

Aus der Klinik für Zahnärztliche Prothetik, Propädeutik und Werkstoffkunde
(Direktor: Prof. Dr. med. dent. Matthias Kern)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

„Gesteuerte Geweberegeneration durch den von Thrombozyten freigesetzten
Wachstumsfaktor PDGF (platelet-derived growth factor) in Kombination mit anderen
Regenerationsverfahren bei Furkationsdefekten Grad III im Tiermodell“

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
Lina Stapf geb. Bruchmann
aus Duisburg

Kiel 2022

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. dent. Dietmar Weng

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Ingo Springer

Tag der mündlichen Prüfung: 05. Juli 2023

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 03. Mai.2023

gez.: Prof. Dr. Hans – Jürgen Wenz
(Vorsitzender der Prüfungskommission)

Für meine Mutter

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
1. Einleitung	1
1.1. Parodontitis	2
1.1.1. Definition	2
1.1.2. Einteilung Furkationsbefall	2
1.1.3. Ursachen und ätiologische Faktoren	3
1.1.3.1. Oraler Biofilm	3
1.1.3.1.1. Pathogenität des oralen Biofilms	4
1.1.3.1.2. Phasen der Entstehung des oralen Biofilms	4
1.1.3.2. Abwehrreaktion	4
1.1.3.2.1. Zelluläre Immunabwehr	4
1.1.3.2.2. Humorale Immunabwehr	5
1.1.3.3. Gewebedestruktion / Knochenabbau	5
1.1.3.3.1. Tiefenwanderung des Saumeithels	6
1.1.3.3.2. Abbau des Bindegewebes des Parodontiums	6
1.1.3.3.3. Abbau des Alveolarknochens	6
1.1.3.4. Rolle der Wachstumsfaktoren bei parodontalpathogenen Reaktionen	6
1.2. Geweberegenerationskonzepte bei Grad II und Grad III Furkationsdefekten	7
1.2.1. Gesteuerte Geweberegeneration	7
1.2.1.1. Ziel	8
1.2.1.2. Ablauf der gesteuerten Geweberegeneration mittels Membrantechnik	8
1.2.1.3. GTR-Membranen	9
1.2.1.4. Schmelzmatrixproteine	10
1.2.2. Knochenersatzmaterial (KEM)	11
1.2.2.1. Autogenes / autologes Knochenersatzmaterial	11
1.2.2.2. Allogenes Knochenersatzmaterial	12

1.2.2.3.	Xenogenes Knochenersatzmaterial.....	12
1.2.2.4.	Alloplastisches Knochenersatzmaterial	12
1.2.3.	Wachstumsfaktoren	13
1.2.3.1.	PDGF	13
1.2.3.1.1.	Aufbau	14
1.2.3.1.2.	Funktion.....	14
1.2.3.2.	IGF-I	14
1.2.3.3.	TGF.....	14
1.2.3.4.	FGF.....	15
1.2.4.	Kombination regenerativer Behandlungsmethoden.....	15
1.3.	Ziel der Studie.....	16
2.	Material und Methoden.....	17
2.1.	Studiendesign	17
2.2.	Schaffung von Furkationsdefekten und die Anwendung von PDGF, bioresorbierbarer GTR-Membran und KEM	17
2.2.1.	Vorbehandlung	17
2.2.2.	Schaffung von Schlüsseloch- und horizontalen Furkationsdefekten.....	17
2.2.3.	Rekonstruktive Chirurgie und die Anwendung von PDGF, bioresorbierbaren GTR-Membranen und KEM	18
2.2.4.	Postoperative Behandlung.....	20
2.3.	Perfusion, Gewebeprobeherstellung und Färbung	20
2.4.	Histomorphometrische Analyse des Gewebes.....	20
2.4.1.	Digitalisierung	20
2.4.2.	Histomorphometrische Analyse / Bewertungsparameter.....	21
2.5.	Statistische Analyse.....	22
3.	Ergebnisse.....	23
3.1.	Klinische Ergebnisse	23
3.2.	Knochen.....	23

3.2.1.	Histologische Auswertung.....	23
3.2.1.1.	Knochengewebebildung durch Knochenersatzmaterialtherapie.....	24
3.2.2.	Statistische Auswertung.....	26
3.3.	Zelluläres Eigenfaserzement.....	29
3.3.1.	Histologische Auswertung.....	29
3.3.2.	Statistische Auswertung.....	30
3.4.	Bindegewebe	33
3.4.1.	Histologische Auswertung.....	33
3.4.2.	Statistische Auswertung.....	34
3.5.	Saumepithel	36
3.5.1.	Histologische Auswertung.....	36
3.5.2.	Statistische Auswertung.....	37
4.	Diskussion	40
4.1.	Diskussion der Materialien und Methoden	40
4.1.1.	Verwendung unterschiedlicher Defektkonfigurationen	41
4.1.2.	Verwendung der verschiedenen Therapieoptionen	42
4.1.3.	Auswahl der ermittelten Messparameter	44
4.2.	Diskussion der Ergebnisse	45
4.2.1.	Ergebnisse der unterschiedlichen Defektkonfigurationen verbunden mit den verschiedenen Therapieoptionen	45
4.2.2.	Diskussion der verschiedenen Gewebearten	46
4.2.2.1.	Knochen.....	46
4.2.2.2.	Zelluläres Eigenfaserzement.....	47
4.2.2.3.	Bindegewebe	47
4.2.2.4.	Saumepithel	48
4.3.	Schlussfolgerung.....	48
5.	Zusammenfassung.....	50
6.	Abstract.....	52

7. Literaturverzeichnis.....	54
8. Anhang.....	63
8.1. Datentabellen.....	63
8.2. Danksagung.....	65
8.3. Veröffentlichung.....	66

Abkürzungsverzeichnis

CO ₂	Kohlenstoffdioxid
DFDBA	Decalcified freeze dried bone allograft
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EMD	Enamel matrix derivatives
ePTFE	Expandiertem Polytetrafluorethylen
<i>FGF</i>	Fibroblast Growth Factor
GTR	Guided tissue regeneration
H ₂ O	Wasser
HA	Hydroxylapatit
Ig	Immunglobuline
IGF	Insulin-like Growth Factor
IL	Interleukin
KEM	Knochenersatzmaterial
LPS	Lipopolysaccharide
M	Molare Masse
MMP	Matrix-Metallo-Proteinasen
n	Natürliche Zahl
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
PGE ₂	Prostaglandin E2
PRP	Plättchenreiches Plasma
PTFE	Polytetrafluorethylen
PZR	Professionelle Zahnreinigung
TCP	Tricalciumphosphat
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tumornekrosefaktor
ZEZ	Zelluläres Eigenfaserzement

1. Einleitung

Die orale Gesundheit ist ein wichtiger Faktor, dessen Bedeutung noch oft unterschätzt wird. Eine der häufigsten Erkrankungen des Mundraumes ist die Parodontitis [12], die Erkrankung des gesamten Zahnhalteapparates. Diese wird seit einiger Zeit immer häufiger in Zusammenhang mit anderen systemischen Erkrankungen des Organismus in Verbindung gebracht [58]. So ist die erfolgreiche Parodontitisbehandlung nicht nur für die orale Gesundheit bedeutsam, vielmehr setzt diese oft den Grundstein für die Gesundheit des Gesamtorganismus [46]. Diese Erkenntnis zu Grunde gelegt, ist es wichtig, eine Parodontitis möglichst erfolgreich zu behandeln oder gar zu verhindern. Eine der größten Herausforderungen in der erfolgreichen Behandlung der Parodontitis ist es, den Verlust des knöchernen Gewebes des Zahnhalteapparates rückgängig zu machen. Da regenerative Therapien von diversen Faktoren abhängig sind [26], ist der Behandler gezwungen, eine geeignete Therapie aus einer Vielzahl therapeutischer Möglichkeiten auszuwählen. Bei Defekten mit geringen Verlustanteilen des Knochengewebes (Furkationsdefekte Grad I und II) führen unterschiedlichste therapeutische Ansätze zu positiven Ergebnissen [65, 93]. Jedoch zeigen die Behandlungen von großen Knochendefekten (Furkationsdefekte Grad III) im Wurzelbereich immer noch unbeständige, nicht vorhersagbare Ergebnisse [68]. Insbesondere der große Abstand zwischen den zu regenerierenden Bereichen und den verbliebenen parodontalen Ligamentzellen sowie die damit verbundene Freilegung des Furkationseingangs durch Weichgewebsrezessionen scheinen die Hauptprobleme für eine erfolgreiche regenerative Therapie zu sein [74]. Das optimale Ziel der klinischen Therapie parodontaler Knochendefekte ist die Regeneration, die Wiederherstellung des ursprünglichen Gewebes, einschließlich aller verloren gegangenen Strukturen wie Desmodont und Zement. Eine Auswahl regenerativer Verfahren in der Parodontologie sind z.B. Therapien mit autologem Knochen oder Knochenersatzmaterialien, die gesteuerte Geweberegeneration (**G**uided **T**issue **R**egeneration, kurz GTR), die Anwendung bioaktiver Wachstumsfaktoren und Matrixproteine. Verschiedenste regenerative Therapien können und werden gegenwärtig auch miteinander kombiniert. Voraussetzung für eine erfolgreiche Parodontitistherapie sind u.a. die Proliferation, die Differenzierung und die Migration von Zellen [90]. Dem Wachstumsfaktor platelet-derived growth factor (kurz PDGF) wird eine hohe Bedeutung im Zusammenhang mit der parodontalen Regeneration beigemessen, da er in der Lage ist, mesenchymale Vorläuferzellen zu rekrutieren [104].

1.1. Parodontitis

1.1.1. Definition

Parodontitis ist eine bakterielle, entzündliche Infektion, die zu einer weitgehenden Zerstörung aller Gewebearten des Zahnhalteapparates wie dem Alveolarknochen, dem Desmodont, der Gingiva und dem Wurzelzement führt [30].

1.1.2. Einteilung Furkationsbefall

Bei einem erheblichen Knochenabbau im Zuge einer fortschreitenden Parodontitis kommt es bei mehrwurzeligen Zähnen zu einer Freilegung der Wurzelgabelung (Furkation). Diese Freilegung wird im Allgemeinen horizontal begutachtet. Der horizontale Furkationsbefall wird zur Diagnosestellung sondiert und in 3 verschiedene Schweregrade nach Hamp, et al. [29] eingeteilt (Abb.1):

- ❖ F1: horizontale Sondierungstiefe < 3 mm = Grad I
- ❖ F2: horizontale Sondierungstiefe > 3 mm, jedoch keine Durchgängigkeit = Grad II
- ❖ F3: durchgängige Sondierung möglich = Grad III

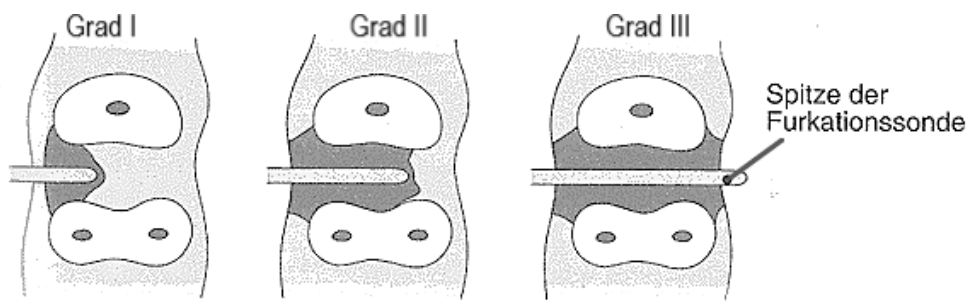


Abbildung 1: Furkationsbefall: Einteilung der horizontalen Schweregrade (umgezeichnet nach [33]).

Parodontaler Knochenabbau im Furkationsbereich kann zu weiterführenden Problemen bis hin zum Verlust eines Zahnes führen [55]. Bereits freiliegende Furkationen sind willkommene Prädilektionsstellen für die Ansiedlung von Bakterien der natürlichen Mundflora. „Exazerbationen, Abszesse, progressiver Verlauf des Knochenschwunds und schnelle Taschenvertiefung sind – besonders bei ganz durchgängigen Furkationen häufig. Darüber hinaus sind offene Furkationen besonders kariesanfällig“ [101].

Der Knochenwiederaufbau bei einem Furkationsdefekt Grad III ist von dem vertikalen Schweregrad der Furkation abhängig. Daher muss auch dieser beurteilt werden [72].

Der vertikale Knochenverlust wird in 3 Schweregrade nach Tarnow und Fletcher [97] eingeteilt:

- ❖ Unterklasse A: 0-3 mm tastbare Tiefe vom Furkationsdach aus.
- ❖ Unterklasse B: 4-6 mm tastbare Tiefe vom Furkationsdach aus.
- ❖ Unterklasse C: 7 mm oder mehr tastbare Tiefe vom Furkationsdach aus.

1.1.3. Ursachen und ätiologische Faktoren

Die Zerstörung des Gewebes des Zahnhalteapparats ist multikausal. Sie entsteht aus dem wechselseitigem Gegenspiel zwischen subgingival agierenden Bakterien, deren Stoffwechselprodukten und der darauffolgenden Immunantwort.

Schon König [42] sprach von einem ätiologischen Ursachenkomplex der entzündlichen Parodontalerkrankungen. Durch die gleichzeitige Wirkung von 4 Faktoren (bakterielle Plaque, Substrat für Bakterien, Häufigkeit und Dauer des Bakterienangriffs, Wirts- und Geweberesistenz) auf das parodontale Gewebe resultieren entzündliche Parodontalerkrankungen (Abb.2).

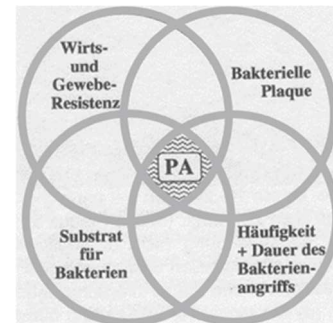


Abbildung 2: Ätiologischer Ursachenkomplex entzündlicher Parodontalerkrankungen (umgezeichnet nach [72]).

Der Beginn einer Parodontitis ist oft eine ortsständige bakterielle Besiedlung (oraler Biofilm), die über einen länger andauernden Zeitraum vorhanden ist. Ohne die Anwesenheit bestimmter, natürlicher oraler Bakterien gäbe es keine entzündlichen Erkrankungen des Parodontiums [83]. Doch aufgrund der hier beschriebenen Erkenntnisse ist allein die Anwesenheit der Bakterien nicht ursächlich für die Parodontitis. Die Bakterien müssen über einen bestimmten Zeitraum agieren können und das Individuum muss mit einer entsprechenden Abwehrreaktion auf den bakteriellen Angriff reagieren.

1.1.3.1. Oraler Biofilm

Als oraler Biofilm wird der Zahnbelag oder die Plaque bezeichnet, entstehend aus Bakterien, deren Stoffwechselprodukten, Nahrungsresten und Speichelbestandteilen [63]. Die Bildung des oralen Biofilms verläuft immer gleich ab. Nach einer bestimmten Dauer hat der orale Biofilm seine volle pathogene Potenz erreicht, diese kann zur Karies oder zu marginalen Entzündungen führen [72].

1.1.3.1.1. Pathogenität des oralen Biofilms

Doch nicht jeder Biofilm ist pathogen und somit ursächlich für eine Erkrankung der Mundhöhle [86]. Der Pathogenitätsgrad des Biofilms wird aus dessen Zusammensetzung bestimmt. Ein oraler Biofilm ist umso parodontalpathogener, je mehr anaerobe, bewegliche und gramnegative Erreger in der Mundflora vorhanden sind [72]. Je ausgereifter ein oraler Biofilm ist, desto größer ist der Anteil der beweglichen, gramnegativen Anaerobier.

1.1.3.1.2. Phasen der Entstehung des oralen Biofilms

Die Ausreifung des oralen Biofilms wird in Phasen unterteilt [63].

- I. Auf einer glatten und gereinigten Zahnfläche bildet sich auf natürliche Weise innerhalb von Minuten ein Pellikel. Dies entsteht durch die Adsorption von Glykoproteinen des Speichels.
- II. Als nächstes folgt eine Adhäsion einiger weniger Bakterien aus der Mundflora an das Pellikel, so dass die bakterielle Zellschicht des Zahnes entsteht.
- III. Es kommt anschließend zu einem Dickenwachstum des oralen Biofilms mit Bakterienvermehrung sowie einer Veränderung der bakteriellen Besiedlung. In der Tiefe des oralen Biofilms herrschen nun anaerobe Bedingungen.
- IV. Nach einigen Tagen hat sich ein reifer oraler Biofilm entwickelt.
- V. Der orale Biofilm breitet sich nach subgingival aus, daraus resultiert eine Taschenbildung. Die durch den bakteriellen oralen Biofilm hervorgerufene Taschenbildung scheint durch degenerative Veränderungen in den Zellschichten des Saumepithels zu entstehen. Diese waren vorher dem mikrobiellen oralen Biofilms ausgesetzt [96]. Dies führt zur Auflockerung der ersten Schutzbarriere, dem Saumepithel [62].

1.1.3.2. Abwehrreaktion

Ein Großteil parodontaler Destruktionen werden durch die Immunantwort des erkrankten Parodontiums auf den organisierten Biofilm bestimmt [41]. Diese spezifische Abwehr besteht aus der zellulären und der humoralen Immunabwehr [49].

1.1.3.2.1. Zelluläre Immunabwehr

Die zelluläre Abwehr besteht u.a. aus Lymphozyten, besonders den polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten, Monozyten, Makrophagen und Mastzellen [35]. Der Ablauf der zellulären Immunabwehr läuft abgekürzt folgendermaßen ab: Die Stoffwechselendprodukte (z.B. Lipopolysaccharide, kurz LPS) parodontalpathogener Bakterien aktivieren die Fibroblasten (Bindegewebszellen) des umgebenden Bindegewebes. Die aktivierten Fibroblasten führen über mehrere Schritte zu einer Freisetzung verschiedener

Entzündungsmediatoren [u.a. Histamin, Prostaglandin E₂; (PGE₂)]. Diese Entzündungsmediatoren bewirken, dass das Endothel der umliegenden Gefäße gelockert und so die Abwehrzellen des Blutes in der Lage sind zum Ort des Geschehens, der extrazellulären Matrix, rekrutiert zu werden. Abwehrzellen, wie polymorphkernige neutrophile Granulozyten, Monozyten u.a. gelangen in die extrazelluläre Matrix und produzieren dort u.a. Matrix-Metallo-Proteinasen (MMP 1 – 14) [32]. Deren Bedeutung wird zu einem späteren Zeitpunkt besprochen (Kapitel 1.1.3.3.2).

1.1.3.2.2. Humorale Immunabwehr

Stoffwechselprodukte wie z.B. die LPS der parodontalpathogenen Bakterien, sind Antigene, welche durch Makrophagen (Abwehrzellen) ins lymphatische Gewebe transportiert werden [100]. Dieser Vorgang aktiviert die Lymphozyten im lymphatischen Gewebe, welche anschließend zum Ort des bakteriellen Angriffs wandern [30]. Die sogenannten B-Lymphozyten werden während des Abwehrvorganges zu Plasmazellen umgewandelt. Diese sind in der Lage, Immunglobuline (kurz Ig), wie z.B. IgG, zu bilden, welche sie schließlich am Ort des Angriffs in die extrazelluläre Matrix freisetzen [34]. Eine übermäßige Antikörperbildung, insbesondere von IgG, hat eine zytotoxische Wirkung auf die Zellen des Parodontiums zufolge. Somit trägt ein Überschuss von IgG zu einer parodontalen Selbstzerstörung bei [32].

1.1.3.3. Gewebedestruktion / Knochenabbau

Die Gewebeerstörung wird eingeleitet durch zwei verschiedene Mechanismen (Abb. 3). Zum einen führt der langandauernde Kontakt zwischen Bakterien und deren Stoffwechselprodukten mit dem parodontalen Gewebe zu einer direkten Zerstörung. Zum anderen wird das Gewebe indirekt durch eine übermäßige Immunantwort auf die Zerstörung geschädigt [32] (Abb. 3).

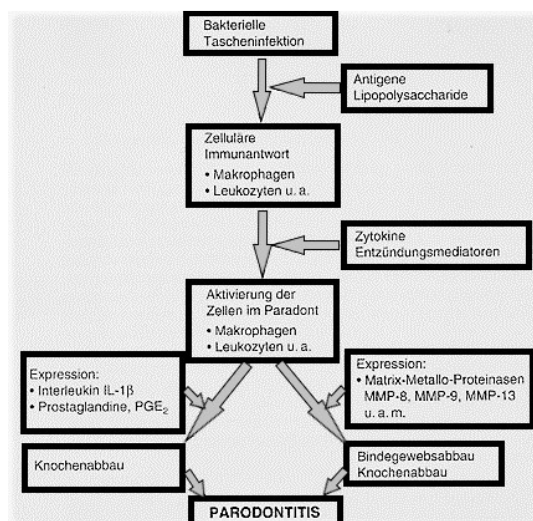


Abbildung 3: Die parodontale Gewebedestruktion durch direkte und indirekte Faktoren (umgezeichnet nach [32]).

1.1.3.3.1. Tiefenwanderung des Saumepithels

Der Vorgang des Knochenabbaus beginnt mit einer Tiefenwanderung der Saumepithelzellen dies führt zu einem vermehrten Abbau der Sharpey'schen Fasern und anschließend zu einem Abbau des Alveolarknochens [32].

Keratinozyten stellen im gesunden Gewebe eine Barriere zwischen der bakteriellen Mundflora und dem aseptischen „Innenleben“ dar. Durch die Zerstörung des darunterliegenden Bindegewebes kann das Epithel in das entstandene bindegewebsfreie Gebiet wachsen [100].

1.1.3.3.2. Abbau des Bindegewebes des Parodontiums

Durch die am Ort des Angriffs vorhandenen Stoffwechselprodukte parodontalpathogener Bakterien, vor allem den LPS und der zusätzlichen Freisetzung von Interleukin-1 (kurz IL-1) und dem Tumornekrosefaktor- α (kurz TNF- α), werden die Fibrozyten des parodontalen Gewebes angeregt, MMPs im Überschuss zu bilden und anschließend freizugeben [32]. MMPs sind Enzyme, die in der Lage sind, die extrazelluläre Matrix abzubauen [1]. Bei pathologischen Vorgängen im Parodontium ist der Spiegel der MMPs aufgrund der ablaufenden Immunreaktion erhöht [24]. So baut der Organismus durch die eigene Immunantwort das eigene parodontale Bindegewebe ab.

1.1.3.3.3. Abbau des Alveolarknochens

Durch die im Körper entstandene Entzündungsreaktion werden unter anderem auch die Makrophagen aktiviert. Durch deren Aktivierung (z.B. durch Bestandteile der parodontalpathogenen Bakterien) bilden sie eine Vielzahl an Wirkstoffen [49] u.a. PGE₂ [101]. PGE₂ ist neben anderen Vorgängen auch für die Steigerung der Knochenresorption verantwortlich [73]. Diese Aktivierung führt zu einem vermehrten Knochenabbau.

1.1.3.4. *Rolle der Wachstumsfaktoren bei parodontalpathogenen Reaktionen*

Wachstumsfaktoren stimulieren eine Vielzahl zellulärer Vorgänge, u.a. die Produktion von Proteinen der extrazellulären Matrix [72]. Es gibt wissenschaftliche Meinungen dahingehend, dass PDGF an spezifische Rezeptoren der Osteoblasten bindet [70] und damit den Knochenaufbau fördert [98]. Diese positive Aktivität soll in dieser Studie zur Anwendung kommen.

Die Forschungen, die sich mit der Wirkung des PDGF im Zuge des regenerativen parodontalen Knochenaufbaus befassen, sind jedoch widersprüchlich. Es gibt auch Studien, die von einer knochenresorbierenden Wirkung des PDGF berichten [105].

1.2. Geweberegenerationskonzepte bei Grad II und Grad III Furkationsdefekten

Die aktuelle zahnärztliche Praxis hat für die chirurgische Behandlung parodontal geschädigter Zähne diverse Ansätze von Geweberegenerationstherapien zur Verfügung. Resektive Maßnahmen bei großen Furkationsdefekten, wie z.B. Hemisektion oder Prämolarisierung, sind Behandlungsmaßnahmen, die durch Regeneration verhindert werden sollen. Da die einzelnen Defektkonfigurationen der Furkationsdefekte jedoch von Zahn zu Zahn sehr große Unterschiede aufweisen und diese einen großen Einfluss auf den Behandlungserfolg haben [10], gibt es kein „Patentkonzept“. Das Spektrum der vorhandenen regenerativen Verfahren und Therapieansätze ist sehr vielfältig:

1.2.1. Gesteuerte Geweberegeneration

GTR bezeichnet die Gesamtzahl parodontalchirurgischer Therapieansätze mit dem Ziel, parodontales Gewebe wiederherzustellen, welches aufgrund von pathologischen, entzündlichen Prozessen abgebaut wurde [59]. Auf der Grundlage von Dahlin, et al. [20] wird dieses Verfahren heute noch häufig angewandt.

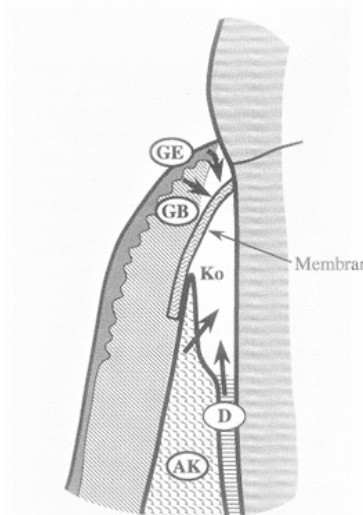
Der Rückgang parodontalen Gewebes kann zu Zahnlockerung bis hin zu dem Verlust eines Zahnes führen. Dieses Verfahren der GTR bezieht sich auf ein biologisches Prinzip, welches davon ausgeht, dass nur ein bestimmter Typ von Zellen innerhalb des Parodontiums das Potenzial hat, neues Wurzelzement mit Insertion von Kollagenfasern zu erzeugen [74].

Eine parodontale Behandlung ohne GTR entspräche einer Reparatur und keiner Regeneration, d.h., dass bei der Reparatur neugebildete Gewebe entspräche nicht dem ursprünglichen, ortsständigen und natürlichen Gewebe. Anstatt des üblichen Parodontalgewebes, wie z.B. Knochen, würde an dieser Stelle Epithelgewebe gebildet werden. Es wird angenommen, dass die Ursache hierfür ein langes, sehr schnell proliferierendes Saumepithel sei [9]. Da das Epithelwachstum im Defektbereich mit der langsamen voranschreitenden Neubildung von Zement, Alveolarknochen und Desmodont konkurrieren würde, ist es Ziel, das Wachstum eines langen Saumepithels zu verhindern [11]. Auf dieser Grundlage wurde das Prinzip der GTR entwickelt [20]. Dabei wird versucht, durch das Einsetzen von verschiedensten Barrieremembranen das schnell proliferierende Saumepithel am Wachstum zu hindern. So soll mit Hilfe einer GTR-Membran den Zellen, die in der Lage sind parodontales Gewebe zu bilden, ausreichend Zeit gegeben werden um das parodontale Gewebe wieder zu regenerieren.

1.2.1.1. Ziel

Ziel ist es, die parodontale Regeneration durch die Wiederherstellung des parodontalen Gewebes zu fördern. Ein erster Erfolg der parodontalen Behandlung stellt sich ein, wenn der Abbau des ursprünglichen parodontalen Gewebes nicht weiter voranschreitet.

Folgt die Wiederbesiedlung von parodontalen Ligamentfibroblasten und die Vermeidung der apikalen Migration des Epithels sowie der Invasion von Gingivafibroblasten [69], ist das Therapieziel erreicht (Abb. 4).



Schema des GTR-Prinzips.
AK = Alveolarfortsatzknochen; D = Desmodont;
GE = Gingivaepithel; GB = Gingivabindgewebe;
Ko = Koagulum

Abbildung 4: Schema des GTR-Prinzips (gesteuerte Geweberegeneration) (umgezeichnet nach [72]).

1.2.1.2. Ablauf der gesteuerten Geweberegeneration mittels Membrantechnik

Voraussetzung für einen Therapieerfolg ist eine optimale Mundhygiene des Patienten [5] sowie eine vor der Maßnahme durchgeführte professionelle Zahnreinigung (PZR) sowie ein Scaling und Root Planing als Antiinfektionstherapie [51].

