

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Poliklinik für Parodontologie
Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
- Kommissarische Leiter:
Prof. Dr. med. D. Harmsen
PD Dr. med. dent. B. Ehmke -

**Gesteuerte Geweberegeneration bei intraossären
Alveolarknochendefekten unter Verwendung einer doxycyclinhaltigen
Barriere und autogenem Knochentransplantat**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des doctor medicinae dentium
der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von
Klocke, Astrid
aus Essen
2007

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

Dekan:

Univ.-Prof. Dr. Volker Arolt

1. Berichterstatter:

Priv.-Doz. Dr. B. Ehmke

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. T. F. Flemmig

Tag der mündlichen Prüfung: 31.05.2007

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Poliklinik für Parodontologie
Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Kommissarische Leiter:

Prof. Dr. med. D. Harmsen, PD Dr. med. dent. B. Ehmke

Referent: PD Dr. med. dent. B. Ehmke

Koreferent: Prof. Dr. T. F. Flemmig

ZUSAMMENFASSUNG

Gesteuerte Geweberegeneration bei intraossären Alveolarknochendefekten unter Verwendung einer doxycyclinhaltigen Barriere und autogenem Knochentransplantat

Klocke, Astrid

Die Gewebsgewinne nach Behandlung intraossärer Alveolarknochendefekte mit der gesteuerten Geweberegeneration weisen bei Rauchern und beim Vorliegen hoher Keimzahlen parodontopathogener Bakterien eine große Ergebnisvariabilität auf. Eine verbesserte antimikrobielle Therapie könnte diese Variabilität verringern. Das Ziel dieser Untersuchung war es, die klinische Wirksamkeit der doxycyclinhaltigen (4%) Poly(DL-Lactid)-Membran in Kombination mit einem autogenen Knochentransplantat (Test) bei der Behandlung intraossärer, parodontaler Defekte im Vergleich zur alleinigen Lappenoperation (Kontrolle) zu bewerten. Insgesamt nahmen 51 Patienten mit Parodontitis, die einen Knochendefekt mit einer radiologischen Tiefe von ≥ 4 mm zeigten, an der Untersuchung teil. Bei jedem Patienten wurde nach supra- und subgingivalem Debridement aller Zähne und nach Applikation eines lokalen Doxycyclinhyalatlages die Test- oder Kontrollbehandlung durchgeführt. Klinische Messungen und die Entnahme subgingivaler Plaqueproben wurden unmittelbar vor, während und sechs sowie zwölf Monate nach der regenerativen Chirurgie durchgeführt. Der Hauptzielparameter war der klinische Alveolarknochengewinn. Die 48 Patienten (Testgruppe $n = 23$: $2,58 \pm 0,81$ mm vs. Kontrollgruppe $n = 25$: $1,91 \pm 1,61$ mm), die die Untersuchung abschlossen, zeigten nach 12 Monaten klinisch relevante Alveolarknochengewinne und signifikante Veränderungen innerhalb der Gruppen. Die Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen waren jedoch nicht signifikant. Es bestand jedoch ein Trend, dass Patienten der Testgruppe mehr Alveolarknochengewinne und häufiger Gewinne von ≥ 2 mm zeigten. Insbesondere die Raucher in der Testgruppe erzielten die gleichen Alveolarknochengewinne wie Nichtraucher und zeigten signifikant bessere Ergebnisse als Raucher, die nur die Lappenoperation bekommen hatten ($p < 0,05$). Diese Ergebnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass Alveolarknochengewinne durch die angewendete präoperative antimikrobielle Therapie und die Behandlung mit Membran/Knochentransplantat unterstützt werden. Raucher profitieren hiervon in klinisch relevantem Maß. Bei Nichtrauchern muss der Nutzen der Membrantechnik gegenüber der alleinigen Zugangslappen-Operation kritisch beurteilt werden.

Tag der mündlichen Prüfung: 31.05.2007

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Ätiologie der Parodontitis	1
1.1.1	Biofilm.....	1
1.1.2	Chronische Parodontitis	2
1.1.3	Aggressive Parodontitis	2
1.2	Pathogenese der Parodontitis	2
1.3	Therapie	3
1.3.1	Initialtherapie.....	3
1.3.2	Unterstützende Parodontistherapie.....	4
1.3.3	Resektive Parodontalchirurgie	4
1.3.4	Regenerative Parodontalchirurgie	4
1.4	Problemstellung.....	7
2	Material und Methode	8
2.1	Auswahl der Patienten	8
2.1.1	Einschlusskriterien	8
2.1.2	Ausschlusskriterien	8
2.2	Studiendesign.....	8
2.3	Therapie	9
2.4	Untersuchungen	13
2.4.1	Klinische Messungen	13
2.4.2	Mikrobiologische Untersuchungen.....	14
2.4.3	Kohlenmonoxid-Messung.....	15
2.4.4	Radiologische Untersuchung	15
2.4.5	Kalibrierung und Untersuchertraining	15
2.5	Statistische Analyse	16
3	Ergebnisse.....	18
3.1	Demographie	18
3.2	Ausgangsbefunde.....	18
3.2.1	Klinische Parameter: Defektstelle, Ausgang und präoperativ	18
3.2.2	Klinische Parameter: Studienzähne und alle Zähne, Ausgang und 12 Monate	19
3.2.3	Zahntypverteilung.....	19
3.2.4	Klinische Parameter intraoperativ	20
3.3	Befunde nach 12 Monaten	21
3.3.1	Primärer Zielparameter Alveolarknochengewinn.....	21
3.3.2	Sekundäre Ergebnisvariable Veränderungen der Weichgewebe	26

3.4	Mikrobiologischer Befund	27
4	Diskussion	31
4.1	Rauchen	31
4.2	Antimikrobielle Therapie	32
4.3	Vergleich mit anderen Untersuchungen	33
4.4	Schlussfolgerung	37
5	Zusammenfassung	38
6	Literatur	39
7	Danksagung	47
8	Lebenslauf	48

1 Einleitung

Das Parodontium, der Zahnhalteapparat, besteht aus der Gingiva und dem Attachmentapparat. Die Gingiva, deren Hauptfunktion der Schutz der darunter liegenden Gewebe ist, lässt sich in folgende Anteile unterscheiden: die freie Gingiva, die befestigte Gingiva und die mukogingivale Grenze. Das Epithel der freien Gingiva lässt sich noch einmal unterteilen in: orales Sulkusepithel, das zum Zahn hin zeigt, aber keinen Kontakt zum Zahn hat, orales Epithel, das zur Mundhöhle zeigt und Saumepithel, das den Kontakt zwischen Gingiva und Zahn herstellt.

Der Attachmentapparat setzt sich aus Desmodont, Zahnzement und Alveolarknochen zusammen. Seine Hauptfunktion ist es, den Zahn im Kieferknochen zu verankern. Das Desmodont ist eine Nerven und Gefäße enthaltende faserreiche Bindegewebsstruktur, die neben Fasern (vornehmlich vom Kollagen Typ I) auch verschiedenartige Zellen besitzt (z.B. Fibroblasten, Osteoblasten, Zementoblasten). Es verbindet den Wurzelzement mit der Lamina dura des Alveolarknochens.

Erkrankungen des Parodontiums treten in verschiedenen Formen auf und wurden 1999 auf dem internationalen Workshop in Oak Brook (Illinois/USA) [2] als neue Klassifizierung gingivaler und parodontaler Erkrankungen zusammengefasst. Zu den entzündlich bedingten Erkrankungen des Parodontiums zählen die chronische und die aggressive Parodontitis.

1.1 Ätiologie der Parodontitis

1.1.1 *Biofilm*

Die mit der Parodontitis assoziierte Mikroflora bildet einen bis zu mehrere hundert Mikrometer dicken Biofilm sowohl auf der Zahnhartsubstanz als auch auf Zellen benachbarter Epithelien. Dieser setzt sich zusammen aus 10 bis 25 Prozent Bakterienzellen und bis zu 90 Prozent extrazellulärer Matrixpolysaccharide und Proteine [20]. Diese extrazelluläre Matrix ist mit kanalartigen Strukturen durchzogen und ermöglicht den Austausch von Nährstoffen, den Abtransport von Stoffwechselprodukten und die Kommunikation (Quorum sensing) zwischen Bakterien in verschiedenen Biofilmkompartimenten [4]. Durch die besondere Zusammensetzung und Struktur des Biofilms gewährleistet dieser eine wichtige Schutz- und Stabilisierungsfunktion für die biofilmintegrierten Mikroorganismen, insbesondere auch gegen Angriffe der Immunabwehr des Patienten und gegenüber Antibiotika [21]. Die Etablierung eines intraoralen Biofilms beginnt mit der Anheftung der erstbesiedelnden Bakterien. Können sich diese Erstbesiedler ungestört entwickeln, nimmt dieser frühe Biofilm an Dicke und Artenvielfalt zu und verändert sich von einer anfänglich gram-positiven Besiedlung hin zu einer Flora, in der

die gram-negativen Spezies vorherrschen [56]. Die so genannten Spätbesiedler stellen die stark mit der Parodontitis und der Destruktion des Zahnhalteapparates assoziierten Keime dar.

1.1.2 Chronische Parodontitis

Die chronische Parodontitis ist die häufigste Form der Parodontitis. Sie hat ihre größte Prävalenz bei Erwachsenen, kann aber auch bei Kindern und Jugendlichen vorkommen [30]. Als Ursache für die chronische Parodontitis ist die supra- und subgingivale Plaque verantwortlich. Das Ausmaß der Destruktion korreliert mit dem Vorhandensein lokaler Faktoren. Hier spielt nicht die Menge, sondern die Zusammensetzung der bakteriellen Plaque eine entscheidende Rolle [60]. Das subgingivale Keimspektrum ist uneinheitlich: es werden die Bakterien *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [69], *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella nigrescens*, *Treponema denticola*, *Streptococcus intermedius*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens* sowie nicht klassifizierte Spirochäten für die parodontale Pathogenität verantwortlich gemacht [22; 44]. Dabei können unterschiedliche Kombinationen auftreten, wodurch die Pathogenität einzelner Bakterienarten erhöht ist [91]. Neben den lokalen Faktoren, wie beispielsweise überstehende Füllungsrande, können auch iatrogene Faktoren und exogene Einflüsse, wie das Rauchen, den Krankheitsverlauf modifizieren.

1.1.3 Aggressive Parodontitis

Die subgingivale Flora der aggressiven Parodontitis unterscheidet sich signifikant von derjenigen der chronischen Parodontitis, da sie hauptsächlich aus gram-negativen anaeroben Bakterien besteht. Bisherige ätiologische Untersuchungen befassten sich hauptsächlich mit der Assoziation zu spezifischen Bakterien, wie *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* und *Porphyromonas gingivalis* [99], wobei aber auch Virulenzunterschiede innerhalb der potentiell verursachenden Bakterienart, Immunreaktionen des Wirtes und genetische Faktoren am Ausbruch der Erkrankung beteiligt sein können. Neben diesen Faktoren spielen aber auch exogene Risikofaktoren, wie Rauchen und Stress, bei der Ätiologie der aggressiven Parodontitis eine nicht unerhebliche Rolle [40; 88].

1.2 Pathogenese der Parodontitis

Durch die Infektion kommt es zum Abbau von Bindegewebe und Alveolarknochen. Der mit parodontalpathogenen Mikroorganismen besiedelte Biofilm induziert eine Entzündungsreaktion im umgebenden Bindegewebe, die in der initialen Phase der Erkrankung durch leukozytäre Abwehrmechanismen und im weiteren Verlauf durch lymphozytäre Immunreaktionen gekennzeichnet ist [73; 89]. Die resultierende parodontale Destruktion findet hauptsächlich im

Rahmen der Abwehrreaktion wirtseigener Zellen des Parodontiums durch lytische Enzyme neutrophiler Granulozyten (z. B. Elastase, Laktoferrin), aber auch durch Proteasen (z.B. Matrixmetalloproteinasen) statt. Es erfolgt, wenn auch zu einem geringeren Anteil, der Abbau von zahntragendem Bindegewebe und Knochen - auch durch direkte Einwirkung bakterieller proteolytischer Enzyme und Zytokine [109].

In Abhängigkeit von der Anatomie und Morphologie des Alveolarknochens und dem Ausbreitungsgebiet der bakteriellen Plaque kommt es zu verschiedenen Ausprägungen des Alveolarknochenverlustes [28; 106]. Die resultierenden Knochendefekte werden entsprechend ihrer Ausdehnung in horizontale und vertikale unterschieden. Der horizontale Alveolarknochenverlust tritt am häufigsten auf und ist gekennzeichnet durch eine gleichmäßige Reduktion der Knochenhöhe, die alle Flächen der Zahnwurzel betreffen, wobei der Fundus der parodontalen Tasche supraossär liegt. Vertikale, interdentale Alveolarknochendefekte kommen mit 5 -10 % der parodontalen Läsionen seltener vor [63]. Der tiefste Punkt des Defektes liegt hierbei apikal des umgebenden Knochens und der interdentale Alveolarknochen verläuft schräg nach apikal auf die Zahnwurzel zu. Hierbei liegen in den meisten Fällen intraossäre Taschen vor.

Vertikale Alveolarknochendefekte werden klassifiziert nach dem Vorhandensein der begrenzenden Knochenwände. Sie können ein-, zwei- oder dreiwandig sein [37].

1.3 Therapie

Die Parodontitistherapie ist primär gegen die Infektion gerichtet. Es wird unterschieden in Initialtherapie, chirurgische Therapie und die unterstützende Parodontitistherapie. Primäres Ziel der konservativen Therapie ist die Entfernung des Biofilms und damit die quantitative Reduktion der bakteriellen Infektion und Entzündung. Durch chirurgische Eingriffe kann eine Regeneration aller geschädigten Anteile des Parodontiums (Restitutio ad integrum) erreicht werden. Durch die Gewebsgewinne soll es zu einer Reduktion der Taschentiefe kommen und damit zu einer Vereinfachung der Nachsorge, womit die Prognose des Zahnes verbessert und zumindest die Progredienz gestoppt werden soll.

1.3.1 Initialtherapie

Im Rahmen der Initialtherapie erfolgt zunächst ein supragingivales Debridement mit gleichzeitiger Information des Patienten über Krankheitsursachen und Folgen der Parodontitis und Motivation mit Unterweisung im Gebrauch geeigneter Mundhygienika. Anschließend erfolgt das subgingivale Debridement, bei dem unter lokaler Anästhesie der vorhandene Biofilm und auch mineralisierte Biofilmbestandteile auf der Wurzeloberfläche mittels Hand- oder Schallinstrumenten entfernt werden.

Histologisch kommt es zu keiner Regeneration, sondern zu einer Heilung mit Interposition eines langen Saumepithels zwischen Alveolarknochen und Wurzeloberfläche.

Nach der Wurzeloberflächenbearbeitung tritt bereits innerhalb weniger Wochen eine bakterielle Rekolonisation der parodontalen Tasche ein. Daher muss im Anschluss an die Initialtherapie in etwa dreimonatlichen Intervallen die unterstützende Parodontitistherapie durchgeführt werden.

1.3.2 Unterstützende Parodontitistherapie

In der unterstützenden Parodontitistherapie erfolgt die Entfernung des neu formierten Biofilms, insbesondere in subgingivalen Arealen mit Taschen über 3 mm Sondierungstiefe oder mehr, da diese Stellen von dem Patienten mit der häuslichen Mundhygiene nicht erreicht werden können. In einer Reihe von klinischen Langzeitstudien wurde die entscheidende Rolle der Erhaltungstherapie nachgewiesen [49; 59]. Es konnten die Taschentiefen und das Attachmentniveau unabhängig von den parodontalen Therapiemaßnahmen gehalten werden.

1.3.3 Resektive Parodontalchirurgie

Untersuchungen haben gezeigt, dass mit ansteigenden Taschensondierungstiefen die Effektivität des alleinigen subgingivalen Debridements reduziert ist [77; 92]. Chirurgische Interventionen in der Parodontitistherapie sind daher ab einer Taschensondierungstiefe von 6 mm oder mehr indiziert und haben zum Ziel, den Zugang zur Instrumentierung parodontaler Taschen zu verbessern. Darüber hinaus soll durch Reduktion der Taschentiefe und den dadurch veränderten O₂-Partialdruck und das Redoxpotential die Etablierung einer parodontopathogenen Mikroflora erschwert werden [65; 67].

Die Indikation für eine resective parodontalchirurgische Therapie wird bei einem weitestgehend horizontalen Alveolarknochenverlust und Taschensondierungstiefen von 6 mm oder mehr gestellt [29; 50] Das Ziel der resectiven Chirurgie ist die Wiederherstellung der physiologischen Knochen- und Weichgewebemorphologie auf reduziertem Niveau.

1.3.4 Regenerative Parodontalchirurgie

Im Gegensatz zur resectiven Chirurgie ist das Ziel der regenerativen Chirurgie die Reproduktion oder Rekonstruktion der physiologischen Struktur des Parodontiums, das heißt die Wiederherstellung von Zement, Desmodont und Alveolarknochen.

Ein ausgiebig untersuchtes Verfahren ist die Zugangslappen-Operation [14]. Hierbei wird die Inzision sulkär unter Kontakt mit dem Alveolarkamm durchgeführt. Anschließend wird ein Mukoperiostlappen abpräpariert. Nach Entfernung des Taschenepithels erfolgt das Debridement der freigelegten Wurzeloberflächen. Das Aneinanderliegen der angefrischten Oberflächen (Wurzelsement, Gingivabindewebe und Alveolarknochen) dient zur

Verbesserung der Regeneration des parodontalen Gewebes und des Knochens. Hierdurch werden knöcherne Defektfüllungen zwischen 5 und 30 % erreicht [26; 86].

