetzung autologer Wachstumsfaktoren, besonders TGF- β , was günstige Auswirkungen auf die parodontale Wundheilung indirekt verursacht (Lyngstadaas et al., 2001).

In der Folge wachsen kollagene Fasern ins Gewebe ein. Es kommt zur kompletten Neubildung aller Anteile des Halteapparates und des Alveolarknochens (Hammarstrom et al., 1997; Heijl, 1997). Durch Gestrelus wurde außerdem nachgewiesen, dass die Schmelzmatrixproteine das Wachstum von apikal einwachsendem Epithel bremsen (Gestrelus et al., 1997; Gestrelus et al., 1997).

2.7.4 Transplantatetechniken

In einer Reihe klinischer Experimente und Tierversuche wurde die Lappenoperation mit dem Einbringen von Knochenpartikeln oder Implantatmaterialien in den Defekt kombiniert um die parodontale Regeneration zu stimulieren.

Die verwendenden Materialien lassen sich je nach Herkunft in folgende Kategorien einteilen:

1. **Autogene Transplantate** – Grafts, die von einer Körperstelle zu einer anderen Körperstelle des selben Individuums transplantiert werden:
 - kortikaler Knochen,
 - spongöser Knochen,
 - Knochenmark.

2. **Allogene Transplantate** – Transplantate zwischen genetisch verschiedenen Individuen einer Spezies:

- lebende Spongiosazellen,
- sterilisierte Spongiosazellen,
- Knochenmark,
- gefriergetrockneter Knochen (FDBA: Freezed Dried Bone Allograft),
- gefriergetrockneter Knochen Matrix (DFDBA Demineralized Freezed Dried Bone Allograft). Die Kombination von Demineralisation und Gefriertrocknung allogenen Knochens kann das Risiko der Krankheitserregerübertragung und Allergisierung reduzieren.

3. **Xenogene Transplantate** – Grafts von einem Spender einer anderen Spezies, die aus Tierknochen hergestellt werden.

4. **Alloplastische Materialien** – sind synthetische Materialien mit guter Biokompatibilität. Hierzu zählen:

- Kalziumcarbonat,
- beta-Tricalciumphosphat (β -TCP),
- Hydroxylapatit,
- Bioglas, sowie
- kalziumbeschichtete Polymere (Polymethylmethacrylate und Hydroxyethylmethacrylate).

Wenn das Ersatzmaterial Knochenzellen enthält, fördert es die eigentliche Osteogenese. Wenn aber das Ersatzmaterial keine Knochenzellen enthält, bildet es lediglich das Gerüst, welches den sich bildenden Knochenzellen als Leitstruktur dient. Dieser Fall wird als Osteokonduktion bezeichnet (Froum et al., 1998; Lovelace et al., 1998; Lindhe et al., 2003).

2.7.5 Konditionierung der Wurzeloberfläche

Die Grundvoraussetzung für die parodontale Behandlung und damit auch die Regeneration ist die Beseitigung von Bakterien, Konkrementen und bakteriellen Toxinen von der Wurzeloberfläche.

Durch Demineralisation der Wurzeloberfläche kommt es einerseits zur Entfernung des dünnen Films aus Blutprodukten, Speichel und Bakterien, dem so genannten Smear Layer, andererseits wird aber auch das Kollagen im Dentin freigesetzt und damit die Zementablagerung durch Umwandlung von Mesenchymalzellen in Zementoblasten gefördert. Somit wird die Regeneration des Gewebes angeregt (Blomlof et al., 1997; Blomlof et al., 1997; Gamal and Mailhot, 2003). Klinische Studien sowohl am Menschen als auch am Tier haben nachgewiesen, dass eine bessere Regeneration parodontalen Gewebes mittels der Wurzelkonditionierung zu erzielen ist (Caffesse et al., 1985; Wikesjo et al., 1988; Yalim et al., 1989; Blomlof et al., 1996). Es gibt aber auch Studien die zeigen, dass Wurzelkonditionierung keinen Einfluss auf die durch Emdogain erzielten Regenerationsergebnisse hat (Parashis et al., 2006; Sculean et al., 2006).

Zur Konditionierung dienen:

- Zitronensäure,
- Tetracyclin-HCl oder
- EDTA (Ethylendiaminetetraacetic Säure) - pH neutral.

Als Nachteile sind Ankylosen und Wurzelresorption dokumentiert, deren Intensität pH-Wert abhängig ist (Boyko et al., 1981; Valenza et al., 1987).

2.7.6 Gesteuerte Geweberegeneration

Das Konzept der gesteuerten Geweberegeneration (GTR) gilt zwar als ein etabliertes Verfahren der regenerativen Parodontaltherapie, birgt aber, wie alle derzeit zur Verfügung stehenden Verfahren, eine große Variabilität und die geringe Vorhersagbarkeit der Heilungsergebnisse in sich.

Das Prinzip der GTR basiert auf experimentalen Studien. Diese Studien beweisen, dass die Progenitorzellen, die fähig sind, das parodontale Ligament mit eingebetteten Kollagenfasern zu bilden, ihre Quelle im parodontalen Ligament haben.

Die klinische Anwendung der GTR-Technik in der Parodontaltherapie geschieht durch den Einsatz einer physikalischen Barriere (Membrane), die sicherstellt, dass die Wurzeloberfläche durch Zellen des parodontalen Ligaments und nicht durch das schnell wachsende Saumepithel besiedelt wird.

GTR ist keine Maßnahme zur Behandlung der Parodontitis, sondern ist zur Regeneration von Parodontitis bedingten Defekten gedacht.

Ein Barrierematerial sollte folgende Anforderungen erfüllen (Tonetti et al., 1993; Laurell and Gottlow, 1998):

1. Biokompatibilität – Es soll keine Immunreaktionen, Sensibilisierung oder Entzündungen auslösen.
2. Barrierefunktion – Es soll die nicht erwünschten Zellen von der Wunde zurückhalten, aber die Nährstoffe diffundieren lassen.
3. Gewebeintegration – Das Gewebe soll in die Membran einwachsen, aber nicht durch sie hindurch (Warrer et al., 1992).
4. Platzhalterfunktion – Sie muss den Raum über der Wurzeloberfläche für die Zellen aus dem Ligament absichern.
5. Form – Sie muss in geeigneten Standardformen geliefert werden.

In den ersten Jahren wurden ausschließlich nicht-resorbierbare Membranen eingesetzt, die in einer Zweitoperation wieder entfernt werden mussten. Nicht-resorbierbare Membranen bestehen in der Regel aus Polytertafluorethylen oder expandiertem Polytertafluorethylen (PTFE und ePTFE (Cytoplast[®] Non Resorb, PTFE Barrier Membrane, TefGen-PLUS[™], BioBarrier[™], GoreTex[®]) oder Titan (TIOMESH, FRIOS[®] BoneShield, Titanium Mesh).

Um diese zusätzliche operative Belastung des Patienten und die damit verbundene Traumatisierung des noch empfindlichen, frisch regenerierten Gewebes zu vermeiden, beschäftigt sich die Forschung seit einigen Jahren mit der Suche nach einem geeigneten resorbierbaren Membranmaterial. Resorbierbare Membranen können aus xenogenen Gewebe (porcinen, bovinen oder equinen Ursprungs Kollagen) gewonnen werden (OSSIX PLUS Membrann, Geistlich Bio-Gide[®], Geistlich Bio-Gide[®] PERIO wird aus Schweinekollagen hergestellt; GENTA-COLL[®] resorb Foil, BIOCOLLAGEN[®], Hypro-Sorb[®] F, OSTEOPLANT ELITE[®], PAROGUIDE Kollagen, RESODONT[®], TissuFoil E Kollagenfibrillen sind equinen Ursprungs; BioSorb[®] Collagen Resorbable

Membrane, RCM6 Collagen und OsseoGuard™ Typ-I-Kollagen sind bovinen Ursprungs) oder werden aus synthetisch biologisch abbaubaren Polymeren, wie Polylaktid oder Polyglycolid, hergestellt (Fortoss Cema™ Calciumsulfat, ATRISORB® DIRECT-Polylaktid, Vicryl Membranen, Inion GTR™ Biodegradable Membrane, BioCelect™ Synthetic Resorbable Membrane, BioCelect™ Osseo Membrane, Epi-Guide®). Diese abbaubaren Materialien zeigen eine bessere Gewebeintegration, lösen sich bei akzidenteller Exposition auf und werden vom Körper bei erfolgreicher Einheilung vollständig resorbiert.

Bisher werden sowohl nicht-resorbierbare als auch resorbierbare Barrieremembranen eingesetzt, in der Hoffnung, dass das Epithel von der Wurzeloberfläche ferngehalten wird.

Resorbierbare Materialien haben den Vorteil, dass ein Zweiteingriff zur Entnahme entfällt. Andererseits muss gewährleistet sein, dass sie ohne Schädigung vollständig abgebaut werden und die dabei freigesetzten Produkte den regenerativen Prozess nicht behindern.

Die gesteuerte Geweberegeneration kann durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden.

Es gibt drei Hauptfaktoren, die das klinische Ergebnis der GTR steuern:

1. Patientenfaktoren,
2. Defektfaktoren,
3. Technische Faktoren.

Patientenfaktoren: Ein hohes Niveau der Mundhygiene des Patienten hat einen erheblichen Einfluss auf ein positives Ergebnis der GTR, wohingegen Tabakkonsum und die restliche parodontale Entzündung im Gebiss einen bedeutenden negativen Effekt nach sich ziehen können. Den Einfluss der Patientenfaktoren haben 1994 Cortellini und 1995 Tonetti untersucht (Cortellini et al., 1994; Tonetti et al., 1995).

Defektfaktoren: Eine große Rolle bei der Heilung spielt auch die Defektopografie (Rosling et al., 1976; Tonetti et al., 1993). Die Anzahl der vorhandenen Knochenwände beeinflusst das Ergebnis verschiedener regenerativer Verfahren (Goldman and Cohen, 1958; Schallhorn et al., 1970). Einwandige Defekte heilen nicht besonders günstig aus;

zwei- und dreiwandige Defekte haben sehr große Chancen für den Wiederaufbau des Knochens.

Technische Faktoren: Eine erfolgreiche GTR setzt eine sorgfältige Lappenpräparation, ein korrektes Platzieren der Membran, einen dichten Wundverschluss und eine optimale postoperative Mundhygiene voraus.

3. Ziel der Studie

Das Ziel des Projekts bestand in der Verbesserung und Erweiterung der klinischen Anwendung thrombozytärer Produkte. Es wurden dabei sowohl präparationstechnische Fragen als auch die zellbiologischen Abläufe im klinischen Einsatz des Thrombozytenkonzentrats berücksichtigt.

Klinisch wurde die randomisierte, kontrollierte Evaluierung der Heilung von infraalveolären Defekten nach Parodontalbehandlung mit bzw. ohne Thrombozytenkonzentrat (PRGF) nach dem PRGF-Verfahren (Fa. Wieland, heute BTI, Pforzheim, Deutschland) in einem Zeitraum von zwölf Monaten erfasst und bewertet.

Mit Messungen des klinischen Attachmentniveau und der Sondierungstiefe wurde untersucht, ob Plasma rich in growth factor (PRGF) in der Lage ist, die Quantität des Attachments und die Knochenregeneration zu erhöhen.

Das Ziel der Studie war aber auch die Konzentration von Leuko- und Thrombozyten in den Blutprodukten durch Laboruntersuchung zu bestimmen.

4. Material und Methode

4.1 Studiendesign

Es wurde eine randomisierte, Einfachblindstudie mit Split-mouth-Design durchgeführt. Die Studie wurde durch Ethikkommission genehmigt (Antragsnummer EA2/074/06). Probanden waren Patienten mit schwerer Parodontitis aus der Praxis von Dr. E. Marggraf (Schwerpunkt: Parodontologie und Implantologie) in Berlin-Steglitz. Die Patienten wurden zuerst mit Scaling und Wurzelglättung unter Anästhesie behandelt. Nach 2 bis 4 Monaten wurden die Therapieergebnisse evaluiert und je nach Ergebnis wurde eine chirurgische Behandlung geplant. Die Studie dauerte zwölf Monate. Zwanzig Patienten mit einem durchschnittlichen Alter von 43 (zwischen 18 und 63) Jahren nahmen an der Studie teil, von denen 18 die Studie beendet haben (drei Männer und fünfzehn Frauen).

4.2 Patientenauswahl

Die Patienten wurden nach folgenden Einschluss- bzw. Ausschlusskriterien ausgewählt.

Einschlusskriterien

- Bei jedem Studienpatient sollten mindestens 2 kontralaterale Zähne mit einer approximalen Sondierungstiefe (ST) von • 7mm klinisch und eine Knochentasche (KT) von • 4mm auf dem Röntgenbild feststellbar sein.
- Die Defekte sollten im kontralateralen Quadranten lokalisiert sein.
- Die Defekte sollten bei symmetrischen Zahngruppen auftreten.
- Die Patienten sollten über eine gute Mundhygiene verfügen (PLI <1).
- Die Patienten sollten eine schriftliche Einverständniserklärung zur Behandlung und Teilnahme am Recallprogramm der Studie unterschreiben.

Ausschlusskriterien

- Patienten, die unter systematischen Krankheiten leiden, wie z.B. Diabetes mellitus, Tumoren oder AIDS.

- Patienten mit Erkrankungen des Knochenmetabolismus oder unter langjähriger Behandlung mit Steroide oder irgendeiner Therapie, die den parodontalen Knochenaufbau beeinflussen könnte.
- Raucher, die mehr als 10 Zigaretten pro Tag rauchen.

4.3 Präparation des Thrombozytenkonzentrates - Plasma Rich in Growth Factor (PRGF)

Das von der Firma Wieland (heute BTI, Pforzheim Deutschland) entwickelte Verfahren um Thrombozytenkonzentrate in der Praxis zu gewinnen ist die in dieser Studie gewählte Art der Herstellung.

Sämtliche Arbeitsvorgänge wurden in der Praxis durchgeführt.

Blutabnahme

Etwa 20 Minuten vor Beginn des Eingriffs erfolgte die Blutentnahme durch eine ausgebildete Fachkraft. Das Blutentnahmeset wird in der Abb. 9 vorgestellt.

Es besteht aus:

- Butterfly-Kanüle, Kunststoffaufsatz (Greiner bio-one, Krämsmünster, Österreich),
- Vakuum-Blutentnahme-Röhrchen mit Natrium-Citrat-Lösung (BTI, Pforzheim, Deutschland; Terumo Europe, Leuven, Belgien).



Abb. 9: Blutentnahmeset

Je nach Größe des späteren Operationsfeldes und des vorliegenden Defekts wurde das Blut in zwei bis acht Röhrchen (je 4,5 ml) entnommen (etwa 10 bis 40 ml).

Mittels der Butterfly-Kanüle ist eine Blutentnahme mit Wechsel der Vakuum-Röhrchen möglich (Abb. 10).

Die Röhrchen enthalten 10% Trisodium-Citrat-Lösung zur Gerinnungshemmung (Abb. 11).



Abb. 10: Blutabnahme



Abb. 11: Mit Blut gefüllte Citrat-Vakuum-Röhrchen

Zentrifugierung

Bei der Gewinnung vom Thrombozytenkonzentrat werden üblicherweise die Blutkomponenten mittels Zentrifugation entsprechend der Schwerkraft aufgetrennt.

Die Blutproben werden dann 8 Minuten lang bei 1800 Umdrehungen pro Minute bei Raumtemperatur zentrifugiert (Abb. 12).



Abb. 12: P.R.G.F. Zentrifuge

Nach dem achtminütigen Zentrifugationsvorgang ist in den Röhrchen eine klare Trennung der Erythrozyten von der Plasmaschicht zu erkennen. Dazwischen befindet sich der so genannte Buffy Coat – die Schicht reich an Leukozyten (siehe Abb. 13).

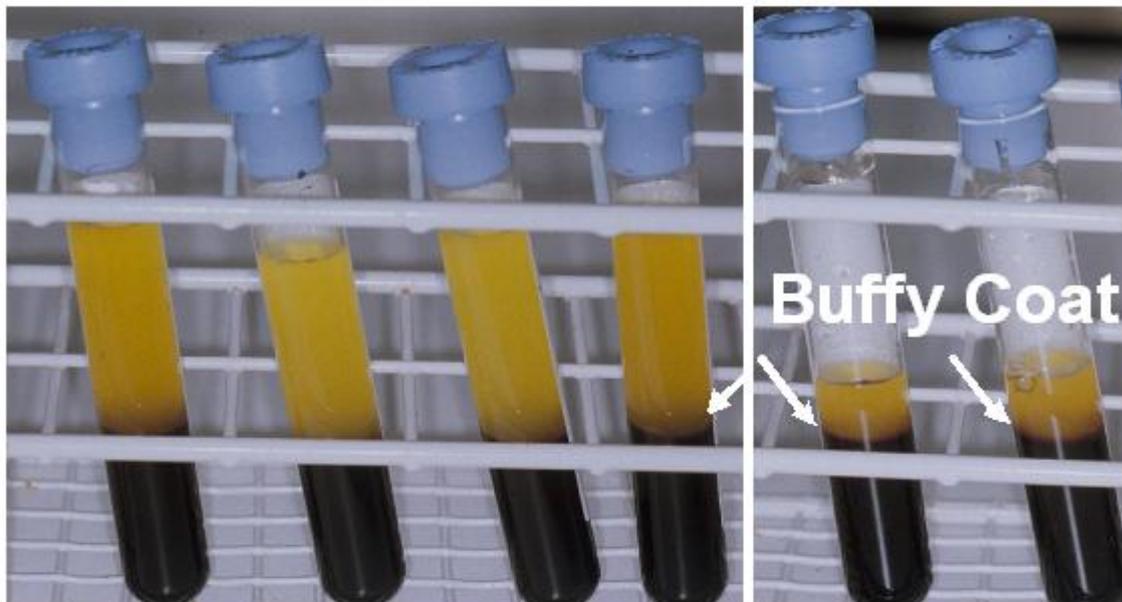


Abb. 13 : Citrat-Röhrchen nach der Zentrifugation

Die Separation des plättchenarmen Plasmas vom plättchenreichen Plasma (Abb. 14) ist schwieriger zu sehen.

Prinzipiell gibt es drei Fraktionen, die jetzt schematisch in der Abb. 14 dargestellt sind.



Abb. 14 : Schema der drei abgetrennten Plasmafraktionen

Abpipetierung

Die einzelnen Plasmafraktionen wurden vorsichtig mittels Pipetten getrennt und in verschiedene Röhrchen verteilt (Abb.15).

Dafür wurden zwei verschiedene Pipetten verwendet (100 und 50 μ l).

Die Fraktionen I und II wurden mittels 0,5 ml Pipetten abgezogen und in zwei zuvor geöffnete sterile „rote“ Vacutainer-Glasröhrchen überführt.

Der Rest des Plasmas, das im Röhrchen blieb, das PRGF, wurde auch in ein separates, steriles, geöffnetes Vacutainer-Glasröhrchen überführt. Um die Messung genauer durchzuführen, wurde eine 0,1 ml Pipette verwendet, je nach Hämatokrit zwischen 5- und 15-mal. Mit der kleinen Pipette ist es auch möglich in der PRGF-Fraktion möglichst wenig Leukozyten zu haben.



Abb.15: Abpipetierung

Aktivierung

Das PRGF wurde mit der 10% Calciumchlorid-Lösung ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; BTI, Pforzheim, Deutschland), als Antagonist des zur Antikoagulation zugegebenen Zitrats, aktiviert um die Blutgerinnung anzuregen.

Zur Verfügung stehen die 10 ml Ampullen CaCl_2 (Ca Inhalt: 0,456 mmol/ml, 18,24mg/ml); siehe Abb. 16.



Abb. 16: Die Ampulle mit dem CaCl_2

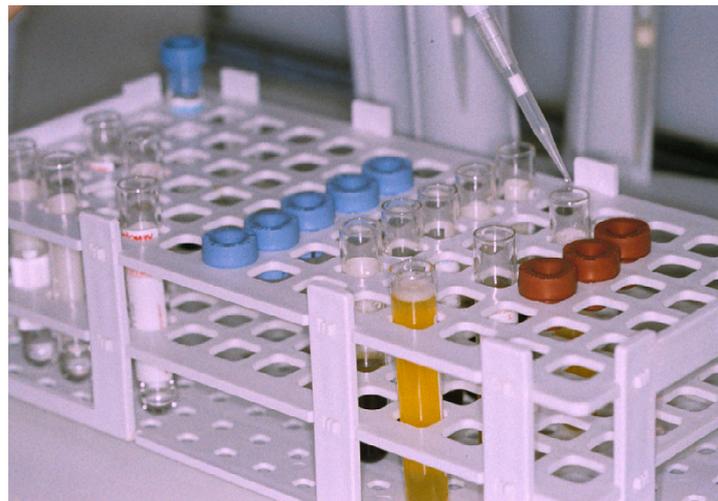


Abb. 17: Aktivierungsprozess

Jedes 1 ml Plasma wurde mit 50 μl Calciumchlorid aktiviert (Abb. 17).

Nach etwa 20 Minuten (5 bis 8 Minuten laut Herstellerangabe) steht das fertige PRGF-Gel zur Verfügung (Abb.18).

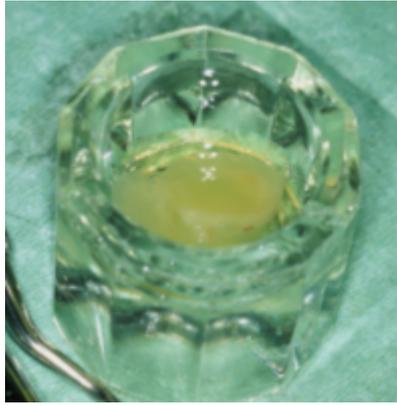


Abb. 18 : Das PRGF-Gel

4.4 Verlauf der Studie

Der Studienplan wird schematisch in Abb.19 dargestellt.

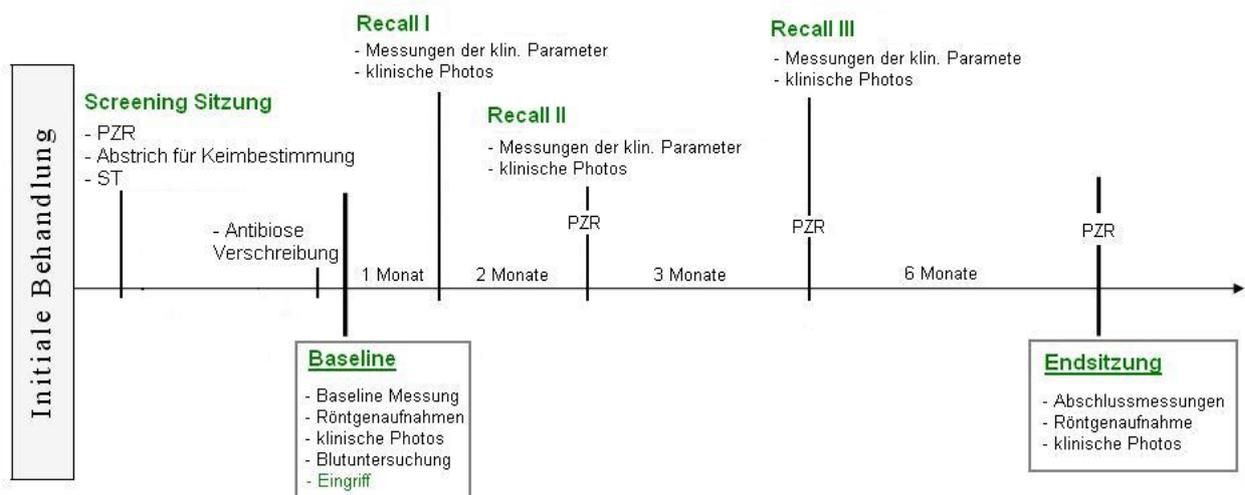


Abb. 19: Verlauf der Studie

- Nach einer Screening-Sitzung nahmen alle ausgesuchten Teilnehmer an einer Prophylaxesitzung teil, wo sie eine professionelle Zahnreinigung (PZR) erhielten.
- Um die mechanische Traumatisierung durch die Zahnbürste zu vermeiden, wurden die Patienten über die modifizierte Bass-Methode instruiert.
- Da die Patienten zu diesem Zeitpunkt multiple aktive Taschen aufwiesen, wurde eine Medikation mit Antibiotika durchgeführt (Amoxicillin 500 mg / Metronidazol 250 mg).
- Zusätzlich wurde vorher eine Keimbestimmung durchgeführt.

- Die Antibiose, die dann 14 Tage dauerte, wurde 3 Tage vor dem Eingriff angefangen.
- Nach dem Eingriff wurde alle 3 bis 4 Monate eine professionelle Zahnreinigung vorgenommen.
- Es wurde Dolomo[®] (Wirkstoff: Acetylsalicylsäure + Koffein / Kodein + Paracetamol) als Analgetikum verschrieben, das nach Bedarf eingenommen werden sollte.
- Der Patient spülte sich den Mund nach dem Eingriff für 2 Wochen mit einer 0,12% Chlorhexidindiglukonat-Lösung zwei- bis dreimal pro Tag aus.
- Das Zähneputzen wurde im betroffenen Bereich für eine Woche eingestellt.

- Der chirurgische Eingriff (siehe Kap. 4.5) fand im Rahmen der Baseline-Sitzung statt.
- Ebenfalls zur Baseline-Sitzung sowie zu jedem Nachkontrolltermin wurden folgende Mundhygiene-Indizes erhoben (siehe Kap. 4.7).
An allen Zähnen:
 - API (Lange et al. 1977) und
 - PBI (Saxer et al. 1977).An Test- und Kontrollzähnen:
 - PLI (Löe 1967),
 - GI (Löe 1967),
 - BOP.
- Bei der Baseline-Sitzung und jedem Nachuntersuchungstermin wurden klinische Parameter erhoben (siehe Kap. 4.6):
 - Sondierungstiefe (ST) und
 - Rezessionstiefe (RT).
- Es folgten Nachuntersuchungstermine nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten. Zu den Zeitpunkten wurden auch klinische Bilder gemacht.
- Bei jedem Nachkontrolltermin wurden die Patienten nach der Intensität der Schmerzen, dem Ausmaß der Schwellung, nach Überempfindlichkeit der Zahnhäule und eventuell weiteren Auffälligkeiten befragt. Die Bemerkungen der Patienten wurden aufgeschrieben.
- Bei der Baseline- und Abschlusssitzung wurden Röntgenaufnahmen angefertigt mittels derer die Knochendefekte gemessen wurden.

- Alle Röntgenbilder wurden digitalisiert und mit dem PC-Programm „Scion Image“ (Scion Corporation, Maryland, USA) ausgewertet. Mit den Röntgenbildern wurde jeweils das transparente Lineal, mit einer Millimeterskala drauf, gescannt. Die Markierung auf dem Lineal wurde nachher zum Kalibrieren des PC-Programms genutzt. Zur Auswertung der Veränderungen des Knochenniveaus wurden nach Empfehlung von Eickholz et al. (Kim et al., 2003) entsprechende Längen gemessen. Zum Ersten der Abstand zwischen Schmelz-Zement-Grenze (SZG) und der apikalsten Ausdehnung (dem Boden) des knöchernen Defekts (KDB). Zum Zweiten der Abstand zwischen Schmelz-Zement-Grenze und dem Punkt, der die vertikale Projektion des koronalen Knochenkamms auf der Wurzelfläche darstellt (KK). Falls die Schmelz-Zement Grenze unter der prothetischen Versorgung lag, wurde als Referenzpunkt der Rand der Versorgung genommen. Die Tiefe des Knochendefekts wurde als Unterschied zwischen beiden Abständen, d.h. $SZG - KDB$ minus $SZG - KK$ berechnet.
- Alle Röntgenbilder wurden von derselben Person, der Untersucherin ausgewertet.

Hierbei handelte es sich um eine blind kontrollierte Studie. Die chirurgischen Eingriffe wurde von Dr. E. Marggraf (Praxis Marggraf, Berlin-Steglitz) durchgeführt.

Die Erhebung der klinischen Daten, sowie die Auswertung der Ergebnisse wurden jeweils vor und nach den chirurgischen Eingriffen von der Verfasserin durchgeführt.

4.5 Operationsvorgänge

Test- und Kontrollzähne wurden in der derselben Sitzung und gleichartig behandelt. Der einzige Unterschied bestand darin, dass an den Testzähnen während des parodontalchirurgischem Eingriffs PRGF aufgetragen wurde.

Vor Beginn eines jeden Eingriffs bei einem Patienten wurde anhand einer Münze zufällig bestimmt, ob die rechte oder die linke Seite als Testseite (mit PRGF) behandelt werden sollte.

Zahl oben hieß, dass die rechte Seite als die Testseite (mit PRGF) behandelt wurde und Kopf (Wappen) oben hieß, dass die linke Seite als Testseite betrachtet wurde.