Wie schon erwähnt, handelt es sich bei der Behandlung um einen parodontalchirurgischen Eingriff mit folgendem standardisierten Ablauf [63]:

- I. Begonnen wird mit einer intrasulkulären Inzision, eventuell gefolgt von Lateral- oder Vertikalinzisionen.
- II. Der Mukoperiostlappen kann nun mobilisiert und der Furkationsdefekt dargestellt werden. Das gesamte Granulationsgewebe wird entfernt.
- III. Nun folgt subgingivales Scaling und Root Planing (Wurzelglättung).
- IV. Im Anschluss wird die Barrieremembran richtig positioniert. Der gesamte Defektbereich sollte abgedeckt sein, wobei der Randbereich des knöchernen Defektes apikal und lateral um ca. 3 mm überdeckt werden sollte.
- V. Darauf folgt die Befestigung der Membran mit entsprechendem Nahtmaterial.

- VI. Der Mukoperiostlappen sollte in seiner Endlage 2-3 mm koronal verlängert über dem koronalen Ende der GTR-Membran liegen.
- VII. Als finaler Schritt folgt die Befestigung des Lappens mittels chirurgischer Befestigungsnähte, erst die interdentalen Bereiche und anschließend die vertikalen Entlastungsschnitte.

1.2.1.3. GTR-Membranen

Die ursprüngliche Aufgabe der parodontalen Barrieremembranen bestand darin, das schnell proliferierende Saumepithel von den parodontalen Defekten fernzuhalten und dem langsamer wachsenden parodontalem Gewebe die Möglichkeit der Regeneration zu verschaffen, mit dem Ziel die Trennung zweier Zelltypen zu verwirklichen [20].

Neben der ursprünglichen Anforderung, der Trennung zweier verschiedener Zelltypen, sind die Ansprüche an GTR-Membranen heute erhöht. Unter anderem werden gefordert [62]:

- ❖ Biokompatibilität: keine Toxizität, keine immunologischen Reaktionen auslösen,
- ❖ Permeabilität für Gewebsflüssigkeiten,
- ❖ Platzhalterfunktion und Stabilität,
- ❖ Gewebeintegration,
- ❖ lange Resorptionszeiten,
- ❖ einfache und dichte Adaption,
- ❖ leichte Handhabung.

Bei der Betrachtung verschiedener GTR-Membrantypen werden heutzutage zwei bzw. drei verschiedene Arten betrachtet.

Es gibt resorbierbare und nicht-resorbierbare GTR-Membranen. Die Behandlung des Kieferkamms mit einer resorbierbaren im Vergleich zu einer nicht-resorbierbaren GTR-Membran, beeinträchtigt weder das klinische noch das histologische Ergebnis [4]. Filtermembranen aus Polytetrafluorethylen oder expandiertem Polytetrafluorethylen (u.a. Gore-Tex®, TefGen FD, TefGen Plus, Cytoplast Non Resorb), kurz PTFE und ePTFE sind nicht resorbierbare GTR-Membranen. Diese haben jedoch den großen Nachteil, dass die GTR-Membran in einem zweiten chirurgischen Eingriff entfernt werden muss. Titanmembranen (Frios® BoneShield) gehören ebenfalls der Gruppe der nicht resorbierbaren GTR-Membranen an.

Um einen zweiten chirurgischen Eingriff zu vermeiden, wurden resorbierbare GTR-Membranen verschiedenster Materialien entwickelt. Zusätzlich zu der Resorbierbarkeit liegt der Anspruch auf den gleichen Anforderungen wie bei den nicht-resorbierbaren GTR-Membranen. Resorbierbare GTR-Membranen werden unterschieden in synthetische und nicht-synthetische GTR-Membransysteme.

Die synthetischen GTR-Membranen werden aus Polymeren (z.B. Polylaktidsäure, Polyurethan oder Copolymere aus Polyglykolid und Polylaktid,) [72] hergestellt (ATRISORB® DIRECT, Vicryl Membran, GUIDOR® matrix barrier, Epi-Guide®). Diese sind biologisch abbaubar. Der Abbau beginnt mit einer hydrolytischen Zerlegung und der darauffolgenden Einspeisung in den Zitronensäurezyklus, der die Endprodukte in CO₂ und H₂O umwandelt [72].

Als Ursprung unterschiedlicher nicht-synthetischer GTR-Membranen aus Kollagen gelten verschiedene Spezies und Körperorgane.

- ❖ Xenogenen Ursprungs: Ausgangsgewebe vom Tier:
 - Porcinen Ursprungs: vom Schwein, z.B. Bio-Gide®, Bio-Gide®PERIO.
 - Bovinen Ursprungs: vom Rind, z.B. Ossix™, BIOMEND®.
 - Equinen Ursprungs: vom Pferd, z.B. PAROGUIDE®, PARASORB RESODONT®.
- ❖ Allogenen Ursprungs: Ausgangsgewebe vom Menschen, z.B. AlloDerm® Regenerative Tissue Matrix.

Sie sind überaus gewebefreundlich und lassen sich meist sehr gut platzieren und adaptieren. Auch bei diesen GTR-Membranen kann aufgrund der Resorbierbarkeit auf den zweiten chirurgischen Eingriff verzichtet werden. GTR-Membranen aus Kollagen werden abgebaut und in das heilende Gewebe eingebaut [71]. Das Kollagen (Typ I oder Typ III) der GTR-Membranen wird vom Körper enzymatisch abgebaut. Vorhandene Kollagenasen spalten die GTR-Membrankollagene, die dadurch temperaturanfällig werden und zu Gelatine denaturieren. Diese wird durch ebenfalls vorhandene Gelatinasen und Peptidasen zu Oligopeptiden gespalten und dann im letzten Schritt durch Peptinasen zu Aminosäuren zerlegt [72]. Es gibt aber auch Ergebnisse, die darauf hindeuten, dass proteolytische Enzyme bestimmter Bakterien am Abbau von GTR-Membranen aus Kollagen beteiligt sind [87].

Die gesteuerte Geweberegeneration ist heute als ein Routineverfahren in der Parodontologie etabliert. Jedoch wird diese auch in jüngster Zeit noch kritisch hinterfragt. Eine sichere Vorhersagbarkeit ist noch nicht gegeben [30], da die Erfolgsquote von vielen Faktoren abhängig ist [26]. Diese Faktoren beinhalten die Defektkonfiguration, die Wundheilungstendenz eines jeden einzelnen Patienten, die Präzision des Behandlers, die Mitarbeit des Patienten und letztendlich die Verwendung unterschiedlicher GTR-Membranen.

1.2.1.4. Schmelzmatrixproteine

Schmelzmatrixproteine (engl. Enamel matrix derivatives, EMD) sind Proteine, die mitverantwortlich für die Steuerung der Bildung des Zahnhalteapparates während der Zahnentwicklung sind. Sie verschwinden mit Abschluss der Entwicklung. Aus dieser

Erkenntnis, belegt durch Studien z.B. von Hammarstrom [28], wurde die Behandlung parodontaler Defekte mit Schmelzmatrixproteinen entwickelt.

Schmelzmatrixproteine sind zudem an der Mineralisation des Zahnhalteapparates beteiligt [89]. Die Bildung azellulären Wurzelzements, das Fördern des Wachstums von Desmodontalzellen, das Verhindern epithelialen Tiefenwachstums sowie die Proliferation und Differenzierung von Osteoblasten [27, 82] sind Eigenschaften der Schmelzmatrixproteine, welche die parodontale Wundheilung begünstigen.

Die Indikationsstellung liegt bei vertikalen Knochendefekten und Furkationsdefekten Grad I – II. Als derzeit einziges Produkt auf dem Markt existiert Emdogain®. Der Hauptbestandteil des Produktes ist Amelogenin (porcin) auf einer Propylenglykoalginat-Trägersubstanz.

1.2.2. Knochenersatzmaterial (KEM)

KEM wird allgemein gefasst als ein Material bezeichnet, welches zur Rekonstruktion von Knochensubstanz verwendet wird. Es soll als Platzhalter für neu entstehenden Knochen oder als Stützfunktion für GTR-Membranen dienen. KEM soll die Knochenneubildung positiv beschleunigen und ist als osteokonduktive Leitstruktur für regenerierendes Gewebe gedacht. Eine große Vielfalt an verschiedensten Materialien mit ihren jeweiligen Vor- und Nachteilen steht zur Verfügung.

Die Anforderungen an diese Materialien sind [2]:

- ❖ Biokompatibilität (nicht toxisch, nicht teratogen, nicht kanzerogen und nicht mutagen)
- ❖ resorbierbar
- ❖ klinische Anwendbarkeit
- ❖ Sterilität
- ❖ Idealerweise sollte KEM die Fähigkeit besitzen, sich an den drei verschiedenen Vorgängen einer erfolgreichen Knochentransplantation zu beteiligen [25]:
 - Osteogenese: Bildung von Knochengewebe.
 - Osteoinduktion: einen knochenneubildenden Einfluss besitzen.
 - Osteokonduktion: Leitschieneffunktion für sich neubildenden Knochen.

Im Folgenden werden die verschiedenen Typen von Knochenersatzmaterialien näher erläutert:

1.2.2.1. *Autogenes / autologes Knochenersatzmaterial*

Autogenes KEM ist körpereigener Knochen. Dieser gilt als optimales Transplantationsmaterial bei Augmentationen. Der kortikospongiöse Knochen kann aus verschiedensten Körperregionen entnommen werden. Intraorale Entnahmestellen sind die Retromolarregion

des Unterkiefers und der Ramus mandibulae. Extraorale Entnahmestellen sind der Beckenkamm und die Tibia. Vorteile der autogenen Knochentransplantate sind der Ausschluss von Infektionsrisiken und die ausbleibende Immunreaktion. Nachteilig ist die begrenzte Verfügbarkeit [78] und die Entnahmemorbidity. Es gibt zwei Arten von autogenen Knochentransplantaten. Zum einen das freie Knochentransplantat (avaskularisiert), zum anderen das mikrovaskulär anastomierte Transplantat. Als dritte Variante ist das extrakorporale (außerhalb des Körpers) „tissue engineering“ zu nennen, bei dem „bone chips“ aus körpereigenen Knochenzellen in einer Matrix hergestellt werden und diese dem Patienten wiedereingesetzt werden.

1.2.2.2. *Allogenes Knochenersatzmaterial*

Körperfremdes, jedoch der gleichen Spezies (Mensch) entnommenes KEM wird als allogenes KEM bezeichnet. Der gespendete Knochen kann sowohl durch einen Lebendspender, als auch durch eine Organspende post mortem gewonnen werden. Vorteilhaft sind das Vorhandensein größerer Mengen und die osteoinduktive/ -konduktive Wirkung [2, 78]. Risiken bestehen in Form einer Immunantwort auf das Transplantat sowie in einem geringen Infektionsrisiko [88]. Als eine Aufbereitungsform mit sehr geringem Restinfektionsrisiko gilt das DFDBA-Verfahren (decalcified freeze dried bone allograft) [56, 76].

1.2.2.3. *Xenogenes Knochenersatzmaterial*

Von anderen Spezies stammende KEM beinhalten sowohl tierische als auch durch Algen gewonnene und zur Verfügung stehende Materialien. Sie haben eine osteokonduktive Wirkung [22].

Tierischer Herkunft sind: Bio-Oss® Spongiosa (bovin), Bio-Oss® Collagen (bovin, 10% Kollagenfasern vom Schwein; laut Hersteller osteokonduktiv und langzeitstabil), BioGen B® (equin).

Algipore® ist ein natürlich vorkommendes Hydroxylapatit, gewonnen aus Meeresalgen.

1.2.2.4. *Alloplastisches Knochenersatzmaterial*

Alloplastisches Material ist synthetisch hergestelltes KEM. Die Präparate bestehen aus komplexen Systemen, die eine Grundsubstanz, ein Trägermaterial bzw. Carrier und einen aktiven Stoff beinhalten. Vorteile sind die große Verfügbarkeit und das nicht vorhandene Infektionsrisiko. Problematisch ist die Tatsache, dass eine rein osteokonduktive Wirkung vorhanden ist [60]. Nach Nkenke, et al. [66] ist keines der vorhandenen Materialien osteoinduktiv, allenfalls osteokonduktiv. Zur Osteoinduktion wird alloplastisches KEM häufig mit autogener Knochensubstanz gemischt.

Synthetisch hergestellte Hydroxylapatite (HA) (hydroxyliertes Calciumphosphatsalz, welches der Hauptbestandteil menschlicher Knochen und Zähne ist) wurden in einer Vielzahl von Formen vermarktet. In poröser, nicht-resorbierbarer, in dichter oder fester nicht-resorbierbarer und in resorbierbarer (nicht-keramische, poröse) Form. Die Verarbeitung der basischen Calciumphosphatmischung bestimmt, welche der aufgeführten Eigenschaften sie besitzen wird. Die Hydroxyapatit-Resorbierbarkeit wird durch die Temperatur bestimmt, bei der sie verarbeitet wird [64]. B-Tricalciumphosphate (β -TCP) sind resorbierbare, alloplastische Knochenersatzmaterialien u.a. maxresorb® (60% HA, 40% β -TCP), CERASORB®M (β -TCP) und OSTIM® (HA).

1.2.3. Wachstumsfaktoren

Wachstumsfaktoren werden von unserem Körper während der Wundheilungsprozesse gebildet [47]. Es sind natürlich vorkommende Polypeptide, sogenannte potente, biologische Mediatoren. Sie aktivieren Binde- und Knochengewebezellen. Sie wirken multifunktional [72]. Während der Wundheilung stimulieren sie die zellulären Aktivitäten, die Chemotaxis, die Proliferation der Fibroblasten, die Synthese der Matrixkomponenten, die Zellmigration und die Differenzierung verschiedener Zelltypen [69]. Sie produzieren Proteine, welche wiederum die extrazelluläre Matrix stimulieren [72].

Wachstumsfaktoren sind nicht zellmembrangängig. Sie setzen zelluläre Vorgänge durch Rezeptorbindung in Gang. Sie können sowohl autokrin (auf die den Faktor produzierende Zelle) als auch parakrin (auf eine andere Zelle) wirken [72] (Abb. 5).

Wirkung wichtiger Wachstumsfaktoren / Signalmoleküle						
Faktor		Fibroblasten-Proliferation	Osteoblasten-Proliferation	Synthese von Matrixprotein	Mesenchym-zelldifferenzierung	Vaskularisation
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor (GF)	++	++	-	-	+
IGF	Insulin-like GF	+	++	++	-	-
TGF β	Transforming GF beta	+	+	++	-	++
BMP	Bone Morphogenetic Proteins -2, -4, -7	-	+	+	++	++
FGF	Fibroblast GF	++	++	-	-	++

Abbildung 5: Die Wirkungen von Wachstumsfaktoren auf die parodontale Wundheilung (umgezeichnet nach [101]).

1.2.3.1. PDGF

Platelet-derived growth factor

In den 1970er Jahren wurde PDGF während des erfolgsgekrönten Versuches, das Wachstum glatter Muskulatur zu stimulieren, entdeckt [80].

1.2.3.1.1. Aufbau

PDGF liegt als Hetero- (z.B. PDGF-AB) oder Homodimer (z.B. PDGF-AA) vor, die jeweils durch eine Disulfidbrücke miteinander verbunden sind [31, 37, 94]. Die bis dahin noch nicht bekannten Untereinheiten C und D wurden erst Anfang des 21. Jahrhunderts von Li, et al. [44] und Bergsten, et al. [7] entdeckt. Die Aufgabe der Dimere ist die Bindung an ein integrales Membranprotein, das wiederum auch aus 2 Untereinheiten besteht (α und β bzw. PDGF-RA und PDGF-RB). Bei einer Bindung an die Liganden kommt es zu einer Rezeptoren-Dimerbildung. Beide Rezeptoren nähern sich einander an und phosphorylieren sich gegenseitig. Durch die Aktivierung werden Proteine im Inneren der Zelle phosphoryliert, es kommt zu einer Signalweiterleitung durch z.B. die Aktivierung von Tyrosinkinase [40].

1.2.3.1.2. Funktion

Gebildet wird PDGF von Thrombozyten, Monozyten, Endothelzellen, glatten Muskelzellen und auch von Tumorzellen [79]. Er wird zum großen Teil von Thrombozyten freigesetzt [77], um einen schnellen Wundverschluss herbeizuführen. PDGF ist in der Lage, an den Zellen der extrazellulären Matrix zu binden [69]. Er stimuliert sowohl die Proliferation als auch die Chemotaxis von desmodontalen Fibroblasten. Darüber hinaus erhöht eine Kombination mit Insulin-like Growth Factor I (IGF-I) die mitogene Wirkung, und es entsteht ein synergischer Effekt [57].

1.2.3.2. IGF-I

Insulin-like growth factor I

Das Polypeptid ähnelt chemisch stark dem Aufbau des Insulins, daher resultiert auch der Name. Gebildet wird er vor allem in der Leber, aber auch in anderen Organen [48].

In vitro verstärkt IGF-I die menschliche desmodontale Fibroblastenmigration und -proliferation. Darüber hinaus stimuliert IGF-I die Knochenbildung, induziert die Osteoblastenproliferation, die Differenzierung und die Typ-I-Kollagensynthese und hemmt den Knochenkollagenabbau durch Blockierung der Kollagenaseaktivität. Auf der anderen Seite kann IGF-I die Erzeugung und Aktivierung von Osteoklasten unterstützen.

Ergebnisse klinischer Studien zeigten jedoch nur eine geringe Wirkung von IGF-I auf die parodontale Wundheilung und Regeneration [92].

1.2.3.3. TGF

Transforming growth factor

Der transformierende Wachstumsfaktor ist Teil einer Familie von Polypeptidwachstumsfaktoren, die mit den knochenmorphogenetischen Proteinen

zusammenhängen, aber funktionelle Unterschiede bei Embryogenese, Entzündung und Regulation der Immunantwort und Wundheilung haben.

Es gibt 3 TGF- β -Isoformen, TGF- β 1, TGF- β 2 und TGF- β 3. Sie werden von Thrombozyten, Makrophagen, Fibroblasten und Tumorzellen synthetisiert, wobei die Typ-1-Isoform am häufigsten ist. Im Gewebe parodontaler Defekte wurden erhöhte Konzentrationen von TGF- β 2 und TGF- β 3 im Vergleich zu gesundem Gewebe festgestellt, aber kein Hinweis auf TGF- β 1.

Die Lage der TGF- β -Rezeptoren der Typen 2 und 3 auf der Zellmembranoberfläche und des Zytoplasmas des sich bildenden Desmodonts sowie der extrazellulären Matrix deuten auf Wechselwirkung mit Zielzellen der Entwicklung und Differenzierung des Parodontiums hin. Darüber hinaus sind TGF- β -Rezeptoren in regeneriertem Gewebe erhöht.

TGF- β wirkt chemotaktisch auf Knochenzellen, er erhöht die Matrixproduktion und steigert oder verringert ihre Proliferation in Abhängigkeit vom Zelldifferenzierungszustand. TGF- β 1 wird während der Entwicklung des Alveolarknochens, des Desmodonts und des Zements in den Osteoblasten, Desmodontalzellen und Zementoblasten exprimiert [21].

1.2.3.4. FGF

Fibroblast growth factor

FGFs sind Polypeptide, die mitogen und chemotaktisch auf Endothelzellen sowie auf eine Vielzahl von mesenchymalen Zellen, einschließlich Fibroblasten, Osteoblasten, Chondrozyten und glatten Muskelzellen, wirken. Diese Faktoren haben auch gezeigt, dass sie die Bildung neuer Blutgefäße stimulieren.

Die stimulierenden Effekte von FGF auf die Neovaskularisation, zusätzlich zu den chemotaktischen und mitogenen Wirkungen auf mesenchymale Zellen, insbesondere auf Fibroblasten und Osteoblasten, deuten auf eine wichtige Rolle dieser Proteine bei der parodontalen Wundheilung und Regeneration hin [13].

1.2.4. Kombination regenerativer Behandlungsmethoden

Nicht nur einzelne regenerative Verfahren, auch Kombinationen mehrerer können angewandt werden. Dadurch wird versucht, die Ergebnisse der Therapien zu optimieren. Viele der hier beschriebenen regenerativen, parodontalen Therapiemöglichkeiten weisen häufig Probleme bei der alleinigen Verwendung auf. Die heute zur Verfügung stehenden resorbierbaren GTR-Membranen kollabieren bei alleinigem Gebrauch in den Wundbereich und reduzieren damit den zu regenerierenden Bereich [38].

So setzen viele Behandler heute Kombinationen verschiedener therapeutischer Materialien ein. GTR-Membrantechniken werden oft gleichzeitig mit einer Behandlung von verschiedensten KEM verbunden.

Autologes und xenogenes KEM in Kombination mit einer bioresorbierbaren GTR-Membran ergaben klinisch bessere Ergebnisse als deren alleinige Verwendung [16]. Plättchenreiches Plasma (PRP) aus autologem Patientenvollblut mit einer erhöhten Thrombozytenkonzentration und damit auch einer erhöhten Konzentration an Wachstumsfaktoren wird in Kombination von KEM sowie GTR-Membranen verwendet [43]. Einige Ergebnisse zeigten, dass z.B. eine Kombination von resorbierbaren GTR-Membranen mit synthetisch hergestellten KEM [91] oder die Kombination von Thrombozytenpellets mit einer GTR-Membran [39] keine signifikanten Unterschiede aufweisen.

Doch nicht nur GTR-Membranen werden kombiniert, auch andere therapeutische Ansätze wurden untersucht. Schmelzmatrixproteine zusammen mit PDGF-BB als therapeutische Maßnahme bewirken eine höhere Proliferationsrate auf Desmodontalzellen als die alleinige Gabe von Schmelzmatrixproteinen [19].

Für eine erfolgreiche Behandlung von Furkationsdefekten Grad III ist es dennoch schwierig, eine geeignete Therapiemethode zu finden. Die Anwendungen von GTR-Membranen oder Kombinationen dieser mit anorganischem KEM bei Furkationsdefekten Grad III konnten nicht den gewünschten Erfolg verzeichnen [67].

1.3. Ziel der Studie

Voraussetzungen für eine erfolgreiche, vorhersagbare Regeneration bei Unterkiefermolaren mit einem Furkationsdefekt Grad III, sind derzeit immer noch nicht bekannt. Bei der Literaturrecherche konnten wir nur sehr wenige, vergleichbare Studien entdecken, so dass unsere Ergebnisse erstmal einen richtungsweisenden Charakter annehmen sollten. Das Ziel dieser Studie war es, die Regeneration von Knochen und zellulärem Eigenfaserzement mithilfe der fördernden Eigenschaften des Wachstumsfaktors PDGF anzuregen. Als Voraussetzung für die reife Regeneration muss u.a. die schnelle Entstehung von Saumepithel verhindert werden. Vor diesem Hintergrund wurde untersucht, ob es unter dem Einsatz des Wachstumsfaktors PDGF, einer GTR-Membran und einem KEM zu einem geringeren Wachstum des hindernden Saumepithels sowie zu einem vermehrten Wachstum von zellulärem Eigenfaserzement und Knochen kommt.

Zudem war es Ziel unserer Studie, den Einsatz von Wachstumsfaktoren in verschiedenen Defektkonfigurationen zu vergleichen und zu bewerten. Dazu wurde die Therapie sowohl von Schlüssellochdefekten, als auch von horizontalen Defekten evaluiert. Die Fragestellung, die sich daraus ergibt, ist: Gibt es eine Defektkonfiguration, bei der es eine größere Vorhersagbarkeit für einen regenerativen Therapieerfolg gibt oder nicht?

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign

Diese Tierstudie wurde an sechs erwachsenen, männlichen Cynomolgus – Affen (*Macaca fascicularis*) durch die Arbeitsgruppe um Priv.-Doz. Dr. med. dent. Dietmar Weng durchgeführt. Das Forschungsprojekt wurde vom Animal Welfare Committee of the University of Texas at Houston/USA unter Einhaltung der vorgegebenen Richtlinien des Animal Welfare Act und des Public Health Service Guide for the Care and Use of Laboratory Animals genehmigt (Genehmigungsnummer HSC-AW-98-073).

2.2. Schaffung von Furkationsdefekten und die Anwendung von PDGF, bioresorbierbarer GTR-Membran und KEM

2.2.1. Vorbehandlung

Um einen entsprechenden Furkationsdefekt chirurgisch zu kreieren, wurden die Affen in Vollnarkose gelegt, eingeleitet durch Ketamin i.m. (10-15 mg/kg; Ketalar, Parke-Davis, Morris Plains, NJ/USA) und aufrechterhalten durch eine Inhalationsnarkose. Um eine möglichst gute Übersicht des Operationsgebietes und eine postoperative Schmerzfreiheit zu erreichen, erhielten die Affen zusätzlich eine lokale Infiltrationsanästhesie mit 2%-igem Lidocain (mit Adrenalinzusatz 1:50.000; Xylocaine, Dentsply Sirona, Charlotte, NC/USA)) und eine Schmerzausschaltung mittels Buprenorphin i.m. (0,01-0,02 mg/kg; Buprenex, Reckitt Benckiser Pharmaceuticals Inc., Richmond, VA/USA).

2.2.2. Schaffung von Schlüsselloch- und horizontalen Furkationsdefekten

Nach dem Anheben eines Mukoperiostlappens auf der bukkalen und lingualen Seite in beiden Unterkiefer-Quadranten wurden standardisierte Furkationsdefekte Grad III um den ersten und zweiten Molaren erzeugt. Es wurden entweder Schlüsselloch- (2 x 2mm) oder horizontale Defekte (3 mm horizontale Höhe), wie von Pontoriero, et al. [74] beschrieben, erzeugt.

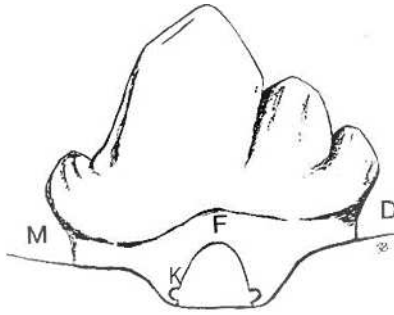


Abbildung 6: Schlüssellochdefekt: M=mesiale Seite, D= distale Seite, F= Furkationsdach, K= Kerbe (umgezeichnet nach [74])

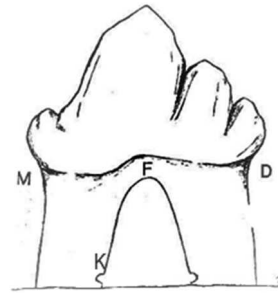


Abbildung 7: horizontaler Defekt: M=mesiale Seite, D= distale Seite, F= Furkationsdach, K= Kerbe (umgezeichnet nach [74])

Die nun freigelegten Wurzeloberflächen bekamen im Anschluss ein Scaling und ein Root Planing zur Entfernung des kompletten Desmodonts. Um während der folgenden Monate einen Entzündungsprozess zu fördern und eine spontane Wundheilung zu verhindern, wurde ein Abformmaterial (Reprosil®, Dentsply Sirona, York, PA, USA) in die Furkationen eingebracht. Anschließend wurden die Mukoperiostlappen wieder adaptiert und angenäht. Für die folgenden fünf Monate ist auf jegliche Mundhygienemaßnahmen verzichtet worden, um durch starke Plaqueanlagerung eine chronische Entzündung hervorzurufen. Nach Ende der fünf Monate wurde das Abformmaterial aus den Furkationen entfernt, die Molaren bekamen ein subgingivales Scaling und für weitere vier Wochen wurde ein Mundhygieneprogramm durchgeführt, bei dem dreimal pro Woche die Zähne mit Bimsmehl und Chlorhexidin geputzt wurden.

Insgesamt sechs Monate nach dem Schaffen der Furkationsdefekte wurden die Mukoperiostlappen erneut in der Molarenregion des Unterkiefers angehoben. Die freiliegenden Wurzeloberflächen wurden durch Scaling und Root Planing sorgfältig geglättet. Anschließend wurden Markierungsrillen mithilfe eines Rosenbohrers auf Höhe des noch verbliebenen Knochenniveaus innerhalb des Furkationsbereiches angebracht.

2.2.3. Rekonstruktive Chirurgie und die Anwendung von PDGF, bioresorbierbaren GTR-Membranen und KEM

24 Molaren (12 mit Schlüssellochdefekten und 12 mit horizontalen Defekten) wurden zufällig für eine der folgenden drei Behandlungen ausgewählt:

- PDGF-Gruppe: Jeweils fünf Schlüsselloch- und fünf horizontale Defekte wurden gleichzeitig mit einem experimentellem PDGF (rekombinantem Ratten-PDGF (aus E.coli) BB), einer bioresorbierbaren GTR-Membran (Bio-Gide® PERIO, Geistlich, Wolhusen, Switzerland) und einem KEM (Bio-Oss® COLLAGEN, Geistlich, Wolhusen, Switzerland) behandelt.