Verschiedene Materialien, die in den Defekt eingegeben werden, können die parodontale Regeneration zusätzlich unterstützen, wie beispielsweise die Implantation bzw. Transplantation von Knochen. [46]. Solche Knochentransplantate und -implantate können zum einen die Differenzierung der in eine Wunde einwachsenden, undifferenzierten Zellen in Osteoblasten unterstützen [103; 105] und zum anderen als Gerüst und Leitbahn für aus der Peripherie einwachsende Knochenzellen dienen [104].

Gesteuerte Geweberegeneration (GTR)

Durch die zusätzliche Applikation einer Membran, wie bei der gesteuerten Geweberegeneration (GTR), besteht die Möglichkeit, unerwünschte Zellen, wie beispielsweise gingivale Epithelzellen und Fibroblasten, auszuschließen zugunsten von Zementoblasten, desmodontalen Fibroblasten und Osteoblasten. Zusätzlich stabilisiert die Membran das Wundgebiet und das Koagulum, welches an der Wurzeloberfläche anhaftet und eine wesentliche Voraussetzung für die parodontale Regeneration darstellt [108].

Die Membranen, die für die gesteuerte Geweberegeneration Verwendung finden, müssen verschiedene Anforderungen hinsichtlich Biokompatibilität, Raumerhaltung, Zellokklusivität, Diffusionsfähigkeit, Gewebeintegration und der klinischen Handhabung erfüllen: Es werden hierbei resorbierbare und nicht resorbierbare Membranen unterschieden, wobei die nicht resorbierbaren Membranen im Gegensatz zu den resorbierbaren Membranen nach Abschluss der Regeneration durch einen chirurgischen Zweiteingriff wieder entfernt werden müssen.

Die in situ Technik, die erstmals bei Rosen [85] beschrieben wurde, kombiniert die Anwendung eines Knochenfüllmaterials mit der Applikation einer resorbierbaren Poly(DL-Lactid)-Membran, die direkt auf dem Defekt polymerisiert wird. Diese Technik hat den Vorteil, dass die Membran nicht zurechtgeschnitten werden muss, sondern direkt aufgetragen werden kann, was in der Anwendung einfacher und zeitsparender ist. Zusätzlich lässt sich die Membran besser an die häufig konkaven Wurzeloberflächen anlagern.

Die Kombination von Knochenfüllmaterial und Membran zeigt bessere Ergebnisse als die alleinige Anwendung einer Membran, wie in einem systematischen Review gezeigt werden konnte [68]. Diese benutzten Organspenderknochen (allogen) als Füllmaterial. Hierbei besteht jedoch die Gefahr, Infektionserkrankungen zu übertragen. Daher sollte körpereigener (autogener) Knochen, der im Operationsgebiet des zu behandelnden intraossären Defektes mit Hilfe von feinporigen Knochenfiltern einfach gewonnen werden kann, benutzt werden. Dadurch entfällt die Notwendigkeit einer zusätzlichen Entnahmestelle und die dadurch häufig erhöhte Morbidität.

Variabilität der Ergebnisse

In verschiedenen Untersuchungen konnte nach gesteuerter Geweberegeneration eine hohe Variabilität der klinischen Alveolarknochen- und Attachmentgewinne gezeigt werden [58]. Als Ursachen für diese mangelnde Vorhersagbarkeit werden verschiedene morphologische, mikrobiologische und exogene Faktoren diskutiert. Besonders deutlich wurde in unterschiedlichen Arbeiten, dass Rauchen und die Infektion mit parodontopathogenen Keimen, wie *Porphyromonas gingivalis* und *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [17; 25; 62], potentielle Risikofaktoren sind und dass diese das Behandlungsergebnis von parodontalen regenerativen Eingriffen beeinflussen können. Da diese Keime einen negativen Einfluss auf den Behandlungserfolg haben können, sollten diese so gut wie möglich eliminiert werden, bevor mit der regenerativen Chirurgie begonnen wird.

Einsatz von Antibiotika

Nach den Ergebnissen klinischer Untersuchungen profitieren Patienten von der Anwendung begleitend eingesetzter Antibiotika. Diese können sowohl systemisch als auch lokal angewendet werden. Der Vorteil der lokal angewendeten Antibiotika besteht darin, dass keine systemischen Nebenwirkungen zu erwarten sind. Es sind lokale Antibiotikagele entwickelt worden, die den Wirkstoff konzentriert abgeben und so bis zu 10 Tage eine hohe Konzentration des Antibiotikums in der parodontalen Tasche aufrechterhalten können, ohne systemisch nachweisbar zu sein. Verschiedene Studien haben die Effektivität eines Doxycyclinhyclats als lokales Antibiotikum überprüft. Eine Untersuchung, bei der die alleinige Anwendung des lokalen Doxycyclins mit einem supra- und subgingivalen Debridement verglichen wurde, zeigte, dass kein signifikanter Unterschied bezüglich der Taschentiefenreduktion und des klinischen Attachmentgewinns zwischen beiden Therapien erkennbar war [34]. In einer anderen Arbeit zeigte sich bei der Anwendung von Doxycyclingel in Kombination mit supra- und subgingivalem Debridement eine Verbesserung der ursprünglich ≥ 5 mm tiefen Zahnfleischtaschen um 58 % gegenüber 50 % bei alleinigem supra- und subgingivalem Debridement [53]. Aus diesen Gründen erscheint es sinnvoll, dass neben der Initialtherapie und resektiven Chirurgie dem regenerativen Eingriff eine sorgfältige antiinfektiöse Therapie mit einem lokalen Antibiotikum vorausgehen sollte.

Bei der gesteuerten Geweberegeneration ist die Exposition der Membran eine der häufigsten Komplikationen. Sie geht immer mit einer bakteriellen Besiedlung einher, welche den Therapieerfolg beeinträchtigen kann. Parodontalpathogene Keime, wie *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* und *Tannerella forsythia* wurden beispielsweise in hoher Zahl auf der Oberfläche von nicht resorbierbaren Membranen nach Behandlung durch regenerative Chirurgie gefunden [23; 66]. Untersuchungen von ePTFE-Membranen zeigten bei früher Rekolonisation des Alveolarknochendefektes geringere Attachmentgewinne als bei verzögerter Wiederbesiedlung [70]. Ein Grund für dieses Phänomen

könnte möglicherweise sein, dass bakterielle Proteasen, wie beispielsweise von *Porphyromonas gingivalis* und *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, die neu gebildeten parodontalen Gewebe schädigen und Immunabwehrreaktionen des Körpers inaktivieren. [51]. Daher könnte die Inkorporation von antimikrobiellen Substanzen in biologisch abbaubare Membranen helfen, das Risiko einer Infektion im Regenerationsgebiet zu verringern.

1.4 Problemstellung

Das Ziel der Untersuchung war es, die klinische Wirksamkeit der In-situ-Technik einer selbstaushärtenden Poly(DL-Lactid)-Membran, die 4 % Doxycyclin enthält, in Kombination mit autogenem Knochen bei der Behandlung intraossärer, parodontaler Defekte im Vergleich zur alleinigen Zugangslappen-Operation zu bewerten. Der primäre Zielparameter war die Veränderung des Alveolarknochenniveaus, die sekundären Ergebnisvariablen waren die Veränderung des Attachmentniveaus, der Taschentiefe und der Rezession.

2 Material und Methode

2.1 Auswahl der Patienten

2.1.1 Einschlusskriterien

Aus dem Patientengut der Poliklinik für Parodontologie des Universitätsklinikums Münster und der Praxis Prof. Dr. H. Topoll (Münster) wurden Patienten rekrutiert, die dort aufgrund einer chronischen oder aggressiven Parodontitis behandelt wurden und an mindestens einer Stelle einen Knochendefekt hatten, der radiologisch eine Tiefe von 4 mm oder mehr aufwies. Die intraoralen Röntgenbilder wurden mit Hilfe der Paralleltechnik erstellt [102]. Die Patienten waren zwischen 18 und 65 Jahre alt und hatten einen moderaten (3-4 mm) bis schweren Attachmentverlust (≥ 5 mm). Die Initialtherapie und - falls notwendig - die resektive Chirurgie waren bereits vor Aufnahme in die Studie abgeschlossen. Eine Überprüfung des knöchernen Defektes erfolgte erneut während des chirurgischen Eingriffs.

2.1.2 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen aus der Studie wurden Patienten, die an systemischen Erkrankungen litten, die die parodontale Gesundheit beeinträchtigen könnten, wie z.B. Diabetes mellitus oder Patienten, die Medikamente einnahmen, die einen Einfluss auf den Gesundheitszustand des Parodontiums haben könnten, wie z.B. Cyclosporin, Nifedipin oder Phenytoin. Außerdem wurden Patienten nicht in die Studie aufgenommen, wenn sie eine Allergie auf Tetracyclin oder dessen Derivate hatten, sich in der Schwangerschaft oder Stillzeit befanden, eine Niereninsuffizienz hatten oder eine Antibiotikaphylaxe für eine zahnärztliche Behandlung benötigten. Darüber hinaus fand ein Ausschluss der Patienten statt, die eine aufwändige zahnärztliche Behandlung benötigten, wie z.B. eine umfangreiche kieferorthopädische oder prothetische Behandlung, oder Patienten, die mehr als fünf kariöse Läsionen hatten.

Ausgeschlossen wurden zusätzlich Zähne, die endodontisch behandelt waren, die eine Furkationsbeteiligung des Grades II oder III hatten [45] oder einen Lockerungsgrad III [36] aufwiesen.

2.2 Studiendesign

Es wurde das Modell einer kontrollierten einfachblinden Zwei-Center-Studie mit zwei randomisierten Gruppen gewählt. Anhand einer Randomisierungsliste, die durch eine von der Studie unabhängigen Person (Studienassistentin) erstellt worden war, wurden die Patienten

entweder der Test- oder Kontrollgruppe zugewiesen. Es wurde eine Blockrandomisierung (Blockgröße: 4 Patienten) benutzt und die Patienten wurden nach ihren Rauchgewohnheiten (nicht/gelegentliche Raucher: weniger als 7 ppm CO in der Ausatemluft, Raucher: 7 oder mehr ppm) stratifiziert. Der Beobachtungszeitraum betrug 12 Monate. Bei Auftreten von zwei oder mehreren Defekten bei einem Patienten wurde der Defekt per Los ausgewählt.

2.3 Therapie

Zunächst erfolgte die Initialtherapie, d.h. supra- und subgingivales Debridement unter Lokalanästhesie mittels Schallscalern (KaVo, Biberach, Deutschland) oder Gracey-Küretten an zwei aufeinander folgenden Tagen nach den Richtlinien der „Full-mouth disinfection“ [9] ohne eine entsprechende Chlorhexidinbehandlung. Anschließend erfolgte die Politur mittels eines Pulverstrahlgerätes (Clinpro™ Prophy Pulver, 3M-Espe, Seefeld, Deutschland). Nach klinischer Reevaluation wurde in alle Taschen mit einer Taschentiefe von mehr als 5 mm subgingival 8,8%iges Doxycyclinhyclatgel mit Poly(DL-Lactid) (Atridox®, Atrix Laboratories, London, Great Britain) appliziert und der Patient wurde instruiert, mit einer 0,2%igen Chlorhexidinlösung zweimal täglich für die Dauer von 5 Wochen zu spülen.

Eine Woche nach Applikation des lokalen Antibiotikums wurde der regenerative chirurgische Eingriff unter Lokalanästhesie im Bereich des intraossären Defektes durchgeführt. Dazu erfolgte eine sulkäre Schnittführung mit einer schrägen Inzision durch den interdentalen Col zum Erhalt der interdentalen Gewebe für eine optimale Membranabdeckung in diesem Bereich. Es wurden Entlastungsschnitte jeweils ein Zahn mesial und distal des zu behandelnden Defektes gesetzt.

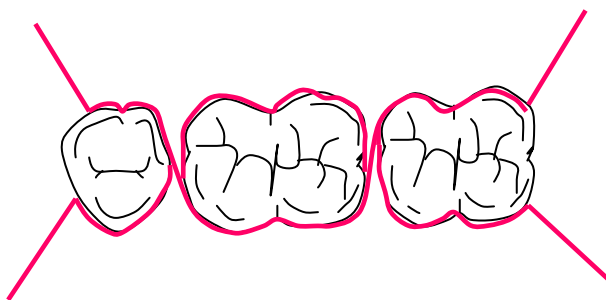


Abb. 1: Schnittführung zur Zugangslappen-Operation nach Cohen [14]

So konnten nach bukkal und lingual bzw. palatinal Mukoperiostlappen gebildet werden. Nach Entfernung des Granulationsgewebes und der Überreste des Doxycyclinhyclatgels wurden die chirurgisch freigelegten Wurzeloberflächen mit diamantierten Schallscaleraufsätzen oder Handinstrumenten gereinigt. Jetzt erfolgte eine erneute Evaluierung des Defektes durch Messung des knöchernen Anteils mit einer Handsonde (North Carolina Periodontal Probe). Auch hier musste der Defekt eine Tiefe von mindestens 4 mm aufweisen. Wies der Defekt eine

geringere Tiefe als 4 mm auf und erfüllte damit nicht die Eingangskriterien, wurden die Lappen ohne weitere Maßnahmen über dem Defekt mittels Naht fixiert. Es erfolgten Wundkontrollen und die Eingliederung des Patienten in die unterstützende Parodontistherapie.

In der Testgruppe wurde autogener, kortikaler Knochen aus der Umgebung des zu regenerierenden Defektes mit Hilfe eines Rosenbohrers (\varnothing 2,7mm) mit langsamer Umdrehungszahl unter steriler Wasserkühlung entnommen und in einem Knochenfilter (KF-T2, Schlumbohm OHG, Brockstedt) gesammelt. Der intraossäre Defekt wurde mit dem gesammelten Knochen genau bis zum Rand der umgebenden Knochenwände gefüllt. Nach relativer Trockenlegung des Operationsgebietes mit einer sterilen Gaze, wurde das Knochentransplantat mit der 4 % Doxycyclin enthaltenden Poly(DL-Lactid)Membran (Atrisorb D[®] FreeFlow, Aatrix Laboratories, Fort Collins, USA) mit einer Schichtdicke von nicht mehr als einem Millimeter abgedeckt. Die Polymerisation wurde durch das Beträufeln der Membran mit steriler Kochsalzlösung initiiert. Nach Aushärtung der Membran wurde eine Periostschlitzung durchgeführt und die Lappen wurden mit modifizierten vertikalen Matratzennähten (Monocryl 4-0 bis 6-0, Ethicon, Norderstedt, Deutschland) fixiert, um einen spannungsfreien Verschluss der Gewebe über der Membran zu gewährleisten.

In der Kontrollgruppe wurden eine Zugangslappen-Operation und Säuberung des Defektes wie bei der Testseite – jedoch ohne Einbringen eines Knochentransplantates und einer Membran – durchgeführt.

Gegen postoperative Schmerzen wurde Ibuprofen (400 mg 3x/d) nach Bedarf verschrieben. Die Patienten wurden instruiert, keine mechanischen Mundhygienemaßnahmen im Operationsgebiet durchzuführen und mit 0,2%iger Chlorhexidinlösung zweimal täglich für 4 Wochen zu spülen. Nach ein, zwei und vier Wochen wurde ein supragingivales Debridement aller Zähne mittels Schallscalers durchgeführt. Nach drei, sechs und zwölf Monaten erhielten die Patienten eine unterstützende Parodontistherapie, bei der ein supragingivales Debridement aller Zähne und ein subgingivales Debridement der Zähne mit einer Taschensondierungstiefe von mehr als 3 mm unter Anwendung eines Schallscalers durchgeführt wurden. An den Studienzähnen erfolgte ausschließlich ein supragingivales Debridement. Anschließend erfolgte die Politur mittels eines Pulverstrahlgerätes.