Testzähne

- Als Lokalanästhetikum wurde Ultracain® D-S forte mit Epinephrinhydrochloridzusatz 1:100 000 verwendet.
- Die subgingivalen Konkrementen aus den Zahnfleisch- und Knochentaschen, falls noch vorhanden, wurden sorgfältig mit Hilfe von Universal- und Gracey-Küretten gereinigt und die Wurzeloberfläche wurde geglättet.
- Es wurde ein mikrochirurgischer Access-Flap mit intrasulkulärer Inzision durchgeführt, welche jedoch geringer als beim konventionellen Access-Flap ausfiel.
- Die Wurzelglättung wurde zusätzlich mittels flammenförmigen Diamanten und die Taschenspülung mittels eines Ultraschall-Scalers durchgeführt. Nach diesen Tätigkeiten entstand an der Wurzeloberfläche eine breite Tasche.
- Der Defekt wurde ausgespült und die überschüssige Flüssigkeit abgesaugt.
- Die exponierte Wurzeloberfläche wurde nach der Depuration mit dem 24%igen, sterilen EDTA-Gel (Pref-Gel®, Straumann, Freiburg, Deutschland) für zwei Minuten konditioniert.
- Das Pref-Gel® wurde danach sorgfältig mit dem Absauger und dem Ultraschall-Scaler aus der Tasche beseitigt (siehe Abb. 41).
- Nach der Biomodifikation wurde in die saubere Tasche hinein die **PRGF-Fraktion** platziert.
- Die Aufmerksamkeit hierbei wurde darauf gelenkt, dass die Applikation unter Vermeidung der Speichelkontamination durchgeführt wird.
- Die aktivierte PRGF-Fraktion verfügt jetzt über eine klebrige, dicke Konsistenz, wodurch das Aufbringen in die Tasche mit Hilfe von Raspatorium unkompliziert ist (siehe Abb. 42). Die aktivierten Thrombozyten formen die feste gelartige Substanz, die einfach in der Tasche, sowohl im Unter- als auch im Oberkiefer, bleibt.

Wenn noch Platz in der Tasche vorhanden war, wurde noch die zweite aktivierte Fraktion hineinplatziert.

Folgend wurden die Ränder der Tasche sorgfältig mit einem Tupfer zusammengezogen.

Die Wunde wurde anschließend mit mikrochirurgischen Einzelknopfnähten (Nahtmaterial der Stärke 6-0 oder 5-0, Prolene, Ethicon, Inc., USA), die für primären Lappenschluss im interdentalen Bereich sorgen, versehen.

Kontrollzähne

Es wurde die gleiche Prozedur durchgeführt mit Ausnahme, dass nach der Wurzelglättung und Taschenspülung die Tasche mit dem Tupfer sorgfältig zusammengezogen und genäht wurde.

4.6 Messung der klinischen Parameter

Schematisch auf der Abb. 22 dargestellt.

1. Der Mundhygienestatus wurde nach folgenden Kriterien bestimmt:
 - Approximal Plaque Index API (Lange et al.1977),
 - Modified Plaque Index PLI (Löe, 1967).

2. Der gingivale Zustand wurde nach folgenden Kriterien bestimmt:
 - Gingiva-Index GI,
 - Papillen-Blutungs-Index PBI (Saxer et al. 1977).

3. Für die Messung der Taschentiefen wurde eine parodontale Sonde PCPMC (Hu-Friedy, Chicago, USA) und ein Spiegel verwendet:
 - Sondierungstiefe (ST),
 - Bleeding on Probing (BOP).

4. Die Taschentiefe wurde als Abstand zwischen dem Rand der marginalen Gingiva und dem Taschenboden gemessen.

5. Die Taschentiefe wurde an den Molaren, an acht Messstellen im Oberkiefer und an zehn im Unterkiefer erhoben, an den anderen Zähnen an sechs Messstellen.

6. Die Taschentiefe und Rezessionstiefe wurden bei jedem Nachkontrolltermin an allen Zähnen erhoben.

7. Die Rezessionstiefe wurde mit der gleichen Sonde gemessen, als Abstand zwischen der Schmelz-Zement Grenze (SZG) und dem Rand der marginalen Gingiva. Wenn die SZG nicht zu sehen war, wurde ein anderer Referenzpunkt festgesetzt.
 - Rezessionstiefe (RT).
8. Der klinische Attachmentlevel wurde für jede Zahnfleischtasche als Summe der Sondierungstiefe und der Rezessionstiefe berechnet.
 - Clinical Attachment Level (CAL).
9. Der Attachmentgewinn bzw. -verlust wurde als Differenz zwischen den CAL-Werten an den verschiedenen Nachkontrollterminen berechnet.

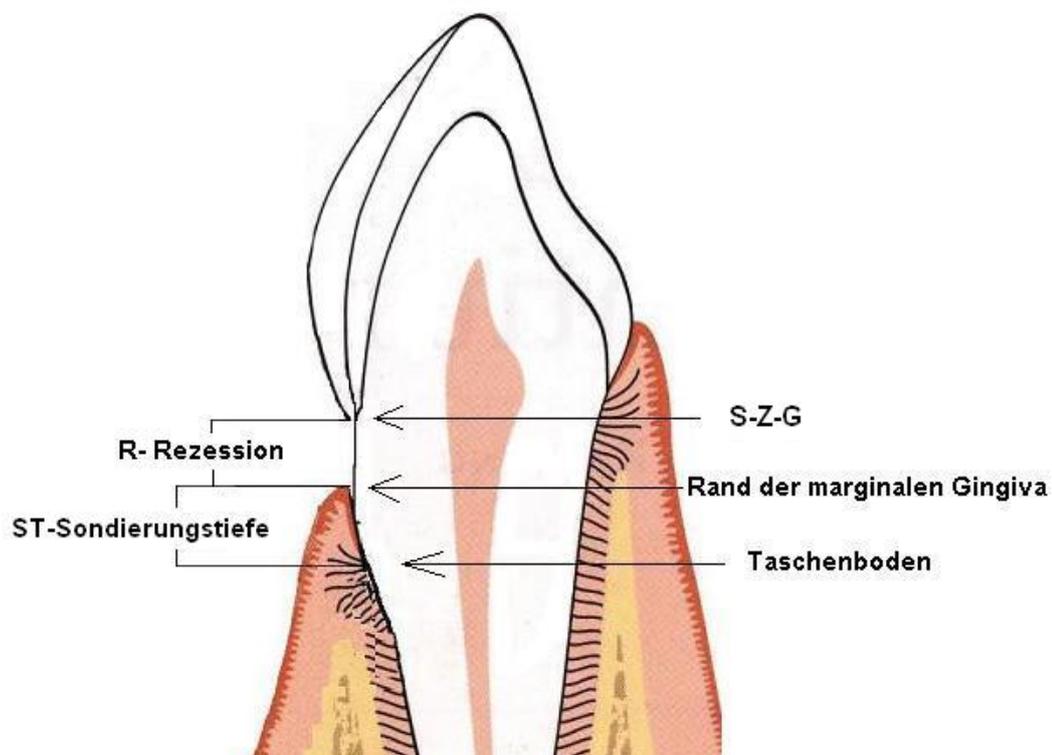


Abb. 20: Schematische Darstellung der klinischen Parameter

4.7 Messung der Laborparameter

Die im Rahmen dieser Studie verwendeten Thrombozytenkonzentrate wurden an der Medizinische Klinik III-Hämatologie, Onkologie und Transfusionsmedizin - Charite, Prof. Dr. med. Dr. h.c. E. Thiel, Campus Benjamin Franklin untersucht. Dabei wurde die

Menge von Thrombozyten und Leukozyten sowohl in jeder Blutfraktion als auch im Vollblut bestimmt (Abb. 23).

Es wurden 80 Blutproben von 20 Patienten (16 Frauen und 4 Männer) mit einem durchschnittlichen Alter von 42 Jahren untersucht.



Abb. 21: Die Röhrcchen mit dem Vollblut und den drei Plasmafraktionen

Die Menge der o.g. Blutzellen wurde mittels der **COULTER[®] A^c-TTM8** (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA) Messmaschine (Abb. 24) mittels Impedanzmessung und durchflusszytometrische optische Messung bestimmt.

Charakteristik der COULTER[®] A^c-TTM8:

1. Es werden nur vitale Zellen gemessen.
2. Eine Menge von 12 μL Flüssigkeit ist bereits ausreichend um die Analyse durchführen zu können.
3. Jede Probe wird durch einmalige Entnahme nach dem Einschrittverfahren gemessen.
4. Die Metallröhrcchen, die das Material absaugten, werden gleich gereinigt.
5. Die Resultate sind in 60s auf dem Display und werden auch gleich gedruckt.

Alle Proben wurden mit dem gleichen Gerät gemessen, das nach Bedarf aber nicht seltener als alle sechs Monate geeicht wurde und zur Routinediagnostik der Hämatologie eingesetzt wurde.

Um die Ergebnisse zu bestätigen, wurde das Material zweimal untersucht. Diese Kontrollmessung hat die Reproduzierbarkeit der Befunde gezeigt.



Abb. 22: COULTER® A.C.T 8™

4.8 Statistische Analysen

Für die deskriptive Statistik wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen verwendet, nachdem eine Prüfung auf Normalverteilung erfolgt war. Für die Berechnung der statistischen Signifikanz wurde ANOVA (Analysis of variance) verwendet. Die Signifikanzgrenze wurde auf $P < 0,05$ festgelegt. Alle Berechnungen erfolgten mit dem Programm SPSS 13.0 (SPSS Inc. USA).

5. Ergebnisse

5.1 Ergebnisse der klinischen Untersuchung

In der Studie wurden zwanzig Patienten eingeschlossen und in dem beobachteten Zeitraum verminderte sich die Anzahl an Patienten um zwei. Dies entspricht einer Gesamtzahl von 64 beobachteten Zähnen. Bei jedem beobachteten Zahn wurde für die Studie eine Tasche, die tiefste, ausgewählt, die größer oder gleich sieben Millimeter war. Die Gesamtzahl der Taschen verteilte sich symmetrisch auf zwei Therapiearme der Studie: jeweils 32 Zähne für die Behandlung mit oder ohne Thrombozytenkonzentratsatz. Ebenfalls waren die ein- und mehrwurzeligen Zähne symmetrisch auf die zwei Gruppen verteilt (siehe Tab. 2). Die Heilung verlief bei allen Patienten unauffällig. Komplikationen im Sinne von Zahnverlust, Abszessen, Infektionen oder verlängerter Wundheilung wurden nicht beobachtet.

	Test (PRGF)	Kontrolle
Zahn		
Einwurzeligen	14	14
Mehrwurzeligen	18	18
Lokalisation der Tasche		
Oberkiefer	19	21
Unterkiefer	13	11

Tab. 2: Aufteilung der Zähne auf die Behandlungsgruppen, geschichtet nach Zahnart (ein- oder mehrwurzelig) und Zahnlokalisierung (Ober- oder Unterkiefer)

5.1.1 Ergebnisse der Hauptfragestellungen

Die Ergebnisse der Sondierungstiefen und des Attachmentgewinns wurden aus mesialen oder distalen Sondierungsstellen und nicht aus den arithmetischen Mitteln pro Zahn errechnet.

Test- und Kontrollgruppe zeigten zu Beginn der Untersuchung vergleichbare Ausgangswerte (siehe Tab. 3). Die Taschentiefe betrug durchschnittlich jeweils 7,7 mm auf der Test- und 7,4 mm auf der Kontrollseite. Der Attachmentlevel lag in der Baseline-Untersuchung auf der Testseite auf 7,97 mm und auf der Kontrollseite auf 8,28 mm.

	Testseite	Kontrollseite	Signifikanztest
Taschentiefe (mm)	7,7 ($\pm 1,0$)	7,4 ($\pm 0,9$)	$p = 0,419$
Attachmentlevel (mm)	7,97 ($\pm 1,18$)	8,28 ($\pm 1,85$)	$p = 0,748$

Tab. 3: Ausgangswerte der Taschentiefe und dem Attachmentlevel auf der Test- und Kontrollseite

5.1.1.1 Vergleich der Sondierungstiefe

Die Abb. 23 zeigt als Balkendiagramm die mittlere Sondierungstiefe in Millimeter für alle Zähne (Mittelwert mit Standardabweichung, $n=32$), je Behandlungsart zu den Zeitpunkten Baseline und den Nachuntersuchungsterminen nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten.

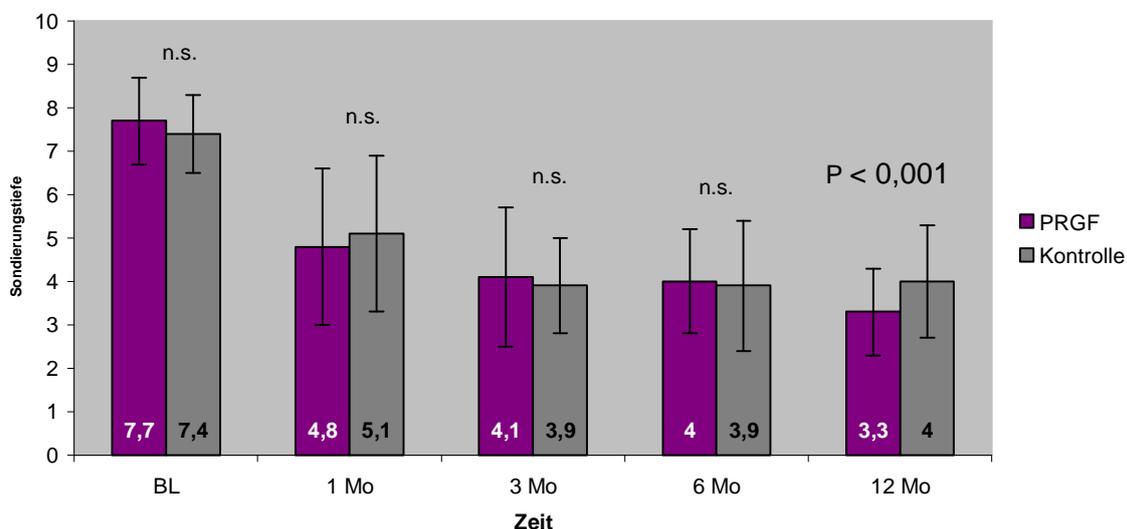


Abb. 23: Mittlere Sondierungstiefe (\pm Standardabweichung) zu Beginn, nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten in Millimeter

Es wurden die Ergebnisse zum Baseline-Zeitpunkt mit denen nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten verglichen. Die Varianzanalyse zeigte in beiden Studiengruppen den

Unterschied der Ergebnisse des ein, drei und sechs monatlichen Intervalls. Signifikant wurde er nur im Fall der zwölfmonatigen Beobachtungszeit (siehe Tab. 5).

Die bedeutenden Veränderungen der Sondierungstiefen waren bei beiden Therapiemethoden zwischen Baseline und dem Nachuntersuchungstermin nach einem Monat zu sehen (Abb. 25, Tab. 4). Allerdings wurde die größere Reduktion der Taschentiefe in diesem Zeitraum mit der PRGF-Methode erreicht. In dem Fall betrug die Abnahme durchschnittlich 2,9 mm. Im Vergleich zeigte die Kontrollgruppe die Abnahme der Taschentiefe um durchschnittlich 2,3 mm.

Die größere Gesamtveränderung weist die PRGF-Gruppe mit einer Verringerung der sondierbaren Taschentiefe um 4,41 ($\pm 1,27$) mm auf. Dieses Ergebnis unterscheidet sich signifikant ($P=0,001$) von der Abnahme der Taschentiefe, die in der Kontrollgruppe erreicht wurde und 3,38 ($\pm 1,13$) mm betrug. Die P-Werte können der Tab. 5 entnommen werden.

	PRGF-Test			Kontrolle		
	Anzahl	Mittelwert	Standard-abweichung	Anzahl	Mittelwert	Standard-abweichung
Baseline	32	7,7	1,0	32	7,4	0,9
nach 1 Mo	24	4,8	1,8	24	5,1	1,8
nach 3 Mo	24	4,1	1,6	24	3,9	1,1
nach 6 Mo	25	4,0	1,2	25	3,9	1,5
nach 12 Mo	32	3,5	0,7	32	4,0	1,3

Tab. 4: Deskriptive Auswertung der Taschentiefe mit allen Zähnen zu Beginn, nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten, je Behandlungsart in Millimeter

	PRGF-Test	Kontrolle	P-Wert
nach 1 Monat	2,92 ($\pm 1,53$)	2,33 ($\pm 1,34$)	P = 0,190
nach 3 Monaten	3,46 ($\pm 0,88$)	3,54 ($\pm 1,06$)	P = 0,837
nach 6 Monaten	3,52 ($\pm 0,92$)	3,48 ($\pm 1,61$)	P = 0,824
nach 12 Monaten	4,41 ($\pm 1,27$)	3,38 ($\pm 1,13$)	P = 0,001

Tab. 5: Taschentiefereduktion zum jeweiligen Zeitpunkt mit entsprechendem P-Wert

5.1.1.2 Vergleich der Gingivarezession

Die Abb. 24 und Tab.6 stellen die Veränderungen der Rezessionstiefe sowohl der Test- als auch der Kontrollzähne dar. Das Liniendiagramm zeigt die graphische Darstellung des Rezessionsverlaufs in Millimetern (Mittelwert mit Standardabweichung).

Die beträchtlichen Veränderungen der Gingivarezessionen waren bei beiden Gruppen im Vergleich von Baseline zum Nachuntersuchungstermin nach einem Monat zu beobachten. Auf der Testseite gab es in diesem Zeitraum die Zunahme um durchschnittlich 0,6 mm. Dann innerhalb von elf Monaten, haben sich die Rezessionen an den Testzähnen um durchschnittlich 0,54 mm zurückgezogen und im Endergebnis sind sie durchschnittlich um 0,32 mm größer als vor der Behandlung geblieben. Im Vergleich zeigten die Kontrollzähne eine geringe Zunahme der Gingivarezessionen im ersten Beobachtungsmonat, durchschnittlich um 0,3 mm. Trotzdem sind sie im Endergebnis auf diesem Niveau geblieben; die gesamte Zunahme betrug durchschnittlich 0,12 mm.

	PRGF-Test	Kontrolle	P-Wert
nach 1 Monat	0,59 ($\pm 1,19$)	0,28 ($\pm 0,99$)	P = 0,42
nach 3 Monaten	0,08 ($\pm 0,58$)	0 ($\pm 0,17$)	P = 0,94
nach 6 Monaten	0,08 ($\pm 0,65$)	0,17 ($\pm 0,78$)	P = 0,2
nach 12 Monaten	0,32 ($\pm 0,9$)	0,12 ($\pm 0,95$)	P = 0,19

Tab. 6: Rezessionabweichung zum jeweiligen Zeitpunkt mit entsprechendem P-Wert

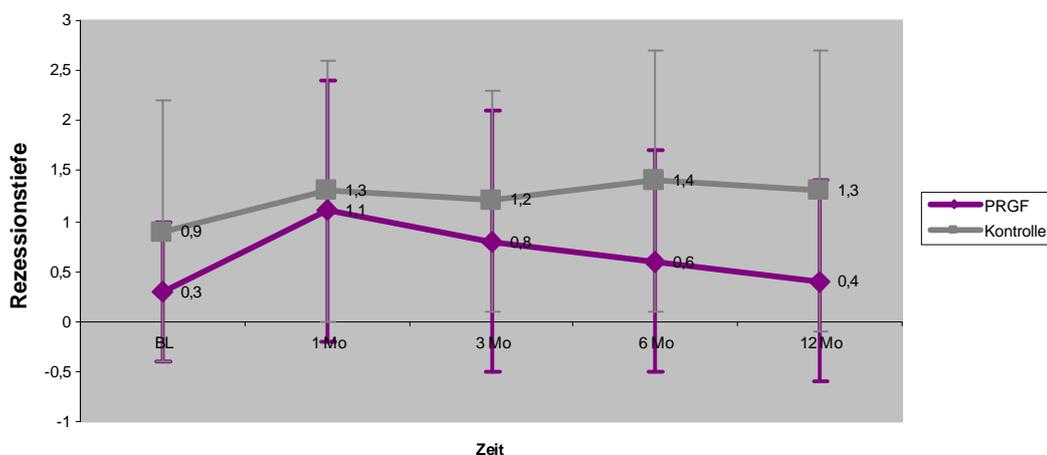


Abb. 24: Mittlere Gingivarezessionen (\pm Standardabweichung) dargestellt zu Beginn, nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten je Behandlungsart in Millimeter

5.1.1.3 Vergleich des klinischen Attachmentlevels

Das Balkendiagramm der Abb. 25 zeigt die graphische Darstellung des klinischen Attachmentlevels (CAL) in Millimeter (Millimeterwert mit Standardabweichung) zu den Zeitpunkten Baseline, nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten. Die beachtliche Veränderung des Attachmentlevels wurde bei beiden Behandlungsmethoden nach einem Monat erreicht. Bei der PRGF-Therapie 2,21 ($\pm 1,84$) mm und bei dem Kontrollverfahren 1,96 ($\pm 1,76$) mm.

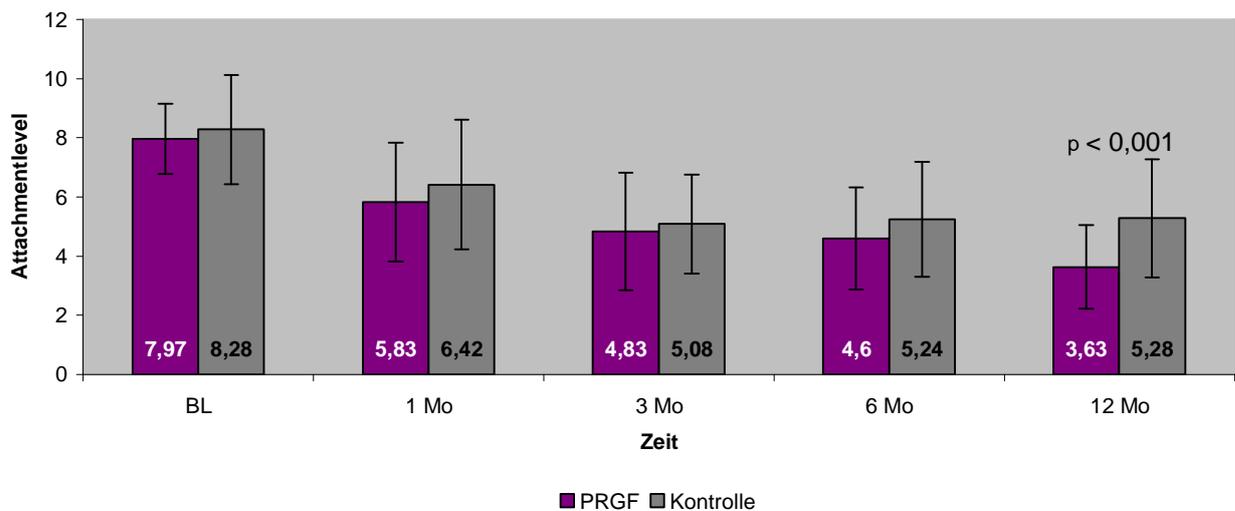


Abb. 25: Mittlere Werte des Attachmentlevels (\pm Standardabweichung) zu Beginn, nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten in Millimeter.

Beim Vergleich der Ausgangswerte des Attachmentlevels mit denen nach einem, drei und sechs Monaten zeigte die PRGF-Therapie im Vergleich zum Kontrollverfahren meistens den stärkeren Attachmentgewinn, der jedoch zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant gewesen ist (siehe Tab. 7).

	PRGF	Kontrolle	P-Wert
nach 1 Monat	2,21 ($\pm 1,84$) mm	1,96 ($\pm 1,76$) mm	P = 1,000
nach 3 Monaten	3,04 ($\pm 1,55$) mm	3,29 ($\pm 1,78$) mm	P = 0,907
nach 6 Monaten	3,20 ($\pm 1,41$) mm	3,04 ($\pm 2,26$) mm	P = 0,605

Tab. 7: Mittlerer Attachmentgewinn (\pm Standardabweichung) zu den Zeitpunkten nach einem, drei und sechs Monaten nach der Behandlung

Statistisch signifikante Unterschiede fanden sich bei dem Parameter klinischer Attachmentlevel erst nach zwölf Monaten. Hierbei schnitt die PRGF-Gruppe mit einem Attachmentgewinn von 4,3 ($\pm 1,3$) mm besser ab, die Kontrolle zeigte einen Attachmentgewinn von 3 (± 2) mm (siehe Abb. 26).

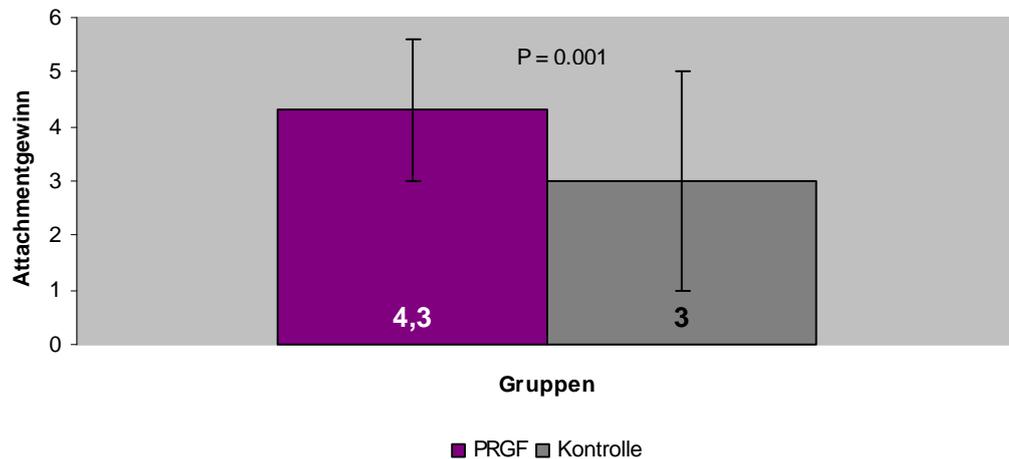


Abb. 26: Mittlerer klinischer Attachmentgewinn (\pm Standardabweichung) im Zeitraum von zwölf Monaten

Die P-Werte für den Vergleich der Wirkung der zwei unterschiedlichen Behandlungsmethoden zum Baseline-Zeitpunkt und den verschiedenen Nachuntersuchungszeiten, und auch die Mittelwerte des Attachmentlevels und der Standardabweichung, können der Tabelle 8 entnommen werden.

	PRGF-Test			Kontrolle			P-Wert
	Anzahl	Mittelwert	Standardabweichung	Anzahl	Mittelwert	Standardabweichung	
Baseline	32	7,97	1,18	32	8,28	1,85	P=0,748
nach 1 Mo	24	5,83	2,01	24	6,42	2,19	P=0,578
nach 3 Mo	24	4,83	1,99	24	5,08	1,67	P=0,330
nach 6 Mo	25	4,60	1,73	25	5,24	1,94	P=0,250
nach 12 Mo	32	3,63	1,41	32	5,28	1,99	P=0,000

Tab. 8: Intergruppenvergleich von klinischem Attachmentlevel zu den Zeitpunkten Baseline, ein, drei sechs und zwölf Monate nach der Behandlung unter Angabe der Anzahl der Zähne, Mittelwerte, Standardabweichungen und P-Werte

5.1.1.4 Vergleich der Knochentaschentiefe – Röntgenanalyse

Auf der Abb. 27 wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen für den Knochenwiederaufbau im Zeitraum von zwölf Monaten in Millimeter dargestellt.

Ausgangswerte der Knochentaschentiefe, in der PRGF-Gruppe gleich 5,21 ($\pm 1,85$) mm und in der Kontroll-Gruppe gleich 5,29 ($\pm 2,29$) mm, waren signifikant nicht unterschiedlich $P=0,146$.

Der Vergleich der Ausgangswerte mit den Endergebnissen zeigte, dass die PRGF-Methode einen signifikant ($P=0,001$) höheren Knochengewinn erzielte: 2,92 mm ($\pm 1,31$) als das Kontrollverfahren: 1,34 mm ($\pm 1,76$).

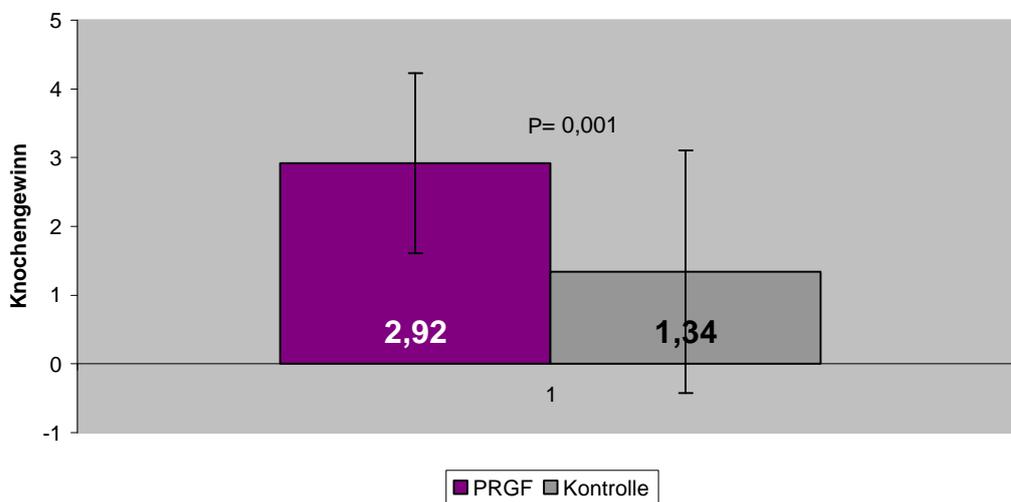


Abb. 27: Mittlerer Knochengewinn (\pm Standardabweichung) im Zeitraum von zwölf Monaten

5.1.2 Ergebnisse der Nebenfragestellungen – Hygieneindizes

5.1.2.1 API – Approximal Plaque Index (Lange et al. 1977)

Die Abbildung 28 zeigt die Veränderungen des Approximal Plaque Index (API) berechnet für die gesamte Zahnzahl (n = 474). Die Ergebnisse sind für die Zeitpunkte Baseline, für einen, drei, sechs und zwölf Monate dargestellt. Es sind keine großen Veränderungen während der Nachkontrollzeit zu sehen. Die Ergebnisse halten sich im niedrigen Bereich, zwischen 6,69% zum Baseline-Zeitpunkt und 15,2% zum Zeitpunkt der letzten Nachkontrolle.

