

**Aus den Zahnmedizinischen Kliniken der Universität Bern,  
Klinik für Parodontologie**

**Direktor:** Prof. Dr. med. dent., Dr. h.c., M.S. Anton Sculean

**Arbeit unter der Leitung von:** Prof. Dr. med. dent. Sigrun Eick

# **Adhäsion von Bakterien, gingivalen Epithelzellen und Parodontalligamentfibroblasten an Polylaktid- basierten Membranen im Vergleich mit Kollagen- membranen**

Laborstudie

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnmedizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität Bern**

vorgelegt von

Moser Corina

von Neuhausen am Rheinfall SH

Originaldokument gespeichert auf dem Webserver der Universitätsbibliothek Bern



Dieses Werk ist unter einem  
Creative Commons Namensnennung-Keine kommerzielle Nutzung-Keine Bearbeitung 2.5  
Schweiz Lizenzvertrag lizenziert. Um die Lizenz anzusehen, gehen Sie bitte zu  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/ch/> oder schicken Sie einen Brief an  
Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, California 94105, USA.

---

## Urheberrechtlicher Hinweis

Dieses Dokument steht unter einer Lizenz der Creative Commons Namensnennung-Keine kommerzielle Nutzung-Keine Bearbeitung 2.5 Schweiz. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/ch/>

**Sie dürfen:**



dieses Werk vervielfältigen, verbreiten und öffentlich zugänglich machen

**Zu den folgenden Bedingungen:**



**Namensnennung.** Sie müssen den Namen des Autors/Rechteinhabers in der von ihm festgelegten Weise nennen (wodurch aber nicht der Eindruck entstehen darf, Sie oder die Nutzung des Werkes durch Sie würden entlohnt).



**Keine kommerzielle Nutzung.** Dieses Werk darf nicht für kommerzielle Zwecke verwendet werden.



**Keine Bearbeitung.** Dieses Werk darf nicht bearbeitet oder in anderer Weise verändert werden.

Im Falle einer Verbreitung müssen Sie anderen die Lizenzbedingungen, unter welche dieses Werk fällt, mitteilen.

Jede der vorgenannten Bedingungen kann aufgehoben werden, sofern Sie die Einwilligung des Rechteinhabers dazu erhalten.

Diese Lizenz lässt die Urheberpersönlichkeitsrechte nach Schweizer Recht unberührt.

Eine ausführliche Fassung des Lizenzvertrags befindet sich unter <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/ch/legalcode.de>

---

---

**Von der Medizinischen Fakultät der Universität Bern auf Antrag der  
Dissertationskommission als Dissertation genehmigt.**

**Promotionsdatum:**

**Der Dekan der Medizinischen Fakultät:**

# Inhaltsverzeichnis

<b>INHALTSVERZEICHNIS.....</b>	<b>I</b>
<b>1. ABSTRACT .....</b>	<b>1</b>
<b>2. EINLEITUNG .....</b>	<b>3</b>
2.1. PARODONTALE WUNDHEILUNG .....	4
2.2. GESTEUERTE GEWEBEREGENERATION (GTR) .....	6
2.3. MEMBRANEN.....	6
2.4. BAKTERIELLE ADHÄSION AN GTR-MEMBRANEN .....	8
2.5. STUDIENZIEL .....	9
<b>3. MATERIAL UND METHODIK.....</b>	<b>10</b>
3.1. MEMBRANEN.....	10
3.2. MIKROORGANISMEN .....	10
3.3. ZELLEN.....	10
3.4. SCREENING DER ANTIMIKROBIELLEN AKTIVITÄT AUF PLANKTONISCHE BAKTERIEN.....	11
3.5. BIOFILMBILDUNG AUF DEN MEMBRANEN .....	12
3.6. ADHÄSION DER GINGIVALEN EPITHELZELLEN UND PDL-FIBROBLASTEN .....	12
3.7. STATISTISCHE ANALYSE .....	13
<b>4. RESULTATE.....</b>	<b>14</b>
4.1. ANTIMIKROBIELLE AKTIVITÄT .....	14
4.2. BIOFILMBILDUNG AUF DEN MEMBRANEN .....	14
4.3. ADHÄSION VON GINGIVALEN EPITHELZELLEN (TIGK) .....	15
4.4. ADHÄSION VON PDL-FIBROBLASTEN.....	16
<b>5. DISKUSSION.....</b>	<b>18</b>
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>23</b>
<b>7. TABELLENVERZEICHNIS.....</b>	<b>29</b>
<b>8. ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>30</b>
<b>9. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>31</b>
<b>10. ERKLÄRUNG.....</b>	<b>32</b>
<b>11. DANKSAGUNG .....</b>	<b>33</b>

## 1. Abstract

**Zielsetzung:** Das Ziel dieser Laborstudie war es, die Bakterienadhäsion und Anlagerung von gingivalen Epithelzellen (TIGK, Telomerase immortalized gingival Keratinocytes) und Parodontalligamentfibroblasten (PDL-Fibroblasten) an Polylaktid-basierten Membranen im Vergleich zu Kollagenmembranen zu untersuchen.

**Material und Methode:** Als Testprodukt wurde eine bioresorbierbare Membran aus Polylaktid (GUIDOR® Bioresorbable Matrix Barrier; Sunstar; Etoy, Switzerland) verwendet. Die Vergleichsgruppe bestand aus einer bovinen Kollagenmembran (Cytoplast® RTM Collagen membrane; Osteogenics Biomedical, Lubbock, TX, USA) sowie aus einer porcinen Kollagenmembran (Collprotect® botiss materials GmbH, Zossen, Germany). Folgende Mikroorganismen wurden verwendet: *Streptococcus gordonii* ATCC (American Type Culture Collection) 10558, *Actinomyces naeslundii* ATCC 12104, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Tannerella forsythia* ATCC 43037, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Parvimonas micra* ATCC 33270. Als Zelltypen wurden in die Studie PDL-Fibroblasten und gingivale Epithelzellen (TIGK) einbezogen. Die Studie war in drei Hauptversuche unterteilt.

Im ersten Versuch wurde die antimikrobielle Aktivität der Membranen auf planktonische Bakterien untersucht. Die Membranproben wurden auf Wilkins-Chalgren-Agarplatten mit einem definierten Inokulum von Mikroorganismen platziert. Nach 18 h (Anaerobier 42 h) wurden die Hemmzonen gemessen.

Der zweite Versuch beinhaltete die Biofilmanlagerung an die Membranen. Die Membranproben wurden in Suspensionen der sechs verschiedenen Bakterienstämme gegeben. Nach einer Inkubationszeit von 6 h und 48 h unter anaeroben Konditionen wurde die Gesamtzahl der Bakterien sowie die Zahl an *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. micra* und *F. nucleatum* im Biofilm ermittelt.

Im dritten Versuch wurde die Anlagerung von PDL-Fibroblasten und gingivalen Epithelzellen (TIGK) an Membranen mit und ohne Anwesenheit von Mikroorganismen untersucht. Dazu wurden die Membranproben zusammen mit den Zellen in 24-Well-Platten gegeben und während 6 h bzw. 48 h (TIGK) bzw. während 72 h (PDL-Fibroblasten) mit 5% CO<sub>2</sub> inkubiert. Danach wurden die angehafteten TIGKs respektive PDL-Fibroblasten gezählt. Um einen potenziellen Einfluss von Mikroorganismen auf die Adhäsion von gingivalen Epithelzellen beziehungsweise PDL-Fibroblasten zu untersuchen, wurde in einer zweiten Serie von Untersuchungen eine Mischung bestehend aus den sechs Bakterienstämmen hinzugefügt. Wie beim Versuch zuvor wurde die Anzahl adhärenter Zellen ermittelt.

**Resultate:** Es konnte für keine der getesteten Membranen eine antimikrobielle Aktivität nachgewiesen werden. Bei der Biofilmbildung an Membranen haben nach 6 h statistisch signifikant weniger Bakterien die Polylaktid-Membran als die porcine und die bovine Kollagenmembran (jeweils  $p < 0,01$ ) besiedelt, jedoch betrug der Unterschied maximal  $0,49 \log_{10}$ . Nach 24 h konnten keine signifikanten Unterschiede betreffend der Anzahl Bakterien an den unterschiedlichen Membranen gefunden werden. Die geringste Anzahl adhärenter TIGKs wurde nach 6 h und 48 h Inkubation auf der Polylaktid-Membran ermittelt. Entgegen der Erwartungen war die Anzahl adhärenter TIGKs an den Probenmembranen höher in Gegenwart von Bakterien als ohne.

Die Anlagerung der PDL-Fibroblasten an die getesteten Membranen nach 72 h war an den (bovinen) Kollagenmembranen am grössten. In Anwesenheit von Mikroorganismen war die zelluläre Anlagerung der PDL-Fibroblasten an allen Membranen signifikant geringer.

**Schlussfolgerungen:** Innerhalb der Limitationen dieser Studie können folgende Schlussfolgerungen gezogen werden: Eine bakterielle Anlagerung an Membranen kann stattfinden und Mikroorganismen haben auch einen Einfluss auf die zelluläre Anlagerung. Die Beschaffenheit der Membranen spielt dabei eine wesentliche Rolle. Bezüglich der Biofilmbildung auf den Membranen könnte die Verwendung einer Polylaktid-Membran in der Anfangsphase einen leichten Vorteil bringen, da die bakterielle Besiedlung in den ersten 6 h auf diesem Material signifikant geringer war. Jedoch scheint dieser Effekt von kurzer Dauer zu sein, denn bereits nach 24 h war kein Unterschied zwischen den drei verschiedenen Membrantypen mehr zu erkennen. Was die zelluläre Adhäsion betrifft, zeigen die In-Vitro-Resultate dieser Studie, dass die Verwendung einer kollagenbasierten Membran vorteilhaft ist, auch dann, wenn eine bakterielle Exposition vorliegt. Überraschenderweise zeigte sich bei Anwesenheit von Mikroorganismen eine verstärkte Anlagerung von TIGKs im Vergleich zu den Versuchen ohne Mikroorganismen.

## 2. Einleitung

Parodontitis ist eine häufig vorkommende Erkrankung in der Gesellschaft mit einer Prävalenz von 15% (schwere Ausprägung der Erkrankung) bis 50% (leichte bis mittlere Ausprägung der Erkrankung) (Mombelli et al., 2014).