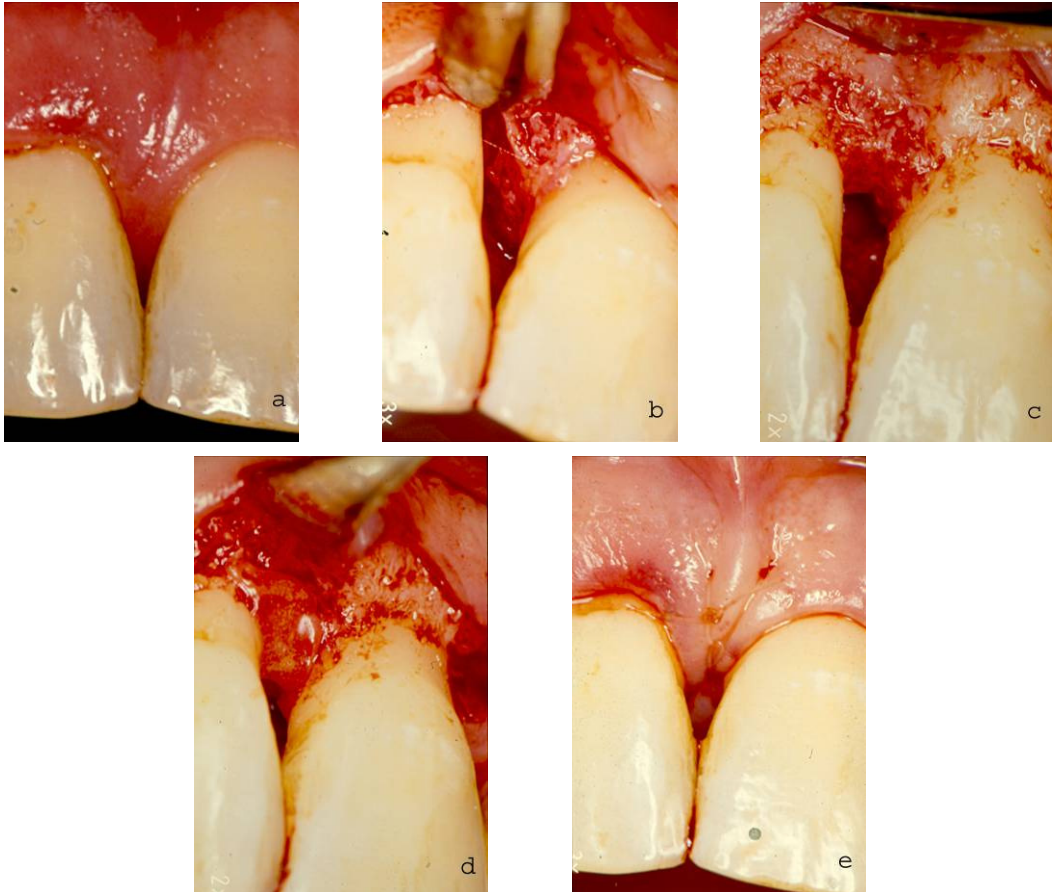


Abb. 2: Klinische Bilder von der Durchführung des regenerativen chirurgischen Eingriffs bei einem Testzahn:

- a.) Ausgangssituation
- b.) Darstellen des Defektes
- c.) Auffüllen des Defektes mit autogenem Knochentransplantat
- d.) Abdecken des Defektes mit der Atrisorb D[®] Membran
- e.) Naht

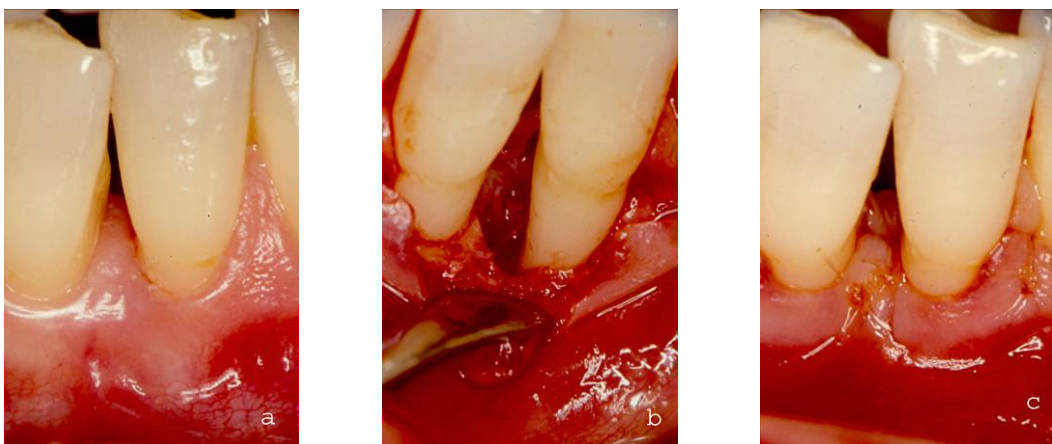


Abb. 3: Klinische Bilder von der Durchführung des regenerativen chirurgischen Eingriffs bei einem Kontrollzahn.

- a.) Ausgangssituation
- b.) Darstellen des Defektes
- c.) Naht

Phase	0	1	2	3/I	3/II	4	5	6	7	8	9	
				1 Woche p.EU.		Wochen p.OP.			Monate p.OP.			
	Scree		Erstunter- suchung	vor		während						
	ning	Chirurgie		Chirurgie	1	2	4	III	VI	XII		
Untersuchertraining und Kalibrierung	Z									Z		
Rekrutierung												
Röntgenbilder		I								I	I	
Einschluss/Ausschluss- kriterien		X										
Information		X										
Einverständniserklärung		X										
CO-Messungen		X										
Randomisierung		X										
Mikrobiologische Proben												
Untersuchungszahn			B	B	B	P	P	P		B	B	
4 andere Zähne (pooled)			B	B						B	B	
Abstriche (pooled)			S	S						S	S	
Klinische Messungen												
Plaque Index			A								A	
Furkationsbeteiligung			A								A	
Taschensondierungstiefen			A+I	I						I	A+I	
Blutung auf Sondierung			A+I	I						I	A+I	
Mobilität			I	I						I	I	
Gingivale Rezession			I	I						I	I	
Attachmentniveau			I	I						I	I	
Knochensondierungsniveau				I	I					I	I	
Defekttiefe					I							
Defektweite					I							
Knöcherner Wände					I							
Defektzirkumferenz					I							
Behandlungen												
Supragingival Debridement			A		I	I	I	I	A-I	A	A	
Subgingivales Debridement			C		I				A-I	A	A	
Atridox® Anwendung			C									
CHX-Spülung			A	A		A	A	A				
Atrisorb D® Membran					I							
Nahtentfernung							I					

Tab. 1: Aktivitätstabelle: alle Zähne (A); zu untersuchender Zahn (I), doppelte Messungen; subgingivale Plaque (B); alle Zähne mit Taschensondierungswerten ≥ 5 mm (C); supragingivale Plaque (P); Abstriche (S); alle Patienten (X); alle Untersucher (Z)

2.4 Untersuchungen

2.4.1 Klinische Messungen

Hauptzielparameter

An den Testzähnen wurde das Knochensondierungsniveau (KSN) an sechs Stellen des Zahnes mit der Florida Disk Probe unter Lokalanästhesie zweifach gemessen (siehe Abb. 4). Es wurde mit einer erhöhten Kraft sondiert, um das Knocheniveau ausloten zu können. Die Messungen wurden unmittelbar vor, während und sechs sowie zwölf Monate nach der regenerativen Chirurgie durchgeführt.

Nebenzielparameter

Zusätzlich wurden folgende Messungen an den Testzähnen in der Anfangsuntersuchung, unmittelbar vor, sechs und zwölf Monate nach der regenerativen Chirurgie an sechs Stellen des Zahnes in der angegebenen Reihenfolge durchgeführt:

- Attachmentniveau (AN), gemessen mit der Florida Disk Probe mit einer konstanten Kraft von 0,2 N (siehe Abb. 4)
- Blutung auf Sondierung [1]
- Taschentiefen (TST), gemessen mit der Florida Pocket Depth Probe (siehe Abb. 4)
- Gingivale Rezessionen (RZ), gemessen mit der Florida Pocket Depth Probe (s. Abb. 4)
- Zahnlockerung [36]

Während der Chirurgie, d.h. nach Abklappung des Mukoperiostlappens, Degranulation und Reinigung wurden neben der Messung des Knochensondierungsniveaus (KSN) folgende Messungen an den Testzähnen durchgeführt:

- Defekttiefe (DT), gemessen mit der North Carolina Periodontal Probe (siehe Abb. 4)
- Defektweite (in mesiodistaler und bukkolingualer Richtung), gemessen mit der North Carolina Periodontal Probe
- Defektzirkumferenz, gemessen in Grad
- Anzahl der Knochenwände

Um den Schweregrad der Erkrankung beurteilen zu können, wurden auch Messungen an allen Zähnen durchgeführt. Diese erfolgten bei der Erstuntersuchung und zwölf Monate nach der regenerativen Chirurgie:

- Plaqueindex [72]
- Taschentiefen, gemessen mit der Florida Pocket Depth Probe
- Blutung auf Sondierung [1]
- Furkationsbeteiligung [45]

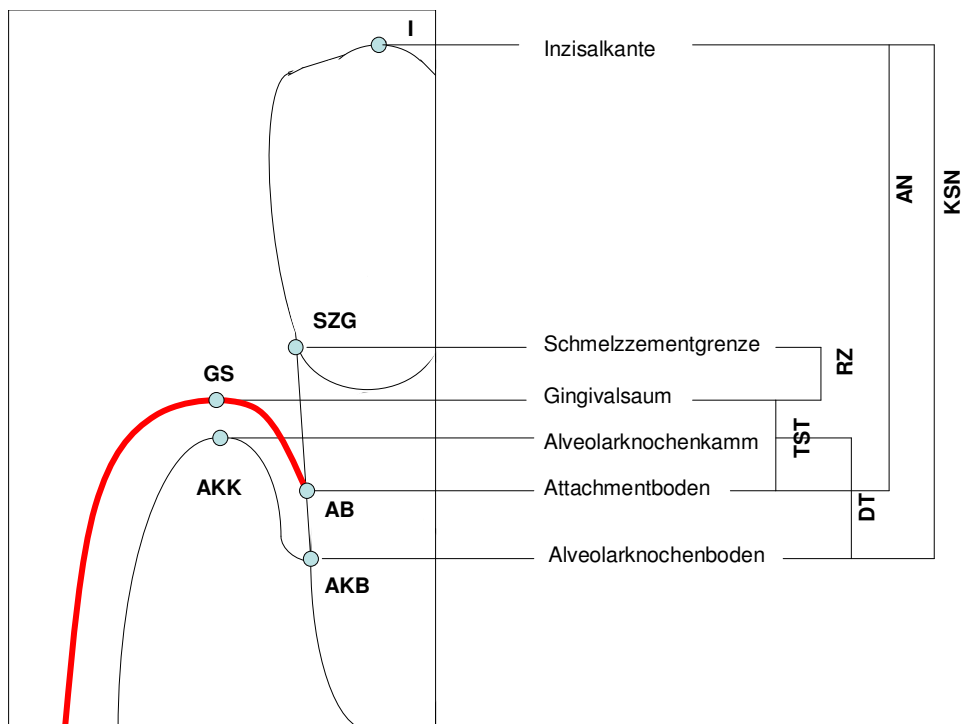


Abb. 4: Schema der klinischen Messungen von TST (Taschensondierungstiefe), RZ (Rezession), AN (Attachmentniveau), KSN (Knochensondierungsniveau) und DT (Defekttiefe).

2.4.2 Mikrobiologische Untersuchungen

In der Erstuntersuchung (d.h. nach abgeschlossener Initialtherapie), unmittelbar vor der Parodontalchirurgie (d.h. eine Woche nach Applikation des 8,8%igen Doxycyclinhyclatgels), und sechs sowie zwölf Monate nach Parodontalchirurgie wurden gepoolte subgingivale Plaqueproben von den selben vier anfänglich tiefsten Taschen pro Quadrant, mit Ausnahme des zu untersuchenden Zahnes, entnommen. Außerdem wurden Abstriche von den Wangenschleimhäuten und der Zunge gesammelt. Von dem Studienzahn wurden subgingivale Plaqueproben in der Erstuntersuchung, unmittelbar vor Parodontalchirurgie, nach Degranulation und Säuberung während der Parodontalchirurgie und sechs sowie zwölf Monate nach der Chirurgie gesammelt. Ein, zwei und vier Wochen nach Parodontalchirurgie wurden nur marginale Plaqueproben gesammelt, um den Heilungsprozess nicht zu stören. Alle Proben wurden mit einer sterilen Kürette nach relativer Trockenlegung entnommen, in 1 ml einer reduzierten Transportflüssigkeit gegeben [94] und bis zur Weiterverarbeitung bei -20° C eingefroren.

Der Nachweis von *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.) [69], *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Prevotella intermedia* (P.i.), *Eikenella corrodens* (E.c.), *Prevotella nigrescens* (P.n.), *Tannerella forsythia* (T.f.), *Treponema denticola* (T.d.) und *Streptococcus intermedius* (S.i.) erfolgte mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion. Ein 285 bp (Basenpaar) langes Segment

des Leukotoxingens IktA von A.a. wurde durch die Primer TT-15 (5'-TCG CGA ATC AGC TCG CCG-3') und TT-16 (5'-GCT TTG CAA GCT CCT CAC C-3') identifiziert [32]. Die Identifizierung von P.g. erfolgte durch die Amplifizierung eines 548 bp langen Segmentes des Kollagenasegens prtC von P.g. durch die Primer Coll-1 (5'-ACA ATC CAC GAG ACC ATC-3') und Coll-2 (5'-TTC AGC CAC CGA GAC G-3') [8]. Über eine Multiplex-PCR wurde P.i. mittels eines 16S rDNA-Universalprimers pA (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') und eines speziesspezifischen Primers Pi (5'-GTT GCG TGC ACT CAA GTC CGC C-3') nachgewiesen [15]. E.c., P.n., T.f. und T.d. wurden mittels 16S rRNA-Multiplex-PCR identifiziert [3]. Die Identifikation des 217 bp langen Segments des Ily-Gens von Streptococcus intermedius erfolgte durch die Primer Ily-F (5'-CTC ACC CTC AAT CAT GAT GGT GC-3') und Ily-R (5'-CGA CTC ACT ATA GGG AGA TCA GCA TGG-3') [39].

2.4.3 Kohlenmonoxid-Messung

Die Kohlenmonoxid-Messung (CO-Messung) gibt an, wie hoch der Kohlenmonoxid-Gehalt in der Ausatemluft ist. Dieser steht eindeutig in Bezug zum Rauchverhalten des Patienten. Die CO-Werte werden mit ppm (parts per million) angegeben:

Nichtraucher oder gelegentliche Raucher weisen weniger als 7 ppm CO in der Ausatemluft auf, Raucher 7 oder mehr ppm [47]. Die Messung des Kohlenmonoxid-Gehaltes in der Ausatemluft wurde bei der Ausgangsuntersuchung, zwei Wochen nach der regenerativen Chirurgie und nach zwölf Monaten mit einem Micro-Smokealyzer durchgeführt. Dabei wurde der Patient gebeten, vor der Messung tief einzuatmen, die Luft dann für 15 s einzuhalten, um anschließend in das vorgesehene Gerät die Luft kontrolliert auszuatmen, bis die Lunge möglichst geleert war. Das Gerät zeigte dann den entsprechenden CO-Wert des Patienten an.

2.4.4 Radiologische Untersuchung

Unmittelbar vor sowie sechs und zwölf Monate nach dem parodontalchirurgischen Eingriff wurden nicht standardisierte Röntgenbilder in der Paralleltechnik angefertigt [102].

2.4.5 Kalibrierung und Untersuchertraining

Alle Untersuchungen wurden von zwei ausgebildeten, kalibrierten und verblindeten Untersuchern durchgeführt. Die Kalibrierung wurde für die Messungen des Knochensondierungsniveaus durchgeführt, um sicher zu stellen, dass 95 % der Unterschiede der wiederholten Messungen weniger als zwei Standardabweichungen der durchschnittlichen Differenz zwischen zwei Messungen ausmachen [6]. Für die Durchführung aller anderen klinischen Messungen wurden die Untersucher instruiert, Standardverfahren zu benutzen. Die beiden teilnehmenden klinischen Untersucher mussten ein Training und eine Kalibrierungssitzung absolvieren, die Folgendes beinhaltete:

1. Durchsicht des Protokolls und der Studienziele
2. Standardisierung der Fallauswahl entsprechend den Ein- und Ausschlusskriterien und dem chirurgischen Vorgehen
3. Instruktion und Kalibrierung der angewandten Messtechniken
4. Instruktion zur Datenerfassung
5. Darlegung der Studienverwaltung und Nachrichtenübermittlung durch die Studienassistentin
6. Optimierung von Organisationsstrategien für die Patientenauswahl und Patienten- und Datenverwaltung durch die Studienassistentin
7. Durchsicht auf spezielle Regularien in der Studie.

Die Trainingssitzungen wurden vor Beginn der Studie und sechs Monate danach durchgeführt. Die Laboruntersuchungen wurden durch ausgebildete medizinisch-technische Assistentinnen durchgeführt, die zur Auswertung Standardverfahren benutzten.

2.5 Statistische Analyse

Für die Fallzahlbestimmung wurde eine Poweranalyse durchgeführt. Die Hauptergebnisvariable ist die gemessene Veränderung des Alveolarknochenniveaus an der tiefsten Stelle des zu untersuchenden Zahnes. Der Mittelwert der doppelt vorgenommenen Messungen und der Mittelwert der beiden Stellen, die im Bereich des Defektes lagen, ging in die Datenanalyse ein. Die statistische Einheit ist der Patient. Für die Poweranalyse wurde die Standardabweichung (SD = 1,8 mm) des Alveolarknochengewinns bei intraossären Defekten, die mit einer Calcium-Sulfat-Membran versorgt wurden, verwendet [54]. Ein klinisch relevanter Unterschied zwischen beiden Methoden wurde bei einer Differenz von 1,7 mm Alveolarknochengewinn festgelegt.

Die Poweranalyse ergab, dass 18 Patienten in jeder der zwei Gruppen benötigt werden, um einen Unterschied von 1,7 mm Alveolarknochengewinn festzustellen bei einem Signifikanzniveau von $p < 5\%$ und einer Power von 80 %. Um das Ausscheiden von Patienten während des Beobachtungszeitraumes von 12 Monaten zu berücksichtigen, wurden 22 Patienten pro Gruppe (Test bzw. Kontrolle) aufgenommen, d.h. es wurde eine Gesamtzahl von 44 Patienten benötigt. Pro Zentrum sollten 22 Patienten aufgenommen werden.