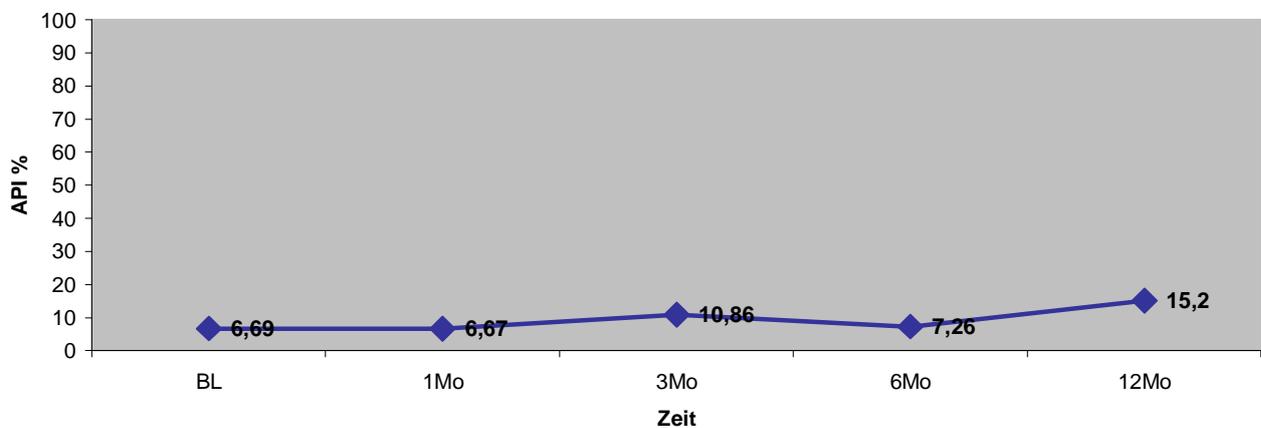


Abb. 28: Mittlere API Werte zu Beginn der Studie, nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten

5.1.2.2 PBI – Papillen-Blutungs-Index (Saxer et al. 1977)

Die Abbildung 29 zeigt die Veränderungen des PBI, ebenfalls berechnet für die gesamte Anzahl der Zähne (n=474). Die Ergebnisse sind für die Zeitpunkte Baseline, einen, drei, sechs und zwölf Monate nach der Behandlung dargestellt. Die Veränderungen, die eintraten, sind sehr gering und halten sich im Bereich zwischen 4,38 zum Zeitpunkt Baseline und 6,83 zur Abschlussuntersuchung. Trotz leichter Zunahme halten sich die Ergebnisse im niedrigen Bereich.

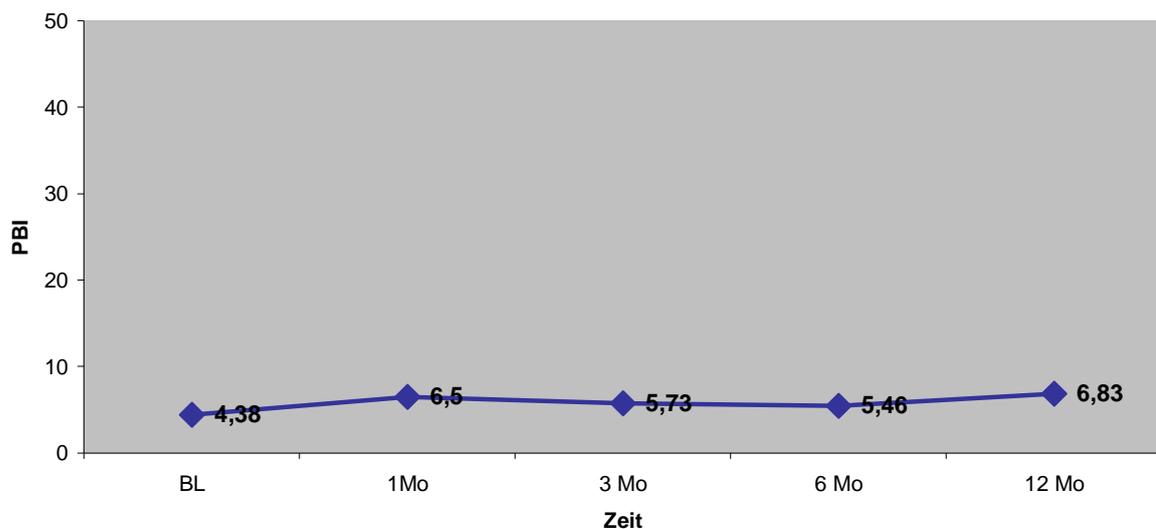


Abb. 29: Mittlere PBI Werte zu Beginn der Studie, nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten

5.1.2.3 PLI – Modified Plaque Index (Löe, 1967)

Die Veränderungen des PLI berechnet für die Test- und Kontrollzähne zeigt die Abb. 30. Die zwei Linien zeigen die Werte der Test- und Kontrollgruppe zu dem Baseline-Zeitpunkt und den Nachuntersuchungsterminen nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten. Die Werte des PLI an den Testzähnen (n=32) sind von 0,15 auf 0,31 gestiegen. An den Kontrollzähnen (n=32) sind nur geringe Veränderungen zu sehen: zwischen 0,2 zur Baseline Untersuchung und 0,15 nach zwölf Monaten Beobachtungszeit. Im Allgemeinen halten sich die Werte im niedrigen Bereich.

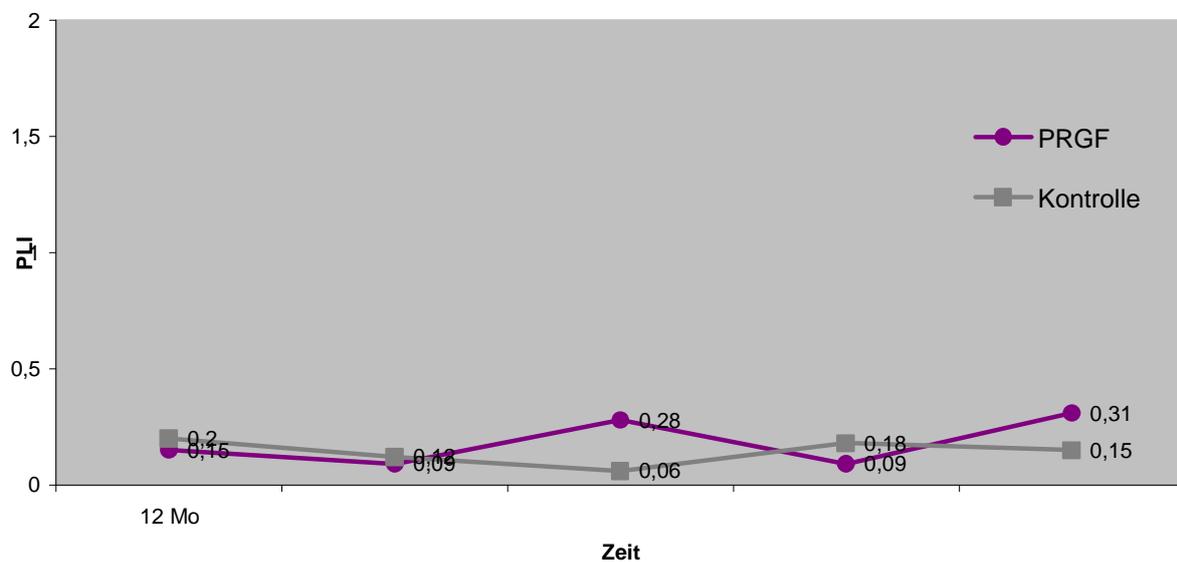


Abb. 30: Mittlere PLI Werte zu Beginn der Studie, nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten

5.1.2.4 GI – Gingiva-Index

Die Abb. 31 stellt die Veränderungen der GI, berechnet für die Test- und Kontrollzähne dar. Die zwei Linien zeigen die Werte der Test- und Kontrollgruppe zu den Zeitpunkten Baseline und den Nachuntersuchungsterminen nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten. Die Behandlung mit dem Einsatz von autologen Wachstumsfaktoren reduzierte den Gingiva-Index erfolgreicher als die herkömmliche Methode. Die größten Veränderungen der Werte auf der Testseite fanden in dem Zeitraum zwischen Baseline und dem ersten Nachuntersuchungstermin, d.h. nach einem Monat, und zwischen dem dritten und dem letzten Nachuntersuchungstermin statt. Da sind die Werte jeweils von 0,43 auf 0,12 und von 0,5 auf 0,18 gesunken. Der Gingiva-Index ist an den Kontrollzähnen gleich geblieben und die Änderungen, die es gibt, waren nur gering.

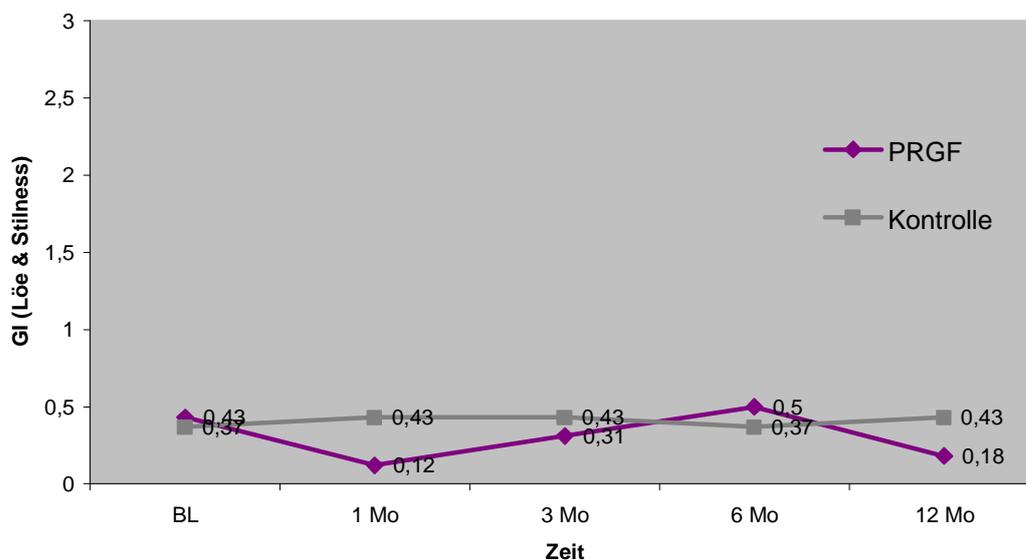


Abb. 31: Mittlere GI Werte zu Beginn der Studie, nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten

5.1.2.5 BOP – Blüten auf Sondierung

Die Abb. 32 zeigt die Entwicklung des BOP-Index. Diese verminderte sich für die Testzähne deutlich von 21,8% zum Zeitpunkt Baseline auf 12,5% zur letzten Nachuntersuchung. Die größte Abnahme fand im ersten Monat nach der Behandlung statt. Am ersten Nachuntersuchungstermin zeigten nur 6,25% der Testzähne eine Provokationsblutung. Die grafische Darstellung des Blutens auf Sondieren an den Kontrollzähnen verlief fast unverändert. Die beiden Gruppen halten sich jedoch im niedrigen Bereich.

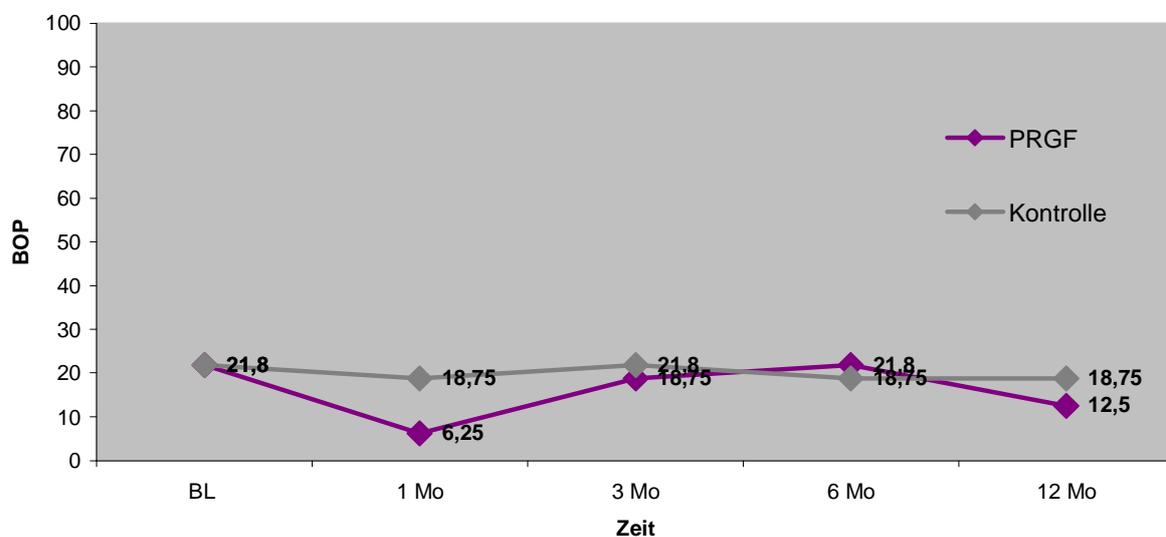


Abb. 32: Mittlere BOP Werte zu Beginn der Studie, nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten

5.2 Ergebnisse der Blut- und Thrombozytenkonzentratuntersuchung

Im Rahmen der Studie wurden Blutanalysen an Vollblut und Thrombozytenkonzentraten – drei Plasma Fraktionen – durchgeführt. Es wurden 20 Vollblutproben und 60 Plasmaproben von insgesamt zwanzig Patienten untersucht. Die maschinelle Zählung der Thrombozyten und Leukozyten wurde an der Hämatologieklinik Charité, Campus Benjamin Franklin, Berlin, mittels der **COULTER® A^c-T™8** Messmaschine (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA) bestimmt.

5.2.1 Ergebnisse der Untersuchung zur Thrombozyten- und Leukozytenkonzentration

In Tab. 9 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Ergebnisse der Blutuntersuchung aufgeführt.

Die Thrombozytenkonzentration im Vollblut variierte zwischen 150000/ μl und 361000/ μl bei einem Mittelwert von 221000 (± 51)/ μl , was der normalen Thrombozytenzahl bei gesunden Patienten entspricht.

	Min.	Max.	Mittelwert	Standardabweichung
Thrombozyten Vollblut	150 000/ μl	361 000/ μl	221 000/μl	$\pm 51 000/\mu\text{l}$
Thrombozyten PRGF	274 000/ μl	622 000/ μl	420 000/μl	$\pm 95 000/\mu\text{l}$
Leukozyten Vollblut	3800/ μl	13100/ μl	6 555/μl	$\pm 2 474/\mu\text{l}$
Leukozyten PRGF	0	700/ μl	210/μl	$\pm 150/\mu\text{l}$

Tab. 9: Thrombozyten- und Leukozytenkonzentration im Vollblut und in der PRGF-Fraktion (n=20)

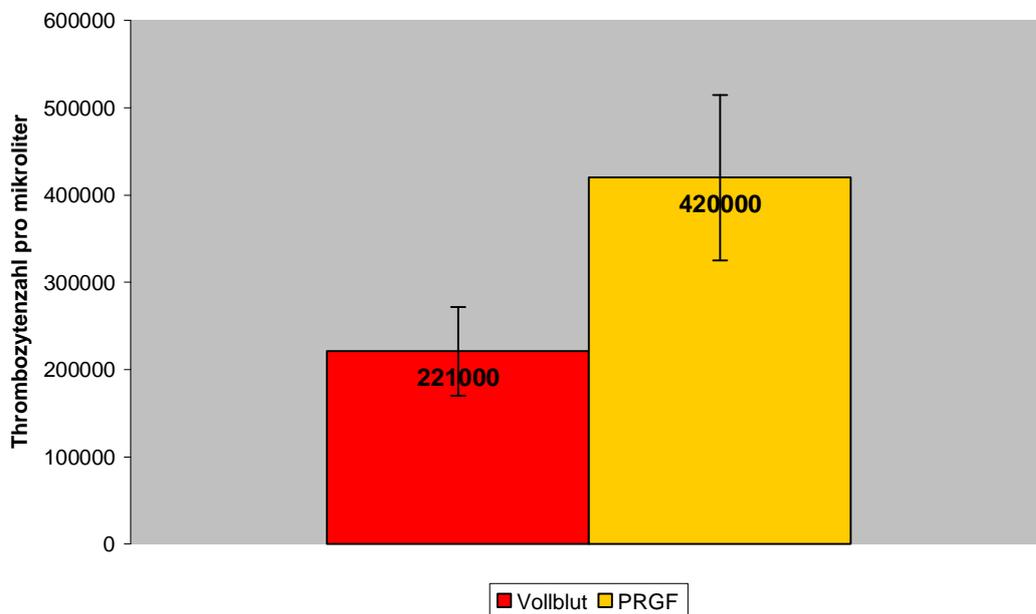


Abb. 33: Konzentration der Thrombozyten im Vollblut und in der PRGF-Fraktion (\pm Standardabweichung) pro Mikroliter

Nach der Zentrifugation ist die Thrombozytenzahl um das 1,9-fache gestiegen (Abb. 33). In der Zielplasmafraktion (PRGF) lag die Thrombozytenzahl zwischen 274 000/ μl und 622 000/ μl bei einer mittleren Konzentration von 420 000 (± 95) / μl (Tab. 9).

Die Leukozytenanzahl lag im Vollblut bei unserer Untersuchung zwischen 3800/ μl und 13100/ μl bei einem Mittelwert von 6555 (± 2474) / μl . Nach der Zentrifugation ist sie um das 31,2-fache gesunken (siehe Abb. 34). In der PRGF-Fraktion lag die Leukozytenzahl zwischen 0 und 700/ μl bei einem Mittelwert von 210 (± 150) / μl (siehe Tab. 8).

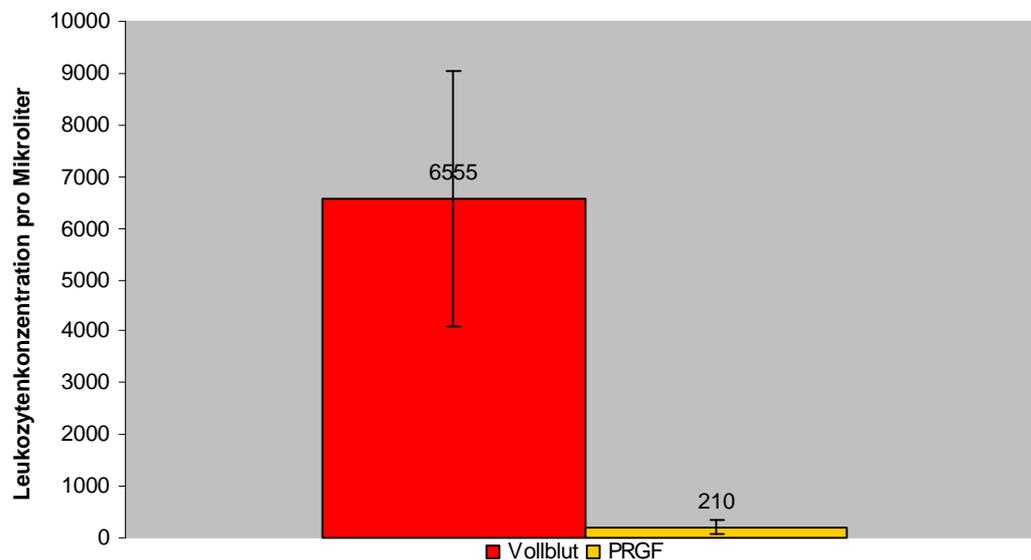


Abb. 34: Leukozytenverteilung im Vollblut und PRGF-Fraktion

5.2.2 Korrelation zwischen den klinischen Ergebnissen und den Laboruntersuchungsergebnissen

In der Analyse des Zusammenhangs zwischen Attachmentgewinn und Thrombozytenkonzentration wurde keine signifikante Korrelation gefunden (lineare Regression; $P=0,337$).

6. Fallbeispiel

Ein Fallbeispiel eines männlichen Patienten im Alter von 31 Jahren. Der Patient kam zur Behandlung mit der Diagnose: fortgeschrittene chronische Parodontitis.

Der Taschenbefund vor der Vorbehandlungsphase ist in der Abb. 35 angegeben.

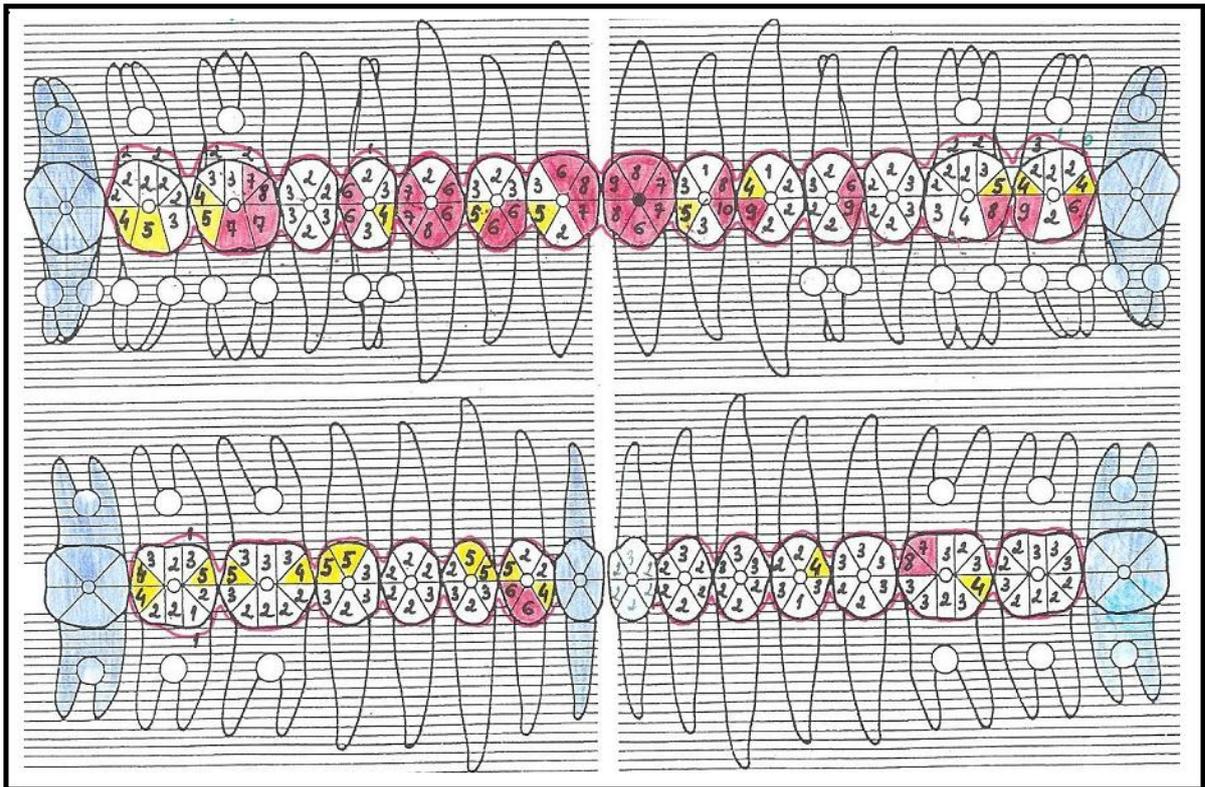


Abb. 35: Taschenbefund vor der Vorbehandlungsphase

Bei dem Patienten wurde die Vorbehandlung durch Scaling und Wurzelglättung durchgeführt.

Zwei Monate später, beim ersten Studientermin, wurde ein Röntgenstatus angefertigt und es wurde ein detaillierter klinischer Befund der Taschen und des Zahnfleisches erhoben sowie klinische Aufnahmen gemacht (Abb. 36 und 37).

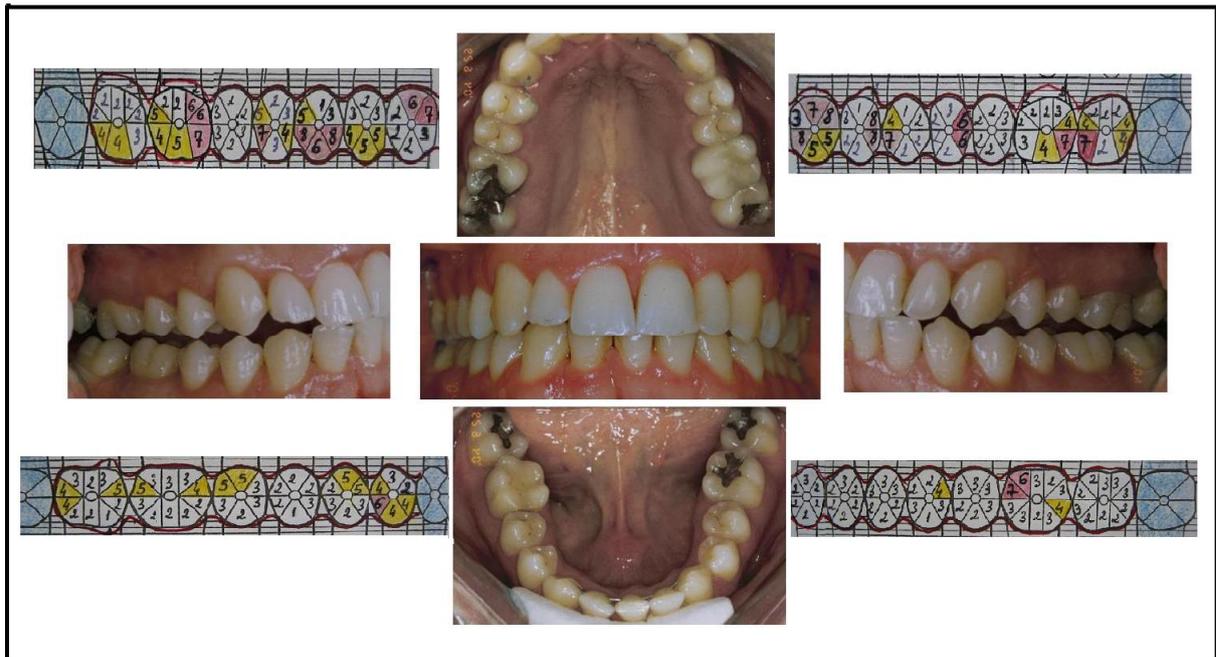


Abb. 36: Sondierungstiefe der Taschen und klinischer Zustand in allen Quadranten
– Baseline-Sitzung

Unter anderem zeigten sich an den Zähnen 11, 21, 16, 26 klinisch und röntgenologisch lokalisierte, tiefe Knochendefekte (Abb. 36 und 37).

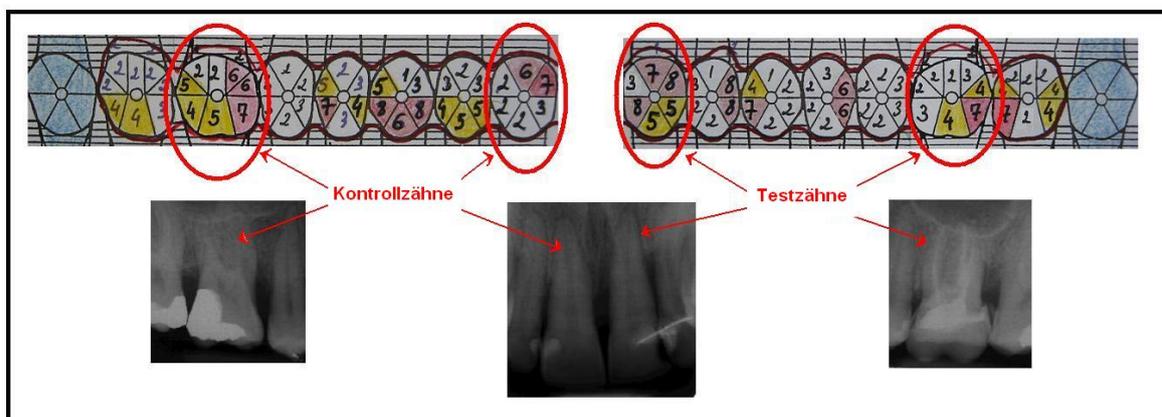


Abb. 37: Sondierungstiefe der Taschen und Röntgenaufnahmen – Baseline-Sitzung

Zu der Testgruppe wurden durch Randomisierung (Münzwurf) die Zähne 21 und 26 zugeordnet und die symmetrisch lokalisierten Zähne 11 und 16 wurden als Kontrollzähne betrachtet.

Die betroffenen Zähne sind nach dem Protokoll behandelt worden.

Kurz vor dem geplanten Eingriff erfolgte die Blutabnahme und damit auch die Präparation von Plasma Rich in Growth Factors (PRGF) (Abb. 38).

