

**Aktive Matrix-Metalloproteinase-8 als Indikator
für den Verlauf profunder Parodontitiden
nach Therapie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn**

Utz Winkelmann
aus Hamburg

2012

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. dent. Mathias Frentzen
2. Gutachter: Prof. Dr. med. dent. Helmut Stark

Tag der Mündlichen Prüfung: 04. Mai 2012

Aus dem Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn,
Poliklinik für Parodontologie, Zahnerhaltung und Präventive Zahnheilkunde
Direktor: Prof. Dr. Dr. S. Jepsen

numquam

retrorsum

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis	08-10
1 Einleitung	
1.1 Einführung	11-13
1.2 Pathogenese der parodontalen Erkrankungen	13
1.2.1 Gesundes Parodontium	13-14
1.2.2 Klassifizierung der Parodontalerkrankungen	14-15
1.2.3 Gingivitis	15
1.2.4 Parodontitis	16
1.2.5 Leitkeime	16-18
1.2.6 Markerkeime	19-20
1.3 Diagnostische Verfahren der Parodontitiden	20
1.3.1 Klinische und Radiologische Verfahren	20-21
1.3.2 Mikrobiologische Diagnostik	21
1.3.2.1 Mikroskopie	21
1.3.2.2 Kulturelle Nachweismethoden	22
1.3.2.3 Polymerase Kettenreaktion (PCR)	22-24
1.3.3 Enzymdiagnostik	24
1.4 Sulcusflüssigkeit (GCF)	25
1.4.1 Potentielle Marker des GCF	25-27
1.4.2 Interleukin-Genetest	27-28
1.5 Matrix-Metalloproteinasen (MMP)	28
1.5.1 MMP und TIMP	28-29
1.5.2 MMP-8	30-31
1.6 Konzepte im Rahmen der Parodontitistherapie	31
1.6.1 Compliance	32
1.6.2 Mechanische Verfahren	32-33
1.6.3 Antimikrobielle Verfahren	33-34
1.6.3.1 Chlorhexidindigluconat (CHX)	34
1.6.3.2 Fluorverbindungen	34-35
1.6.3.3 Phenole	35
1.6.3.4 Ätherische Öle	35
1.6.3.5 Polyalkohole	36

1.6.4	Die Antibiose	36
1.6.4.1	Lokale Antibiose	36
1.6.4.2	Systematische Antibiose	37-38
1.6.4.3	Subantimikrobielle systemische Antibiose	38-39
1.7	Antimikrobielle Photodynamische Therapie (aPDT)	39-42
1.8	Ziel der vorliegenden Arbeit	42-43

2 Material und Methode

2.1	Studiendesign	44
2.1.1	Auswahl der Probanden	44
2.1.2	Kontrollgruppe	44
2.1.3	Randomisierung / Art der Blindstudie	45
2.1.4	Bestimmung der klinischen Parameter und Messstellen	45
2.1.5	Ablauf und Ausführung der Therapie	46
2.2	Probenentnahmetechniken und Auswertungsverfahren	47
2.2.1	Sticktestung auf Erys/Hb und Leukozyten im Speichel	47-49
2.2.2	Bestimmung der aMMP-8 Werte (ELISA)	50-51
2.2.3	Mikrobiologische Testung (PCR)	51-53
2.3	Antimikrobielle Therapien	54
2.3.1	Scaling und Root Planing (SRP)	54
2.3.2	Antibiotikatherapie	54-55
2.3.3	Antimikrobielle Photodynamische Therapie	55-58
2.4	Vorbehandlung, MHI, Compliance	58
2.5	Statistische Auswertung	58-59

3 Ergebnisse

3.1	Verteilung der Probandenmerkmale auf die Behandlungsgruppen	60-61
3.2	Sticktestung auf Erys/Hb und Leukozyten im Speichel	61
3.2.1	Taschentiefen (TT)	61-64
3.2.2	Bakterien/Keimkategorien	64-67
3.2.3	aMMP-8 Verläufe	68-70
3.2.4	Vergleich aMMP-8 und TT	71

3.2.4.1	Patientenbezogener Vergleich	71-73
3.2.4.2	Site-bezogene Betrachtung	73-77
3.3	Genetische Disposition und Behandlungsergebnisse	77
3.3.1	aMMP-8	77-79
3.3.2	TT	80-81
3.3.3	Bakterien	81-82
3.4	Speichelprobenauswertung (Stick-Test)	82-84
4	Diskussion	84-89
5	Zusammenfassung	89-90
6	Anhang	91
6.1	Anamnesebogen	91-92
6.2	Patienteninformation und Einverständniserklärung	93
6.3	DGZMK Kriterien für adjuvante Antibiotika in der Parodontitistherapie	94
7	Literaturverzeichnis	95-120
8	Danksagung	121
9	Lebenslauf	122

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Aa.	Aggregatibacter actinomycetemcomitans (vormals Actinobacillus actinomycetemcomitans)
AB	Antibiotika
Agg	hier: aggressive Parodontitis (genetische Disposition)
AP	aggressive Parodontitis
API	approximaler Plaque Index
aPDT	antimikrobielle photodynamische Therapie
Bf.	Bacteroides forsythus
BOP	bleeding on probing (deutsch: Blutung nach Sondierung)
CAL	clinical attachment level (deutsch: klinische Attachment Höhe)
CHX	Chlorhexidindigluconat
CMT	chemische modifizierte Tetrazykline
CP	chronische Parodontitis
CRLDD	controlled release local delivery device (kontrollierte Abgabe der örtlich einzusetzenden Agentien)
DGP	Deutsche Gesellschaft für Parodontologie e.V.
DGZMK	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EGF	epidermal growth factor
EIA	Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Erys	Erythrozyten
EZM	Extrazelluläre Matrix
Fn.	Fusobacterium nucleatum
GCF	gingival crevicular fluid (deutsch: Sulkusflüssigkeit)
GI	Gingiva Index
Hb	Hämoglobin

ICD	Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme
IFA	immuno fluorescent assay
IFN	Interferon
IgG	Immunglobulin G
IL-1	Interleukin-1
LDD	low dose doxycycline
LJP	lokalisierte juvenile Parodontitis
LPS	Lipopolysaccharide (Kollagenase Virulenzfaktoren)
MAK	monoklonale Antikörper
MHI	Mundhygieneinstruktion
MIC	minimal inhibitorische Konzentration
MMP	Matrix-Metalloproteinase
NGF	nerve growth factor
NSAR	nichtsteroidale Antirheumatika
NUG	nekrotisierende ulzerierende Gingivitis
NUP	nekrotisierende ulzerierende Parodontitis
PBI	Papillenblutungsindex
PCR	polymerase chain reaction (deutsch: Polymerase-Kettenreaktion)
PD	probing depth (deutsch: Sondierungstiefe)
PDGF	platelet derived growth factor
PGE	Prostaglandin E (speziell PGE ₂)
Pg.	Porphyromonas gingivalis
Pi.	Prevotella intermedia
PI	Plaqueindex
PI	hier: Polymorphismus im Interleukinbereich
PISF	periimplantäre Sulkusflüssigkeit
qPCR	quantitative Echtzeit PCR
RIA	Radioimmunassay
RNS	Ribonukleinsäure

SBI	Sulkusblutungsindex
SRP	subgingival scaling und root planing (subgingivales Scaling mit Wurzelglättung)
Tf.	Tanerella forsythensis
TGF	transforming growth factor
TIMP	tissue inhibitor of matrix-metalloproteinase (MMP-Inhibitor)
TNF	tumor necrosis factor (Tumor Nekrose Faktor)
TT	Taschentiefe

1 EINLEITUNG

1.1 Einführung

Die entzündliche Erkrankung des Parodontiums ist weltweit eine der am meisten verbreiteten Infektionskrankheiten. Ähnlich der Karies ist die Parodontitis eine plaqueassoziierte, durch Anwesenheit von Mikroorganismen hervorgerufene Erkrankung. Folgende Faktoren machen die plaqueassoziierten Erkrankungen der Mundhöhle zu besonderen Infektionen: Es kommt zu einer Interaktion der Mikroorganismen mit dem Wirt ohne direkten Kontakt mit den Wirtszellen. Die Differenziertheit der parodontalen Keime ist besonders ausgeprägt. Auch bei klinisch gesunden Menschen sind diese Keime in geringer Konzentration vorhanden. Häufig fehlt eine massive bakterielle Invasion der Gewebe. Die Organisation der Mikroorganismen auf den Wurzeloberflächen in einem Biofilm erschwert die Therapie der Parodontitis.

Erfolgreiche Therapieansätze anderer Infektionserkrankungen können nur eingeschränkt auf die Parodontitistherapie übertragen werden. Die Entfernung des Biofilms ist für die Wirkung der Therapie essentiell. Eine ausreichende Gabe geeigneter Antiseptika und Antibiotika ist ein weiterer Schlüssel zum Erfolg. Entscheidend ist eine ausreichend hohe Konzentration am Wirkort, also im Sulkus.

Die Parodontitisdiagnostik umfasst klinische, radiologische und mikrobielle Untersuchungen. Sie geben Aufschluss über den momentanen Zustand des Parodontiums und den vorliegenden Grad der parodontalen Gewebszerstörung. Eine Aussage über die Aktivität der parodontalen Erkrankung ist nur schwer zu treffen.

Die Art und Menge verschiedener Parodontopathogene führt nicht zwangsläufig zu einer gleichartigen und gleichstarken Reaktion des betroffenen Individuums (*Trombelli und Tatakis, 2003*). Individuelle Risikofaktoren tragen zu unterschiedlicher Anfälligkeit der parodontalen Strukturen bei. Dazu gehören Plaqueansammlung und Mundhygiene, systemische Erkrankungen wie Diabetes mellitus (*Martin et al., 2001; Sculean et al., 2002*), sowie genetische Dispositionen. Auch Nikotinabusus verändert die Wirtantwort. Rauchen beeinflusst die orale neutrophile Chemotaxis und Phagozytose (*Kremer et al., 2000*). Stressfaktoren stehen im Verdacht, Einfluss auf die Entstehung und Progredienz von Parodontitis zu haben. Auch das Alter von Patienten korreliert mit der Wahrscheinlichkeit, an Parodontitiden zu erkranken (*Ogawa et al., 2002*).

Für eine Diagnostik und ein Monitoring des parodontalen Erkrankungsgrades ist deshalb das Ausmaß der Gewebereaktion und nicht allein die Menge und Beschaffenheit der Parodontopathogene entscheidend. Ausschlaggebend für den Zerstörungsgrad der parodontalen Hart- und Weichgewebe ist die unterschiedliche immunologische und ent-

zündliche Reaktion auf die subgingivale Plaquesbesiedelung. Der therapeutische Ansatz war über Jahrzehnte die Bekämpfung der Mikroorganismen, speziell der Leitkeime der Parodontitis. Heute werden die wirtsabhängigen Gewebereaktionen als Schlüssel zur erfolgreichen Behandlung der Parodontitis untersucht. Einer dieser Schlüssel ist die Gruppe der extrazellulären Matrix-Metalloproteinasen (MMP).

MMP sind eine Gruppe proteolytischer Enzyme, die am physiologischen Auf- und Abbau der extrazellulären Matrixproteine und der Basalmembranen beteiligt sind. MMP-gesteuerte Vorgänge sind bei fast allen physiologischen Umbauvorgängen bei Wirbeltieren essentiell (Entwicklung des Embryo, Organmorphogenese, Nervenwachstum, Angiogenese, Apoptose u.a.). Auch bei den meisten pathologischen Vorgängen sind MMP beteiligt (unter anderem bei Arthritis, Tumorerkrankungen, Herz- und Kreislauferkrankungen, Magengeschwüren, Emphysem und Parodontitis (*Parks und Mecham, 1998*). Die Parodontitis zeichnet sich durch Gewebeerstörung als Folge lokaler überschießender Entzündung aus. Sie ist polybakteriell induziert und führt zur Bildung parodontaler Taschen durch Auflösung von Bindegewebe und Verlust von Alveolarknochen (*Tervahartiala et al., 2000*).

Die Aktivierung und erhöhte Produktion von MMPs wird durch parodontale Keime wie *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis* und auch *Ch. pneumoniae* sowie durch die an der Entzündungsreaktion beteiligten Zytokine induziert (*Claesson et al., 2002; Chang et al., 2002; Mäntylä et al., 2004*). Die erhöhten MMP-Spiegel im parodontalen Gewebe und in der Sulkusflüssigkeit (GCF) können mit verschiedenen Methoden gemessen werden. In der Literatur sind Zymographie in Natrium-Duodecyl-Sulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (*Apajalahti et al., 2003*), Assays mit C-14 Kollagen oder biotinisierendem Kollagen (*Soell et al., 2002; Mancini et al., 1999*), ELISA (*Ingman et al., 1996; Soell et al., 2002; Choi et al., 2004*) und „time-resolved immunofluorescence assay“ (*Chen et al., 2000; Kinane et al., 2003; Buduneli et al., 2002; Mäntylä et al., 2003*) beschrieben. Von einer einfachen und sensitiven Methode, dem „fluorogenic septapeptide matrix metalloproteinase assay“ wird ebenfalls berichtet (*Bhide et al., 2000*).

Es gibt verschiedene Ansätze antibiotische Agentien an den Wirkort Parodontium zu bringen. Lokale und systemische Antibiotika wirken je nach Art der Applikation unterschiedlich schnell und lang. Unerwünschte Nebenwirkungen auf den gesamten Organismus und auf die lokale Mundflora sowie der Biofilm limitieren ihren Einsatz.