- GTR-Membran-Gruppe: Jeweils fünf Schlüsseloch- und fünf horizontale Defekte wurden gleichzeitig mit einer bioresorbierbaren GTR-Membran (Bio-Gide ® PERIO, Geistlich, Wolhusen, Switzerland) und einem KEM (Bio-Oss ® COLLAGEN, Geistlich, Wolhusen, Switzerland) behandelt.
- Kontrollgruppe: Jeweils zwei Schlüsseloch- und zwei horizontale Defekte wurden ohne jegliche Behandlung wieder verschlossen.

Das KEM wurde in der GTR-Membran-Gruppe mit einer physiologischen Kochsalzlösung 0,9% und in der PDGF-Gruppe zusätzlich mit einer PDGF-Lösung gemischt. Die unterschiedlichen Defektkonfigurationen und die Anwendungen der verschiedenen Therapieoptionen wurden im Zufallsprinzip verteilt (Abb. 6).

	36	37	46	47
Cynomolgus Affe 57-52	Schlüsselochdefekt/ Kontrollgruppe	Schlüsselochdefekt/ GTR-Membran- gruppe	Horizontaler Defekt/ PDGF- Gruppe	Horizontaler Defekt/ PDGF- Gruppe
Cynomolgus Affe 57-104	Horizontaler Defekt/ Kontroll- gruppe	Horizontaler Defekt/ GTR- Membrangruppe	Schlüsselochdefekt/ PDGF- Gruppe	Schlüsselochdefekt/ PDGF- Gruppe
Cynomolgus Affe 57-112	Horizontaler Defekt/ GTR- Membran- gruppe	Horizontaler Defekt/ Kontroll- gruppe	Schlüsselochdefekt/ PDGF- Gruppe	Schlüsselochdefekt/ PDGF- Gruppe
Cynomolgus Affe 57-227	Schlüsselochdefekt/ GTR-Membran- gruppe	Schlüsselochdefekt/ Kontrollgruppe	Horizontaler Defekt/ PDGF- Gruppe	Horizontaler Defekt/ GTR- Membrangruppe
Cynomolgus Affe 107-1009	Schlüsselochdefekt/ GTR-Membran- gruppe	Schlüsselochdefekt/ PDGF- Gruppe	Horizontaler Defekt/ GTR- Membrangruppe	Horizontaler Defekt/ GTR- Membrangruppe
Cynomolgus Affe 107-1112	Horizontaler Defekt/ PDGF- Gruppe	Horizontaler Defekt/ PDGF- Gruppe	Schlüsselochdefekt/ GTR-Membran- gruppe	Schlüsselochdefekt/ GTR-Membran- gruppe

Tabelle 1: Tabelle der Zufallsverteilung der Therapieverläufe.

Im Anschluss wurde das Periost durchtrennt, damit die Mukoperiostlappen ohne Spannung oberhalb der Defekte adaptiert und vernäht werden konnten.

2.2.4. Postoperative Behandlung

Die postoperative Therapie bestand aus entzündungshemmenden und schmerzstillenden Medikamenten. Außerdem wurde für die ersten zwei Wochen nach dem chirurgischen Eingriff täglich eine Chlorhexidinspülung durchgeführt (danach dreimal pro Woche Zahnreinigung mit Chlorhexidin und Bimsmehl). Die Nahtentfernung erfolgte 7-10 Tage post operationem.

Im Anschluss konnte das Gewebe sieben Monate regenerieren.

2.3. Perfusion, Gewebeprobenherstellung und Färbung

Sieben Monate nach der Heilung wurden die Tiere narkotisiert. Nach Ausblutung wurden die Gewebe durch vaskuläre Perfusion mit 2%igem 0,1 M Natriumcacodylatpuffer in einem Karotis-Arterien-Cut-down-Verfahren (Präparation eines Blutgefäßes zum Einbringen einer Kanüle) fixiert. Nach der initialen Gewebefixierung wurde eine Unterkiefer-Blockresektion vorgenommen. Die Segmente mit den zu analysierenden Zähnen wurden in das halb feste Karnovsky-Fixiermittel [61] mit 0,02 M Natriumcacodylat auf einen pH-Wert von 7,4 gepuffert und für 48 Stunden bei 4°C eingelegt. Nach Abschluss der Gewebefixierung wurden die Blockproben entsprechend der Trenn-Dünnschliff-Technik von Donath & Breuner [23] für nicht-dekalzifizierte Schliffe auf eine Dicke von ca. 30 µm aufbereitet und mit Toluidinblau gefärbt. Pro zu betrachtenden Zahn wurden ein bis vier Schnitte in mesio-distaler Richtung produziert, so dass insgesamt 92 histologische Präparate zur Auswertung zur Verfügung standen.

2.4. Histomorphometrische Analyse des Gewebes

2.4.1. Digitalisierung

Die Digitalisierung der Präparate erfolgte über ein Foto-Elektronenmikroskop. Als erster Schritt wurde von jedem Schnitt eine 5-fach vergrößerte Übersichtsaufnahme gefertigt. Im Anschluss wurde der Furkationsbereich von der Markierungskerbe bis zum Furkationsdach in jeweils 4-10 Einzelbildern mit dem Foto-Elektronenmikroskop digitalisiert. Die Einzelbilder wurden jeweils mithilfe eines geeigneten Computerprogramms (Adobe® Photoshop®) zu einem maßstabgetreuen Gesamtbild in 50-facher Vergrößerung zusammengefügt.



Abbildung 8: Maßstab für die 5-fache Vergrößerung der Schnitte.



Abbildung 9: Maßstab für die 50-fache Vergrößerung der Schnitte.

2.4.2. Histomorphometrische Analyse / Bewertungsparameter

Die Messungen der Präparate erfolgten ebenfalls anhand eines entsprechend geeigneten Computerprogramms (Adobe® Photoshop®). Mit Hilfe eines vorgegebenen und immer gleichbleibenden Millimetermaßes (s. Abb. 9 und 10) konnte eine genaue Kalibrierung der histologischen Schnitte durchgeführt werden.

Nach mehrfach wiederholter Kalibrierung konnten jeweils die gleichen Ausgangswerte von 1870 Pixel = 2 mm als Ergebnis verzeichnet werden. Daraus ergab sich eine vergleichbare und maßstabsgetreue Beurteilung. Die Messungen wurden verblindet durchgeführt. Der Auswerterin war die jeweils durchgeführte Therapie nicht bekannt.

Histomorphometrisch analysiert wurden die Proben innerhalb der Defektkonfiguration, welche durch das Furkationsdach, die mesiale und distale Markierungskerbe definiert wurde.

Jede qualifizierte Probe wurde durch folgende spezifische Parameter ausgewertet:

1. Höhe des Defekts: Apikaler Rand der Markierungskerben bis zum koronalen Ende des Furkationsdaches.
2. Höhe des neugebildeten Knochens: Apikaler Rand der Markierungskerben bis zum koronalen Ende des neugebildeten Knochens.
3. Höhe des zellulären Eigenfaserzementes: Apikaler Anfang des Zements bis zum koronalen Ende des Zements.
4. Höhe des neugebildeten Bindegewebes: Apikaler Rand der Markierungskerben bis zum apikalen Beginn des Epithels bzw. bei Inexistenz von Epithel bis zum koronalen Ende des Furkationsdaches.

5. Höhe des Saumepithels: Apikaler Anfang des Epithels bis zum koronalen Ende des Furkationsdaches.
6. Gesamtfläche des Defekts: Apikaler Rand der mesialen und distalen Markierungskerben bis zum koronalen Ende des Furkationsdaches.
7. Fläche des neugebildeten Knochens: Fläche des Knochens innerhalb der anfangs definierten Gesamtfläche.
8. Fläche des zellulären Eigenfasorzements: Fläche des Zements innerhalb der anfangs definierten Gesamtfläche.
9. Fläche des neugebildeten Bindegewebes: Fläche des Bindegewebes innerhalb der anfangs definierten Gesamtfläche.
10. Fläche des Saumepithels: Fläche des Epithels innerhalb der anfangs definierten Gesamtfläche.
11. Fläche des freiliegenden KEM: Fläche freiliegenden KEM innerhalb der anfangs definierten Gesamtfläche.

Die Ergebnisse wurden sowohl als Prozentsatz des Defekts als auch als Maßeinheit für weitere Analysen und Auswertungen gespeichert. Die Messungen der Parameter 1-5 wurden jeweils einzeln von mesial und distal durchgeführt und anschließend gemittelt.

Für fast alle zu beurteilenden Zähne wurden mehrere qualifizierte Schnitte analysiert (1-4), welche dann zu einem Gesamtergebnis pro Zahn gemittelt worden sind.

2.5. Statistische Analyse

Aufgrund der ungleichen Gruppenverteilung innerhalb der Defekttypen Schlüssellochdefekt und horizontaler Defekt, nämlich zwei Kontrollzähne, fünf GTR-Membran-Zähne und fünf PDGF-Zähne, schieden paarweise Statistiktests aus, da die Negativkontrollen mit in die Auswertung einbezogen werden sollten. Aufgrund der geringen Gruppengröße konnte nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden. Daher wurden (neben Mittelwerten und Standardabweichungen) ein Kruskal-Wallis-Test zur Identifizierung von Unterschieden zwischen den drei Behandlungsgruppen und ein Mann-Whitney-Test für den Vergleich zwischen den beiden Defektarten herangezogen. Statistische Einheit war der Zahn, da nicht in jedem Affen alle der sechs Therapieformen angewendet werden konnten (jeder Affe hat nur vier Unterkiefermolaren; zwei nebeneinander liegende Molaren mussten den gleichen Defekttyp aufweisen). Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha=0,05$ festgelegt.

3. Ergebnisse

Primär wurde in dieser Studie ein regeneratives Verfahren bei Furkationsdefekten unter Einfluss des Wachstumsfaktors PDGF ausgewertet.

Bei der anfänglichen Beurteilung der Gewebeschnitte durch die Arbeitsgruppe wurden die Gewebepreparate auf deren Verwendbarkeit geprüft. 65 der 92 histologisch dargestellten Zähne wurden als qualifiziert gesehen und gingen damit in die Auswertung ein.

Probleme innerhalb des Schnittprozesses hatten dazu geführt, dass nicht alle Präparate erkennbare Strukturen aufwiesen. Nicht erkennbare Kerben und damit fehlende begrenzte Flächen führten ebenso wie die Zerstörung filigraner Strukturen innerhalb des Schnittprozesses zu Ausschlüssen.

Bei der Auswertung der 65 digitalisierten Schnitte wurde als Vergleich die Entwicklung von Knochen, zellulärem Eigenfaserzement (ZEZ), Bindegewebe und Saumepithel begutachtet. Dabei wurde unterschieden zwischen den unterschiedlichen Therapien sowie zwischen den verschiedenen Defektkonfigurationen. Alle Defektbereiche enthielten zu 100% Gewebe, so dass keine Hohlräume zu erkennen waren. Nur die Anteile der verschiedenen Gewebearten zeigten große Variationen, welche im weiteren Verlauf der Ergebnisse genauer erörtert werden.

3.1. Klinische Ergebnisse

Die postoperative Einheilung verlief im Wesentlichen ohne besondere Vorkommnisse. Jedoch wurden innerhalb der ersten drei postoperativen Wochen bei den therapierten Defekten (PDGF- und GTR-Gruppe) marginale Freilegungen der Kollagenmembranen von 1 bis 1,5 mm sowohl auf der bukkalen als auch auf der lingualen Seite beobachtet. Aufgrund der Resorption des Kollagens lösten sich die freigelegten Membranen nach ca. 4 Wochen auf. Im Anschluss wurden in diesen Bereichen leichte Gingivarezessionen festgestellt.

3.2. Knochen

3.2.1. Histologische Auswertung

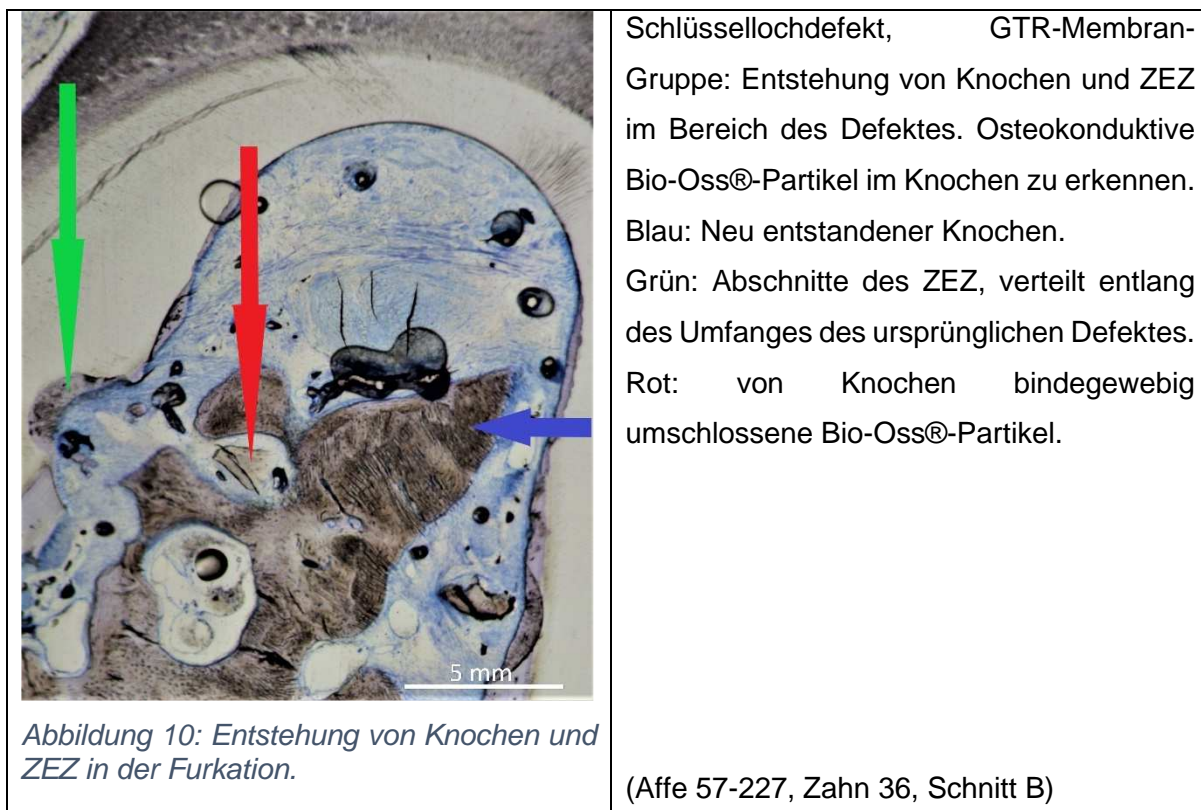
In den Defektbereichen konnte bei 23 von 24 Zähnen neu entstandener Knochen gefunden werden. Durchschnittlich bestand nach einer Therapie 35% der Fläche aus Knochen, was einer absoluten Fläche von durchschnittlich 1,19 mm² entspricht. Die Streuung in den einzelnen Schnitten lag jedoch sehr hoch, nämlich zwischen 68% (Schlüssellochdefekt, Kontrollgruppe) und 0 % (Schlüssellochdefekt, PDGF-Gruppe).

Die histologischen Bilder wiesen Defekte auf, die bis kurz vor dem Furkationsdach mit mineralisiertem Knochengewebe aufgefüllt waren (82% Knochen der gesamten Furkationshöhe; horizontaler Defekt, PDGF-Gruppe), so dass große Flächen mit neu gebildetem Knochen entstanden waren (68% der gesamten Furkationsfläche, Schlüssellochdefekt, Kontrollgruppe). Es waren aber auch unter den Schnitten Präparate zu finden, die nur kleinflächige Stellen von Knochen zeigten (7% der Gesamtfläche und 30% der Gesamthöhe bei einem Schlüssellochdefekt, GTR-Membran-Gruppe).

3.2.1.1. *Knochengewebebildung durch Knochenersatzmaterialtherapie*

Exemplarisch konnte in dieser Studie ebenfalls beobachtet werden, was die Therapie an Zähnen mit freiliegenden Furkationen mit einem KEM bewirkt. 83% der hier untersuchten Zähne wurden mit KEM behandelt.

In verschiedensten Schnitten der Therapiegruppen konnte die Fähigkeit der Osteokonduktion, des KEMs, anhand des neu entstandenen Knochens beobachtet werden. Lichtmikroskopisch zu erkennen waren Bio-Oss®-Partikel (in der Studie verwendetes KEM) umrahmend und als Leitstruktur dienend im Knochen.



Jedoch wurden nicht nur im Knochen Bio-Oss®-Partikel entdeckt.

Sowohl im Bindegewebe also auch im ZEZ wurden freiliegende Bio-Oss®-Partikel gefunden (vgl. Abb. 12: Partikel im ZEZ).

In den Versuchszähnen konnten einzelne Partikel lichtmikroskopisch im Bindegewebe dargestellt werden (vgl. Abb. 11).

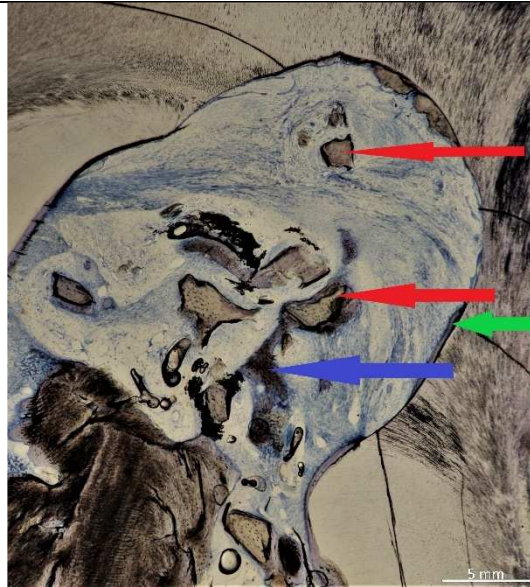


Abbildung 11: Beginn einer Osteokonduktion durch Bio-Oss®-Partikel.

Schlüssellochdefekt, GTR-Membran-Gruppe:

Kaum Entstehung von Knochen und ZEZ im Bereich der durchgängigen Furkation zu erkennen. Mehrere freiliegende Bio-Oss®-Partikel im Bindegewebe sind dargestellt. Blau: Knochen.

Grün: ZEZ.

Rot oben: freiliegende Bio-Oss®-Partikel

Rot unten: Beginn einer Osteokonduktion durch ein Bio-Oss®-Partikel für Knochen.

(Affe 107-1112, Zahn 47, Schnitt A)

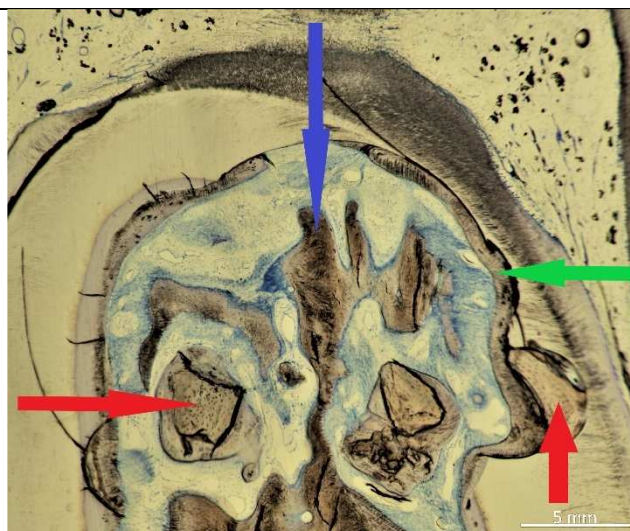


Abbildung 12: Bio-Oss®-Partikel im neu entstandenen Knochen eingebettet.

Horizontaler Defekt, PDGF-Gruppe:

Entstehung von neuem Knochen und ZEZ im Bereich des Furkationsdefektes zu erkennen. Mehrere Bio-Oss®-Partikel im neu entstandenen Knochen dargestellt.

Blau: Knochen.

Grün: ZEZ.

Rot rechts: Bio-Oss®-Partikel in der Markierungskerbe innerhalb des ZEZ.

Rot links: Bio-Oss®-Partikel im neu entstandenen Knochen.

(Affe 57-52, Zahn 46, Schnitt B)

3.2.2. Statistische Auswertung

Bei der Betrachtung aller ausgewerteten 65 Schnitte konnten Unterschiede bei der Bildung von Knochen, ZEZ, Bindegewebe und dem Saumepithel zwischen den verschiedensten Versuchsgruppen herausgefiltert werden. Tendenziell konnte bei der Analyse der Daten des neugebildeten Knochens eine vermehrte Knochenbildung in der Kontrollgruppe (vgl. Abb. 13 und Abb. 14) festgestellt werden.

Keine prägnanten Unterschiede wies der Vergleich der unterschiedlichen Defektkonfigurationen aus, sowohl bei dem Vergleich der Knochenhöhe innerhalb des Defektes als auch im Vergleich der Flächen. Die Unterschiede zwischen der GTR-Membran-Gruppe und der PDGF-Gruppe waren gering (vgl. Abb. 13 und Abb. 14). Auffällig war, dass Zähne, die den Wachstumsfaktor PDGF erhielten, den geringsten Anteil an neugebildetem Knochen aufwiesen (vgl. Abb. 13 und Abb. 14). Trotz der kleinen Abweichungen konnten keinerlei signifikante Unterschiede nachgewiesen werden ($p > 0,05$), weder zwischen den 3 Behandlungsgruppen noch beim Vergleich der beiden Defektkonfigurationen.

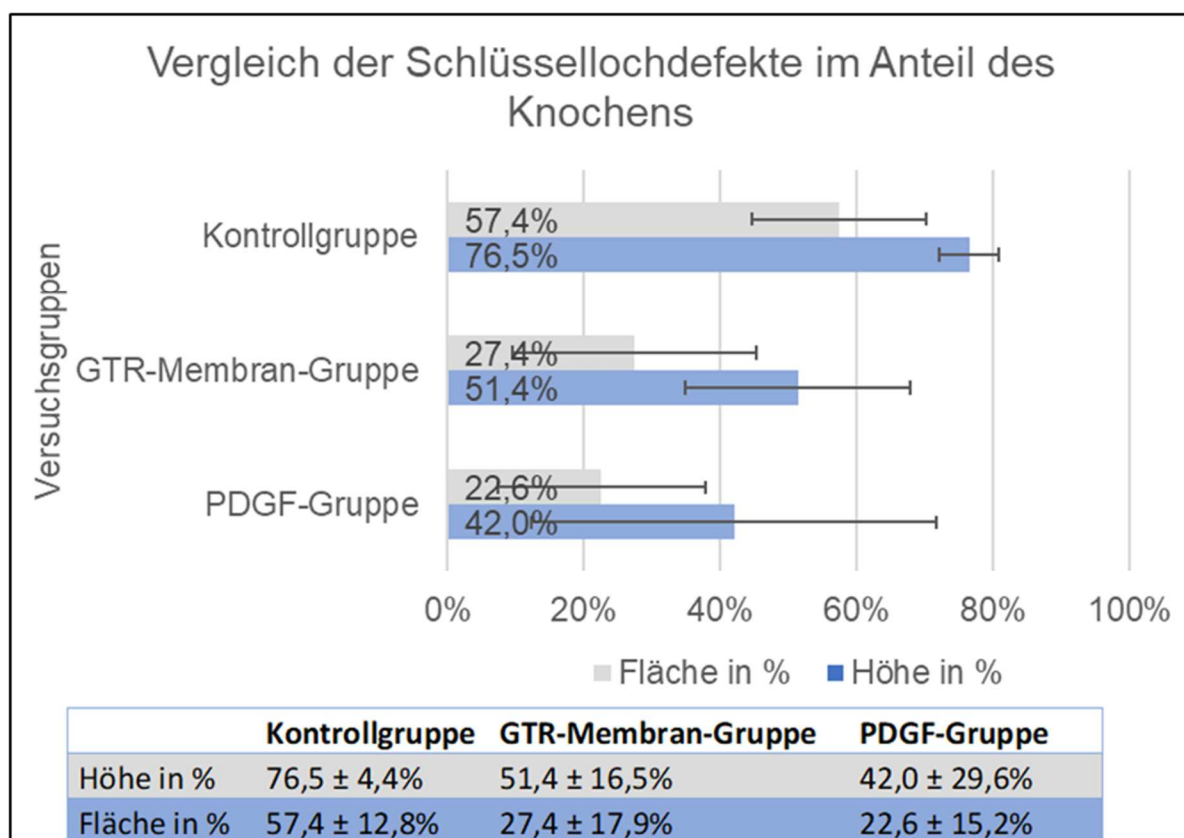


Abbildung 13: Vergleich der Schlüssellochdefekte im Anteil des Knochens mit Standardabweichungen.

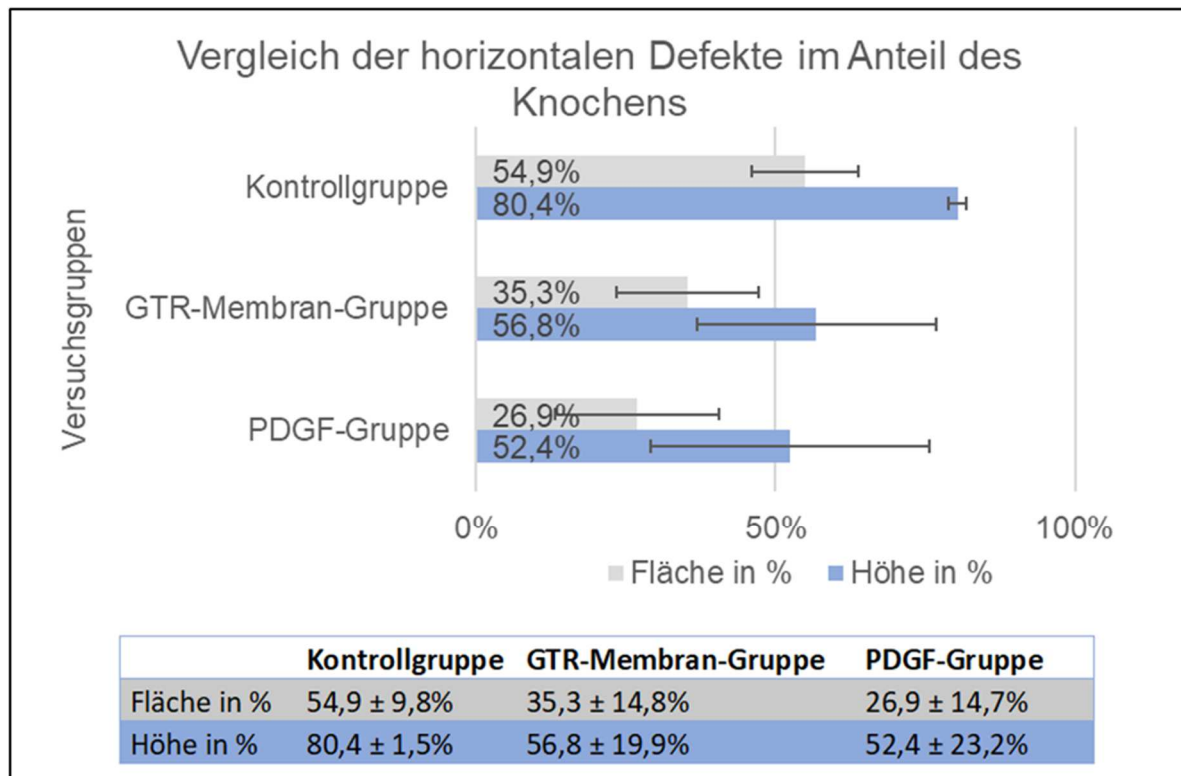


Abbildung 14: Vergleich der horizontalen Defekte im Anteil des Knochens mit Standardabweichungen.

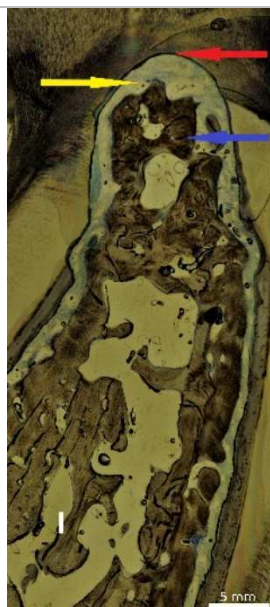


Abbildung 15: Fast vollständige Auskleidung mit Knochen im Defektbereich.

Schlüssellochdefekt, Kontrollgruppe:

Fast vollständige Auskleidung mit Knochen im Defektbereich. Keine Bildung von Saumpithel zu erkennen.

Rot: Koronales Ende der Furkation.

Blau: Neu entstandener Knochen.

Gelb: Bindegewebe.