Bei Anwesenheit mikrobieller Plaque reagiert das gingivale Gewebe innert zwei bis vier Tagen mit einer klassischen akuten exsudativen Gingivitis (Page et al., 1976). Dieser Prozess wird durch Page und Schroeder als initiale Läsion definiert (Page et al., 1976). Bakterien oder ihre Produkte interagieren mit dem Epithel und penetrieren in das darunterliegende Bindegewebe (Page et al., 1997). Zahlreiche kleine Blutgefässe und eine grosse Anzahl neutrophiler Granulozyten, welche aus dem Bindegewebe via Saume epithel in den gingivalen Sulkus wandern, sind Zeichen einer Entzündung (Page et al., 1997). Dies führt dazu, dass bereits in diesem Stadium ein kleiner Anteil von Kollagen und anderer Komponenten der perivaskulären extrazellulären Matrix zerstört wird (Page et al., 1997). Im Anschluss an die initiale Läsion entwickelt sich nach 4-10 Tagen die frühe Läsion (Page et al., 1976). Sie ist durch ein dichtes Infiltrat von Lymphozyten und anderen mononukleären Zellen, pathologische Veränderung von Fibroblasten und kontinuierlichem Verlust von Bindegewebe charakterisiert (Page et al., 1976). Aus der frühen Läsion entsteht die etablierte Läsion, welche sich innerhalb von zwei bis drei Wochen manifestiert und durch die Anwesenheit von Plasmazellen gekennzeichnet ist (Page et al., 1976). Dieser Zustand kommt extrem häufig in der Bevölkerung vor und kann über lange Zeit stabil bleiben oder aber sich in eine destruktive Läsion weiterentwickeln (Page et al., 1976). Man bezeichnet dieses Krankheitsstadium auch als fortgeschrittene Läsion. Es ist durch den Verlust von Alveolarknochen und parodontalem Ligament bei weiterbestehender Anwesenheit von Plasmazellen charakterisiert (Page et al., 1976). Während die ersten drei Krankheitsstadien einer Gingivitis entsprechen, ist das letzte Stadium bereits eine manifestierte Parodontitis (Page et al., 1976).

Die chronische Parodontitis ist eine verbreitete Erkrankung mit mikrobiellem Ursprung (Page et al., 1976) und ist die weitaus häufigste Form der Parodontitis (Mombelli et al., 2014). Sie stellt eine Hauptursache für den Zahnverlust bei Erwachsenen dar (Page et al., 1976).

Risikofaktoren für parodontale Erkrankungen können systemisch oder lokal sein (Genco et al., 2013). Das Identifizieren und Modifizieren von diesen Risikofaktoren gehört zum Management von parodontalen Erkrankungen (Genco et al., 2013). Folgende Risikofaktoren werden im Zusammenhang mit chronischer Parodontitis in der Literatur diskutiert: Mundhygiene (Albandar et al., 2002 und Salvi et al., 1997), Rauchen (Albandar et al., 2002; Genco et

al., 2013; Aljehani et al., 2014; Van Dyke, 2005 und Pihlstrom et al., 2001), schlecht eingestellter Diabetes mellitus (Albandar et al., 2002; Genco et al., 2013; Aljehani et al., 2014; Van Dyke, 2005; Pihlstrom et al., 2001 und Salvi et al., 1997), Alter (Albandar et al., 2002; Aljehani et al., 2014 und Van Dyke, 2005), Geschlecht (Albandar et al., 2002; Genco et al., 2013; Aljehani et al., 2014 und Salvi et al., 1997), Rasse (Albandar et al., 2002 und Aljehani et al., 2014), genetische Faktoren (Albandar et al., 2002; Genco et al., 2013; Aljehani et al., 2014 und Van Dyke, 2005 und Pihlstrom et al., 2001), sozioökonomischer Status (Albandar et al., 2002; Aljehani et al., 2014; Salvi et al., 1997 und Timmerman et al., 2006), Stress (Albandar et al., 2002; Genco et al., 2013 und Aljehani et al., 2014), Übergewicht und metabolisches Syndrom (Genco et al., 2013), Osteoporose (Genco et al., 2013; Aljehani et al., 2014 und Van Dyke, 2005), kardiovaskuläre Erkrankungen (Aljehani et al., 2014) und geografische Region (Albandar et al., 2002).

## 2.1. Parodontale Wundheilung

Parodontale Regeneration ist als Rekonstruktion oder Reproduktion von verlorenem oder verletztem Gewebe definiert und hat als Ziel, dessen initiale Form und Funktion wiederherzustellen (Wikesjö et al., 1999). Die optimale Wundheilung nach regenerativer Parodontalchirurgie sollte mit der Entstehung von neuem Zement, Desmodont und Alveolarknochen und einem dichten Abschluss durch gingivales Gewebe enden (Susin et al., 2015). Klinisch ist es oft nicht eindeutig, ob die beobachtete Verbesserung aufgrund einer funktionellen Kollagennarbe, der Bildung von einem langen Saumepithel oder tatsächlich aufgrund parodontaler Regeneration entstanden ist (Wikesjö et al., 1999). Das Parodont hat ein starkes immanentes Regenerationspotential, welches aber durch lokale sowie systemische Faktoren kompromittiert werden kann (Susin et al., 2013). Wundstabilität, Freiraum und primäre Wundheilung sind für die Regeneration von parodontalem Gewebe nötig, reichen aber nicht immer aus, um diese zu erreichen (Susin et al., 2013). Während die Regeneration innerhalb Wochen stattfindet, dauert die vollständige Maturation des Gewebes einige Zeit länger (Susin et al., 2013). Es können vier verschiedene Phasen unterscheiden werden: Hämostase, Inflammation, Proliferation und Maturation/Remodelling (Hämmerle et al., 2014). Die hämostatische Phase wird durch eine Gewebeverletzung initiiert (Sculean et al., 2014). Es bildet sich ein Blutkoagulum und eine provisorische extrazelluläre Matrix, bestehend aus einem Zellkonglomerat und fibrinreicher Matrix (Sculean et al., 2014). Dies ist der Start für die Rekrutierung der Entzündungszellen in den Defekt und stellt somit den Übergang in die inflammatorische Phase dar (Sculean et al., 2014). Innerhalb der ersten sechs Stunden wird die Wurzeloberfläche von Neutrophilen belagert, welche das verletzte und nekrotische Gewebe phagozytieren und so die Wunde dekontaminieren (Wikesjö et al., 1999). Nach etwa drei Tagen



nimmt das Infiltrat von Neutrophilen langsam ab und die Anwesenheit von Makrophagen nimmt zu (Wikesjö et al., 1999). Die Makrophagen sind einerseits für die Phagozytose verantwortlich, andererseits spielen sie eine wichtige Rolle bei der Freisetzung von Wachstumsfaktoren, welche die Fibroblastenproliferation, die Matrixproduktion und die Proliferation der Muskelzellen fördern (Wikesjö et al., 1999). In der abschliessenden Maturations-/Reifungsphase wird das neu geformte, zellreiche Gewebe entsprechend der funktionellen Anforderungen remodelliert (Wikesjö et al., 1999). Damit diese vier Phasen ungestört durchlaufen werden können, ist eine Infektionskontrolle wichtig (Hämmerle et al., 2014). Sie ist vor allem auch Grundvoraussetzung für den Übergang von der inflammatorischen in die proliferative Phase (Hämmerle et al., 2014).

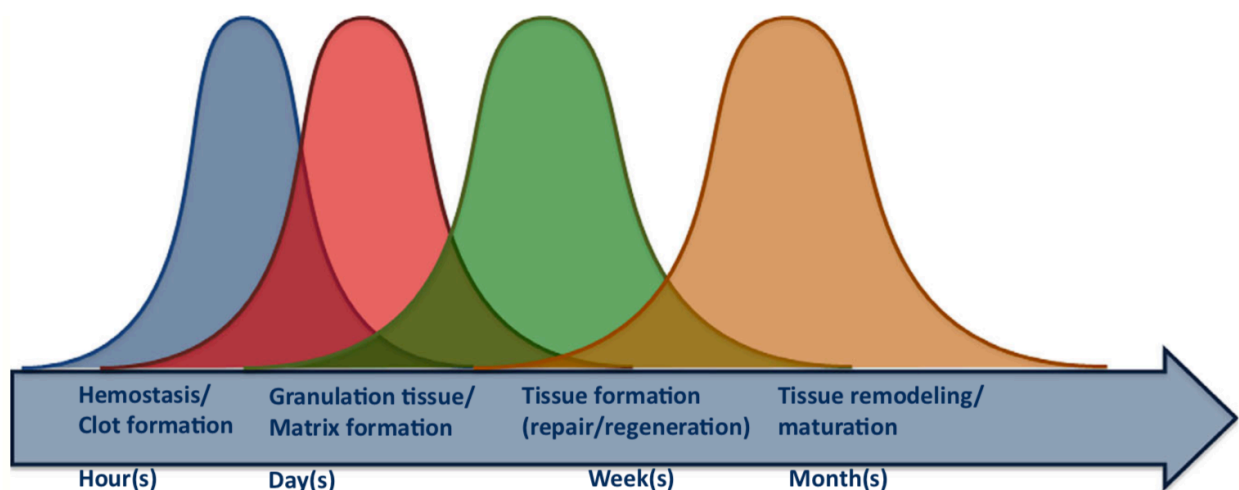


Abb. 1: Darstellung der frühen und späten Phase der Wundheilung/Regeneration (Susin et al., 2015).

Die Wundheilung endet nicht immer in der Restitutio ad integrum. Es kann auch zur Bildung von Narbengewebe kommen (Sculean et al., 2014).

So werden verschiedene Heilungsformen unterschieden (Vignoletti et al., 2014). Der häufigste Ausgang ist die reparative Heilung, welche sich durch die Bildung eines langen Saumeithels charakterisiert (Vignoletti et al., 2014). Bei der regenerativen Heilung hingegen werden alle Gewebe des Zahnhalteapparates (Zement, Desmodont, Alveolarknochen, Gingiva) wiederhergestellt (Vignoletti et al., 2014). Welcher Heilungstyp eintritt, hängt nicht nur vom chirurgischen Vorgehen ab, sondern auch von der Umgebung, in welcher die Wundheilung stattfindet (Verfügbarkeit von Zelltypen, Zugang zu Signalmolekülen, Absenz von bakterieller Kontamination) (Vignoletti et al., 2014).

## 2.2. Gesteuerte Geweberegeneration (GTR)

Die gesteuerte Geweberegeneration (GTR) wurde in den frühen 1980er Jahren innerhalb einer Studienserie zum Thema parodontale Wundheilung von Nyman und seinen Mitarbeitern in Skandinavien entwickelt (Karring et al., 1993). Dieses Konzept hatte die Regeneration von parodontalen Geweben zum Ziel, welches aufgrund parodontaler Erkrankungen verloren gegangen ist (Nyman et al., 1991 und Moser, 2017). Dies ist einer der populärsten chirurgischen Ansätze in der parodontalen Regeneration (Miron et al., 2016). Er basiert auf der Hypothese, dass das Einwachsen von nicht erwünschten Gewebezellen in die Wunde durch eine Barrieremembran verhindert werden kann (Nyman et al., 1991 und Moser, 2017). Somit wird das Epithel von der Wurzeloberfläche ferngehalten und die selektive Wiederbesiedlung der Wurzeloberfläche mit multipotenten Zellen gefördert (Kasaj et al., 2008).