Ein mikrobieller Biofilm ist definiert als Ansammlung unterschiedlicher Mikroorganismen auf einer Oberfläche. Diese sind untereinander strukturell in Flüssigkeit vernetzt (*Costeron et al., 1999*). Bakterien in Biofilmen unterscheiden sich von ihren planktonisch lebenden Artgenossen. Sie reagieren weniger anfällig auf Antibiotika und Antiseptika (*Davey und O`Toole, 2000*). Ihre erhöhte Widerstandsfähigkeit beruht auf folgenden Mechanismen: Die Penetration des Biofilms wird durch chemische und physikalische Barrieren

behindert. Das Wachstum und der Stoffwechsel sind im Biofilm herabgesetzt. Es bilden sich eigene, an den Biofilm angepasste Phänotypen aus (*Mah und O'Toole, 2001*). Für eine ausreichend wirksame Medikamentenkonzentration im Biofilm muss die Konzentration im Vergleich zu planktonisch lebenden Bakterien um den Faktor 1000 erhöht sein, um die gleiche Wirkung am Bakterium zu erzielen (*Netuschil, 2006*).

Die erhöhte Widerstandskraft und das vermehrte Aufkommen antibiotika-resistenter Bakterienstämme führen zur verstärkten Suche nach neuen Therapieansätzen in der Parodontitistherapie. Eine innovative und effiziente Methode zur Therapie oberflächenlokalisierter, chronischer Infektionen wie der Parodontitis stellt die antimikrobielle Photodynamische Therapie (aPDT) dar (*Dobson und Wilson, 1992; Dörtbudak et al., 2000,2001*). Hierbei handelt es sich um ein Verfahren, bei dem durch einen photochemischen Prozess eine Bakterienreduktion an der Wurzeloberfläche und dem umliegenden Gewebe erreicht wird. Dazu wird eine lichtaktive Farbstofflösung als Photosensibilisator in die parodontale Tasche eingebracht. Während der Einwirkzeit diffundiert der Farbstoff in den Biofilm und lagert sich an der Bakterienmembran an. Dann erfolgt die Aktivierung des Photosensibilisators mit Laserlicht.

Dadurch wird ein photochemischer Prozess ausgelöst, bei dem Singulett-Sauerstoffmoleküle entstehen. Diese sind starke Oxidationsmittel, welche mit der Bakterienmembran reagieren und vorzugsweise über Oxidation von Membranlipiden zu einer irreversiblen, letalen Schädigung der Membran führen (*Dobson und Wilson, 1992; Usachewa et al., 2001; Wainwright et al., 1997*). Hierdurch wird die photochemische Dekontamination des Gewebes und der Wurzeloberfläche erreicht.

Die aPDT findet neben der Parodontalthherapie (*Wilson et al., 1993*) auch in der Behandlung von Candidainfektionen Anwendung (*Teichert et al., 2002*).

Seit 2003 steht ein zugelassenes Therapiesystem zur Behandlung von Parodontitiden zur Verfügung.

1.2 Pathogenese der Parodontalerkrankungen

1.2.1 Gesundes Parodontium

Das Gewebe des Zahnhalteapparates umfasst die folgenden strukturellen Elemente, die im gesunden Zustand das Eindringen von Bakterien, Schadstoffen und Chemikalien in das Körperinnere verhindern:

Gingiva, parodontales Ligament, Wurzelzement und alveolärer Knochen erhalten die strukturelle und funktionale Unversehrtheit zwischen Mundhöhle und Körperinnerem. Dabei befinden sich Ab- und Aufbauprozesse im Gleichgewicht. Die Grenzfläche bilden

die Saumepithelzellen (Keratinocyten) und deren Verbindungen untereinander (Desmosomen). Verbindungen zwischen Saumepithel und Desmodont werden über unpaarige Haftplatten (Halbdesmosomen) gebildet. Letztlich bildet die Basalmembran unter dem Epithel die Grenzschicht zum Bindegewebe. Saumepithelzellen haben eine sehr hohe zelluläre Erneuerungsrate (*Bosshard und Lang, 2005*).

1.2.2 Klassifizierung der parodontalen Erkrankungen

Der “international workshop for a classification of periodontal diseases and conditions” hat 1999 die aktuelle Einteilung gingivaler und parodontaler Erkrankungen nach ICD-10 (internationale statistische Klassifizierung der Krankheiten und Gesundheitsprobleme) aufgestellt (*Tab. 1*).

Einteilungen, die auf den Kriterien Alter und Fortschrittggeschwindigkeit beruhten, wurden fallengelassen. Gingivitiden fallen unter die Kategorie I. Kategorie II enthält chronische Parodontitiden. Aggressive Parodontalerkrankungen befinden sich in Kategorie III. Alle übrigen Formen der Parodontitis werden in den Kategorien IV bis VIII erfasst.

I	Gingivitis A Durch dentale Plaque induzierte Gingivopathien B Nicht durch dentale Plaque induzierte Gingivopathien
II	Chronische Parodontitis A Lokalisiert B Generalisiert
III	Aggressive Parodontitis A Lokalisiert B Generalisiert
IV	Parodontitis als Manifestation systemischer Erkrankungen A Hämatologische Erkrankungen B Genetische Erkrankungen C Anderweitig nicht spezifiziert
V	Nekrotisierende parodontale Erkrankungen A Nekrotisierende ulzerierende Gingivitis (NUG) B Nekrotisierende ulzerierende Parodontitis (NUP)
VI	Abszesse des Parodonts A Gingivaler Abszess B Parodontaler Abszess C Perikoronaler Abszess
VII	Parodontitis in Zusammenhang mit endodontalen Läsionen A Kombinierte parodontale endodontale Läsion
VIII	Entwicklungsbedingte oder erworbene Deformitäten und Zustände A Lokalisierte, zahnbezogene Faktoren, die plaqueinduzierte Gingivopathien und Parodontitis modifizieren oder fördern B Mukogingivale Deformitäten und Zustände im Bereich von Zähnen C Mukogingivale Deformitäten und Zustände am zahnlosen Alveolarkamm D Okklusales Trauma

Tab. 1: Klassifizierung der Parodontiden nach „International Workshop for a classification of periodontal diseases and conditions“ 1999.

1.2.3 Gingivitis

Fast die gesamte Erdbevölkerung leidet zumeist periodisch an einer reversiblen Entzündung der Gingiva. Ursache hierfür sind unzureichende Hygienemaßnahmen und eine damit verbundene Bakterienzunahme auf den Zahnoberflächen. Die Entfernung des Biofilms führt zur Wiederherstellung der Gesundheit der marginalen Gingiva (Loe et al., 1965). Der Zusammenhang zwischen Plaque-Akkumulation und Schweregrad einer Gingivitis konnte nachgewiesen werden (Ash et al., 1964). Ebenso konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Plaquemenge und Attachmentverlust nachgewiesen werden (Lövdal et al., 1959). Das komplette Unterlassen von Mundhygienemaßnahmen führte in Studien von Theilade (1966) zur Etablierung einer manifesten Gingivitis bei zuvor völlig gesunden Individuen. Wiederaufnahme der Mundhygienemaßnahmen brachte eine Resitutio ad integrum (Löe und Schiött, 1970).

1.2.4 Parodontitis

Bleibt der Zustand der Gingivitis über einen längeren Zeitraum unbehandelt, entsteht bei einigen Menschen eine lokale, nur einige Parodontien betreffende oder auf die gesamte Dentition übergreifende dauerhafte Schädigung des Parodontiums. Es kommt zu irreversiblen Verlust von parodontalem Gewebe (*Albandar, 2002*). Verantwortlich für den Verlust des parodontalen Stützgewebes sind allgemeine und lokale Wirtsreaktionen auf die mikrobielle Besiedelung (*Sanderink et al., 2004*). Die initiale Phase der Erkrankung ist durch leukozytäre Abwehrmechanismen geprägt. Im weiteren Verlauf kommt eine lymphozytäre Immunreaktion hinzu. Verschiedene Wirtsfaktoren können darüber hinaus einen progredienten Verlauf der Erkrankung begünstigen (*Mäntylä, 2006*). Vorrangig sind genetische Faktoren, systemische Erkrankungen und Tabakkonsum zu erwähnen (*Kinane, 2000*). Die menschliche Mundhöhle beheimatet ungefähr 600 verschiedene Bakterienarten, von denen um die 250 in unterschiedlicher Zusammensetzung in jedem Individuum vorkommen.

1.2.5 Leitkeime

Im Zusammenhang mit der Entstehung und Etablierung einer Parodontitis findet nicht nur eine deutliche Zunahme der Bakterienzahl im parodontalen Biofilm statt, sondern es ändert sich auch dessen Zusammensetzung (*Listgarden, 1976; Tanner, 1979*). Auf dem Weg zur Bezeichnung bestimmter, mit Parodontitis assoziierter Bakterien als Leitkeime stellten Page und Schroeder 1982 eine Aufteilung der Parodontitiden in Gruppen vor. Die Unterteilung erfolgte nach Alter der Patienten, Progressionsrate des parodontalen Gewebeerlustes und Zusammensetzung der pathogenen Mikroflora. In Kulturen subgingivaler Plaque-Mikroorganismen konnte nachgewiesen werden, dass in gesunden Sulki zu 85 % grampositive Keime vorherrschen, wobei vor allem Streptokokken und Aktinomyzeten zu finden waren. In entzündlich veränderten Taschen waren 50% der Keime obligat anaerob. Ein Viertel aller Keime waren gramnegative anaerobe Stäbchen (*Slots 1976, 1977; Slots et al., 1978*). Bei fortgeschrittener Parodontitis besteht die kultivierbare Plaqueflora zu 75% aus gramnegativen Stäbchen, wobei *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* und *Fusobacterium nucleatum* das Bild prägen.

Während einer Untersuchung von Listgarden und Levin 1981 nahmen Spirochäten und bewegliche Stäbchen schon Monate vor der klinischen Progression der Parodontitis anteilmässig deutlich zu. Hierdurch gewann die Mikrobiologie an Bedeutung für die Diagnostik und Therapie der Parodontitiserkrankungen. Einige parodontopathogene Keime

sind mit bestimmten Formen der Parodontitis vergesellschaftet (Listgarden, 1994). Aus den Studien von Listgarden geht hervor, dass die meisten parodontopathogenen Keime anaerob und gramnegativ sind. Ist deren Vorkommen assoziiert mit einer bestimmten Erkrankung des Parodontiums, kann ein Keim als Leitkeim dieser Erkrankung bezeichnet werden. Als parodontopathogen bezeichnete man 1996 eine Spezies, wenn sie in hohen Zahlen oder Anteilen in Taschen mit progredientem Knochenabbau vorkamen, jedoch nicht oder nur in geringen Zahlen im gesunden Sulkus. Eine Eliminierung dieser Spezies oder Modulation ihrer Virulenzfaktoren führt zu einer Verbesserung der klinischen Situation. Dazu mussten die exprimierten Virulenzfaktoren in Zusammenhang mit der Parodontitis stehen (Consensus Report: Periodontal diseases, 1996).

Jervøe-Strom und Kruppenbacher veröffentlichten im Jahr 2000 eine tabellarische Übersicht repräsentativer Spezies des gesunden und erkrankten Parodontiums nach Listgarden (Tab.2). Je nach Zeitpunkt der Besiedelung fassten Sokrasky et al. 1998 die parodontopathogenen Keime in sechs Gruppen zusammen (Abb. 1). Diese sind clusterbildend und in ihrer Vergesellschaftung spezifisch. Zu den frühen Besiedlern zählen hiernach die Actinomyceten, die Streptokokken des gelben Komplexes und der lila Komplex (*Actinomyces odontolyticus* und *Veillonella parvula*). Der für die Parodontitiserkrankungen wichtige rote Komplex umfasst die zu den Spätbesiedlern zählenden *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticola*. Sie kommen topographisch gemeinsam vor und sind durch die Bildung einer Vielzahl von Proteasen während des parodontalen Gewebsuntergangs eng verbunden (Holt und Ebersole, 2005). Im orangenen Komplex sind Brückenspezies zusammengefasst und ein grüner Komplex (*Capnocytophaga gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*) hat wenig Assoziation zu den anderen Arten.

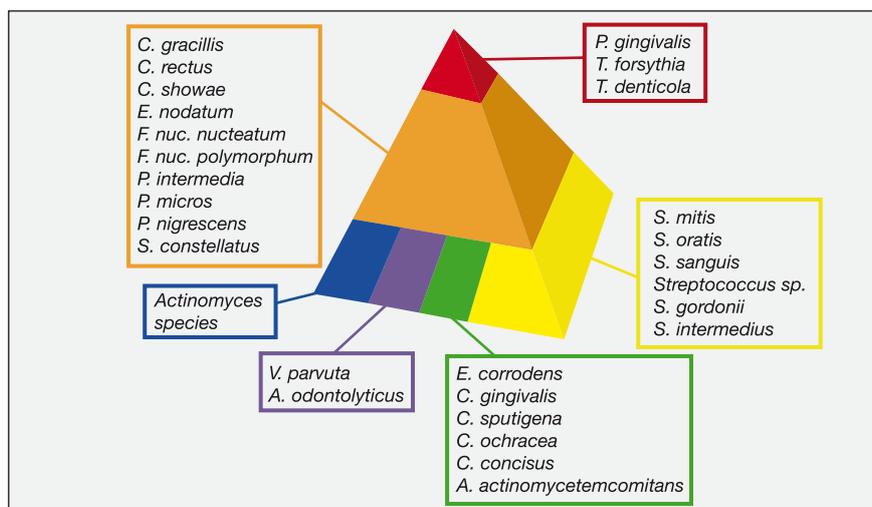


Abb. 1: Bakterielle Komplexe der subgingivalen Plaque (aus Paro Check® der Fa. Greiner Bio-One, adaptiert nach Sokrasky und Haffajee, 2000).