Zur Beurteilung der Veränderung der klinischen Parameter von der Ausgangs- zur Enduntersuchung nach zwölf Monaten zwischen Test- und Kontrollzähnen alleine oder auch im Vergleich der Zentren zueinander oder zwischen Rauchern und Nichtrauchern wurden der Wilcoxon-Test und der Kruskal-Wallis-Test verwendet. Mikrobiologische Daten wurden über den McNemar's Test ausgewertet. Zur Validierung der Frequenzverteilung der Alveolarknochengewinne zwischen Test- und Kontrollzähnen von der Ausgangs- zur Enduntersuchung nach zwölf Monaten wurde der Fischer's Exact Test benutzt.

Alle statistischen Analysen wurden von dem Institut für Medizinische Informatik und Biomathematik des Universitätsklinikums Münster ausgewertet.

3 Ergebnisse

3.1 Demographie

Von den insgesamt 150 während der Screening-Untersuchung gesichteten Patienten wurden 51 in die Studie aufgenommen. Davon wurden 27 in der Universitätsklinik Münster, Poliklinik für Parodontologie und 24 Patienten in der Praxis Prof. Topoll behandelt. 48 Patienten haben die Studie nach einer Dauer von zwölf Monaten abgeschlossen. Zwei Patienten wurden während des chirurgischen Eingriffs ausgeschlossen, da sich der Defekt bei einem Patienten klinisch ≤ 4 mm darstellte und bei dem zweiten Patienten der Defekt nur durch eine knöchernen Wand begrenzt war. Ein weiterer Patient schied aus persönlichen Gründen aus der Studie aus, da die Anreise zu weit war. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug in der Testgruppe $45,28 \pm 9,68$ und in der Kontrollgruppe $43,35 \pm 14,01$ Jahre. Von allen teilnehmenden Patienten waren 36 (75 %) Nichtraucher (17 in der Test- und 19 in der Kontrollgruppe) und 12 (25 %) Raucher (6 in der Test- und 6 in der Kontrollgruppe).

3.2 Ausgangsbefunde

3.2.1 Klinische Parameter: Defektstelle, Ausgang und präoperativ

Der Schweregrad der parodontalen Destruktion wurde mit der klinischen Befunderhebung bei der Ausgangsuntersuchung und präoperativ an den Defektstellen ermittelt.

Die Auswertung der Lockerungsgrade ergab, dass acht Defektzähne in der Kontrollgruppe und acht in der Testgruppe einen Lockerungsgrad I aufwiesen. Zwei Defektzähne in der Testgruppe und drei in der Kontrollgruppe hatten einen Lockerungsgrad II.

Bei keinem Parameter, der den Schweregrad der parodontalen Destruktion beschreibt, z. B. Blutung auf Sondierung, initiale Taschensondierungstiefe und gingivale Rezession, wurden signifikante Unterschiede an den Defektstellen zwischen der Test- und Kontrollgruppe gefunden (Tabelle 2).

	Kontrollstelle		Teststelle	
	MW ± SD		MW ± SD	
	Baseline	präoperativ	Baseline	präoperativ
BAS (%)	84,00 ± 14	61,00 ± 31	86,96 ± 11	59,00 ± 29
TST (mm)	6,42 ± 1,49	7,38 ± 2,18	6,18 ± 1,06	6,47 ± 0,94
RZ (mm)	0,84 ± 1,12	1,25 ± 0,96	0,97 ± 1,31	1,40 ± 1,11

Tab. 2: Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) der klinischen Parameter: Blutung auf Sondierung (BAS), Taschensondierungstiefe (TST) und Rezession (RZ) an **Test- und Kontrollstelle (Mittelwert der beiden Defektstellen)** bei der Ausgangsuntersuchung und bei der präoperativen Untersuchung ($p \geq 0,05$).

3.2.2 Klinische Parameter: Studienzähne und alle Zähne, Ausgang und 12 Monate

Von der Baseline-Untersuchung bis zur Abschlussuntersuchung nach zwölf Monaten verbesserte sich die mittlere Taschensondierungstiefe am Studienzahn (dargestellt als Mittelwert der sechs Seiten pro Zahn) von $3,69 \pm 0,64$ mm bei der Ausgangsuntersuchung auf $2,75 \pm 0,53$ mm bei der Abschlussuntersuchung ($p < 0,05$), während die übrigen Zähne keine signifikanten Veränderungen der Taschensondierungswerte zeigten (Tabelle 3). Sowohl der Plaqueindex als auch die Blutung auf Sondierung blieben über den Studienzeitraum stabil oder zeigten eine leichte Verbesserung der Werte.

	Alle Zähne		Studienzahn	
	MW ± SD		MW ± SD	
	Baseline	12 Monate	Baseline	12 Monate
Plaqueindex (%)	24,00 ± 14	15,00 ± 9	29,00 ± 29	21,00 ± 24
BAS (%)	19,00 ± 9	13,00 ± 9	35,00 ± 19	23,00 ± 22
TST (mm)	2,29 ± 0,31	2,16 ± 0,30	3,69 ± 0,64	2,75 ± 0,53
Mobilität	0,32 ± 0,32	0,14 ± 0,21	0,18 ± 0,53	0,13 ± 0,34

Tab. 3: Mittelwerte (MW) mit Standardabweichung (SD) der klinischen Parameter: Blutung auf Sondierung (BAS), Taschensondierungstiefe (TST) und Rezession (RZ) bei der Ausgangsuntersuchung und 12 Monate postoperativ für alle Zähne und für die **Studienzähne (Mittelwerte von sechs Stellen pro Zahn)**

3.2.3 Zahntypverteilung

Die Auswertung der Zahntypen der untersuchten Zähne ergab, dass Unterkieferzähne mit 58% ähnlich häufig vertreten waren, wie Oberkieferzähne. Im Vergleich einwurzeliger Zähne mit mehrwurzeligen zeigte sich, dass die einwurzeligen Zähne mit 54% etwa gleich häufig vertreten waren wie die mehrwurzeligen.

	einwurzelig	mehrwurzelig	Gesamt
Oberkiefer	25 %	17 %	42 %
Unterkiefer	29 %	29 %	58 %
Gesamt	54 %	46 %	100 %

Tab. 4: Zahntypverteilung der Oberkieferzähne im Vergleich zu den Unterkieferzähnen bzw. mehrwurzeliger Zähne im Vergleich zu einwurzeligen

In der Testgruppe waren 60% der Zähne aus dem Oberkiefer und 40% Unterkieferzähne. Die Verteilung der mehrwurzeligen und einwurzeligen Zähne innerhalb der Gruppen war nicht signifikant unterschiedlich.

In der Kontrollgruppe waren hingegen 61% der Zähne aus dem Unterkiefer. Aber auch hier war das Verhältnis zwischen mehrwurzeligen und einwurzeligen Zähnen ausgeglichen.

	Test		Kontrolle	
	Oberkiefer	Unterkiefer	Oberkiefer	Unterkiefer
einwurzelig	35 %	18 %	25 %	29 %
mehrwurzelig	25 %	21 %	15 %	32 %
Gesamt	60 %	39 %	40 %	61 %

Tab. 5: Vergleich der Zahntypverteilung von Test- und Kontrollzähnen bzw. einwurzeliger und mehrwurzeliger Zähne im Ober- bzw. Unterkiefer

3.2.4 Klinische Parameter intraoperativ

Bei 44 Patienten lag an der Teststelle ein mehrwandiger Alveolarknochendefekt vor (zweiwandig: 24, dreiwandig: 20) und bei vier Patienten lag ein einwandiger Alveolarknochendefekt vor. Davon entfielen bei den einwandigen Defekten ein Defekt auf die Kontrollgruppe und drei auf die Testgruppe. Bei den zweiwandigen Defekten entfielen 14 auf die Kontroll- und zehn auf die Testgruppe. Die dreiwandigen Defekte stellten sich mit jeweils zehn Defekten in jeder Gruppe gleich dar.

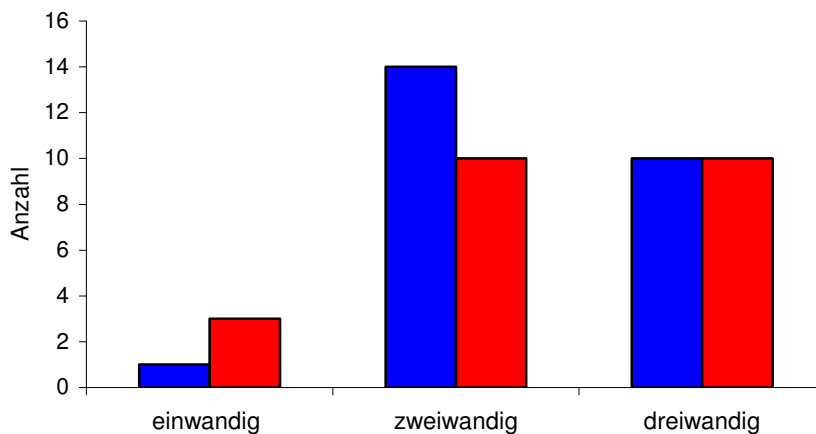


Abb. 5: Anzahl der knöchernen Defektwände aufgliedert nach Test- und Kontrollzähnen (Kontrolle: ■, Test: ■).

Die intraoperativen Befunde der Ausdehnung des Knochendefektes sind in Tabelle 6 dargestellt.

	Kontrolle MW ± SD	Test MW ± SD
Defektzirkumferenz (°)	139,20 ± 45,09	129,13 ± 44,92
Defekttiefe (mm)	5,88 ± 1,66	5,33 ± 1,56
Defektweite (bukkal-lingual in mm)	6,90 ± 2,71	6,67 ± 1,92
Defektweite (mesial-distal in mm)	3,10 ± 1,02	2,96 ± 0,81

Tab. 6: Intraoperativ erhobene Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (SD) der Alveolarknochendefekte an den Testzähnen ($p \geq 0,05$)

3.3 Befunde nach 12 Monaten

3.3.1 Primärer Zielparameter Alveolarknochengewinn

Der primäre Zielparameter war der Alveolarknochengewinn bei Patienten, die eine Poly(DL-Lactid)-Membran (Atrisorb D[®]) in Kombination mit einem autogenen Knochentransplantat (Testgruppe) erhielten, im Vergleich zu Patienten, die mit einem alleinigen Zugangslappen behandelt wurden. Die Auswertung des Alveolarknochengewinns nach 12 Monaten zeigte in der Testgruppe eine mittlere Veränderung des Alveolarknochenniveaus von $2,58 \text{ mm} \pm 0,81 \text{ mm}$ und von $1,91 \text{ mm} \pm 1,61 \text{ mm}$ in der Kontrollgruppe. Während der Unterschied von der Ausgangsuntersuchung zur Untersuchung nach 12 Monaten innerhalb der Gruppen statistisch signifikant war ($p < 0,05$), zeigte die Differenz zwischen den Gruppen nur einen Trend, ohne eine Signifikanz zu erreichen.



Abb. 6: Röntgenbilder von einem Testzahn eines nichtrauchenden Patienten von der Ausgangsuntersuchung (links), Untersuchung nach 6 Monaten (Mitte) und Abschlussuntersuchung (rechts)



Abb. 7: Röntgenbilder von einem Kontrollzahn eines nichtrauchenden Patienten von der Ausgangsuntersuchung (links), Untersuchung nach 6 Monaten (Mitte) und Abschlussuntersuchung (rechts).



Abb. 8: Röntgenbilder von einem Testzahn eines rauchenden Patienten von der Ausgangsuntersuchung (links), Untersuchung nach 6 Monaten (Mitte) und Abschlussuntersuchung (rechts)



Abb. 9: Röntgenbilder von einem Kontrollzahn eines rauchenden Patienten von der Ausgangsuntersuchung (links), Untersuchung nach 6 Monaten (Mitte) und Abschlussuntersuchung (rechts)

Vergleich Raucher und Nichtraucher

Bei der getrennten Betrachtung von Rauchern und Nichtrauchern zeigte sich bei den Rauchern ein signifikanter Alveolarknochengewinn der Testgruppe gegenüber der Kontrollgruppe.

Bei den Nichtrauchern lag ein Alveolarknochengewinn von $2,25 \text{ mm} \pm 1,65 \text{ mm}$ der Kontrollgruppe zu $2,64 \text{ mm} \pm 0,75 \text{ mm}$ in der Testgruppe und damit ein geringer Unterschied von $0,39 \text{ mm}$ zwischen den Gruppen vor. Bei den Rauchern allerdings hatte die Testgruppe mit $2,43 \text{ mm} \pm 1,01 \text{ mm}$ im Vergleich zur Kontrollgruppe mit $0,83 \text{ mm} \pm 0,86 \text{ mm}$ einen signifikant größeren Alveolarknochengewinn von $1,60 \text{ mm}$ zu verzeichnen.

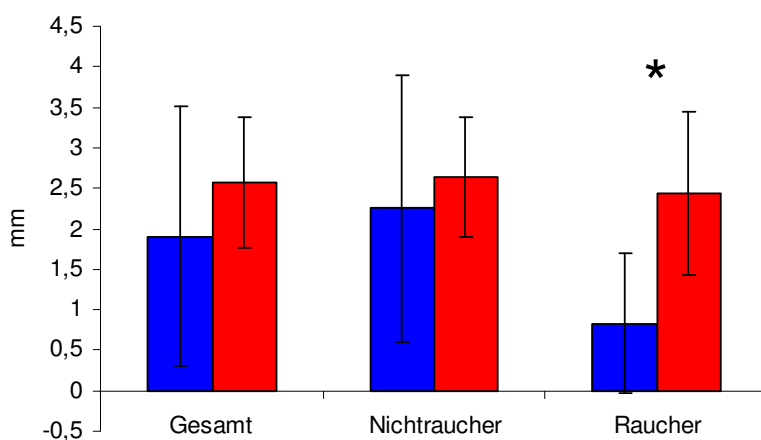


Abb. 10: Mittlere Veränderung des Alveolarknochenniveaus an Test- und Kontrollzähnen aller Patienten (Gesamt) und getrennt nach Rauchern und Nichtrauchern, von der Ausgangsuntersuchung zur Messung nach 12 Monaten. Positive Werte geben eine Zunahme des Alveolarknochenniveaus an. Die Fehlerbalken zeigen den Standardfehler des Mittelwertes. *Signifikanter Unterschied zur Kontrolle ($p < 0,05$). (Kontrolle: ■, Test: ■).

Vergleich der Zentren

Die Auswertung der mittleren Veränderung des Alveolarknochenniveaus im Vergleich der beiden Zentren (Zentrum 1: Poliklinik für Parodontologie der Universitätsklinik Münster, Zentrum 2: Praxis Prof. Topoll, Münster) zueinander zeigte eine ähnlich große Zunahme des Alveolarknochenniveaus in der Testgruppe. Die Kontrollgruppe in Zentrum 2 zeigte eine etwas geringere Zunahme des Alveolarknochenniveaus als in Zentrum 1, die aber nicht signifikant war. Insgesamt kam es innerhalb der Gruppen zu signifikanten Alveolarknochengewinnen.

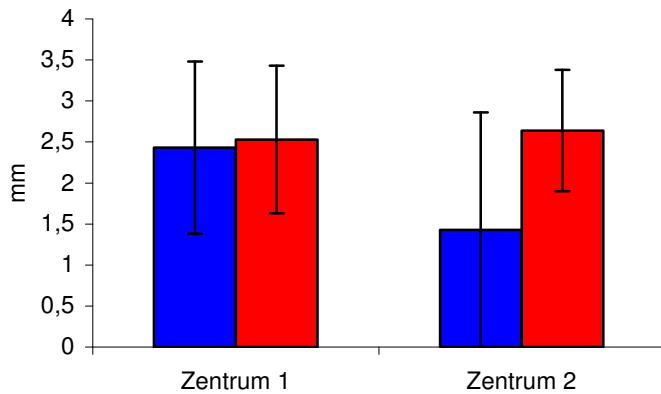


Abb. 11: Mittlere Veränderung des Alveolarknochenlevels an Test- und Kontrollzähnen, getrennt nach Zentrum, von der Ausgangsmessung zur Messung nach 12 Monaten. Positive Werte geben eine Zunahme des Alveolarknochenlevels an. Die Fehlerbalken zeigen den Standardfehler des Mittelwertes (Kontrolle: ■, Test: ■).

Frequenzverteilung zwischen Test- und Kontrollgruppe

Insgesamt konnte bei 29 der 48 untersuchten Zähne ein Alveolarknochengewinn von über zwei Millimetern festgestellt werden. Davon entfielen 13 Zähne auf die Kontrollgruppe und 16 auf die Testgruppe. Bei einem Zahn aus der Kontrollgruppe trat ein Knochenverlust auf und bei sechs Zähnen aus der Kontrollgruppe zeigte sich keine Veränderung des Alveolarknochenlevels. Bei fünf Zähnen aus der Kontrollgruppe und sieben Zähnen aus der Testgruppe zeigten sich leichte Knochengewinne. Die Testgruppe mit Verwendung der Atrisorb D[®]-Membran und Einbringen eines autologen Knochentransplantates konnte bei der Frequenzverteilung im Vergleich zur Kontrollgruppe mit alleiniger Zugangslappen-Operation einen signifikant größeren Gewinn an Alveolarknochenlevel nach zwölf Monaten verzeichnen ($p < 0,05$).