Tendenziell wird vor allem die Migration von Epithelzellen verhindert (Vignoletti et al., 2014). Gleichzeitig werden spezifische Zellen, welche das Potential zur Regeneration des gewünschten Gewebes haben, in ihrer Ausbreitung gestärkt (Nyman et al., 1991 und Moser, 2017). Die semipermeable Membran wird zwischen den Mukoperiostlappen, die Zahn- sowie die Knochenoberfläche platziert (Dowell et al., 1991 und Moser, 2017). Somit wird dafür gesorgt, dass die Wunde durch Zellen des parodontalen Ligaments besiedelt werden kann und die schnell wachsenden Epithelzellen das Wundgebiet nicht infiltrieren und besiedeln (Dowell et al., 1991 und Moser, 2017). Neuere systematische Übersichtsarbeiten konnten zeigen, dass anhand von GTR mit Kollagenmembranen eine Erhöhung des Attachmentlevels von 1,58 mm im Vergleich zu einer konventionellen Lappenoperation ohne regenerative Massnahmen erzielt werden kann (Stoecklin-Wasmer et al., 2013 und Moser, 2017).

## 2.3. Membranen

Membranen bzw. Barrieren sollen die schnell wachsenden Epithel- und Bindegewebszellen hindern, die Wurzeloberfläche des Zahnes und somit das Blutkoagulum zu besiedeln, bevor die Durchsetzung des Koagulums durch die desmodontalen Fibroblasten erfolgt (Erpenstein et al., 2004 und Moser, 2017). Weiter sind die Membranen auch für die Stabilisierung der Wunde und vor allem des Fibrinkoagulums wichtig (Erpenstein et al, 2004 und Moser, 2017). Folgende Charakteristiken müssen bei der Herstellung von Barrieremembranen beachtet werden: Biokompatibilität, Zellokklusivität, Platzbeschaffung und Erhalt von Freiraum für die Wundheilung, Gewebeintegration, Abbaubarkeit, Wirkung als Barriere, klinisches Handling (Sheikh et al., 2017 und Lindhe et. al., 2006).

Grundsätzlich gibt es zwei Kategorien von Barrieremembranen: Bioresorbierbare Membranen und nicht resorbierbare Membranen (Erpenstein et al, 2004). Diese beiden Kategorien beinhalten verschiedene Untergruppen (Erpenstein et al, 2004). Bei den bioresorbierbaren

Membranen werden kollagenbasierte Membranen (allogene und xenogene Materialien) und synthetisch hergestellte Membranen unterschieden (Erpenstein et al, 2004).

Nicht resorbierbare Membranen bestehen aus synthetisch hergestellten Materialien wie Polytetrafluorethylen (PTFE, Handelsname Teflon®) (Erpenstein et al, 2004).

Da sie nicht resorbiert werden, müssen sie nach Ende der Regeneration durch einen zweiten chirurgischen Eingriff entfernt werden (Erpenstein et al., 2004 und Moser, 2017). Dies hat für den Patienten Konsequenzen wie höhere Kosten, grösserer Zeitaufwand, zusätzlicher chirurgischer Eingriff und damit ein zusätzliches chirurgisches Trauma (Erpenstein et al., 2004; Hugoson et al, 1995 und Moser, 2017).

Bioresorbierbare Membranen wurden zur Verhinderung einer chirurgischen Entfernung der Membranen entwickelt (Bottino et al., 2015 und Lindhe et al., 2006). Dies hat für den Patienten folgende Vorteile: Weniger Behandlungszeit, reduzierte Kosten und verminderte Belastung (Erpenstein et al., 2004 und Moser, 2017). Die am häufigsten verwendeten bioresorbierbaren Membranen basieren auf Kollagen oder Polylaktid sowie dessen Kopolymere (Sheikh et al., 2017). Die kollagenbasierten Membranen sind aus Gewebe tierischen oder menschlichen Ursprungs produziert (Sheikh et al., 2017). Klinisch können heute bovine, porcine und humane kollagenbasierte Membranen sowie polyesterbasierte Membranen wie Polylactid und seine Kopolymere verwendet werden (Bottino et al., 2015). Kollagen besitzt einige vorteilhafte Eigenschaften wie niedrige Immunogenität, Anziehungskraft auf gingivale Fibroblasten und eine hämostatische Wirkung (Sheikh et al., 2017). Der Abbau der Kollagenmembranen findet durch endogene Kollagenasen in Kohlendioxid und Wasser statt (Sheikh et al., 2017). Bei den synthetischen Membranen findet der Abbau durch Kontakt mit Wasser und Gewebeflüssigkeit statt, was zur Hydrolyse der Polyester führt (Erpenstein et al., 2004 und Moser, 2017): Aus

Polyaktid entsteht Laktid und aus Polyglykolid zunächst Glykolid und später Pyruvat. Beide Metaboliten werden via Citratzyklus in Wasser und Kohlendioxid umgesetzt (Erpenstein et al., 2004 und Moser, 2017).

Die Membranen sollten jegliche Entzündungsreaktionen verhindern und müssen ein Abbauprofil vorweisen, welches zur Bildung des neuen Gewebes passt (Bottino et al., 2015).

Es gibt in der Zahnmedizin verschiedene Anwendungsbereiche für Membranen (Erpenstein et al., 2004 und Moser, 2017). Diese haben sich im Laufe der Zeit stark ausgeweitet (Erpenstein et al., 2004 und Moser, 2017). In folgenden Bereichen kann mit Membranen gearbeitet werden (Tabelle 1):

Tabelle 1: Anwendung von Membranen in der Zahnmedizin (Erpenstein et al., 2004 und Moser, 2017)

<b>Parodontologie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Intraossäre Defekte</li> <li>- Furkationsbeteiligung</li> <li>- Rezessionen</li> </ul>
<b>Implantologie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Präimplantologische und simultane Knochenregeneration</li> <li>- Sinusbodenelevation</li> <li>- Knochendegradation nach Periimplantitis</li> </ul>
<b>Oralchirurgie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Membrangeschützte Heilung von Extraktionswunden</li> </ul>
<b>Kieferchirurgie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Behandlung von Mund-Antrum-Verbindungen</li> <li>- Abdeckung von Knochendefekten nach Zystektomie</li> </ul>
<b>Endodontie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Wurzelspitzenresektion mit umfangreichem Knochenverlust</li> </ul>

## 2.4. Bakterielle Adhäsion an GTR-Membranen

Bakterien, welche mit parodontalen Erkrankungen vergesellschaftet sind, können die Wundheilung nach GTR beeinträchtigen (Sela et al., 1999). Wenn ein Patient eine Kolonisation dieser Bakterien in der Mundhöhle aufweist, dann ist die Wahrscheinlichkeit sehr gross, dass diese auch am Operationssitus nachgewiesen werden können (Sela et al., 1999). Die pathogenen Mikroorganismen können aus tiefen Taschen des Parodonts in den Speichel verschleppt und dann auf die Membranen übertragen werden (Nowzari et al., 1996). Ausserdem können Barrieremembranen, welche bei der Applikation die Haut berühren, von dermalen Pathogenen besiedelt werden (Nowzari et al., 1996). Auch Nahtmaterialien sind bei der Membranplatzierung anfällig auf Berührung mit Lippe oder Gesicht (Nowzari et al., 1996). Daher ist die extraorale, prächirurgische Desinfektion sehr wichtig (Nowzari et al., 1996). Findet eine Exposition statt, werden die Membranen meist zügig und ausgeprägt von Bakterien der Mundhöhle besiedelt (Zucchelli et al., 1998). Mikroorganismen können Membranen innerhalb von drei Minuten nach intraoraler Manipulation besiedeln (Nowzari et al., 1996). Die bakterielle Anlagerung an Membranen zeigt dasselbe Adhäsions- und Maturationsmuster wie Zahnschmelz, Wurzelzement, Titanimplantate sowie andere künstliche Materialien (Zucchelli et al., 1998). Auch in vitro ist die bakterielle Adhäsion an Membranen sehr gross (Sela et al., 1999).

Kollagenmembranen werden im Vergleich zu PTFE signifikant dichter besiedelt (Sela et al., 1999). Weniger bakterielle Anlagerung wurde an Glykolid-Fibre-Membranen gefunden (Cheng et al., 2015). Verglichen mit Kollagen und Glykolid-Fibre weist jedoch ePTFE (expanded Polytetrafluorethylen) den besten Barriereeffekt gegen Bakterien auf (Hung et al., 2002). Eine bakterielle Adhäsion an Membranen hemmt die Anlagerung von parodontalen

Ligamentfibroblasten (PDL-Fibroblasten) (Chen et al., 2003). Zusätzlich sind parodontopathogene Bakterien stark proteolytisch und somit fähig, die Kollagenmembranen abzubauen (Sela et al., 2003).

Eine postoperative Kolonisation von GTR Membranen mit nachfolgender Infektion kann somit einer der grössten limitierenden Faktoren für eine erfolgreiche klinische Regeneration sein (Chen et al., 1997 und Moser, 2017).

Deshalb stellt ein infektionsfreier Heilungsprozess eine Grundvoraussetzung für den Behandlungserfolg dar (Sela et al., 2003 und Moser, 2017). Eine bakterielle Adhäsion und Kolonisation von exponierten Membranen, gefolgt von einer Ausbreitung der Infektion ins benachbarte Gewebe, kann einen kompletten Misserfolg oder eine lediglich partielle Regeneration verursachen (Sela et al., 2003 und Moser, 2017).

## 2.5. Studienziel

Das Ziel dieser In-vitro-Studie war es, die Adhäsion von einem Multi-Spezies-Konsortium an einer synthetisch bioresorbierbaren Membran im Vergleich mit zwei kollagenbasierten Membranen in Interaktion mit gingivalen Epithelzellen und oralen Fibroblasten zu untersuchen. Die Studie bestand aus drei verschiedenen Teilen, wobei im ersten Versuch ein Screening der antimikrobiellen Aktivität von Membranen auf planktonische Bakterien, im zweiten Versuch die Biofilmbildung auf den Membranen und im dritten Teil die Adhäsion gingivaler Epithelzellen (TIGK) und PDL-Fibroblasten an die Testmembranen untersucht wurden. GTR ist ein Goldstandard in der regenerativen parodontalen Chirurgie, welcher aber eine relativ hohe Komplikationsrate hat. Es ist deshalb ausserordentlich wichtig, dass anhand von Forschungsarbeiten wie dieser mehr Erkenntnisse über die komplexen Abläufe solcher Regenerationsmethoden gewonnen und anhand neuer Erkenntnisse die Therapieergebnisse stetig verbessert werden können.

## 3. Material und Methodik

### 3.1. Membranen

Das Testprodukt war eine bioresorbierbare Membran bestehend aus Polylaktid vermengt mit Zitronensäureester (GUIDOR® Bioresorbable Matrix Barrier; Sunstar; Etoy, Switzerland). Als Vergleichsgruppen wurden eine Membran bestehend aus bovinem Typ 1-Kollagen (Cytoplast® RTM Collagen membrane; Osteogenics Biomedical, Lubbock, TX, USA) und eine Membran aus porcinem Kollagen (Collprotect® botiss materials GmbH, Zossen, Germany) verwendet. Diese Membranen wurden in 5 x 5 mm grosse Probekörper zugeschnitten.