Weitere Arten wirken unterstützend auf den Krankheitsverlauf ein (*Prevotella intermedia*). Hinzu können sich noch Superinfektionserreger vergesellschaften (Enterobakterien, Pseudomonaden oder Sprosspilze). Bei Parodontitiden der Kategorien I und II konnten *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa.), *Porphyromonas gingivalis* (Pg.) und *Tannerella forsythensis* (Tf.) als Leitkeime identifiziert werden (*Genko, 1996*). *Prevotella intermedia* (Pi.) korreliert mit der Kategorie V und der refraktären Parodontitis (*Moore et al., 1985*). Grundsätzlich ist bei Parodontalerkrankungen die Anzahl von Spirochäten erhöht. Insbesondere *Treponema denticola* (Td.) gilt hier als Leitkeim. Es ist jedoch umstritten, ob sie ursächlich oder in Folge der Erkrankung vermehrt sind (*Marsh und Martin, 2003*).

Repräsentative Spezies der Mikroorganismen bei gesundem und erkranktem Parodontium (nach Listgarten)	
Gesundes Parodont Streptococcus sanguis Streptococcus mitis Veillonella parvula Actinomyces naeslundii Actinomyces viscosus Rothia dentocariosa	Parodontitis (RPP-Form) Aggregatibacter actinomycetemcomitans Porphyromonas gingivalis Bacteroides forsythus Campylobacter rectus Eikenella corrodens
Gingivitis Actinomyces Spezies Streptococcus Spezies Veillonella Spezies Fusobacterium Spezies Treponema Spezies Prevotella intermedia	Parodontitis (LJP-Form) Aggregatibacter actinomycetemcomitans Andere Spezies ?
Refraktäre Parodontitis Aggregatibacter actinomycetemcomitans Porphyromonas gingivalis Prevotella intermedia Bacteroides forsythus Campylobacter rectus Peptostreptococcus micros Stäbchen aus dem Magen-Darm-Trakt Candida Spezies	Parodontitis (AP-Form) Treponema Spezies Prevotella intermedia Porphyromonas gingivalis Bacteroides forsythus Peptostreptococcus micros Campylobacter rectus Aggregatibacter actinomycetemcomitans Eikenella corrodens Fusobacterium Spezies Selenomonas Spezies Eubacterium Spezies

Tab. 2: Keimbeseidlung des Parodontium (*Storm und Kruppenbacher, 2000*).

A. actinomycetemcomitans, P. gingivalis, P. intermedia, B. forsythus, C. rectus, E. nodatum, P. micros, S. intermedius und Treponema Spezies werden als parodontale Markerkeime bezeichnet (*Lovegrove, 2004*). Man einigte sich bei der mikrobiellen Testung auf eine reduzierte Anzahl von fünf Leitkeimen, die heute als die wichtigsten Markerkeime angesehen werden.

1.2.6 Markerkeime

Aggregatibacter actinomycetemcomitans (Aa.) früher: Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis (Pg.), Tannerella forsythensis (Tf.) früher: Bacteroides forsythus (Bf.), Treponema denticola (Td.) und Prevotella intermedia (Pi.) werden als Markerkeime bezeichnet.

In mehreren Studien zur chronischen Parodontitis wurden diese fünf Leitkeime in unterschiedlich hoher Anzahl nachgewiesen (*Cugini et al., 2000; Darby et al., 2001; Fuhrmann et al., 2003; Socransky et al., 1998,2000*).

Aggregatibacter actinomycetemcomitans (Aa.) gehört zur Gattung Actinobacillus und zur Familie Pasteurellaceae. Er wird bei der aggressiven Parodontitis als Schlüsselkeim betrachtet (*Van Winkelhoff et al., 1991*). Aa. ist ein fakultativer Anaerobier. Er ist ein gramnegatives Stäbchen, mikroaerophil (benötigt deutlich geringere O²-Konzentration als in der Luft, ca. 5 %) und kapnophil (CO²-Konzentration zwischen 5-10%). Der Keim verfügt über eine Anzahl von Virulenzfaktoren, hierunter ein wirkungsvolles Leukotoxin, Kollagenase und immunsupprimierende Faktoren sowie Proteasen, die Immunglobulin G (IgG) spalten können.

Seine Hülle enthält Lipopolysaccharide (LPS). Sein Leukotoxin ist toxisch für polymorphkernige Granulozyten und Monozyten und er produziert proteolytische Enzyme (Kollagenasen, Hyaluronidasen, Chondroitinsulfatasen) zur Bindegewebestrukturdestruktion und sorgt durch seine osteoklastenaktivierende Wirkung für vermehrten Knochenabbau im parodontalen Gewebe (*Socransky und Haffajee, 1999; Müller, 2001*).

Porphyromonas gingivalis (Pg.) gehört zur schwarzpigmentierten Bacteroides-Gruppe und ist ein kurzes unbewegliches, gramnegatives, anaerobes Stäbchen. Zu seinen Virulenzfaktoren zählen unter anderem Kollagenasen, Endotoxin, Fibrinolytin und Phospholipase A. Seine Adhärenz zum Gewebe und zu anderen Bakterien (Koaggregation) ist ausgeprägt. Infektionen mit Porphyromonas gingivalis in der Mundhöhle sind mit verstärktem Knochenabbau verbunden (*Chaves et al., 2000*).

Prevotella intermedia (Pi.) ist ebenfalls ein gramnegatives anaerobes Stäbchen und ähnelt auch sonst in Bezug auf seine Virulenzfaktoren P. Gingivalis (Pg.). Eine Assoziation zur akuten nekrotisierenden ulzerierenden Gingivitis (NUG) und zu refraktären Formen der Parodontitis konnten nachgewiesen werden (*Loesche et al., 1982; Moore et al., 1985*).

Tannerella forsythensis (Tf.) ist ein gramnegatives, vielgestaltiges, häufig spindelförmiges Stäbchen. Tannerella forsythensis ist obligat anaerob. Wegen seiner hohen Proteaseaktivität zählt er ebenfalls zu den Markerkeimen. Seine Produktion an flüchtigen Monocarbonsäuren (Propion- und Buttersäure) sorgt bei Befall für Foetor ex ore. Er ist bei refraktärer Parodontitis der am häufigsten anzutreffende Keim (*Listgarten et al., 1993*) und

findet sich verstärkt an Stellen, die nach Parodontalbehandlung Destruktion zeigten. An Stellen, die durch Heilung Reattachement aufweisen, ist seine Zahl nicht erhöht und er findet sich in grosser Anzahl eher bei Parodontitiden als bei Gingivitiden oder Gesunden (*Lai et al., 1987*).

Treponema denticola (Td.) ist ein zur Gruppe der Spirochäten gehöriges bewegliches, obligat anaerobes Bakterium. Im Bezug auf die Parodontitiden ist nicht restlos geklärt, ob er ursächlich beteiligt ist oder nur infolge der Erkrankung zunimmt (*Marsh und Martin, 2003*).

1.3 Diagnostische Verfahren der Parodontitiden

1.3.1 Klinische und radiologische Verfahren

Chronische Parodontitiden sind in der Regel langsam fortschreitende Erkrankungen, bei denen das Gewebe häufig schon vor der Diagnosestellung gravierenden Schaden genommen hat. Klinische Parameter der Entzündung sind Indizes wie API (approximaler Plaqueindex), BOP (Blutung nach Sondierung), PD (Sondierungstiefe), CAL (Klinischer Attachmentverlust). Diese Werte werden visuell nach Einfärbung oder mittels Parodontalsonden erhoben. Der API ist für die Vorhersagbarkeit einer Progression der Parodontitis nicht aussagekräftig (*Haffajee et al., 1983; Kaldahl et al., 1990*). Es gibt eine lineare Korrelation zwischen PD und BOP, sowie zwischen BOP und der Menge subgingivaler Ablagerungen (*Checchi et al., 2009*). Auch Chaves et al. fanden 1993 eine positive Korrelation zwischen PD und BOP.

Die Wahl einer druckgeeichten oder kontrollierten Sonde (Florida Sonde oder TPS Sonde) führt zu weniger falsch positiven Befunden (*Newburn, 1996*). Generell variieren die Messergebnisse manueller Sonden im Vergleich zu elektronischen oder computergesteuerten elektronischen Sonden am wenigsten bei Wiederholungsmessungen (*Mayfield et al., 1996*). Der Unterschied in den Messergebnissen bei parodontal erkrankten unbehandelten Patienten ist jedoch nur gering (*Silva-Boghossian et al., 2008; Niederman, 2009*).

Die radiologische Beurteilung und Messung der marginalen Knochenhöhe erfolgt durch Erstellen eines Orthopantomogramms oder eines Röntgenstatus aus in der Regel 8 Zahnfilmen. Für eine Evaluation der Röntgenbilder in Bezug auf quantitative Aussagen wurde meist eine individuelle Halterung für die Röntgenfilme erstellt. Durch mehrere Behandler, welche zur Untersuchungsgruppe einfach oder doppelt geblendet wurden, ratifizierte man die Angaben zum Knochenabbau (*Da Silva, 2008*). Neuere digitale Techniken und Methoden wie die Subtraktionsradiographie erlauben exaktere, reproduzierbare und quantitative Aussagen über den Zustand des parodontalen Knocheniveaus (*Okano et al., 1990*).

CAL und Röntgenaufnahmen geben den momentanen Stand des Gewebeverlustes wieder. Aussagen über die aktuelle Aktivität der parodontalen Läsion und den Entzündungszustand lassen sich aus ihnen nicht ableiten. Positive BOP-Befunde lassen auf ein 30% Risiko für weitere Attachmentverluste schliessen. Einzelne positive BOP sind bezogen auf den Fortschritt der Erkrankung wenig sensitiv, während das negative BOP als hoch spezifisch für eine fehlende parodontale Erkrankung angesehen werden kann (*Lang et al., 1986*). PD kann eine Veränderung des klinischen Attachements vorhersagen (*Adonogianaki et al., 1996; Claffey und Egelberg, 1995; Mc Guire, 1991; Nieminen, 1997*).

1.3.2 Mikrobiologische Diagnostik

Die mikrobielle Diagnostik spielt für die Therapieplanung eine wichtige Rolle. Nach der wissenschaftlichen Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie (DGP) und der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten (DGZMK) ist sie indiziert bei Patienten mit aggressiver, schwerer chronischer oder refraktärer Parodontitis und bei systemischen, das Immunsystem beeinflussenden Erkrankungen, begleitet von mittelschweren bis schweren Parodontitiden (*Beikler und Flemming, 2005*). Da die mikrobielle Diagnostik in der Regel zur Durchführung einer Antibiotikatherapie dient, ist die einzelne Tasche hier nicht von Interesse. Die Poolung der Proben verschiedener Entnahmestellen ist sinnvoll (*Eick und Pfister, 2009*). Bei der routinemässigen Diagnostik spielen die klassischen Verfahren Mikroskopie und Kultur keine Rolle mehr.

1.3.2.1 Mikroskopie

Da die Plaquebesiedelung und die Anzahl der im Sulkus vergesellschafteten Mikroorganismen für die Entstehung parodontaler Erkrankungen eine Rolle spielt, ist es hauptsächlich deren Artenzusammensetzung, die für den Beginn und die Progression der Parodontalerkrankungen verantwortlich ist (*Socranski und Haffajee, 1992*).

Mikroskopische Methoden der Plaqueanalyse sind die Dunkelfeldmikroskopie oder die Phasenkontrastmikroskopie. Diese beschränken sich jedoch auf den qualitativen Nachweis morphologischer Merkmale (*Flores-de-Jacoby et al., 1996*). Artdifferenzierungen sind meist nicht möglich.

1.3.2.2 Kulturelle Nachweismethoden

„Goldener“ Standard ist nach wie vor der Nachweis der Mikroorganismen über Kulturmedien (*Zambon et al., 1996*). Dies entspricht auch dem zweiten Koch-Henle-Postulat für den exakten Beweis einer kausalen Verknüpfung zwischen Krankheit und Erreger. Der Transport von der Entnahmestelle zum Labor sollte schnell in einem geeigneten Transportmedium erfolgen (*Dahlen et al., 1993; Syed und Loesche, 1972*). Verschiedene Kulturmedien gestatten selektives Wachstum von Erregern und deren Testung auf Resistenzen oder antibiotische Selektivität (*Zambon et al., 1996*). Über die Faktoren pH-Wert, Temperatur und Sauerstoffgehalt schafft man individuelle Wachstumsbedingungen (*Hof und Dörries, 2002*). Diese Faktoren unterliegen besonderen Sorgfaltskriterien bei der Probenentnahme und Verarbeitung (*Göbel et al., 1992; Marsh et al., 2003*). Nach Anzucht und nachfolgender Isolierung kann mit Hilfe von Gramfärbungen, einem Nachweis der Indolproduktion oder der Katalasefähigkeit (*Hahn et al., 1999*), eine genaue Zuordnung der Bakterienart erfolgen. Nachteilig sind häufig Kostenfaktoren, Zeitaufwand und die manchmal in nur sehr geringen Mengen vorhandenen und nur schwer kultivierbaren Keime vieler Erkrankungen (*Marsh et al., 2003; Zambon et al., 1996*). Kulturverfahren sind heute noch indiziert, wenn molekularbiologisch kein eindeutiger parodontopathogener Erreger identifiziert werden kann und wenn bei wiederholtem identischen Erregernachweis bei therapierefraktären Fällen eine Resistenzanalyse erfolgen soll (*Eick und Pfister, 2009*).

Durch die Unfähigkeit mancher Kulturmedien, zwischen nahe verwandten Spezies zu unterscheiden, und der generell schwierigen Anzucht einiger anaerober Arten ist der Vergleich mit PCR für Aa. und Pg. sehr übereinstimmend, für Tf., Fn. und Pi. ausreichend bis schlecht (*Jervøe-Storm et al., 2005*).