(Affe 57-227, Zahn 37, Schnitt A)

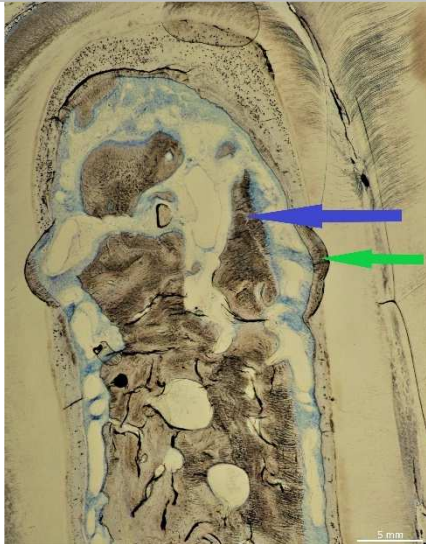


Abbildung 16: Entstehung von Knochen und ZEZ im Defektbereich.

Horizontaler Defekt, GTR-Membran-Gruppe: Entstehung von Knochen und ZEZ im Defektbereich. Erkennbar weniger dichte Durchflechtung von Knochen im Vergleich zu der Abbildung 15. Keinerlei Bildung von Saumepithel zu erkennen.

Blau: Flächige Stellen von Knochen.

Grün: Entlang des Umfangs des beschriebenen Defektes vermehrt ZEZ in den Kerben.

(Affe 57-112, Zahn 36, Schnitt C)

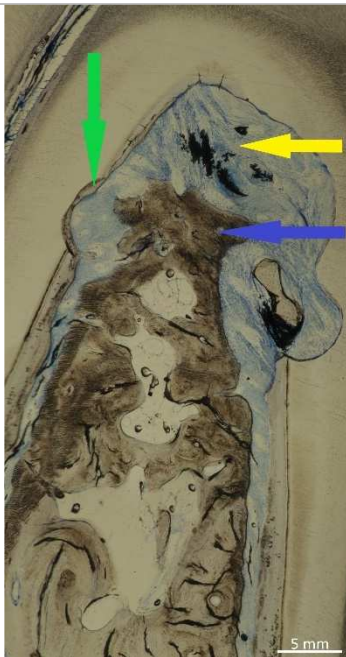


Abbildung 17: Geringer Anteil an Knochenbildung im Defektbereich.

Horizontaler Defekt, PDGF-Gruppe:

Entstehung von Knochen und ZEZ im Defektbereich. Im Vergleich zu den Abbildungen 15 und 16 geringerer Anteil an Knochen lichtmikroskopisch sichtbar.

48% des Defektbereiches sind von Bindegewebe ausgefüllt. Keinerlei Bildung von Saumepithel zu erkennen.

Blau: Koronales Ende des Knochens.

Grün: Linke Markierungskerbe ausgefüllt von ZEZ.

Gelb: Große Flächen von Bindegewebe.

(Affe 57-227, Zahn 46, Schnitt B)

3.3. Zelluläres Eigenfaserzement

3.3.1. Histologische Auswertung

Lichtmikroskopisch ließ sich bei 100% der nicht beschädigten Molaren-Schnitte der unterschiedlichsten Versuchsgruppen bzw. Defektkonfigurationen eine Entstehung von ZEZ feststellen.

Unter den Präparaten waren histologische Schnitte dabei, welche eine vollständige und kontinuierliche Schicht an ZEZ entlang des Bereiches koronal der Markierungskerben aufwiesen. Bei anderen histologischen Schnitten konnte beobachtet werden, dass die Zementschicht immer wieder an der kontaminierten Wurzeloberfläche unterbrochen wurde. Doch nicht nur die Kontinuität der Zementschicht wies Unterschiede auf, sondern auch die Dicke der jeweiligen Schicht zeigte viele Varianten. Das Furkationsdach wies eine Auskleidung mit Saumepithel in Fällen aus, in denen keine Regeneration mit ZEZ stattgefunden hatte.

Histologisch sehr gut erkennbar war auch der strukturelle Unterschied zwischen dem apikal der Markierungsrille gelegenen azellulär-fibrillären Zement, der natürlicherweise in der Furkation zu finden ist, und des ZEZ. Die Schichten des natürlichen, anatomischen Zements wiesen eine viel höhere Homogenität sowohl in der Schichtdicke als auch in der Struktur auf (vgl. Abb. 19).

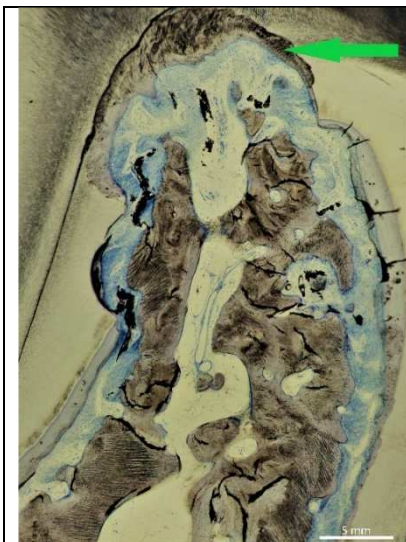


Abbildung 18: Breite Schicht ZEZ im Defektbereich.

Schlüssellochdefekt, PDGF-Gruppe:

Übersicht

Grün: Entwicklung einer breiten Schicht ZEZ im Defektbereich.

(Affe 57-104, Zahn 46, Schnitt C)



Abbildung 19: Unterschiedliche Zementarten.

Schlüssellochdefekt, PDGF-Gruppe:

Ausschnitt

Hier ist der unterschiedliche Aufbau zwischen azellulärem-fibrillärem Zement und ZEZ zu erkennen.

Rot: azellulärer-fibrillärer Zement.

Grün: ZEZ.

(Affe 57-104, Zahn 46, Schnitt C)

3.3.2. Statistische Auswertung

Es konnte im Durchschnitt eine vermehrte Entstehung von ZEZ bei Zähnen der Kontrollgruppen im Vergleich zu den therapierten Molaren beobachtet werden und zwar unabhängig von den verschiedenen Defektkonfigurationen. Schlüssellochdefekte der Kontrollgruppe wiesen 7% der Gesamtfläche an ZEZ auf und horizontale Defekte der Kontrollgruppe 6%. Die Ergebnisse der ZEZ-Entstehung bei horizontalen Defekten wiesen kaum Unterschiede zu der Kontrollgruppe auf.

Die horizontalen Defekte zeigten sowohl bei der GTR-Membran-Gruppe (5% der Gesamtfläche) als auch bei der PDGF-Gruppe (7% der Gesamtfläche) mehr ZEZ-Entwicklung auf als die im Vergleich gesetzten Schlüssellochdefekte. Bei Schlüssellochdefekten wies die PDGF-Gruppe lediglich 4% der Gesamtfläche an ZEZ auf. Trotz dieser kleinen genannten Unterschiede konnte, sowohl zwischen den drei Behandlungsgruppen als auch beim Vergleich zwischen den beiden Defektkonfigurationen, kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

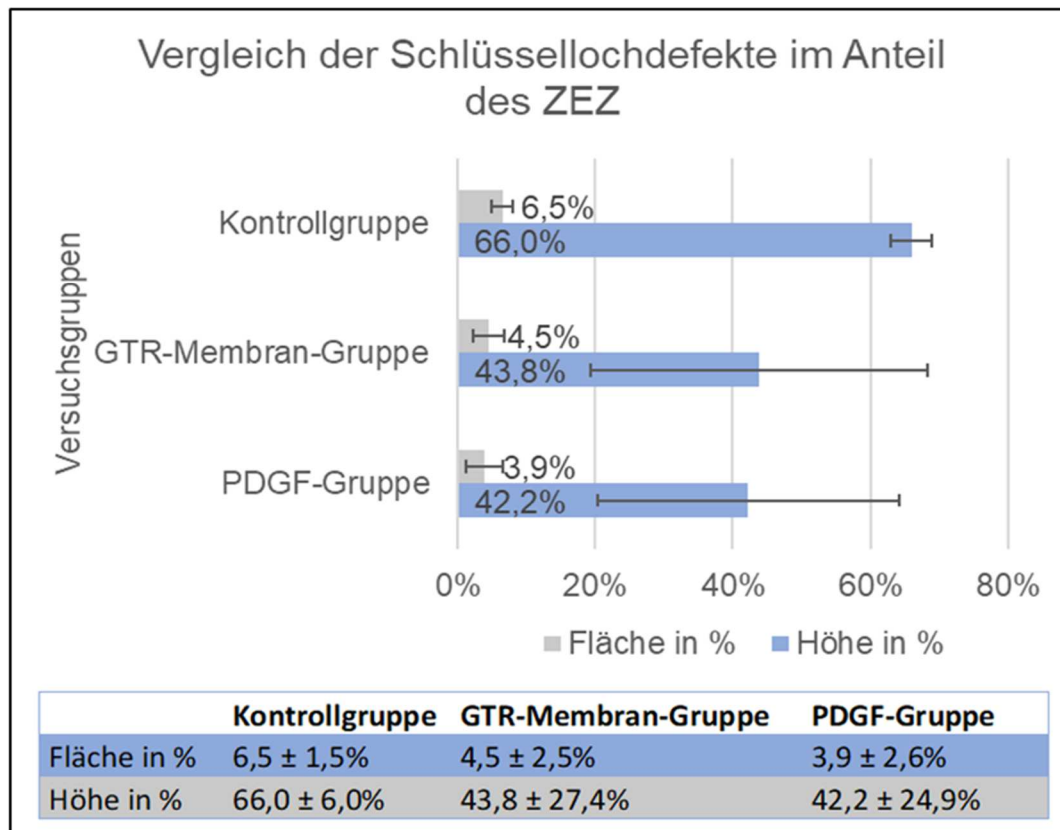


Abbildung 20: Vergleich der Schlüssellochdefekte im Anteil des ZEZ mit Standardabweichungen.

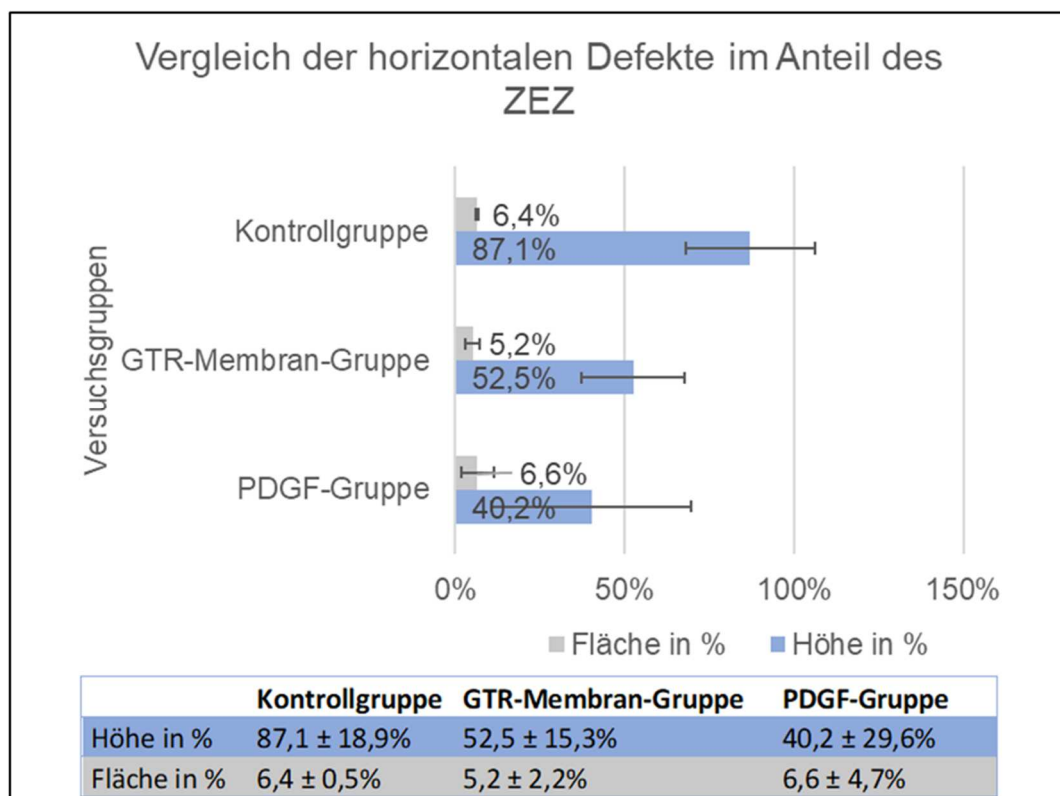


Abbildung 21: Vergleich der horizontalen Defekte im Anteil des ZEZ mit Standardabweichungen.



Abbildung 22: vollständig durchgehende Schicht an ZEZ im gesamten Defektbereich.

Schlüssellochdefekt, Kontrollgruppe:
Eine fast vollständig durchgehende Schicht an ZEZ zwischen dem Dentin und dem neugebildeten Bindegewebe entlang des gesamten Defektbereiches.

Grün: ZEZ-Schicht.

Rot: Dentin.

Gelb: Neu gebildetes Bindegewebe.

(Affe 57-52, Zahn 36, Schnitt B)

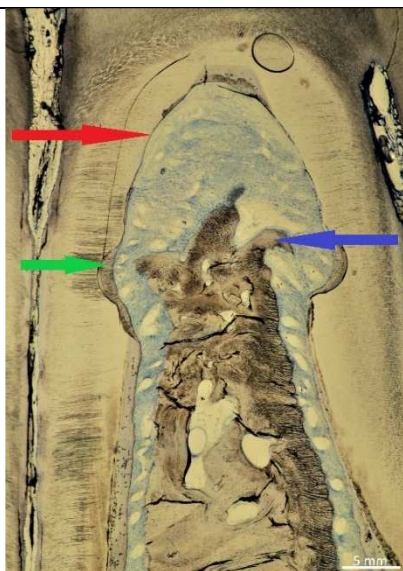


Abbildung 23: unterbrochene Schicht des ZEZ im Defektbereich.

Horizontaler Defekt, GTR-Membran-Gruppe: Knochen und ZEZ im Defektbereich. Streckenweise unterbrochene Schicht entlang des Dentins

von ZEZ im Vergleich zum Zahn der Kontrollgruppe.

Rot: Abschnitt ohne ZEZ.

Blau: Knochen.

Grün: ZEZ.

(Affe 57-112, Zahn 36, Schnitt B)

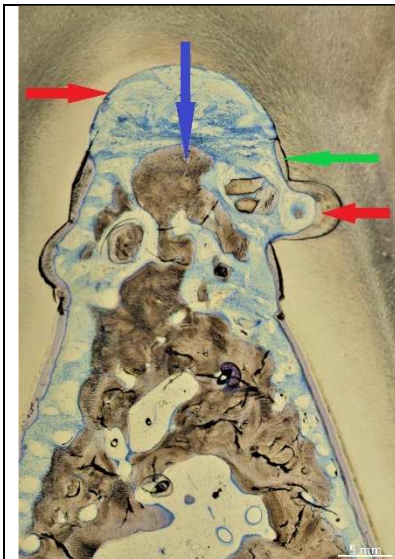


Abbildung 24: unterbrochene Schicht des ZEZ im Defektbereich.

Horizontaler Defekt, PDGF-Gruppe:
Knochen und ZEZ im Defektbereich.
Streckenweise entlang des Umfanges,
oberhalb der Markierungskerben breite
Schichten an ZEZ. Besonders am
Furkationsdach jedoch kein ZEZ
nachweisbar.

Blau: Knochen.

Grün: ZEZ.

Rot rechts: Breite Schicht ZEZ.

Rot links: Kein ZEZ am Furkationsdach.

(Affe 57-52, Zahn 46, Schnitt A)

Beim Vergleich der beiden verschiedenen Defektkonfigurationen war erkennbar, dass es eine ungleiche Entwicklung an ZEZ gab. Eine leicht stärkere Entstehung von ZEZ wiesen die horizontalen Defekte (6% der Fläche des Defektbereiches) im Vergleich zu den Schlüssellochdefekten (5% der Fläche des Defektbereiches) auf.

3.4. Bindegewebe

3.4.1. Histologische Auswertung

Bindegewebe konnte bei 100% der histologischen Schnitte gefunden werden. Durchschnittlich 53% des Defektbereiches bestanden flächenmäßig aus Bindegewebe. Damit füllte Bindegewebe die größte Fläche des Defektbereiches aus.

Der neugebildete Knochen war auf 100% der histologischen Präparate von Bindegewebe umgeben. Es konnte lichtmikroskopisch weder eine Verbindung von ZEZ noch von Saumepithel, noch von Dentin mit Knochen festgestellt werden. Als Schlussfolgerung ist davon auszugehen, dass es bei keinerlei Versuchszähnen zu Ankylosen kam.

Zusätzlich zu beobachten waren außerdem viele Einsprossungen von Blutgefäßen, die sich als weiße Stellen darstellten.



Abbildung 25: Gefäßsprossungen im Bindegewebe.

Horizontaler Defekt, Kontrollgruppe:
Lichtmikroskopisch gut zu erkennen das blau gefärbte Bindegewebe mit diversen Blutgefäßsprossungen die im gesamten Bindegewebe verteilt sind.
Rot: Blutgefäßsprossungen.
Gelb: Bindegewebe.

(Affe 57-112, Zahn 37, Schnitt A)

3.4.2. Statistische Auswertung

Wenn man die Höhe des Defektbereich betrachtet, erreichten alle Defektbereiche bindegewebige Werte von über 90% mit Ausnahme der Schlüssellochdefekte der PDGF-Gruppe. Da die Furkationsdächer dieser Gruppe im Vergleich mehr Epithel aufwiesen, erreichten sie lediglich im Durchschnitt eine Höhe von 77%. Der flächenmäßige Anteil des Bindegewebes, wie schon in der histologischen Auswertung besprochen, war der größte Gewebeanteil von allen bezogen auf alle Defektbereiche. Bei Zähnen, die der PDGF-Gruppe angehörten, lag der prozentuale Flächenanteil des Bindegewebes zwischen 8% (Schlüsselloch, PDGF-Gruppe) und 80% (horizontaler Defekt, PDGF-Gruppe). Die Werte der GTR-Membran-Gruppe lagen dazwischen mit 34% (horizontaler Defekt) und 77% (Schlüssellochdefekt). Die Zähne der PDGF-Gruppen und GTR-Membran-Gruppen wiesen einen geringeren Anteil an Knochengewebe auf als die Zähne der Kontrollgruppen. Bei Zähnen der Kontrollgruppe verhielt sich der prozentuale Anteil der verschiedenen Gewebearten genau umgekehrt: Kontrollzähne wiesen lediglich Bindegewebe mit einem Anteil von 35% (Schlüssellochdefekte) bis hin zu 40% (horizontale Defekte) auf. Verglichen mit deren Knochenanteil von 57% (Schlüssellochdefekte) und 55% (horizontale Defekte) lag der bindegewebige Anteil daher deutlich darunter.

Es konnte jedoch sowohl zwischen den 3 Behandlungsgruppen als auch beim Vergleich zwischen den beiden Defektkonfigurationen kein substantieller Unterschied nachgewiesen werden ($P > 0,05$).

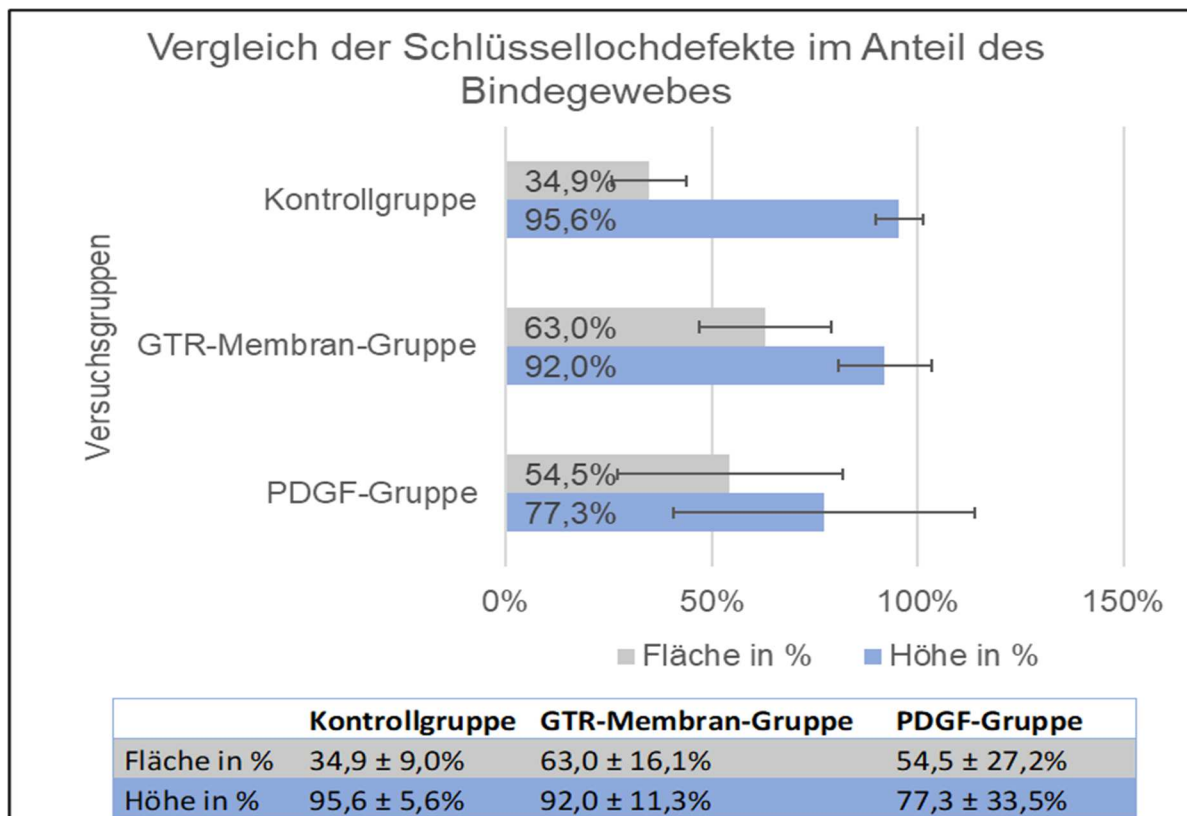


Abbildung 26: Vergleich der Schlüssellochdefekte im Anteil des Bindegewebes mit Standardabweichungen.

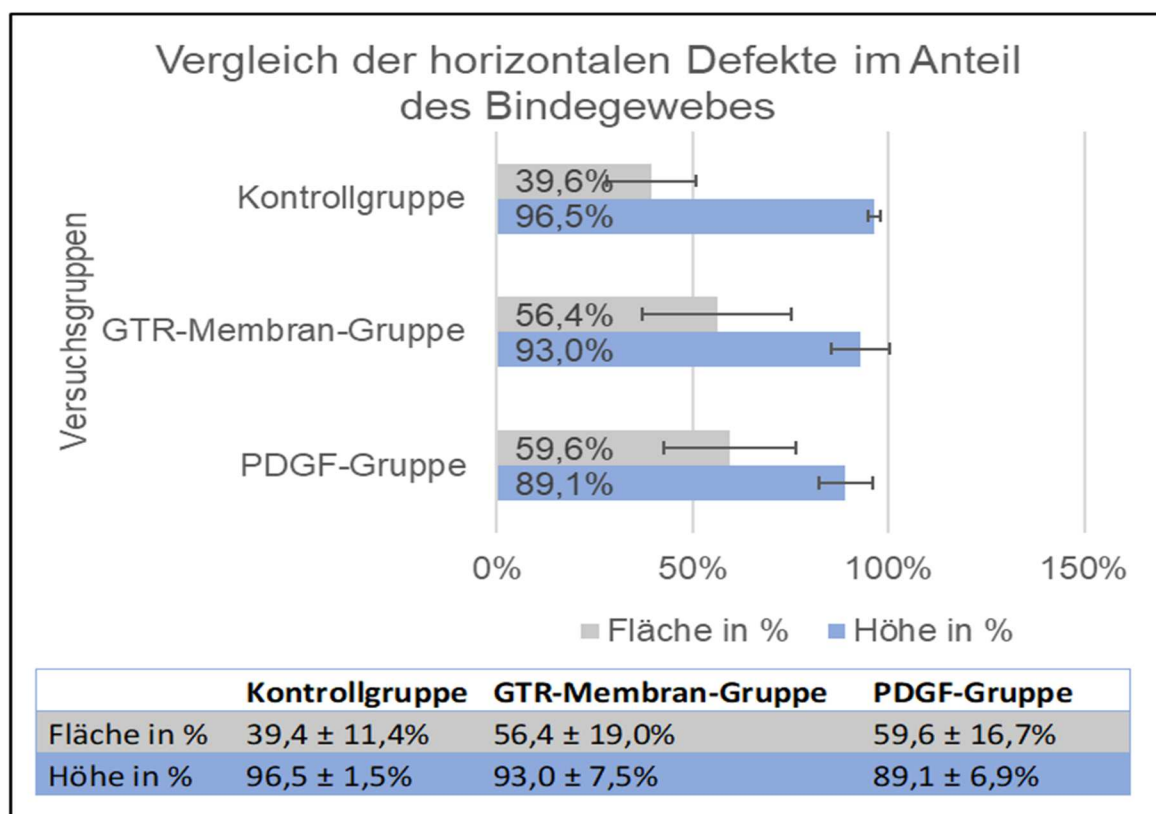


Abbildung 27: Vergleich der horizontalen Defekte im Anteil des Bindegewebes mit Standardabweichungen.

3.5. Saumepithel

3.5.1. Histologische Auswertung

Saumepithel konnte lediglich im Bereich des Furkationsdaches beobachtet werden. Klare Grenzen zwischen unverhorntem Plattenepithel und dem Bindegewebe bzw. dem Furkationsdach waren sichtbar.

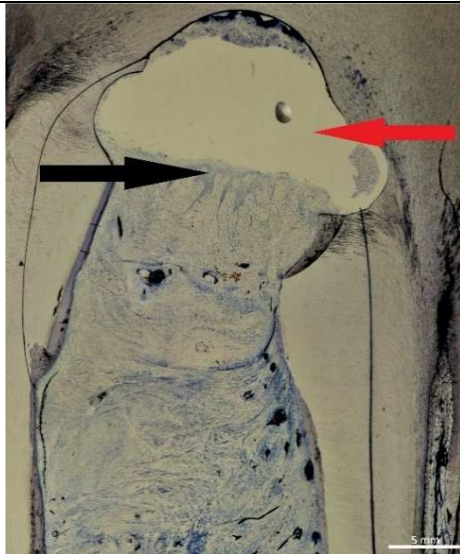


Abbildung 28: Vollständig ausgefüllter Defektbereich mit Saumepithel.

Schlüssellochdefekt, PDGF-Gruppe:
Lediglich Saumepithel ist zu erkennen und teilweise herausgewaschenes Saumepithel.
Rot: weißer Bereich ist vollständig herausgewaschenes Saumepithel.
Schwarz: Vorhandenes Saumepithel.

(Affe 57-112, Zahn 47, Schnitt A)

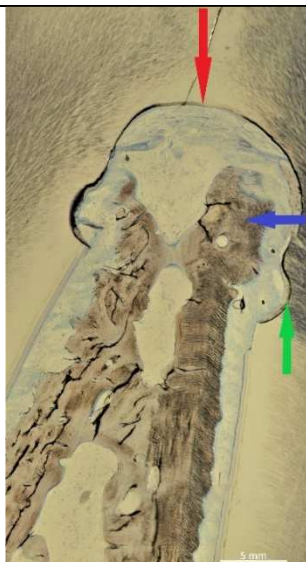


Abbildung 29: Defektregeneration ohne Saumepithelbildung.

Schlüssellochdefekt, GTR-Membran-Gruppe:
Knochen und ZEZ im Bereich des Defektbereiches. Keine Bildung von Saumepithel am Furkationsdach zu erkennen.
Blau: Knochen.
Grün: ZEZ.
Rot: Furkationsdach.

(Affe 57-52, Zahn 37, Schnitt A)

3.5.2. Statistische Auswertung

Die Bildung von Saumepithel konnte überwiegend (bei 22 von 24 Zähnen) auf ein Minimum (unter 8% der Gesamtfläche des Defektbereiches) reduziert werden. Bei 10 von 24 Furkationen konnte keinerlei Entwicklung von Saumepithel festgestellt werden.

Bei der Analyse des Saumepithels konnten die beim Knochen und ZEZ erhaltenen Ergebnisse bestätigt werden. Die größere Regeneration konnten in den Kontrollgruppen erzielt werden, denn bezogen auf die Durchschnittswerte zeigten die Kontrollgruppen die geringste Entwicklung von Saumepithel auf. Bei einem Schlüssellochdefekt der Kontrollgruppe konnte Saumepithel lichtmikroskopisch entdeckt werden. Dies betrug aber lediglich 3% der Gesamtfläche des Defektbereiches. Bei den horizontalen Defekten der Kontrollgruppe konnte kein Saumepithel festgestellt werden. 75% der Präparate der Kontrollgruppe wiesen keinerlei Epithel auf.