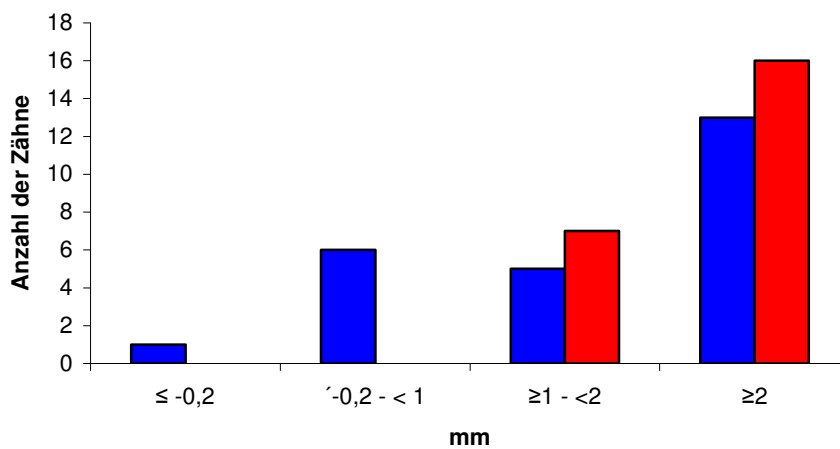


Abb. 12: Verteilung der Alveolarknochengewinne auf 4 Klassen ($\leq -0,2$ mm; $-0,2$ mm bis < 1 mm; ≥ 1 mm bis < 2 mm; ≥ 2 mm) an Test- und Kontrollzähnen von der Ausgangsmessung zur Messung nach 12 Monaten. (Kontrolle: ■, Test: ■).

Frequenzverteilung Test- und Kontrollgruppe, nur Nichtraucher

Bei der Auswertung der Frequenzverteilung der Alveolarknochengewinne für Nichtraucher konnten keine signifikanten Gewinne für die Testgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden. Hier konnte allenfalls eine Tendenz erkannt werden.

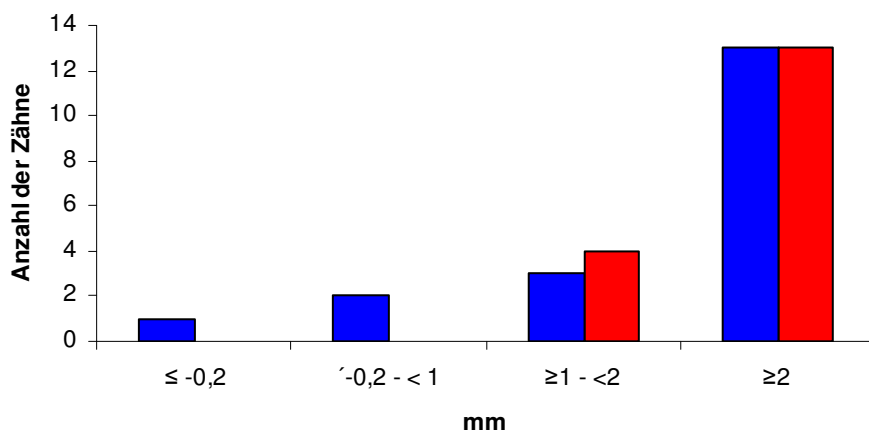


Abb. 13: Verteilung der Alveolarknochengewinne auf 4 Klassen (≤-0,2 mm; >-0,2 mm bis <1 mm; ≥1 mm bis <2 mm; ≥2 mm) an Test- und Kontrollzähnen nur für Nichtraucher von der Ausgangsmessung zur Messung nach 12 Monaten. (Kontrolle: ■, Test: ■).

Frequenzverteilung Test- und Kontrollgruppe, nur Raucher

Bei sechs rauchenden Patienten zeigte sich an den Testzähnen ein Knochengewinn von mindestens einem Millimeter ab, wohingegen es bei den sechs rauchenden Patienten aus der Kontrollgruppe maximal zu leichten Knochengewinnen, aber eher zu keiner Veränderung des Alveolarknochniveaus nach zwölf Monaten kam. Aufgrund der geringen Anzahl an Rauchern n = 12 konnte jedoch kein Test durchgeführt werden.

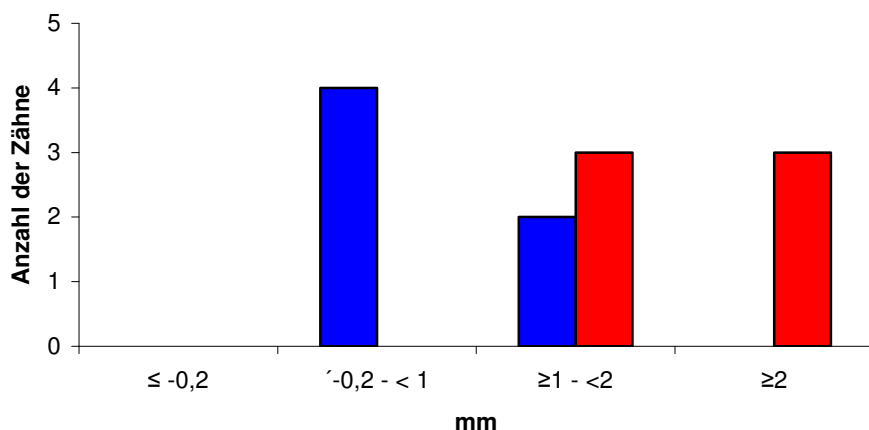


Abb. 14: Verteilung der Alveolarknochengewinne auf 4 Klassen (≤-0,2 mm; >-0,2 mm bis <1 mm; ≥1 mm bis <2 mm; ≥2 mm) an Test- und Kontrollzähnen nur für Raucher von der Ausgangsmessung zur Messung nach 12 Monaten. (Kontrolle: ■, Test: ■).

3.3.2 Sekundäre Ergebnisvariable Veränderungen der Weichgewebe

Als sekundäre Ergebnisvariable wurden Veränderungen des Attachmentniveaus, der Taschensondierungstiefen und gingivalen Rezessionen betrachtet.

Von der Ausgangsuntersuchung zur Enduntersuchung nach 12 Monaten zeigte sich eine signifikante Veränderung des Attachmentniveaus innerhalb der Gruppen für Test- und Kontrollzähne ($1,81 \text{ mm} \pm 1,78 \text{ mm}$ bzw. $1,52 \text{ mm} \pm 1,57$, $p < 0,05$). Ebenso konnte eine signifikante Reduktion der Taschensondierungstiefen von $2,67 \text{ mm} \pm 1,12 \text{ mm}$ in der Testgruppe und $2,11 \text{ mm} \pm 1,42 \text{ mm}$ in der Kontrollgruppe innerhalb der Gruppen festgestellt werden ($p < 0,05$). Ein Ansteigen der gingivalen Rezession mit $0,72 \text{ mm} \pm 0,72 \text{ mm}$ in der Testgruppe und $0,97 \text{ mm} \pm 0,98 \text{ mm}$ in der Kontrollgruppe war in beiden Gruppen zu erkennen, fiel jedoch nicht signifikant aus.

Vergleich Raucher und Nichtraucher

In Test- und Kontrollgruppe konnte nach einem Beobachtungszeitraum von zwölf Monaten eine unterschiedlich starke Zunahme des Attachmentniveaus, der Reduktion der Taschentiefe und Rezession beobachtet werden. Jedoch konnte hier im Gegensatz zur Veränderung des Alveolarknochenlevels auch bei den Rauchern kein signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe festgestellt werden.

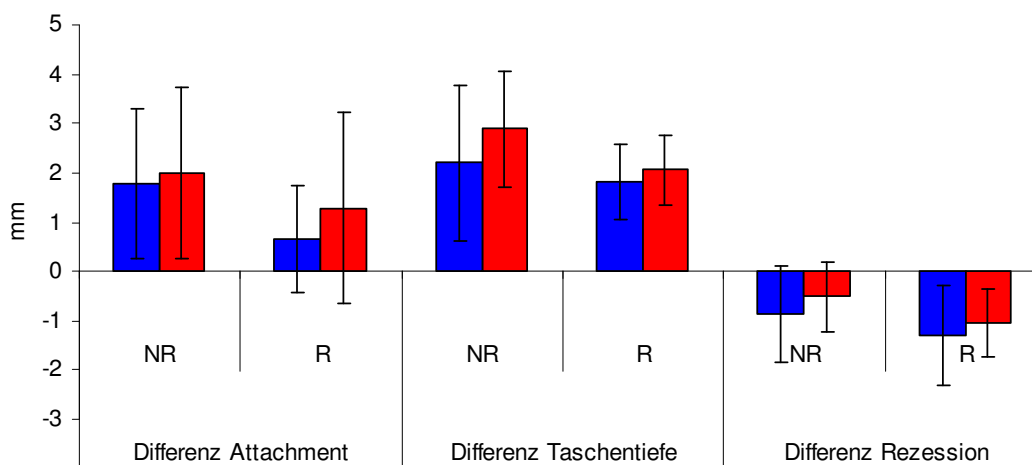


Abb. 15: Mittlere Veränderung des Attachmentniveaus, der Taschentiefe und der Rezession an Test- und Kontrollzähnen von der Ausgangsmessung zur Messung nach 12 Monaten, getrennt nach Raucher (R) und Nichtraucher (NR). Positive Werte geben eine Zunahme des Attachmentniveaus und eine Reduktion der Taschentiefe an. Negative Werte geben eine Zunahme der Rezession an. Die Fehlerbalken zeigen den Standardfehler des Mittelwertes. (Kontrolle: ■, Test: ■).

Vergleich der Zentren

Die Veränderung des Attachmentniveaus, der Taschentiefe und der Rezession zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen, jedoch die Ausgangs- und Endwerte innerhalb der Gruppen unterschieden sich signifikant in Bezug auf Attachmentniveau und Taschentiefe bei beiden Zentren.

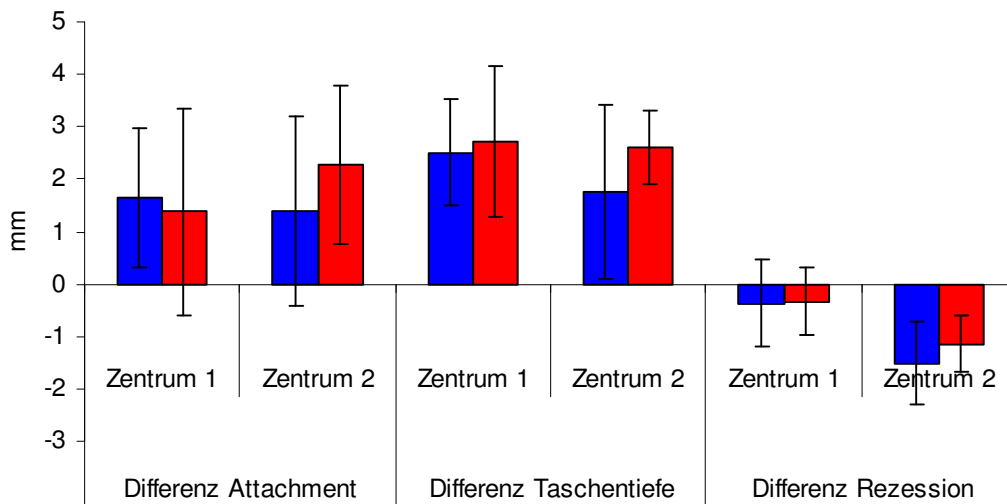


Abb. 16: Mittlere Veränderung des Attachmentniveaus, der Taschentiefe und der Rezession an Test- und Kontrollzähnen getrennt nach Zentrum von der Ausgangsmessung zur Messung nach 12 Monaten. Positive Werte geben eine Zunahme des Attachmentniveaus und eine Reduktion der Taschentiefe an. Negative Werte geben eine Zunahme der Gingivarezession an. (Kontrolle: ■, Test: ■).

3.4 Mikrobiologischer Befund

Bei der Bestimmung der parodontalpathogenen Keime in den unterschiedlichen Nischen der Mundhöhle konnte insgesamt ein Anstieg von der Ausgangsuntersuchung (Baseline) bis zur Enduntersuchung nach 12 Monaten beobachtet werden (Tabelle 7).

	Baseline Phase II	12 Monate Phase IX
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	6,25 %	14,89%
<i>E. corrodens</i>	37,50%	95,74%
<i>P. gingivalis</i>	29,17%	68,09%
<i>T. forsythia</i>	47,92%	89,39%
<i>S. intermedius</i>	4,17%	74,47%
<i>T. denticola</i>	20,83%	63,83%
<i>P. intermedia</i>	14,58%	31,91%
<i>P. nigrescens</i>	47,92%	82,98%

Tabelle 7: Prävalenz der Keime in der gesamten Mundhöhle zum Zeitpunkt der Ausgangsuntersuchung (Baseline) und Enduntersuchung (12 Monate nach chirurgischem Eingriff)

Prävalenz des Keimspektrums an den Studienzähnen

Initial war die Prävalenz der parodontalpathogenen Keime an den Studienzähnen sowohl in der Test- als auch in der Kontrollgruppe gering, stieg aber im Studienverlauf für die meisten Keime an. *Porphyromonas gingivalis*, *Eikenella corrodens*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticola* waren jeweils initial nachweisbar bei 14,58%, 16,67%, 25,0% und 10,42% der Studienpatienten. Von der Ausgangsuntersuchung (Phase II) bis zur Phase V (vier Wochen nach dem Eingriff) zeigte sich eine kontinuierlich abnehmende Prävalenz, wonach in Phase VI (drei Monate nach dem Eingriff) ein deutlicher Anstieg bis zur Phase IX (Enduntersuchung) festgestellt werden konnte (*Porphyromonas gingivalis* 34,04%, *Eikenella corrodens* 76,6%, *Tannerella forsythia* 46,81% und *Treponema denticola* 38,3%). Der allgemeine Anstieg der Nachweisfrequenz über den Studienzeitraum von Phase II (Erstuntersuchung) zu Phase IX (Enduntersuchung) war statistisch signifikant innerhalb der Gruppen, jedoch nicht zwischen den beiden Gruppen. *Streptococcus intermedius* war zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung (Phase II) sowohl in der Test- als auch in der Kontrollgruppe nicht nachweisbar, dies war auch bis zur Phase VI (drei Monate nach chirurgischem Eingriff) zu beobachten. Von da an zeigte *Streptococcus intermedius* jedoch einen deutlichen Anstieg bis zur Phase IX (Enduntersuchung) (51,06%) und erzielte dadurch einen signifikanten Anstieg innerhalb der Gruppe im Verlauf der Studie. Die Keime *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.a.*) und *Prevotella intermedia* (*P.i.*) fanden sich in einer geringen bis kaum nachweisbaren Ausgangsprävalenz bei 10,42% bzw. 2,08% der Studienpatienten. Für beide Keime blieb diese geringe Nachweisfrequenz in den Gruppen im Laufe der Studie unverändert.

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Zentren festgestellt werden.

Prävalenz des Keimspektrums in der Mundhöhle (ohne Studienzähne)

Bei allen Studienpatienten konnten zu Beginn der Studie (Phase II) alle zu erwartenden parodontalpathogenen Keime in der Mundhöhle (die Mundschleimhaut und alle Zähne, ausgenommen der Studienzähne) nachgewiesen werden. Zu diesem Zeitpunkt war die Prävalenz der Keime *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus intermedius*, und *Treponema denticola* gering (4,17%, 8,33%, 4,17% und 14,48%), während die Nachweisfrequenz der Keime *Porphyromonas gingivalis*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella nigrescens* und *Tannerella forsythia* bei allen Studienpatienten etwas höher lag (18,75%, 33,33%, 47,92% und 35,42%). Zum Zeitpunkt der Ausgangsuntersuchung (Phase II) waren keine signifikanten Unterschiede in der Prävalenz der nachgewiesenen Keime bei Patienten der Test- und Kontrollgruppe feststellbar. Im Verlauf der Untersuchung stieg die Nachweisfrequenz der parodontalpathogenen Keime kontinuierlich an bis zur Abschlussuntersuchung nach 12 Monaten (Phase IX). Mit Ausnahme der Keime *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (12,77%) und *Prevotella intermedia* (31,91%) nahm die Prävalenz aller anderen Keime erheblich zu (*Eikenella corrodens*: 95,74%, *Porphyromonas gingivalis*: 68,09%, *Prevotella nigrescens*: 82,98%, *Streptococcus intermedius*: 74,47%, *Tannerella forsythia*: 89,36% und *Treponema denticola*: 63,83%).

Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Studienzentren.