1.3.2.3 PCR

Da sich alle Organismen aufgrund ihrer DNS- bzw. RNS-Sequenzen voneinander unterscheiden, basieren molekularbiologische Nachweisverfahren auf der Kenntnis bakterienspezifischer Nukleotidsequenzen. Am 12. Juni 2001 gab das National Institute of Health in Bethesda im Bundesstaat Maryland in den USA die vollständige Sequenzierung des Genoms von *Porphyromonas gingivalis* bekannt. DNS hat darüber hinaus den Vorteil, unabhängig von der Vermehrungs-, und Kulturfähigkeit des Organismus zu sein und reagiert relativ unempfindlich auf äußere Einflüsse (*Mikits et al., 1999*). Sensitivität und Spezifität sind extrem hoch. Die PCR misst jedoch nicht ausschließlich die DNS leben-

der Bakterien. Auch persistierende Bruchstücke bereits durch die Therapie abgetöteter Bakterien werden registriert und können kurz nach der Therapie zur Falschinterpretation der Messergebnisse führen.

Die PCR stellt ein Verfahren zur gezielten Vermehrung von DNS mit Hilfe von synthetischen Startermolekülen (Primer) und dem Enzym DNS-Polymerase dar. Bei klassischen molekularbiologischen Methoden werden die Mengen der nachgewiesenen parodontopathogenen Bakterien üblicherweise semiquantitativ angegeben. Bei der Endpunkt-Amplifikation stehen die Mengen amplifizierter DNS in gewisser Relation zur Ausgangsmenge. Aus der Intensität der Signale bei Sondenhybridisierungen lässt sich auf die Menge hybridisierter DNS schließen, da sich nach Aufspaltung der Doppelhelix entweder ein passendes radioaktiv markiertes (*Nonnenmacher, 2003*) oder nicht radioaktiv markiertes (*Conrads et al., 1992*) Gegenstück aus einer Sammlung an Referenzstämmen der parodontitisassoziierten Keime anlagert. Der Erregernachweis erfolgt entweder über eine Messung der Radioaktivität oder über eine Enzymreaktion.

Die statistische Korrelation wird durch den Vergleich mit quantitativen Kulturergebnissen ermittelt. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, dass mit DNS-Nachweistechiken auch abgestorbene Bakterienzellen mit detektiert werden. Im Vergleich zur konventionellen Bakterienkultur ist die PCR als mikrobiologisches Analyseverfahren gleichwertig und in besonderen Fällen sogar sensitiver. Die DNS-Nachweise und Sondentests werden grundsätzlich als einfach und zuverlässig bewertet (*Schmidt et al., 2000*).

Moderne Amplifikationsmethoden, wie die real time qPCR, gestatten zwar eine Quantifizierung durch Fluoreszenzmethoden, jedoch bleiben biologisch bedingte Unschärfen durch die Probengewinnung, -vorbereitung und -bearbeitung. Dies ist insbesondere beim Vergleich von Untersuchungsergebnissen eines Patienten zu berücksichtigen: Abweichungen um eine Zehnerpotenz-Stufe stellen daher noch keine quantitative Dynamik dar (*Bauermeister, Facharzt für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie, Mikrobiologisches Labor Dr. Bauermeister und Co., Moers, persönliche Erläuterungen*). In diesem Zusammenhang ist auf die Nachweisgrenzen der molekularbiologischen Methoden hinzuweisen. Bei den derzeit kommerziell angebotenen Analyseverfahren bedeutet ein „negatives“ Ergebnis nur, dass der betreffende Keim unterhalb der Nachweisgrenze von ca. 10^3 bis 10^4 Keimen liegt, nicht jedoch dessen völlige Abwesenheit. Um diese Nachweisgrenze richtig zu beurteilen, muss man bedenken, dass sich die Quantität auf ein untersuchtes Probenvolumen von ca. 10 µl pro Papierspitze und Tasche bezieht. Eine allgemeine infektiologische Faustregel geht davon aus, dass bei opportunistischen Infektionen eine Keimzahl am Entzündungsherd ab etwa 10^5 bis 10^6 / ml als signifikant anzusehen ist. Bezogen auf Sulkusfluid entspricht eine Bakterienquantität von 10^4 in einer Probe (Papierspitze) also ebenfalls 10^6 pro ml.

Das semiquantitative Ergebnis wird von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst, unter denen die Probenentnahme, insbesondere die Verweildauer der Papierspitzen in der Zahnfleischtasche, die Zahl der im gleichen Ansatz als Pool untersuchten Proben, die Aufbereitungs- und Kultivierungsbedingungen bzw. die DNS-Extraktion sowie die Amplifikations- und Detektionsbedingungen entscheidenden Einfluss haben. Trotz dieser auf den ersten Blick verwirrenden Randbedingungen kommt es nur zu geringen Abweichungen der Ergebnisse bei Wiederholungsuntersuchungen oder Kontrollen derselben Patienten. Studien belegen die Überlegenheit der Gen-Sonden gegenüber der Bakterienkultur für *Porphyromonas gingivalis* (Tsai et al., 2003). Man fordert bereits, dass die mikrobiologische Kultivierung als Goldstandard von der Testung auf Nukleinsäuren mittels Gensonden abgelöst werden soll (Eick und Pfister, 2002). Auch der gleichzeitige Nachweis mehrerer parodontopathologischer Keime ist mit Multiplex-PCR möglich (Garcia et al., 1998). Moderne molekularbiologische Nachweisverfahren, die unter dem Begriff Mikroarrays zusammengefasst werden, ermöglichen die gleichzeitige Identifikation von 20 bis mehreren tausend Einzelnachweisen aus kleinsten Probenmengen auf engstem Raum.

1.3.3 Enzymdiagnostik

Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest (EIA) bzw. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) bezeichnet ein immunologisches Nachweisverfahren (Immunoassay), das im Gegensatz zum Radioimmunoassay (RIA) nicht auf Radioaktivitätsmessung, sondern auf der Messung einer enzymatischen Farbreaktion (IFA) basiert.

Das ELISA Verfahren ist das am besten dokumentierte und am häufigsten angewandte Untersuchungsverfahren. Man kann es sehr genau auf die jeweilige Fragestellung ausrichten. Mit ELISA lassen sich Proteine, Hormone, Antikörper, Tumormarker, Viren und Pharmaka im Serum oder in der Sulkusflüssigkeit (GCF) feststellen.

ELISA und IFA sind die auf der Welt am meisten genutzten serologischen Testmethoden, da sie hochspezifisch und hochsensitiv, schnell und preiswert sind (Ferner et al., 1987; Goto et al., 2009; Takahashi et al., 1986; Takimoto et al., 2008). Bei den häufig verwendeten Screeningtests verwendet man Mikrotiterplatten im so genannten 96-Well-Format. Dabei handelt es sich um Kunststoffplatten, die mit je zwölf Kavitäten in acht Reihen eine Anzahl von 96 Kavitäten (Vertiefungen, Wells) zur Aufnahme eines bestimmten Probenvolumens enthalten.

1.4 Sulkusflüssigkeit (GCF)

Auf der Suche nach neuen sensitiven Markern der destruktiven Parodontitis und dem Bemühen um objektive Parameter haben sich viele Studien mit der Untersuchung von Speichel, Blut und Plaque sowie des GCF befasst. GCF enthält Bestandteile aus allen am Prozess der Parodontitis beteiligten Geweben. Damit ist GCF die am besten geeignete Quelle zur Gewinnung von Markern der Aktivität einer Parodontitis (*Fine und Mandell, 1986; Curtis et al., 1986*). Schon früh hatte man die GCF als Ausdruck einer Entzündung erkannt (*Brill und Krasse, 1958*). Während im gesunden Parodontium keine GCF-Flussrate messbar ist, erzeugen Ablagerungen und Plaque eine Zunahme der GCF (*Bickel et al., 1985*). Dies ist in seinen Anfängen ein Transsudat und weist mit fortschreitender Entzündung Merkmale eines Exsudates auf (*Bickel et al., 1986*). Im GCF befinden sich neben interzellulärer Flüssigkeit noch Bakterien und deren Stoffwechselprodukte (*Caton, 1989*). Die Entnahme sollte so atraumatisch wie möglich erfolgen, um eine Verdünnung mit Plasma nach Mikroverletzungen zu vermeiden (*Lamster, 1985*).

1.4.1 Potentielle Marker des GCF

Inhaltsstoffe des GCF sind zum einen Exotoxine, deren bekanntestes das Leukotoxin des *A. actinomycetemcomitans* (*Slot und Listgarden, 1988*) ist, und welches zusammen mit sog. Epithelotoxinen für *P. gingivalis*, *B. intermedius* und *A. actinomycetemcomitans* nachgewiesen werden konnte (*Slots und Genco, 1984; Tanner et al., 1979*).

Endotoxine wie Lipopolysaccharide (LPS) als Bestandteile der Bakterienmembran gramnegativer Bakterien fallen ständig bei der Lyse von Bakterien, Fresszellen und Lysosomen an. Sie sind selbst in picomolaren bis nanomolaren Konzentrationen extrem zytotoxisch (*Ulevitch et al., 1994*). Lange Zeit galten sie als Hauptverursacher der parodontalen Erkrankung (*Rizzo und Mergenhagen, 1961*). Die LPS verhindern die bindegewebige Verwachsung und somit die Bildung einer „attached gingiva“ (*Aleo et al., 1974, 1975*). Sie wirken auf parodontale Zellen unterschiedlich stark toxisch. LPS von *P. gingivalis* ist ca. 10-fach toxischer als das von *A. actinomycetemcomitans* (*Iino und Hopps, 1984*).

Bakterienenzyme und Stoffwechselprodukte befinden sich ebenfalls in dem GCF. Hyaluronidase, Glycosidase und Neuramidase sind die typischen Vertreter bakterieller Proteinasen im Sulkusfluid (*Nakamura und Slots, 1982*). Kurzkettenige Monocarbonsäuren (Propionsäure und Buttersäure) konnten ausschliesslich in den erkrankten Taschen und nicht den gesunden Taschen an juveniler Parodontitis erkrankter Patienten nachgewiesen werden (*Carlton et al., 1979*). Deren Konzentration korreliert mit dem Grad der parodontalen

Erkrankung (*Botta et al., 1985*). Dazu kommen sämtliche Bestandteile des zerstörten parodontalen Gewebes, wie Kollagen, Proteoglykane, Chondroitin-4-Sulfat oder Laminin. Als sehr interessant erwiesen sich die Teile des Immunsystems des Wirtes, welche ebenfalls im Sulkusfluid nachgewiesen werden konnten. An erster Stelle sind die Immunglobuline zu nennen (IgA, IgG und IgM). Der Sulkus stellt die grösste Quelle für Immunglobuline in der Mundhöhle dar. Die Sulkuskonzentrationen entsprechen denen des Serums (*Holmberg und Killander, 1971*).

Interleukine wurden erstmals durch Charon et al. 1982 in dem GCF nachgewiesen. Nach Durchführung einer Parodontalbehandlung sinkt der Spiegel der Interleukine in dem GCF (*Masada et al., 1990*). Von besonderem Interesse ist auch das aus mehreren miteinander reagierenden Plasmaproteinen bestehende Komplementsystem. Es dient der Opsonierung von Fremdkörpern und Bakterien und kann vielfältig aktiviert werden.

Im Rahmen der Entstehung von Parodontalerkrankungen ist der alternative Aktivierungsweg direkt über die Oberfläche der Bakterienzelle bedeutsam. Er führt über aktivierte Komplementfaktoren (Anaphylatoxine) mit Histaminausschüttung aus Mastzellen zu einer übersteigerten Entzündungsreaktion. Aktiviertes Komplement ist chemotaktisch hochpotent für Granulozyten und Monozyten. Es wird hierdurch zur Produktion toxischer Sauerstoffmetabolite und lysosomaler Enzyme angeregt (*Neumann und Lang, 1989*). Die Aktivierung der kompletten Kaskade des Komplementsystems wurde im Sulkus für parodontopathogene Bakterien beispielhaft nachgewiesen (*Sundquist et al., 1985, 1988*). Eine Parodontalbehandlung führt nach wenigen Wochen zu signifikant geringeren Werten an Komplementfaktoren (C3 und C3c). Umgekehrt lassen sich diese Parameter durch Herbeiführen einer Gingivitis erhöhen (*Patters et al., 1989*).

Prostaglandin ist ein weiterer Botenstoff, der nachgewiesen werden konnte. Er ist für die erhöhte Gefäßpermeabilität und Aktivierung von Entzündungszellen im parodontal erkrankten Sulkus verantwortlich. Besonders Prostaglandin E₂ (PGE₂) zeigt sich verantwortlich für Kollagen- und Knochenabbau im parodontalen Gewebe. Erhöhte Gewebespiegel bestehen bei Gingivitis und besonders bei Parodontitis. Sie sind bei akutem Parodontitis verglichen mit chronischen Verlaufsformen um ein Vielfaches höher (*Offenbacher et al., 1981, 1984*). Im parodontalen Krankheitsgeschehen aktiviert der menschliche Organismus seine zelluläre und humorale Abwehr. Neutrophile Granulozyten sind mit einem Anteil von bis zu 97 Prozent der Leukozyten die bedeutendsten Zellen akuter Entzündungsprozesse (*Attström, 1970*). Ihre Anzahl steigt proportional zum Entzündungsgrad an (*Turre et al., 1984*). Bei Gingivitis ist sie um den Faktor 3 und bei Parodontitis sogar um den Faktor 5 erhöht.