Die Daten der horizontalen Defekte wiesen eine geringere Bildung von Saumepithel auf als die Daten der Schlüssellochdefekte.

Zähne der GTR-Membran-Gruppe mit einem horizontalen Defekt wiesen durchschnittlich flächenmäßig nur 2% Saumepithel auf, während Schlüssellochdefekte der gleichen Therapiegruppe durchschnittlich 4% Saumepithelfläche gebildet hatten.

Ähnliches wurde bei den PDGF-Gruppen entdeckt: Horizontale Defekte bestanden flächenmäßig, durchschnittlich zu 6% aus Saumepithel. Im Vergleich enthielten flächenmäßig die Schlüssellochdefekte 19% Saumepithel.

Bei einem der Versuchszähne (Schlüssellochdefekt, PDGF-Gruppe) ist es aus unbekanntem Grund zu einer extremen Bildung von Epithelgewebe gekommen. 91% der Gesamtfläche des Defektbereiches bestanden aus Saumepithel. Dementsprechend enthielt der Defektbereich einen sehr geringen Anteil ZEZ (2% der Gesamtfläche des Defektbereiches). Knochen fehlte vollständig innerhalb des Defektbereiches. Auffällig waren die Werte der verschiedenen Gewebearten sowohl im Vergleich zu den durchschnittlichen Werten aller Defekte als auch im Vergleich zu den Werten anderer Schlüssellochdefekte innerhalb der PDGF-Gruppe.

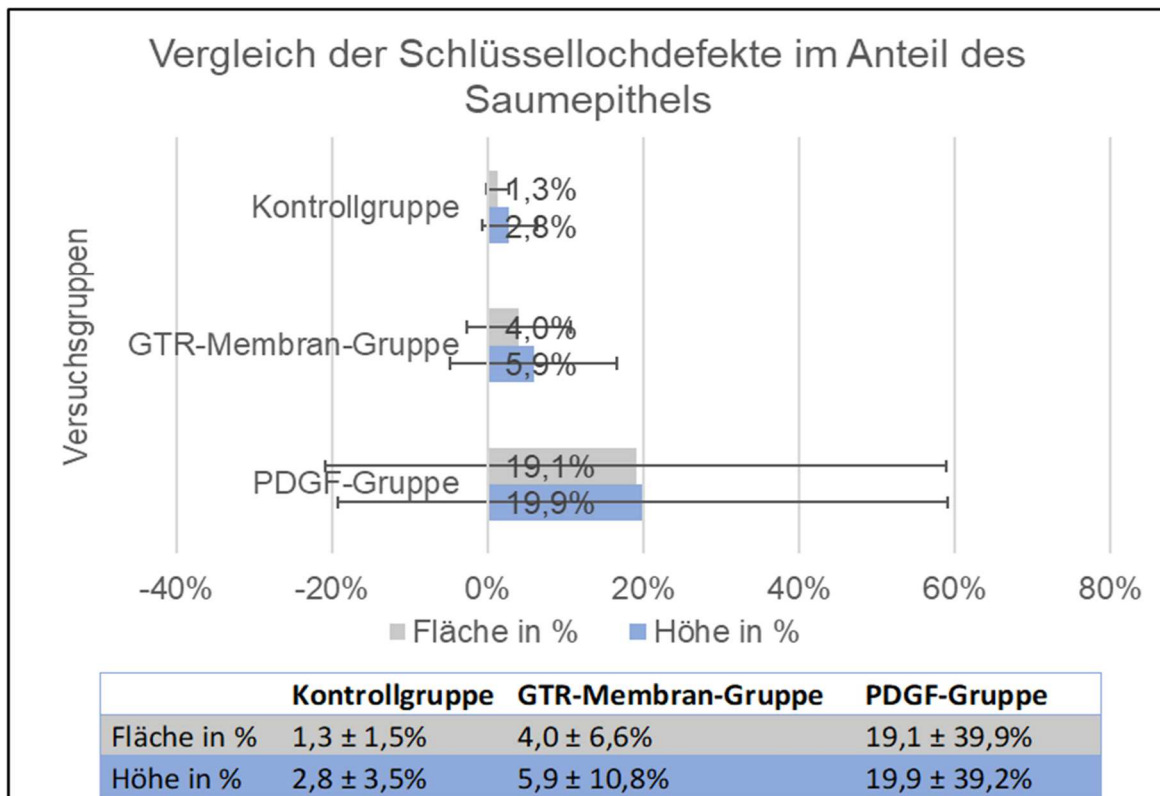


Abbildung 30: Vergleich der Schlüssellochdefekte im Anteil des Saumepithels mit Standardabweichungen.

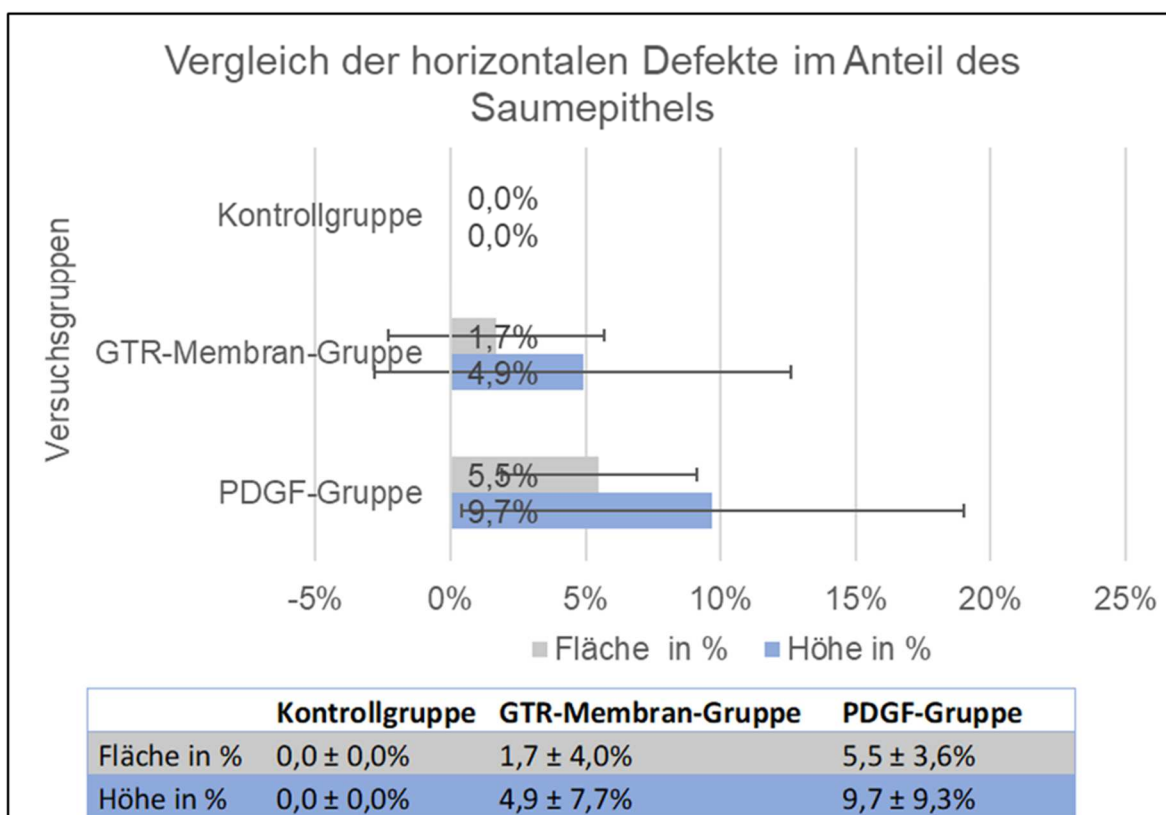
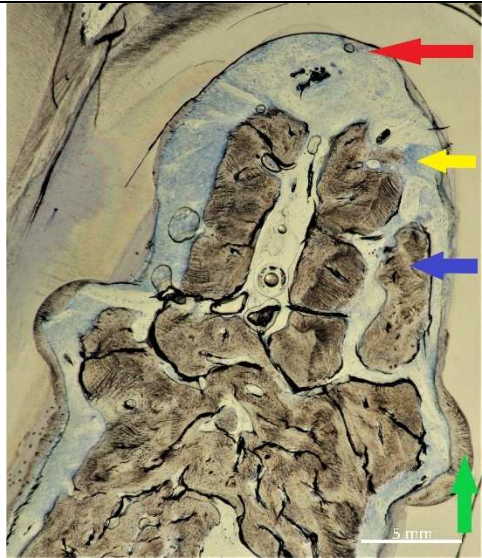



Abbildung 31: Vergleich der horizontalen Defekte im Anteil des Bindegewebes mit Standardabweichungen.

Die testweise geführte Analyse mit dem Ausschluss dieses Zahnes aus den Berechnungen führte jedoch zu einem unveränderten Ergebnis. Die Defekte der PDGF-Gruppen bildeten im Durchschnitt den größten flächenmäßigen und auch höhenmäßigen Anteil an Saumepithel. Keine tendenziellen Unterschiede zu den Kontrollgruppen oder GTR-Membran-Gruppen konnten gemessen werden. So konnte sowohl zwischen den drei verschiedenen Therapie-Gruppen als auch beim Vergleich der beiden Defektarten kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden ($p > 0,05$).

 <p>Abbildung 32: <i>Regeneration ohne Saumepithelbildung.</i></p>	<p>Horizontaler Defekt, Kontrollgruppe: Kein Saumepithel am Furkationsdach zu erkennen. ZEZ, Knochen und Bindegewebe kleiden den Defektbereich aus.</p> <p>Blau: Knochen. Grün: ZEZ. Rot: Furkationsdach. Gelb: Bindegewebe.</p> <p>(Affe 57-104, Zahn 36, Schnitt B)</p>
 <p>Abbildung 33: <i>Starke Bildung von Saumepithel.</i></p>	<p>Schlüssellochdefekt, GTR-Membran-Gruppe: Geringe Anteile von Knochen und ZEZ im Defektbereich. Ein großer Anteil von unkerntem Plattenepithelgewebe ist deutlich sichtbar.</p> <p>Blau: Knochen. Grün: ZEZ. Rot: unkerntes Plattenepithelgewebe.</p> <p>(Affe 107-1112, Zahn 46, Schnitt A)</p>

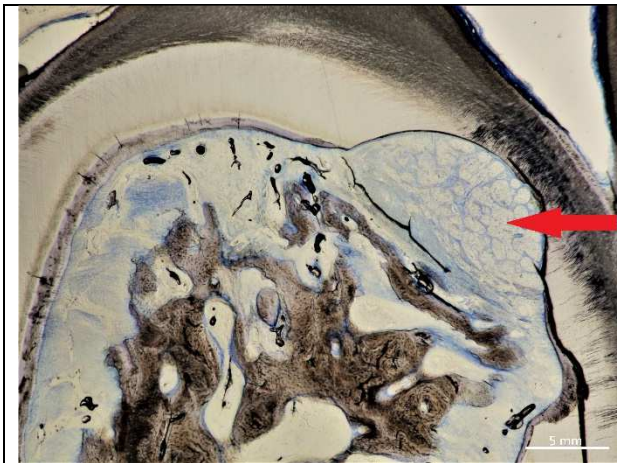


Abbildung 34: Entstehung von Saumepithel.

Horizontaler Defekt, PDGF-Gruppe:
Entstehung von Saumepithel, Knochen
und ZEZ im Defektbereich.

Rot: Saumepithel.

(Affe 57-52, Zahn 47, Schnitt C)

4. Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde der Wachstumsfaktor PDGF kombiniert mit einer bioresorbierbaren GTR-Membran und einem xenogenen KEM zur Behandlung von verschiedenen konfigurierten Furkationsdefekten Grad III verwendet. Die parodontalen Furkationsdefekte wurden in jeweils vier Unterkiefermolaren bei sechs Affen chirurgisch herbeigeführt. Das vorliegende Modell evaluiert die parodontale Regeneration an Furkationen, denen chirurgisch das parodontale Gewebe innerhalb der Furkationen entfernt wurde. Anschließend wurde eine chronische Parodontitis simuliert indem explizit auf Mundhygienemaßnahmen verzichtet wurden.

4.1. Diskussion der Materialien und Methoden

Die Auswertung regenerativer Verfahren bei furkationsbeteiligten Zähnen ist vielfältig. Wie auch in dieser Studie wird dabei kritisch die Entstehung neuen parodontalen Gewebes wie Desmodont, Gingiva, Alveolarknochen und Zement betrachtet. Entsteht überhaupt neues Gewebe? Im Falle einer Bildung von parodontalem Gewebe, welche Gewebeart entsteht wann, wo, zu welchem Zeitpunkt, unter welchen Umständen?

All diese Fragen wurden versucht durch zahlreiche Studien zu klären. Eine Vielzahl von Studien beschäftigte sich mit regenerativen Therapien wie der GTR-Membran, KEM, Wachstumsfaktoren u.v.a. von Furkationsdefekten Grad I oder II. Diese deuten oft auf eine erfolgreiche Therapie von nicht durchgängigen Furkationen hin. So kann zum Beispiel die

GTR-Membran-Therapie von Grad II-Furkationen in vielen Studien gute Erfolge vorweisen [15, 36]. Deutlich weniger Studien zu regenerativen Verfahren befassen sich mit Furkationsdefekten Grad III. In der herrschenden Lehrmeinung erfolgt die Behandlung von durchgängigen Furkationen resektiv und nicht regenerativ. Ergebnisse diverser Studien deuten auf eine Nicht-Vorhersagbarkeit bei regenerativen Behandlungen von Furkationsdefekten Grad III hin [53].

Die histologische Bewertung von Ergebnissen regenerativer Techniken ist notwendig, um Erkenntnisse über deren Erfolg bei der Regeneration bzw. der Wundheilung bestimmter Läsionen zu gewinnen. Da es mit Schwierigkeiten behaftet ist, menschliche Proben für die histologische Auswertung zu erlangen, werden üblicherweise Tiermodelle begutachtet. So gelten histologische Studien am Tiermodell als ein wegweisender Pfad, um im Anschluss den Erfolg einer bestimmten Kombination regenerativer Verfahren in klinischen Studien zu testen. Inwieweit jedoch die Regenerationsfähigkeit bzw. die Wundheilungen der einzelnen Spezies zu vergleichen sind bzw. welche Faktoren Unterschiede bei den verschiedensten Forschungsergebnissen ausmachen, müsste in anderen wissenschaftlichen Arbeiten geklärt werden.

Vergleichbare Studien, in denen die Kontrollgruppen im Unterschied zu der vorliegenden Studie eine schlechtere Regenerationsfähigkeit aufwiesen [74], wurden oft an der Spezies Hund durchgeführt. Um Studien an verschiedensten Spezies miteinander vergleichen zu können bzw. Aussagen zu treffen, ob die Voraussetzungen miteinander vergleichbar sind, müsste die natürliche Regeneration aller einzelnen Spezies genauestens erforscht sein. Es gibt keinerlei Literatur, die verschiedene Spezies vergleicht.

In der hier vorliegenden Studie sollte evaluiert werden, ob es bei einer Kombination von einer GTR-Membran mit xenogenem KEM durch die Zugabe des Wachstumsfaktors PDGF zur erfolgreichen, vorhersagbaren regenerativen Therapie von Furkationsdefekten Grad III kommt.

4.1.1. Verwendung unterschiedlicher Defektkonfigurationen

Die ausgewählten Zähne dieser Studie wurden alle mit einem Furkationsdefekt Grad III versehen. Zusätzlich wurde die Defektmorphologie bei der einen Hälfte als horizontaler Defekt und bei der anderen Hälfte als Schlüssellochdefekt präpariert, denn ein furkationsbeteiligter Zahn gleicht nicht einem anderen furkationsbeteiligten Zahn. Deshalb ist es fraglich, ob ihre Regenerationsfähigkeit überhaupt miteinander vergleichbar ist.

Aus diesem Grunde wurde in der vorliegenden Studie eine zusätzliche Unterscheidung zwischen zwei verschiedenen Defektkonfigurationen mit jeweils den gleichen Voraussetzungen getroffen.

Vergleichbare Studien, die sich mit den horizontalen Defekten bei Zähnen des Furkationsbefalls Grad III beschäftigen, variieren in den Ergebnissen [18, 53, 69, 74, 99].

Wie ist jedoch die Regeneration bei sogenannten „Schlüssellochdefekten“? Macht es einen Unterschied, ob noch ein Wandkontakt zu ursprünglichem Knochengewebe vorhanden ist? Schlägt die Therapie bei Schlüssellochdefekten geringer an oder führt sie zu einem erfolgreicherem Resultat als horizontale Defekte?

Mit den hier dargestellten Auswertungen der Regenerationsfähigkeit der Unterkiefermolaren konnte die Variable der Defektgröße zumindest exemplarisch untersucht werden. Es konnte gezeigt werden, dass es zwar sehr geringe, aber doch ersichtliche Unterschiede zwischen den beiden verschiedenen Defektkonfigurationen gab.

Um eine genauere Voraussagbarkeit von parodontal regenerativen Verfahren zu erläutern, müsste man jedoch noch weitere Konfigurationszustände simulieren. Dies zu erforschen ist jedoch kaum möglich. So ist es bei dem Vergleich verschiedener Defektmodellarten aber trotzdem möglich, eine Tendenz zu erkennen.

Bei der Gegenüberstellung von horizontalen Defekten und Schlüssellochdefekten bei identischer Therapie konnte die Therapie der horizontalen Defekte erfolgreicher durchgeführt werden.

Studien, die die parodontale Regenerationsfähigkeit des autologen Wachstumsfaktor PDGF bei einem horizontalen Defekt innerhalb einer durchgängigen Furkation erforschten, konnten diese Furkationen teilweise erfolgreich regenerativ behandeln [18]. Die vorliegende Studie konnte dieses Ergebnis nicht bestätigen. Ursächlich dafür könnte die in dieser Studie ausgebliebene Wurzelkonditionierung mit Zitronensäure sein oder die ausbleibende Regeneration aufgrund der marginal freigelegenen Membranen.

4.1.2. Verwendung der verschiedenen Therapieoptionen

Auf der einen Seite versprechen die regenerativen Verfahren eine gute Alternative zu resektiven Verfahren. Auf der anderen Seite stehen Kliniker häufig vor der Herausforderung, Patienten mit großen Knochendefekten durch Parodontalerkrankungen zu behandeln. Aufgrund der signifikanten Aktivität von rekombinantem PDGF während der parodontalen Regeneration wurde dessen Wirksamkeit untersucht. Einige Studien konnten zeigen, dass Wachstumsfaktoren, vor allem rekombinantes PDGF, die Fähigkeit besitzen die parodontale Regeneration zu verbessern [50, 81].

Wachstumsfaktoren sind natürlich vorkommende Polypeptidmoleküle, die während der parodontalen Wundheilung verschiedenste Aufgaben wie Chemotaxis, Differenzierung, Proliferation und Synthese von Matrixproteinen übernehmen.

Die bloße Anwendung von Wachstumsfaktoren bei Furkationsdefekten Grad III führte zu Wurzelresorptionen. Jedoch wurde in der gleichen Studie die erfolgreiche Kombination von GTR-Membran und der Anwendung von parodontaler Wachstumsfaktoren beschrieben. Die kombinierte Therapie von GTR-Membran und PDGF stimulierte die Bildung von fibrösem Bindegewebe in früheren Stadien als die reine GTR-Therapie, was zu einer frühzeitigen Wundstabilisierung führte. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass eine PDGF-modulierte GTR-Membran-Therapie wirksam die Regeneration parodontalen Gewebes bei großen Furkationsdefekten fördert [18].

Ursachen für die unterschiedlichen Ergebnisse können vielfältig sein. Cho, et al. [18] verwendeten bei ihrer Studie eine nicht-resorbierbare GTR-Membran, im Gegensatz zu der hier verwendeten resorbierbaren GTR-Membran, welche innerhalb von 4 Wochen resorbierte. Gleichmaßen könnte die Exposition einer GTR-Membran die Ergebnisse der regenerativen Therapie negativ beeinflusst haben. Es hat sich gezeigt, dass die Exposition der Membran die Ergebnisse verschlechtert [54]. Zusätzlich verzichteten wir auf eine Konditionierung der Wurzeloberfläche. Es können jedoch auch Gründe wie eine andere Spezies (Hund vs. Affe) oder die Betrachtung unterschiedlicher Defektkonfigurationen sein.

Die Anwendung einzelner, verschiedener Regenerationsverfahren der Parodontologie wie zum Beispiel KEM führten sowohl im Tiermodell als auch in klinischen Studien zu einer erfolgreichen Knochenregeneration [6, 95]. Ebenso wird in verschiedensten Studien von einer erfolgreichen alleinigen Anwendung verschiedenster GTR-Membran-Techniken bzw. resorbierbarer GTR-Membranen berichtet [8, 102].

Es ist jedoch nicht genau definiert, welche einzelnen Faktoren bzw. Voraussetzungen für die erfolgreiche Therapie mit den verschiedensten regenerativen Verfahren wesentlich sind. Gute Bedingungen für prognostizierbare Heilungsergebnisse können also von verschiedenen Therapieoptionen oder von den jeweiligen biologischen Faktoren abhängen.

Es wird spekuliert, dass eine voranschreitende Wiederherstellung parodontalen Gewebes, einschließlich dem fibrösem Bindegewebe, dem Alveolarknochen und dem Desmodont, das gebildete Saumepithel nach koronal verschiebt und letztendlich aus der Läsion eliminiert wird, wenn der Defekt vollständig mit neuem parodontalen Gewebe gefüllt ist [69].

In dieser Studie wurde der Vorteil einer bioresorbierbaren GTR-Membran genutzt. Der Vorteil gegenüber einer nicht-resorbierbaren GTR-Membran ist der nicht benötigte zweite operative Eingriff zur Membranentfernung. Bei einem weiteren chirurgischen Vorgehen kann es zu einer Zerstörung des bereits regenerierten Gewebes kommen und damit den komplexen Vorgang unterbrechen. Jedoch ist laut Cho, et al. [18] auch eine bioresorbierbare GTR-Membran nicht in der Lage, Nachteile wie z.B. den schlechten Wundverschluss oder eine Entzündungsreaktion gänzlich zu verhindern.

Doch auch die Kombinationen einzelner, regenerativer Therapieoptionen wie KEM, bioresorbierbare GTR-Membran und die Anwendung des Wachstumsfaktors PDGF konnten in der hier vorliegenden histologischen Studie nicht die Voraussagbarkeit und den Erfolg bei Furkationsdefekten Grad III aufzeigen.

Studien am Tiermodell (Ratten) über die Kombination von PDGF mit dem KEM Bio-Oss® unterhalb einer Teflonkapsel führten zu vergleichbaren Ergebnissen wie diese Studie. Die mittlere Menge an neuem Knochen in der Kontrollgruppe (21%) schien größer zu sein als in der Testgruppe (7%) [45].

4.1.3. Auswahl der ermittelten Messparameter

Nicht nur der Vergleich der unterschiedlichen Therapien und der unterschiedlichen Spezies mit den verschiedensten Defektkonfigurationen spielen bei der Auswertung eine Rolle, wichtig ist auch, wie und was bewertet wird.

Bei den Messungen der einzelnen Gewebearten entlang der Gesamtlänge des Defektbereiches konnte ausgewertet werden, unter welchen Umständen es zu einem Wachstum der unterschiedlichen parodontalen Gewebe in Richtung des Furkationsdach kommt. Viele vergleichbare Studien verwenden die Auswertung der Höhe des ursprünglichen parodontalen Furkationsdefektes [84]. Werte des Anteils an der Gesamthöhe war auch ein Teil unserer Messparameter, um einen Vergleich mit den meisten anderen Studien herzustellen.

In der vorliegenden Studie wurde jedoch auch der Anteil der Gewebefläche an der Gesamtfläche betrachtet. In dieser Messung steckt eine andere Aussagekraft. Wieviel Knochen sich in einem Raum gebildet hat, der ursprünglich aus nahezu 100% Knochen bestand. Beispielsweise betrug die Knochenhöhe an einem untersuchten Zahn (Horizontaler Defekt, PDGF-Gruppe) 82% der Gesamthöhe mit einem prozentualen Anteil von 50% Knochenfläche an der Gesamtfläche. Im Vergleich dazu wies ein anderer Zahn (Schlüssellochdefekt, Kontrollgruppe) ähnliche Werte in der Messung der Knochengewebshöhe aus [19], jedoch mit einem deutlich größeren Gewebeflächenanteil von 68%. Somit ist das koronale Wachstum der beiden Zähne ähnlich, jedoch besteht damit keinerlei Aussagekraft über das Regenerationsverhalten über den gesamten Defektbereich. Um genaue Aussagen treffen zu können, müsste sowohl das koronale Wachstum als auch die entstandenen Flächen betrachtet werden.

4.2. Diskussion der Ergebnisse

4.2.1. Ergebnisse der unterschiedlichen Defektkonfigurationen verbunden mit den verschiedenen Therapieoptionen

Bereits durchgeführte Studien an Defektmodellen von Tieren unter der Verwendung resorbierbarer Membranen für die parodontale Regeneration verschiedener Arten von Furkationsdefekten kamen oft zum gleichen Ergebnis: Die parodontale Regeneration ist unter der Verwendung von bioresorbierbaren GTR-Membranen erfolgreich. Grund für die sich unterscheidenden Ergebnisse zu dieser Studie könnten u.a. die unterschiedlichen Defektkonfigurationen sein, so wie die hier beschriebenen geringen Freilegungen der Membranen postoperativ. Die hier angesprochenen Studien beschreiben natürlich entstandene Parodontaldefekte [14] oder bukkale Dehiszenzen [52].

Pontoriero, et al. [74] beschäftigten sich in einer Studie mit der regenerativen Fähigkeit bei verschiedenen Defektkonfigurationen wie in der hier vorliegenden Studie. In seiner Forschungsarbeit wurden die GTR-Membran Therapie an drei verschiedenartigen Konfigurationen von Furkationsdefekten Grad III untersucht. Dies unterstützt das Ergebnis der hier präsentierten Studie, dass die Größe des Furkationsdefektes sowie die Form des umschließenden Alveolarknochens Faktoren sind, die die Ergebnisse der regenerativen Therapien mitbestimmen.

Ebenfalls unterstützt werden unsere Ergebnisse u.a. von Magnusson, et al. [53]. In beiden Studien waren keine erhöhten Regenerationsraten bei den Testzähnen im Vergleich zu den Kontrollzähnen zu verzeichnen. In unserer Studie kommen wir sogar zu einer verbesserten Regeneration innerhalb der Kontrollzähne.

Grund für die höhere Regenerationsfähigkeit der hier verwendeten Kontrollzähne könnte u.a. eine Anwesenheit bakterieller Ablagerungen auf dem freigelegtem GTR-Membranmaterial und damit auf den Wurzeloberflächen der therapierten Zähne sein. Sie könnten die Bildung von neuem parodontalen Gewebe insbesondere des Alveolarknochens beeinträchtigt haben. Diese Aussage wird durch die Ergebnisse einer ebenfalls an Affen durchgeführten Studie bestätigt [85]. Eventuell sind GTR-Membranen bei großen Furkationsdefekten Grad III sogar kontraproduktiv, da eine Exposition den Zugang von Bakterien zum Regenerationsbereich beschleunigen kann.

Den Mukoperiostlappen oberhalb der GTR-Membran zu halten, war schon immer eine große Herausforderung bei der regenerativen Therapie von Furkationsdefekten Grad III. Dennoch ist zu vermuten, dass die Expositionsrate bei Menschen geringer ausfällt als bei Tieren, da betroffene Patienten die Mundhygieneanweisungen postoperativ in der Regel befolgen.

Eine andere Studie, die sich ebenfalls mit der PDGF-modulierten Regenerationstherapie an Beagle-Hunden beschäftigte, kam zum Ergebnis, dass eine PDGF-modulierte GTR-Membran Therapie erfolgreich zu einer vollständigen parodontalen Regeneration führte. Dies tat sie schneller und effektiver als die reine GTR-Membran Therapie oder wie die alleinige PDGF-modulierte Therapie [18]. Grund für die erfolgreiche Therapie könnte die zusätzliche Konditionierung der Wurzeloberfläche mit Zitronensäure sein, denn laut Cho, et al. [18] deuten die Versuche darauf hin, dass eine demineralisierte Wurzeloberfläche die Fähigkeit haben könne, eine verzögerte Freisetzung des Wachstumsfaktors PDGF, der auf die Oberfläche aufgebracht wurde, herbeizuführen.