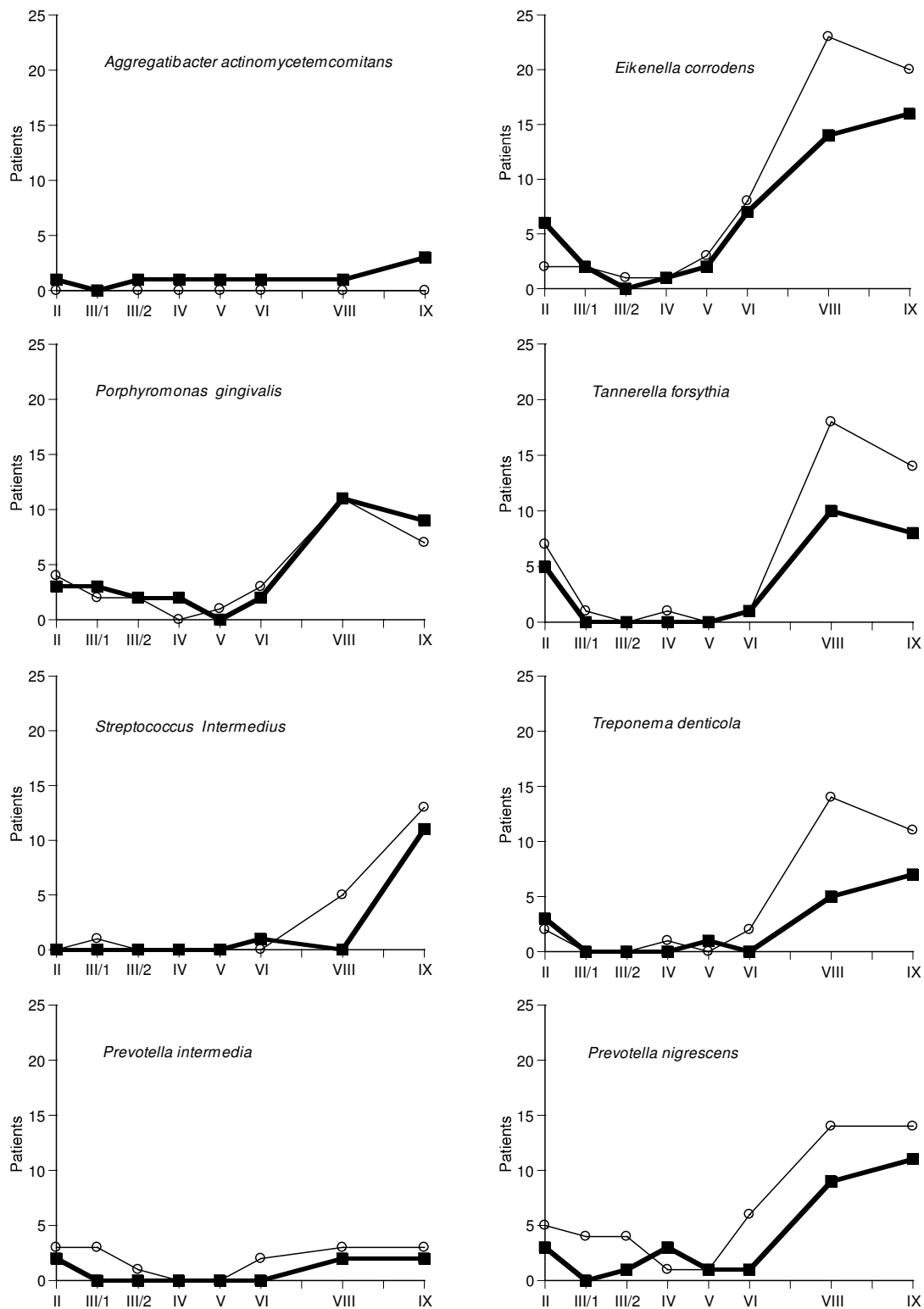


Abb. 17: Prävalenz der parodontalpathogenen Keime über den Behandlungszeitraum: Phase II (Baseline), Phase III/1 (unmittelbar vor Chirurgie), Phase III/2 (während der Chirurgie), Phase IV (eine Woche nach Chirurgie), Phase V (zwei Wochen nach Chirurgie), Phase VI (vier Wochen nach Chirurgie), Phase VII (drei Monate nach Chirurgie), Phase VIII (sechs Monate nach Chirurgie) und Phase IX (12 Monate nach Chirurgie); (Kontrolle: ○, Test: ■).

4 Diskussion

In dieser Zwei-Center-Studie wurde die Effektivität einer 4% doxycyclinhaltigen Poly(DL-Lactid)-Membran in Kombination mit einem autogenen Knochentransplantat bezüglich klinischer und mikrobiologischer Parameter an Patienten mit einem parodontalen intraossären Defekt untersucht. Obwohl die Membran in Kombination mit einem autogenen Knochentransplantat eine Tendenz zu mehr Alveolarknochengewinn zeigte, war dieser Unterschied zwischen beiden Behandlungsverfahren nicht signifikant. Bei weiterführender Analyse der Ergebnisse konnte jedoch festgestellt werden, dass Raucher bei Behandlung mit dieser Membran in Kombination mit einem autogenen Knochentransplantat signifikant bessere Ergebnisse erzielten als Raucher, die die alleinige Zugangslappen-Operation erhielten.

4.1 Rauchen

Es besteht eine hohe Evidenz, dass Umweltfaktoren, wie der Zigarettenkonsum, mit dem Schweregrad der Parodontitis in Zusammenhang stehen. Rauchen ist ein modifizierender Risikofaktor für die Parodontitis (Odds Ratios zwischen 2 - 7) [55]. Zusätzlich weisen Raucher nach nichtchirurgischer Parodontitistherapie schlechtere Ergebnisse auf als Nichtraucher [42]. Ähnliche Beobachtungen konnten bei parodontalchirurgischen Therapien gemacht werden. Hier zeigten Raucher weniger Attachmentgewinne als Nichtraucher und eine geringere Reduktion der Taschensondierungstiefen [10; 83]. In der regenerativen Parodontalchirurgie wurde ebenfalls ein deutlich geringerer Knochengewinn bei Rauchern verzeichnet als bei Nichtrauchern [25; 93]. So zeigten rauchende Patienten nach Behandlung intraossärer Defekte mittels gesteuerter Geweberegeneration mit einer bioresorbierbaren Membran durchschnittlich 2 mm weniger Knochengewinn als nicht rauchende Patienten [25]. Die genauen Mechanismen, wie Rauchen auf das Therapieergebnis Einfluss nimmt, sind noch nicht vollständig geklärt, einige Mechanismen wurden aber bereits untersucht. Eine der Wirkungen des Rauchens betrifft beispielsweise die periphere Blutversorgung, die als Folge der durch das Nikotin verursachten Vasokonstriktion und damit reduzierten Sauerstoffversorgung und Metabolismus durch Kohlenmonoxyd reduziert ist [90]. Ebenso werden verschiedene Zelltypen beeinflusst, wie beispielsweise Fibroblasten, die in Abhängigkeit der Nikotinkonzentration in vitro eine verminderte Fähigkeit zur Adhärenz und eine verminderte Proliferation zeigen [35]. Neben reduziertem IgA- und IgG-Antikörpertiter in Speichel und Serum, weisen Raucher auch eine geringere Chemotaxis- und Phagozytoseaktivität der Granulozyten und Monozyten auf [52]. Außerdem sind neben einer vermehrten Kollagenasebildung [95] auch erniedrigte Werte der Serumproteaseinhibitoren α -1-Antitrypsin und α -2-Makroglobulin in der Gingivalflüssigkeit an parodontal geschädigten Zähnen bei Rauchern beobachtet worden [43; 75]. In einem

Rattenmodell verursachte Zigarettenrauchen zusätzlich erhöhte MMP 2-Werte und Aktivität in den gingivalen Geweben [13]. Bei aktiven Rauchern war die Antwort auf MMP 8-Werte in der Gingivalsulkusflüssigkeit nach der chirurgischen Therapie schwach, während bei den Nichtrauchern ein Abfall der MMP-8 Werte beobachtet werden konnte [74]. Diese genannten Mechanismen lassen vermuten, dass durch die Rauchinhaltsstoffe der Regenerationsprozess am Parodontium an zahlreichen Stellen gestört wird. Die unveränderten MMP-8 Werte beispielsweise könnten bei Rauchern eine Ursache für die schlechteren Ergebnisse sein.

In der vorliegenden Untersuchung haben die Raucher überraschenderweise in der Testgruppe sehr gut auf die Therapie angesprochen. Das Ausmaß an Knochengewinn bei Rauchern der Testgruppe ($2,43 \pm 1,01$ mm) war nahezu das gleiche wie bei den Nichtrauchern der Test- ($2,64 \pm 0,75$ mm) und Kontrollgruppe ($2,25 \pm 1,65$ mm). Diese Ergebnisse zeigen, dass die kontrollierte Abgabe von lokal appliziertem Doxycyclin möglicherweise den negativen Effekt des Rauchens in der frühen Heilungsphase abmildert.

In verschiedenen Studien konnte nachgewiesen werden, dass lokal applizierte Antibiotika diesen durch das Rauchen ausgelösten Mechanismen entgegenwirkten. Diese Untersuchungen haben gezeigt, dass z.B. Doxycyclin und andere chemisch modifizierte Tetracycline auch nicht-antimikrobielle Eigenschaften besitzen, wie zum Beispiel gewebezerstörenden Enzymen entgegenzuwirken, dazu zählen beispielsweise Kollagenasen, Matrixmetalloproteinasen, wie das MMP 8 und Elastasen [38; 41; 57]. In einer Tierstudie konnte gezeigt werden, dass die Einnahme von niedrig dosiertem Doxycyclin eine Reduktion der Knochenresorption bewirkte [5; 76]. In einer letztlich veröffentlichten Untersuchung wurde nachgewiesen, dass die Anwendung von lokal appliziertem Doxycyclingel die parodontale Wundheilung bei Rauchern nach einer nichtchirurgischen Parodontitistherapie deutlich verbessert [96]. In einer anderen Arbeit scheint nach systemischer Gabe von niedrig dosiertem Doxycyclin die lokale Knochenresorption reduziert [33]. Die Ergebnisse dieser Studie lassen vermuten, dass die Atrisorb D[®] Free Flow Membran die parodontale Wundheilung bei Rauchern verbessert und daher ein sinnvolles Instrument für diese Patientengruppe darstellt.

4.2 Antimikrobielle Therapie

Zahlreiche Untersuchungen haben gezeigt, dass die Ergebnisse nach regenerativer Parodontalchirurgie stark durch die Infektion mit parodontalpathogenen Keimen, wie *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* und *Prevotella intermedia*, beeinflusst werden [17; 25; 62]. Durch eine frühe Rekolonisation der Membran mit parodontalpathogenen Keimen konnten beim Einsatz von ePTFE-Membranen nur geringere Attachmentgewinne erzielt werden als bei verzögerter Wiederbesiedlung [71].

Nicht nur tiefe parodontale Defekte dienen als Reservoir für parodontalpathogene Keime, sondern auch extrakrevikuläre Anteile, wie Zunge, Tonsillen und die Wangenschleimhaut, sind

ökologische Nischen, von denen eine Rekolonisation eines Alveolarknochendefektes ausgehen kann. In einer Untersuchung konnte beispielsweise gezeigt werden, dass die Häufigkeit der frühen subgingivalen Rekolonisation durch *Porphyromonas gingivalis* korreliert war mit der subgingivalen Präsenz an anderen Zähnen [87]. In einer anderen Arbeit konnte dokumentiert werden, dass eine persistierende subgingivale Infektion mit *Porphyromonas gingivalis* einen Trend zu weniger Alveolarknochengewinn zeigte im Gegensatz zu Stellen, an denen dieser Keim nicht oder nur in geringen Mengen nachgewiesen werden konnte [25].

Um die Rekolonisation nach GTR zu verzögern, wurden in der hier vorliegenden Studie - wie von Nowzari et al. 1996 [70] vorgeschlagen - zunächst alle Stellen, an denen eine resektive parodontalchirurgische Therapie indiziert war, behandelt. Zusätzlich wurde an allen Taschen, die Taschensondierungstiefen von 5 mm und mehr aufwiesen, eine lokale antibiotische Behandlung mit Atridox[®] durchgeführt, um eine größtmögliche Keimreduktion zu erzielen. In einer Untersuchung bei der Chlorhexidin-Chips als antiinfektiöse Therapie in alle Taschen, die Taschensondierungstiefen von 5 mm und mehr aufwiesen, eingebracht wurden konnte ein signifikanter Knochengewinn radiologisch im Gegensatz zu der mit Placebo-Chips behandelten Gruppe nachgewiesen werden [80]. Bei der topischen Anwendung von Doxycyclin zeigte sich in vertikalen Defekten eine Reduktion der Prävalenz von *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticola* für mindestens drei Monate [79], wobei insbesondere Raucher von dieser zusätzlichen Therapie profitieren [61].

In der vorliegenden Untersuchung hat die Anwendung von Atridox[®] zu einer Reduktion der Prävalenz und einer geringen Keimzahl in der frühen Heilungsphase geführt. Im weiteren Verlauf zeigte sich jedoch ein Anstieg der Bakterienprävalenz über das Ausgangsniveau hinaus nach sechs und zwölf Monaten nach regenerativer Chirurgie. Ein ähnliches Phänomen konnte in einer anderen Studie festgestellt werden, bei der nach mechanischer Therapie systemische Antibiotika verabreicht wurden. Auch hier gelang nur eine kurzzeitige Unterdrückung der meisten Keime und keine anhaltende Änderung der Keimprävalenz [24]. Obwohl also in der hier vorliegenden Untersuchung ein sehr strenges antiinfektiöses Regime vor der regenerativen Chirurgie durchgeführt wurde und es auch temporär zur Unterdrückung der parodontalpathogenen Keime unterhalb der Nachweisgrenze kam, konnte dennoch keine Elimination einzelner Keime erzielt werden.

4.3 Vergleich mit anderen Untersuchungen

Der Vergleich dieser Untersuchung mit anderen Studien ist aufgrund der sehr unterschiedlichen Studienprotokolle und der unterschiedlichen Zielparameter erschwert. Beim Vergleich des Zielparameters Alveolarknochengewinn fanden sich nur drei Arbeiten. Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie lagen dabei mit einem Alveolarknochengewinn von 2,4 mm bei den Rauchern und 2,6 mm bei den Nichtrauchern unter den Ergebnissen der Studie von Falk et al.

1997 (3,2 mm, nur Nichtraucher, Ermittlung des Alveolarknochengewinns anhand von Röntgenbildern), aber über den Alveolarknochengewinnen von Joly et al. 2002 mit 1,6 mm (nur Nichtraucher) und Mayfield et al. 1998 mit 0,1 mm für Raucher und 0,9 mm für Nichtraucher. [27; 48; 64] (Tab. 5). Die in der vorliegenden Studie gefundenen Ergebnisse der Attachmentgewinne fallen im Vergleich zu den Ergebnissen anderer Untersuchungen (Tab. 5) etwas geringer aus. Hierfür können verschiedene Ursachen verantwortlich sein.

Defektmorphologie

Eine Erklärung für die niedrigeren Attachmentgewinne könnte die Auswahl der Defekte gewesen sein. Die Defektmorphologie scheint beispielsweise einen Einfluss auf das Regenerationspotential zu haben [81; 100]. Dabei spielen die Defektwandigkeit, die Defekttiefe und die Defektweite eine Rolle. Bei mehrwandigen tiefen Defekten müssen die für die Regeneration verantwortlichen Zellen aus Zement, Desmodont und Alveolarknochen geringere Strecken überwinden, um in den Defekt zu proliferieren, während bei einwandigen Defekten die Distanzen häufig zu groß sind. In der hier vorliegenden Untersuchung sind fast 60% der Defekte ein- bis zweiwandig und nur 40% zwei- bis dreiwandig, während beispielsweise in der Studie von Falk et al. 70% der Defekte zwei- bis dreiwandig waren [27].

Auch Tonetti beschrieb in seinen Untersuchungen, dass die anfängliche Defekttiefe ausschlaggebend sei für den späteren Attachmentgewinn [98; 100; 101]. In der hier vorliegenden Untersuchung lagen anfängliche Taschensondierungswerte von 6,2 mm resp. 6,4 mm vor, während bei anderen hier aufgeführten Untersuchungen anfängliche Taschensondierungstiefen von 6,6 bis 8,6 mm vorlagen. Auch die Defekttiefen liegen im Vergleich zu den in dieser Studie vorliegenden Werten von 5,9 mm resp. 5,3 mm in den Studien von Cortellini et al. bei 7,2 mm und bei Mayfield et al. bei 6,9 resp. 6,6 mm [19; 64].

Zahntypen

Auffällig ist weiterhin die Auswahl der verwendeten Zahntypen. In dieser Studie wurden fast ebenso viele einwurzelige Zähne (54%) als Studienzähne ausgewählt wie mehrwurzelige (46%) im Gegensatz zu den anderen aufgeführten Untersuchungen, die fast ausschließlich einwurzelige Zähne verwendeten und ganz selten auch mesiale Defekte der ersten Molaren mit einbezogen. Bezüglich der größeren Attachmentgewinne in den anderen Studien spielt hier neben der einfacheren Zugänglichkeit auch die günstigere Anatomie der Wurzeln bei einwurzeligen Zähnen eine mögliche Rolle.

Erhaltungstherapie

Die Bedeutung der effektiven Plaquekontrolle in der Erhaltungstherapie zur Optimierung der Ergebnisse nach parodontalchirurgischen Eingriffen ist mehrfach gezeigt worden [17; 18; 107]. Die Patienten in dieser Untersuchung wurden vier Wochen nach dem regenerativen Eingriff nur

noch nach drei, sechs und zwölf Monaten zur unterstützenden Parodontitistherapie einbestellt, während bei Patienten in anderen hier aufgeführten Studien in den ersten 2 bis 3 Monaten wöchentlich und im weiteren Verlauf eine monatliche unterstützende Parodontitistherapie durchgeführt wurde [11; 16; 48; 78; 93]. Dies kann möglicherweise in der vorliegenden Arbeit zu einem Ansteigen der Plaquewerte geführt haben, die wiederum eine mögliche Erklärung für den Unterschied der Ergebnisse sein können. Aus Gründen der Praktikabilität und auch unter dem Gesichtspunkt der Anwendbarkeit unter Praxisbedingungen ist es jedoch fraglich, ob ein solch engmaschiges Regime - wie in den oben genannten Studien - realistisch durchzuführen ist.