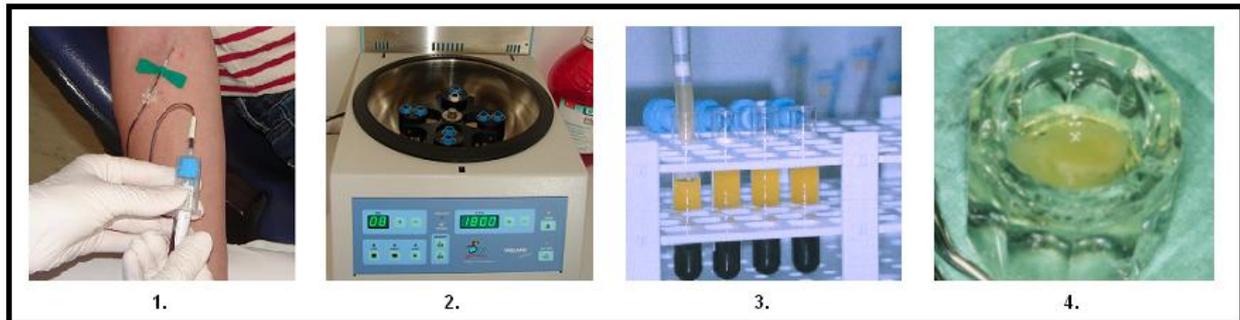


Abb. 38: Preparation von Plasma Rich in Growth Factors, 1. Blutabnahme, 2. die für diese Methode gebrauchte Zentrifuge, 3. Abpipetieren von PRGF, 4. fertiges PRGF-Gel

Dem Patienten wurde 27 ml Blut abgenommen (Abb. 38-1), sechs Röhrchen mit jeweils 4,5 ml (vier wurden zur Behandlung gebraucht und zwei wurden für die Blutuntersuchung benutzt). Die Blutröhrchen wurden dann 8 Minuten lang bei 1800 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Abb. 38-2).

Nach dem Zentrifugieren erfolgte die Abpipetierung der Plasmafraktionen, u.a. auch PRGF (Abb. 38-3).

Das fertige Material (Abb. 38-4) – das PRGF – besitzt eine gummiartige Konsistenz, welches z.B. auch mit einer Schere bearbeitet werden kann, was auf der Abb. 39 zu sehen ist.



Abb. 39: Das fertige PRGF, gleich vor der Applikation in die vorbereitete Zahnfleischtasche

Auf den folgenden Bildern wird eine Beispieloperation dargestellt (die intraoperativen Bilder stammen aus der Vorstudie, da die Untersucherin bei den eigentlichen Studienoperationen nicht zugegen sein durfte). Die gleiche Prozedur wurde bei jedem Studienpatient durchgeführt.

Der Patient wurde unter Lokalanästhetikum (Ultracain® D-S forte) behandelt. Die Zahnfleisch- und Knochentaschen (Abb. 40) wurden sorgfältig mit Hilfe von Universal- und Gracey-Küretten gereinigt und die Wurzeloberfläche wurde geglättet.



Abb. 40: Intraoperativ: Behandelter Knochendefekt an dem Zahn 17

Es wurde ein mikrochirurgischer Access-Flap, eine kleine Erweiterung der Tasche mit intrasulkulärer Inzision durchgeführt, welche jedoch geringer als beim konventionellen Access-Flap ausfiel.

Der Defekt wurde ausgespült und die überschüssige Flüssigkeit abgesaugt. Die Wurzeloberfläche wurde nach der Depuration und Bearbeitung mit EDTA für 2 Minuten konditioniert (Abb. 41).

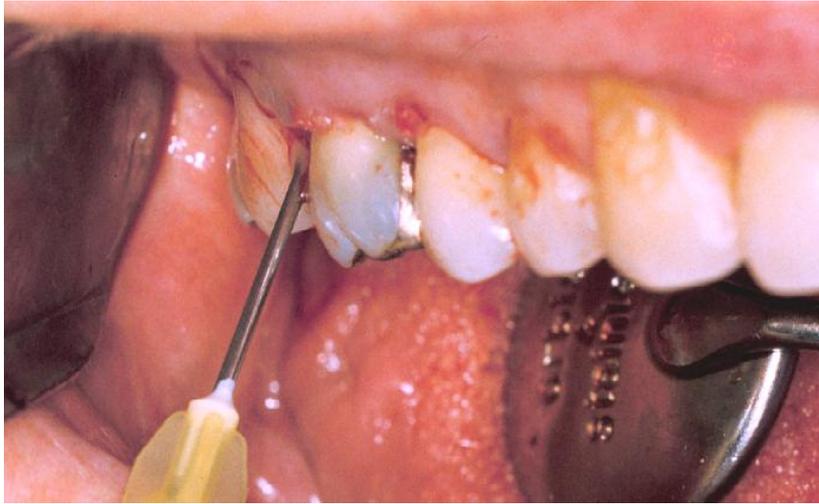


Abb. 41: Intraoperativ: Demineralisierung der Zementoberfläche mit dem EDTA-Gel

Danach fand eine erneute Spülung mit NaCl statt.

Das PRGF wurde mit einem Raspatorium in den Knochendefekt eingefügt (Abb. 42).

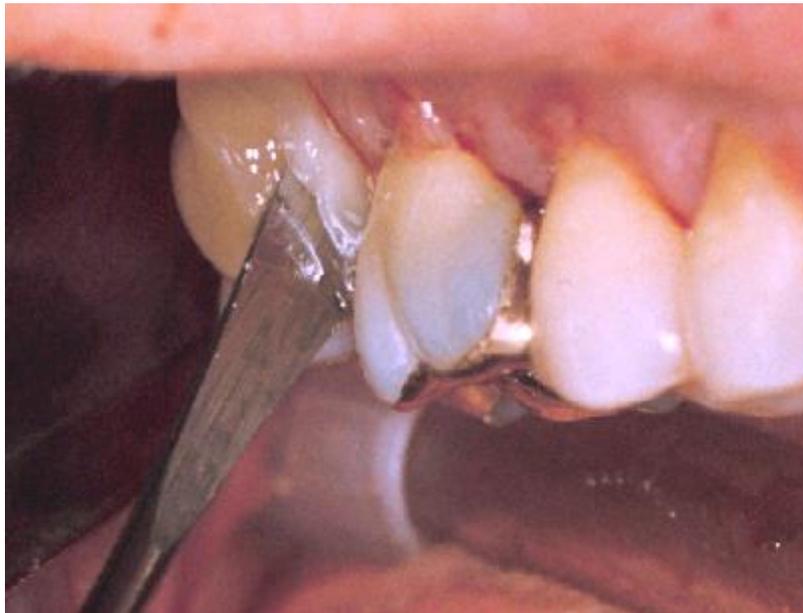


Abb. 42: Intraoperativ: Das Einfügen des PRGF in den Knochendefekt

Wenn nötig wurde die Wunde anschließend mit mikrochirurgischen Einzelknopfnähten (Nahtmaterial der Stärke 6-0, Prolene, Ethicon, Inc., USA), die für primären Lappenschluss im interdentalen Bereich sorgen, versehen.

Im Unterkiefer wurde ebenfalls ein parodontalchirurgischer Eingriff durchgeführt, der aber in der Untersuchung nicht weiter berücksichtigt wurde.

Der Wundheilungsverlauf und Knochenwiederaufbau wurde dann mit erneuten klinischen Aufnahmen und Messungen nach jeweils einem, drei, sechs und zwölf Monaten dokumentiert.

Der Zustand nach einem Monat wurde in der Abb. 43 dargestellt.

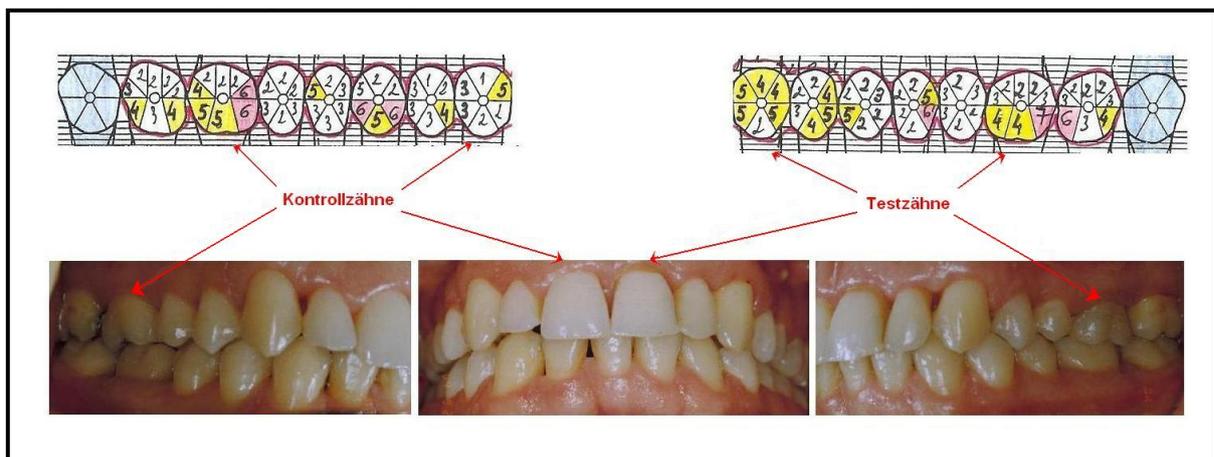


Abb. 43: Postoperativ: Sondierungstiefe der Taschen und klinische Aufnahmen – ein Monat nach dem Eingriff

Der Zustand nach drei Monaten wurde in der Abb. 44 dargestellt.

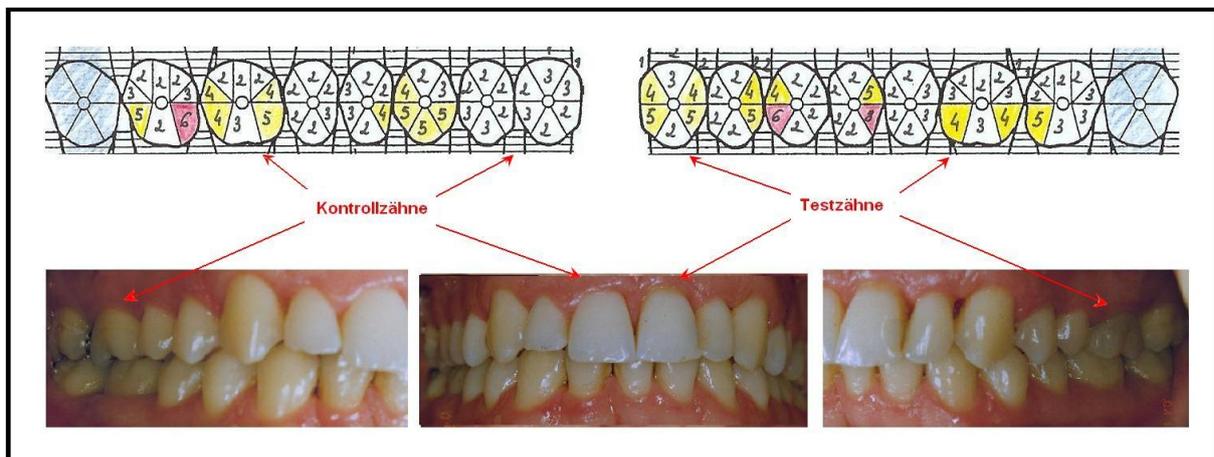


Abb. 44: Postoperativ: Sondierungstiefe der Taschen und klinischer Zustand des Zahnfleisches in allen Quadranten – drei Monate nach dem Eingriff

Der Zustand sechs Monate postoperativ wurde in der Abb. 45 dargestellt.

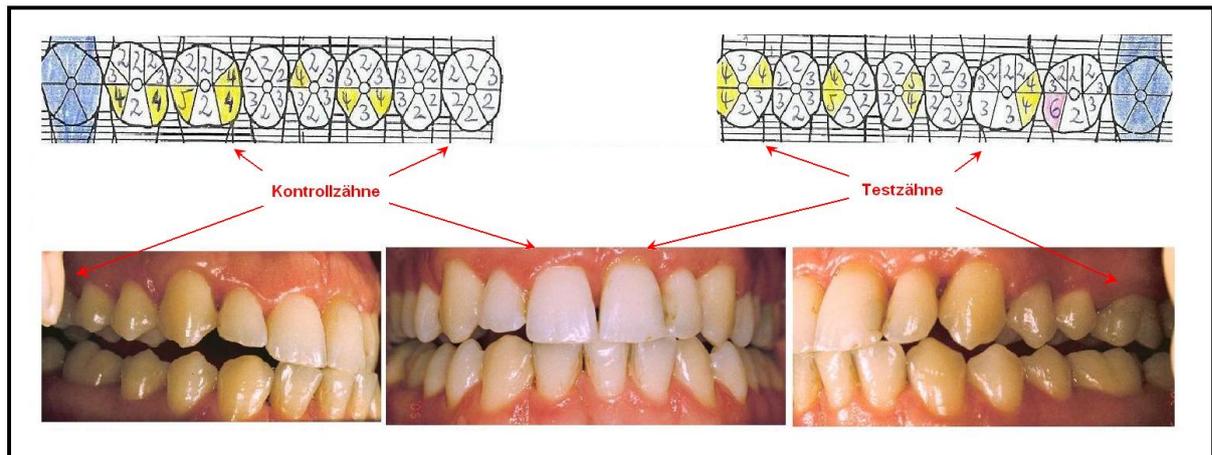


Abb. 45: Postoperativ: Sondierungstiefe der Taschen und klinischer Zustand des Zahnfleischs in allen Quadranten – sechs Monate nach dem Eingriff

Der klinische Zustand und die Röntgenaufnahmen der Test- und Kontrollzähne zwölf Monaten postoperativ wurden in den Abb. 46 und 47 dargestellt.

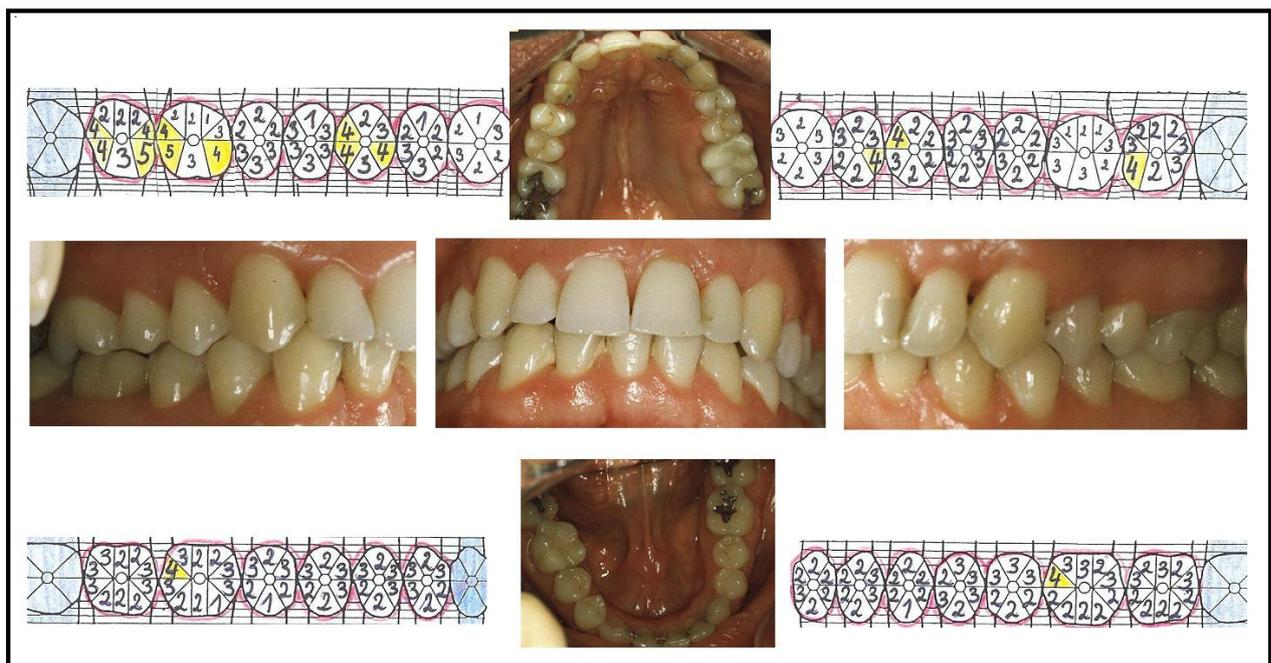


Abb. 46: Sondierungstiefe der Taschen in allen Quadranten – Endsitzung

Klinisch konnte auf der Testseite ein Attachmentgewinn beobachtet werden, der an beiden Testzähnen um 2 mm größer als an den Kontrollzähnen war (siehe Tab. 10). Röntgenologisch zeigte sich auf der Testseite ebenfalls ein intensiverer Knochenaufbau (siehe Tab. 10 und Abb. 47).

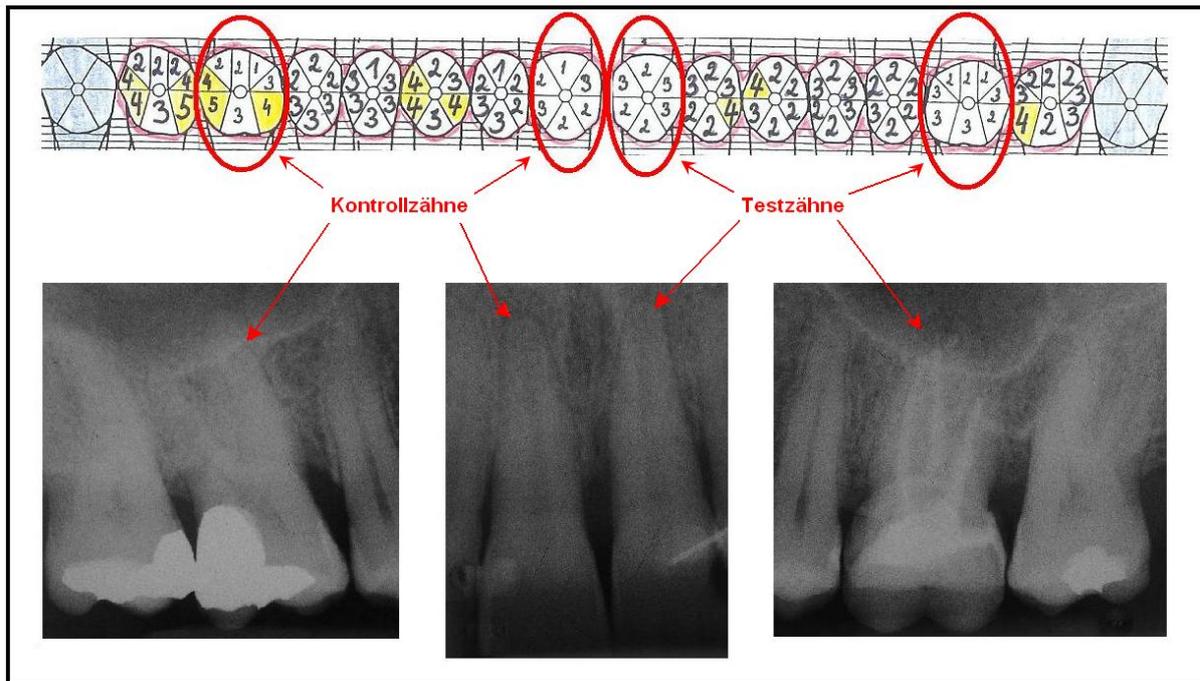


Abb. 47: Sondierungstiefe der Taschen und Röntgenaufnahmen – Endsitzung

	Test		Kontrolle	
Zahn	21	11	26	16
Taschentiefenreduktion	6 mm	4 mm	5 mm	3 mm
Attachmentgewinn	6 mm	4 mm	5 mm	3 mm
Knochengewinn*	3,75 mm	2,3 mm	4 mm	2,4 mm

Tab. 10: Ergebnisse der Taschentiefenreduktion, Attachmentgewinn und Knochengewinn an den Test- und Kontrollzähnen

* Röntgenanalyse

Die Mundhygiene im Verlauf der Nachkontrollzeit kann der Tab. 11 entnommen werden.

	Baseline		Nach 1 Mo		Nach 3 Mo		Nach 6 Mo		Nach 12 Mo	
	Test	Kontr.	Test	Kontr.	Test	Kontr.	Test	Kontr.	Test	Kontr.
PLI	0	0	0,5	0	0,5	0	0	0,5	0	0
GI	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0
BOP	0	0	0	0	100%	50%	0	0	0	0
API	0 %		11 %		15 %		26 %		38 %	
PBI	0 %		9 %		14 %		8 %		9 %	

Tab. 11: Mundhygieneindizes zu den Zeitpunkten Baseline, nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten nach der Behandlung

Da dieser Fall schon vor längerer Zeit operiert wurde, wurde bei dem Patienten eine zusätzliche Nachuntersuchung nach 24 Monaten durchgeführt.

Sowohl die Taschentiefen als auch die klinischen und röntgenologischen Aufnahmen sind in den Abb. 48 und 49 dargestellt.

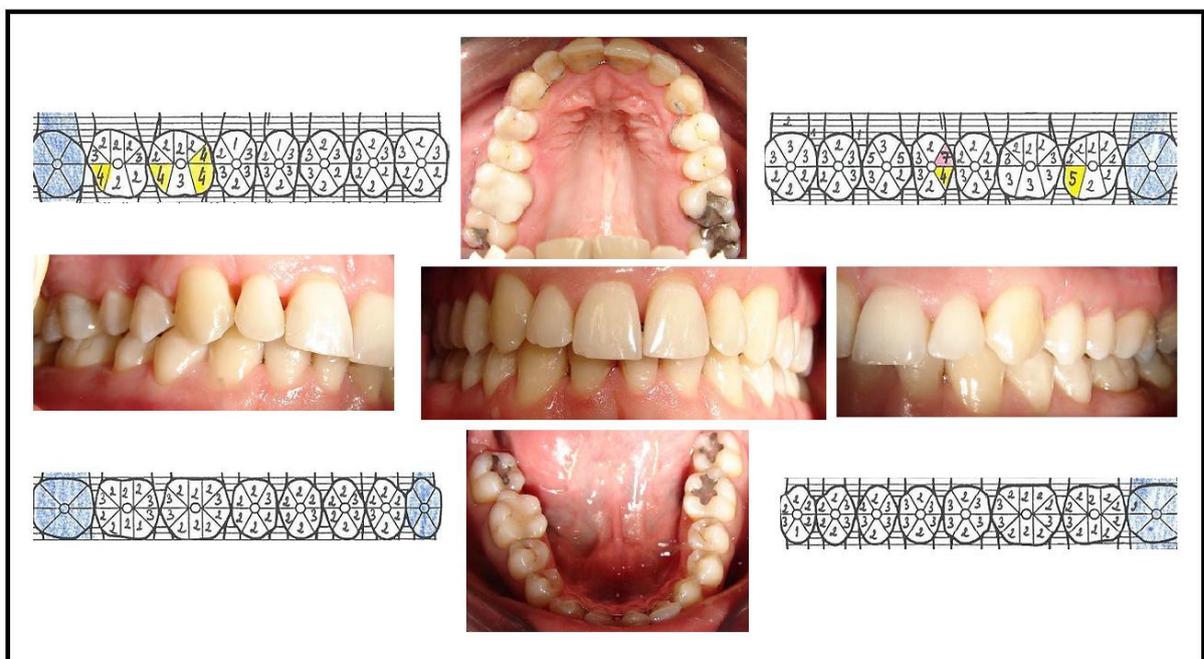


Abb. 48: Sondierungstiefe der Taschen und klinischer Zustand – 24 Monate nach der Behandlung

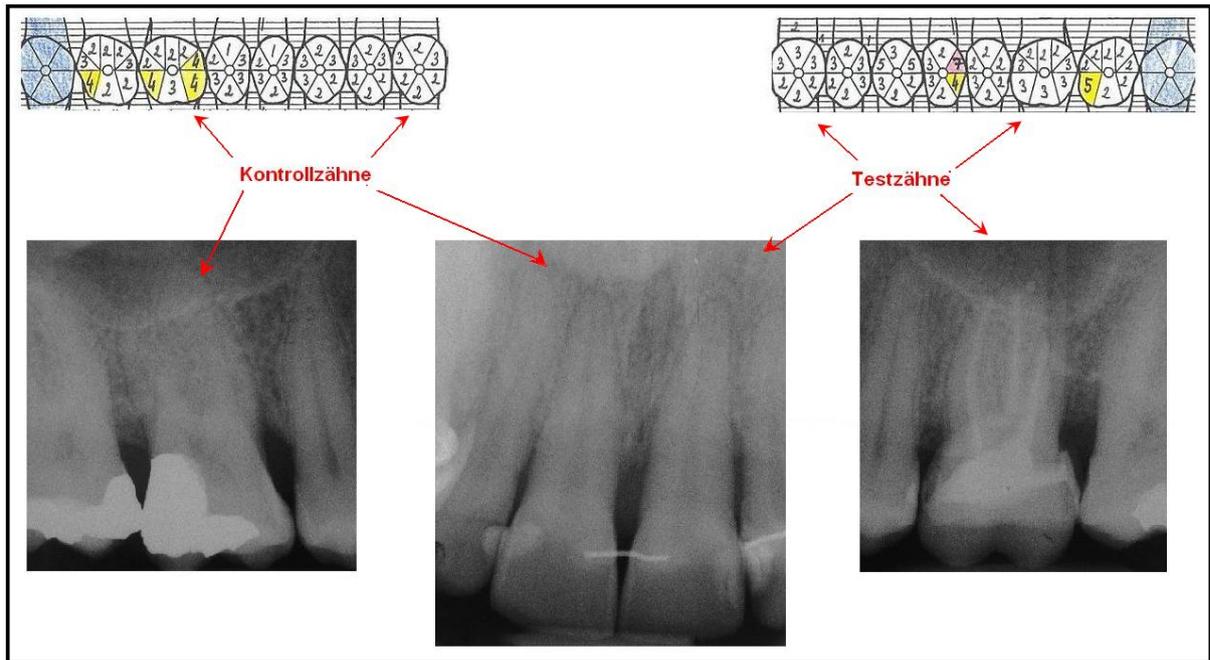


Abb. 49: Sondierungstiefe der Taschen und Röntgenaufnahmen – 24 Monate nach der Behandlung

Hierbei zeigten sich keine wesentlichen Veränderungen im Vergleich zur Zwölf-Monatsmessung.

7. Diskussion

7.1 Diskussion der Materialien und Methoden

Dies ist der erste Bericht in der Parodontalchirurgie über die Anwendung von autologen Wachstumsfaktoren als alleinige Faktoren, die Knochenwiederaufbau stimulieren können. Zum Nutzen der Anwendung autologer Wachstumsfaktorkonzentrate im Rahmen der rekonstruktiven Parodontalchirurgie, die gegenwärtig von einigen Firmen propagiert wird, liegen hingegen viele Informationen aus präklinischen und klinischen Studien in Kombination mit zusätzlichen regenerativen Techniken vor. Dazu zählen Untersuchungen mit Knochenersatzmaterialien oder der gesteuerten Geweberegeneration (Lekovic et al., 2002; Bateman et al., 2005; Nevins et al., 2005; Christgau et al., 2006; Christgau et al., 2006; Dori et al., 2007).

7.1.1 Studiendesign

Für die vorliegende blind kontrollierte, randomisierte prospektive Studie wurde das Split-Mouth-Design gewählt.

Das Vorkommen paariger Organe, Zähne und der chronische Verlauf vieler Zahnkrankheiten legt die Anwendung von Split-Mouth-Versuchsanlagen in der Zahnmedizin nahe.

Mit dem Split-Mouth-Design wurde ein Versuchsmodell beschrieben, wo bei jedem Probanden mindestens zwei oder mehrere Behandlungen vorgenommen werden.

Dadurch wird der direkte Vergleich verschiedener Therapieverfahren unter ähnlichen Heilungsbedingungen ermöglicht, indem interindividuelle, durch Versuchspersonen bedingte Unterschiede beim Vergleich von Test- und Kontrollverfahren vermieden werden.

Auf diese Weise dient jeder Patient als seine eigene Kontrolle (Hujoel et al., 1992), da die Komplexität aller möglichen Einflussfaktoren nicht außer Acht gelassen werden darf.

Das Split-Mouth-Design ist in der Parodontologie aus diesen Gründen die Untersuchungsmethode der Wahl und wurde daher für diese Studie gewählt.

Allerdings gibt es eine große Variation in der Anzahl der erkrankten Zähne, der Schwere der Parodontitis, der Schwere des Knochenabbaus und der Lokalisation der Erkrankung innerhalb eines Mundes. In der vorliegenden Studie wurde das kontralaterale Quadrantendesign (vier Einheiten innerhalb eines Kiefers) angewendet.

In dieser Studie waren Stellen mit Sondierungstiefen von 7 mm auf die zwei Therapiemethoden durch die Randomisierung (Münzwurf) gleich verteilt.

7.1.2 Probandenauswahl

Alle Patienten dieser Studie waren allgemein gesund und bei jedem Patienten wurde wenigstens ein kontralateral interproximaler Knochendefekt festgestellt, wobei die Sondierungstiefe (ST) ein Minimum von 7 mm betrug. Auf der Röntgenaufnahme musste ein Knochenabbau von mindestens 4 mm feststellbar sein. Die Zähne mit einem Furkationsdefekt waren von der Studie ausgeschlossen.