### 3.2. Mikroorganismen

Folgende Mikroorganismen wurden in die Studie einbezogen:

1. *Streptococcus gordonii* ATCC 10558
2. *Actinomyces naeslundii* ATCC 12104
3. *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277
4. *Tannerella forsythia* ATCC 43037
5. *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586
6. *Parvimonas micra* ATCC 33270.

*S. gordonii* ATCC 10558 und *A. naeslundii* ATCC 12104 repräsentieren die frühen Besiedler, während *P. gingivalis* ATCC 33277, *T. forsythia* ATCC 43037, *F. nucleatum* ATCC 25586 und *P. micra* ATCC 33270 klar mit parodontalen Erkrankungen sowie Infektionen um zahnärztliche Implantate assoziiert sind. Alle Stämme wurden vor dem Experiment auf Schaedler-Agarplatten (Oxoid, Basingstoke, UK) mit 5% Schafsblut in einer anaeroben Atmosphäre oder mit 5% CO<sub>2</sub> (*S. gordonii* ATCC 10558) vorkultiviert.

### 3.3. Zellen

Folgende Zelltypen wurden in die Studie einbezogen:

1. PDL-Fibroblasten
2. Gingivale Epithelzellen (TIGK)

PDL-Fibroblasten sind spindelförmige, lange Bindegewebezellen, die im Parodont lokalisiert sind (Sokos et al., 2014). Ihr embryologischer Ursprung liegt im Ektomesenchym des Zahnfollikels (Sokos et al., 2014).

Sie machen den Hauptanteil der Zellen im Parodont aus und repräsentieren eine heterogene Zellpopulation, die eine grosse Vielfalt an Proteinen exprimieren kann (Marchesan et al., 2011). Ausserdem führen sie wichtige Aufgaben im Bereich der Entwicklung, Funktion und Regeneration des Zahnhalteapparates aus (Lekic et al., 1996). Die in dieser Studie verwendeten PDL-Fibroblasten wurden von zwei gesunden anonymen Spendern während einer Zahnextraktion aus kieferorthopädischen Gründen gewonnen. Die Durchführung und Gewinnung der Zellen fand unter Berücksichtigung der anerkannten Richtlinien und Vorschriften der kantonalen Ethikkommission KEK statt.

Die gingivalen Epithelzellen gehören zur Schleimhaut der Mundhöhle, genauer zur mastikatorischen Schleimhaut (Lüllmann-Rauch, 2012). Diese besteht aus Epithel mit hohen, dicht stehenden Bindegewebepapillen und ist unbeweglich mit dem Periost bzw. Zahn verbunden (Lüllmann-Rauch, 2012). Primäre gingivale Epithelzellen (Gingival epithel cells, GEC) haben in Kultur eine begrenzte Lebenszeit und treten anschliessend in die Seneszenz ein, wo sie aufhören sich zu replizieren (Moffat-Jauregui et al., 2013). Telomerase immortalisierte gingivale Keratinozyten (Telomerase immortalized gingival Keratinocytes TIGK) zeigen die gleiche Morphologie, den selben Karyotyp und die gleiche Proliferationsrate wie die primären gingivalen Epithelzellen (Moffat-Jauregui et al., 2013). Auch die Expression der charakteristischen Zytokeratine ist vergleichbar mit den primären gingivalen Epithelzellen (Moffat-Jauregui et al., 2013). Was die TIGKs jedoch von den GECs unterscheidet, ist die Robustheit (Moffat-Jauregui et al., 2013). TIGKs können 36 Replikationsdurchgänge ohne Zeichen der Alterung durchlaufen (Moffat-Jauregui et al., 2013). Zusammenfassend haben diese TIGKs somit ähnliche Charakteristiken wie ihre Vorläuferzellen, sind aber um einiges widerstandsfähiger als diese (Moffat-Jauregui et al., 2013).

### **3.4. Screening der antimikrobiellen Aktivität auf planktonische Bakterien**

Es wurde ein definiertes Inokulum von Mikroorganismen (McFarland 0,5, Verdünnung 1:100) vorbereitet. Davon wurden 100 µl auf Wilkins Chalgren-Agarplatten (Oxoid, mit 5% Schafsblood) gleichmässig verteilt. Danach wurden die zugeschnittenen Membranproben auf den Agarplatten platziert. Nach einer Inkubation von 18 h (Anaerobier 42 h) wurde die Hemmzone gemessen. Der Versuch wurde anhand eines unabhängigen Replikates ein zweites Mal durchgeführt.

### 3.5. Biofilmbildung auf den Membranen

Suspensionen der sechs verschiedenen Bakterienstämme wurden hergestellt und mit Nährbouillon (Schaedler-Bouillon + 5% Schafsblut) vermischt. Die zuvor in Blut getauchten Proben wurden dann in Wells einer 24-Well-Platte platziert. Nach einer Inkubationszeit von 6 h und 48 h unter anaeroben Bedingungen wurde der Biofilm von der Oberfläche mittels Ultraschall und intensivem Vortexen entfernt. Nach Mischen anhand von Pipettieren wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt und die Gesamtzahl der Bakterien (Colony forming units; cfu) ermittelt. Des Weiteren wurde die Zahl an *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. micra* und *F. nucleatum* mittels real-time PCR (Polymerasekettenreaktion) bestimmt.

Die Untersuchungen wurden jeweils in unabhängiger Vierfachbestimmung in zwei verschiedenen Serien (je acht Einzelwerte) durchgeführt.

### 3.6. Adhäsion der gingivalen Epithelzellen und PDL-Fibroblasten

Wie im vorherigen Versuch beschrieben, wurden die Membranproben (je vier Proben à 5 x 5 mm pro zu testende Membran) wieder in 24-Well-Platten gegeben. Gingivale Epithelzellen (TIGK) beziehungsweise PDL-Fibroblasten wurden hinzugefügt. Die Membranen mit TIGKs wurden während 6 h bzw. 48 h mit 5% CO<sub>2</sub> inkubiert. Diejenigen mit PDL-Fibroblasten wurden mit 5% CO<sub>2</sub> während 72 h inkubiert. Danach wurden die angehafteten TIGKs respektive PDL-Fibroblasten fixiert und mit 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) gefärbt.

Die Proben wurden mittels Fluoreszenzmikroskop (Olympus BX51, Tokyo, Japan) analysiert. Die Membranproben wurden in fünf verschiedene Bereiche unterteilt, welche separat fotografiert wurden.

Die adhärenen Zellen wurden dann anhand der Fotos mit dem Multi-Point-Tool der Software ImageJ (Open Source image processing software, Copyright 2010-2017, Version 2.0.0-rc-43/1.51g) ausgezählt.

Dieses Experiment wurde in Form von vier unabhängigen Versuchen durchgeführt.

Um einen potenziellen Einfluss von Mikroorganismen auf die Adhäsion von gingivalen Epithelzellen beziehungsweise PDL-Fibroblasten zu untersuchen, wurde in einer zweiten Serie von Untersuchungen eine Mischung bestehend aus den sechs Bakterienstämmen (McFarland 0,5) in der Verdünnung 1:100 ins Zellkultivierungsmedium hinzugefügt. Wie beim Versuch zuvor wurde die Anzahl adhärenter Zellen gezählt.



### **3.7. Statistische Analyse**

Die Anzahl adhärenter Zellen und Bakterien wurden logarithmisch dargestellt und anhand ANOVA mit Post-Hoc LSD analysiert. Weiter wurde der Einfluss von bakterieller Präsenz auf die Adhäsion von TIGKs und PDL-Fibroblasten an die Membranproben mit dem T-Test nach Student für unabhängige Proben beurteilt. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p=0,05$  gesetzt. Verwendet wurde die Software SPSS 24.0 (IBM SPSS Statistics, Chicago, IL, USA).

## 4. Resultate

### 4.1. Antimikrobielle Aktivität

Bei allen drei in die Studie eingeschlossenen Membranen konnte keine potenzielle antimikrobielle Aktivität gegen die ausgewählten Bakterienstämme nachgewiesen werden. Es waren keine Anzeichen von Hemmhöfen um die auf den Agarplatten platzierten Membranen erkennbar.

### 4.2. Biofilmbildung auf den Membranen

Die Resultate und Statistiken sind in Abb. 2 (Gesamtzahl) und Abb. 3 (*P. gingivalis*, *T. forsythia*) dargestellt. Initial haben nach 6 h statistisch signifikant weniger Bakterien die Polylaktid-Membran als die porcine ( $p < 0.001$ ) resp. bovine Kollagenmembran ( $p = 0.007$ ) besiedelt. Betrachtet man lediglich die Kollagenmembranen, dann wurde die bovine Kollagenmembran signifikant weniger ( $p = 0.001$ ) kolonisiert als die porcine Kollagenmembran. Man muss aber beachten, dass die Unterschiede im Mittel zur bovinen Kollagenmembran nur  $0,27 \log_{10}$  und zur porcinen Kollagenmembran nur  $0,49 \log_{10}$  betragen. Nach 24 h konnten keine signifikanten Unterschiede betreffend der Anzahl Bakterien an den unterschiedlichen Membranen gefunden werden.

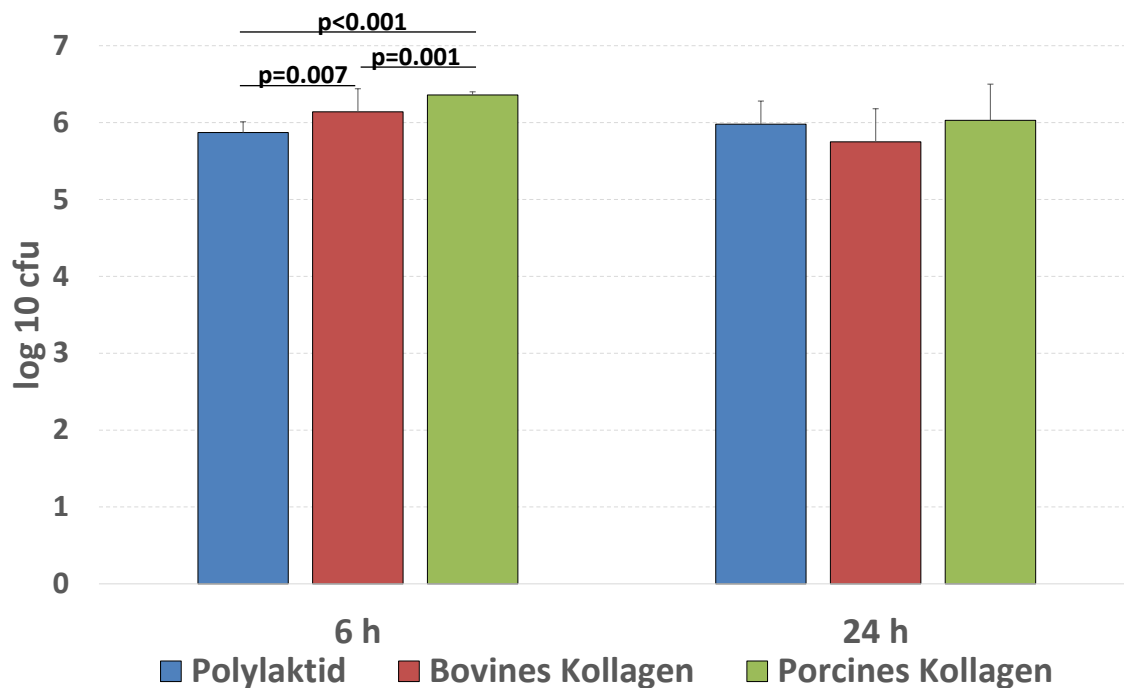


Abb. 2: Gesamtzahl adhärenter Bakterien des 6-Spezies-Biofilms auf den für die regenerative Therapie gebrauchten Membranen nach 6 h und 24 h Inkubation.