Membran- und Augmentationsmaterialien

Eine weitere Erklärung könnte die hier verwendete Membran sein. Jedoch wurde beispielsweise in der Studie von Rosen et al. die gleiche Membran verwendet [84], die vergleichbare Ergebnisse erreichte wie andere hier aufgeführte Untersuchungen (Tab. 5). Im Gegensatz zu der hier vorliegenden Untersuchung, bei der die Membran 4 % Doxycyclin enthielt, wurde in der Arbeit von Rosen lokal Tetracyclin zugegeben und statt des autogenen Knochens aus der Nähe des Defektes wurden DFDBA (decalcified freeze dried bone allograft, gefriergetrockneter demineralisierter allogener Knochen) und Calcium-Sulfat als Defektfüllmaterial verwendet.

Beide Füllmaterialien, DFDBA und autogener Knochen, besitzen osteokonduktive und osteoinduktive Eigenschaften, das heißt sie sind in der Lage die Differenzierung undifferenzierter Zellen in Osteoblasten zu unterstützen und gleichzeitig als Gerüst für aus der Peripherie einwachsende Knochenzellen zu dienen. Es liegen nur wenige Studien vor, in denen Lappenoperationen allein im Vergleich mit zusätzlichen autogenen Knochen untersucht wurden. Diese konnten relevante Alveolarknochen- und Attachmentgewinne nachweisen [12; 82]. Studien, die einen Vergleich zur Membranbehandlung allein zeigen, liegen für autogenen Knochen nicht vor. Die Behandlung intraossärer Knochendefekte mit DFDBA im Vergleich mit Lappenoperationen allein zeigte ebenfalls klinisch relevante Knochenauffüllungen [7; 31]. Die Behandlung mit DFDBA in Kombination mit einer Membran im Vergleich zu einer Membran allein zeigte bessere Ergebnisse - wie in einer Übersichtsarbeit dargestellt werden konnte [68]. Bei der Anwendung von DFDBA besteht jedoch im Gegensatz zu autogenem Knochen die Gefahr, Infektionserkrankungen zu übertragen und Allergien auszulösen, wenn die Gefahr auch als sehr gering eingestuft werden kann.

Weitere Knochenersatzmaterialien, wie xenogene Materialien finden häufig Anwendung, z.B. auch in der Untersuchung von Tonetti et al. [97]. Das in dieser Studie verwendete Material stammt von Rindern. Auch hier besteht die Gefahr, Infektionen zu übertragen. Außerdem haben diese Materialien im Gegensatz zum autogenen Knochen und dem DFDBA nur osteokonduktive Eigenschaften.

Insgesamt ist ein direkter Vergleich der vorliegenden Untersuchung mit anderen Studien jedoch erschwert, da in den meisten anderen Untersuchungen kein postoperativer

Alveolarknochengewinn angegeben wird, sondern nur Attachmentgewinne gezeigt werden. Da die Messungen zum Loten des Alveolarknochenniveaus aufgrund der möglichen Schmerzsymptomatik für den Patienten unter Lokalanästhesie durchgeführt werden müssen, wird in vielen Untersuchungen darauf verzichtet. Dennoch zeichnet sich die Messung des Alveolarknochenniveaus durch eine gute Reproduzierbarkeit aus [25] und der knöcherne Widerstand bildet bei der Alveolarknochenniveaumessung unter Lokalanästhesie einen verlässlicheren Messpunkt als der Weichgewebefundus bei der Attachmentniveaumessung.

Autor	Therapie	Bemerkung	Knochen- gewinn (mm)		Attachment- gewinn (mm)	
			Test	Kontr	Test	Kontr
Falk et al. 1997	Polylaktid	Nichtraucher	3,2	-	4,8	-
Stavropoulos et al. 2004	Polylaktid	Raucher	-	-	3,2	-
		Nichtraucher	-	-	4,3	-
Cortellini et al.1998	Polylactid	Nichtraucher	-	-	3,0	1,6
Tonetti et al. 2004	Kollagen + Knochenersatz	Nichtraucher	-	-	3,3	2,5
Tonetti et al. 1998	Poly(DL-Lactid) Co Glycolid	Nichtraucher	-	-	3,0	2,2
Cortellini et al.1996	Poly(DL-Lactid) Co Glycolid	wenig	-	-	4,6	2,3
		Raucher	-	-	4,1	-
Rosen et al. 1999	Poly(DL-Lactid) DFDBA,Ca-Sulfat Tetracyclin		-	-	4,1	-
Joly et al. 2002	Poly(DL-Lactid) Co Glycolid	Nichtraucher	1,6	0,67	2,4	1,65
Bratthall et al. 1998	Poly(DL-Lactid) Co Glycolid	NR + R	-	-	2,0	1,9
Mayfield et al. 1998	Polylactid	Raucher	0,1	0,1	0,8	0,9
		Nichtraucher	0,9	1,4	1,9	1,8
Ratka-Krüger et al. 2000	Polylactid	Raucher	-	-	2,5	3,3
		Nichtraucher	-	-	3,3	
vorliegende Studie 2005	Poly(DL-Lactid) +4%Doxycyclin+ autog. Knochen	Raucher	2,4	0,8	1,3	0,6
		Nichtraucher	2,6	2,3	2,0	1,8

Tabelle 8: Vergleich mit anderen Untersuchungen (NR – Nichtraucher, R – Raucher)

4.4 Schlussfolgerung

Die Therapie intraossärer, parodontaler Alveolarknochendefekte mit der In-situ-Technik einer selbstaushärtenden Poly(DL-Lactid)-Membran, die 4 % Doxycyclin enthält, in Kombination mit autogenem Knochen zeigte nach 12 Monaten klinisch relevante Alveolarknochengewinne. Es konnte signifikant häufiger Alveolarknochengewinn festgestellt werden als bei der Zugangslappen-Operation alleine, jedoch zeigte die mittlere Veränderung des Alveolarknochengewinns zwischen den beiden Behandlungsmethoden keine statistische Signifikanz. Es bestand jedoch ein Trend, dass Patienten der Testgruppe mehr Alveolarknochengewinne und häufiger Gewinne von ≥ 2 mm zeigten. Beachtenswert war jedoch, dass insbesondere die Raucher, die mit autogenem Knochentransplantat in Kombination mit der Atrisorb D[®]-Membran behandelt wurden, die gleichen Knochengewinne aufweisen konnten wie Nichtraucher und signifikant bessere Ergebnisse zeigten als Raucher, die nur die Lappenoperation bekommen hatten. Diese Ergebnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass Alveolarknochengewinne durch die angewendete präoperative antimikrobielle Therapie und die Behandlung mit der Membran in Kombination mit einem autogenen Knochentransplantat unterstützt werden. Raucher profitieren hiervon in klinisch relevantem Maß. Bei Nichtrauchern muss der Nutzen der Membrantechnik gegenüber der alleinigen Zugangslappen-Operation kritisch beurteilt werden.

5 Zusammenfassung

Die Gewebsgewinne nach Behandlung intraossärer Alveolarknochendefekte mit der gesteuerten Geweberegeneration weisen bei Rauchern und beim Vorliegen hoher Keimzahlen parodontalpathogener Bakterien eine große Ergebnisvariabilität auf. Eine verbesserte antimikrobielle Therapie könnte diese Variabilität verringern. Das Ziel dieser Untersuchung war es, die klinische Wirksamkeit der doxycyclinhaltigen (4%) Poly(DL-Lactid)-Membran in Kombination mit einem autogenen Knochentransplantat (Test) bei der Behandlung intraossärer, parodontaler Defekte gegenüber einer alleinigen Lappenoperation (Kontrolle) zu bewerten. Insgesamt nahmen 51 Patienten mit Parodontitis, die einen Knochendefekt mit einer radiologischen Tiefe von ≥ 4 mm zeigten, an der Untersuchung teil. Bei jedem Patienten wurde nach supra- und subgingivalem Debridement aller Zähne und nach Applikation eines lokalen Doxycyclinhyalats die Test- oder Kontrollbehandlung durchgeführt. Klinische Messungen und die Entnahme subgingivaler Plaqueproben wurden unmittelbar vor, während und sechs sowie zwölf Monate nach der regenerativen Chirurgie durchgeführt. Der Hauptzielparameter war der klinische Alveolarknochengewinn. Die 48 Patienten (Testgruppe $n = 23$: $2,58 \pm 0,81$ mm, vs. Kontrollgruppe $n = 25$: $1,91 \pm 1,61$ mm), die die Untersuchung abschlossen, zeigten nach 12 Monaten klinisch relevante Alveolarknochengewinne und signifikante Veränderungen innerhalb der Gruppen. Die Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen waren jedoch nicht signifikant. Es bestand jedoch ein Trend, dass Patienten der Testgruppe mehr Alveolarknochengewinne und häufiger Gewinne von ≥ 2 mm zeigten. Insbesondere die Raucher in der Testgruppe erzielten die gleichen Alveolarknochengewinne wie Nichtraucher und zeigten signifikant bessere Ergebnisse als Raucher, die nur die Lappenoperation bekommen hatten ($p < 0,05$). Diese Ergebnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass Alveolarknochengewinne durch die angewendete präoperative antimikrobielle Therapie und die Behandlung mit Membran/Knochentransplantat unterstützt werden. Raucher profitieren hiervon in klinisch relevantem Maß. Bei Nichtrauchern muss der Nutzen der Membrantechnik gegenüber der alleinigen Zugangslappen-Operation kritisch beurteilt werden.

6 Literatur

1. Ainamo, J. & Bay, I. (1975). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*, **25**, 229-235.
2. Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*, **4**, 1-6.
3. Ashimoto, A., Chen, C., Bakker, I. & Slots, J. (1996). Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol*, **11**, 266-273.
4. Bassler, B. L. (1999). How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr Opin Microbiol*, **2**, 582-587.
5. Bezerra, M. M., Brito, G. A., Ribeiro, R. A. & Rocha, F. A. (2002). Low-dose doxycycline prevents inflammatory bone resorption in rats. *Braz J Med Biol Res*, **35**, 613-616.
6. Bland, J. M. & Altman, D. G. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, **1**, 307-310.
7. Blumenthal, N. & Steinberg, J. (1990). The use of collagen membrane barriers in conjunction with combined demineralized bone-collagen gel implants in human infrabony defects. *J Periodontol*, **61**, 319-327.
8. Bodinka, A., Schmidt, H., Henkel, B., Flemmig, T. F., Klaiber, B. & Karch, H. (1994). Polymerase chain reaction for the identification of Porphyromonas gingivalis collagenase genes. *Oral Microbiol Immunol*, **9**, 161-165.
9. Bollen, C. M., Vandekerckhove, B. N., Papaioannou, W., Van Eldere, J. & Quirynen, M. (1996). Full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections. A pilot study: long-term microbiological observations. *J Clin Periodontol*, **23**, 960-970.
10. Bostrom, L., Linder, L. E. & Bergstrom, J. (1998). Influence of smoking on the outcome of periodontal surgery. A 5-year follow-up. *J Clin Periodontol*, **25**, 194-201.
11. Bratthall, G., Soderholm, G., Neiderud, A. M., Kullendorff, B., Edwardsson, S. & Attstrom, R. (1998). Guided tissue regeneration in the treatment of human infrabony defects. Clinical, radiographical and microbiological results: a pilot study. *J Clin Periodontol*, **25**, 908-914.
12. Carraro, J. J., Sznajder, N. & Alonso, C. A. (1976). Intraoral cancellous bone autografts in the treatment of infrabony pockets. *J Clin Periodontol*, **3**, 104-109.
13. Cesar-Neto, J. B., de Souza, A. P., Barbieri, D., Moreno, H. J., Sallum, E. A. & Nociti, F. H. J. (2004). Matrix metalloproteinase-2 may be involved with increased bone loss associated with experimental periodontitis and smoking: a study in rats. *J Periodontol*, **75**, 995-1000.

14. Cohen, E. S. (1993). *Atlas of cosmetic and reconstructive periodontal surgery*. second edition: Lea & Febiger.
15. Conrads, G., Flemmig, T. F., Seyfarth, I., Lampert, F. & Lutticken, R. (1999). Simultaneous detection of *Bacteroides forsythus* and *Prevotella intermedia* by 16S rRNA gene-directed multiplex PCR. *J Clin Microbiol*, **37**, 1621-1624.
16. Cortellini, P., Carnevale, G., Sanz, M. & Tonetti, M. S. (1998). Treatment of deep and shallow intrabony defects. A multicenter randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*, **25**, 981-987.
17. Cortellini, P., Pini-Prato, G. & Tonetti, M. (1994). Periodontal regeneration of human intrabony defects (V). Effect of oral hygiene on long-term stability. *J Clin Periodontol*, **21**, 606-610.
18. Cortellini, P., Pini Prato, G. & Tonetti, M. S. (1993). Periodontal regeneration of human intrabony defects. I. Clinical measures. *J Periodontol*, **64**, 254-260.
19. Cortellini, P., Pini Prato, G. & Tonetti, M. S. (1996). Periodontal regeneration of human intrabony defects with bioresorbable membranes. A controlled clinical trial. *J Periodontol*, **67**, 217-223.
20. Costerton, J. W. (1999). Introduction to biofilm. *Int J Antimicrob Agents*, **11**, 217-221; discussion 237-219.
21. Costerton, J. W., Stewart, P. S. & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, **284**, 1318-1322.
22. Darveau, R. P., Tanner, A. & Page, R. C. (1997). The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000*, **14**, 12-32.
23. Demolon, I. A., Persson, G. R., Moncla, B. J., Johnson, R. H. & Ammons, W. F. (1993). Effects of antibiotic treatment on clinical conditions and bacterial growth with guided tissue regeneration. *J Periodontol*, **64**, 609-616.
24. Ehmke, B., Moter, A., Beikler, T., Milian, E. & Flemmig, T. F. (2005). Adjunctive antimicrobial therapy of periodontitis: long-term effects on disease progression and oral colonization. *J Periodontol*, **76**, 749-759.
25. Ehmke, B., Rudiger, S. G., Hommens, A., Karch, H. & Flemmig, T. F. (2003). Guided tissue regeneration using a polylactic acid barrier. *J Clin Periodontol*, **30**, 368-374.
26. Ellegaard, B. & Loe, H. (1971). New attachment of periodontal tissues after treatment of intrabony lesions. *J Periodontol*, **42**, 648-652.
27. Falk, H., Laurell, L., Ravald, N., Teiwik, A. & Persson, R. (1997). Guided tissue regeneration therapy of 203 consecutively treated intrabony defects using a bioabsorbable matrix barrier. Clinical and radiographic findings. *J Periodontol*, **68**, 571-581.
28. Flemmig, T. F. (1993). *Parodontologie - ein Kompendium*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
29. Flemmig, T. F. (1999). Chirurgische Therapie marginaler Parodontopathien. *Dtsch Zahnärztl Z*, **54**, 360-365.
30. Flemmig, T. F. (1999). Periodontitis. *Ann Periodontol*, **4**, 32-38.

31. Flemmig, T. F., Ehmke, B., Bolz, K., Kubler, N. R., Karch, H., Reuther, J. F. & Klaiber, B. (1998). Long-term maintenance of alveolar bone gain after implantation of autolyzed, antigen-extracted, allogenic bone in periodontal intraosseous defects. *J Periodontol*, **69**, 47-53.
32. Flemmig, T. F., Rudiger, S., Hofmann, U., Schmidt, H., Plaschke, B., Stratz, A., Klaiber, B. & Karch, H. (1995). Identification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival plaque by PCR. *J Clin Microbiol*, **33**, 3102-3105.
33. Gapski, R., Barr, J. L., Sarment, D. P., Layher, M. G., Socransky, S. S. & Giannobile, W. V. (2004). Effect of systemic matrix metalloproteinase inhibition on periodontal wound repair: a proof of concept trial. *J Periodontol*, **75**, 441-452.
34. Garrett, S., Adams, D. F., Bogle, G., Donly, K., Drisko, C. H., Hallmon, W. W., Hancock, E. B., Hanes, P., Hawley, C. E., Johnson, L., Kiger, R., Killoy, W., Mellonig, J. T., Raab, F. J., Ryder, M., Stoller, N., Polson, A., Wang, H. L., Wolinsky, L. E., Yukna, R. A., Harrold, C. Q., Hill, M., Johnson, V. B. & Soouthard, G. L. (2000). The effect of locally delivered controlled-release doxycycline or scaling and root planing on periodontal maintenance patients over 9 months. *J Periodontol*, **71**, 22-30.
35. Giannopoulou, C., Geinoz, A. & Cimasoni, G. (1999). Effects of nicotine on periodontal ligament fibroblasts in vitro. *J Clin Periodontol*, **26**, 49-55.
36. Giargia, M. & Lindhe, J. (1997). Tooth mobility and periodontal disease. *J Clin Periodontol*, **24**, 785-795.
37. Goldman, H. M. & Cohen, D. W. (1958). The infrabony pocket: classification and treatment. *J Periodontol*, **29**, 272.
38. Golub, L. M., Sorsa, T., Lee, H. M., Ciancio, S., Sorbi, D., Ramamurthy, N. S., Gruber, B., Salo, T. & Konttinen, Y. T. (1995). Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva. *J Clin Periodontol*, **22**, 100-109.
39. Goto, T., Nagamune, H., Miyazaki, A., Kawamura, Y., Ohnishi, O., Hattori, K., Ohkura, K., Miyamoto, K., Akimoto, S., Ezaki, T., Hirota, K., Miyake, Y., Maeda, T. & Kourai, H. (2002). Rapid identification of *Streptococcus intermedius* by PCR with the *ily* gene as a species marker gene. *J Med Microbiol*, **51**, 178-186.
40. Green, L. W., W.W., T., Marks, B. & Huryn, J. (1986). Periodontal disease as a function of life events stress. *J Human Stress*, **12**, 32-36.
41. Grenier, D., Plamondon, P., Sorsa, T., Lee, H. M., McNamara, T., Ramamurthy, N. S., Golub, L. M., Teronen, O. & Mayrand, D. (2002). Inhibition of proteolytic, serpinolytic, and progelatinase-b activation activities of periodontopathogens by doxycycline and the non-antimicrobial chemically modified tetracycline derivatives. *J Periodontol*, **73**, 79-85.
42. Grossi, S. G., Zambon, J., Machtei, E. E., Schifferle, R., Andreana, S., Genco, R. J., Cummins, D. & Harrap, G. (1997). Effects of smoking and smoking cessation on healing after mechanical periodontal therapy. *J Am Dent Assoc*, **128**, 599-607.