Die Aufnahme in die Studie, d.h. die Messung der Ausgangssondierungstiefen, erfolgte nach abgeschlossener parodontaler Vorbehandlung inklusive der geschlossenen Kürettage unter Lokalanästhesie.

An unserer Studie haben zwanzig Patienten teilgenommen. Achtzehn haben sie beendet, drei Männer und fünfzehn Frauen.

Die Diagnose lautete bei allen Patienten chronische Parodontitis.

Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 43 Jahren. Der jüngste Patient war 21 Jahre alt, der älteste 61. Die Patienten wurden unabhängig von ihrem Alter ausgesucht. Nach dieser Studie, in Übereinstimmung mit anderen Autoren (Weibrich et al., 2002), scheint das Alter des Probanden keinen relevanten Einfluss auf die Thrombozytenzahl zu haben. In dieser Studie wurde auch die Korrelation zwischen dem Alter des Probanden und der WF Menge untersucht, aber es wurde ebenfalls keine gefunden.

In der Literatur gibt es keinen Hinweis, dass das Alter auf den Erfolg einer parodontalen Regeneration und den Knochenaufbau einen Einfluss haben könnte.

Starke Raucher, die mehr als 10 Zigaretten pro Tag rauchen, wurden von der Studie ausgeschlossen. Eine Patientin bezeichnete sich als „leichte Raucherin“ (zwischen 4 und 6 Zig. pro Tag), alle anderen Probanden waren Nichtraucher.

Rauchen wurde als Risikofaktor der marginalen Parodontitis bestätigt (Grossi et al., 1994; Grossi et al., 1995; Labriola et al., 2005). Die Raucher sprachen auf die Behandlung weniger vorteilhaft an als die Nichtraucher, was besonders an der Sondierungstiefe und dem Knochenrandniveau zu sehen ist (Preber and Bergstrom, 1986; Preber and Bergstrom, 1986; Ah et al., 1994; Kinane and Radvar, 1997; Machtei et al., 1998; Kinane and Chestnutt, 2000). Dabei wird einerseits die Plaquekomposition, andererseits die Regenerationsfähigkeit beeinflusst, wobei ein Einstellen des Rauchens vor therapeutischer Intervention und während der Heilungsphase zur Verbesserung der Prognose führen könnte (Kornman and Robertson, 2000).

7.1.3 Auswahl der klinischen Untersuchungsparameter

Um die Effektivität der angewandten Behandlungsmethode zu beurteilen und die Gegenüberstellung der Ergebnisse mit anderen Studien zu ermöglichen, werden in der verfügbaren Literatur fünf klinische Parameter genutzt.

Zwei Parameter, der Plaqueindex und der Gingiva-Index bezeichnen supragingivale Veränderungen. Die drei wichtigsten Parameter um den Effekt der durchgeführten parodontalen Therapie zu beschreiben sind: die Sondierungstiefe, das Attachmentniveau und das Bluten auf Sondierung (Bogren et al., 2007).

Das Attachmentniveau wurde jeweils zu einem festen Bezugspunkt gemessen. Meist war dies die Schmelz-Zement-Grenze, in einigen Fällen auch der bestehende Füllungs- oder Kronenrand.

Im molaren Bereich wurden an jedem Zahn, an 10 Stellen im Unterkiefer und an 8 Stellen im Oberkiefer, die Messungen erhoben. In anderen Fällen wurden die Messungen an 6 Messstellen erhoben. Die Rezessionen wurden jeweils an 6 Stellen gemessen.

7.1.4 Auswahl der Behandlungsmethode

Das Ziel der Parodontaltherapie liegt in der Reduktion der Bakterien, der Beseitigung der Entzündung und in der Regeneration von verlorenem parodontalem Gewebe. Bei herkömmlichen Behandlungsmethoden im Sinne von Scaling und Wurzelglättung (Kürettage) ist das Ergebnis des Reparaturmechanismus zugunsten eines unerwünschten langen Saumepithels verschoben. Die Reparatur im parodontalen

Sulkus geht mit einem Reattachment von parodontalem Gewebe und einer Reduktion der Sondierungstiefen einher, wobei die epitheliale Auskleidung durch ein langes Saumepithel im Vordergrund steht. Aus zahlreichen klinischen Studien geht hervor, dass eine bindegewebige Regeneration von Seiten des parodontalen Ligaments von großer Bedeutung ist, da diese stabiler und somit sinnvoller erscheint (Lindhe and Nyman, 1985; Aukhil, 2000). Parodontale Regeneration gilt daher, im Vergleich zur Heilung des Weichgewebes, als komplexer Prozess, in dem Interaktionen zwischen Hart- und Weichgewebe wie Knochen, Bindegewebe und Epithel stattfinden müssen (Melcher, 1976; Lackler et al., 2000). Um eine bindegewebige Regeneration zu erreichen, sind in den vergangenen Jahren zahlreiche Methoden entwickelt worden, die darauf abzielen, eine kontrollierte Regeneration von gingivalem Bindegewebe und vor allem parodontalen Desmodontalzellen zu unterstützen.

Schon immer war es Ziel der operativen Behandlung, eine rasche Genesung mit geringen Beschwerden nach der Operation einzuleiten.

Eine strikte Beachtung der aufgeführten Faktoren verbunden mit einer Optimierung der Operationstechnik kann einen zusätzlichen klinischen Attachmentgewinn nach sich ziehen. Als wesentliche Eckpunkte des chirurgischen Vorgehens sind folgende aufzuführen: 1) minimalinvasives Vorgehen, 2) interproximaler Gewebeerhalt, 3) Papillenschonung, 4) sicheren Wundverschluss, 5) optimale Nachsorge.

Heutzutage wird auch immer mehr auf geringe Beschwerden der Patienten und ästhetisches Aussehen geachtet (Wachtel et al., 2003; Tetsch et al., 2004; Bokan et al., 2006; Cortellini and Tonetti, 2007). Hierbei spielt vor allem das Schonen des Weichgewebes eine große Rolle, welches den Erfolg oder Misserfolg einer ästhetischen Restauration bestimmt. Chirurgie ohne herkömmliche Lappenbildung ist gefordert. Eine modifizierte Lappengestaltung wurde bevorzugt, da mit ihr eine optimale Gewebeadaptation mit möglichst geringer Spannung auf dem Lappen erreicht werden kann.

Ohne gute Einsicht in die Tasche ist es unmöglich, die Beläge gründlich zu beseitigen. Wenn die Tasche nicht perfekt sauber ist heilt der Knochendefekt nur durch Reparation durch das so genannte lange Saumepithel, welches jedoch keine Regeneration darstellt, sondern eine Reparation (Sculean et al., 2003).

Es wurde auch nachgewiesen, dass die Anwendung einer mikrochirurgischen Technik in Kombination mit der GTR-Technik auf positive Weise den Prozentsatz des primären

Lappenverschlusses und Gewebeerhalt beeinflusst (Wachtel et al., 2003; Cortellini and Tonetti, 2007).

Durch die GTR-Technik, wo die künstliche Barriere durch eine semipermeable Membrane geschaffen wird, wird das Einwachsen von gingivalem Epithel- und Bindegewebe verhindert (Palmer and Pritlove-Carson, 1992; Pritlove-Carson et al., 1992) und die Besiedelung der Wurzeloberfläche mit Zellen des parodontalen Ligaments gefördert (Karring et al., 1985; Karring et al., 1993; Garrett et al., 1997; Laurell and Gottlow, 1998; Laurell et al., 1998). Aus biologischer Sicht ist das Konzept der GTR-Technik unter Klinikern und Wissenschaftlern weit verbreitet und akzeptiert. Die Anwendung der gesteuerten Geweberegeneration (GRT) und die Verwendung von Schmelzmatrixproteinen haben beide gezeigt, dass sie sowohl in Vitro ((Hagewald et al., 2004)) als auch in Vivo (Cortellini et al., 1998; Wachtel et al., 2003; Bokan et al., 2006; Cortellini and Tonetti, 2007) erfolgreich zu parodontaler Regeneration führen.

Im Hinblick auf diese Technik sind aber spezielles zahnärztliches Wissen, hohe Kosten und eine Reihe von möglichen operativen Komplikationen in die Überlegungen miteinzubeziehen.

Wissenschaftlich sind verschiedene Materialien getestet worden, so dass die Effektivität des klinischen Ergebnisses und der Patientenkomfort verbessert werden konnten. Zu Materialien, die mit anderen Techniken zur Regeneration des zerstörten Parodonts beitragen, gehören die Knochenersatzmaterialien (Rosen et al., 2000), Schmelzmatrixproteine (Camargo et al., 2001; Lekovic et al., 2001; Hagewald et al., 2004; Spahr et al., 2005) und Wachstumsfaktoren, sowohl die autologen als auch die rekombinanten (Lynch et al., 2006; Sarmant et al., 2006).

Die Anwendung eines mikrochirurgischen Konzepts in Kombination mit GTR-Technik auf positive Weise die Regeneration beeinflusst (Wachtel et al., 2003; Bokan et al., 2006; Cortellini and Tonetti, 2007). Andere klinische Studien zeigen (Bateman et al., 2005; Christgau et al., 2006), dass die Anwendung der gesteuerten Geweberegeneration (GTR) und die Verwendung von autologen Thrombozytenkonzentraten zu parodontaler Regeneration führen.

In den letzten Jahren sind daher vermehrt Methoden untersucht worden, die das Parodont regenerieren lassen und den Patienten möglichst geringe Beschwerden bereiten (schnelle Wundheilung).

In den letzten Jahren erweitert sich also ständig das Wissen zur parodontalen biologischen Regeneration (Lynch et al., 1991; Marx et al., 1998; Lekovic et al., 2002;

Lekovic et al., 2003; Okuda et al., 2003; Nevins et al., 2005; Christgau et al., 2006; Christgau et al., 2006; Dori et al., 2007). Die Schlüsselrolle der Blutplättchen mit ihren Wachstumsfaktoren ist bei der initialen Wundheilung seit langem bekannt (Whitman et al., 1997; Marx et al., 1998) und über den Einsatz von Thrombozytenkonzentraten beim Menschen wurde in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie erstmals 1997 durch Whitman et al. berichtet (Whitman et al., 1997). In der Vergangenheit wurde bereits mehrfach die erfolgreiche Anwendung von autologem Thrombozytenkonzentrat in Kombination mit autologen Knochen, Knochenersatzmaterialien oder GTR-Techniken bei der parodontalen Regeneration beschrieben (Camargo et al., 2002; Lekovic et al., 2002; Lekovic et al., 2003; Bateman et al., 2005; Nevins et al., 2005; Ouyang and Qiao, 2006).

Im Gegensatz dazu gibt es für die allein mit autologen Wachstumsfaktoren behandelten Defekte keine entsprechenden Informationen.

Biologische Regeneration wurde durch verschiedene Mediatoren unterstützt und aktiviert. Dazu zählen unter anderem die natürlich vorkommenden biologischen Mediatoren – autologe Wachstumsfaktoren, die ihre Wirkung zumeist in autokriner (Zellen, die die Faktoren produzieren reagieren auch auf diese) oder parakriner Weise (die Produktion der Faktoren durch einen Zelltyp beeinflusst einen anderen Zelltyp) über spezifische Rezeptoren auf ihre Zielzelle entfalten.

Vor dem regelmäßig berichteten Hintergrund ist zu sehen, dass die verschiedenen Wirkungen der Wachstumsfaktoren auf zelluläre Funktionen, die mit parodontaler Wundheilung einhergehen, bei humanen PDL-Zellen, Osteoprogenitorzellen oder Zementoblasten nachgewiesen wurden (Giannobile et al., 1994; Kawase et al., 2003; Nakamura et al., 2003; Roldan et al., 2004; Weibrich et al., 2004; Kawase et al., 2005; Kawase et al., 2005; Nevins et al., 2005). Darüber hinaus wurde sowohl *in vitro* als auch *in vivo* nachgewiesen, dass die frühe Wundheilung bei Anwendung von autologen Wachstumsfaktoren deutlich verbessert ist (Martin et al., 1992; Steenfos, 1994; Lackler et al., 2000; Grazul-Bilska et al., 2003; Molloy et al., 2003).

Die histologischen Analysen zeigen, dass die Anwendung von rekombinanten Wachstumsfaktoren parodontale Regeneration fördern kann. Die Qualität des neuen parodontalen Ligaments ist identisch zur natürlichen Anatomie des Halteapparates. Der neu gebildete Knochen bekommt eine fast vollständige Osteoblastenschicht und ist mit dem dichten Zellabschluss an seinen koronalen Ausläufern bedeckt (Lynch et al., 1989; Anitua and I, 2002; Yamada et al., 2004).

Der Grund für eine therapeutische Applikation von Wachstumsfaktoren ist also, die physiologische Wundheilungskapazität zu unterstützen beziehungsweise diese zu beschleunigen, da sie eventuell für eine komplette Ausheilung der betroffenen Strukturen nicht ausreicht. Heutzutage, nach der Beobachtung verschiedener Autoren wirkt sich das Thrombozytenkonzentrat sowohl im Bereich der Knochenaugmentation, Implantation (Zechner et al., 2003) als auch in der Beschleunigung der Wundheilung und parodontalen Regeneration vorteilhaft aus (Lekovic et al., 2002; Lekovic et al., 2003; Okuda et al., 2003; Kawase et al., 2005; Kawase et al., 2005). Ihre Anwendung hat gezeigt, dass sowohl die Maturationsrate des Knochens als auch die Knochendichte signifikant höher als ohne Einsatz ausfielen (Marx et al., 1998; Roldan et al., 2004).

In dieser Studie wurde ein chirurgisches Vorgehen mikrochirurgischer Schnitte in Kombination mit der Anwendung von autologen Wachstumsfaktoren ohne weitere Zusätze ausgewählt, da eine de-novo-Formation ligamentärer Strukturen ausschließlich durch die Proliferation undifferenzierter Mesenchymzellen erreicht werden kann. Hierbei kommt es zur zielgerichteten Migration und Differenzierung der verschiedenen Zelltypen, worauf die Wachstumsfaktoren direkten Einfluss haben.

Hierbei wurden die Taschen minimalinvasiv geöffnet und gründlich von Belägen befreit, welche die Taschen bereits auf den schwer zugänglichen Oberflächen hatten. Anschließend erhielt jede Tasche den Regenerationsanreger – autologe Wachstumsfaktoren.

Um die Testbehandlungen in einer schwierigen Situation zu evaluieren wurde die Behandlung von Taschen über 7 mm gewählt. Taschen über 7 mm stellen klinisch ein großes Problem dar, dass bisher nicht durch konventionelle Parodontalbehandlung zur Ausheilung gebracht werden kann. In dieser klinischen Situation wäre eine parodontale Regeneration von besonderer Wichtigkeit um eine langfristige, stabile Situation zu erreichen (Hill et al., 1981; Ramfjord et al., 1987; Sculean et al., 2003).

Um die Bedingungen für eine regenerative Wundheilung zu optimieren wurde in dieser Studie 24% EDTA verwendet. Obgleich das Konditionieren der Wurzeloberfläche bei der herkömmlichen Parodontalchirurgie keine allgemein akzeptierte Vorgehensweise ist, haben in vitro Studien ergeben, dass die Demineralisation der Wurzeloberfläche die Fibroblastenmigration und –anheftung begünstigt (Blomlof et al., 1996; Blomlof et al., 2001; Cederlund et al., 2001).

Es werden viele verschiedene Materialien zur Konditionierung der freigelegten Wurzeloberfläche beim Parodontaleingriff untersucht, z.B. Zitronensäure, Tetracyclin-HCl. In der vorgestellten Studie, wurde die pH-neutrale, 24%ige EDTA-Lösung (Straumann PrefGel®) gewählt.

Die Entfernung der Smear Layer ist in diesem Fall wirksam, aber sanft. Die gereinigten Wurzelflächen werden mit EDTA-Lösung für 2 Minuten konditioniert mit dem Ziel, die Dentintubuli zu öffnen und eine oberflächliche Demineralisation zu ermöglichen (Cederlund et al., 2001; Perdigao et al., 2001). Daher kann man vermuten, dass mit der EDTA-Lösung bei der mukogingivalen Chirurgie ein unterstützender Effekt zu erzielen ist. Diese Maßnahme soll normalerweise den Kontakt von Schmelzmatrixproteinen zur Wurzeloberfläche optimieren. Es kann sein, dass es auch den Kontakt von Zellen, die durch Wachstumsfaktoren aktiviert sind, zur Wurzeloberfläche verbessert. Unter diesem Aspekt wurde auch in dieser Studie 24% EDTA mit einem pH-Wert von 6,7 verwendet.

7.1.5 Vorbehandlung mit den Antibiotika

Die Behandlung sollte von einer guten Wundheilung begleitet sein, eine Infektion der Wunde sollte also durch eine effiziente Antibiotikagabe unterdrückt werden (Kleinfelder et al., 1999; Sculean et al., 2001). In der vorgestellten Studie wurden mit sterilen Papierspitzen Proben aus den tiefen Zahnfleischtaschen entnommen und in einer Nährlösung an ein spezialisiertes Labor gesandt. Sobald die detaillierte Analyse über Anzahl und Art der Bakterien vorhanden war, wurde ein effektives Antibiotikum ausgewählt. Es wurden in jedem Fall pathogene Keime nachgewiesen (*Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.a.), *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Tannerella Forsytensis* (T.f.), *Prevotella intermedia* (P.i.) oder *Fusobacterium nucleatum* (F.n.)). Die Patienten nahmen daher eine Kombination von zwei verschiedenen Präparaten: Amoxicillin/Clindamycin und Metronidazol für die Dauer von 10 Tagen ein (van Winkelhoff et al., 1989; van Winkelhoff et al., 1992; Pavicic et al., 1994; Pavicic et al., 1994; Winkel et al., 2001).

Durch die Kombination von Amoxicillin und Metronidazol besteht eine sehr hohe Wirkintensität im gesamten Keimspektrum, insbesondere gegen die parodontal pathogenen, vorwiegend anaeroben Bakterien (van Winkelhoff et al., 1989; van Winkelhoff et al., 1992; Pavicic et al., 1994; Pavicic et al., 1994; Winkel et al., 2001). Dennoch kann mit der durchgeführten Untersuchung nicht definitiv geklärt werden, ob

bzw. welche Stämme der Bakterien tatsächlich an der Pathogenese kausal beteiligt sind.

7.1.6 PRGF Präparation

Thrombozytenkonzentrate werden zur natürlichen Heilungsbeschleunigung bei chirurgischen Eingriffen eingesetzt. Hierzu werden im Blut vorkommende körpereigene Wachstumsfaktoren in konzentrierter Form in die Operationsstelle eingebracht. Um den Einsatz von autologen Wachstumsfaktoren als Komponenten, die die Knochenregeneration beschleunigen und intensivieren, zu ermöglichen, braucht man erprobte Methoden zur Isolation von plättchenreichem Plasma – Thrombozytenkonzentrat (TK).

Derzeit sind viele verschiedene Eigenherstellungsverfahren für die Herstellung von TK verfügbar. Sie differieren sowohl in der Produktionsart als auch in der unterschiedlichen Zusammensetzung des Endproduktes.

Bei der Beurteilung der Herstellungsverfahren sind drei Gruppen zu unterscheiden.

Zum Ersten die geschlossenen Blutbankmethoden, wo die Thrombozyten mittels Blutzellseparator zurück gewonnen werden.

Zum Zweiten gibt es die halbgeschlossenen Eigenherstellungsverfahren. Hierzu zählen die Smart PRePTM (Fa. Harvest Technologies GmbH) und das Platelet Concentrate Collection System (PCCS, Fa. 3i-Implant Innovations Incorporated). Zur Herstellung von thrombozytenreichem Plasma (PRP) werden in diesen Fällen ein spezielles Set und die dazu vertriebene Zentrifuge benötigt. Dieses beinhaltet hauptsächlich im Falle des PCCS-Systems zwei flexible Doppelplastikbeutel und im Falle des Smart PRePTM-Systems einen Doppelbehälter aus Kunststoff. Außerdem gehören zum Set auch verschiedene Spritzen, Spritzenkanülen und Nadeln. Nach den Zentrifugierungsvorgängen, die 12 bzw. 17 Minuten dauern, werden die Blutkomponenten getrennt. Der Plasmaraum bzw. Plasmabeutel enthält die konzentrierten Thrombozyten, das so genannte Thrombozytenpellet, aber auch einige Erythrozyten und das thrombozytenarme Plasma (PPP). Nach Abziehen des plättchenarmen Plasma-Überstandes werden die verschiedenen Bestandteile anschließend erneut resuspendiert (im Falle des PCCS-Systems werden sie zwischen zwei Fingern vorsichtig massiert). Zur Resuspension des Thrombozytenpellets in dem Smart PRePTM-System wird das verbliebene PPP mit einer Spritze entnommen und

wieder zum Thrombozytenpellet reexprimiert, wodurch ein thrombozytenreiches Plasma entsteht.

Zum Dritten gibt es die weitgehend offenen Verfahren. Dazu zählen PRP-Kit von Curasan-Methode (Fa. Curasan), der PRP-Kit von Friadent-Schütze und PRGF-System nach Anitua (BTI, Pforzheim, Deutschland)

Hier werden die Methoden zusammengefasst, die mit der manuellen Überführung zu tun haben. Das abgenommene Blut wird entweder einmal (nach dem PRGF-Verfahren) oder zweimal zentrifugiert. Beim PRGF-Verfahren entwickelt sich nach dem 8-minütigen Zentrifugationsvorgang eine Auftrennung in drei Schichten: Plasmaschicht, Buffy Coat und Erythrozyten (von oben nach unten), wobei die Thrombozyten in der Plasmaschicht auch schichtweise lokalisiert sind. Die Trennung der Plasmaschicht in drei Fraktionen geschieht manuell durch vorsichtiges Abpipettieren. Die dritte Fraktion der Plasmaschicht von oben (unmittelbar oberhalb des Buffy Coat) heißt PRGF – Plasma Rich in Growth Factors.

In zwei anderen Fällen werden zwei Zentrifugationsvorgänge benötigt. Nach dem ersten entsteht eine Auftrennung in Erythrozytenschicht, Buffy Coat und thrombozytenenthaltendes Plasma. Anschließend wird das Plasma mit einer Kanüle in eine weitere Monovette überführt und ein zweites Mal zentrifugiert, um die Thrombozyten in einem Pellet zu konzentrieren. Anschließend wird wieder unter Verwendung einer Kanüle der Plasmaüberstand reduziert. Das entstandene Thrombozytenpellet wird dann in verbliebener geringer Plasmamenge resuspendiert.

Im Vergleich mit den geschlossenen Verfahren sind die offenen Verfahren relativ qualifikationsbedürftig, obwohl die Herstellung parallel zum chirurgischen Eingriff erfolgt. Sie haben einen deutlich niedrigeren Organisationsaufwand, sind jedoch komplizierter in der Anwendung.

Einige Kliniker empfehlen halbgeschlossene Eigenherstellungsverfahren, da sie den kleinsten Organisationsaufwand mit sich bringen. Dem gegenüber steht allerdings der eigentlich große operative Aufwand. Die fehlende kardiovaskuläre Belastung macht die Methode trotz der entstehenden eher hohen Kosten für Patienten gut akzeptierbar. Die Blutbank-Methode hat den Nachteil eines hohen Organisationsaufwands. Der Patient muss erstmal zum Transfusionszentrum, wo die Thrombozytensammlung erfolgt, welche relativ kostspielig und zeitaufwendig ist (Singbartl and Schleinzer, 1999). Auf Grund der großen Blutmenge könnte die Blutbank-Methode zu einer gewissen kardiovaskulären Stressreaktion bei älteren Patienten führen (Westphal, 1984).

Die offenen Verfahren haben aufgrund einer Vielzahl von Herstellungsschritten eine höhere Anfälligkeit für Fehler während der Herstellung.

Die Menge des abgenommenen Vollblutes in offenen oder halbgeschlossenen Methoden ist viel geringer, genau für den Eingriff geschätzt. Für einen normalen parodontalen Eingriff braucht man i.d.R. zwischen 20 und 30 ml venösen Blutes.

Dadurch führen auch die Methoden zu keiner Kreislaufbelastung der Patienten (Westphal, 1984). Dies führt mit den meist geringen Kosten zu einer hohen Patientenakzeptanz dieser Verfahren.

Bei der Beurteilung des Endproduktes hat man verschiedene Aspekte zu berücksichtigen. Die parodontale Regeneration gilt als ein zusammengesetzter Vorgang, in dem Interaktionen zwischen Weichgewebe, z.B. Bindegewebe und Epithel, sowie Hartgewebe, z.B. Knochen, stattfinden müssen.

Es wurde *in vitro* mehrmals gezeigt, dass die Anwendung von Thrombozytenkonzentraten und damit auch den autologen Wachstumsfaktoren die Proliferation und Differenzierung verschiedener Zellen, wie PDL-Zellen, Osteoblastenähnlichen Zellen oder Fibroblasten aktivieren und steigern kann (Weibrich et al., 2002; Kawase et al., 2003; Okuda et al., 2003; Kawase et al., 2005).

Es wurde aber überdies festgestellt, dass die rekombinanten Wachstumsfaktoren, z.B. Bone Morphogenetic Proteins, ein Knochenwachstum fördern können. Jedoch wurden oft Ankylosen und Wurzelresorptionen beobachtet (Sigurdsson et al., 1995). Eine Erklärung liegt in der unterschiedlichen Zusammensetzung von Thrombozytenkonzentrat mit autologen Wachstumsfaktoren und reinen Bone Morphogenetic Proteins, die sich typischerweise durch eine singuläre Wirkung, meistens Zelldifferenzierung auszeichnen (Wozney, 1995; Wikesjo et al., 2001).

Im Thrombozytenkonzentrat befinden sich dagegen eine ganze Reihe von Wachstumsfaktoren (u. a. PDGF, TGF- β , IGF-1), die sowohl Zellwachstum als auch Zellreifung fördern.

Neben der gesteigerten Proliferation und Differenzierung der oben genannten Zellen wurde auch ein direkt stimulierender Effekt vom Fibrinkoagel, der sich im Thrombozytenkonzentrat bildet, auf die Kollagensynthese Typ I gezeigt (Kawase et al., 2005).

PDGF (Platelet-derived growth factor) ist ein mitogener Wachstumsfaktor, ihm wird eine evidente Rolle im angiogenen Prozess zugeschrieben. Es gibt von ihm die drei möglichen Isoformen AA, BB und AB. Alle drei werden im α -Granula der Thrombozyten gebildet und nach der Thrombozyten-Agregation freigegeben.

In vitro haben alle Isoformen auf die parodontalen Fibroblasten und Osteoblasten proliferative und chemotaktische Wirkungen (Weibrich et al., 2002).

Zudem stimuliert der PDGF die Kollagen- und Proteinsynthese (Kawase et al., 2003; Kawase et al., 2005; Kawase et al., 2005).

Er hat darüber hinaus eine chemotaktische Wirkung auf Monozyten und Makrophagen. Außerdem stimuliert er die Phagozytose bei Neutrophilen und Monozyten.

Der Gehalt an verschiedenen Wachstumsfaktoren sowohl im Vollblut als auch in Thrombozytenkonzentraten unterliegt grundsätzlich großen intra- und interindividuellen Variabilitäten. Das Ausmaß der weiteren Konzentrierung variiert je nach gewählter Aufbereitungsmethode.

Die Tabelle 12 stellt die in der Literatur beschriebene Konzentration für PDGF nach Aufbereitung des thrombozytenreichen Plasmas dar.

	PCCS PRP Weibrich'02	PCCS PRP Weibrich'05	Curasan	Zell Separator	PRGF KIT
Gehalt an PDGF-AB (ng/ml)	251,8	157 ± 62	314,1	125 ± 55	47 ± 21

Tab. 12: Gehalt an PDGF-AB in Thrombozytenkonzentraten in Abhängigkeit vom Aufbereitungsverfahren (Weibrich et al., 2002; Weibrich et al., 2002; Weibrich et al., 2005)

Ein zweiter sehr potenter Wachstumsfaktor, der im Thrombozytenkonzentrat auftritt, ist der TGF- β (transforming growth factor- β). Er ist ebenfalls in drei Formen vorhanden: TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3. Der TGF- β 1 (allgemein als TGF- β bezeichnet) ist ein Wachstumsfaktor, welcher hauptsächlich mit Knochengewebe und Thrombozyten assoziiert ist.

Seine bedeutendste Funktion besteht darin, dass er für Stammzellen oder Progenitorzellen ein starker Chemo-Attraktor ist. Er kann die Zelldifferenzierung und Proliferation von Osteoblasten stimulieren. Er fördert außerdem die Kollagensynthese im Bindegewebe.

Wissenschaftler aus Japan haben 2003 nachgewiesen, dass ein Mitglied der TGF- β -Superfamilie GDF-5 (Growth Differentiation Faktor-5) auf RNA-Ebene bei PDL-Zellen Zellproliferation und -reifung stimulieren kann (Nakamura et al., 2003).

Die Tabelle 13 fasst die in der Literatur dargestellten Mengen an TGF- β im Thrombozytenkonzentrat zusammen.