Die Studie von Park, et al. [69] verglich ebenfalls eine PDGF-moduliert geführte Geweberegenerationstherapie an horizontalen Furkationsdefekten Grad III und kam zu ähnlichen Ergebnissen bei Beagle-Hunden. Der Erfolg einer parodontalen Reparatur und Regeneration von Furkationsdefekten stehe in engem Zusammenhang mit der Größe der Defekte. Sie spekulierten, dass große Defekte eine längere Regenerationszeit benötigen.

4.2.2. Diskussion der verschiedenen Gewebearten

4.2.2.1. Knochen

Keiner der hier ausgewerteten Zähne wies eine nahezu vollständige Regeneration des Knochens auf. Der größte Anteil an Knochen innerhalb eines Defektbereiches waren 68% der Gesamtfläche (Schlüssellochdefekt, Kontrollgruppe). Die durchschnittliche Fläche an Knochen betrug 33 %. Grund für die noch sehr geringe Menge an Knochen könnte die noch nicht abgeschlossene Modellierung des neu entstehenden Knochens sein. Diese Aussage wird durch Forschungsergebnisse von Araujo, et al. [3] unterstützt. Das Ziel dieser Studie war die Untersuchung der Knochenbildung in einem experimentell erzeugten Furkationsdefekt mit der Schlussfolgerung, dass am Ende der Studie der Prozess der Ausbildung des Knochens in Furkationsdefekten nicht abgeschlossen war. Die Ergebnisse deuteten darauf hin, dass nach einem Zeitraum von 3-monatiger Knochenbildung die Knochenresorption die Knochenneubildung überstieg. Andere Studien berichten von einer 87%igen Füllung mit neu entstandenem Knochen in der parodontalen Läsion nach 11 Wochen mittels einer PDGF-modulierten-GTR-Membran Therapie (rekombinantes, menschliches PDGF-BB und einer GTR-Membran) [69]. Die Wundheilungsphase wurde in dieser Studie jedoch mit einer Penicillin-Therapie unterstützt, was Grund für eine eventuell deutlich größere Bakterienfreiheit sein könnte. Ebenso wurde hier wiederum die Konditionierung der Wurzeloberflächen mit Zitronensäure beschrieben, auf welche in unserer Studie verzichtet wurde. Lange Zeit wurde vermutet, dass eine Demineralisation der Wurzeloberfläche durch

Oberflächenkonditionierung zur verbesserten parodontalen Regenerationsfähigkeit führe. Spätere Studien belegten jedoch, dass die Oberflächenentmineralisierung eine anfängliche positive Wirkung hatte, später jedoch zu einer beeinträchtigten Heilung führte [103].

4.2.2.2. *Zelluläres Eigenfaserzement*

Die Bildung einer Zementschicht auf der Wurzeloberfläche war in dieser Studie begrenzt. Nicht einmal 50% der gesamten Defekthöhe betrug im Allgemeinen die Zementhöhe. Die Messungen der einzelnen Gruppen wiesen jedoch deutliche Unterschiede auf. Während die Zementhöhe der PDGF-Gruppe und der GTR-Membran-Gruppe (unabhängig von der Therapie und den Defektkonfigurationen) meist durchschnittlich unter 50% lagen (lediglich die horizontalen Defekte der GTR-Membran-Gruppe lag über 50%), wiesen sowohl die Schlüssellochdefekte 66%, als auch die horizontalen Defekte der Kontrollgruppen 87% durchschnittlich auf.

Diese Ergebnisse stehen im deutlichen Widerspruch zu Daten anderer Studien [99]. In dieser Studie waren die ZEZ-Bildung und die Regeneration des Knochens begrenzt und betrugen nur ungefähr 30% bzw. 20% der Defekthöhe bei einer Heilung von Parodontaldefekten ohne Anwendung einer GTR-Membran. Grund hierfür könnten die unterschiedlichen Wundheilungszeiten sein. Während in der vorliegenden Studie eine histologische Auswertung nach 7-monatiger Heilung stattfand, wurde die histologische Auswertung der Studie von Wikesjo und Nilveus [99] nach einer Zeitspanne von 4 Wochen durchgeführt. Genauso könnten die unterschiedlichen Defektkonfigurationen Grund für die gegensätzlichen Ergebnisse sein.

4.2.2.3. *Bindegewebe*

Im Allgemeinen betrug die Bindegewebsreparatur 91% der Defekthöhe. Leichte Differenzen stellten sich bei der Auswertung der einzelnen Therapieoptionen in Bezug auf die Defektkonfiguration dar. Für die Kontrollgruppen konnte der größte Anteil an Bindegewebshöhe dokumentiert werden, sowohl was die Schlüssellochdefekte (96%), als auch was die horizontalen Defekte (97%) betraf. Bei der Betrachtung der Defektkonfigurationen unter Ausschluss der Therapieoptionen war eine leichte Tendenz zu erkennen: alle horizontalen Defekte wiesen jeweils mehr Bindegewebshöhe auf als die Schlüssellochdefekte der gleichen Therapie. Die Defektgröße scheint also einen Einfluss auf den Erfolg zu haben. Diese steht in Übereinstimmung mit einer früheren Beobachtung bei Hunden [74].

4.2.2.4. Saumepithel

Ziel dieser Studie war es, das lange Saumepithel aus den chirurgisch hergestellten parodontalen Läsionen fernzuhalten und innerhalb der Läsion Knochen und Zement zur Bildung anzuregen. Bei 10 der 24 Zähne wurde die Entstehung von Saumepithel komplett verhindert. Was darauf hindeutet, dass die GTR-Membranen teilweise die Epithelzellen wirksam daran gehindert haben, unter die GTR-Membran zu wandern. Dies deckt sich mit den Ergebnissen früherer Studien über die gesteuerte Geweberegeneration [14].

Eine apikale Migration von Saumepithel von mehr als 10% der gesamten Defekthöhe wiesen allerdings 6 der 24 Zähne auf, was auf eine deutliche Unterwanderung von Epithelzellen unter die GTR-Membran hindeutet. Dies kann auf eine vorzeitige Resorption der bioresorbierbaren GTR-Membran hindeuten oder auf die Verschiebung der Ränder des wieder verschlossenen Mukoperiostlappens aufgrund von Rezessionen. Dies wurde jedoch in dieser Studie nur beobachtet, allerdings nicht näher untersucht.

Die Zähne der Kontrollgruppe enthielten lediglich einen einzigen Zahn mit minimalen, koronalen Saumepithel, was sich widersprüchlich zu anderen Ergebnissen verhält. Diese Ergebnisse wiesen bei Regenerationsverfahren mit gesteuerter Geweberegeneration eine Neubildung epithelialer Auskleidung (langes Saumepithel) entlang der behandelten Wurzeloberfläche ohne neue Bindegewebeanheftung auf [17].

Jedoch scheint die Anwesenheit von Epithelzellen im Wundgebiet nicht der entscheidende Faktor zu sein, der die parodontale Regeneration scheitern lässt, solange die Heilung von Parodontalgewebe kontinuierlich fortschreitet. Dies stellten Park, et al. [69] auf der Grundlage ihrer morphologischen Beobachtungen fest. Sie spekulierten, dass die fortwährende Wiederherstellung des Parodontiums das Epithelgewebe nach koronal schiebe und schließlich aus der Läsion eliminiere, wenn der Defekt vollständig regeneriert sei.

4.3. Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass die Behandlung von Unterkiefermolaren mit einem Furkationsdefekt Grad III auch mit der Behandlung des Wachstumsfaktors PDGF, in Kombination mit anderen regenerativen Verfahren, keine gute Voraussagbarkeit aufweist. Jedoch könnte die postoperative Exposition der GTR-Membran Einfluss auf die Ergebnisse gehabt haben.

Ebenfalls lassen die Ergebnisse der vorliegenden Studie vermuten, dass die Defektkonfiguration einen geringen Einfluss auf die Erfolgsrate der Regeneration herbeiführen kann. Es konnte gezeigt werden, dass die therapeutische Behandlung eines horizontalen

Furkationsdefektes geringfügig erfolgreicher war als die Behandlung eines einfachen Schlüssellochdefektes.

Damit bestehen Hinweise darauf, dass eine regenerative Behandlung von Unterkiefermolaren mit einem Furkationsdefekt Grad III die Behandler immer noch vor große Herausforderungen stellt.

5. Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es zu evaluieren, ob die parodontale Regeneration durch Verwendung des Wachstumsfaktors PDGF an Grad III Furkationsdefekten erfolgreich gefördert werden könnte. Histologisch und histomorphometrisch ausgewertet wurden in dieser Untersuchung Unterkiefermolaren von Cynomolgus-Affen. Die Auswirkung von PDGF in Kombination mit anderen regenerativen Verfahren wurde an zwei verschiedenen Defektkonfigurationen verglichen. Durch komplexe Defektkonfigurationen sowie geringen Anteil übriggebliebenen Parodontiums weist die Regeneration des verschwundenen Parodontiums bei Grad III Furkationsdefekten geringe Erfolgsraten und eine schlechte Vorhersagbarkeit auf [75].

Standardisierte Grad III Furkationsdefekte, entweder Schlüsseloch- (2 x 2 mm) oder horizontale Defekte (3 mm Höhe) wurden an den Molaren erzeugt. Nach einem halben Jahr wurden nach Säuberung der Wurzeloberfläche Markierungsrillen auf Höhe des verbliebenen Knochenniveaus angebracht. Anschließend wurden die Molaren zufällig einer der folgenden drei Behandlungsgruppen zugeteilt.

PDGF-Gruppe: Behandlung mit PDGF, einer bioresorbierbaren GTR-Membran (guided tissue regeneration) (Bio-Gide ® PERIO, Geistlich, Wolhusen, Switzerland) und einem KEM (Bio-Oss ® COLLAGEN, Geistlich, Wolhusen, Switzerland); GTR-Membran-Gruppe: Behandlung nur mit der bioresorbierbaren GTR-Membran und dem KEM; Kontrollgruppe: die Defekte wurden ohne jegliche Behandlung wieder verschlossen. Im Anschluss konnte das Gewebe mit der Unterstützung eines Mundhygieneprogramms regenerieren. Postoperative verlief die Einheilung trotz marginaler Membranexpositionen ohne Komplikationen.

In den Defektbereichen konnte bei 23 von 24 Zähnen neuer Knochen gefunden werden. Durchschnittlich bestanden 33% der Fläche aus Knochen. Tendenziell wurde bei der Kontrollgruppe eine stärkere Knochenbildung festgestellt als bei den beiden Behandlungsgruppen. Keine prägnanten Unterschiede wies der Vergleich der verschiedenen Defektkonfigurationen auf. Die Unterschiede zwischen der GTR-Membran-Gruppe und der PDGF-Gruppe waren sehr gering.

Bei 100% der ausgewerteten Molaren-Schnitte konnte eine Entstehung von ZEZ (zelluläres Eigenfaserzement) festgestellt werden. Im Durchschnitt konnte eine vermehrte Entstehung von ZEZ bei der Kontrollgruppe im Vergleich zu den therapierten Molaren beobachtet werden, unabhängig der verschiedenen Defektkonfigurationen. Horizontale Defekte zeigten eine stärkere ZEZ-Entwicklung auf, als die dazu im Vergleich gesetzten Schlüsselochdefekte.

Bindegewebe konnte bei 100% der histologischen Schnitte gefunden werden. Der neugebildete Knochen war auf 100% der histologischen Präparate von Bindegewebe umgeben. Es konnten keinerlei Ankylosen nachgewiesen werden.

Saumepithel konnte lediglich im Bereich des Furkationsdaches beobachtet werden. Die Bildung von Saumepithel war überwiegend auf ein Minimum (unter 8% der Gesamtfläche des Defektbereiches) reduziert. Bei 10 von 24 Furkationen konnte keinerlei Entwicklung von Saumepithel festgestellt werden. Die Kontrollgruppe zeigte die geringste Entwicklung von Saumepithel auf. Horizontale Defekte wiesen eine geringere Bildung von Saumepithel auf als Schlüssellochdefekte.

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass die Behandlung von Unterkiefermolaren mit einem Furkationsdefekt Grad III auch mit der Behandlung des Wachstumsfaktors PDGF in Kombination mit anderen regenerativen Verfahren keine gute Voraussagbarkeit aufweist. Jedoch könnte eine frühe Membranexposition die regenerative Therapie beeinflusst haben. Ebenfalls lassen die Ergebnisse der vorliegenden Studie vermuten, dass die Defektkonfiguration einen geringen Einfluss auf die Erfolgsrate der Regeneration aufzeigen kann.

So geht aus dieser Studie hervor, dass eine regenerative Behandlung von Unterkiefermolaren mit einem Furkationsdefekt Grad III die Behandler immer noch vor große Herausforderungen stellt.

6. Abstract

The aim of this study was to evaluate whether guided tissue regeneration (GTR) could be successfully promoted by using the growth factor PDGF in class III furcation defects. In this study, the mandible molars of cynomolgus monkeys were evaluated from a histological and histomorphometrical perspective. The effect of PDGF in combination with other regenerative methods was compared on two different configurations of defects. Due to complex configurations of defects and a small proportion of remaining periodontium, regeneration of the lost periodontium in the case of class III furcation defects has low success rates and poor predictability [75].

Standardised class III furcation defects, either keyhole (2 x 2 mm) or horizontal defects (3 mm in height), were created on the molars. After six months, following scaling and root planing, root notches were made at the level of the bone crest. The molars were then randomly assigned to one of the three following treatment groups below.

PDGF group: treatment with PDGF, a bioresorbable GTR membrane (Bio-Gide® PERIO, Geistlich, Wolhusen, Switzerland) and a bone grafting material (Bio-Oss® COLLAGEN, Geistlich, Wolhusen, Switzerland); GTR membrane group: treatment with the bioresorbable GTR membrane and the bone grafting material only; control group: the defects were closed again without any treatment. The tissue was then able to regenerate with the help of an oral hygiene programme. Postoperative healing proceeded without any complications despite marginal membrane exposure.

New bone was found in the area of the defects in 23 of 24 teeth. On average, 33% of the area was bone. There was a tendency for stronger bone formation to be found among the control group than among the two groups that received treatment. A comparison of the various configurations of defects did not reveal any clear differences. The differences between the GTR membrane group and the PDGF group were very minor.

Development of cellular intrinsic fibre cementum (CIFC) was found in 100% of the evaluated molar sections. On average, increased development of CIFC was observed in the control group compared to the treated molars, regardless of the differing configurations of defects. Horizontal defects showed stronger CIFC development than the keyhole defects to which they were compared.

Connective tissue was found in 100% of the histological sections. The newly formed bone was surrounded by connective tissue on 100% of the histological specimens. No ankylosis was detected.

Junctional epithelium was only observed in the region of the furcation roof. The formation of junctional epithelium was predominantly reduced to a minimum (less than 8% of the total area

of the region of the defect). No development of junctional epithelium was identified in 10 out of 24 furcations. The control group showed the least development of junctional epithelium. Horizontal defects demonstrated less formation of junctional epithelium than keyhole defects. The results of our study show that treatment of mandible molars with a class III furcation defect, including even treatment with the growth factor PDGF in combination with other regenerative methods, does not have good predictability. However, early membrane exposure may have influenced the regenerative therapy.

The results of the present study also suggest that the configuration of the defect demonstrates a minor influence on the regeneration success rate. This study shows that regenerative treatment of mandible molars with a class III furcation defect still poses major challenges for the dentist.

7. Literaturverzeichnis

1. Achong, R., Nishimura, I., Ramachandran, H., Howell, T. H., Fiorellini, J. P., Karimbux, N. Y. (2003): *Membrane type (MT) 1-matrix metalloproteinase (MMP) and MMP-2 expression in ligature-induced periodontitis in the rat.* J. Periodontol., **74**, 494-500.
2. Alghamdi, A. S., Shibly, O., Ciancio, S. G. (2010): *Osseous grafting part I: autografts and allografts for periodontal regeneration--a literature review.* J. Int. Acad. Periodontol., **12**, 34-8.
3. Araujo, M. G., Berglundh, T., Albrektsson, T., Lindhe, J. (1999): *Bone formation in furcation defects. An experimental study in the dog.* J. Clin. Periodontol., **26**, 643-52.
4. Arbab, H., Greenwell, H., Hill, M., Morton, D., Vidal, R., Shumway, B., Allan, N. D. (2016): *Ridge preservation comparing a nonresorbable PTFE membrane to a resorbable collagen membrane: A clinical and histologic study in humans.* J. Implant Dent., **25**, 128-34.
5. Axelsson, P., Lindhe, J. (1981): *Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. Results after 6 years.* J. Clin. Periodontol., **8**, 239-48.
6. Berglundh, T., Lindhe, J. (1997): *Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog.* Clin. Oral Implants Res., **8**, 117-24.
7. Bergsten, E., Uutela, M., Li, X., Pietras, K., Ostman, A., Heldin, C. H., Alitalo, K., Eriksson, U. (2001): *PDGF-D is a specific, protease-activated ligand for the PDGF beta-receptor.* Nat. Cell Biol., **3**, 512-6.
8. Bogle, G., Garrett, S., Stoller, N. H., Swanbom, D. D., Fulfs, J. C., Rodgers, P. W., Whitman, S., Dunn, R. L., Southard, G. L., Polson, A. M. (1997): *Periodontal regeneration in naturally occurring class II furcation defects in beagle dogs after guided tissue regeneration with bioabsorbable barriers.* J. Periodontol., **68**, 536-44.
9. Bosshardt, D. D., Stadlinger, B., Terheyden, H. (2015): *Cell-to-cell communication--periodontal regeneration.* Clin. Oral Implants Res., **26**, 229-39.
10. Bowers, G. M., Schallhorn, R. G., McClain, P. K., Morrison, G. M., Morgan, R., Reynolds, M. A. (2003): *Factors influencing the outcome of regenerative therapy in mandibular class II furcations: Part I.* J. Periodontol., **74**, 1255-68.
11. Bowers, G. M., Chadroff, B., Carnevale, R., Mellonig, J., Corio, R., Emerson, J., Stevens, M., Romberg, E. (1989): *Histologic evaluation of new attachment apparatus formation in humans. Part I.* J. Periodontol., **60**, 664-74.
12. Brauckhoff, G., Kocher, T., Holtfreter, B., Bernhardt, O., Splieth, C., Biffar, R., Saß, A.-C. . *Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Heft 47, Mundgesundheit*

13. Caffesse, R. G., Quinones, C. R. (1993): *Polypeptide growth factors and attachment proteins in periodontal wound healing and regeneration*. Periodontol. 2000, **1**, 69-79.
14. Caffesse, R. G., Smith, B. A., Castelli, W. A., Nasjleti, C. E. (1988): *New attachment achieved by guided tissue regeneration in beagle dogs*. J. Periodontol., **59**, 589-94.
15. Caffesse, R. G., Dominguez, L. E., Nasjleti, C. E., Castelli, W. A., Morrison, E. C., Smith, B. A. (1990): *Furcation defects in dogs treated by guided tissue regeneration (GTR)*. J. Periodontol., **61**, 45-50.
16. Camelo, M., Nevins, M. L., Lynch, S. E., Schenk, R. K., Simion, M., Nevins, M. (2001): *Periodontal regeneration with an autogenous bone-Bio-Oss composite graft and a Bio-Gide membrane*. Int. J. Periodontics Restorative Dent., **21**, 109-19.
17. Caton, J., Nyman, S., Zander, H. (1980): *Histometric evaluation of periodontal surgery. II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures*. J. Clin. Periodontol., **7**, 224-31.
18. Cho, M. I., Lin, W. L., Genco, R. J. (1995): *Platelet-derived growth factor-modulated guided tissue regenerative therapy*. J. Periodontol., **66**, 522-30.
19. Chong, C. H., Carnes, D. L., Moritz, A. J., Oates, T., Ryu, O. H., Simmer, J., Cochran, D. L. (2006): *Human periodontal fibroblast response to enamel matrix derivative, amelogenin, and platelet-derived growth factor-BB*. J. Periodontol., **77**, 1242-52.
20. Dahlin, C., Linde, A., Gottlow, J., Nyman, S. (1988): *Healing of bone defects by guided tissue regeneration*. Plast. Reconstr. Surg., **81**, 672-6.
21. Dereka, X. E., Markopoulou, C. E., Vrotsos, I. A. (2006): *Role of growth factors on periodontal repair*. Growth Factors, **24**, 260-7.
22. Develioglu, H., Saraydin, S., Kartal, U., Taner, L. (2010): *Evaluation of the long-term results of rat cranial bone repair using a particular xenograft*. J. Oral Implantol., **36**, 167-73.
23. Donath, K., Breuner, G. (1982): *A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) Technique*. J. Oral Pathol., **11**, 318-26.
24. Franco, C., Patricia, H. R., Timo, S., Claudia, B., Marcela, H. (2017): *Matrix metalloproteinases as regulators of periodontal inflammation*. Int. J. Mol. Sci., **18**.
25. Garg, A.K. (2006): *Knochen: Biologie, Gewinnung, Transplantation in der zahnärztlichen Implantologie*. 1. Aufl. Quintessenz, Berlin.
26. Garrett, S. (1996): *Periodontal regeneration around natural teeth*. Ann. Periodontol., **1**, 621-66.

27. Hagewald, S., Pischon, N., Jawor, P., Bernimoulin, J. P., Zimmermann, B. (2004): *Effects of enamel matrix derivative on proliferation and differentiation of primary osteoblasts*. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod., **98**, 243-9.
28. Hammarstrom, L. (1997): *The role of enamel matrix proteins in the development of cementum and periodontal tissues*. Ciba Found. Symp., **205**, 246-55; discussion 55-60.
29. Hamp, S. E., Nyman, S., Lindhe, J. (1975): *Periodontal treatment of multirooted teeth. Results after 5 years*. J. Clin. Periodontol., **2**, 126-35.
30. Heidemann, D., Borchard, R., Diedrich, P., Eickholz, P., Ehmke, B., Flemmig, T., Fritz, U., Günay, H., Hillmann, G., Hoffmann, T., Kim, M. Y., Kleber, B. M., Lauer, H.-C., Manolakis, A., Merte, K., Meyle, J., Nentwig, G.-H., Ottl, P., Plagmann, H.-C., Raetzke, P., Ratka-Krüger, P., Romanos, G., Schacher, B., Sculean, A., Weigl, P. M. (2005): *Praxis der Zahnheilkunde: Parodontologie*, Bd. 4, 4. Aufl., S. 39-56, 232-67, Elsevier, Urban & Fischer, München.
31. Heldin, C. H., Johnsson, A., Wennergren, S., Wernstedt, C., Betsholtz, C., Westermark, B. (1986): *A human osteosarcoma cell line secretes a growth factor structurally related to a homodimer of PDGF A-chains*. Nature, **319**, 511-4.
32. Hellwege, K.D. (2003): *Die Praxis parodontaler Infektionskontrolle und Gewebemodulation: Mit zahlreichen Illustrationen zur Patientenaufklärung und Therapiebegründung*. 2. Aufl. Thieme, Stuttgart.
33. Hellwig, E., Klimek, J., Attin, T. (2010): *Einführung in die Zahnerhaltung*. 5. Aufl. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln.
34. Hick, C., Hartmann, J. (2006): *Intensivkurs Physiologie*. 5. Aufl. Elsevier, Urban & Fischer, München.
35. Horn, F. (2009): *Biochemie des Menschen: das Lehrbuch für das Medizinstudium*. Thieme, Stuttgart.
36. Hurzeler, M. B., Quinones, C. R., Caffesse, R. G., Schupbach, P., Morrison, E. C. (1997): *Guided periodontal tissue regeneration in class II furcation defects following treatment with a synthetic bioabsorbable barrier*. J. Periodontol., **68**, 498-505.
37. Johnsson, A., Heldin, C. H., Westermark, B., Wasteson, A. (1982): *Platelet-derived growth factor: identification of constituent polypeptide chains*. Biochem. Biophys. Res. Commun., **104**, 66-74.
38. Jung, R. E., Kokovic, V., Jurisic, M., Yaman, D., Subramani, K., Weber, F. E. (2011): *Guided bone regeneration with a synthetic biodegradable membrane: a comparative study in dogs*. Clin. Oral Implants Res., **22**, 802-7.

39. Keles, G. C., Cetinkaya, B. O., Baris, S., Albayrak, D., Simsek, S. B. (2009): *Comparison of platelet pellet with or without guided tissue regeneration in the treatment of class II furcation defects in dogs*. Clin. Oral Investig., **13**, 393-400.
40. Kelly, J. D., Haldeman, B. A., Grant, F. J., Murray, M. J., Seifert, R. A., Bowen-Pope, D. F., Cooper, J. A., Kazlauskas, A. (1991): *Platelet-derived growth factor (PDGF) stimulates PDGF receptor subunit dimerization and intersubunit trans-phosphorylation*. J. Biol. Chem., **266**, 8987-92.
41. Khan, S. A., Kong, E. F., Meiller, T. F., Jabra-Rizk, M. A. (2015): *Periodontal diseases: bug induced, host promoted*. PLOS Pathog., **11**.
42. König, K.G. (1987): *Karies und Parodontopathien: Ätiologie und Prophylaxe*. Thieme, University of Michigan.
43. Lekovic, V., Camargo, P. M., Weinlaender, M., Vasilic, N., Aleksic, Z., Kenney, E. B. (2003): *Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans*. J. Clin. Periodontol., **30**, 746-51.
44. Li, X., Ponten, A., Aase, K., Karlsson, L., Abramsson, A., Uutela, M., Backstrom, G., Hellstrom, M., Bostrom, H., Li, H., Soriano, P., Betsholtz, C., Heldin, C. H., Alitalo, K., Ostman, A., Eriksson, U. (2000): *PDGF-C is a new protease-activated ligand for the PDGF alpha-receptor*. Nat. Cell Biol., **2**, 302-9.
45. Lioubavina-Hack, N., Carmagnola, D., Lynch, S. E., Karring, T. (2005): *Effect of bio-oss with or without platelet-derived growth factor on bone formation by "guided tissue regeneration": a pilot study in rats*. J. Clin. Periodontol., **32**, 1254-60.
46. Loesche, W. J. (1994): *Periodontal disease as a risk factor for heart disease*. Compendium, **15**, 976, 8-82, 85-6 passim; quiz 92.
47. Löffler, G. (2008): *Basiswissen Biochemie: mit Pathobiochemie*. 7. Aufl. Springer, Berlin.
48. Lowe, W. L., Jr., Lasky, S. R., Leroith, D., Roberts, C. T., Jr. (1988): *Distribution and regulation of rat insulin-like growth factor I messenger ribonucleic acids encoding alternative carboxyterminal e-peptides: evidence for differential processing and regulation in liver*. Mol. Endocrinol., **2**, 528-35.
49. Lüllmann-Rauch, R. (2006): *Taschenlehrbuch Histologie*. 2. Aufl. Thieme, Stuttgart.
50. Lynch, S. E., Williams, R. C., Polson, A. M., Howell, T. H., Reddy, M. S., Zappa, U. E., Antoniades, H. N. (1989): *A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration*. J. Clin. Periodontol., **16**, 545-8.

51. Machtei, E. E., Grossi, S. G., Dunford, R., Zambon, J. J., Genco, R. J. (1996): *Long-term stability of class II furcation defects treated with barrier membranes*. J. Periodontol., **67**, 523-7.
52. Magnusson, I., Batich, C., Collins, B. R. (1988): *New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradable membranes*. J. Periodontol., **59**, 1-6.
53. Magnusson, I., Stenberg, W. V., Batich, C., Egelberg, J. (1990): *Connective tissue repair in circumferential periodontal defects in dogs following use of a biodegradable membrane*. J. Clin. Periodontol., **17**, 243-8.
54. Majzoub, J., Barootchi, S., Tavelli, L., Wang, C. W., Travan, S., Wang, H. L. (2020): *Treatment effect of guided tissue regeneration on the horizontal and vertical components of furcation defects: A retrospective study*. J. Periodontol., **91**, 1148-58.
55. Martin, J. A., Page, R. C., Kaye, E. K., Hamed, M. T., Loeb, C. F. (2009): *Periodontitis severity plus risk as a tooth loss predictor*. J. Periodontol., **80**, 202-9.
56. Martin, L. S., Mcdougal, J. S., Loskoski, S. L. (1985): *Disinfection and inactivation of the human T lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus*. J. Infect. Dis., **152**, 400-3.
57. Matsuda, N., Lin, W. L., Kumar, N. M., Cho, M. I., Genco, R. J. (1992): *Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro*. J. Periodontol., **63**, 515-25.
58. Mattila, K. J., Nieminen, M. S., Valtonen, V. V., Rasi, V. P., Kesaniemi, Y. A., Syrjala, S. L., Jungell, P. S., Isoluoma, M., Hietaniemi, K., Jokinen, M. J. (1989): *Association between dental health and acute myocardial infarction*. BMJ, **298**, 779-81.
59. Meyle, J. (1999): *WISSENSCHAFTLICHE STELLUNGNAHME Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde Regenerative Therapie (GTR)*
60. Misch, C. E., Dietsh, F. (1993): *Bone-grafting materials in implant dentistry*. J. Implant. Dent., **2**, 158-67.
61. Morris, J Karnovsky (1965): *A formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy*. J. Cell. Biol., **27**, 137.
62. Müller, H.P. (2012): *Checklisten der Zahnmedizin Parodontologie*. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart.
63. Mutschelknauss, R.E., Diedrich, P. (2000): *Lehrbuch der klinischen Parodontologie*. Quintessenz, Berlin.
64. Nasr, Hisham F., Aichelmann-Reidy, Mary Elizabeth, Yukna, Raymond A. (1999): *Bone and bone substitutes*. Periodontol. 2000, **19**, 74-86.
65. Nevins, M., Camelo, M., Nevins, M. L., Schenk, R. K., Lynch, S. E. (2003): *Periodontal regeneration in humans using recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) and allogenic bone*. J. Periodontol., **74**, 1282-92.