Sowohl die Granulozyten, als auch Sulkusepithelzellen (Keratinocyten), Fibroblasten und Makrophagen produzieren Proteinase. Dies geschieht auf Anregung durch Zytokine

(Interleukine und Tumor-Nekrose-Faktor α und β), durch die Wachstumsfaktoren PDGF (platelet-derived-growth-factor), EGF (epidermal-growth-factor), TGF (transforming-growth-factor) und NGF (Nerve-growth-factor) sowie durch PGE (Prostaglandine spez. PGE_2) und LPS (Lipopolysaccharide). Sie führen in den Zellen zur Proteinaseexpression (*Birkedal-Hansen, 1994; Uitto et al., 1990*). Extrazellulär liegen sie entweder als inaktive Vorstufe oder als Komplex mit Inhibitor vor. Die Kollagenaseaktivität des GCF korreliert mit der Schwere der Taschenentzündung, dem Gingivaindex (GI) und stärker noch mit der Taschentiefe (TT) (*Kowashi et al., 1979; Golub et al., 1976*). In entzündeten Gingivaproben liegt die aktive Form der Kollagenase vermehrt vor, während in gesunden Gingivaproben die passive Form dominiert (*Overall et al., 1987*). Es ist unbestritten, dass Matrix-Metalloproteinase-8 (MMP-8) die für parodontopathologische Prozesse wichtigste, im Sulkusfluid erfassbare Matrix-Metalloproteinase darstellt (*Birkedal-Hansen et al., 1998; Sorsa et al., 2006*). MMP-8 wird auch als Kollagenase-2, PMNL-CL, HNC oder Neutrophil-Kollagenase bezeichnet. In Fällen chronischer Parodontitis ist MMP-8 die häufigste interstitielle Kollagenase (*Teronen et al., 1997*).

1.4.2 Interleukin Gentest

Der Entzündungsmediator Interleukin-1 ist ein Faktor für die Exprimierung von extrazellulären Matrixproteinasen. Somit scheint eine bekannte genetische Disposition (Gendefekt), ein sogenannter Polymorphismus, auf die Reaktionslage und die Entzündungsantwort im parodontalen Gewebe Einfluss zu nehmen. Der Interleukintest misst zwei verschiedene Gene (Genloci) und deren jeweils zwei Allele, die unter anderem für die Menge des ausgeschütteten IL-1 verantwortlich sind. Eine positiv getestete Person schüttet im Fall einer Parodontitis erhöhte Mengen an Interleukin aus.

Es existieren verschiedene kommerzielle Testkits zur Bestimmung genetischer Risikofaktoren für Parodontitis. In einer Studie zu diesen Testkits liegt ein erhöhtes Risiko für eine aggressive Parodontitis mit ausgeprägtem Knochenabbau vor (*Kornman und Giovine, 1998*). Allel 2 auf Position -889 von IL-1- α war in Personen mit schwerer Parodontitis zu fast 70 % positiv. Die Träger wiesen 4-fach höhere IL-1- α Proteinwerte auf (*Shirodaria et al., 2000*). Während Diabetespatienten nicht häufiger positiv auf Polymorphismus IL-1 α -889, IL-1 β +3954, und IL-1 β -511 getestet wurden als der Bevölkerungsdurchschnitt, gab es einen signifikanten Zusammenhang mit Parodontitiserkrankungen (*Lopez et al., 2009*). Andere Studienergebnisse belegen ein erhöhtes Risiko für Parodontalerkrankung nur im Zusammenhang mit Nikotinabusus (*Meisel et al., 2002*). Eine Längsschnittstudie von Cullinan et al. aus 2001 legt nahe, Polymorphismen des Interleukin-1 Gens nicht als

wesentlichen Faktor für die Progredienz einer Parodontitis zu betrachten. Zu einem gleichen Ergebnis kommen Huynh-Ba et al. im Jahr 2007 in einem „systematic review“, die nur ungenügende Beweise für einen Zusammenhang zwischen positivem Interleukin-1 Genotyp und dem Verlauf oder Erfolg der Parodontitisbehandlung sehen.

Als Hintergrundfaktor bei der parodontologischen Behandlung, verstärkt bei Periimplantitis und Implantatbehandlung in Verbindung mit Nikotinabusus, ist ein kommerzieller Interleukin-Genetest allenfalls aus forensischen Gesichtspunkten sinnvoll (*Sellmann, 2007*).

1.5 Matrix-Metalloproteinasen (MMP)

1.5.1 MMPs und TIMPs

MMPs sind eine Familie von zinkhaltigen Endopeptidasen. Die bis zu diesem Zeitpunkt bekannten 28 MMPs werden unterschieden in Kollagenasen, Gelatinasen, Stromelysine, Matrilysine, membranständige MMPs und andere MMPs. Die Einteilung erfolgt auf Grund von funktionellen und strukturellen Merkmalen (*Visse und Nagase, 2003*). MMP sind in der Lage, fast alle Bestandteile der extrazellulären Matrix zu spalten (*Kähäri und Saarialho-Kere, 1999; Nagase und Woessner, 2009*). Sie spielen eine zentrale Rolle in wichtigen biologischen Prozessen wie der Embryogenese, der Angiogenese, Gewebe- und Organwachstum sowie Nervenentwicklung, Wund- und Frakturheilung (*Visse und Nagase, 2003*). Strukturell kann man MMPs unterteilen in Prodomäne, katalytische Domäne, Gelenkregion und carboxiterminale Hämpexindomäne. Weiter enthält eine aminoterminal Sequenz das bei Aktivierung abgespaltene Propeptid. Die katalytische Domäne enthält mehrere zweifach positiv geladene Metallionen, jeweils ein aktives und ein inaktives Zn^{2+} -Ion und mehrere Ca^{2+} -Ionen zur Stabilisierung (*Reynolds, 1996*). Für seine Enzymaktivität bindet das Propeptid kovalent mit dem Zn^{2+} -Ion. Die Hämpexindomäne am anderen Ende des Moleküls ist für die Substratbindung und Interaktion mit den Tissue Inhibiting Matrix Proteinase (TIMPs) zuständig (*Murphy und Knauper, 1997*). Matrix-Metalloproteinasen können in drei verschiedenen Zuständen vorkommen. Zum einen findet man sie in der latenten, nicht aktiven Proenzymform, aus der nach Abspaltung eines c-terminalen Peptides die aktive Form hervorgeht, zum anderen in einem Komplex zusammen mit ihrem jeweiligen Inhibitor (TIMP) als wiederum inaktive Form (*Nagase, 1997; Palossaari et al., 2003; Sorsa et al., 2004*). Auch werden MMPs nicht kontinuierlich exprimiert, sondern durch zytokine Wachstumsfaktoren und andere Faktoren von exogen gesteuert (*Ravanti und Kähäri, 2000*). Ihre Herstellung erfolgt in Form eines Proenzym in Leukozyten, Makrophagen, Monozyten, Fibroblasten, Keratinozyten oder auch Tumorzellen (*Bode et al., 1999*). Einmal in die extrazelluläre Matrix abgegeben erfolgt ihre Aktivierung durch

Gewebe- oder Plasmaproteinasen, aber auch opportunistisch durch bakterielle Proteinasen (*Ravanti und Kähäri, 2000*). In der Anfangsphase der Wundheilung sorgen MMPs für den Abbau devitalisierten Gewebes, Angiogenese, Kontraktion der Wundmatrix sowie die Migration von Fibroblasten und Keratinozyten ins Wundgebiet und letztendlich für die Remodellierung des neugebildeten Gewebes. Exakte Mechanismen der räumlichen und zeitlichen Koordination sorgen für einen geordneten ungestörten Wundheilungsvorgang (*Moses et al., 1996; Nwomeh et al., 1998; Soo et al., 2000; Young und Grinell, 1994*).

Normalerweise wird die MMP-Aktivität auf der Ebene der Transkription und Zymogenaktivierung gesteuert. Eine physiologische Hemmung findet statt durch ihre Proenzyme und die stärksten endogenen Regulatoren, die TIMPs (*Nagase und Woesner, 1999; Sternlicht und Werb, 2001*).

TIMPs werden ebenfalls von Fibroblasten, Keratinozyten und Endothelzellen, aber auch von Osteoblasten gebildet. In gleicher Weise verläuft ihre Expression über Zytokine und Wachstumsfaktoren. Sie können durch Hormone und Onkogene gesteuert werden (*Gomez et al., 1997; Ries und Petrides, 1995*). TIMP-1 und TIMP-2 spielen von den vier bekannten TIMPs die wichtigste Rolle. Trotz ihrer ähnlichen inhibitorischen Qualität unterscheiden sich alle TIMPs durch unterschiedliche Löslichkeit und Interaktion mit den Pro-MMPs sowie der unterschiedlichen Regulation ihrer Expression. Bei der Inhibition der MMPs durch TIMPs geschieht dies im Verhältnis 1:1 (*Apte et al., 1996; Gomez et al., 1997*). Für den geordneten Ablauf physiologischer Vorgänge spielt die Balance zwischen MMPs und TIMPs eine entscheidende Rolle (*Soo et al., 2000*). Eine Verschiebung dieses Gleichgewichts zu Gunsten der TIMPs beobachtet man bei verschiedenen fibroproliferativen Erkrankungen (Fibrosen) durch vermehrte Einlagerung von kollagenen Bestandteilen in die EZM (*Lichtinghagen et al., 2001; Ries und Petrides, 1995; Ulrich et al., 2003*). Bei einer Verschiebung zugunsten der MMP ist die Wundheilung verzögert und es kommt zur Ausbildung chronischer Wunden (*Ladwig et al., 2002; Trengrove et al., 1999; Yager und Nwomeh, 1999*).

Bei Patienten mit Dekubitusulkus und Ulcus cruris venosus fanden Nwomeh et al. 1999 signifikant gestiegene MMP-1 und MMP-8 Werte, während TIMP-1 fast nicht nachweisbar war.

1.5.2 MMP-8

Von den Matrixproteinasen ist MMP-8 (Kollagenase-2) der Hauptvermittler des Gewebeabbaus der meisten parodontalen Erkrankungen (*Sorsa et al., 1999*) und kommt sowohl bei Parodontitis als auch bei Gingivitis verstärkt vor (*Kinane, 2000; Kinane et al., 2003*). Seine Anwesenheit bei Parodontitis und Periimplantitis ist das wohl bekannteste Beispiel für eine ungewollte überschießende Gewebedestruktion durch aktivierte Matrixproteinasen. Die Menge der in GCF vorhandenen MMP-Konzentration geht mit dem Grad der Erkrankung konform. Eine erhöhte Kollagenaseaktivität findet sich sowohl in experimenteller Gingivitis als auch Parodontitis (*Sorsa et al., 2004*) und in Verbindung mit erhöhten Gelatinase-Werten (MMP-9) (*Sorsa et al., 1995*). Die MMP-8 hat ihren Ursprung in den Granula der polymorphkernigen Granulozyten, aus denen sie ausgeschieden werden (*Hanemaaijer et al., 1997*).

Um die für die parodontalen Abbauvorgänge verantwortlichen Matrixproteinasemengen herauszufinden ist es wichtig, nur ihre aktive Form zu messen. So sind erstmals 1997 monoklonale Antikörper (MAK) gegen die aktive Form der MMP-8 hergestellt worden (*Hanemaaijer et al., 1997; Sorsa et al., 2002*). Um eine aktive Form der Parodontitis anhand von MMP-8 Konzentration nachzuweisen ist es essentiell, aktive und inaktive Form unterscheiden zu können. In neueren Studien wird der Nachweis spezifiziert und die Antikörper (MAK 8708 und 8706 – Medix Biochemica) werden angegeben (*Said et al., 1999; Emingil et al., 2004*). Durch den alleinigen Nachweis des Gesamtmoleküls MMP-8 (MAK-Nachweis der Fa. R&D) ist die diagnostische Differenzierung zwischen gesundem Zahnfleisch und Parodontitis erschwert (*Ramseier et al., 2009*). Im Jahr 2009 konnten Sorsa et al. belegen, dass ohne eine derartige Differenzierung (MAK des Amersheim-MMP-8-Kit) eine Differenzierung zwischen gesund und erkrankt nicht möglich ist (*Sorsa et al., 2010*). Chen et al. ermittelten im Jahr 2000 eine hochsignifikante Abnahme der aktiven MMP-8 und MMP-9 Konzentrationen zwei Wochen nach SRP. Beide aktiven Enzymmengen korrelieren signifikant mit klinischen Parametern wie dem GI, dem PBI und teilweise mit der TT. Andere Studien bestätigen eine signifikante bis hochsignifikante Abnahme der aMMP-8 Konzentrationen nach SRP. Diese gehen ebenfalls mit analog abnehmenden BOP-Werten einher (*Kinane, 2003; Mäntylä, 2003*). Ein mehr als doppelt so hoher aMMP-8 Wert bei Parodontitis im Vergleich zu gesunden Individuen konnte in mehreren Studien festgestellt werden (*Ehlers et al., 2008; Prescher et al., 2007*). Der Wert bei Periimplantitis liegt nach Ehlers noch über dem der Parodontitis.

In der Periimplantitisdiagnostik wird die periimplantäre Sulkusflüssigkeit (PISF) auf kollagenolytische Aktivität untersucht. Hierbei wurde festgestellt, dass der vertikale Knochenverlust nicht signifikant mit dem GI, wohl aber signifikant mit der aMMP-8 Konzentration

einhergeht (Teronen et al., 1997; Ma et al., 2000; Xu et al., 2008). Bisphosphonat hemmt die MMP-8 Aktivität im PISF (Teronen et al., 1997).