Wenn man die Adhäsion von *Porphyromonas gingivalis* und *Tannerella forsythia* separat betrachtet, dann ist das Resultat mit jenem der Gesamtanlagerung nach 6 h Inkubation vergleichbar. Die Polyaktid-Membran wurde wiederum am wenigsten und die porcine Kollagenmembran am stärksten kolonisiert. Bei *P. gingivalis* war der Unterschied in der Anlagerung von der Polyaktid-Membran zur bovinen und porcinen Kollagenmembran jeweils statistisch signifikant ( $p < 0.001$ ). Bei *T. forsythia* zeigten die p-Werte folgende statistisch signifikante Unterschiede:  $p = 0.017$  für die bakterielle Anlagerung an die Polyaktid-Membran im Vergleich zur bovinen Kollagenmembran und  $p < 0.001$  im Vergleich zu porcinen Kollagenmembran. Bei beiden Spezies lag auch ein signifikanter Unterschied innerhalb der verschiedenen Kollagenmembranen vor ( $p < 0.001$ ). Nach 24 h Inkubation sah das Besiedlungsmuster dann jedoch gegenteilig zu jenem nach 6 h aus. Zu diesem Zeitpunkt war die Anzahl von *P. gingivalis* und *T. forsythia* am höchsten auf der Polyaktid-Membran und am niedrigsten auf der porcinen Kollagenmembran. Die Unterschiede der Bakterienzahlen innerhalb der verschiedenen Kollagenmembranen waren zu diesem späteren Zeitpunkt nicht mehr signifikant. Bei der Anlagerung von *P. gingivalis* war eine Signifikanz im Vergleich der Polyaktid-Membran zur porcinen Kollagenmembran ( $p = 0.029$ ) zu verzeichnen, während sich bei *T. forsythia* die Unterschiede von der Polyaktid-Membran zur bovinen ( $p = 0.004$ ) und ebenso zur porcinen Kollagenmembran ( $p < 0.001$ ) als signifikant erwiesen.

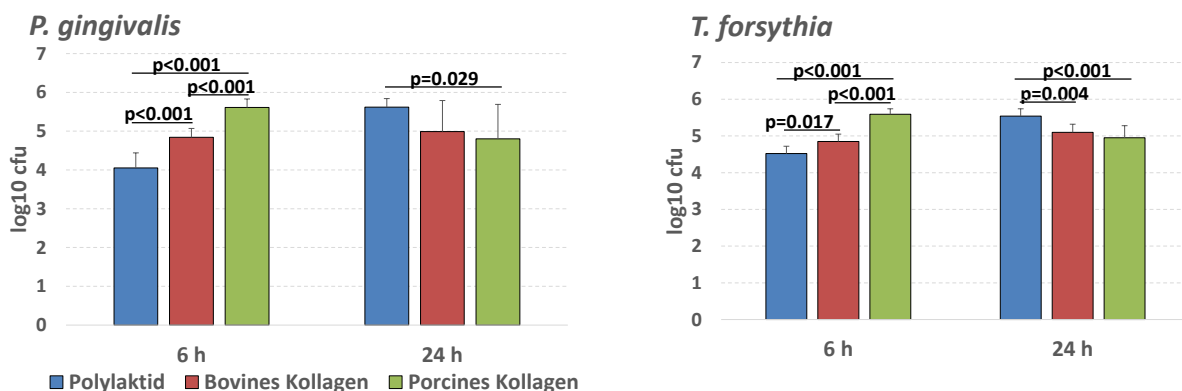


Abb. 3: Anzahl adhärenter Bakterien (*Porphyromonas gingivalis* und *Tannerella forsythia*) des 6-Spezies-Biofilms auf den für die regenerative Therapie gebrauchten Membranen nach 6 h und 24 h Inkubation.

### 4.3. Adhäsion von gingivalen Epithelzellen (TIGK)

Die Resultate und Statistiken sind in Abb. 4 dargestellt. Die geringste Anzahl adhärenter TIGKs wurde nach 6 h und 48 h Inkubation auf der Polyaktid-Membran ermittelt. Sie war statistisch signifikant tiefer ( $p < 0.001$ ) als auf der bovinen Kollagenmembran zu beiden Zeit-

punkten und auf der porcinen Kollagenmembran (nur nach 6 h Inkubation,  $p < 0.001$ ). Nach 48 h Inkubation hafteten die meisten TIGKs auf der bovinen Kollagenmembran. Die zelluläre Adhäsion war signifikant höher nicht nur im Vergleich mit der Polylaktid-Membran ( $p < 0.001$ ), sondern auch im Vergleich zur zellulären Adhäsion auf der porcinen Kollagenmembran ( $p = 0.007$ ).

Wurde die zelluläre Adhäsion in Kombination mit Bakterien betrachtet, dann konnten am meisten TIGKs an der bovinen Kollagenmembran gezählt werden (statistisch signifikant höher als an Polylaktid-Membranen nach 6 h ( $p = 0.009$ ) und 48 h ( $p = 0.002$ ) und als an der porcinen Kollagenmembran nach 48 h ( $p = 0.008$ )).

Entgegen der Erwartungen war die Anzahl adhärenter TIGKs an den Probenmembranen in Gegenwart von Bakterien am höchsten. Der Unterschied im Vergleich zur zellulären Anlageung ohne Bakterien war statistisch signifikant für die Polylaktid-Membranen nach 6 h Inkubation ( $p = 0.022$ ), die porcine Kollagenmembran nach 48 h ( $p = 0.002$ ) und für die bovine Kollagenmembran nach 6 h ( $p = 0.008$ ) und 48 h ( $p = 0.006$ ) Inkubation.

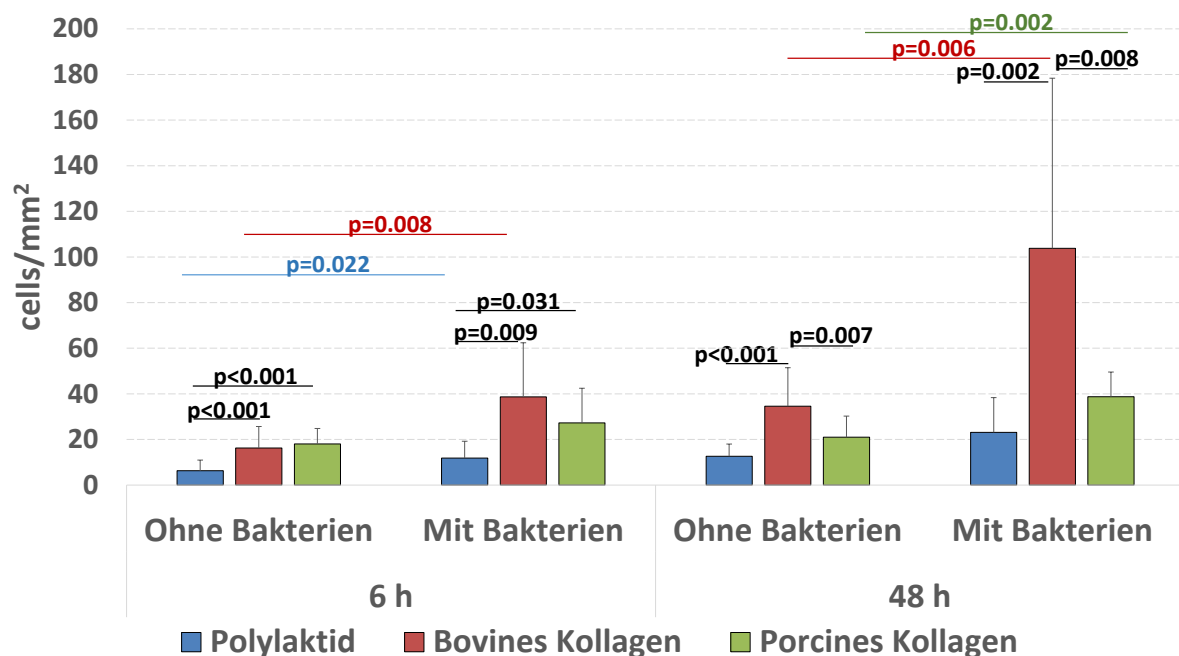


Abb. 4: Adhäsion von gingivalen Epithelzellen an den Membranen in An- und Abwesenheit von Bakterien nach 6 h bzw. 48 h Inkubation.

#### 4.4. Adhäsion von PDL-Fibroblasten

Die Adhäsion von PDL-Zellen wurde nur nach 72 h Inkubationszeit untersucht. Vor diesem Zeitpunkt hatten sich nur einige wenige Zellen an die Membranen angelagert. Die Resultate und Statistiken werden in Abb. 5 dargestellt. Die wenigsten PDL-Zellen hatten sich an die

Polylaktid-Membran angelagert. Das Resultat war statistisch signifikant tiefer ( $p=0.023$ ) verglichen mit der Anlagerung an die bovine Kollagenmembran. Keine Signifikanz zeigte es im Vergleich zur porcinen Kollagenmembran.

Wurde die zelluläre Adhäsion wiederum in Kombination mit Bakterien betrachtet, war die Anzahl adhärenter PDL-Zellen bei den porcinen Kollagenmembranen deutlich am höchsten (statistisch nachweisbare Signifikanz bei einem  $p$ -Wert von  $<0.001$  im Vergleich zur Polylaktid-Membran und zur bovinen Kollagenmembran).

Im Gegensatz zum vorherigen Versuch war hier die Anzahl adhärenter Zellen in bakterieller Präsenz deutlich geringer als ohne bakterielle Präsenz. Der Unterschied war statistisch signifikant für die Polylaktid-Membran ( $p=0.006$ ) sowie auch für die bovine Kollagenmembran ( $p=0.024$ ). Bei der porcinen Kollagenmembran konnten ebenfalls weniger PDL-Zellen in Anwesenheit von Bakterien gezählt werden, allerdings erwies sich der Unterschied hier als nicht statistisch signifikant.