43. Gustafsson, A., Asman, B. & Bergstrom, K. (1994). Altered relation between granulocyte elastase and alpha-2-macroglobulin in gingival crevicular fluid from sites with periodontal destruction. *J Clin Periodontol*, **21**, 17-21.
44. Haffajee, A. D. & Socransky, S. S. (1994). Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000*, **5**, 78-111.
45. Hamp, S. E., Nyman, S. & Lindhe, J. (1975). Periodontal treatment of multirooted teeth. Results after 5 years. *J Clin Periodontol*, **2**, 126-135.
46. Hiatt, W. & Schallhorn, R. (1973). Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesions. *J Periodontol.*, **44**, 194-208.
47. Hung, J., Lin, C. H., Wang, J. D. & Chan, C. C. (2006). Exhaled carbon monoxide level as an indicator of cigarette consumption in a workplace cessation program in Taiwan. *J Formos Med Assoc*, **105**, 210-213.
48. Joly, J. C., Palioto, D. B., de Lima, A. F., Mota, L. F. & Caffesse, R. (2002). Clinical and radiographic evaluation of periodontal intrabony defects treated with guided tissue regeneration. A pilot study. *J Periodontol*, **73**, 353-359.
49. Kaldahl, W. B., Kalkwarf, K. L., Patil, K. D., Dyer, J. K. & Bates, R. E., Jr. (1988). Evaluation of four modalities of periodontal therapy. Mean probing depth, probing attachment level and recession changes. *J Periodontol*, **59**, 783-793.
50. Kaldahl, W. B., Kalkwarf, K. L., Patil, K. D., Molvar, M. P. & Dyer, J. K. (1996). Long-term evaluation of periodontal therapy: I. Response to 4 therapeutic modalities. *J Periodontol*, **67**, 93-102.
51. Kato, T., Takahashi, N. & Kuramitsu, H. K. (1992). Sequence analysis and characterization of the Porphyromonas gingivalis prtC gene, which expresses a novel collagenase activity. *J Bacteriol*, **174**, 3889-3895.
52. Kenney, E. B., Kraal, J. H., Saxe, S. R. & Jones, J. (1977). The effect of cigarette smoke on human oral polymorphonuclear leukocytes. *J Periodontal Res*, **12**, 227-234.
53. Killoy, W. J. (2002). The clinical significance of local chemotherapies. *J Clin Periodontol*, **29 Suppl 2**, 22-29.
54. Kim, C. K., Chai, J. K., Cho, K. S., Moon, I. S., Choi, S. H., Sottosanti, J. S. & Wikesjo, U. M. (1998). Periodontal repair in intrabony defects treated with a calcium sulfate implant and calcium sulfate barrier. *J Periodontol*, **69**, 1317-1324.
55. Kinane, D. F. & Chestnutt, I. G. (2000). Smoking and periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, **11**, 356-365.
56. Kolenbrander, P. E., Ganeshkumar, N., Cassels, F. J. & Hughes, C. V. (1993). Coaggregation: specific adherence among human oral plaque bacteria. *Faseb J*, **7**, 406-413.
57. Korostoff, J. M., Wang, J. F., Sarment, D. P., Stewart, J. C., Feldman, R. S. & Billings, P. C. (2000). Analysis of in situ protease activity in chronic adult periodontitis patients:

- expression of activated MMP-2 and a 40 kDa serine protease. *J Periodontol*, **71**, 353-360.
58. Laurell, L., Falk, H., Fornell, J., Johard, G. & Gottlow, J. (1994). Clinical use of a bioresorbable matrix barrier in guided tissue regeneration therapy. Case series. *J Periodontol*, **65**, 967-975.
59. Lindhe, J. & Nyman, S. (1975). The effect of plaque control and surgical pocket elimination on the establishment and maintenance of periodontal health. A longitudinal study of periodontal therapy in cases of advanced disease. *J Clin Periodontol*, **2**, 67-79.
60. Loe, H., Anerud, A., Boysen, H. & Morrison, E. (1986). Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol*, **13**, 431-445.
61. Machion, L., Andia, D. C., Saito, D., Klein, M. I., Goncalves, R. B., Casati, M. Z., Nociti, F. H., Jr. & Sallum, E. A. (2004). Microbiological changes with the use of locally delivered doxycycline in the periodontal treatment of smokers. *J Periodontol*, **75**, 1600-1604.
62. Machtei, E. E., Cho, M. I., Dunford, R., Norderyd, J., Zambon, J. J. & Genco, R. J. (1994). Clinical, microbiological, and histological factors which influence the success of regenerative periodontal therapy. *J Periodontol*, **65**, 154-161.
63. Manson, J. D. & Nicholson, K. (1974). The distribution of bone defects in chronic periodontitis. *J Periodontol*, **45**, 88-92.
64. Mayfield, L., Soderholm, G., Hallstrom, H., Kullendorff, B., Edwardsson, S., Bratthall, G., Bragger, U. & Attstrom, R. (1998). Guided tissue regeneration for the treatment of intraosseous defects using a biabsorbable membrane. A controlled clinical study. *J Clin Periodontol*, **25**, 585-595.
65. Mettraux, G. R., Gusberti, F. A. & Graf, H. (1984). Oxygen tension (pO₂) in untreated human periodontal pockets. *J Periodontol*, **55**, 516-521.
66. Mombelli, A., Lang, N. P. & Nyman, S. (1993). Isolation of periodontal species after guided tissue regeneration. *J Periodontol*, **64**, 1171-1175.
67. Mombelli, A., Nyman, S., Bragger, U., Wennstrom, J. & Lang, N. P. (1995). Clinical and microbiological changes associated with an altered subgingival environment induced by periodontal pocket reduction. *J Clin Periodontol*, **22**, 780-787.
68. Needleman, I. G., Giedrys-Leeper, E., Tucker, R. J. & Worthington, H. V. (2001). Guided tissue regeneration for periodontal infra-bony defects. *Cochrane Database Syst Rev*, CD001724.
69. Nørskov-Lauritsen, N. & Kilian, M. (2006). Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov., and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates. *Int J Syst Evol Microbiol.*, **56**, 2135-2146.

70. Nowzari, H., MacDonald, E. S., Flynn, J., London, R. M., Morrison, J. L. & Slots, J. (1996). The dynamics of microbial colonization of barrier membranes for guided tissue regeneration. *J Periodontol*, **67**, 694-702.
71. Nowzari, H. & Slots, J. (1994). Microorganisms in polytetrafluoroethylene barrier membranes for guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol*, **21**, 203-210.
72. O'Leary, T. J., Drake, R. B. & Naylor, J. E. (1972). The plaque control record. *J Periodontol*, **1**, 38.
73. Page, R. C., M., S. D. & Ammons, W. F. (1975). Host tissue response in chronic inflammatory periodontal disease IV. The periodontal and dental status of a group of aged great apes. *J Periodontol*, **46**, 144-155.
74. Persson, L., Bergstrom, J. & Gustafsson, A. (2003). Effect of tobacco smoking on neutrophil activity following periodontal surgery. *J Periodontol*, **74**, 1475-1482.
75. Persson, L., Bergstrom, J., Ito, H. & Gustafsson, A. (2001). Tobacco smoking and neutrophil activity in patients with periodontal disease. *J Periodontol*, **72**, 90-95.
76. Ramamurthy, N. S., Rifkin, B. R., Greenwald, R. A., Xu, J. W., Liu, Y., Turner, G., Golub, L. M. & Vernillo, A. T. (2002). Inhibition of matrix metalloproteinase-mediated periodontal bone loss in rats: a comparison of 6 chemically modified tetracyclines. *J Periodontol*, **73**, 726-734.
77. Rateitschak-Pluss, E. M., Schwarz, J. P., Guggenheim, R., Duggelin, M. & Rateitschak, K. H. (1992). Non-surgical periodontal treatment: where are the limits? An SEM study. *J Clin Periodontol*, **19**, 240-244.
78. Ratka-Kruger, P., Neukranz, E. & Raetzke, P. (2000). Guided tissue regeneration procedure with bioresorbable membranes versus conventional flap surgery in the treatment of infrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol*, **27**, 120-127.
79. Ratka-Kruger, P., Schacher, B., Burklin, T., Boddingtonhaus, B., Holle, R., Renggli, H. H., Eickholz, P. & Kim, T. S. (2005). Non-surgical periodontal therapy with adjunctive topical doxycycline: a double-masked, randomized, controlled multicenter study. II. Microbiological results. *J Periodontol*, **76**, 66-74.
80. Reddy, M. S., Jeffcoat, M. K., Geurs, N. C., Palcanis, K. G., Weatherford, T. W., Traxler, B. M. & Finkelman, R. D. (2003). Efficacy of controlled-release subgingival chlorhexidine to enhance periodontal regeneration. *J Periodontol*, **74**, 411-419.
81. Renvert, S., Garrett, S., Nilveus, R., Chamberlain, A. D. & Egelberg, J. (1985). Healing after treatment of periodontal intraosseous defects. VI. Factors influencing the healing response. *J Clin Periodontol*, **12**, 707-715.
82. Renvert, S., Garrett, S., Shallhorn, R. G. & Egelberg, J. (1985). Healing after treatment of periodontal intraosseous defects. III. Effect of osseous grafting and citric acid conditioning. *J Clin Periodontol*, **12**, 441-455.

83. Rosen, P. S., Marks, M. H. & Reynolds, M. A. (1996). Influence of smoking on long-term clinical results of intrabony defects treated with regenerative therapy. *J Periodontol*, **67**, 1159-1163.
84. Rosen, P. S. & Reynolds, M. A. (1999). Polymer-assisted regenerative therapy: case reports of 22 consecutively treated periodontal defects with a novel combined surgical approach. *J Periodontol*, **70**, 554-561.
85. Rosen, P. S., Reynolds, M. A. & Bowers, G. M. (1998). A technique report on the in situ application of Atrisorb as a barrier for combination therapy. *Int J Periodontics Restorative Dent*, **18**, 249-255.
86. Rosling, B., Nyman, S., Lindhe, J. & Jern, B. (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**, 233-250.
87. Rudiger, S. G., Ehmke, B., Hommens, A., Karch, H. & Flemmig, T. F. (2003). Guided tissue regeneration using a polylactic acid barrier. Part I: Environmental effects on bacterial colonization. *J Clin Periodontol*, **30**, 19-25.
88. Schenkein, H. A., Gunsolley, J. C., Koertge, T. E., Schenkein, J. G. & Tew, J. G. (1995). Smoking and its effects on early-onset periodontitis. *J Am Dent Assoc*, **126**, 1107-1113.
89. Seymour, G. J. & Greenspan, J. S. (1979). The phenotypic characterization of lymphocyte subpopulations in established human periodontal disease. *J Periodontol Res*, **14**, 39-46.
90. Silverstein, P. (1992). Smoking and wound healing. *Am J Med*, **93**, 22S-24S.
91. Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C. & Kent, R. L., Jr. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, **25**, 134-144.
92. Stambaugh, R. V., Dragoo, M., Smith, D. M. & Carasali, L. (1981). The limits of subgingival scaling. *Int J Periodontics Restorative Dent*, **1**, 30-41.
93. Stavropoulos, A., Mardas, N., Herrero, F. & Karring, T. (2004). Smoking affects the outcome of guided tissue regeneration with bioresorbable membranes: a retrospective analysis of intrabony defects. *J Clin Periodontol*, **31**, 945-950.
94. Syed, S. A. & Loesche, W. J. (1972). Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl Microbiol*, **24**, 638-644.
95. Tipton, D. A. & Dabbous, M. K. (1995). Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol*, **66**, 1056-1064.
96. Tomasi, C. & Wennstrom, J. L. (2004). Locally delivered doxycycline improves the healing following non-surgical periodontal therapy in smokers. *J Clin Periodontol*, **31**, 589-595.
97. Tonetti, M. S., Cortellini, P., Lang, N. P., Suvan, J. E., Adriaens, P., Dubravec, D., Fonzar, A., Fourmouis, I., Rasperini, G., Rossi, R., Silvestri, M., Topoll, H., Wallkamm, B. & Zybutz, M. (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**, 770-776.

98. Tonetti, M. S., Cortellini, P., Suvan, J. E., Adriaens, P., Baldi, C., Dubravec, D., Fonzar, A., Fourmouis, I., Magnani, C., Muller-Campanile, V., Patroni, S., Sanz, M., Vangsted, T., Zabalegui, I., Pini Prato, G. & Lang, N. P. (1998). Generalizability of the added benefits of guided tissue regeneration in the treatment of deep intrabony defects. Evaluation in a multi-center randomized controlled clinical trial. *J Periodontol*, **69**, 1183-1192.
99. Tonetti, M. S. & Mombelli, A. (1999). Early-onset periodontitis. *Ann Periodontol*, **4**, 39-53.
100. Tonetti, M. S., Pini-Prato, G. & Cortellini, P. (1993). Periodontal regeneration of human intrabony defects. IV. Determinants of healing response. *J Periodontol*, **64**, 934-940.
101. Tonetti, M. S., Prato, G. P. & Cortellini, P. (1996). Factors affecting the healing response of intrabony defects following guided tissue regeneration and access flap surgery. *J Clin Periodontol*, **23**, 548-556.
102. Updegrave, W. J. (1968). Right-angle dental radiography. *Dent Clin North Am*, 571-579.
103. Urist, M. R. (1965). Bone: formation by autoinduction. *Science*, **150**, 893-899.
104. Urist, M. R. & Mc, L. F. (1952). Osteogenetic potency and new-bone formation by induction in transplants to the anterior chamber of the eye. *J Bone Joint Surg Am*, **34-A**, 443-476.
105. Urist, M. R., Silverman, B. F., Buring, K., Dubuc, F. L. & Rosenberg, J. M. (1967). The bone induction principle. *Clin Orthop Relat Res*, **53**, 243-283.
106. Waerhaug, J. (1979). The angular bone defect and its relationship to trauma from occlusion and downgrowth of subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, **6**, 61-82.
107. Weigel, C., Bragger, U., Hammerle, C. H., Mombelli, A. & Lang, N. P. (1995). Maintenance of new attachment 1 and 4 years following guided tissue regeneration (GTR). *J Clin Periodontol*, **22**, 661-669.
108. Wikesjo, U. M. & Selvig, K. A. (1999). Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontol 2000*, **19**, 21-39.
109. Zambon, J. J. (1996). Periodontal diseases: microbial factors. *Ann Periodontol*, **1**, 879-925.

7 Danksagung

Herrn Prof. Flemmig danke ich sehr für die freundliche Überlassung des Themas und Realisierung der Studie, für die Unterstützung und die Erstellung des Zweitgutachtens.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Ehmke für die sehr gute Betreuung über die gesamte Dauer der Untersuchung und die Erstellung des Erstgutachtens.

Herrn Dr. Heinecke danke ich herzlich für die Betreuung bei der statistischen Auswertung der Untersuchungsergebnisse.

Herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Topoll für das Engagement bei der Durchführung der Studie.

Ferner möchte ich mich bei allen wissenschaftlichen Mitarbeitern und Angestellten aus der Poliklinik für Parodontologie und der Praxis Prof. Topoll bedanken, die an der Studie mitgewirkt haben.

Ebenfalls möchte ich mich bedanken bei Herrn R. Schmidt und Herrn PD Dr. Tibesku bei der Unterstützung in der Erstellung der Formatierung und des Literaturverzeichnisses.

8 Lebenslauf

Name:	Astrid Klocke	
Geburtsdatum:	25.01.1972	
Geburtsort:	Essen	
Staatsangehörigkeit:	deutsch	
Familienstand:	verheiratet	
Schulausbildung:	1978 – 1982	Grundschule Stiftsschule Essen
	1982 – 1991	Stadtwald-Gymnasium Essen
	1991	Abitur
Studium:	1991 -1997	Studium der Zahnmedizin Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
	1997	Approbation als Zahnärztin
Berufliche Tätigkeiten:	1997 – 2000	Weiterbildungsassistentin Mund-Kiefer- und Gesichtschirurgie St. Johannis-Stift Duisburg-Homberg
	2000	Gebietsbezeichnung Oralchirurgie
	2001 - 2004	Weiterbildungsassistentin Poliklinik für Parodontologie Universitätsklinik Münster
	2004	Fachzahnärztin Parodontologie
	2004 – 2005	freie Mitarbeiterin Praxis Dr. John Düsseldorf
	seit Sept. 2005	Entlastungsassistentin Gemeinschaftspraxis Dr. Bonsmann/ Dr. Diener, Düsseldorf
Düsseldorf, 18.01.2007		Astrid Klocke