Wenn Parodontitispatienten in kurzen Abständen über einen längeren Zeitraum auf kollagenolytische Aktivität hin kontrolliert werden, konnten Patienten mit stabilen Verhältnissen durch die Höhe der gemessenen aMMP-8-Werte klar von Patienten mit refraktärem Krankheitsverlauf unterschieden werden (Sorsa et al., 2010). Ein neuartiges "chair side" Testverfahren zur Messung aktivierter Matrix-Metalloproteinase-8 (aMMP-8) ist in der Lage, innerhalb von 18 Minuten Messergebnisse anzuzeigen, die mit IFMA, ELISA und der klinischen Situation eine gute Übereinstimmung zeigen (Munjal et al., 2007).

1.6 Konzepte der Parodontitistherapie

Die Deutsche Gesellschaft für Parodontologie empfiehlt in ihren Richtlinien für die Behandlung von marginalen Parodontopathien eine Vorgehensweise in fünf Schritten:

- 1) Initiale Parodontalbehandlung (Hygienephase)
- 2) Antibiotikatherapie (besondere Indikation)
- 3) Zwischenkontrolle (Reevaluation)
- 4) Korrektive chirurgische Phase (falls erforderlich)
- 5) Nachsorge (unterstützende Parodontitistherapie: UPT, Recall).

Als Goldstandard bei der Therapie entzündlicher Parodontalerkrankungen gilt nach wie vor die mechanische Entfernung der an Wurzeloberflächen anhaftenden mineralisierten Auflagerungen sowie eine unterstützende Gabe von Antiseptika bzw. Antibiotika (Lamster, 2001). Eine als „pharmakomechanische Infektionstherapie“ bezeichnete Vorgehensweise basiert auf einer lokal antibakteriellen und systemisch bis auf die zelluläre Ebene gewebsmodulierenden Gabe von Antibiotika in Kombination mit der instrumentell mechanischen Infektionskontrolle (Hellwege, 2003). Besondere indikationsabhängige Operationsverfahren können durch Deepithelisierung des Saumepithels und Entfernen des Granulationsgewebes die Regeneration des Parodontiums ergänzen und die restitutio ad integrum herbeiführen (Wennstroem et al., 2001).

1.6.1 Compliance

Im Rahmen einer Parodontitisbehandlung ist die Compliance des Patienten von besonderer Bedeutung. Compliance ist numerisch nicht klassifizierbar. Der „Grad, in dem das Verhalten eines Patienten in Bezug auf die Einnahme eines Medikaments, das Befolgen einer Diät oder die Veränderung des Lebensstils mit dem ärztlichen Rat korrespondiert“, findet sich 1982 als Definition in der Literatur (*Haynes et al., 1982*).

Die Compliance ist von vielen Einzelfaktoren abhängig, von denen in der Summe das Gelingen der Behandlung abhängt. Seit den 90er Jahren des vergangenen Jahrhunderts verfügt die Zahnmedizin über eine Vielzahl empirischer Daten zur Compliance. Bei den demographischen Faktoren scheinen Alter und Bildungsstand keinen Ausschlag zu geben (*Müssig et al., 2008; Novaes und Novaes, 1999*). Lediglich Demetriou et al. bescheinigten 1995 Frauen eine bessere Compliance. Bei den Patientenvariablen und psychosozialen Faktoren senkten Angst (*Rizzardo et al., 1991*), Depression und Rauchen (*Mendoza et al., 1991*), sowie negative Aggression und Stress (*Becker et al., 1988*) die Compliance. Förderlich waren hingegen ein positives Selbstbild und eine stabile Beziehung (*Becker et al., 1988*), die positive Einstellung von Eltern oder Familie zur Behandlung (*Müssig et al., 2008*) und Vertrauen in Arzt und Behandlung (*Borkowska et al., 1998; Glavind, 1986*) sowie Motiviertheit und Ernsthaftigkeit (*Kühner und Raetzke, 1998*). Eine gute Beziehung zwischen Zahnarzt und Patient sowie die Patientenzufriedenheit erwiesen sich immer als förderlich für die Compliance (*Nanda et al., 1992; Müssig et al., 2008*). Ein Behandlerwechsel und lange Anfahrtswege über 50 km (*Grutzka, 1996*) wirken sich ebenso negativ auf die Compliance aus wie hohe Behandlungskosten (*Crippen et al., 2003*) und eine lange Dauer der Behandlung (*Wilson et al., 1984; Novaes und Novaes, 1999; Mendoza et al., 1991; Demetriou et al., 1995*). Schwere der Erkrankung (*Mendoza et al., 1991*), Art der Behandlung (*Novaes und Novaes, 1999*) sowie Nachbehandlung und Recall (*Checchi et al., 1994*) hatten keinen Einfluss auf die Compliance.

1.6.2 Mechanische Verfahren

Die Behandlung der Wurzeloberflächen durch mechanische, instrumentelle und maschinelle Verfahren wird als Scaling und Root Planing (SRP) bezeichnet. Es wird vom World Workshop in Clinical Periodontics (1998) definiert als das Instrumentieren der Zahnkronen und Zahnwurzeln mit dem Ziel der Beseitigung von Plaque, Mineralisationen und Verfärbungen, sowie das anschließende invasive Entfernen des mit Bakterien und Toxinen durchsetzten Zements und Dentins bis ins Gesunde (*Adriaens et al., 1988*).

Neben Handinstrumenten (Scaler und Küretten) kommen zur maschinellen Grobreinigung Ultraschallgeräte und Vibrationsscaler mit veränderter Schwingungseigenschaft erfolgreich zum Einsatz (*Braun et al., 2006*). Des Weiteren setzt man zur Reinigung betroffener Zahnoberflächen Pulverstrahlgeräte und verschiedene Lasersysteme ein (*Schwarz et al., 2006*). Zur maschinellen Feinreinigung kommen unterstützend eine steigende Anzahl von rotierenden Systemen wie Root shape Diamanten sowie Perio Polisher und Perio Torr Instrumente zum Einsatz. Die erfolgreiche Behandlung der Parodontitis durch geschlossene Wurzelreinigung mittels SRP wurde in mehreren Langzeitstudien (Michigan Studie, Göteborg Studien) bestätigt. Das quadrantenweise Vorgehen bei der SRP ist hierbei mit der oft propagierten full-mouth SRP gleichzusetzen (*Apatzidou und Kinane, 2004; Jervøe-Storm et al., 2006*).

1.6.3 Antimikrobielle Verfahren

Zur Unterstützung der mechanischen Verfahren kommen antibakteriell wirkende Substanzen zum Einsatz. Sie können mit Hilfe von Zahnpasten, Spüllösungen, Gelen oder Lacken appliziert werden. Ziel ist die Eliminierung oder Reduzierung parodontal pathogener Keime aus der Mundhöhle mittels keimreduzierender Maßnahmen. Diese kommen vor, während und nach der systematischen Parodontalbehandlung zum Einsatz. Der Effekt und die Wirksamkeit eines jeden antimikrobiellen Agens sind immer abhängig von dessen Konzentration. Bei der lokalen Anwendung von Chemotherapeutika stehen besonders die kurze Verweildauer am Wirkort sowie die meist klinisch nicht ausreichende Dosis im Vordergrund (*Bonito et al., 2005*). Um auch subgingival effektiv wirken zu können, müssen Dosis, Wirkdauer und Wirkkonzentration der Chemotherapeutika im Sulkus hoch genug sein (*Goodson, 1989*), wobei insbesondere die komplexen anatomischen Charakteristiken der parodontalen Tasche und des Biofilms bedacht werden müssen (*Greenstein und Tonetti, 2000*).

Ziel aller Verfahren sollte die Reduktion bereits existierender Plaque, Hemmung der Plaqueneubildung, selektive Hemmung parodontopathogener Bakterien und Expressionshemmung virulenter Determinanten sein (*Marsh, 1992*). Die orale Mikroflora sollte bei Langzeitanwendung von antimikrobiellen Mundhygieneprodukten nicht in ihrer natürlichen Balance gestört werden. Auch darf die Anwendung nicht zu einer Besiedelung durch exogene oder opportunistische Keime führen oder zur Entwicklung mikrobieller Resistenzen beitragen (*Marsh, 1992*). Die antimikrobielle Substanz sollte nicht nur ausreichend vorhanden sein, sondern auch über eine oberflächenaktive Wirkung verfügen, um die Plaquebildung effektiv zu verzögern oder zu unterbinden (*Lang und Brex, 1986*).

Gängige Spüllösungen während der Initialtherapie oder des Recalls sind beispielsweise Chlorhexidindigluconat (0,1 %), H₂O₂ (3 %) und Kochsalzlösung (*Jervoe-Storm und Kruppenbacher, 2000*).

1.6.3.1 Chlorhexidindigluconat (CHX)

CHX gilt als der Goldstandard der antimikrobiellen oralen Therapeutika (*Grossman et al., 1989; Addy et al., 1991*). Eine Anwendung über einen längeren Zeitraum ist auf Grund von Nebenwirkungen nicht zu empfehlen (*Beighton et al., 1991*). Chlorhexidindigluconat hat eine hohe Substantivität, da es sowohl an Hart-, als auch an Weichgewebe bindet (*Bonnesvoll und Gjermo, 1978*). Durch seine Bindung an Glycoproteine des Speichels (*Rolla und Melsen, 1975*) behindert CHX die Adsorption von Proteinen an den Zahnoberflächen, welche für die Bildung des Pellikels benötigt werden und für die initiale Anheftung der Bakterien an der Zahnoberfläche von entscheidender Bedeutung sind. Neben den bekannten Nebenwirkungen bei der Langzeitanwendung wie Zungenbrennen, Geschmacksirritationen, vermehrter Zahnsteinbildung und Braunverfärbung von Schleimhaut und Zähnen berichtet eine jüngere Studie an Ratten über eine durch Chlorhexidindigluconat induzierte DNS-Schädigung peripherer Leukozyten und oraler Mukosazellen (*Ribeiro et al., 2004*). Die Suche nach einer gleichsam nebenwirkungsfreien und effektiven Substanz ist somit unerlässlich. Für einen zusätzlichen positiven Effekt durch CHX-Spülung während des mechanischen Debridements wurden keine Anhaltspunkte gefunden (*Hanes und Purvis, 2003*). CHX zur kontinuierlichen Desinfektion der Instrumente während SRP beugt einer Keimübertragung von Tasche zu Tasche vor und reduziert das Bakteriämierisiko (*Quirinen, 2001*).

1.6.3.2 Fluoridverbindungen

Fluoridverbindungen hemmen durch Störung des Glucosetransports in die Bakterienzellen deren Stoffwechsel und vermindern dadurch Säureproduktion und Ausscheidung von Metaboliten. Eine bakterizide Wirkung ist in therapeutischen Dosierungen nicht möglich. Fluoridverbindungen werden in zwei Gruppen geteilt. Erstere sind die organischen Ammoniumfluoride. Die andere Gruppe der anorganischen Verbindungen ist vielschichtig. Hauptvertreter sind Natriumfluorid (NaF), Zinnfluorid (SnF₂) und Zinkfluorid (ZnF₂). Aus parodontologischer Sicht überzeugte Zinnfluorid nach konzentrierter Anwendung über Wochen mit einer deutlichen Hemmwirkung auf die Plaquebildung (*Tinanoff et al., 1980*) und die

parodontale Keimflora (*Mazza et al., 1980*). Die Wirksamkeit der Substanz wird durch die Metallkomponente (Zn^{2+} , Sn^{2+} und Cu^{2+}) bestimmt (*Maltz und Emilson, 1982*). Die Verbindung aus Aminfluorid und Zinnfluorid hat einen besonderen parodontoprophylaktischen Nutzen (*Horwitz, 2000*).

1.6.3.3 Phenole

Phenole sind seit langem als Desinfektionsmittel bekannt. In der oralen Hygiene ist 2,4,4'-Trichloro-2'-hydroxydiphenyl oder 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol, auch bekannt als Triclosan, in Zahnpasten und Spüllösungen beigegeben. Die antibakterielle Wirkung ist jedoch erheblich geringer als die von CHX (*Ciancio, 1992*). Ein deutlich inhibitorischer Effekt konnte auf Bakterien im Speichel nachgewiesen werden (*Jenkins et al., 1990*) und führte zu einer beträchtlichen Reduktion der Bakterienzahl. Besonders bei gramnegativen Bakterien war dieser Effekt feststellbar (*Bradshaw et al., 1993*). Triclosan wirkt antiinflammatorisch und hemmt konzentrationsabhängig die IL-1 β -induzierte PGE₂-Produktion humaner Gingivafibroblasten. Auch vier Enzyme des Arachidonsäurestoffwechsels, die zur Produktion von Prostaglandinen und Leukotrienen führen, werden effektiv gehemmt (*Gaffar et al., 1995*). Triclosan steht aber im Verdacht, indirekt bakterielle Resistenzen zu erzeugen. Bakterien, die über einen längeren Zeitraum Triclosan ausgesetzt waren, sollen über eine gesteigerte Synthese einer Multidrug-Efflux-Pumpe verfügen. Mit deren Hilfe schleusen die Bakterien Triclosan und im gleichen Zuge Antibiotika in großen Mengen schnell wieder aus der Zelle heraus (*Mc Murry et al., 1998*).

1.6.3.4 Ätherische Öle

Handelsübliche Mundspüllösungen sind meist Kombinationen aus den ätherischen Ölen Thymol, Menthol und Eukalyptol. Ihre Anti-Plaque-Wirkung konnte in zahlreichen Studien belegt werden (*Moran et al., 1997; Riep et al., 1999*). In vitro hemmen ätherische Öle die Prostaglandinsynthese (*Wagner und Wierer, 1986*). In vivo ist die Verweildauer jedoch gering. Es ist unklar, ob und in welchem Maß der Trägerstoff (Alkohol) zur antibakteriellen Wirkung beiträgt.