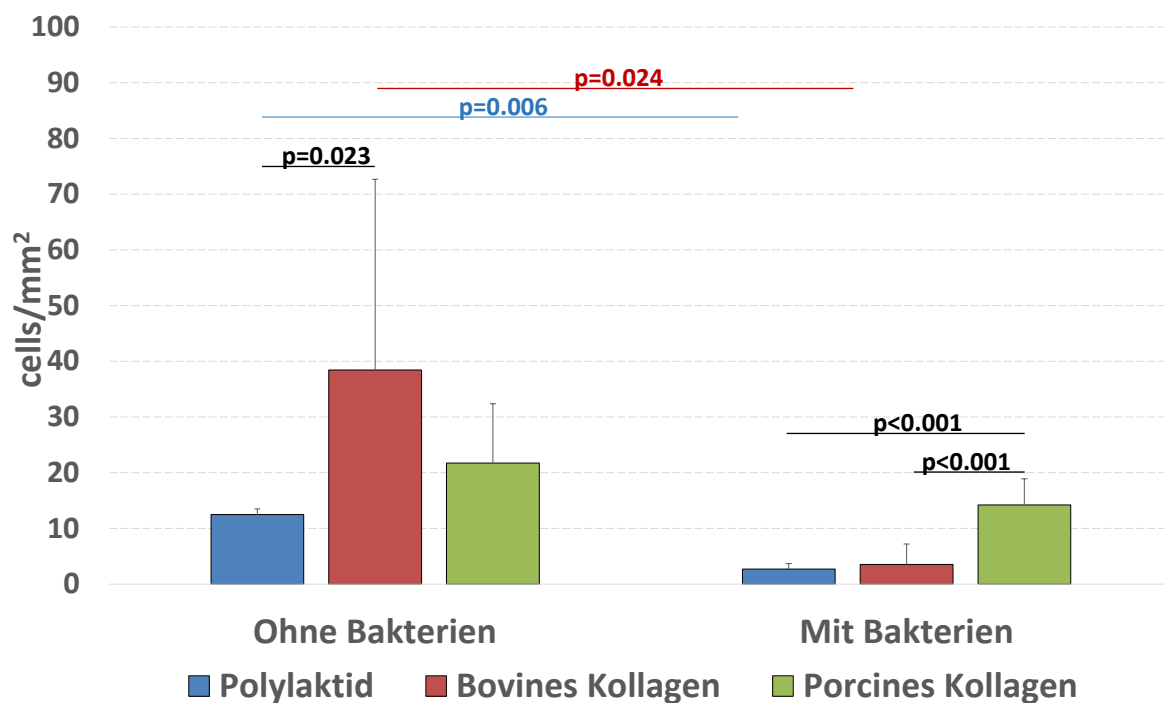


Abb. 5: Adhäsion parodontaler Fibroblasten an den Membranen in An- und Abwesenheit von Bakterien nach 72 h Inkubation.

## 5. Diskussion

GTR Membranmaterialien per se beeinflussen die Zellproliferation im Heilungsprozess und somit in der Regeneration von Parodontalgewebe bzw. Knochengewebe (Kasaj et al., 2008). Barrieremembranen helfen bei der Platterhaltung und schaffen Freiraum, wo sonst eine Weichgewebeeinfiltration stattfinden würde, da die Erneuerung des Weichgewebes schneller als jene des Knochen- und Parodontalgewebes stattfindet (Sheikh et al., 2017). Das Ziel dieser Studie war es, das Verhalten einer synthetischen bioresorbierbaren Membran (GUIDOR® Bioresorbable Matrix Barrier; Sunstar; Etoy, Switzerland) bezüglich bakterieller Anlagerung und zellulärer Adhäsion in Anwesenheit von Mikroorganismen im Vergleich zu zwei verschiedenen Kollagenmembranen (Cytoplast® RTM Collagen membrane; Osteogenics Biomedical, Lubbock, TX, USA und Collprotect® botiss materials GmbH, Zossen, Germany) zu untersuchen. Die Studie war in drei Versuche unterteilt.

In einem ersten Versuch wurde die antimikrobielle Aktivität der zu testenden Membranen auf planktonische Mikroorganismen untersucht. Keine der Membranen zeigte dabei einen Hemmhof. Somit geht von den untersuchten Membranen auch keine antimikrobielle Aktivität aus. Dieses Resultat war zu erwarten, denn die Membranen sind weder mit Antibiotika noch mit anderen antimikrobiellen Substanzen beschichtet, sondern wurden rein nativ verwendet.

Der zweite Versuch war der Biofilmbildung an den Membranen gewidmet. Hier konnte gezeigt werden, dass in der Anfangsphase (nach 6 h) die bakterielle Anlagerung an die porcine Kollagenmembran signifikant höher als an die Polylaktid- und bovine Kollagenmembran war und die bovinen Kollagenmembranen ihrerseits signifikant stärker besiedelt werden als Polylaktid-Membranen und signifikant weniger als porcine Kollagenmembranen. Die Unterschiede waren jedoch eher gering und nach 24 h nicht mehr erkennbar. Diese Resultate können anhand der Ergebnisse der Studie von Cheng et al. (2015) bestätigt werden. Sie haben ebenfalls gezeigt, dass die bakterielle Anlagerung an Kollagenmembranen signifikant grösser im Vergleich zu einer synthetischen bioresorbierbaren Glykolid-Fibre-Membran war (Cheng et al., 2015). Auch die Arbeitsgruppe von Sela et al. (1999) zeigte eine signifikant höhere Anlagerung an Kollagenmembranen, dies allerdings im Vergleich zu nicht resorbierbaren Membranen. Eine Ursache dafür könnte sein, dass Kollagen hydrophiler als die anderen Membranmaterialien ist, was zu einem Milieu führt, welches die bakterielle Adhäsion begünstigt (Cheng et al., 2015). Im Gegensatz zu diesen Resultaten steht die Studie von der Arbeitsgruppe um Chen (1997). In dieser Studie konnte kein signifikanter Unterschied in der bakteriellen Anlagerung an Membranen zwischen den verschiedenen Materialien (Kollagen,

ePTFE und Polylactid acid) gefunden werden (Chen et al., 1997). Kollagen wurde zwar tendenziell bevorzugt besiedelt, aber das Resultat zeigte keine Signifikanz (Chen et al., 1997). Nebst der bakteriellen Anlagerung des Multi-Spezies Konsortiums wurde in diesem Versuch auch ein Augenmerk auf die Anzahl von *P. gingivalis* und *T. forsythia* innerhalb des Konsortiums gelegt. Beide Spezies waren in grösserer Anzahl an den Kollagenmembranen im Vergleich zur Polylaktid-Membran zu finden, während nach 24h eine gegenteilige Situation vorlag. Möglicherweise wurde eine initiale Kolonisierung beider Spezies durch ungünstige Milieubedingungen bei der Polylaktid-Membran zunächst unterdrückt, zu einem späteren Zeitpunkt war dieser Effekt offensichtlich nicht mehr vorhanden.

Im dritten und letzten Versuch wurde die zelluläre Anlagerung an GTR-Membranen untersucht. Dabei wurde die Adhäsion von PDL-Fibroblasten und gingivalen Epithelzellen (TIGK) einerseits ohne bakterielle Präsenz und andererseits in Anwesenheit von Bakterien getestet. Betrachtet man die Anlagerung der PDL-Fibroblasten an die getesteten Membranen nach 72 h, ist deutlich ersichtlich, dass sich diese am meisten an den (bovinen) Kollagenmembranen anlagerten. Dieses Resultat wird gestützt durch die Forschungsergebnisse von Hung et al. (2002) sowie von Kasaj et al. (2008). Die Arbeitsgruppe um Kasaj schlussfolgerte daraus, dass Kollagenmembranen die Zellproliferation von humanen gingivalen Fibroblasten, welche gemäss Solmi et al. (1996) normalerweise bei zwei bis drei Tagen liegt, und PDL-Fibroblasten fördern (Kasaj et al., 2008).

In Anwesenheit von Mikroorganismen war die zelluläre Anlagerung an alle Membranen signifikant geringer, was ebenfalls mit den Ergebnissen von Hung et al. (2002) übereinstimmt, welche die zelluläre Anlagerung in Anwesenheit von *S. mutans* und *A. actinomycetemcomitans* untersucht haben. Eine Erklärung dafür könnte die bakterielle Zytotoxizität sein, welche zum Zelltod führt (Hung et al., 2002).

Im Allgemeinen scheinen bioresorbierbare Membranen eher als nicht resorbierbare Membranen zur Stimulation der Zellproliferation geeignet (Kasaj et al., 2008). Die ePTFE Membranen stellten das schlechteste Substrat für die Anlagerung von PDL-Fibroblasten dar (Hung et al., 2002), während Kollagen als Substrat für Membranen chemotaktisch auf PDL-Fibroblasten wirkt (Yaffe et al, 1984 und Postlethwaite et al, 1978) und die DNA-Synthese der Fibroblasten stimuliert (Sheikh et al., 2017).

Allerdings gibt es hier in der Literatur auch kontroverse Meinungen. Die Arbeitsgruppe um Rothamel (2004) hat die Anlagerung von PDL-Fibroblasten an vier verschiedene Kollagenmembranen getestet und diese mit ausplattierten Zellen auf Kulturplatten verglichen. Dabei fanden sie heraus, dass alle der getesteten Membranen die Anlagerung und Proliferation von PDL-Fibroblasten limitieren oder sogar inhibieren.

Wie zuvor schon erwähnt, wurde in diesem Versuch nicht nur die Adhäsion von PDL-Fibroblasten, sondern auch von gingivalen Epithelzellen (TIGK) an Membranen untersucht.

Im Unterschied zu den PDL-Fibroblasten wurden die Zellzählungen nach 6 h und 48 h durchgeführt. Die Kollagenmembranen wurden in Anwesenheit sowie in Abwesenheit von Mikroorganismen signifikant stärker als die synthetisch bioresorbierbare Membran von Zellen besiedelt. Interessanterweise war die Anlagerung in Anwesenheit von Mikroorganismen höher als ohne bakteriellen Einfluss. Ein Erklärungsansatz für dieses Ergebnis könnte sein, dass Bakterien die Fähigkeit haben, Adhäsine zu exprimieren, die einerseits Einfluss auf die Epithelzellen selbst und andererseits auch auf die Membranen haben. Wie schon erwähnt kann eine gewisse epitheliale Anlagerung an Membranen in gewissem Masse nützlich für die Klinik sein, aber grundsätzlich ist das Ziel eine epitheliale Infiltration ins Wundgebiet durch eine Membran zu verhindern. Vergleiche mit anderen Studien zu diesem Thema sind aufgrund der Heterogenität der Studienprotokolle schwierig. Teixeira et al. (2010) untersuchten in ihrer Studie die Anlagerung von Keratinozyten an zwei verschiedene Membranen (PTFE und Poly (vinylidenfluorid-trifluorethylen)Bariumtitanat-Komposit) und fanden keinerlei Evidenz von Zellausbreitung, was sich somit nicht mit den Ergebnissen der unseren Studie deckt. Es sollte jedoch, wie zuvor schon erwähnt, beachtet werden, dass sich die Studienprotokolle erheblich unterscheiden und auch nicht dieselben Membranmaterialien verwendet wurden, was das gegensätzliche Resultat erklären könnte.