	PCCS PRP Weibrich'02	PCCS PRP Weibrich'05	Curasan	Zell Separator	PRGF KIT
Gehalt an TGF- β (ng/ml)	467,1	290 \pm 95	79,7	221 \pm 92	73 \pm 26

Tab. 13: Gehalt TGF- β in Thrombozytenkonzentraten in Abhängigkeit vom Aufbereitungsverfahren (Weibrich et al., 2002; Weibrich et al., 2002; Weibrich et al., 2005)

Der dritte Wachstumsfaktor, der sehr reichlich im autologen Thrombozytenkonzentrat vorkommt und auch in verschiedenen Studien bestimmt wird, ist der IGF (insulin-like growth factor). Er ist in zwei Typen vorhanden, IGF-I und IGF-II, und hat fast nur mit der Knochenreifung und dem Knochenwachstum zu tun. IGF-I ist außerdem der im Knochen am häufigsten vorkommende Wachstumsfaktor und wird auch vom Osteoblasten produziert.

Der IGF-I stimuliert das Knorpelwachstum durch die Knochenmatrixproduktion, die Biosynthese des Kollagens-I sowie die Differenzierung der Osteoblasten. Diese wurden bereits in mehreren Studien zur Förderung der parodontalen Regeneration eingesetzt (Lynch et al., 1991; Giannobile et al., 1994). Zudem entfaltet er eine stark chemotaktische Wirkung auf die vaskulären Endothelzellen und löst eine verstärkte Gefäßneubildung an der Wunde aus.

Die Tabelle 14 fasst die in der Literatur beschriebenen Konzentrationen für IGF-I im thrombozytenreichen Plasma zusammen.

	PCCS PRP Weibrich'02	Curasan	Zell Separator	PRGF KIT
Gehalt an IGF-I (ng/ml)	91	69,5	85 ± 25	Keine Angaben

Tab. 14: Gehalt IGF-I in Thrombozytenkonzentraten in Abhängigkeit vom Aufbereitungsverfahren (Weibrich et al., 2002; Weibrich et al., 2002; Weibrich et al., 2005)

Es sind nicht nur die Thrombozyten, die die Quelle der Wachstumsfaktoren sind. Wie von verschiedenen Autoren publiziert, enthalten die Leukozyten ebenfalls Wachstumsfaktoren (Assoian et al., 1987; Grotendorst et al., 1989; Buhling et al., 1999). Außer Wachstumsfaktoren enthalten aber die Leukozyten auch eine Vielzahl von Zytokinen, die als Entzündungsmediatoren wirken. In der Literatur findet sich jedoch kein Hinweis auf eine mögliche schädigende Wirkung von Leukozyten. Einige Autoren empfehlen trotzdem die Vermeidung von Leukozyten um eine Begleitentzündung und die eventuelle Knochenresorption zu vermeiden (Anitua, 1999). Der Unterschied zwischen verschiedenen Systemen liegt auch an der Menge der Leukozyten in den Thrombozytenkonzentraten.

Die Menge der Leukozyten ist wesentlich geringer nach den Blutbank- und Anitua-Verfahren, nahezu nicht mehr nachweisbar. Auf der anderen Seite werden die Leukozyten als Teil der Buffy Coat mit zu dem Thrombozytenkonzentrat genommen, um die gesamte Wachstumsfaktorenkonzentration im Endprodukt zu erhöhen (Curasan, Friadent -Schütze, Smart PRePTM und PCCS Verfahren).

Inwieweit aber Unterschiede in der Zusammensetzung des Produktes Bedeutung für die resultierende biologische Wirkung haben, ist bis jetzt noch nicht geklärt. Die vorgestellte Studie wies aber darauf hin, dass das Thrombozytenkonzentrat ohne Leukozyten doch eine positive Wirkung auf die Knochenregeneration ausübt.

Um den Blutgerinnungsprozess zu hemmen werden entweder 10% Trisodium-Citrat-Lösung oder EDTA verwendet. Dazwischen gibt es laut des Kommentars von Marx zu

der Studie von R. Landesberg (Landesberg et al., 2000) bedeutende Unterschiede. Ethylendiaminetetraacetic Säure (EDTA) als Antikoagulant-Mittel wird nicht empfohlen, weil sie die Thrombozytenzellmembranen fragmentiert. Bevorzugt wird Natrium-Citrat-Lösung da sie die Zellmembranen nicht betrifft.

Die Bedeutung bezieht sich darauf, dass die WF, durch Exozytosis aus den Zellen, ausgestoßen werden, wobei auch der Abschluss der Aktivierung erfolgt.

Obwohl die fragmentierten Thrombozyten fähig sind viel mehr WF auszuschütten, haben die Peptide nicht die abgeschlossene Struktur, wodurch ihre Aktivität und Wirksamkeit vermindert ist. In dieser Studie wurde die Natrium-Citrat-Lösung verwendet.

Übermäßige Schwerkraft bei der Zentrifugierung kann auch die Thrombozytenfragmentierung verursachen und zur Reduktion der Thrombozytenzahl im Konzentrat führen.

Die Schwerkraft während der Zentrifugation, die Gestalt und Größe der Blutbehälter scheinen Haupteinflussfaktoren auf die Menge der Wachstumsfaktoren zu sein.

Die offenen Verfahren weisen aufgrund der Vielzahl der Herstellungsschritte einige Nachteile auf und zwar eine entsprechend höhere Wahrscheinlichkeit für eine mögliche bakterielle Kontamination des Endproduktes, was mittels Blutbankverfahren in einem vollständig geschlossenen System nahezu ohne Risiken zu Stande kommt.

Zusammenfassend gibt es Vor- und Nachteile jedes Systems. Diese Verfahren erfordern einen unterschiedlich hohen Grad an Sterilitätssicherheit und reichen von völlig offenen Herstellungsverfahren über die halbgeschlossenen zu den weitgehend geschlossenen Produktionsmethoden.

Von Bedeutung sind z.B. die Erfahrung des Zahnarztes, des Arbeiterteams mit sterilen Arbeiten, die Häufigkeit der PRGF Anwendung und ob das System in der Praxis verfügbar ist.

Aufgrund der größeren Patientenakzeptanz, der niedrigen abgenommenen Blutmenge und dem niedrigen Organisationsaufwand haben wir uns, in dieser Studie, für das offene Anitua-Verfahren entschieden.

7.1.7 Feststellung des Nachuntersuchungsintervalls

Für diese klinische Studie wurde ein Nachuntersuchungszeitraum von insgesamt zwölf Monaten gewählt. Die Kontrollen erfolgten jeweils nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten.

Viele Studien, die die Effektivität der parodontalen Therapie untersuchten, nutzten ein Dreimonatsintervall zur Nachuntersuchung (Lindhe et al., 1984; Claffey et al., 1989; Badersten et al., 1990; Claffey and Egelberg, 1994; Claffey and Egelberg, 1995; Kaldahl et al., 1996; Kaldahl et al., 1996; Cugini et al., 2000; Becker et al., 2001). Die Ursache dafür ist nach dem heutigen Erkenntnisstand, dass starke Veränderungen der klinischen Parameter in den ersten drei Monaten nach der parodontalen Therapie zu sehen sind und die Wundheilung im Verlauf dokumentiert werden muss. Eine weitgehende Heilung und Stabilisation des regenerierten Parodonts ist allerdings erst neun bis zwölf Monate nach Abschluss der Behandlung festzustellen (Claffey et al., 1989; Badersten et al., 1990; Claffey and Egelberg, 1995; Becker et al., 2001). Die Untersuchung der Reaktion des Parodonts auf die durchgeführte Therapie sollte nicht früher als vier Wochen nach Therapieende erfolgen, da sonst die Messungen nicht das erreichte Ergebnis widerspiegeln (Caton et al., 1982; Kaldahl et al., 1988; Dahlen et al., 1992). Der Nachuntersuchungstermin nach einem Monat diene hauptsächlich zur Optimierung der Mundhygiene, da die abschließende Phase der Wundheilung – Gewebereifung und Remodellierung des neuen Gewebes – erst später abgeschlossen wird. Eine sechsmonatige Untersuchungszeit ist viel zu gering um die abschließende Regeneration festzustellen (Hill et al., 1981; Esposito et al., 2005; Lane et al., 2005).

7.2 Diskussion der Ergebnisse

Die Anwendung von autologen Wachstumsfaktoren zur Unterstützung parodontaler Regeneration bietet einen neuen, attraktiven und relativ einfach zugänglichen Therapieeinsatz.

Die zugrunde liegenden biologischen Prinzipien sind zwar geklärt, aber trotz des inzwischen etablierten klinischen Gebrauchs mangelt es immer noch an klinischen Studien und Resultaten.

Diese Studie zeigt zum ersten Mal den Verlauf und die Ergebnisse parodontaler Regeneration nach der Behandlung mit Unterstützung von autologen Wachstumsfaktoren. Darüber hinaus wurde die Thrombozytenzahl bei jedem Patienten ermittelt, welche an dem Erfolg der Behandlung beteiligt ist.

Dies ist in Zusammenhang mit dem regelmäßig berichteten Hintergrund zu sehen, dass die frühe Wundheilung bei Anwendung von Wachstumsfaktoren, sowohl den rekombinanten als auch den autologen, deutlich verbessert ist (Martin et al., 1992; Steenfos, 1994; Grazul-Bilska et al., 2003; Molloy et al., 2003; Tozum and Demiralp, 2003).

Die Mundhygiene hat laut zahlreicher Studien (Nyman et al., 1977; Tonetti et al., 2004; Heitz-Mayfield et al., 2006) einen wichtigen Einfluss auf den Behandlungserfolg. In unserer Studie waren leichte Anzeichen von Gingivitis zu beobachten (s. Ergebnisse). Der Gingiva-Index (GI) ist während der Nachkontrollzeit, d.h. zwölf Monate, von 0,43 auf 0,18 an den Testzähnen gesunken, wobei auf den Kontrollzähnen er in diesem Zeitraum von 0,37 auf 0,43 angestiegen ist. Der Approximal Plaque Index (API) betrug in der Baseline-Sitzung 6,69 % und nach zwölf Monaten 15,2%, hielt sich also im niedrigen Bereich. Der Plaque-Index (PLI, Loe 1967), erhoben am Anfang der Studie, betrug bei den Testzähnen 0,15 und an den Kontrollzähnen 0,2. Nach zwölf Monaten ist er auf 0,31 bei den Testzähnen gestiegen und auf 0,15 an den Kontrollzähnen gesunken.

Der BOP-Index, erhoben an den Test- und Kontrollzähnen, hat sich auch innerhalb von zwölf Monaten verbessert und ist jeweils von 21,8 % auf 12,5 % an den Testzähnen bzw. auf 18,75 % an den Kontrollzähnen gesunken.

Die Mundhygiene zeigte damit an Test- und Kontrollzähnen gewisse Variationen, die jedoch innerhalb der geforderten Grenzen für eine adäquate Mundhygiene lagen.

Ähnliche Beobachtungen wurden auch in anderen Studien zur Knochenregeneration und zu minimalinvasiv chirurgischen Studien dargestellt (Lekovic et al., 2002; Tonetti et al., 2002; Wachtel et al., 2003; Christgau et al., 2006; Cortellini and Tonetti, 2007; Dori et al., 2007).

Beide Therapieverfahren dieser Studie, d.h. die mikrochirurgische Parodontaltherapie mit bzw. ohne Thrombozytenkonzentrat, führten zu einer signifikanten Abnahme der Sondierungstiefe (auf der Testseite um 4,41 ($\pm 1,27$) mm und auf der Kontrollseite um

3,38 ($\pm 1,13$) mm, $P= 0,001$) und zu einem signifikanten klinischen Attachmentgewinn (auf der Testseite um 4,3 ($\pm 1,3$) mm und auf der Kontrollseite um 3 (± 2) mm, $P= 0,001$). In der vorliegenden Untersuchung konnten die Taschentiefen im Vergleich mit der Testbehandlung um 1,03 mm mehr vermindert werden, bei der Verbesserung des Attachmentniveaus gegenüber der Kontrollseite wurden 1,3 mm mehr gewonnen.

Diese Werte entsprechen im Wesentlichen den aus der Literatur bekannten Resultaten aus regenerativen Methoden.

In einer Meta-Analyse von Esposito et al. (Esposito et al., 2005), die über Ergebnisse der Studien mit der Anwendung von Schmelzmatrixproteinen berichtet, wurden nach zwölf Monaten folgende Unterschiede zwischen Kontroll- und Testgruppe gefunden.

In der Emdogaingruppe (Testgruppe) konnten die Taschentiefen im Vergleich zur Kontrollgruppe um 0,8 mm mehr vermindert werden und der Unterschied im Attachmentgewinn zwischen Test- und Kontrollgruppe betrug 1,2 mm.

In der Gruppe mit Emdogain versus GTR wurde kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe gefunden.

In einer anderen Meta-Analyse von Needleman et al. (Needleman et al., 2006) haben die Autoren die Ergebnisse der GTR-Studie zusammengefasst.

Die Taschentiefe in der Testbehandlung (GTR) ist im Vergleich zu der Kontrollbehandlung (Lappenoperation) um 1,21 mm mehr gesunken und der Attachmentgewinn betrug bei der Testmethode 1,22 mm mehr als bei der konventionellen Lappenoperation.

Im Vergleich zu anderen Studien sind also die hier vorgestellten Ergebnisse im Durchschnitt gleichartig. Damit ist gezeigt worden, dass die Anwendung von PRGF in der parodontalen Regeneration eine ganz effiziente Methode ist.

Vorteil der PRGF-Methode ist, neben der relativ einfachen Handhabung, dass das PRGF ein eigenes Produkt des Patienten ist und auf Fremdprodukte, wie xenogene Materialien komplett verzichtet werden kann.

Wie bei anderen Regenerationsverfahren auch, zeigen sich bei der PRGF-Methode Grenzen auf.

So führte z.B. die Behandlung von sehr tiefen Taschen (10 mm) in Einzelfällen nur zu befriedigenden, aber keinen kompletten Verbesserungen.

Zur quantitativen Erfassung der Knochenaufbauwerte wurden intraorale Röntgenbilder von jedem Defekt vor der Behandlung und zwölf Monate nach der Behandlung angefertigt.

Alle Röntgenaufnahmen wurden digitalisiert. Die Röntgenbilder wurden mittels PC Programms Scion Image 4.0.3.2 (Scion Corporation, Maryland, USA) ausgewertet. Dafür wurden die entsprechenden Längen gemessen (Kim et al., 2003).

Beide Therapieverfahren dieser Studie führten zu einem signifikanten Knochengewinn, der sich zwischen Test- und Kontrollgruppe signifikant unterschied (auf der Testseite um 2,92 ($\pm 1,31$) mm und auf der Kontrollseite um 1,34 ($\pm 1,76$) mm, $P = 0,001$).

In unserer Studie sind die Röntgenaufnahmen und die daraus ergebenden Daten nicht standardisiert. Deswegen sind sie nur weitere Hinweise darauf, dass das PRGF effizienteren Knochenwiederaufbau verursachen kann, als die herkömmliche Lappenoperation. Auf Grund der Probleme und den daraus sich ergebenden Ungenauigkeiten, den Knochenzuwachs genau im Röntgenbild zu messen, wäre lediglich eine Re-entry Operation als akkurate Methode für die Bestimmung des Knochengewinns zu sehen (Eickholz and Hausmann, 2002). Die Re-entry Operation scheidet in der vorliegenden Studie als systematische Methode aus, da eine minimalinvasive Vorgehensweise ein wesentlicher Kernpunkt unserer Studie war.

Knochentaschensondierung ist die Untersuchungsmethode, die nur in einer Richtung den Knochenzuwachs misst (nämlich in der Höhe), und damit auch nicht hundertprozentig dafür geeignet ist (Eickholz and Hausmann, 2002). Diese Messung entspricht der vertikalen Größe der Änderungen des Knochenniveaus. Auf dem Röntgenbild werden aber vertikale und horizontale Änderungen des Knochens dargestellt, die anders bei der Röntgenanalyse und Knochentaschensondierung ausfallen. Es ist sinnvoll die zwei verschiedenen Defekttypen zu unterscheiden: den breiten und schmalen.

Wenn im breiten Defekt die Knochenregeneration zur Knochenapposition an der Wand des Defektes führt, werden auf der Röntgenaufnahme deutliche Unterschiede gesehen, beim Sondieren werden dahingegen die Unterschiede kaum feststellbar (Abb. 50.a). Im schmalen Knochendefekt wird der Knochenzuwachs in der tiefsten Stelle stattfinden, was beim Sondieren deutlich feststellbar ist. Auf der Röntgenaufnahme wird er jedoch nur als kleiner Gewinn dargestellt (Abb. 50.b).

Diese Unterschiede in der Topographie des Knochenzuwachs und die Unterschiede, die zwischen den Sondierungswerten und den radiologisch feststellbaren

Knochengewinnen zu sehen seien könnten, weisen darauf hin, dass für die Bestimmung des genauen Knochenwiederaufbaus die Re-entry Operation notwendig wäre, mit der genauen Messung der Defektbreite, -tiefe und der Anzahl von beteiligten Wänden (Machtei, 1997; Eickholz and Ratka Krüger, 2002).

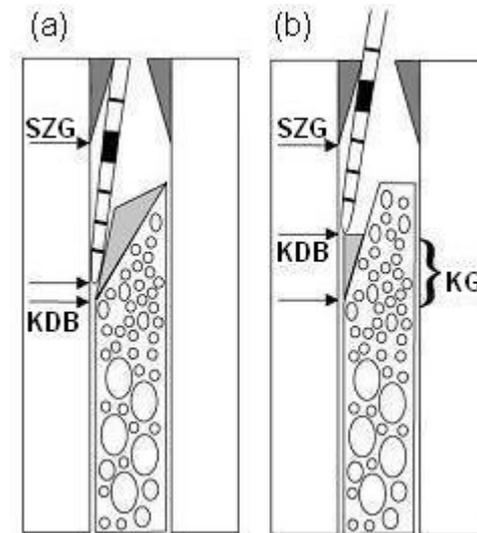


Abb. 50: Schematische Darstellung der zwei Möglichkeiten des Knochengewinns (a) für den breiten Knochendefekt, (b) für den schmalen Knochendefekt – nach Eickholz et al.

SZG- Schmelz-Zement Grenze, **KDB-** Knochendefektboden, **KG-** sondierbarer Knochniveaugewinn

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden auch keine histologischen Untersuchungen durchgeführt. Daher ist über die tatsächliche Qualität der Heilungsergebnisse keine Aussage möglich.

Beim Vergleichen der Wirksamkeit der verschiedenen Systeme zur Herstellung des Thrombozytenkonzentrates spielen, laut Appel et al. (Appel et al., 2002), einige Konzentrationsparameter eine beeinflussende Rolle, z.B. die gesamte Thrombozytenzahl, die man aus dem abgenommenen Blutvolumen in dem Thrombozytenkonzentrat bekommt, s.g. absolute Thrombozytenausbeute (Collection Efficiency). Dafür ist es notwendig, die gesamte Thrombozytenzahl im abgenommenen Vollblut in Bezug zu der Thrombozytenzahl im gesamten Thrombozytenkonzentrat zu bringen. Zweitens ist es wichtig die Thrombozytenkonzentration im TK zu der Thrombozytenkonzentration im Vollblut (Thr./ μ l) in Bezug zu bringen. Drittens, das gesamte Volumen des TK müsste mit dem abgenommenen Volumen des Vollblutes verglichen werden.

Die Thrombozytenausbeute, d.h. die gesamte Thrombozytenzahl, die man in dem Thrombozytenkonzentrat separiert hat, ist der bedeutsamste Parameter, da er der Leistungsfähigkeit des Systems entspricht.

Die Thrombozytenausbeute des PRGF-Systems in unseren Vorversuchen ergab 30%. Die anderen Systeme (Tab. 15) sind in der Lage zwischen 19% und 63% der absoluten Anzahl an Plättchen, die ursprünglich im entsprechenden Volumen der venösen Blutproben vorhanden waren, zu sammeln (Appel et al., 2002; Weibrich et al., 2003).

	PRGF ¹	Harvest Smart PReP ²	Friadent-Schütze ²	PCCS System ³	Labor-system ³	Curasan System ³
Thrombozytenausbeute (%)	20 %	63,4 ± 7,9	49,6 ± 13,6	49,6 ± 21	19,0 ± 16,6	41,9 ± 9,7

Tab. 15: Thrombozytenkonzentrationsfähigkeit in verschiedenen TK Herstellungssystemen. Zusammenstellung der Daten nach: 1. eigene Daten; 2. Weibrich et al. (Weibrich et al., 2003); 3. Appel et. al. (Appel et al., 2002)

Um selbst festzustellen, wie effizient das PRGF-Kit ist, wenn es um den Gewinn der Thrombozyten geht, wurde im Rahmen dieser Studie die Blutuntersuchung durchgeführt. Es wurde die Messung zur Thrombozytenkonzentration vorgenommen. Aufgrund der Menge an Plasma, welches in den Thrombozytenkonzentraten belassen wurde, konnte die Konzentration der Thrombozyten im Vergleich zum venösen Blut mit dem hier angewendeten PRGF-Verfahren etwa um das 1,8-fache gesteigert werden. In der Literatur findet man Anreicherungen zwischen dem 1,4- und 11,7-fachen (Appel et al., 2002).

Das PRGF-Verfahren entspricht in der Konzentration der Thrombozyten weitgehend der routinemäßigen Separation unter Laborbedingungen eines Instituts für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin (Appel et al., 2002). Es gibt aber auch die anderen Verfahren, wie das Curasan-Verfahren, die das 11-fache an Konzentration erreichen (Tab.16).

Jedoch ist es bis heute nicht geklärt, welche Konzentration für eine optimale Knochenregeneration idealerweise eingesetzt werden sollte.

Es gibt mehrere Veröffentlichungen über die Menge von Thrombozyten in Konzentraten. Die Spanne zwischen der Thrombozytenmenge in verschiedenen Konzentraten ist sehr groß.

Methode	Konzentration	Gehalt an Thrombozyten ($10^3/\mu\text{l}$)	% der Thromb.	% des Volumens
Vollblut ¹	1	221	100	100
PRGF ¹	1,9	420	29	15
Vollblut ²		274,2 ± 54		
PCCS ²		1 641,8 ± 426,82		
PRGF ²		513,63 ± 139,47		
Vollblut ³	1	212,4 ± 39,6	100	100
PCCS ³	5,0	1073 ± 533,	49,6 ± 21	10,3 ± 1,7
Curasan ³	11,75	2519,6 ± 834	41,9 ± 9,7	3,6 ± 0,3
Zell Separator ³	1,4	270,9 ± 218,3	19 ± 16,6	3,6 ± 0,3
Vollblut ⁴		255 ± 50	100	
PRGF ⁴		434 ± 133	46 ± 7,45	

Tab. 16: Thrombozytenkonzentration – Zusammenstellung der Daten nach: 1. eigene Daten; 2. Weibrich et al. (Weibrich et al., 2005); 3. Appel et. al. (Appel et al., 2002); 4. Weibrich et al. (Weibrich et al., 2002)

Laut der Literatur gibt es dafür mehrere Ursachen, z.B. verschiedene Drehmomente. Bei Zentrifugendrehzahlen zwischen 1600 und 2000 UPM lassen sich pro Liter separierten Blutes durchschnittlich $0,25-1,42 \times 10^{11}$ Thrombozyten isolieren. Dabei geht die Thrombozytenanreicherung in der Thrombozytenzone mit einer starken Thrombozytenverarmung im Plasma einher, während die Thrombozytenkontamination in der Erythrozytenzone über dem untersuchten Drehzahlbereich konstant bleibt. Gemessen an der Effizienz der Thrombozyten wird das beste Verhältnis zwischen Ausbeute und Erhaltung der Thrombozytenfunktion bei einer Drehzahl von 1600 UPM erreicht. Da mehrfacher Durchlauf des Spenderblutvolumens durch die Zentrifuge ebenso wie weitere Erhöhung der Zentrifugendrehzahl zu einem Anstieg des Anteils nicht effizienter Thrombozyten führt, sollte die Zentrifugation auf das einfache Blutvolumen beschränkt bleiben (Wysk et al., 1977).

Laut Weibrich et al. (Weibrich et al., 2002) scheint das Thrombozytenkonzentrat unter optimierten, jedoch nur teils bekannten Bedingungen in der Lage zu sein, die Knochenregenerationsprozesse zu aktivieren. Ihre Studie analysiert die Thrombozytenkonzentrat-Wirkung auf die Knochenregeneration in Abhängigkeit von der Thrombozytenkonzentration im Konzentrat.

Ein optimaler biologischer Effekt scheint nur bei Verwendung von Thrombozytenkonzentraten bei einer Thrombozytenanreicherung vom 2-6 fachen möglich. Eine Thrombozytenkonzentration von ca. 1 000 000 Thr./ μ l könnte einen maximalen biologischen Effekt bewirken. Da bei Ankopplung der thrombozytären Wachstumsfaktoren an alle entsprechenden Oberflächenrezeptoren der osteoblastähnlichen Zellen sich keine weitere Erhöhung der Proliferationsrate erzielen lässt, scheint die Anwendung von Thrombozytenkonzentraten der extrem hoch konzentrierten Gruppe möglicherweise sogar eine hemmende Wirkung zu haben (Weibrich et al., 2002; Weibrich et al., 2004).

In unserer Studie wurde zwar keine Untersuchung zum WF-Gehalt durchgeführt, man kann aber als Vergleich die Literaturergebnisse nutzen. Man könnte davon ausgehen, dass eine positive Korrelation zwischen Thrombozytenzahl im Thrombozytenkonzentrat und mancher Wachstumsfaktorenmenge (TGF- \bullet 1 und PDGF-AB) feststellbar ist (Singh et al., 1982; Appel et al., 2002; Weibrich et al., 2003; Weibrich et al., 2003).

Schon der Gehalt an Thrombozyten im Vollblut unterliegt großen intra- und interindividuellen Schwankungen. Das Ausmaß der weiteren Konzentrierung der Wachstumsfaktoren hat unmittelbar mit der Variation des Thrombozytengehalts zu tun und es scheint von der Aufbereitungsmethode auch abhängig zu sein. Bei der Herstellung des Thrombozytenkonzentrates unter Laborbedingungen (Blut Bank TK), scheint sich die größere Thrombozytenzahl (Blut Bank TK: 1434 Thr./ μ l; Curasan: 908 Thr./ μ l) in höheren TGF- \bullet 1-Werten (BB TK: 269 ng/ml) auszudrücken (im Vergleich zu dem Curasan-System, wo nur 95 ng/ml bekommen werden).

Mit dem Curasan-System sind dafür viel mehr PDGF-AB (234 ng/ml) zu bekommen als mit der Blut-Bank Methode (133 ng/ml) (Weibrich et al., 2003). Dabei fallen aber in beiden Verfahren die Leukozytenwerte in den Thrombozytenkonzentraten sehr unterschiedlich aus (Blut Bank TK: 160 Leu./ μ l; Curasan: 30 130 Leu./ μ l). Weibrich

suggeriert, dass die Thrombozyten in der BB-Methode die einzige Quelle für Wachstumsfaktoren zu sein scheinen. Allerdings wurden im Curasan TK noch zusätzliche Quellen der Wachstumsfaktoren (PDGF-AB) festgestellt. Die höhere Leukozytenzahl im Curasan TK schlägt sich in höheren PDGF-AB-Werten nieder. Die Thrombozyten bleiben jedoch weiterhin die prinzipielle Quelle für den TGF- \bullet 1.

Der Gehalt an Wachstumsfaktoren TGF- \bullet 1 und PDGF-AB unterschied sich signifikant, während dem der Gehalt an IGF-I keinen signifikanten Unterschied zeigte (BB TK: 85 ng/ml und Curasan TK: 101 ng/ml).

Da eine erhöhte Konzentration der WF nicht unbedingt bessere Ergebnisse erzielt und eine zu hohe Konzentration sogar zu einer toxischen Wirkung führen kann, sollte die Konzentration von Thrombozyten und Wachstumsfaktoren möglichst ausgeglichen sein (Weibrich et al., 2002; Weibrich et al., 2002). Manche Forscher haben einen positiven Einfluss auf die Knochenregeneration bei der Thrombozytenkonzentration von 1 000 000/ μ l gefunden (Marx et al., 1998; Weibrich et al., 2004). In manchen Studien wurde entweder ein geringer, oder sogar kein positiver Effekt festgestellt, wobei die Thrombozytenkonzentration dabei in einem sehr breiten Bereich lag (Roldan et al., 2004; Christgau et al., 2006).

Beim PRGF handelt es sich um die einzige bislang dokumentierte Technik zur Herstellung eines WF-Konzentrats mit einer geringen Anzahl von Leukozyten. Damit ist auch ein vermindertes Risiko an Entzündungsreaktionen vorhanden, da die Leukozyten physiologischerweise eine Vielzahl von Zytokinen enthalten. Einige Autoren empfehlen die Vermeidung der Leukozyten um eine mögliche Begleitentzündung nach TK Anwendung zu vermeiden (Anitua, 1999). Es findet sich aber in der Literatur kein Hinweis darauf, dass die Leukozyten in dem Thrombozytenkonzentrat, in dem sie hergestellt wurden, eine schädigende Wirkung ausüben könnten.

Der Vergleich der Leukozytenzahl im Thrombozytenkonzentrat, das nach verschiedenen Methoden bekommen wurde, wurde in der Tabelle 17 dargestellt.