66. Nkenke, E., Schlegel, A., Schultze-Mosgau, S., Neukam, F. W., Wiltfang, J. (2002): *The endoscopically controlled osteotome sinus floor elevation: a preliminary prospective study*. Int. J. Oral Maxillofac. Implants, **17**, 557-66.
67. Palioto, D. B., Joly, J. C., De Lima, A. F., Mota, L. F., Caffesse, R. (2003): *Clinical and radiographic treatment evaluation of class III furcation defects using GTR with and without inorganic bone matrix*. J. Clin. Periodontol., **30**, 1-8.
68. Palioto, D. B., De, O. Macedo G., Queiroz, A. C., Taba, M., Jr., Souza, S. L., Grisi, M. F., Novaes, A. B., Jr. (2012): *Enamel matrix derivative and transforming growth factor-beta1 in class III furcation defects. A histomorphometric study in dogs*. J. Int. Acad. Periodontol., **14**, 69-75.
69. Park, J. B., Matsuura, M., Han, K. Y., Norderyd, O., Lin, W. L., Genco, R. J., Cho, M. I. (1995): *Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor*. J. Periodontol., **66**, 462-77.
70. Pfeilschifter, J., Krempien, R., Naumann, A., Gronwald, R. G., Hoppe, J., Ziegler, R. (1992): *Differential effects of platelet-derived growth factor isoforms on plasminogen activator activity in fetal rat osteoblasts due to isoform-specific receptor functions*. J. Endocrinol., **130**, 2059-66.
71. Pitaru, S., Tal, H., Soldinger, M., Azar-Avidan, Orna, Noff, M. (1987): *Collagen membranes prevent the apical migration of epithelium during periodontal wound healing*. J. Periodont. Res., **22**, 331-3.
72. Plagmann, H.-C. (1998): *Lehrbuch der Parodontologie / Hans-Christian Plagmann*. 1. Aufl. "Reprint 2004", gedruckt im: Print&Copy Paradies KG, Digitaler Auflagendruck & Kopierservice, Kiel.
73. Plaza, S. M., Lamson, D. W. (2005): *Vitamin K2 in bone metabolism and osteoporosis*. Altern. Med. Rev., **10**, 24-35.
74. Pontoriero, R., Nyman, S., Ericsson, I., Lindhe, J. (1992): *Guided tissue regeneration in surgically-produced furcation defects. An experimental study in the beagle dog*. J. Clin. Periodontol., **19**, 159-63.
75. Pontoriero, R., Lindhe, J., Nyman, S., Karring, T., Rosenberg, E., Sanavi, F. (1989): *Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in mandibular molars. A clinical study of degree III involvements*. J. Clin. Periodontol., **16**, 170-4.
76. Quinnan, G. V., Jr., Wells, M. A., Wittek, A. E., Phelan, M. A., Mayner, R. E., Feinstone, S., Purcell, R. H., Epstein, J. S. (1986): *Inactivation of human T-cell lymphotropic virus, type III by heat, chemicals, and irradiation*. Transfusion, **26**, 481-3.

77. Rassow, J., Hauser, K., Netzker, R., Deutzmann, R. (2016): *Duale Reihe Biochemie*. 4. Aufl. Thieme, Stuttgart.
78. Reichart, P.A., Hausamen, J.-E., Becker, J., Neukam, F.W., Schliephake, H., Schmelzeisen, R. (2002): *Curriculum zahnärztliche Chirurgie*, Bd. 1, 1. Aufl., S. 438, Quintessenz, Berlin.
79. Ross, R., Vogel, A. (1978): *The platelet-derived growth factor*. *Cell*, **14**, 203-10.
80. Ross, R., Glomset, J., Kariya, B., Harker, L. (1974): *A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **71**, 1207-10.
81. Rutherford, R. B., Niekrash, C. E., Kennedy, J. E., Charette, M. F. (1992): *Platelet-derived and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys*. *J. Periodontal Res.*, **27**, 285-90.
82. Sakallioğlu, U., Acikgoz, G., Ayas, B., Kirtiloglu, T., Sakallioğlu, E. (2004): *Healing of periodontal defects treated with enamel matrix proteins and root surface conditioning--an experimental study in dogs*. *Biomateri.*, **25**, 1831-40.
83. Salvi, Giovanni E., Lawrence, Herenia P., Offenbacher, Steven, Beck, James D. (1997): *Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis*. *Periodontol. 2000*, **14**, 173-201.
84. Sander, L., Karring, T. (1995): *Healing of periodontal lesions in monkeys following the guided tissue regeneration procedure. A histological study*. *J. Clin. Periodontol.*, **22**, 332-7.
85. Sander, L., Karring, T. (1995): *New attachment and bone formation in periodontal defects following treatment of submerged roots with guided tissue regeneration*. *J. Clin. Periodontol.*, **22**, 295-9.
86. Schroeder, H.E. (1997): *Pathobiologie oraler Strukturen*. 3. Aufl. Karger, Basel.
87. Sela, M. N., Kohavi, D., Krausz, E., Steinberg, D., Rosen, G. (2003): *Enzymatic degradation of collagen-guided tissue regeneration membranes by periodontal bacteria*. *Clin. Oral Implants Res.*, **14**, 263-8.
88. Simonds, R. J., Holmberg, S. D., Hurwitz, R. L., Coleman, T. R., Bottenfield, S., Conley, L. J., Kohlenberg, S. H., Castro, K. G., Dahan, B. A., Schable, C. A., Et Al. (1992): *Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a seronegative organ and tissue donor*. *N. Engl. J. Med.*, **326**, 726-32.
89. Slavkin, H. C. (1976): *Towards a cellular and molecular understanding of periodontics. Cementogenesis revisited*. *J. Periodontol.*, **47**, 249-55.
90. Smith, Patricio C., Martínez, Constanza, Cáceres, Mónica, Martínez, Jorge (2015): *Research on growth factors in periodontology*. *Periodontol. 2000*, **67**, 234-50.

91. Srivastava, S., Tandon, P., Gupta, K. K., Srivastava, A., Kumar, V., Shrivastava, T. (2015): *A comparative clinico-radiographic study of guided tissue regeneration with bioresorbable membrane and a composite synthetic bone graft for the treatment of periodontal osseous defects*. J. Indian Soc. Periodontol., **19**, 416-23.
92. Stavropoulos, A., Wikesjo, U. M. (2012): *Growth and differentiation factors for periodontal regeneration: a review on factors with clinical testing*. J. Periodontal Res., **47**, 545-53.
93. Storrer, C. L., Kummer Gdos, S., Forcada, S. M., Zielak, J. C. (2014): *Use of cyanoacrylate as barrier in guided tissue regeneration in class II furcation defects*. J. Indian Soc. Periodontol., **18**, 408-11.
94. Stroobant, P., Waterfield, M. D. (1984): *Purification and properties of porcine platelet-derived growth factor*. EMBO J., **3**, 2963-7.
95. Taheri, M., Molla, R., Radvar, M., Sohrabi, K., Najafi, M. H. (2009): *An evaluation of bovine derived xenograft with and without a bioabsorbable collagen membrane in the treatment of mandibular class II furcation defects*. Aust. Dent. J., **54**, 220-7.
96. Takata, T., Donath, K. (1988): *The mechanism of pocket formation. A light microscopic study on undecalcified human material*. J. Periodontol., **59**, 215-21.
97. Tarnow, D., Fletcher, P. (1984): *Classification of the vertical component of furcation involvement*. J. Periodontol., **55**, 283-4.
98. Vassiliadou, Athiná (2003): *Humane Osteoblasten und Bisphosphonate: eine in vitro Studie des Verhaltens von humanen Osteoblasten unter dem Einfluß von Bisphosphonaten verschiedener Generationen*, Med. Diss., Giessen
99. Wikesjo, U. M., Nilveus, R. (1991): *Periodontal repair in dogs. Healing patterns in large circumferential periodontal defects*. J. Clin. Periodontol., **18**, 49-59.
100. Williams, D.M., Hughes, F.J., Odell, E.W., Farthing, P.M. (1997): *Pathologie der parodontalen Erkrankungen*. Hanser, München.
101. Wolf, H.F., Rateitschak, E.M., Rateitschak, K.H. (2004): *Parodontologie*, Bd.1, 3. Aufl., S. 30,80,102, Thieme, Stuttgart.
102. Yalim, M., Oygur, T. (1989): *[Guided tissue regeneration in degree III furcation involved teeth]*. Ankara Univ. Hekim. Fak. Derg., **16**, 407-12.
103. Zervas, P., Lambrianidis, T., Karabouta-Vulgaropoulou, I. (1991): *The effect of citric acid treatment on periodontal healing after replantation of permanent teeth*. Int. Endod. J., **24**, 317-25.

104. Zhang, Y., Cheng, N., Miron, R., Shi, B., Cheng, X. (2012): *Delivery of PDGF-B and BMP-7 by mesoporous bioglass/silk fibrin scaffolds for the repair of osteoporotic defects*. *Biomateri.*, **33**, 6698-708.
105. Zhang, Z., Chen, J., Jin, D. (1998): *Platelet-derived growth factor (PDGF)-BB stimulates osteoclastic bone resorption directly: the role of receptor beta*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **251**, 190-4.

8. Anhang

8.1. Datentabellen

Zahn	Höhe des Defektes in mm	Knochenhöhe in mm	Knochenhöhe in %	ZEZ-Höhe in mm	ZEZ-Höhe in %	Bindegewebeshöhe in mm	Bindegewebeshöhe in %	Saumepithelhöhe in mm	Saumepithelhöhe in %	Defekt	Gruppe
57-52 36	2,29	1,65	72,05	1,51	65,94	2,08	90,83	0,13	5,68	Schlüsselloch	Kontrollgruppe
57-52 37	1,96	1,41	71,94	1,59	81,12	1,91	97,45	0,00	0,00	Schlüsselloch	GTR-Membran-Gruppe
57-52 46	1,86	1,53	82,26	1,34	72,04	1,79	96,24	0,03	1,61	Horizontal	PDGF-Gruppe
57-52 47	1,91	0,54	28,27	0,80	41,89	1,62	84,82	0,29	15,18	Horizontal	PDGF-Gruppe
57-104 36	2,64	2,09	79,17	1,96	74,24	2,58	97,73	0,00	0,00	Horizontal	Kontrollgruppe
57-104 37	1,74	1,27	72,99	1,10	63,22	1,47	84,48	0,22	12,64	Horizontal	GTR-Membran-Gruppe
57-104 46	1,93	1,35	69,95	1,14	59,07	1,72	89,12	0,00	0,00	Schlüsselloch	PDGF-Gruppe
57-104 47	3,12	0,95	30,45	0,56	17,95	2,81	90,06	0,30	9,62	Schlüsselloch	PDGF-Gruppe
57-112 36	2,46	1,51	61,38	1,44	58,54	2,25	91,46	0,11	4,47	Horizontal	GTR-Membran-Gruppe
57-112 37	2,55	2,09	81,96	2,55	100,00	2,43	95,29	0,00	0,00	Horizontal	Kontrollgruppe
57-112 46	1,91	0,83	43,46	0,96	50,26	1,87	97,91	0,00	0,00	Schlüsselloch	PDGF-Gruppe
57-112 47	1,69	0,00	0,00	0,25	14,79	0,18	10,65	1,52	89,94	Schlüsselloch	PDGF-Gruppe
57-227 36	1,95	1,03	52,82	0,90	46,16	1,89	96,92	0,06	3,08	Schlüsselloch	GTR-Membran-Gruppe
57-227 37	2,25	1,82	80,89	1,35	60,00	2,25	100,00	0,00	0,00	Schlüsselloch	Kontrollgruppe
57-227 46	2,46	1,52	61,79	1,57	63,82	2,35	95,53	0,02	0,81	Horizontal	PDGF-Gruppe
57-227 47	2,68	1,86	69,40	1,56	58,21	2,58	96,27	0,00	0,00	Horizontal	GTR-Membran-Gruppe
107-1009 36	2,04	0,84	41,18	0,68	33,33	1,98	97,06	0,06	2,94	Schlüsselloch	GTR-Membran-Gruppe
107-1009 37	2,22	1,58	71,17	1,53	68,92	2,19	98,65	0,00	0,00	Schlüsselloch	PDGF-Gruppe
107-1009 46	1,73	0,44	25,34	0,83	47,98	1,69	97,69	0,04	2,31	Horizontal	GTR-Membran-Gruppe
107-1009 47	2,58	1,42	55,04	0,89	34,50	2,58	100,00	0,00	0,00	Horizontal	GTR-Membran-Gruppe
107-1112 36	2,31	1,00	43,29	0,38	16,45	1,97	85,28	0,34	14,72	Horizontal	PDGF-Gruppe
107-1112 37	3,05	1,47	48,20	0,20	6,56	2,71	88,85	0,34	11,15	Horizontal	PDGF-Gruppe
107-1112 46	3,14	0,94	29,94	0,23	7,33	2,40	76,43	0,73	23,25	Schlüsselloch	GTR-Membran-Gruppe
107-1112 47	2,32	1,53	65,95	1,30	56,04	2,25	96,98	0,00	0,00	Schlüsselloch	GTR-Membran-Gruppe

Zahn	Defekt- fläche in mm ²	Knochen- fläche in mm ²	Knochen- fläche in %	ZEZ- Fläche in mm ²	ZEZ- Fläche in %	Binde- gewebe- fläche in mm ²	Binde- gewebe- fläche in %	Saum- epithel- fläche in mm ²	Saum- epithel- fläche in %	Defekt	Gruppe
57-52 36	3,53	1,69	47,87	0,27	7,65	1,48	41,92	0,09	2,55	Schlüsselloch	Kontrollgruppe
57-52 37	3,06	1,67	54,43	0,22	7,19	1,17	38,23	0,00	0,00	Schlüsselloch	GTR-Membran-Gruppe
57-52 46	3,04	1,51	49,67	0,37	12,17	1,15	37,83	0,01	0,33	Horizontal	PDGF-Gruppe
57-52 47	2,83	0,53	18,73	0,22	7,77	1,89	66,78	0,19	6,71	Horizontal	PDGF-Gruppe
57-104 36	4,58	2,87	62,66	0,28	6,11	1,43	31,22	0,00	0,00	Horizontal	Kontrollgruppe
57-104 37	2,25	1,15	51,11	0,14	6,22	0,84	37,33	0,12	5,33	Horizontal	GTR-Membran-Gruppe
57-104 46	2,56	0,93	36,33	0,07	2,73	1,57	61,33	0,00	0,00	Schlüsselloch	PDGF-Gruppe
57-104 47	4,54	0,90	19,82	0,05	1,10	3,39	74,67	0,21	4,63	Schlüsselloch	PDGF-Gruppe
57-112 36	3,76	1,54	40,96	0,21	5,59	1,95	51,86	0,06	1,60	Horizontal	GTR-Membran-Gruppe
57-112 37	3,99	1,80	45,11	0,28	7,02	1,91	47,87	0,00	0,00	Horizontal	Kontrollgruppe
57-112 46	2,85	0,62	21,75	0,22	7,72	2,00	70,18	0,00	0,00	Schlüsselloch	PDGF-Gruppe
57-112 47	2,27	0,00	0,00	0,04	1,76	0,17	7,49	2,06	90,75	Schlüsselloch	PDGF-Gruppe
57-227 36	2,64	0,59	22,35	0,09	3,41	1,90	71,97	0,06	2,27	Schlüsselloch	GTR-Membran-Gruppe
57-227 37	3,48	2,35	67,53	0,16	4,60	0,97	27,87	0,00	0,00	Schlüsselloch	Kontrollgruppe
57-227 46	4,65	1,61	34,62	0,47	10,11	2,29	49,24	0,28	6,02	Horizontal	PDGF-Gruppe
57-227 47	5,29	2,28	43,10	0,41	7,75	2,60	49,15	0,00	0,00	Horizontal	GTR-Membran-Gruppe
107-1009 36	2,79	0,60	21,51	0,08	2,87	2,04	73,12	0,07	2,51	Schlüsselloch	GTR-Membran-Gruppe
107-1009 37	3,15	1,11	35,24	0,20	6,35	1,85	58,73	0,00	0,00	Schlüsselloch	PDGF-Gruppe
107-1009 46	2,55	0,45	17,65	0,14	5,49	1,92	75,29	0,04	1,57	Horizontal	GTR-Membran-Gruppe
107-1009 47	4,28	1,23	28,74	0,05	1,17	3,01	70,33	0,00	0,00	Horizontal	GTR-Membran-Gruppe
107-1112 36	3,52	0,40	11,36	0,05	1,42	2,80	79,55	0,27	7,67	Horizontal	PDGF-Gruppe
107-1112 37	6,27	1,25	19,94	0,05	0,80	4,68	74,64	0,29	4,63	Horizontal	PDGF-Gruppe
107-1112 46	5,52	0,36	6,52	0,07	1,27	4,25	76,99	0,83	15,04	Schlüsselloch	GTR-Membran-Gruppe
107-1112 47	3,67	1,22	33,24	0,25	6,81	2,20	59,95	0,00	0,00	Schlüsselloch	GTR-Membran-Gruppe

8.2. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Dissertation unterstützt haben.

Insbesondere gilt mein Dank den folgenden Personen, ohne deren Unterstützung die Dissertation nicht zustande gekommen wäre.

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von August 2015 bis 2022 an der Klinik für Zahnärztliche Prothetik, Propädeutik und Werkstoffkunde im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel unter der Betreuung von

Priv.-Doz. Dr. med. dent Dietmar Weng

durchgeführt.

Ihm gilt mein besonderer Dank für die Betreuung, der freundlichen Hilfen und für die Möglichkeit zur freien Gestaltung dieser interessanten Fragestellung. Insbesondere der konstruktive Austausch und die regelmäßigen Gespräche auf fachlicher und persönlicher Ebene waren stets eine große Hilfe für mich.

Auch danke ich Prof. Dr. med. dent. Mattias Kern für die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens sowie für die ständige Bereitschaft offene Fragen zu beantworten.

Außerdem möchte ich mich bei Frank Lehmann bedanken für die große Hilfsbereitschaft während der Arbeiten im wissenschaftlichen Labor. Für die Erläuterungen und Unterstützungen bei technischen Fragestellungen.

Des Weiteren danke ich der Firma Geistlich Pharma AG für die materielle Unterstützung.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich zudem Laura Füßl meinen Dank aussprechen für die gegenseitige Unterstützung bei der Herstellung der mikroskopischen Bilder.

Meinen Eltern möchte ich ganz besonders herzlich Danken für die aufmerksame und vielseitige Unterstützung während dem Verfassen dieser Arbeit. Meinem Ehemann Philipp Stapf danke ich von ganzem Herzen für seine uneingeschränkte Unterstützung, Motivation und dessen Rückhalt. Nicht zuletzt danke ich auch meinen Kindern Paul und Max.

Darüber hinaus gilt mein Dank allen die nicht namentlich genannt wurden, jedoch zur Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben.

8.3. Veröffentlichung



Article

Platelet-Derived Growth Factor-Modulated Guided Tissue Regeneration with a Bioresorbable Membrane in Class III Furcation Defects: A Histometric Study in the Monkey

Dietmar Weng ^{1,*}, Lina Stapf ¹, Matthias Kern ¹ and Ralf-Joachim Kohal ²

¹ Department of Prosthodontics, Propædeutics and Dental Materials, School of Dentistry, Christian-Albrechts University, 24105 Kiel, Germany; lbruchmann@gmx.de (L.S.); mkern@proth.uni-kiel.de (M.K.)

² Medical Center—University of Freiburg, Center for Dental Medicine, Department of Prosthetic Dentistry, Faculty of Medicine, University of Freiburg, Hugstetter Str. 55, 79106 Freiburg, Germany; ralf.kohal@uniklinik-freiburg.de

* Correspondence: dweng@proth.uni-kiel.de



Citation: Weng, D.; Stapf, L.; Kern, M.; Kohal, R.-J. Platelet-Derived Growth Factor-Modulated Guided Tissue Regeneration with a Bioresorbable Membrane in Class III Furcation Defects: A Histometric Study in the Monkey. *Materials* 2021, 14, 2420. <https://doi.org/10.3390/ma14092420>

Academic Editors: Carlos E. Nemceovsky and Joseph Nissan

Received: 29 March 2021
Accepted: 3 May 2021
Published: 6 May 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: It was the aim of this study to histometrically evaluate guided tissue regeneration (bioresorbable membrane plus bone mineral) (GTR) with or without platelet-derived growth factor (PDGF) in two different types of class III furcation defects (small keyhole defects and horizontal defects) in monkeys. In six cynomolgus monkeys, two types of class III furcation defects were created and allowed to chronify for 5 months in mandibular first and second molars. After a hygiene program the molars were assigned to GTR group (collagen membrane plus bovine bone mineral), PDGF group (collagen membrane plus bovine bone mineral plus PDGF), or negative control group (flap reposition only). Histologic sections were made after 7 months of healing and descriptive statistics were provided from the histometric parameters. Postoperative healing was uneventful despite marginal membrane exposures in the GTR and PDGF group. Bone regeneration of 23–35% of the original defect area was found in the two treatment groups. In none of the evaluated key parameters (formation of bone, root cementum, connective tissue, or epithelium) differences were detected between GTR and PDGF groups. However, the negative control teeth exhibited better bone regeneration than the treatment groups. The type of class III defect did not influence the regenerative outcome. Within the limits of this study PDGF was not able to enhance the histologic regeneration of class III furcation areas in monkeys compared to bone mineral enhanced GTR treatment regardless of the defect configuration. Membrane exposure during early healing might have influenced these outcomes.

Keywords: class III furcation; guided tissue regeneration (GTR); platelet-derived growth factor (PDGF); animal study; histometric evaluation

1. Introduction

The treatment outcome of class III furcation defects has always been compromised due to its limited and unpredictable success. Whereas class I and II furcations can be handled reliably in most cases with a non-surgical [1] or surgical approach [2–4], the anatomy of the furcation area in general [5] and the architecture of a class III furcation defect involve unfavorable conditions for guided tissue regeneration (GTR) [6]. Especially the big distance between the areas to be regenerated and the remaining periodontal ligament cells as well as the associated exposure of the furcation entrance caused by soft tissue recession seem to be the main problems for successful GTR in class III furcations [7]. Various single and combined treatment modalities have been considered to regenerate class III furcations. Among them were expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) membranes [2,7–14], polylactide membranes [15,16], elastin-fibrin membranes [17], fibrin adhesive material [18], decalcified freeze-dried bone allograft [19–21], hydroxyapatite [22], and tricalcium phos-

phate [23]. None of them provided satisfying or predictable results for a closure of the class III furcation defects.

Additionally, growth factors have been introduced into the periodontal regenerative armamentarium [24]. One of them, platelet-derived growth factor (PDGF), showed significant enhancements in regeneration of periodontal defects [25–29]. Its strong chemotactic and mitogenic effect on periodontal ligament cells is considered the main reason for improved regenerative results [30]. PDGF is also released together with other cytokines following platelet activation. Therefore, it is one of the main growth factors underlying the effects of platelet concentrates. [31]. There is evidence that platelet concentrates are effective in enhancing periodontal wound healing [32]. Some research groups also recommended the combination of barrier membranes with PDGF so as to combine the effects of periodontal ligament fibroblast stimulation and prevention of epithelial cell ingrowth [29,30,33].

Therefore, the purpose of this study was to evaluate the effect of a bioresorbable barrier membrane in combination with a bone mineral graft with or without PDGF in class III furcation defects. Furthermore, the effect of the defect configuration on the regenerative results was tested.

2. Materials and Methods

In this study, six adult male cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) were used and treated according to the guidelines of the Animal Welfare Committee of the University of Texas at Houston, Health Science Center (Approval Number HSC-AW-98-073). General anesthesia was induced by ketamine i.m. (10–15 mg/kg) and maintained by gas intubation with 1.5–2 vol.% isoflurane. In addition, the anesthetic agent buprenorphine i.m. (0.01–0.02 mg/kg) was administered. Local injection of lidocaine 2% with epinephrine 1:50,000 into the surgical areas reduced hemorrhage.

After elevation of mucoperiosteal flaps on the buccal and lingual aspects, in both sides of the mandible class III furcation defects were created between the mesial and distal roots of the first and second molars. On one side of the mandible small keyhole defects of 2 mm × 2 mm were surgically created with round burs and chisels, whereas on the contralateral side the defects were not only slightly larger in size but also the bony attachment mesial of the mesial root and distal of the distal root was removed, thus producing kind of a circumferential horizontal bone loss. Similar kind of defects have been previously described by Pontoriero et al. [7] (Figure 1). The root surfaces were scaled and root planed meticulously to completely remove the periodontal ligament. To enhance plaque accumulation of the class III furcation defects and to prevent spontaneous wound healing during the following months, an impression material (Reprosil[®], Dentsply Sirona, York, PA, USA) was brought into the furcation areas. The flaps were readapted and sutured back to their original position. For the following 5 months, no oral hygiene measures were taken to allow for heavy plaque formation and chronic inflammation of the sites. After the first 3 months of plaque formation, the impression material was removed from all mandibular molars. At month 5 the teeth were scaled supragingivally and an oral hygiene regimen was established three times per week (tooth brushing with pumice and chlorhexidine) for the following 4 weeks.

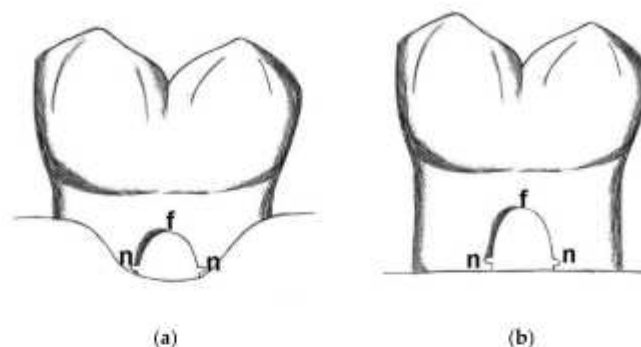


Figure 1. Small keyhole defect (a) and horizontal defect type (b). After chronification of the defects notches (n) were made with a round bur at the level of the bone crest at the apical end of the furcation (f).

At month 6, buccal and lingual mucoperiosteal flaps were raised in the lower molars again. All defects were thoroughly debrided, scaled and root planed. In the furcation defects, root notches were made at the level of the bone crest inside the furcation area (Figure 1). The molars on each side were randomly assigned to either the GTR group (bioresorbable porcine collagen membrane Perio-Gide® plus bovine bone grafting material Bio-Oss Collagen®, both from Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) or to the PDGF group (bioresorbable porcine collagen membrane Perio-Gide® plus bovine bone grafting material Bio-Oss Collagen®, both from Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland, plus an experimental PDGF (rr-PDGF-BB, i.e., recombinant rat (*E. coli*-derived) PDGF BB)) or to the control group (no further treatment done). The GTR group, i.e., a combination of barrier membrane and bone graft, was considered the standard treatment (positive control) for periodontal defects, whereas the PDGF group represented the test group by adding the PDGF and using the bone graft as a carrier. Therefore, only a small number of teeth were added as negative controls. In both the small keyhole defects and the larger horizontal defects 5 teeth were assigned to the GTR group, 5 teeth to the PDGF group and 2 teeth to the control group. The bovine bone grafting material was mixed with saline 0.9% in the GTR group and additionally with the PDGF solution in the PDGF group, before it was brought into the furcation area. Membranes were adapted and sutured to the lingual and buccal aspects of the furcation entrance in the two test groups. The flaps were readapted without tension by releasing the periosteum and sutured over the defects.