Eine der häufigsten postoperativen Komplikationen ist die Membranexposition in die Mundhöhle (Sheikh et al., 2017 und Selvig et al., 1992). Meist geschieht dies aufgrund einer postoperativen Weichgewebedehiszenz (Sheikh et al., 2017). Wie diese Dissertation und weitere Studien zeigen, haben Mikroorganismen das Potenzial, Membranen zu besiedeln (Cheng et al., 2015; Sela et al., 1999; Zucchelli et al. 1997; Chen et al., 1997; De Sanctis et al., 1996; Wang et al., 1994) und auch einen Einfluss auf die zelluläre Adhäsion (Hung et al., 2003). Die bakterielle Adhäsion an Membranen kann den Erfolg einer gesteuerten Geweberegeneration beeinflussen (Hung et al., 2002). Grundvoraussetzung für den Behandlungserfolg ist ein infektionsfreier Heilungsverlauf (Sela et al., 2003 und Moser, 2017). Bakterielle Adhäsion und Kolonisation von exponierten Membranen, gefolgt von der Ausbreitung der Infektion ins benachbarte Gewebe, kann einen kompletten Misserfolg oder eine lediglich partielle Regeneration verursachen (Sela et al., 2003).

Es stellt sich somit die Frage, welche Massnahmen einen optimalen Regenerationsverlauf begünstigen.

Eine erste Strategie ist die Senkung der Expositionsrate und somit der Komplikationsrate. So hat zum Beispiel die Wahl des Lappendesigns erwiesenermassen einen Einfluss. Der Papillenerhaltungslappen hat den Vorteil, dass er den Wundverschluss optimiert und einer Membranexposition vorgebeugt werden kann (Tsesis, 2014 und Cortellini et al., 2005).



Eine weitere Lösungsstrategie könnte die Beschichtung von Membranen sein. In dieser Dissertation konnte anhand eines Screenings gezeigt werden, dass native Membranen keinen antimikrobiellen Einfluss auf Bakterien haben. Die Beschichtung von Kollagenmembranen mit bone conditioned medium (BCM) erhöht signifikant das Attachment von Osteoblasten im Vergleich zu nativen Kollagenmembranen (Fujioka-Kobayashi et al., 2017). Ausserdem wurde auch die Differenzierung der Osteoblasten und die Mineralisation verstärkt (Fujioka-Kobayashi et al., 2017). Weiter zeigte die Einarbeitung von Chlorhexidin in GTR-Membranen Vorteile bei der Reduktion des bakteriellen Einflusses auf die Zelladhäsion (Chen et al., 2003). Die mit Chlorhexidin geladenen Membranen können dies in hohen Konzentrationen freigegeben und somit Parodontopathogene eliminieren (Chen et al., 2003). Gemäss dieser Studie hatte die Menge an Chlorhexidin, die zur Inkorporation der Membranen gebraucht wurde, keine Auswirkung auf die Anlagerung der PDL-Fibroblasten an die Membranen (Chen et al., 2003). Weiter zeigte die Beschichtung von Membranen mit Antibiotika eine deutliche Reduktion der bakteriellen Anlagerung im Vergleich zu Membranen ohne Antibiotika (Cheng et al., 2015). Hier drängt sich allerdings die Frage auf, ob mit dem aktuellen Wissen um die Problematik der Resistenzbildung gegen Antibiotika ein entsprechendes Vorgehen ernsthaft in Betracht gezogen werden darf (Moser, 2017). Nebst all diesen erfolgreichen Ansätzen der Membraninkorporation mit verschiedensten Substanzen, gibt es auch solche, die keine Wirksamkeit gezeigt haben. Zum Beispiel testeten Sela et al. (1999) die Auswirkungen einer Albuminbeschichtung der Membranen (Moser, 2017). Es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Bakterienadhärenz erkannt werden (Sela et al., 1999 und Moser, 2017). Somit entfällt dieses Vorgehen zur Reduktion der bakteriellen Adhäsion (Moser, 2017).

Abschliessend sollte bemerkt werden, dass bei der Interpretation der Ergebnisse einer In-vitro-Studie Vorsicht geboten ist. Faktoren wie Zelltyp, Heterogenität interindividueller Fibroblasten sowie Komplexität der oralen Umgebung können eine beeinflussende Rolle spielen.

Die vorliegende Laborstudie zeigt, dass eine bakterielle Anlagerung an Membranen stattfinden kann und dass Mikroorganismen auch einen Einfluss auf die zelluläre Anlagerung haben. Die Beschaffenheit der Membranen spielt dabei eine wesentliche Rolle. Bezüglich der Biofilmbildung auf den Membranen könnte die Verwendung einer Polylaktid-Membran in der Anfangsphase einen leichten Vorteil bringen, da die bakterielle Besiedlung in den ersten 6 h auf diesem Material signifikant geringer war. Jedoch scheint dieser Effekt von kurzer Dauer zu sein, denn bereits nach 24h war kein Unterschied zwischen den drei verschiedenen Membrantypen mehr zu erkennen. Betrachtet man die beiden Bakterienspezies *P. gingivalis*

und *T. forsythia* separat, dann ist sogar eine erhöhte Bakterienbesiedlung nach 24h auf der Polylaktid-Membran zu erkennen.

Was die zelluläre Adhäsion betrifft, zeigen die In-vitro-Resultate dieser Studie, dass die Verwendung einer kollagenbasierten Membran vorteilhaft ist, auch dann, wenn eine bakterielle Exposition vorliegt. Überraschenderweise zeigte sich bei Anwesenheit von Mikroorganismen eine verstärkte Anlagerung oder Proliferation von TIGKs im Vergleich zu den Versuchen ohne Mikroorganismen. Dieser Effekt ist tendenziell als negativer Einfluss zu beurteilen, denn grundsätzlich sollten die Membranen als Barrieren eine Epithelinfiltration vermeiden, was bei einer erhöhten Proliferation erschwert sein kann.

GTR repräsentiert die am besten dokumentierte Regenerationsmethode für intraossäre Defekte und Klasse II Furaktionsbefall (Lindhe et al., 2006). Eine regenerative Therapie mit Kollagenmembran und xenogenem bovinen Füller resultiert in signifikant grösserem Attachmentgewinn als eine Lappenoperation allein (Sculean et al., 2003). Dank GTR ist der Zahnerhalt von stark kompromittierten Zähnen bei mehr als 96% während einer Periode von länger als 10 Jahren möglich (Cortellini et al., 2004). Das durch regenerative Therapie gewonnene Attachment bleibt somit während langer Zeit stabil (Cortellini et al., 2004). Eine Membranexposition und Kontamination ist mit reduziertem Erfolg assoziiert (Cortellini et al., 2005 und Ling et al., 2003). An Stellen ohne Exposition konnte ein Attachmentgewinn von 75-100% erzielt werden, während der Gewinn an Stellen mit Membranexposition nur 30-59% war (Ling et al., 2003). Tendenziell resultiert nach Membranexposition somit weniger Attachmentgewinn und mehr Rezession (Ling et al., 2003).

Gerade, weil bei der gesteuerten Geweberegeneration die Membranexposition eine häufige Komplikation ist, erscheint es umso wichtiger, dass im Bereich der bakteriellen und zellulären Anlagerung an Membranen weitere Forschungsprojekte durchgeführt werden. Nur so kann längerfristig eine optimale Strategie zur Vorbeugung mikrobieller Kolonisation und Förderung der selektiven zellulären Anlagerung an die Membranen erreicht und die Therapieergebnisse nach Regeneration mit GTR weiter verbessert werden.

## 6. Literaturverzeichnis

Albandar J. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontology* 2000 2002;29(1):177-206.

AlJehani Y. Risk Factors of Periodontal Disease: Review of the Literature. *International Journal of Dentistry* 2014;1-9.

Bottino MC, Thomas V. Membranes for periodontal regeneration – a materials perspective. *Frontiers of Oral Biology* 2015;17:90-100.

Bunyaratavej P, Wang H. Collagen Membranes: A Review. *Journal of Periodontology* 2001;72(2):215-229.

Cheng ChF, Wu KM, Chen YT, Hung SL. Bacterial adhesion to antibiotic-loaded guided tissue regeneration membranes – A scanning electron microscopy study. *Journal of the Formosan Medical Association* 2015;114(1):35-45.

Chen Y, Hung S, Lin L, Chi L, Ling L. Attachment of Periodontal Ligament Cells to Chlorhexidine-Loaded Guided Tissue Regeneration Membranes. *Journal of Periodontology* 2003;74(11):1652-1659.

Chen YT, Wang HL, Lopatin DE, O'Neal R, MacNeil RL. Bacterial Adherence to Guided Tissue Regeneration Barrier Membranes Exposed to the Oral Environment. *Journal of Periodontology* 1997;68(2):172-179.

Cortellini P, Tonetti M. Clinical Performance of a Regenerative Strategy for Intrabony Defects: Scientific Evidence and Clinical Experience. *Journal of Periodontology* 2005;76(3):341-350.

Cortellini P, Tonetti M. Long-Term Tooth Survival Following Regenerative Treatment of Intrabony Defects. *Journal of Periodontology* 2004;75(5):672-678.

DeSanctis M, Zucchelli G, Clauser C. Bacterial Colonization of Bioabsorbable Barrier Material and Periodontal Regeneration. *Journal of Periodontology* 1996;67(11):1193-1200.

Dowell P, Moran J, Quteish D. Guided tissue regeneration. *British Dental Journal* 1991;171(5):125-127.

Erpenstein H, Diedrich P. *Atlas der Parodontalchirurgie*. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2004.

Fujioka-Kobayashi M, Caballé-Serrano J, Bosshardt D, Gruber R, Buser D, Miron R. Bone conditioned media (BCM) improves osteoblast adhesion and differentiation on collagen barrier membranes. *BMC Oral Health* 2016;17(1):7.

Genco R, Borgnakke W. Risk factors for periodontal disease. *Periodontology* 2000 2013;62(1):59-94.

Hämmerle C, Giannobile W. Biology of soft tissue wound healing and regeneration – Consensus Report of Group 1 of the 10th European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology* 2014;41:1-5.

Hugoson A, Lundgren D, Lindgren B. *Guided periodontal tissue regeneration*. Stockholm, Sweden: Förlagshuset Gothia; 1995.

Hung S, Lin Y, Wang Y, Chen Y, Su C, Ling L. Permeability of *Streptococcus mutans* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Through Guided Tissue Regeneration Membranes and Their Effects on Attachment of Periodontal Ligament Cells. *Journal of Periodontology* 2002;73(8):843-851.

Karring T, Nyman S, Gottlow J, Laurell L. Development of the biological concept of guided tissue regeneration - animal and human studies. *Periodontology* 2000 1993;1(1):26-35.