Die Methode verzichtet auf Einbeziehung des Buffy Coat und der darin enthaltenen Leukozyten, wobei jedoch die darin enthaltenen Thrombozyten (etwa 25%) ebenfalls verloren gehen (Weibrich et al., 2002). Dies könnte zum Teil die im Vergleich mit anderen Verfahren verminderte Thrombozytenausbeute erklären.

	PCCS Vollblut ¹	PCCS TK ¹	Curasan Vollblut ¹	Curasan TK ¹	Zell Separator Vollblut ²	Zell Separator TK ²	PRGF KIT Vollblut ³	PRGF KIT TK ³
Median	6,42	15,30	6,42	33,15	Keine Angaben	174	5750	150
Minimum	4,36	3,48	4,36	5	Keine Angaben	11	3 800	0
Maximum	8,95	33,09	8,95	55	Keine Angaben	3530	13 1000	700

Tab. 17: Gehalt an Leukozyten (1/ μ l); (TK) - Thrombozytenkonzentrat: 1) (Weibrich et al., 2002) 2) (Weibrich et al., 2002) 3) eigene Daten

Das Konzentrat, das wir in unserer Studie verwendet haben, enthält weniger Thrombozyten und angenommen dadurch auch wesentlich weniger WF als die Thrombozytenkonzentrate, die durch andere Methoden zu bekommen sind. Die Leukozyten sind nach Weibrich et al. und Appel et al. (Appel et al., 2002; Weibrich et al., 2003; Weibrich et al., 2003) vermutlich zusätzliche Quellen für PDGF-AB, da die große Leukozytenzahl im Thrombozytenkonzentrat nach der Curasan Methode sich zu höheren PDGF-AB Werten auszudrücken scheint.

Allerdings ist es immer noch nicht klar, welche Konzentration die günstigste für die parodontale Regeneration und für Knochenwiederaufbau ist.

8. Schlussfolgerung

In der Studie wurde erstmals gezeigt, dass die Verwendung von PRGF nach dem Anitua-Verfahren eine hohe Taschenreduktion und mehr Attachmentgewinn erzielt als eine herkömmliche Lappenoperation.

Die Methode ist im Vergleich mit anderen Behandlungskonzepten klinisch gut anwendbar, gut durchführbar und kann in den Praxen sachgemäß durchgeführt werden. Die Tatsache, dass die Heilung an allen behandelten Parodontien problemlos verlief, legt die Vermutung nahe, dass die Methode sehr gewebeverträglich ist und durch den Patienten gut akzeptiert wird. Es ist auch sehr wichtig darauf hinzuweisen, dass die Behandlung ohne weitere Zusätze wie Knochenersatzmaterialien, Membranen oder Schmelzmatrixproteinen erfolgt. Das PRGF ist ein eigenes Produkt des Patienten und auf Fremdprodukte, wie xenogene Materialien bei der Regeneration des Parodontiums kann komplett verzichtet werden.

Damit bestehen erste Hinweise darauf, dass diese Behandlungstechnik, für die parodontale Wundheilung und Regeneration eine fördernde Wirkung hat und als Alternative zu anderen Regenerationsverfahren, wie z.B. Membrantechnik oder Schmelzmatrixproteinen, angesehen werden kann.

9. Zusammenfassung

Der Einsatz von autologen Wachstumsfaktoren, in Form von Thrombozytenkonzentraten, erweitert deutlich das Behandlungsspektrum in der regenerativen Zahnmedizin.

Ziel dieser Split-Mouth-Design, randomisierten, kontrollierten und klinischen Blindstudie war es, die Effektivität einer minimalinvasiven chirurgischen Parodontaltherapie mit oder ohne Anwendung des Thrombozytenkonzentrates (PRGF) miteinander zu vergleichen. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Applikation von autologen Wachstumsfaktoren auf die mikrochirurgisch vorbereiteten Wurzeloberflächen von parodontal erkrankten Zähnen die Regeneration bzw. Reparation des parodontalen Gewebes fördert.

Zwanzig Patienten mit chronischer Parodontitis, mit einem durchschnittlichen Alter von 43 Jahren nahmen an der Studie teil (18 haben sie beendet: 3 Männer und 15 Frauen). Die Beobachtungs- und Nachuntersuchungszeit dauerte zwölf Monate.

Bei jedem Patienten wurden nach der konventionellen Parodontaltherapie mit Scaling und Wurzelglättung mindestens zwei kontralaterale erkrankte Zähne mit einer Sondierungstiefe von mindestens 7 mm festgestellt.

Die eigentliche Behandlung bestand in einer mikrochirurgischen Lappenoperation, die in der gleichen Sitzung auf der Kontrollseite ohne bzw. auf der Testseite mit Applikation eines autologen Thrombozytenkonzentrates nach dem PRGF-Verfahren durchgeführt wurde.

Klinische Parameter: Sondierungstiefe (ST) und klinischer Attachmentlevel (CAL) sowie die Mundhygieneindizes (API, PBI, PI, GI, BOP) wurden präoperativ sowie nach einem, drei, sechs und zwölf Monaten von einem verblindeten, kalibrierten Untersucher erhoben. Sowohl vor der Behandlung als auch zwölf Monate danach wurden Röntgenaufnahmen angefertigt. Mittels Röntgenanalyse wurde der Knochenwiederaufbau untersucht.

Es zeigte sich ein bedeutend größeres Ausmaß von neuem Weich- und Hartgewebe an den Zähnen, die mit Einsatz von Thrombozytenkonzentraten behandelt wurden. Die Unterschiede in den Ergebnissen sowohl von Sondierungstiefenreduktion,

Attachmentgewinn als auch Knochengewinn zwischen beiden Gruppen waren hochsignifikant, jeweils $P=0,001$.

Dennoch haben beide Therapieverfahren dieser Studie, d.h. die mikrochirurgische Parodontaltherapie mit und ohne Thrombozytenkonzentrat, zu einer signifikanten Abnahme der Sondierungstiefe (auf der Testseite um 4,41 ($\pm 1,27$) mm und auf der Kontrollseite um 3,38 ($\pm 1,13$) mm) und zu einem signifikanten klinischen Attachmentgewinn (auf der Testseite um 4,3 ($\pm 1,3$) mm und auf der Kontrollseite um 3 (± 2) mm) geführt.

Die PRGF Methode hat auch einen signifikant höheren Knochengewinn als das Kontrollverfahren erzielt (PRGF-Methode: 2,92 ($\pm 1,31$) mm, Kontrolle: 1,34 ($\pm 1,76$) mm ($P=0,001$)).

Zusammenfassend konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass die autologen Wachstumsfaktoren einen besseren parodontalen Gewebeaufbau stimulieren können als die konventionelle Parodontaltherapie. Die Röntgenanalyse weist daraufhin, dass das Thrombozytenkonzentrat insbesondere auch den Knochenwiederaufbau fördert.

10. Abstract

Background:

The regeneration of periodontal attachment is particularly difficult to achieve because of the presence of many different kinds of tissues to be restored as a functional unit. Autologous platelet concentrate (Platelet Rich Plasma - PRP) contains autologous thrombocyte growth factors that stimulate the proliferation rate of human osteoblastic like cells (OLC) and produce a number of potent effects on periodontal ligament cells (PDLC), which has been proved in vitro. Also fibrinogen converted to fibrin in combination with growth factors might effectively promote wound healing and periodontal regeneration. These in vitro results point out that the clinical use of PRP might increase dentoalveolar bone regeneration.

Aim of the study:

This randomized controlled clinical study was designed to compare the clinical outcomes of periodontal minimally invasive surgical treatment with (test defects) and without (control defects) the application of autologous platelet concentrate (Plasma Rich in Growth Factors - PRGF) on bone regeneration.

Material and methods:

20 patients with advanced chronic periodontitis were recruited and 18 fully completed the study. All patients completed scaling and root planning before conventional periodontal therapy. At least two contralateral gingival pockets with probing pocket depths (PPD) of 7 mm and two intra-bony defects (ID) of minimum 4 mm were diagnosed in every patient.

The surgical procedures included access for root instrumentation using minimally invasive surgical technique in order to reduce the surgical trauma and to increase flap stability. After debridement roots were conditioned for 2 min with a gel containing 24% EDTA. In the test defects the PRGF was additionally applied. PRGF was preoperatively prepared by the PRGF system (BTI, Pforzheim Deutschland).

Clinical outcomes such as probing pocket depth (PPD), clinical attachment level (CAL) and oral hygiene indexes: API, PBI, PI, GI, BOP were collected at baseline and after 1, 3, 6, and 12 months.

Radiological data was collected at baseline and after 12 months. This data was digitised and evaluated with the Scion Image PC Program (Scion Corporation, Maryland, USA).

Results:

At baseline, 32 test defects and 32 control defects had similar PPD: the test defects: 7 ($\pm 1,0$) mm and the control defects 7,4 ($\pm 0,9$) mm, and CAL : the test defects: 7,97 ($\pm 1,18$) mm and the control defects 8,28 ($\pm 1,85$) mm.

Both CAL gain and PPD reduction one year after baseline were clinically and statistically highly significant ($p=0,001$) in both groups. However, PPD reduction was higher in the test defects 4,41 ($\pm 1,27$) mm than in the controls defects 3,38 ($\pm 1,13$) mm. On average, the test defects gained 4,3 ($\pm 1,3$) mm of CAL, while the control defects yielded a significantly lower CAL gain of 3 (± 2) mm, ($P=0,001$).

Radiological analysis has shown a bone gain within infrabony pockets. The difference between two groups was also statistically significant ($P=0,001$). The test defects gained 2,92 ($\pm 1,31$) mm and the control defects gained 1,34 ($\pm 1,76$) mm bone.

Conclusion:

A one-year follow-up demonstrated clinical and radiographic improvements.

The results of this trial indicated that minimally invasive surgical periodontal treatment with PRGF application offers an additional benefit in terms of CAL and bone gain as well as PPD reduction.

11. Literaturverzeichnis

- Aghaloo, T. L., P. K. Moy and E. G. Freymiller (2002). "Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study." J Oral Maxillofac Surg **60**(10): 1176-81.
- Ah, M. K., G. K. Johnson, W. B. Kaldahl, K. D. Patil and K. L. Kalkwarf (1994). "The effect of smoking on the response to periodontal therapy." J Clin Periodontol **21**(2): 91-7.
- Anitua, E. (1999). "Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants." Int J Oral Maxillofac Implants **14**(4): 529-35.
- Anitua, E. (2001). "The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery." Pract Proced Aesthet Dent **13**(6): 487-93; quiz 487-93.
- Anitua, E., I. Andia, B. Ardanza, P. Nurden and A. T. Nurden (2004). "Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration." Thromb Haemost **91**(1): 4-15.
- Anitua, E., I. Andia, M. Sanchez, J. Azofra, M. del Mar Zaldueño, M. de la Fuente, P. Nurden and A. T. Nurden (2005). "Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture." J Orthop Res **23**(2): 281-6.
- Anitua, E. and A. O. I (2002). "Ideale Implantatoberfläche für Bioaktivierung mit P.R.G.F." Dental Implantologie **6**: 14-22.
- Appel, T. R., B. Potzsch, J. Müller, J. J. von Lindern, S. J. Berge and R. H. Reich (2002). "Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment." Clin Oral Implants Res **13**(5): 522-8.
- Assoian, R. K., B. E. Fleurdelys, H. C. Stevenson, P. J. Miller, D. K. Madtes, E. W. Raines, R. Ross and M. B. Sporn (1987). "Expression and secretion of type beta transforming growth factor by activated human macrophages." Proc Natl Acad Sci U S A **84**(17): 6020-4.
- Aukhil, I. (2000). "Biology of wound healing." Periodontol 2000 **22**: 44-50.
- Badersten, A., R. Nilveus and J. Egelberg (1990). "Scores of plaque, bleeding, suppuration and probing depth to predict probing attachment loss. 5 years of observation following nonsurgical periodontal therapy." J Clin Periodontol **17**(2): 102-7.
- Bartold, P. M., L. J. Walsh and A. S. Narayanan (2000). "Molecular and cell biology of the gingiva." Periodontol 2000 **24**: 28-55.
- Bateman, J., G. Intini, J. Margarone, S. Goodloe, P. Bush, S. E. Lynch and R. Dziak (2005). "Platelet-derived growth factor enhancement of two alloplastic bone matrices." J Periodontol **76**(11): 1833-41.
- Becker, W., B. E. Becker, R. Caffesse, G. Kerry, C. Ochsenbein, E. Morrison and J. Prichard (2001). "A longitudinal study comparing scaling, osseous surgery, and modified Widman procedures: results after 5 years." J Periodontol **72**(12): 1675-84.
- Blomlof, J., L. Blomlof and S. Lindskog (1997). "Effect of different concentrations of EDTA on smear removal and collagen exposure in periodontitis-affected root surfaces." J Clin Periodontol **24**(8): 534-7.
- Blomlof, J., A. Cederlund, B. Jonsson and N. G. Ohlson (2001). "Acid conditioning combined with single-component and two-component dentin bonding agents." Quintessence Int **32**(9): 711-5.

- Blomlof, J. P., L. B. Blomlof and S. F. Lindskog (1996). "Smear removal and collagen exposure after non-surgical root planing followed by etching with an EDTA gel preparation." J Periodontol **67**(9): 841-5.
- Blomlof, J. P., L. B. Blomlof and S. F. Lindskog (1997). "Smear layer formed by different root planing modalities and its removal by an ethylenediaminetetraacetic acid gel preparation." Int J Periodontics Restorative Dent **17**(3): 242-9.
- Bogren, A., R. Teles, G. Torresyap, A. D. Haffajee, S. S. Socransky, J. Lindhe and J. L. Wennstrom (2007). "A three-year prospective study of adult subjects with gingivitis. I: clinical periodontal parameters." J Clin Periodontol **34**(1): 1-6.
- Bokan, I., J. S. Bill and U. Schlagenhauf (2006). "Primary flap closure combined with Emdogain alone or Emdogain and Cerasorb in the treatment of intra-bony defects." J Clin Periodontol **33**(12): 885-93.
- Boyko, G. A., A. H. Melcher and D. M. Brunette (1981). "Formation of new periodontal ligament by periodontal ligament cells implanted in vivo after culture in vitro. A preliminary study of transplanted roots in the dog." J Periodontal Res **16**(1): 73-88.
- Briem, D., S. Strametz, K. Schroeder, N. M. Meenen, W. Lehmann, W. Linhart, A. Ohl and J. M. Rueger (2005). "Response of primary fibroblasts and osteoblasts to plasma treated polyetheretherketone (PEEK) surfaces." J Mater Sci Mater Med **16**(7): 671-7.
- Buhling, F., G. Tholert, D. Kaiser, B. Hoffmann, D. Reinhold, S. Ansorge and T. Welte (1999). "Increased release of transforming growth factor (TGF)-beta1, TGF-beta2, and chemoattractant mediators in pneumonia." J Interferon Cytokine Res **19**(3): 271-8.
- Buser, D., K. Warrer and T. Karring (1990). "Formation of a periodontal ligament around titanium implants." J Periodontol **61**(9): 597-601.
- Caffesse, R. G., M. J. Holden, S. Kon and C. E. Nasjleti (1985). "The effect of citric acid and fibronectin application on healing following surgical treatment of naturally occurring periodontal disease in beagle dogs." J Clin Periodontol **12**(7): 578-90.
- Camargo, P. M., V. Lekovic, M. Weinlaender, N. Vasilic, E. B. Kenney and M. Madzarevic (2001). "The effectiveness of enamel matrix proteins used in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects in humans." J Clin Periodontol **28**(11): 1016-22.
- Camargo, P. M., V. Lekovic, M. Weinlaender, N. Vasilic, M. Madzarevic and E. B. Kenney (2002). "Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans." J Periodontal Res **37**(4): 300-6.
- Carnes, D. L., C. L. Maeder and D. T. Graves (1997). "Cells with osteoblastic phenotypes can be explanted from human gingiva and periodontal ligament." J Periodontol **68**(7): 701-7.
- Caton, J., M. Proye and A. Polson (1982). "Maintenance of healed periodontal pockets after a single episode of root planing." J Periodontol **53**(7): 420-4.
- Cederlund, A., B. Jonsson and J. Blomlof (2001). "Shear strength after ethylenediaminetetraacetic acid conditioning of dentin." Acta Odontol Scand **59**(6): 418-22.
- Christgau, M., D. Moder, K. A. Hiller, A. Dada, G. Schmitz and G. Schmalz (2006). "Growth factors and cytokines in autologous platelet concentrate and their correlation to periodontal regeneration outcomes." J Clin Periodontol **33**(11): 837-45.

- Christgau, M., D. Moder, J. Wagner, M. Glassl, K. A. Hiller, A. Wenzel and G. Schmalz (2006). "Influence of autologous platelet concentrate on healing in intra-bony defects following guided tissue regeneration therapy: a randomized prospective clinical split-mouth study." J Clin Periodontol **33**(12): 908-21.
- Claffey, N. and J. Egelberg (1994). "Clinical characteristics of periodontal sites with probing attachment loss following initial periodontal treatment." J Clin Periodontol **21**(10): 670-9.
- Claffey, N. and J. Egelberg (1995). "Clinical indicators of probing attachment loss following initial periodontal treatment in advanced periodontitis patients." J Clin Periodontol **22**(9): 690-6.
- Claffey, N., B. Loos, B. Gantes, M. Martin and J. Egelberg (1989). "Probing depth at re-evaluation following initial periodontal therapy to indicate the initial response to treatment." J Clin Periodontol **16**(4): 229-33.
- Cochran, D. L., R. Schenk, D. Buser, J. M. Wozney and A. A. Jones (1999). "Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulation of bone formation around endosseous dental implants." J Periodontol **70**(2): 139-50.
- Cortellini, P., G. Carnevale, M. Sanz and M. S. Tonetti (1998). "Treatment of deep and shallow intrabony defects. A multicenter randomized controlled clinical trial." J Clin Periodontol **25**(12): 981-7.
- Cortellini, P., G. Pini-Prato and M. Tonetti (1994). "Periodontal regeneration of human infrabony defects (V). Effect of oral hygiene on long-term stability." J Clin Periodontol **21**(9): 606-10.
- Cortellini, P. and M. S. Tonetti (2007). "A minimally invasive surgical technique with an enamel matrix derivative in the regenerative treatment of intra-bony defects: a novel approach to limit morbidity." J Clin Periodontol **34**(1): 87-93.
- Cugini, M. A., A. D. Haffajee, C. Smith, R. L. Kent, Jr. and S. S. Socransky (2000). "The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results." J Clin Periodontol **27**(1): 30-6.
- Dahlen, G., J. Lindhe, K. Sato, H. Hanamura and H. Okamoto (1992). "The effect of supragingival plaque control on the subgingival microbiota in subjects with periodontal disease." J Clin Periodontol **19**(10): 802-9.
- Deutsch, D., J. Catalano-Sherman, L. Dafni, S. David and A. Palmon (1995). "Enamel matrix proteins and ameloblast biology." Connect Tissue Res **32**(1-4): 97-107.
- Deutsch, D., Y. Leiser, B. Shay, E. Fermon, A. Taylor, E. Rosenfeld, L. Dafni, K. Charuvi, Y. Cohen, A. Haze, A. Fuks and Z. Mao (2002). "The human tuftelin gene and the expression of tuftelin in mineralizing and nonmineralizing tissues." Connect Tissue Res **43**(2-3): 425-34.
- Dori, F., T. Huszar, D. Nikolidakis, N. B. Arweiler, I. Gera and A. Sculean (2007). "Effect of platelet-rich plasma on the healing of intra-bony defects treated with a natural bone mineral and a collagen membrane." J Clin Periodontol **34**(3): 254-61.
- Eickholz, P. and E. Hausmann (2002). "Evidence for healing of periodontal defects 5 years after conventional and regenerative therapy: digital subtraction and bone level measurements." J Clin Periodontol **29**(10): 922-8.
- Eickholz, P. and P. Ratka Krüger (2002). "Aufbau von klinischen Studien zur Untersuchung von Verfahren zur Rezessionsdeckung und zur regenerativen Parodontistherapie." Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift **56**: 643-651.
- Esposito, M., M. G. Grusovin, P. Coulthard and H. V. Worthington (2005). "Enamel matrix derivative (Emdogain) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects." Cochrane Database Syst Rev(4): CD003875.

- Froum, S. J., M. A. Weinberg and D. Tarnow (1998). "Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. A clinical study." J Periodontol **69**(6): 698-709.
- Gamal, A. Y. and J. M. Mailhot (2003). "The effects of EDTA gel conditioning exposure time on periodontitis-affected human root surfaces: surface topography and PDL cell adhesion." J Int Acad Periodontol **5**(1): 11-22.
- Garrett, S., A. M. Polson, N. H. Stoller, C. L. Drisko, J. G. Caton, C. Q. Harrold, G. Bogle, H. Greenwell, R. A. Lowenguth, S. P. Duke and T. A. DeRouen (1997). "Comparison of a bioabsorbable GTR barrier to a non-absorbable barrier in treating human class II furcation defects. A multi-center parallel design randomized single-blind trial." J Periodontol **68**(7): 667-75.
- Gestrelus, S., C. Andersson, A. C. Johansson, E. Persson, A. Brodin, L. Rydhag and L. Hammarstrom (1997). "Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization." J Clin Periodontol **24**(9 Pt 2): 678-84.
- Gestrelus, S., C. Andersson, D. Lidstrom, L. Hammarstrom and M. Somerman (1997). "In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative." J Clin Periodontol **24**(9 Pt 2): 685-92.
- Gestrelus, S., S. P. Lyngstadaas and L. Hammarstrom (2000). "Emdogain--periodontal regeneration based on biomimicry." Clin Oral Investig **4**(2): 120-5.
- Giannobile, W. V., R. D. Finkelman and S. E. Lynch (1994). "Comparison of canine and non-human primate animal models for periodontal regenerative therapy: results following a single administration of PDGF/IGF-I." J Periodontol **65**(12): 1158-68.
- Goldman, H. and W. Cohen (1958). "The infrabony pocket: classification and treatment." J Periodontol **61**: 680-5.
- Grazul-Bilska, A. T., M. L. Johnson, J. J. Bilski, D. A. Redmer, L. P. Reynolds, A. Abdullah and K. M. Abdullah (2003). "Wound healing: the role of growth factors." Drugs Today (Barc) **39**(10): 787-800.
- Greenhalgh, D. G. (1996). "The role of growth factors in wound healing." J Trauma **41**(1): 159-67.
- Grossi, S. G., R. J. Genco, E. E. Machtei, A. W. Ho, G. Koch, R. Dunford, J. J. Zambon and E. Hausmann (1995). "Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss." J Periodontol **66**(1): 23-9.
- Grossi, S. G., J. J. Zambon, A. W. Ho, G. Koch, R. G. Dunford, E. E. Machtei, O. M. Norderyd and R. J. Genco (1994). "Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss." J Periodontol **65**(3): 260-7.
- Grotendorst, G. R., G. Smale and D. Pencev (1989). "Production of transforming growth factor beta by human peripheral blood monocytes and neutrophils." J Cell Physiol **140**(2): 396-402.
- Haegewald, S. (2002). "Wound Healing and Regeneration after Periodontal Surgery - Basic Mechanisms and Importance." Parodontologie **13**(1): 7-26.
- Haegewald, S., N. Pischon, P. Jawor, J. P. Bernimoulin and B. Zimmermann (2004). "Effects of enamel matrix derivative on proliferation and differentiation of primary osteoblasts." Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod **98**(2): 243-9.
- Hammarstrom, L., I. Alatlil and C. D. Fong (1996). "Origins of cementum." Oral Dis **2**(1): 63-9.
- Hammarstrom, L., L. Heijl and S. Gestrelus (1997). "Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins." J Clin Periodontol **24**(9 Pt 2): 669-77.
- Heijl, L. (1997). "Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report." J Clin Periodontol **24**(9 Pt 2): 693-6.

- Heijl, L., G. Heden, G. Svardstrom and A. Ostgren (1997). "Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects." J Clin Periodontol **24**(9 Pt 2): 705-14.
- Heitz-Mayfield, L., M. S. Tonetti, P. Cortellini and N. P. Lang (2006). "Microbial colonization patterns predict the outcomes of surgical treatment of intrabony defects." J Clin Periodontol **33**(1): 62-8.
- Hill, R. W., S. P. Ramfjord, E. C. Morrison, E. A. Appleberry, R. G. Caffesse, G. J. Kerry and R. R. Nissle (1981). "Four types of periodontal treatment compared over two years." J Periodontol **52**(11): 655-62.
- Hirooka, H. (1998). "The biologic concept for the use of enamel matrix protein: true periodontal regeneration." Quintessence Int **29**(10): 621-30.
- Hoang, A. M., R. J. Klebe, B. Steffensen, O. H. Ryu, J. P. Simmer and D. L. Cochran (2002). "Amelogenin is a cell adhesion protein." J Dent Res **81**(7): 497-500.
- Hohlfeld, M. and J. P. Bernimoulin (1993). "Application of the community periodontal index of treatment needs (CPITN) in a group of 45-54-year-old German factory workers." J Clin Periodontol **20**(8): 551-6.
- Hujoel, P. P., D. A. Baab and T. A. DeRouen (1992). "The power of tests to detect differences between periodontal treatments in published studies." J Clin Periodontol **19**(10): 779-84.
- Isidor, F., R. Attstrom and T. Karring (1985). "Regeneration of alveolar bone following surgical and non-surgical periodontal treatment." J Clin Periodontol **12**(8): 687-96.
- Kaldahl, W. B., K. L. Kalkwarf, K. D. Patil, J. K. Dyer and R. E. Bates, Jr. (1988). "Evaluation of four modalities of periodontal therapy. Mean probing depth, probing attachment level and recession changes." J Periodontol **59**(12): 783-93.
- Kaldahl, W. B., K. L. Kalkwarf, K. D. Patil, M. P. Molvar and J. K. Dyer (1996). "Long-term evaluation of periodontal therapy: I. Response to 4 therapeutic modalities." J Periodontol **67**(2): 93-102.
- Kaldahl, W. B., K. L. Kalkwarf, K. D. Patil, M. P. Molvar and J. K. Dyer (1996). "Long-term evaluation of periodontal therapy: II. Incidence of sites breaking down." J Periodontol **67**(2): 103-8.
- Karring, T., F. Isidor, S. Nyman and J. Lindhe (1985). "New attachment formation on teeth with a reduced but healthy periodontal ligament." J Clin Periodontol **12**(1): 51-60.
- Karring, T., S. Nyman, J. Gottlow and L. Laurell (1993). "Development of the biological concept of guided tissue regeneration--animal and human studies." Periodontol **2000** **1**: 26-35.
- Karring, T., S. Nyman and J. Lindhe (1980). "Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue." J Clin Periodontol **7**(2): 96-105.
- Kassolis, J. D., P. S. Rosen and M. A. Reynolds (2000). "Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series." J Periodontol **71**(10): 1654-61.
- Kawase, T., K. Okuda, Y. Saito, N. Amizuka, H. Suzuki and H. Yoshie (2005). "Platelet-rich plasma provides nucleus for mineralization in cultures of partially differentiated periodontal ligament cells." In Vitro Cell Dev Biol Anim **41**(5-6): 171-6.
- Kawase, T., K. Okuda, Y. Saito and H. Yoshie (2005). "In vitro evidence that the biological effects of platelet-rich plasma on periodontal ligament cells is not mediated solely by constituent transforming-growth factor-beta or platelet-derived growth factor." J Periodontol **76**(5): 760-7.

- Kawase, T., K. Okuda, L. F. Wolff and H. Yoshie (2003). "Platelet-rich plasma-derived fibrin clot formation stimulates collagen synthesis in periodontal ligament and osteoblastic cells in vitro." J Periodontol **74**(6): 858-64.
- Kim, T. S., M. Knittel, C. Dorfer, H. Steinbrenner, R. Holle and P. Eickholz (2003). "Comparison of two types of synthetic biodegradable barriers for GTR in interproximal infrabony defects: clinical and radiographic 24-month results." Int J Periodontics Restorative Dent **23**(5): 481-9.
- Kinane, D. F. and I. G. Chestnutt (2000). "Smoking and periodontal disease." Crit Rev Oral Biol Med **11**(3): 356-65.
- Kinane, D. F. and M. Radvar (1997). "The effect of smoking on mechanical and antimicrobial periodontal therapy." J Periodontol **68**(5): 467-72.
- Kinoshita, A., S. Oda, K. Takahashi, S. Yokota and I. Ishikawa (1997). "Periodontal regeneration by application of recombinant human bone morphogenetic protein-2 to horizontal circumferential defects created by experimental periodontitis in beagle dogs." J Periodontol **68**(2): 103-9.
- Kleinfelder, J. W., R. F. Muller and D. E. Lange (1999). "Antibiotic susceptibility of putative periodontal pathogens in advanced periodontitis patients." J Clin Periodontol **26**(6): 347-51.
- Knighton, D. R., T. K. Hunt, K. K. Thakral and W. H. Goodson, 3rd (1982). "Role of platelets and fibrin in the healing sequence: an in vivo study of angiogenesis and collagen synthesis." Ann Surg **196**(4): 379-88.
- Kornman, K. S. and P. B. Robertson (2000). "Fundamental principles affecting the outcomes of therapy for osseous lesions." Periodontol 2000 **22**: 22-43.
- Krupski, W. C., L. M. Reilly, S. Perez, K. M. Moss, P. A. Crombleholme and J. H. Rapp (1991). "A prospective randomized trial of autologous platelet-derived wound healing factors for treatment of chronic nonhealing wounds: a preliminary report." J Vasc Surg **14**(4): 526-32; discussion 532-6.
- KZBV, K., R., K. BZÄK, J. and M. IDZ, W. (2006). Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie.
- Labriola, A., I. Needleman and D. R. Moles (2005). "Systematic review of the effect of smoking on nonsurgical periodontal therapy." Periodontol 2000 **37**: 124-37.
- Lackler, K. P., D. L. Cochran, A. M. Hoang, V. Takacs and T. W. Oates (2000). "Development of an in vitro wound healing model for periodontal cells." J Periodontol **71**(2): 226-37.
- Landesberg, R., M. Roy and R. S. Glickman (2000). "Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation." J Oral Maxillofac Surg **58**(3): 297-300; discussion 300-1.
- Lane, N., G. C. Armitage, P. Loomer, S. Hsieh, S. Majumdar, H. Y. Wang, M. Jeffcoat and T. Munoz (2005). "Bisphosphonate therapy improves the outcome of conventional periodontal treatment: results of a 12-month, randomized, placebo-controlled study." J Periodontol **76**(7): 1113-22.
- Laurell, L. and J. Gottlow (1998). "Guided tissue regeneration update." Int Dent J **48**(4): 386-98.
- Laurell, L., J. Gottlow, M. Zybutz and R. Persson (1998). "Treatment of intrabony defects by different surgical procedures. A literature review." J Periodontol **69**(3): 303-13.
- Lekovic, V., P. M. Camargo, M. Weinlaender, N. Vasilic, Z. Aleksic and E. B. Kenney (2003). "Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans." J Clin Periodontol **30**(8): 746-51.