1.6.3.5 Polyalkohole

Xylit und Sorbit sind Zuckerabkömmlinge. Sie kommen in der Natur in vielen Obst- und Gemüsesorten vor. Die Verstoffwechslung durch orale Bakterien ist jedoch durch die Akkumulation eines Zwischenprodukts während der Glycolyse nur initial möglich. Innerhalb der Bakterienzelle kommt es zur Anhäufung dieses Zwischenprodukts, der Stoffwechsel des Bakteriums kommt zum Erliegen. Im Falle des Xylit ist die Wirkung bakterizid.

1.6.4 Die Antibiose in der Parodontitistherapie

Nach alleiniger SRP oder chirurgischer Therapie schwerer Parodontitisfälle ohne begleitende therapeutische antimikrobielle oder antibiotische Maßnahmen zeigten mikrobiologische Untersuchungen eine immer noch hohe Anzahl von Parodontalpathogenen (*Gunsolley et al., 1994; Mombelli et al., 1994; Renvert et al., 1990a, 1990b*), insbesondere im parodontalen Bindegewebe (*Christersson et al., 1987*) und in den Dentinkanälen der Wurzeloberflächen (*Adriaens et al., 1988*).

1.6.4.1 Lokale Antibiose

Die zahlreichen Untersuchungen von Breitspektrumantibiotika, Tetracyclin, Metronidazol, Erythromycin und Spiromycin berichten fast ausschließlich über den Einsatz in Kombination mit SRP. Eine spezifische Bewertung im Hinblick auf den Behandlungserfolg ist so nur schwer möglich.

Ein „systematic review“ über 32 derartige Studien kommt zu dem Ergebnis, dass kontrolliert freigesetzte lokale Antibiotika (Minozycloine Gel, Mikrogekapseltes Minozycloine und Doxycycloine Gel) zusätzlich zu SRP eine signifikante Reduzierung der TT und Verbesserung der CAL im Gegensatz zur alleinigen SRP bewirken (*Hanes und Purvis, 2003*). Bei Patienten mit Diabetes Typ 1 führt eine lokale Applikation von Doxycycloine Hyclat zusätzlich zu SRP nach zwölf Monaten zu einer signifikanten Verbesserung der parodontalen Parameter (*Martorelli de Lima et al., 2004*).

Kurzzeitige positive Auswirkungen auf die klinischen Parameter können durch zusätzliche Gabe lokal applizierter Doxycycloine während des jährlichen mechanischen Debridements im Recall befindlicher Patienten erzielt werden. Diese hatten keine weiterreichenden klinischen oder mikrobiologischen Effekte gegenüber der alleinigen mechanischen Reinigung (*Bogren et al., 2008*).

1.6.4.2 Systemische Antibiose

Bevor systemisch applizierte Antibiotika durch das Saume epithel in die parodontale Tasche gelangen, müssen sie nach Resorption im Magen und Darm hohe Bioverfügbarkeit aufweisen. Eine ausreichende Sulkusfluidkonzentration ist für die Eliminierung der Pathogene in der parodontalen Tasche notwendig. Um nicht nur im Gewebe, sondern auch in der Tasche vorhandene Pathogene zu eliminieren, muss für die erforderliche Applikationsdauer an allen Wirkorten mindestens eine minimale inhibitorische Konzentration (MIC) erreicht werden, damit Resistenzen vermieden werden (*Kleinfelder et al., 1999*). Parodontitisverursachende Bakterien konnten darüber hinaus auch auf Zunge, Wangenschleimhaut und Tonsillen nachgewiesen werden (*Müller et al., 1995*). Eine adjuvante systemische Antibiose unterstützt die konventionelle mechanische Therapie bei schweren chronischen und akuten Parodontitiden (*Berglundh et al., 1998*). Im Hinblick auf Sondierungstiefenreduktion und parodontales Reattachement ist die mechanische und antibiotische Kombinationstherapie mit anschließender parodontaler Nachsorge das Mittel der Wahl (*Gutsche et al., 2004*).

Bei moderaten Erkrankungen und bei parodontal stabilen Verhältnissen ist durch die zusätzliche Gabe von Antibiotika klinisch und mikrobiologisch kein Vorteil zu erzielen (*Jenkins et al., 1989; Winkel et al., 1998; Giedrys-Leeper et al., 1985*). Eine ausschließlich antibiotische Behandlung zeigt keinen Erfolg (*Berglund et al., 1998; Listgarten et al., 1978*). Die antibiotische Potenz kann durch verschiedene Bakterien (z.B. Fusobakterien) abgeschwächt werden. Eine Konsumierung oder Bindung des Antibiotikums durch eine Bakterienart schützt somit auch andere Bakterienspezies (*Lacroix und Mayrand, 1989*). Penicilline können durch bakterielle Lactamase inaktiviert werden (*Walker, 1996*).

Auch können sich Bakterien im Schutze des Biofilms dem antibiotischen Zugriff entziehen. Im Rahmen einer Testung auf sieben verschiedene Antibiotika wurde bei 14% bis 36% der getesteten 300 Bakterienspezies eine Resistenz auf mindestens ein Antibiotikum festgestellt (*Walker, 1996*). Kleinfelder et al. konnte 1999 dieses Ergebnis in Bezug auf Tetrazyklin, Amoxicillin und Metronidazol bestätigen. Besonders die verschiedenen Stämme des *A. actinomycetemcomitans* weisen nur gegenüber Tetrazyklinen eine annehmbare Empfindlichkeit auf (*Hoffler et al., 1980*). Gordon und Walker (1993) empfehlen bei rasch fortschreitender Parodontitis und *A. actinomycetemcomitans*-assoziierten Parodontitiden eine zusätzliche, systemische Antibiose mit Tetrazyklin oder alternativ mit Metronidazol und Amoxicillin. Tetrazykline reichern sich nach oraler Gabe in messbar höheren Konzentrationen im GCF als im Blut an (*Cianco, 1980*). Sie fördern das Attachement von Fibroblasten am Wurzelzement (*Wikesjö et al., 1986*) und hemmen die Neoangiogenese im Wundgebiet (*Tamargo, 1991*). Die Bindungsneigung zum Wurzelzement

ist ausserdem hoch (*Baker, 1983*). Wissenschaftlich am meisten dokumentiert ist die Wirkung der Tetrazykline bei therapierefraktärer, aggressiver oder schwerer Parodontitis. Stabile klinische Verhältnisse hängen von der erfolgreichen und dauerhaften Eliminierung des *A. actinomycetemcomitans* durch ein Antibiotikum ergänzend zur SRP ab (*Saxen und Asikainen, 1993*). SRP allein erweist sich als nicht ausreichend (*Slots und Rosling, 1983; Kornman und Robertson, 1985; Christersson et al., 1986; Renvert et al., 1990b; Berglundh et al., 1998*). Ähnliche Ergebnisse erzielten Loesche et al. 1983 und 1991 bei schweren chronischen Parodontitiden und Bragd et al. 1987, Gusberti et al. 1988 und Mc Culloch et al. 1990 bei therapierefraktären Parodontitiden.

1.6.4.3 Subantimikrobielle systemische Therapie LDD

In den frühen 80er Jahren des letzten Jahrhunderts untersuchten Golub, Mc Namara und Ramamurthy an der Sony Brook Universität in den Vereinigten Staaten einen gerade neu entdeckten Aspekt bei der Behandlung von Parodontitis. Deren Pathogenese ist wie die vieler Erkrankungen durch eine Überexpression der Matrixproteinasen charakterisiert. Golub und Mitarbeiter fanden die inhibitorischen Eigenschaften von Tetrazyklinen auf die Kollagenaseaktivität (*Golub et al., 1984*).

Tetrazykline verringern die Entzündungsreaktion durch Hemmung von Metallomatrixproteinasen. Kollagenasen (MMP-1, -8 und -13) sowie Gelatinasen (MMP-2 und -9) werden gehemmt (*Golub et al., 1998*). Neben ihren antimikrobiellen Eigenschaften besitzen sie anabole Kapazitäten und wirken antioxidativ (*Sapadin und Fleischmajer, 2006*).

Matrix-Metalloproteinasen benötigen Zn^{2+} -Ionen um Kollagenfasern aufzulösen. PGE_2 , Kathepsin K und andere Enzyme fördern den Knochenabbau in Anwesenheit von Ca^{2+} -Ionen (*Birkedahl-Hansen, 1994*). Tetrazykline binden Zn^{2+} -Ionen und hemmen so die Proteinaseaktivität.

Unter der Wirkung von Doxyzyklin, einem chemisch modifizierten Tetrazyklin (CMT), geht die MMP-Aktivität im GCF um 50% zurück (*Canton, 2000*). Doxyzyklin beschleunigt generell die parodontale Wundheilung bei Patienten mit Diabetes Typ 1 (*Llambes et al., 2005*). In niedrigen Dosen stimuliert Doxyzyklin die Osteoblastentätigkeit und führt über einen längeren Einnahmezeitraum zu einer proportionalen Zunahme der Knochenmatrix (*Gomes und Fernandes, 2007*). Die Produktion anderer Zytokine wie $IL-1\beta$, $IL-6$, $TNF-\alpha$ und $IFN-\gamma$ kann dosisabhängig reduziert werden (*Krakauer und Buckley, 2003*).

Die Zunahme der TT als Resultat von Laminin-Abbau durch Matrixproteinasen wird signifikant durch LDD (Low Dose Doxycycline) zusätzlich zu SRP vermindert (*Emingil et al., 2004*). Unabhängig von der MMP-Hemmung kommt es durch CMT-3 und CMT-8 zu ei-

ner Unterdrückung der Osteoklastengenese und einer induzierten Apoptose ausgereifter Osteoklasten. Bei den CMT handelt es sich um nicht-antibiotische Analoge von Doxycyclin und Minozyklin (*Holmes et al., 2004*). Durch LDD können die parodontale Wundheilung verbessert und der lokale Knochenabbau reduziert werden. Diese Ergebnisse erhält man mit und ohne begleitende chirurgische Maßnahmen (*Gapski et al., 2004*). Minozyklin werden in diesem Zusammenhang anti-apoptotische und anti-inflammatorische Effekte in Verbindung mit neuroprotektiver Funktion zugeschrieben (*Kraus et al., 2005; Ryu et al., 2006*). In Kombination mit Bisphosphonat konnten bei unterdosierter Anwendung ein synergistischer Effekt auf MMP-8, MMP-9 und Elastase sowie ein Verlust von Alveolarknochen bei LPS-induzierter Parodontitis im Rattenmodell erzielt werden (*Llavaneras et al., 2001*). Ein weiterer synergistischer Effekt konnte für Medikamente aus der Gruppe der nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR) nachgewiesen werden. Die Gabe von Flurbiprofen führt durch eine erhöhte Aufnahme von Tetracyclin in die entzündeten Gewebe zu statistisch signifikanten synergistischen Effekten auf die Verminderung der Kollagenasen und Gelatinasen (*Lee et al., 2004*).

1.7 Antimikrobielle photodynamische Therapie (aPDT)

Moleküle werden als Photosensibilisatoren bezeichnet, wenn sie bei Bestrahlung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge zytotoxische Reaktionsprodukte bilden. Hierzu zählt insbesondere Singulett-Sauerstoff (*Wilson et al., 1992*). Durch Aufnahme eines Photons wird der Photosensibilisator in den sogenannten „Triplet-Zustand“ überführt. Seine aufgenommene Energie überträgt sich auf ein Sauerstoffmolekül. Singulett-Sauerstoff entsteht. Singulett-Sauerstoff schädigt nachhaltig Bakterienmembranen und DNS der Erreger (*Wilson, 1993*). Die letale Photosensibilisierung ist durch die unterschiedlich starke Affinität des Photosensitizers zu den Oberflächen verschiedener Erreger nur bedingt artenspezifisch und ermöglicht bei Mischinfektionen sowohl das Inaktivieren, als auch das Abtöten von Bakterien, Pilzen oder Viren. Mittels erregerspezifischer MAK ist eine Verstärkung der Oberflächenaffinität und damit eine selektive Wirkung möglich. Hierdurch kann eine Targetzelle zerstört werden, ohne andere Zellen in unmittelbarer Umgebung zu beeinträchtigen (*Bhatty et al., 2000*). Eine Ausbildung von Resistenzen gegen oder Adaption an photochemische Prozesse gilt als höchst unwahrscheinlich. Toluidinblau als der meistuntersuchte Photosensitizer bindet nur sehr schlecht an Zellen des menschlichen Körpers. Somit minimiert sich die Möglichkeit einer schädigenden Wirkung auf umliegendes Wirtsgewebe. Zahlreiche in vitro- und in vivo-Studien durch Wilson et al. am Eastman Dental Institute in London demonstrieren seit 1993 die Wirksamkeit der antimikrobiellen

photodynamischen Therapie (Komerik et al., 2000; Komerik et al., 2002; Komerik et al., 2003; Sarkar und Wilson, 1993). Weitere Studien dokumentieren die aPDT als effizientes Mittel der Bakterienreduktion auf Implantatoberflächen (Haas et al., 2000; Dörtbudak et al., 2001).