Kasaj A, Reichert C, Götz H, Röhrig B, Smeets R, Willershausen B. In vitro evaluation of various bioabsorbable and nonresorbable barrier membranes for guided tissue regeneration. *Head & Face Medicine* 2008;4(1).

Lekic P, McCulloch C. Periodontal ligament cell populations: The central role of fibroblasts in creating a unique tissue. *The Anatomical Record* 1996;245(2):327-341.

Lindhe J, Karring T, Lang N. *Clinical periodontology and implant dentistry*. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2006.

Ling L, Hung S, Lee C, Chen Y, Wu K. The influence of membrane exposure on the outcomes of guided tissue regeneration: clinical and microbiological aspects. *Journal of Periodontal Research* 2003;38(1):57-63.

Lüllmann-Rauch R. Taschenlehrbuch Histologie. 4th ed. Stuttgart: Thieme; 2012.

Marchesan J, Scanlon C, Soehren S, Matsuo M, Kapila Y. Implications of cultured periodontal ligament cells for the clinical and experimental setting: A review. *Archives of Oral Biology* 2011;56(10):933-943.

Miron RJ, Sculean A, Cochran DL, Froum S, Zucchelli G, Nemcovsky C, Donos N, Lyngstadaas SP, Deschner J, Dard M, Stavropoulos A, Zhang Y, Trombelli L, Kasaj A, Shirakata Y, Cortellini P, Tonetti M, Rasperini G, Jepsen S, Bosshardt DD. Twenty years of enamel matrix derivative: the past, the present and the future. *J Clin Periodontol* 2016; 43: 668–683.

Moffatt-Jauregui C, Robinson B, de Moya A, Brockman R, Roman A, Cash M, Culp D, Lamont R. Establishment and characterization of a telomerase immortalized human gingival epithelial cell line. *Journal of Periodontal Research* 2013;48(6):713-21.

Mombelli A, Schmid J, Walter C, Wetzel A. Qualitätsleitlinien Parodontologie. *Swiss Dental Journal* 2014;124(2):261-267.

Moser C. Bakterielle Adhäsion an Guided Tissue Regeneration Membranen. Narratives Literaturreview. Masterarbeit, Klinik für Parodontologie, Zahnmedizinische Kliniken der Universität Bern 2017;1-24.

Nowzari H, MacDonald E, Flynn J, London R, Morrison J, Slots J. The Dynamics of Microbial Colonization of Barrier Membranes for Guided Tissue Regeneration. *Journal of Periodontology* 1996;67(7):694-702.

Nyman S. Bone regeneration using the principle of guided tissue regeneration. *Journal of Clinical Periodontology* 1991;18(6):494-498.

Page R, Offenbacher S, Schroeder H, Seymour G, Kornman K. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology* 2000 1997;14(1):216-248.

Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Journal of Laboratory Investigation* 1976;34(3):235-249.

Pihlstrom B. Periodontal risk assessment, diagnosis and treatment planning. *Periodontology* 2000 2001;25(1):37-58.

Postlethwaite A, Seyer J, Kang A. Chemotactic attraction of human fibroblasts to type I, II, and III collagens and collagen-derived peptides. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1978;75(2):871-875.

Rothamel D, Schwarz F, Sculean A, Hertel M, Scherbaum W, Becker J. Biocompatibility of various collagen membranes in cultures of human PDL fibroblasts and human osteoblast-like cells. *Clinical Oral Implants Research* 2004;15(4):443-449.

Salvi G, Lawrence H, Offenbacher S, Beck K J. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology* 2000 1997;14(1):173-201.

Sculean A, Gruber R, Bosshardt D. Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. *Journal of Clinical Periodontology* 2014;41:6-22.

Sculean A, Berakdar M, Chiantella G, Donos N, Arweiler N, Brex M. Healing of intrabony defects following treatment with a bovine-derived xenograft and collagen membrane. A controlled clinical study. *Journal of Clinical Periodontology* 2003;30(1):73-80.

Sela MN, Kohavi D, Krausz E, Steinberg D, Rosen G. Enzymatic degradation of collagen-guided tissue regeneration membranes by periodontal bacteria. *Clinical Oral Implants Research* 2003;14(3):263-268.

Sela MN, Steinberg D, Klinger A, Krausz AA, Kohavi D. Adherence of periodontopathic bacteria to bioabsorbable and non-absorbable barrier membranes in vitro. *Clinical Oral Implants Research* 1999;10(6):445-452.

Selvig KA, Kersten BG, Chamberlain AD, Wikesjö UM, Nilvúus RE. Regenerative Surgery of Intrabony Periodontal Defects Using ePTFE Barrier Membranes: Scanning Electron Microscopic Evaluation of Retrieved Membranes Versus Clinical Healing. *Journal of Periodontology* 1992;63(12):974-978.

Sheikh Z, Hamdan N, Ikeda Y, Grynypas M, Ganss B, Glogauer M. Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications: a review. *Biomaterials Research* 2017;21(1).

Sheikh Z, Qureshi J, Alshahrani A, Nassar H, Ikeda Y, Glogauer M, Ganss B. Collagen based barrier membranes for periodontal guided bone regeneration applications. *Odontology* 2016;105(1):1-12.

Sokos D, Everts V, de Vries T. Role of periodontal ligament fibroblasts in osteoclastogenesis: a review. *Journal of Periodontal Research* 2014;50(2):152-159.

Solmi R, Tietz C, Zucchini C et al. In vitro study of gingival fibroblasts from normal and inflamed tissue: age-related responsiveness. *Mechanisms of Ageing and Development* 1996;92(1):31-41.

Stoecklin-Wasmer C, Rutjes AW, da Costa BR, Salvi GE, Juni P, Sculean A. Absorbable Collagen Membranes for Periodontal Regeneration: A Systematic Review. *Journal of Dental Research* 2013;92(9):773-781.

Susin C, Fiorini T, Lee J, De Stefano J, Dickinson D, Wikesjö U. Wound healing following surgical and regenerative periodontal therapy. *Periodontology 2000* 2015;68(1):83-98.

Susin C, Wikesjö U. Regenerative periodontal therapy: 30 years of lessons learned and unlearned. *Periodontology 2000* 2013;62(1):232-242.

Teixeira LN, Crippa GE, Trabuco AC, Gimenes R, Zaghete MA, Palioto DB, De Oliveira PT, Rosa A. In vitro biocompatibility of poly(vinylidene fluoride–trifluoroethylene)/barium titanate composite using cultures of human periodontal ligament fibroblasts and keratinocytes. *Acta Biomaterialia* 2010;6(3):979-989.

Timmerman M, Weijden G. Risk factors for periodontitis. *International Journal of Dental Hygiene* 2006;4(1):2-7.

Tsesis I. *Complications in Endodontic Surgery*. Berlin-Heidelberg: Springer Verlag; 2014.

Van Dyke Th. Risk Factors for Periodontitis. *Journal of the International Academy of Periodontology* 2005;7(1):3-7.

Vignoletti F, Nunez J, Sanz M. Soft tissue wound healing at teeth, dental implants and the edentulous ridge when using barrier membranes, growth and differentiation factors and soft tissue substitutes. *Journal of Clinical Periodontology* 2014;41:23-35.

Wang HL, Yuan K, Burgett F, Shyr Y, Syed S. Adherence of Oral Microorganisms to Guided Tissue Membranes: An In Vitro Study. *Journal of Periodontology* 1994;65(3):211-218.

Yaffe A, Ehrlich J, Shoshan S. Restoration of Periodontal Attachment Employing Enriched Collagen Solution in the Dog. *Journal of Periodontology* 1984;55(11):623-628.

Wikesjö U, Selvig K. Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontology* 2000 1999;19:21-39.

Zucchelli G, Cesari C, Clauser C, DeSanctis M. Early Bacterial Accumulation on Guided Tissue Regeneration Membrane Materials. An In Vivo Study. *Journal of Periodontology* 1998;69(11):1193-1202.



## 7. Tabellenverzeichnis

**Tabelle 1:** Anwendung von Membranen in der Zahnmedizin.

Erpenstein H, Diedrich P. Atlas der Parodontalchirurgie. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2004.

Moser C. Bakterielle Adhäsion an Guided Tissue Regeneration Membranen. Narratives Literaturreview. Masterarbeit, Klinik für Parodontologie, Zahnmedizinische Kliniken der Universität Bern 2017;1-24.

## 8. Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1:** Darstellung der frühen und späten Phase der Wundheilung/Regeneration.

Susin C, Fiorini T, Lee J, De Stefano J, Dickinson D, Wikesjö U. Wound healing following surgical and regenerative periodontal therapy. *Periodontology* 2000 2015;68(1):83-98.

**Abbildung 2:** Gesamtzahl adhärenter Bakterien des 6-Spezies-Biofilms auf den für die regenerative Therapie gebrauchten Membranen nach 6 h und 24 h Inkubation.

Eigene Darstellung

**Abbildung 3:** Anzahl adhärenter Bakterien (*Porphyromonas gingivalis* und *Tannerella forsythia*) des 6-Spezies-Biofilms auf den für die regenerative Therapie gebrauchten Membranen nach 6 h und 24 h Inkubation.

Eigene Darstellung

**Abbildung 4:** Adhäsion von gingivalen Epithelzellen an den Membranen in An- und Abwesenheit von Bakterien nach 6 h bzw. 48 h Inkubation.

Eigene Darstellung

**Abbildung 5:** Adhäsion parodontaler Fibroblasten an den Membranen in An- und Abwesenheit von Bakterien nach 72 h Inkubation.

Eigene Darstellung

## 9. Abkürzungsverzeichnis

<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>Cfu</b>	Colony forming units
<b>DAPI</b>	4',6-Diamidin-2-phenylindol
<b>ePTFE</b>	expanded Polytetrafluoroethylene
<b>GTR</b>	Guided Tissue Regeneration
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>PDL</b>	Periodontal Ligament
<b>PTFE</b>	Polytetrafluoroethylene
<b>TIGK</b>	Telomerase immortalized gingival Keratinocytes

## 10. Erklärung

„Ich erkläre hiermit, dass ich diese Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen benutzt habe.

Alle Ko-Autorenschaften sowie alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäss aus Quellen entnommen wurden, habe ich als solche gekennzeichnet. Mir ist bekannt, dass andernfalls der Senat gemäss Artikel 36 Absatz 1 Buchstabe r des Gesetzes vom 5. September 1996 über die Universität zum Entzug des aufgrund dieser Arbeit verliehenen Titels berechtigt ist.“

Neuhausen am Rheinfall, 02.08.2018

Corina Moser

## 11. Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei meiner Betreuerin und Laborleiterin Frau Prof. Dr. med. dent. Sigrun Eick für die tatkräftige Unterstützung und reibungslose Zusammenarbeit bedanken. Ein Dankeschön geht auch an PD Dr. med. dent. Karolina Jurczyk für die Hilfe und Zusammenarbeit im Labor. Zu guter Letzt sei herzlich meinen Eltern gedankt, welche mir mein Traumstudium ermöglicht haben und mich in jeder Situation unterstützen.