The postoperative regimen consisted of anti-inflammatory and analgesic agents (buprenorphine and ibuprofen) to reduce postoperative swelling and pain, chlorhexidine rinses for the first 2 weeks after surgery (thereafter, tooth cleaning with chlorhexidine and pumice 3 times per week) and suture removal after 7–10 days.

The tissues and defects were allowed to heal for 7 months. At month 13 of the experiment the animals were anesthetized and sacrificed by exsanguination. The heads of the animals were fixed by vascular perfusion with 2% glutaraldehyde in 0.1 M sodium cacodylate buffer following a carotid artery cut-down procedure. Following this initial fixation, the mandibles were block-resected and immersed in half-strength Karnovsky's fixative buffered to a pH of 7.4 with 0.02 M sodium cacodylate at 4 °C for 48 h. Subsequently, they were kept in 0.185 M sodium cacodylate buffer until processing for undecalcified ground sections according to the method of Donath & Bräuner [34]. Thus, sections of approximately 30 µm in thickness were made from the molars and stained with toluidine blue solution. According to the embedding procedure and grinding angulation, for each tooth 1–4 sections were available for histometric analysis.

Descriptive histology and histometric analyses were carried out by light microscopy evaluating the following parameters (Figure 2):

1. Defect height: Vertical distance between apical end of root notch (n) and coronal end of furcation (f)
2. New bone height: Vertical distance between apical end of root notch (n) and coronal end of newly formed bone (b)
3. New cementum height: Vertical distance between apical end of root notch (n) and coronal end of newly formed cementum (c)
4. New connective tissue height: Vertical distance between apical end of root notch (n) and apical end of epithelium (e)
5. Epithelial height: Vertical distance between apical end of epithelium (e) and coronal end of furcation (f)

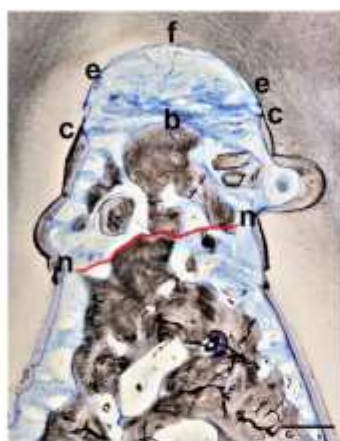


Figure 2. Sample histology with the histometric landmarks *f* (coronal end of furcation), *n* (apical end of notch), *b* (coronal end of newly formed bone), *c* (coronal end of newly formed cementum), and *e* (apical end of epithelium). Red line delineates old bone (below the red line) from newly formed bone (above the red line). Bar in lower right corner represents 0.5 mm.

Parameters 1–5 were measured separately along the distal and mesial root within the furcation and then a mean value between the two measurements was used as value for the respective section.

6. Defect area: Area outlined by a line between the apical ends of the notches and the root surfaces along the furcation.
7. New bone area: Area occupied by newly formed bone within the defect area
8. New cementum area: Area occupied by newly formed cementum within the defect area
9. New soft connective tissue area: Area occupied by newly formed soft connective tissue within the defect area
10. Epithelium area: Area occupied by epithelium within the defect area
11. Free bone graft area: Area occupied within the defect area by bone graft particles not embedded into new bone

Parameters 2–5 and 7–11 were expressed as percentages of parameter 1 and 6, respectively. From the available sections of a certain tooth a mean value per tooth was calculated. The statistical unit *n* for the average values and standard deviations was the tooth, i.e., total *n* was 24. The histologic and histometric assessment was carried out blind with regard to the treatment which has been done. Descriptive statistics, i.e., means and standard deviations (Microsoft Excel), a Kruskal–Wallis test to compare between the 3 treatment groups, and a Mann–Whitney test to compare within the treatments groups between the

2 different defect sizes (www.statskingdom.com (accessed on 24 April 2021)) were used to present and analyze the data (significance level set at 0.05).

3. Results

3.1. Clinical Findings

Healing was uneventful in general. Marginal exposures of the collagen membranes of 1 to 1.5 mm on the buccal and lingual sides were observed during the first 3 postoperative weeks in all test defects (PDGF and GTR groups). Due to the resorption of the collagen the exposed membranes dissolved after approximately 4 weeks. Slight gingival recession was noted thereafter in those areas.

3.2. Histological Findings

In 23 out of 24 teeth new bone formation was visible within the furcation areas. The overall average bone height in the two treatment groups and in the control group was approximately 60% of the defect height, with markedly better regeneration in the control teeth. Similar observations were made when the bone area was examined: Overall 35% of the original defect area was filled with bone, but again the control teeth showed more pronounced regeneration than the teeth from the test groups. New cementum formation was visible in all teeth. Sometimes the new cementum formation was not continuous but interrupted along the formerly contaminated root surface. New cementum was different from the original acellular extrinsic fibres cementum and consisted of cellular intrinsic fibres cementum. Soft connective tissue and/or epithelium were present in all specimens. Ankylosis has not been detected in any of the specimens. Exemplary histologies for each group are presented in Figures 3–5.

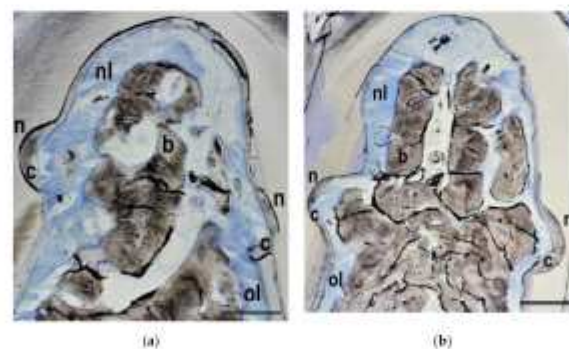


Figure 3. Control group histology from the keyhole (a) and the horizontal (b) defect types. The notches (n) on both sides as well as the whole defect area have been covered with a layer of new cementum (c) onto the formerly contaminated and debrided root surface. New bone (b) has grown into the furcation area and occupied approximately two thirds of the defect height. New periodontal ligament (nl) has formed coronally to the original periodontal ligament (ol). Bar in lower right corner represents 0.5 mm.

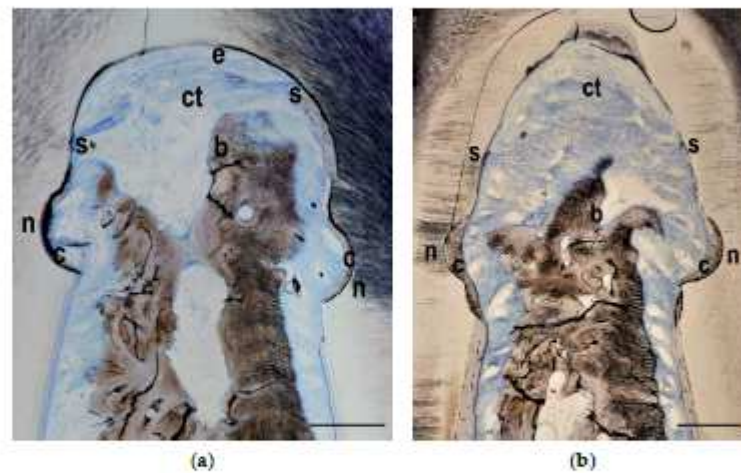


Figure 4. GTR group histology from the keyhole (a) and the horizontal (b) defect types. Whereas the notches (n) on both sides of the defect have still been covered with a layer of new cementum (c), the cement formation has stopped (s) coronal to the notches and has not covered the whole furcation roof. Some new bone (b) has grown into the furcation area and occupied approximately half of the defect height. Connective tissue (ct) and epithelium (e) have formed in the coronal part of the furcation. Bar in lower right corner represents 0.5 mm.

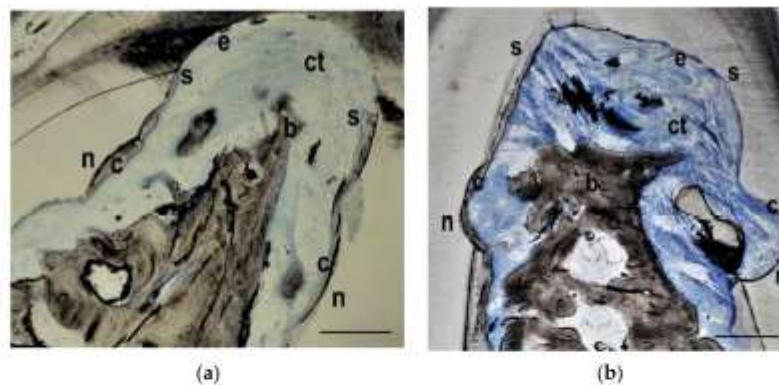


Figure 5. PDGF group histology from the keyhole (a) and the horizontal (b) defect types. Similar to the histologies of the GTR group, the notches (n) on both sides of the defect have been covered with a layer of new cementum (c), but the cement formation has stopped (s) coronal to the notches and has not covered the whole furcation roof. Again, some new bone (b) has grown into the furcation area and occupied approximately half of the defect height. Connective tissue (ct) and epithelium (e) have formed in the coronal part of the furcation. Bar in lower right corner represents 0.5 mm.

3.3. Histometrical Measurements

Altogether 65 histological sections were suitable for histometrical evaluation, the number of sections for an individual tooth ranging from 1 to 4. In Table 1 (small keyhole defects) and Table 2 (horizontal defects) the individual results can be seen. Although the total amount of regenerated bone and cementum height and area was encouraging, there was a clear tendency regarding the regeneration with new bone and new cementum that both GTR and PDGF groups were not different from each other and worse than the

untreated controls ($p > 0.05$ between the 3 treatment groups in all measured parameters). Furthermore, no influence of the defect configuration was detectable ($p > 0.05$ between defect configurations in all measured parameters within the same treatment group).

Table 1. Histometric results in small keyhole class III furcation defects.

Histometric Parameters	GTR (n = 5)	PDGF (n = 5)	Control (n = 2)
Defect height (in mm)	2.2 ± 0.5 mm	2.2 ± 0.6 mm	2.3 ± 0.0 mm
New bone height (in % of defect height)	51 ± 17%	42 ± 30%	77 ± 4%
New cementum height (in % of defect height)	44 ± 27%	42 ± 25%	66 ± 6%
New connective tissue height (in % of defect height)	92 ± 11%	77 ± 37%	96 ± 6%
Epithelium height (in % of defect height)	6 ± 11%	20 ± 39%	3 ± 4%
Defect area (in mm ²)	3.5 ± 1.2 mm ²	3.1 ± 0.9 mm ²	3.5 ± 0.0 mm ²
New bone area (in % of defect area)	27 ± 18%	23 ± 15%	57 ± 13%
New cementum area (in % of defect area)	5 ± 3%	4 ± 3%	7 ± 2%
New connective tissue area (in % of defect area)	63 ± 16%	55 ± 27%	35 ± 9%
Epithelium area (in % of defect area)	4 ± 7%	19 ± 40%	1 ± 2%
Free bone graft area (in % of defect area)	2 ± 2%	1 ± 1%	0 ± 0%

Table 2. Histometric results in horizontal class III furcation defects.

Histometric Parameters	GTR (n = 5)	PDGF (n = 5)	Control (n = 2)
Defect height (in mm)	2.2 ± 0.5 mm	2.3 ± 0.5 mm	2.6 ± 0.01 mm
New bone height (in % of defect height)	57 ± 20%	52 ± 23%	80 ± 2%
New cementum height (in % of defect height)	53 ± 15%	40 ± 30%	87 ± 19%
New connective tissue height (in % of defect height)	93 ± 8%	89 ± 7%	97 ± 2%
Epithelium height (in % of defect height)	5 ± 8%	10 ± 9%	0 ± 0%
Defect area (in mm ²)	3.6 ± 1.3 mm ²	4.1 ± 1.4 mm ²	4.3 ± 0.4 mm ²
New bone area (in % of defect area)	35 ± 15%	27 ± 15%	55 ± 10%
New cementum area (in % of defect area)	5 ± 2%	7 ± 5%	6 ± 1%
New connective tissue area (in % of defect area)	56 ± 19%	60 ± 17%	40 ± 11%
Epithelium area (in % of defect area)	2 ± 4%	6 ± 4%	0 ± 0%
Free bone graft area (in % of defect area)	1 ± 1%	1 ± 1%	0 ± 0%

4. Discussion

Periodontal regeneration in furcation class I and II defects has been documented clinically and histologically well in the literature and seems to be quite predictable. This is not the case in class III furcation defects [35]. The number of studies examining animal models for histologically regenerating this kind of defect is limited, especially in higher animals. Pontoriero et al. [7] have shown that with ePTFE membranes complete regeneration of chronic class III furcations in dogs is possible. However, the defect should not be bigger than 2 × 2 mm (small keyhole defect) and membrane exposure should not occur. If the defects were bigger (3 × 3 mm, i.e., large keyhole defects, or horizontal defects), regeneration with new bone and cementum was not achieved because membrane exposure occurred and flap recession, exposing the through-and-through area, was the consequence. In our monkey model the furcation class III defects were resembling closer to furcations in humans than in a dog model. The small keyhole defects measured 2 × 2 mm in size, i.e., identical to Pontoriero et al. [7] despite the smaller molar sizes of the monkey, and the larger horizontal defects simulated a more progressed horizontal bone loss exposing the furcation entrances.

Park et al. [29] showed in a beagle dog study without a bone graft underneath the membranes that PDGF in addition to GTR had a positive influence on regeneration of class III furcation areas compared to GTR alone. They examined 6 animals after 5, 8, and 11 weeks (2 animals at each time point, each with 4 treated teeth; 2 teeth had GTR plus liquid vehicle only, 2 teeth had GTR plus PDGF), and reported that there were no

differences after 5 weeks. However, after 8 weeks the PDGF group had more bone fill and new periodontal ligament in the furcation areas than the GTR group. At 11 weeks the GTR group had almost the same bone fill as the PDGF group. Therefore, the authors concluded that the initial healing process progressed faster in the PDGF group. However, untreated controls were not available.

The results of this monkey study were not able to demonstrate a positive effect of the added growth factor PDGF, but might stress instead the importance of the direct postoperative healing phase [36,37], especially as far as barrier membrane exposure is concerned. Membrane exposure has been shown to worsen the results after periodontal regenerative surgery [38,39]. Colonization with microorganisms and faster membrane degradation are factors interfering with undisturbed proliferation of new ligament cells. The limited number of negative controls in our study showed better regeneration in the furcation areas than the two treatment groups in which barrier membranes were applied according to GTR principles. Furthermore, the addition of PDGF to the bone graft mineral was not able to enhance regeneration in the PDGF group, irrespective of the type of class III furcation. Even limited exposure of resorbable barrier membranes can negatively influence the regenerative results, as a recent retrospective study in humans has demonstrated [40]. The unfavorable defect morphology of a class III furcation defect predisposes to bacterial contamination and, possibly, local infection during the early healing phase. One might even speculate, whether a barrier membrane (although it is fundamental part of any classical GTR procedure) is counterproductive in challenging defects such as class III furcation areas, because any exposure might accelerate the access of bacteria to the regenerative space and thus compete with the added benefit of a growth factor. Not even resorbable membranes (compared to non-resorbable membranes) and their faster degradation properties after exposure might compensate for such factors negatively influencing the regenerative result. In addition, differences can be expected whether the exposure of a resorbable barrier membrane leads to defect exposure or not [41]. Keeping the flap above the barrier membrane has always been a challenge in regenerative surgery of class III furcation defects. Nevertheless, it is probable that barrier membrane exposure rates are reduced in humans, since they usually follow postoperative instructions of wound care compared to animals.

Prolonged contamination time of 3 months with the impression material in the furcation area could be another reason for the reduced regenerative results in the test groups of our monkey model. Pontoriero et al. [7] used in their dog model a shorter contamination time of 3 weeks with impression material. The longer contamination time was chosen to adapt the chronification period after surgical defect creation to a more clinically realistic scenario.

Furthermore, one might speculate (upon comparing the two test groups) that a beneficial effect of PDGF might have worn off after 7 months and would have possibly been detectable after a shorter observation time. On the other side, clinical (and radiographical) re-assessments after regenerative periodontal surgery are usually performed 6 months after surgery in order not to disturb wound healing in a clinical setting with patients. Therapeutic approaches not lasting longer than 6 months would be questionable from a clinical viewpoint.

5. Conclusions

In conclusion, in this histologic monkey study with medium term healing of class III furcation defects no added regenerative effect of PDGF could be demonstrated compared to bone mineral enhanced GTR treatment regardless of the defect configuration. However, postoperative barrier membrane exposure might have influenced the results. These hypotheses should be investigated in further studies.

Author Contributions: Conceptualization, D.W.; methodology, D.W. and R.-J.K.; formal analysis, D.W. and M.K.; investigation, D.W. and R.-J.K.; data curation, D.W. and M.K. and L.S.; writing—original draft preparation, D.W.; writing—review and editing, D.W. and M.K.; visualization, D.W. and L.S.; funding acquisition, D.W. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was supported by Geistlich Pharma AG, Wollhusen, Switzerland.

Institutional Review Board Statement: This study was approved by the Animal Welfare Committee of the University of Texas at Houston, Health Science Center (Approval Number HSC-AW-98-073).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author D.W.

Acknowledgments: The authors would like to express their gratitude to late Raúl Guillermo Caffesse for his invaluable input and support for this study. In addition, the authors thank Waltraut Schneider for processing the histologic material and Fiona Weng for drawing Figure 1.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

- Carranza, F.A., Jr.; Jolkovsky, D.L. Current status of periodontal therapy for furcation involvements. *Dent. Clin. N. Am.* **1991**, *35*, 555–570. [[PubMed](#)]
- Pontoriero, R.; Nyman, S.; Lindhe, J.; Rosenberg, E.; Sanavi, F. Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in man. *J. Clin. Periodontol.* **1987**, *14*, 618–620. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Pontoriero, R.; Lindhe, J.; Nyman, S.; Karring, T.; Rosenberg, E.; Sanavi, F. Guided tissue regeneration in degree II furcation-involved mandibular molars. A clinical study. *J. Clin. Periodontol.* **1988**, *15*, 247–254. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Caffesse, R.G.; Smith, B.A.; Duff, B.; Morrison, E.C.; Merrill, D.; Becker, W. Class II furcations treated by guided tissue regeneration in humans: Case reports. *J. Periodontol.* **1990**, *61*, 510–514. [[CrossRef](#)]
- Mardam-Bey, W.; Majzoub, Z.; Kon, S. Anatomic considerations in the etiology and management of maxillary and mandibular molars with furcation involvement. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* **1991**, *11*, 398–409.
- Reddy, M.S.; Aichelmann-Reidy, M.E.; Avila-Ortiz, G.; Klokkevold, P.R.; Murphy, K.G.; Rosen, P.S.; Schallhorn, R.G.; Sculean, A.; Wang, H.L. Periodontal regeneration—Furcation defects: A consensus report from the AAP Regeneration Workshop. *J. Periodontol.* **2015**, *86* (Suppl. 2), S131–S133. [[CrossRef](#)]
- Pontoriero, R.; Nyman, S.; Ericsson, I.; Lindhe, J. Guided tissue regeneration in surgically-produced furcation defects. An experimental study in the beagle dog. *J. Clin. Periodontol.* **1992**, *19*, 159–163. [[CrossRef](#)]
- Becker, W.; Becker, B.E.; Prichard, J.F.; Caffesse, R.; Rosenberg, E.; Gian-Grasso, J. Root isolation for new attachment procedures. A surgical and suturing method: Three case reports. *J. Periodontol.* **1987**, *58*, 819–826. [[CrossRef](#)]
- Pontoriero, R.; Lindhe, J.; Nyman, S.; Karring, T.; Rosenberg, E.; Sanavi, F. Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in mandibular molars. A clinical study of degree III involvements. *J. Clin. Periodontol.* **1989**, *16*, 170–174. [[CrossRef](#)]
- Kocher, T.; Kuhrau, N.; Plagmann, H.C. Guided tissue regeneration for the treatment of different periodontal defects. A clinical study. *Dtsch. Zahnärztl. Z.* **1991**, *46*, 423–425.
- Garrett, S.; Gantes, B.; Zimmerman, G.; Egelberg, J. Treatment of mandibular class III periodontal furcation defects. Coronally positioned flaps with and without expanded polytetrafluoroethylene membranes. *J. Periodontol.* **1994**, *65*, 592–597. [[CrossRef](#)]
- Pontoriero, R.; Lindhe, J. Guided tissue regeneration in the treatment of degree III furcation defects in maxillary molars. *J. Clin. Periodontol.* **1995**, *22*, 810–812. [[CrossRef](#)]
- Yamanouchi, K.; Chang, C.Y.; Yamada, S. A clinical evaluation of guided tissue regeneration in the treatment of class II and class III furcation bony defects. *Bull. Tokyo Dent. Coll.* **1995**, *36*, 9–17.
- Araujo, M.; Berglundh, T.; Lindhe, J. The periodontal tissues in healed degree III furcation defects. An experimental study in dogs. *J. Clin. Periodontol.* **1996**, *23*, 532–541. [[CrossRef](#)]
- Lindhe, J.; Pontoriero, R.; Berglundh, T.; Araujo, M. The effect of flap management and bioresorbable occlusive devices in GTR treatment of degree III furcation defects. An experimental study in dogs. *J. Clin. Periodontol.* **1995**, *22*, 276–283. [[CrossRef](#)]
- Eickholz, P.; Kim, T.S.; Holle, R. Guided tissue regeneration with non-resorbable and biodegradable barriers: 6 months results. *J. Clin. Periodontol.* **1997**, *24*, 92–101. [[CrossRef](#)]
- Da Costa-Noble, R.; Soustre, E.C.; Cadot, S.; Lauerjät, Y.; Lefebvre, E.; Rabaud, M. Evaluation of bioabsorbable elastin-fibrin matrix as a barrier in surgical periodontal treatment. *J. Periodontol.* **1996**, *67*, 927–934. [[CrossRef](#)]
- Dogan, A.; Taner, L.; Oygür, T.; Balos, K. Effects of fibrin adhesive material (Tissucol) application on furcation defects in dogs. *J. Nihon Univ. Sch. Dent.* **1992**, *34*, 34–41. [[CrossRef](#)]

19. Anderegg, C.R.; Martin, S.J.; Gray, J.L.; Mellonig, J.T.; Gher, M.E. Clinical evaluation of the use of decalcified freeze-dried bone allograft with guided tissue regeneration in the treatment of molar furcation invasions. *J. Periodontol.* **1991**, *62*, 264–268. [\[CrossRef\]](#)
20. Gantes, B.G.; Synowski, B.N.; Garrett, S.; Egelberg, J.H. Treatment of periodontal furcation defects. Mandibular class III defects. *J. Periodontol.* **1991**, *62*, 361–365. [\[CrossRef\]](#)
21. Liao, C.S.; Liu, C.M.; Wong, M.Y.; Hou, L.T.; Chang, W.K. Guided tissue regeneration demineralized freeze-dried bone allograft: Treatment of furcation defects in mandibular molars. *J. Formos. Med. Assoc.* **1995**, *94*, 406–413. [\[PubMed\]](#)
22. Yaegashi, T. Effect of hydroxylapatite particles during healing of experimental furcation involvement in beagle dogs. *Nihon Shishu-byo Gakkaï Kaishi* **1989**, *31*, 83–99. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Pepelassi, E.M.; Bissada, N.F.; Greenwell, H.; Farah, C.F. Doxycycline-tricalcium phosphate composite graft facilitates osseous healing in advanced periodontal furcation defects. *J. Periodontol.* **1991**, *62*, 106–115. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Caffesse, R.G.; Quinones, C.R. Polypeptide growth factors and attachment proteins in periodontal wound healing and regeneration. *Periodontol.* **2000** **1993**, *1*, 69–79. [\[CrossRef\]](#)
25. Lynch, S.E.; Williams, R.C.; Polson, A.M.; Howell, T.H.; Reddy, M.S.; Zappa, U.E.; Antoniadis, H.N. A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J. Clin. Periodontol.* **1989**, *16*, 545–548. [\[CrossRef\]](#)
26. Lynch, S.E.; de Castilla, G.R.; Williams, R.C.; Kiritsy, C.P.; Howell, T.H.; Reddy, M.S.; Antoniadis, H.N. The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J. Periodontol.* **1991**, *62*, 458–467. [\[CrossRef\]](#)
27. Rutherford, R.B.; Niekrash, C.E.; Kennedy, J.E.; Charette, M.F. Platelet-derived and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys. *J. Periodontol. Res.* **1992**, *27*, 285–290. [\[CrossRef\]](#)
28. Rutherford, R.B.; Ryan, M.E.; Kennedy, J.E.; Tucker, M.M.; Charette, M.F. Platelet-derived growth factor and dexamethasone combined with a collagen matrix induce regeneration of the periodontium in monkeys. *J. Clin. Periodontol.* **1993**, *20*, 537–544. [\[CrossRef\]](#)
29. Park, J.B.; Matsuura, M.; Han, K.Y.; Norderyd, O.; Lin, W.L.; Genco, R.J.; Cho, M.I. Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. *J. Periodontol.* **1995**, *66*, 462–477. [\[CrossRef\]](#)
30. Cho, M.I.; Lin, W.L.; Genco, R.J. Platelet-derived growth factor-modulated guided tissue regenerative therapy. *J. Periodontol.* **1995**, *66*, 522–530. [\[CrossRef\]](#)
31. Bennardo, F.; Liborio, E.; Barone, S.; Antonelli, A.; Buffone, C.; Fortunato, L.; Guidice, A. Efficacy of platelet-rich fibrin compared with triamcinolone acetonide as injective therapy in the treatment of symptomatic oral lichen planus: A pilot study. *Clin. Oral Investig.* **2021**. [\[CrossRef\]](#)
32. Castro, A.B.; Meschi, N.; Temmerman, A.; Pinto, N.; Lambrechts, P.; Teughels, W.; Quirynen, M. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part A: Intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Periodontol.* **2017**, *44*, 67–82. [\[CrossRef\]](#)
33. Laugisch, O.; Cosgarea, R.; Nikou, G.; Nikolidakis, D.; Donos, N.; Salvi, G.E.; Stavropoulos, A.; Jepsen, S.; Sculean, A. Histologic evidence of periodontal regeneration in furcation defects: A systematic review. *Clin. Oral Investig.* **2019**, *23*, 2861–2906. [\[CrossRef\]](#)
34. Donath, K.; Breuner, G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J. Oral Pathol.* **1982**, *11*, 318–326. [\[CrossRef\]](#)
35. Wang, H.L.; Greenwell, H.; Fiorellini, J.; Giannobile, W.; Offenbacher, S.; Salkin, L.; Townsend, C.; Sheridan, P.; Genco, R.J. Periodontal Regeneration. *J. Periodontol.* **2005**, *76*, 1601–1622. [\[CrossRef\]](#)
36. Górski, B.; Kaczyński, T.; Miskiewicz, A.; Górska, R. Early postoperative healing following guided tissue regeneration in aggressive periodontitis patients. *Dent. Med. Probl.* **2018**, *55*, 289–297. [\[CrossRef\]](#)
37. Wachtel, H.; Schenk, G.; Böhm, S.; Weng, D.; Zuh, O.; Hürzeler, M.B. Microsurgical access flap and enamel matrix derivative for the treatment of periodontal intrabony defects: A controlled clinical study. *J. Clin. Periodontol.* **2003**, *30*, 496–504. [\[CrossRef\]](#)
38. Majzoub, J.; Barootchi, S.; Tavelli, L.; Wang, C.W.; Travan, S.; Wang, H.L. Treatment effect of guided tissue regeneration on the horizontal and vertical components of furcation defects: A retrospective study. *J. Periodontol.* **2020**, *91*, 1148–1158. [\[CrossRef\]](#)
39. Ling, L.J.; Hung, S.L.; Lee, C.F.; Chen, Y.T.; Wu, K.M. The influence of membrane exposure on the outcomes of guided tissue regeneration: Clinical and microbiological aspects. *J. Periodontol. Res.* **2005**, *38*, 57–63. [\[CrossRef\]](#)
40. Majzoub, J.; Barootchi, S.; Tavelli, L.; Wang, C.W.; Chan, H.L.; Wang, H.L. Guided tissue regeneration combined with bone allograft in infrabony defects: Clinical outcomes and assessment of prognostic factors. *J. Periodontol.* **2020**, *91*, 746–755. [\[CrossRef\]](#)
41. Soldatos, N.K.; Stylianou, P.; Koidou, V.P.; Angelov, N.; Yukna, R.; Romanos, G.E. Limitations and options using resorbable versus nonresorbable membranes for successful guided bone regeneration. *Quintessenz Int.* **2017**, *48*, 131–147. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)