- Lekovic, V., P. M. Camargo, M. Weinlaender, N. Vasilic, M. Djordjevic and E. B. Kenney (2001). "The use of bovine porous bone mineral in combination with enamel matrix proteins or with an autologous fibrinogen/fibronectin system in the treatment of intrabony periodontal defects in humans." J Periodontol **72**(9): 1157-63.
- Lekovic, V., P. M. Camargo, M. Weinlaender, N. Vasilic and E. B. Kenney (2002). "Comparison of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral, and guided tissue regeneration versus platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a reentry study." J Periodontol **73**(2): 198-205.
- Lin, W. L., C. A. McCulloch and M. I. Cho (1994). "Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat." Anat Rec **240**(4): 492-506.
- Lindhe, J., S. E. Hamp and H. Loe (1973). "Experimental periodontitis in the beagle dog." Int Dent J **23**(3): 432-7.
- Lindhe, J. and S. Nyman (1985). "Scaling and granulation tissue removal in periodontal therapy." J Clin Periodontol **12**(5): 374-88.
- Lindhe, J., T. Karring and N.P. Lang (2003). Clinical Periodontology and Implant Dentistry, Blackwell.
- Lindhe, J., E. Westfelt, S. Nyman, S. S. Socransky and A. D. Haffajee (1984). "Long-term effect of surgical/non-surgical treatment of periodontal disease." J Clin Periodontol **11**(7): 448-58.
- Lovelace, T. B., J. T. Mellonig, R. M. Meffert, A. A. Jones, P. V. Nummikowski and D. L. Cochran (1998). "Clinical evaluation of bioactive glass in the treatment of periodontal osseous defects in humans." J Periodontol **69**(9): 1027-35.
- Lynch, S. E., G. R. de Castilla, R. C. Williams, C. P. Kiritsy, T. H. Howell, M. S. Reddy and H. N. Antoniades (1991). "The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing." J Periodontol **62**(7): 458-67.
- Lynch, S. E., R. C. Williams, A. M. Polson, T. H. Howell, M. S. Reddy, U. E. Zappa and H. N. Antoniades (1989). "A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration." J Clin Periodontol **16**(8): 545-8.
- Lynch, S. E., L. Wisner-Lynch, M. Nevins and M. L. Nevins (2006). "A new era in periodontal and periimplant regeneration: use of growth-factor enhanced matrices incorporating rhPDGF." Compend Contin Educ Dent **27**(12): 672-8; quiz 679-80.
- Lyngstadaas, S. P., E. Lundberg, H. Ekdahl, C. Andersson and S. Gestrelus (2001). "Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative." J Clin Periodontol **28**(2): 181-8.
- Machtei, E. E. (1997). "Outcome variables for the study of periodontal regeneration." Ann Periodontol **2**(1): 229-39.
- Machtei, E. E., E. Hausmann, M. Schmidt, S. G. Grossi, R. Dunford, R. Schifferle, K. Munoz, G. Davies, J. Chandler and R. J. Genco (1998). "Radiographic and clinical responses to periodontal therapy." J Periodontol **69**(5): 590-5.
- MacNeil, R. L. and M. J. Somerman (2000). "Development and regeneration of the periodontium: parallels and contrasts." Periodontol **19**: 8-20.
- Martin, P., J. Hopkinson-Woolley and J. McCluskey (1992). "Growth factors and cutaneous wound repair." Prog Growth Factor Res **4**(1): 25-44.

- Marx, R. E., E. R. Carlson, R. M. Eichstaedt, S. R. Schimmele, J. E. Strauss and K. R. Georgeff (1998). "Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts." Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod **85**(6): 638-46.
- Melcher, A. H. (1976). "On the repair potential of periodontal tissues." J Periodontol **47**(5): 256-60.
- Melcher, A. H., C. A. McCulloch, T. Cheong, E. Nemeth and A. Shiga (1987). "Cells from bone synthesize cementum-like and bone-like tissue in vitro and may migrate into periodontal ligament in vivo." J Periodontal Res **22**(3): 246-7.
- Mellonig, J. T. (1999). "Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: technique and clinical and histologic case report." Int J Periodontics Restorative Dent **19**(1): 8-19.
- Molloy, T., Y. Wang and G. Murrell (2003). "The roles of growth factors in tendon and ligament healing." Sports Med **33**(5): 381-94.
- Mukai, M., Y. Yoshimine, A. Akamine and K. Maeda (1993). "Bone-like nodules formed in vitro by rat periodontal ligament cells." Cell Tissue Res **271**(3): 453-60.
- Nakamura, T., M. Yamamoto, M. Tamura and Y. Izumi (2003). "Effects of growth/differentiation factor-5 on human periodontal ligament cells." J Periodontal Res **38**(6): 597-605.
- Needleman, I. G., H. V. Worthington, E. Giedrys-Leeper and R. J. Tucker (2006). "Guided tissue regeneration for periodontal infra-bony defects." Cochrane Database Syst Rev(2): CD001724.
- Nevins, M., W. V. Giannobile, M. K. McGuire, R. T. Kao, J. T. Mellonig, J. E. Hinrichs, B. S. McAllister, K. S. Murphy, P. K. McClain, M. L. Nevins, D. W. Paquette, T. J. Han, M. S. Reddy, P. T. Lavin, R. J. Genco and S. E. Lynch (2005). "Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: results of a large multicenter randomized controlled trial." J Periodontol **76**(12): 2205-15.
- Nohutcu, R. M., M. J. Somerman and L. K. McCauley (1995). "Dexamethasone enhances the effects of parathyroid hormone on human periodontal ligament cells in vitro." Calcif Tissue Int **56**(6): 571-7.
- Nojima, N., M. Kobayashi, M. Shionome, N. Takahashi, T. Suda and K. Hasegawa (1990). "Fibroblastic cells derived from bovine periodontal ligaments have the phenotypes of osteoblasts." J Periodontal Res **25**(3): 179-85.
- Nyman, S., J. Gottlow, T. Karring and J. Lindhe (1982). "The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey." J Clin Periodontol **9**(3): 257-65.
- Nyman, S., J. Lindhe, T. Karring and H. Rylander (1982). "New attachment following surgical treatment of human periodontal disease." J Clin Periodontol **9**(4): 290-6.
- Nyman, S., J. Lindhe and B. Rosling (1977). "Periodontal surgery in plaque-infected dentitions." J Clin Periodontol **4**(4): 240-9.
- Okuda, K., T. Kawase, M. Momose, M. Murata, Y. Saito, H. Suzuki, L. F. Wolff and H. Yoshie (2003). "Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro." J Periodontol **74**(6): 849-57.
- Okuda, K., M. Momose, A. Miyazaki, M. Murata, S. Yokoyama, Y. Yonezawa, L. F. Wolff and H. Yoshie (2000). "Enamel matrix derivative in the treatment of human intrabony osseous defects." J Periodontol **71**(12): 1821-8.
- Ouyang, H., R. T. Franceschi, L. K. McCauley, D. Wang and M. J. Somerman (2000). "Parathyroid hormone-related protein down-regulates bone sialoprotein gene

- expression in cementoblasts: role of the protein kinase A pathway." Endocrinology **141**(12): 4671-80.
- Ouyang, H., L. K. McCauley, J. E. Berry, N. E. Saygin, Y. Tokiyasu and M. J. Somerman (2000). "Parathyroid hormone-related protein regulates extracellular matrix gene expression in cementoblasts and inhibits cementoblast-mediated mineralization in vitro." J Bone Miner Res **15**(11): 2140-53.
- Ouyang, X. Y. and J. Qiao (2006). "Effect of platelet-rich plasma in the treatment of periodontal intrabony defects in humans." Chin Med J (Engl) **119**(18): 1511-21.
- Palmer, R. M., J. P. Matthews and R. F. Wilson (1999). "Non-surgical periodontal treatment with and without adjunctive metronidazole in smokers and non-smokers." J Clin Periodontol **26**(3): 158-63.
- Palmer, R. M. and S. Pritlove-Carson (1992). "Guided tissue regeneration--why, when and how?" Dent Update **19**(5): 188-90, 192-4.
- Parashis, A. O., K. Tsiklakis and D. N. Tatakis (2006). "EDTA gel root conditioning: lack of effect on clinical and radiographic outcomes of intrabony defect treatment with enamel matrix derivative." J Periodontol **77**(1): 103-10.
- Pavicic, M. J., A. J. van Winkelhoff, N. H. Douque, R. W. Steures and J. de Graaff (1994). "Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in Actinobacillus actinomycetemcomitans-associated periodontitis. A 2-year evaluation." J Clin Periodontol **21**(2): 107-12.
- Pavicic, M. J., A. J. van Winkelhoff, Y. A. Pavicic-Temming and J. de Graaff (1994). "Amoxicillin causes an enhanced uptake of metronidazole in Actinobacillus actinomycetemcomitans: a mechanism of synergy." J Antimicrob Chemother **34**(6): 1047-50.
- Perdigao, J., S. Eiriksson, B. T. Rosa, M. Lopes and G. Gomes (2001). "Effect of calcium removal on dentin bond strengths." Quintessence Int **32**(2): 142-6.
- Piche, J. E., D. L. Carnes, Jr. and D. T. Graves (1989). "Initial characterization of cells derived from human periodontia." J Dent Res **68**(5): 761-7.
- Preber, H. and J. Bergstrom (1986). "Cigarette smoking in patients referred for periodontal treatment." Scand J Dent Res **94**(2): 102-8.
- Preber, H. and J. Bergstrom (1986). "Effect of non-surgical treatment on gingival bleeding in smokers and non-smokers." Acta Odontol Scand **44**(2): 85-9.
- Pritlove-Carson, S., R. M. Palmer, P. R. Morgan and P. D. Floyd (1992). "Immunohistochemical analysis of cells attached to teflon membranes following guided tissue regeneration." J Periodontol **63**(12): 969-73.
- Ramfjord, S. P., R. G. Caffesse, E. C. Morrison, R. W. Hill, G. J. Kerry, E. A. Appleberry, R. R. Nissle and D. L. Stults (1987). "4 modalities of periodontal treatment compared over 5 years." J Clin Periodontol **14**(8): 445-52.
- Ripamonti, U., M. Heliotis, B. van den Heever and A. H. Reddi (1994). "Bone morphogenetic proteins induce periodontal regeneration in the baboon (Papio ursinus)." J Periodontol Res **29**(6): 439-45.
- Roldan, J. C., S. Jepsen, J. Miller, S. Freitag, D. C. Rueger, Y. Acil and H. Terheyden (2004). "Bone formation in the presence of platelet-rich plasma vs. bone morphogenetic protein-7." Bone **34**(1): 80-90.
- Rosen, P. S., M. A. Reynolds and G. M. Bowers (2000). "The treatment of intrabony defects with bone grafts." Periodontol 2000 **22**: 88-103.
- Rosling, B., S. Nyman, J. Lindhe and B. Jern (1976). "The healing potential of the periodontal tissues following different techniques of periodontal surgery in plaque-free dentitions. A 2-year clinical study." J Clin Periodontol **3**(4): 233-50.

- Sakallioğlu, U., G. Acikgoz, B. Ayas, T. Kirtiloğlu and E. Sakallioğlu (2004). "Healing of periodontal defects treated with enamel matrix proteins and root surface conditioning--an experimental study in dogs." Biomaterials **25**(10): 1831-40.
- Sanchez, M., J. Azofra, E. Anitua, I. Andia, S. Padilla, J. Santisteban and I. Mujika (2003). "Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: a case report." Med Sci Sports Exerc **35**(10): 1648-52.
- Sarment, D. P., J. W. Cooke, S. E. Miller, Q. Jin, M. K. McGuire, R. T. Kao, P. K. McClain, B. S. McAllister, S. E. Lynch and W. V. Giannobile (2006). "Effect of rhPDGF-BB on bone turnover during periodontal repair." J Clin Periodontol **33**(2): 135-40.
- Saygin, N. E., W. V. Giannobile and M. J. Somerman (2000). "Molecular and cell biology of cementum." Periodontol 2000 **24**: 73-98.
- Saygin, N. E., Y. Tokiyasu, W. V. Giannobile and M. J. Somerman (2000). "Growth factors regulate expression of mineral associated genes in cementoblasts." J Periodontol **71**(10): 1591-600.
- Schallhorn, R. G., W. H. Hiatt and W. Boyce (1970). "Iliac transplants in periodontal therapy." J Periodontol **41**(10): 566-80.
- Schröder, H. E. (1992). Orale Strukturbiologie, Georg Thieme Verlag Stuttgart.
- Schulte, W. (1969). "[Centrifuged autogenous blood for the filling of large bone defects--modification of the autogenous blood method]." Dtsch Zahnärztl Z **24**(10): 854-7.
- Schwartz, Z., D. L. Carnes, Jr., R. Pulliam, C. H. Lohmann, V. L. Sylvania, Y. Liu, D. D. Dean, D. L. Cochran and B. D. Boyan (2000). "Porcine fetal enamel matrix derivative stimulates proliferation but not differentiation of pre-osteoblastic 2T9 cells, inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoblast-like MG63 cells, and increases proliferation and differentiation of normal human osteoblast NHOst cells." J Periodontol **71**(8): 1287-96.
- Sculean, A., M. Berakdar, B. Willershausen, N. B. Arweiler, J. Becker and F. Schwarz (2006). "Effect of EDTA root conditioning on the healing of intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative." J Periodontol **77**(7): 1167-72.
- Sculean, A., A. Blaes, N. Arweiler, E. Reich, N. Donos and M. Brex (2001). "The effect of postsurgical antibiotics on the healing of intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins." J Periodontol **72**(2): 190-5.
- Sculean, A., N. Donos, P. Windisch, M. Brex, I. Gera, E. Reich and T. Karring (1999). "Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration." J Periodontol Res **34**(6): 310-22.
- Sculean, A., P. Windisch, G. C. Chiantella, N. Donos, M. Brex and E. Reich (2001). "Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. A prospective controlled clinical study." J Clin Periodontol **28**(5): 397-403.
- Sculean, A., P. Windisch, T. Keglevich and I. Gera (2003). "Histologic evaluation of human intrabony defects following non-surgical periodontal therapy with and without application of an enamel matrix protein derivative." J Periodontol **74**(2): 153-60.
- Sigurdsson, T. J., M. B. Lee, K. Kubota, T. J. Turek, J. M. Wozney, U. M. Wikesjo, U. Ripamonti, M. Heliotis, B. van den Heever, A. H. Reddi, S. Takayama, S. Murakami, Y. Miki, K. Ikezawa, S. Tasaka, A. Terashima, T. Asano and H. Okada (1995). "Periodontal repair in dogs: recombinant human bone morphogenetic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration
- Bone morphogenetic proteins induce periodontal regeneration in the baboon (*Papio ursinus*)

- Effects of basic fibroblast growth factor on human periodontal ligament cells." J Periodontol **66**(2): 131-8.
- Sigurdsson, T. J., D. N. Tatakis, M. B. Lee and U. M. Wikesjo (1995). "Periodontal regenerative potential of space-providing expanded polytetrafluoroethylene membranes and recombinant human bone morphogenetic proteins." J Periodontol **66**(6): 511-21.
- Singbartl, G. and W. Schleinker (1999). "[Cost analysis of autologous transfusion methods--a study of 5,017 patients]." Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther **34**(6): 350-8.
- Singh, J. P., M. A. Chaikin and C. D. Stiles (1982). "Phylogenetic analysis of platelet-derived growth factor by radio-receptor assay." J Cell Biol **95**(2 Pt 1): 667-71.
- Slavkin, H. C. (1976). "Towards a cellular and molecular understanding of periodontics. Cementogenesis revisited." J Periodontol **47**(5): 249-55.
- Slavkin, H. C., C. Bessem, P. Bringas, Jr., M. Zeichner-David, A. Nanci and M. L. Snead (1988). "Sequential expression and differential function of multiple enamel proteins during fetal, neonatal, and early postnatal stages of mouse molar organogenesis." Differentiation **37**(1): 26-39.
- Slavkin, H. C., P. Bringas, Jr., C. Bessem, V. Santos, M. Nakamura, M. Y. Hsu, M. L. Snead, M. Zeichner-David and A. G. Fincham (1989). "Hertwig's epithelial root sheath differentiation and initial cementum and bone formation during long-term organ culture of mouse mandibular first molars using serumless, chemically-defined medium." J Periodontal Res **24**(1): 28-40.
- Somerman, M. J., M. F. Young, R. A. Foster, J. M. Moehring, G. Imm and J. J. Sauk (1990). "Characteristics of human periodontal ligament cells in vitro." Arch Oral Biol **35**(3): 241-7.
- Spahr, A., S. Haegewald, F. Tsoulfidou, E. Rompolo, L. Heijl, J. P. Bernimoulin, C. Ring, S. Sander and B. Haller (2005). "Coverage of Miller class I and II recession defects using enamel matrix proteins versus coronally advanced flap technique: a 2-year report." J Periodontol **76**(11): 1871-80.
- Steenfos, H. H. (1994). "Growth factors and wound healing." Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg **28**(2): 95-105.
- Terheyden, H., S. Jepsen, B. Moller, M. M. Tucker and D. C. Rueger (1999). "Sinus floor augmentation with simultaneous placement of dental implants using a combination of deproteinized bone xenografts and recombinant human osteogenic protein-1. A histometric study in miniature pigs." Clin Oral Implants Res **10**(6): 510-21.
- Terranova, V. P. and U. M. Wikesjo (1987). "Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cells of the periodontium. A review." J Periodontol **58**(6): 371-80.
- Tetsch, J., J. Homann and P. Tetsch (2004). "Untersuchung zum posoperativen Beschwerdeprofil nach Einsatz von plättchenreichem Plasma (PRP)." Z Zahnärztl Impl **20**(2): 87-93.
- Tonetti, M. S., P. Cortellini, N. P. Lang, J. E. Suvan, P. Adriaens, D. Dubravec, A. Fonzar, I. Fourmoussis, G. Rasperini, R. Rossi, M. Silvestri, H. Topoll, B. Wallkamm and M. Zybutz (2004). "Clinical outcomes following treatment of human intrabony defects with GTR/bone replacement material or access flap alone. A multicenter randomized controlled clinical trial." J Clin Periodontol **31**(9): 770-6.
- Tonetti, M. S., N. P. Lang, P. Cortellini, J. E. Suvan, P. Adriaens, D. Dubravec, A. Fonzar, I. Fourmoussis, L. Mayfield, R. Rossi, M. Silvestri, C. Tiedemann, H.

- Topoll, T. Vangsted and B. Wallkamm (2002). "Enamel matrix proteins in the regenerative therapy of deep intrabony defects." J Clin Periodontol **29**(4): 317-25.
- Tonetti, M. S., G. Pini-Prato and P. Cortellini (1993). "Periodontal regeneration of human intrabony defects. IV. Determinants of healing response." J Periodontol **64**(10): 934-40.
- Tonetti, M. S., G. Pini-Prato and P. Cortellini (1995). "Effect of cigarette smoking on periodontal healing following GTR in infrabony defects. A preliminary retrospective study." J Clin Periodontol **22**(3): 229-34.
- Tozum, T. F. and B. Demiralp (2003). "Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry." J Can Dent Assoc **69**(10): 664.
- Urist, M. R. (1965). "Bone: formation by autoinduction." Science **150**(698): 893-9.
- Valenza, V., M. D'Angelo, E. Farina-Lipari, F. Farina and V. Margiotta (1987). "Effects of citric acid on human gingival epithelium." J Periodontol **58**(11): 794-5.
- van Winkelhoff, A. J., J. P. Rodenburg, R. J. Goene, F. Abbas, E. G. Winkel and J. de Graaff (1989). "Metronidazole plus amoxicillin in the treatment of Actinobacillus actinomycetemcomitans associated periodontitis." J Clin Periodontol **16**(2): 128-31.
- van Winkelhoff, A. J., C. J. Tjihof and J. de Graaff (1992). "Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in Actinobacillus actinomycetemcomitans-associated periodontitis." J Periodontol **63**(1): 52-7.
- Wachtel, H., G. Schenk, S. Bohm, D. Weng, O. Zuhr and M. B. Hurzeler (2003). "Microsurgical access flap and enamel matrix derivative for the treatment of periodontal intrabony defects: a controlled clinical study." J Clin Periodontol **30**(6): 496-504.
- Wang, E. A., V. Rosen, J. S. D'Alessandro, M. Bauduy, P. Cordes, T. Harada, D. I. Israel, R. M. Hewick, K. M. Kerns, P. LaPan and et al. (1990). "Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation." Proc Natl Acad Sci U S A **87**(6): 2220-4.
- Warrer, K., T. Karring, S. Nyman and S. Gogolewski (1992). "Guided tissue regeneration using biodegradable membranes of polylactic acid or polyurethane." J Clin Periodontol **19**(9 Pt 1): 633-40.
- Weibrich, G., R. S. Buch, W. K. Kleis, G. Hafner, W. E. Hitzler and W. Wagner (2002). "Quantification of thrombocyte growth factors in platelet concentrates produced by discontinuous cell separation." Growth Factors **20**(2): 93-7.
- Weibrich, G., R. S. R. Buch, T. Weibrich and W. E. Hitzler (2002). "Das PRGF-System nach Anitua zur Anreicherung von Thrombozyten und Wachstumsfaktoren im Plasma- Methodenvorstellung und Pilotstudie-." Z Zahnärztliche Implantologie **18**: 84-90.
- Weibrich, G., S. H. Gnoth, M. Otto, T. E. Reichert and W. Wagner (2002). "[Growth stimulation of human osteoblast-like cells by thrombocyte concentrates in vitro]." Mund Kiefer Gesichtschir **6**(3): 168-74.
- Weibrich, G., T. Hansen, W. Kleis, R. Buch and W. E. Hitzler (2004). "Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration." Bone **34**(4): 665-71.
- Weibrich, G., W. K. Kleis, R. Buch, W. E. Hitzler and G. Hafner (2003). "The Harvest Smart PRePTM system versus the Friadent-Schutze platelet-rich plasma kit." Clin Oral Implants Res **14**(2): 233-9.

- Weibrich, G., W. K. Kleis and G. Hafner (2002). "Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system." Int J Oral Maxillofac Implants **17**(2): 184-90.
- Weibrich, G., W. K. Kleis, G. Hafner, W. E. Hitzler and W. Wagner (2003). "Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank." Clin Oral Implants Res **14**(3): 357-62.
- Weibrich, G., W. K. Kleis, W. E. Hitzler and G. Hafner (2005). "Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma-rich-in-growth-factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report." Int J Oral Maxillofac Implants **20**(1): 118-23.
- Westphal, R. G. (1984). "Health risks to cytopheresis donors." Clin Haematol **13**(1): 289-301.
- Whitman, D. H., R. L. Berry and D. M. Green (1997). "Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery." J Oral Maxillofac Surg **55**(11): 1294-9.
- Wikesjo, U. M., N. Claffey, L. A. Christersson, L. C. Franzetti, R. J. Genco, V. P. Terranova and J. Egelberg (1988). "Repair of periodontal furcation defects in beagle dogs following reconstructive surgery including root surface demineralization with tetracycline hydrochloride and topical fibronectin application." J Clin Periodontol **15**(1): 73-80.
- Wikesjo, U. M., R. G. Sorensen, A. Kinoshita, X. Jian Li and J. M. Wozney (2004). "Periodontal repair in dogs: effect of recombinant human bone morphogenetic protein-12 (rhBMP-12) on regeneration of alveolar bone and periodontal attachment." J Clin Periodontol **31**(8): 662-70.
- Wikesjo, U. M., R. G. Sorensen and J. M. Wozney (2001). "Augmentation of alveolar bone and dental implant osseointegration: clinical implications of studies with rhBMP-2." J Bone Joint Surg Am **83-A Suppl 1**(Pt 2): S136-45.
- Wiltfang, J., F. R. Kloss, P. Kessler, E. Nkenke, S. Schultze-Mosgau, R. Zimmermann and K. A. Schlegel (2004). "Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects. An animal experiment." Clin Oral Implants Res **15**(2): 187-93.
- Winkel, E. G., A. J. Van Winkelhoff, M. F. Timmerman, U. Van der Velden and G. A. Van der Weijden (2001). "Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study." J Clin Periodontol **28**(4): 296-305.
- Wozney, J. M. (1995). "The potential role of bone morphogenetic proteins in periodontal reconstruction." J Periodontol **66**(6): 506-10.
- Wysk, J., W. Schuttler, W. Stangel and H. Deicher (1977). "[Thrombophoresis I. Influence of centrifuge speed on thrombocyte yield, distribution of thrombocytes among centrifuge zones, and thrombocyte spreading (author's transl)]." Blut **35**(5): 377-86.
- Yalim, M., E. Kebudi and T. Oygur (1989). "[Effects of citric acid and tetracycline HCL treatment on periodontal healing]." Ankara Univ Hekim Fak Derg **16**(3): 375-81.
- Yamada, Y., M. Ueda, T. Naiki, M. Takahashi, K. Hata and T. Nagasaka (2004). "Autogenous injectable bone for regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: tissue-engineered bone regeneration." Tissue Eng **10**(5-6): 955-64.

- Yamamoto, K., J. Hayashi, H. Miyamura and S. Eguchi (1996). "A comparative study of the effect of autologous platelet-rich plasma and fresh autologous whole blood on haemostasis after cardiac surgery." Cardiovasc Surg **4**(1): 9-14.
- Zechner, W., S. Tangl, G. Tepper, G. Furst, T. Bernhart, R. Haas, G. Mailath and G. Watzek (2003). "Influence of platelet-rich plasma on osseous healing of dental implants: a histologic and histomorphometric study in minipigs." Int J Oral Maxillofac Implants **18**(1): 15-22.

12. Danksagung

Herrn Prof. Prof. Dr. Dr. Jean-Pierre Bernimoulin danke ich für das Vertrauen, das er in mich gesetzt hat. Für die Möglichkeit in seiner Abteilung „Parodontologie und Synoptische Zahnmedizin“ die vorliegende Doktorarbeit zu erstellen sowie eine klinisch und wissenschaftlich fundierte Ausbildung im Fach Parodontologie zu erhalten.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Stefan Hägewald vor allem für die Überlassung des interessanten Dissertationsthemas aber auch für die unkomplizierte, konstruktive und stets freundliche Betreuung meiner Arbeit und seine Hilfsbereitschaft. Die Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Hägewald war motivierend und hat mir viel Freude bereitet.

Mein ausgesprochener Dank für die Kooperation gilt dem Dr. Erwin Marggraf. Nicht nur für die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit, sondern auch für die richtungsweisende Ausbildung auf dem gesamten Gebiet der Parodontologie.

Für die Hilfestellungen bei der Durchführung der Nachkontrolltermine möchte ich mich bei den Mitarbeiterinnen der Praxis Marggraf und Borchard: Frau Katja Krotel, Frau Anja Weber, Frau Katrin Barna, Frau Elke Schmidt und Frau Sandra Jösten, ganz herzlich bedanken.

Ein besonderes Dankeschön gilt auch Marita und Miguel Domingo Vecchioni für ihre hilfreiche Unterstützung bei linguistischen Fragestellungen.

Herzlichen Dank auch an meine Eltern für ihre bedingungslose Unterstützung, insbesondere meinem Vater der mich stets ermutigt hat meine Doktorarbeit in deutscher Sprache zu verfassen.

Schließlich bedanke ich mich besonders bei meinem Mann Wojtek für die liebevolle Unterstützung, die zum Gelingen dieser Arbeit wesentlich beigetragen hat, und die Art, mit der er die Höhen und Tiefen dieser Arbeit mit mir durchlebte.

13. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

14. Erklärung an Eides Statt

Ich, Marta Siódmok, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Behandlung parodontaler Knochentaschen mit Anwendung autologer Wachstumsfaktoren – eine randomisierte, klinische Studie“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, den 29.04.2008

Marta Siódmok