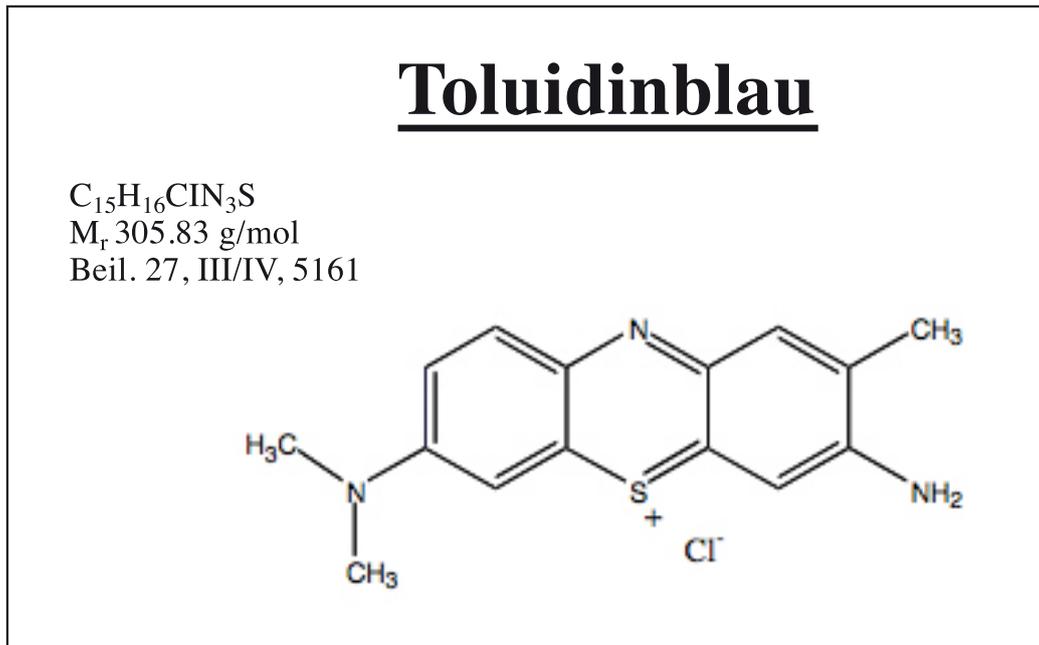


Abb. 2: Toluidinblau (3-Amino-7-(dimethylamino)-2-methylphenothiazin-5-ium-chlorid).

Toluidinblau (Synonyme: Tolonium Chloride, Basic Blue 17, Blutene Chloride, Methylen Blue T50) absorbiert maximal bei 634 nm Wellenlänge. Es eignet sich wegen seiner schlechten Wasserlöslichkeit und guten Gewebeverträglichkeit als Farbstoff für die photodynamische Therapie.

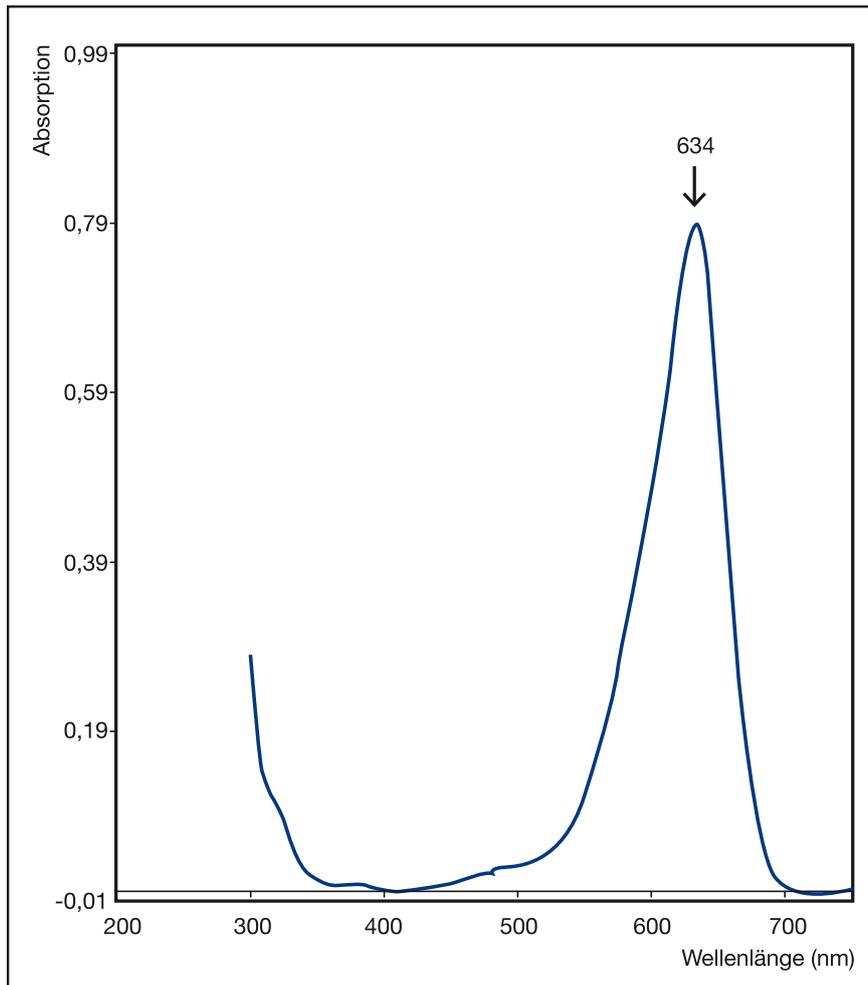


Abb. 3: Absorptionskoeffizient von Toluidinblau (Absorptionsmaximum bei ca. 634 nm)

Ähnliches gilt für Methylene Blau (3,7-dimethylamino phenothiazine-5-ium chloride), welches ein geringfügig höheres Absorptionsmaximum aufweist.

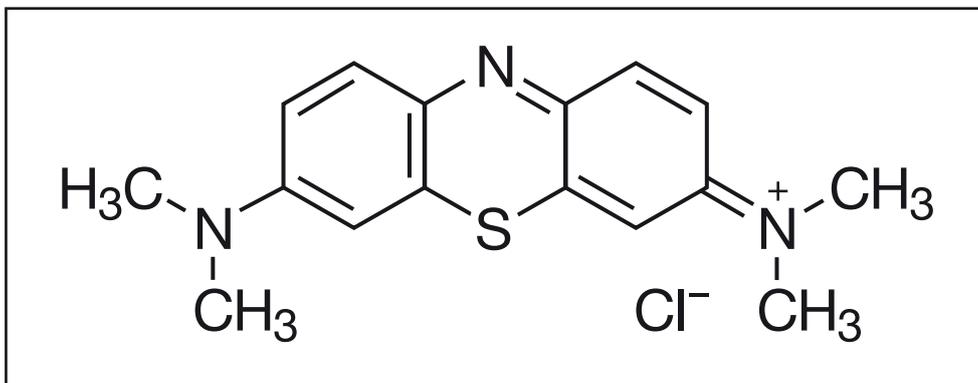


Abb. 4: Methyleneblau (3,7-Bis(dimethylamino)-phenothiaziniumchlorid).

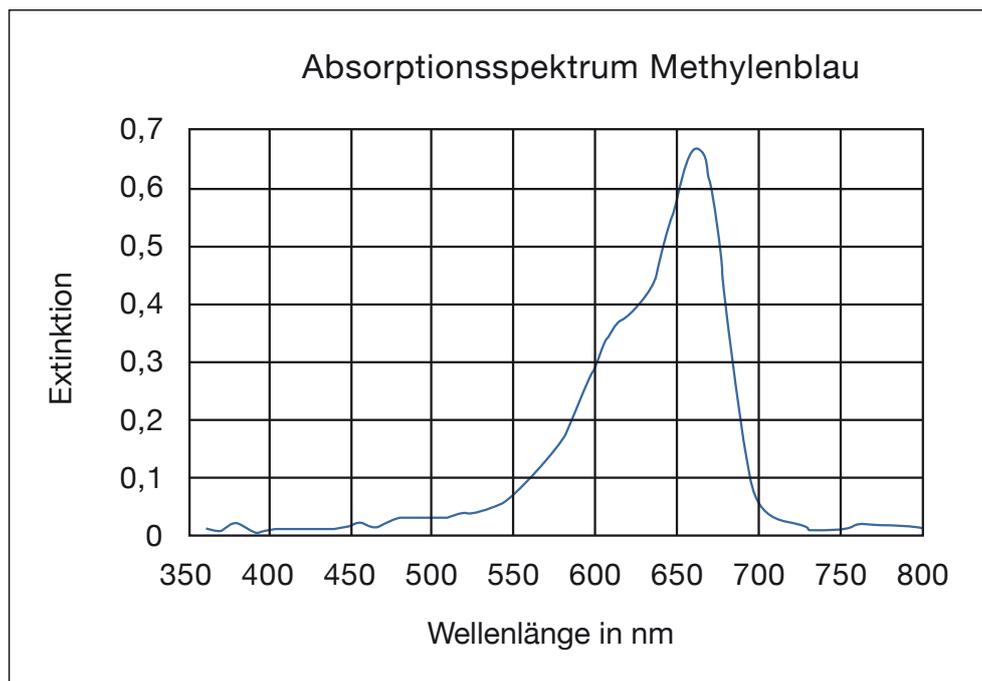


Abb. 5: Das Absorptionsmaximum von Methylenblau liegt bei 660 nm Wellenlänge.

Robert Koch färbte Tuberkelbakterien und andere Krankheitserreger mit Methylenblau an. Paul Ehrlich äusserte in einem Brief an die Firma Hoechst, er sei „der Überzeugung, dass Methylenblau vielleicht einen kleinen aber doch festen Platz in der Therapie erringen dürfte“. Es ist davon auszugehen, dass es sich bei HELBO[®] Blue Photosensitizer um Methylenblau handelt. Angaben in der Literatur sind diesbezüglich nicht zu finden. Das Absorptionsmaximum stimmt jedoch mit den Angaben der Firma Helbo zu ihrem Phenothiazin-Farbstoff überein.

1.8 Ziel der vorliegenden Arbeit

Das Ziel dieser Studie ist die Überprüfung der Matrix-Metalloproteinasespiegel im GCF vor, während und nach der Parodontitistherapie, um zu prüfen, ob Aussagen über die Wirksamkeit der antimikrobiellen photodynamischen Therapie (aPDT) begleitend zu SRP bei mittelschweren bis schweren Parodontisfällen gemacht werden können.

Als Vergleich dient die adjuvante systemische Antibiose. Die Untersuchungen werden über einen Zeitraum von sechs Monaten erhoben. Dabei werden klinische Parameter wie die TT, Enzymmengen (MMP-8) und Bakterienzahlen (Markerkeime) im Sulkusfluid gemessen. Zusammenhänge zwischen der Menge an aktiver Matrix-Metalloproteinase-8 im Sulkusfluid und Entzündungszustand des Parodontiums sollen vor, während und nach PAR-Therapie ermittelt werden. Es soll die Eignung von aktiver MMP-8 als Indikator für

eine Gewebedestruktion bei der Parodontitiserkrankung aufgezeigt werden. Von Interesse ist, ob Enzymwerte und TT der Entnahmestelle korrelieren. Es sollen hierbei auch zwei genetische Dispositionen berücksichtigt werden. Dabei handelt es sich zum einen um eine Risikokonstellation immunogenetischer Marker an Genloci, die proinflammatorische Mediatoren kodieren und zu einer überschießenden Entzündungsreaktion führen und zum anderen um einen Genotyp, der mit einem erhöhten Risiko für aggressive Parodontitis assoziiert ist (Tests der Fa. Dentognostics GmbH, Jena).

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Prüfung der Aussagekraft eines Speichelschnelltests (Stick) auf Parodontitis. Dieser Speichelschnelltest misst die Anwesenheit von Blutbestandteilen im Speichel. Die gemessenen Parameter sind pH, Erythrozyten, Hämoglobin und Leukozyten. Sensitivität und Spezifität eines solchen Sticktest sollen untersucht werden. Dazu werden die Ergebnisse mit denen einer klinisch gesunden Gruppe verglichen.

2 MATERIAL UND METHODE

2.1 Studiendesign

2.1.1 Auswahl der Probanden

Für die monozentrische prospektive Untersuchung wurden bei 46 Patienten einer „Versorgungspraxis“ eurasischer Abstammung, die ein Mindestalter von 20 Jahren aufweisen und an einer schweren Form der chronischen Parodontitis erkrankt waren und eine Parodontitistherapie nachfragten, die therapiebegleitenden diagnostischen Daten wissenschaftlich analysiert. Die Patienten erfüllen die Diagnose „chronische Parodontitis“ nach Richtlinien der DGMZK. Der Grad der Erkrankung reichte von moderat bis schwer. Der Parodontale Screening Index (PSI) besaß in mindestens zwei Sextanten den Wert vier und es ist ein Kontrollparodontium mit einem PSI kleiner oder gleich zwei vorhanden. Die Probanden verfügten über ein Restgebiss von mindestens neun Zähnen. Die Therapie erfolgte nach Standardprogrammen der betreuenden Praxis.

Darüber hinaus erfüllen die Probanden folgende Kriterien: Sie zeigen keine Anzeichen einer Allgemeinerkrankung oder einer Infektionskrankheit. Während der letzten drei Monate wurden keine Antibiotika oder entzündungshemmenden Medikamente und keine Bisphosphonate eingenommen. Auch die Einnahme von entzündungshemmenden Medikamenten in homöopathischen Dosen führte zum Ausschluss aus der Studie. Die Probanden sind während der Studie nicht in kieferorthopädischer Behandlung und leiden nicht unter Bruxismus.

Eine möglichst positive Compliance wurde unter Hinzunahme des Anamnesebogens überprüft. Die Probanden wurden über den jeweiligen Behandlungsablauf (etablierte, anerkannte Therapiesysteme), der dem Standard und der üblichen Vorgehensweise der betroffenen Versorgungspraxis entspricht, vollständig aufgeklärt und stimmten der Behandlung zu. In eine Auswertung Ihrer diagnostischen Daten zu wissenschaftlichen Zwecken willigten sie ein. Die Probanden erhielten die Aufklärungsbögen ausgehändigt und wurden gebeten, diese zur ersten Behandlung wieder unterschrieben mitzubringen.

2.1.2 Kontrollgruppe

Die Studie ist aktiv kontrolliert. Beide Patientengruppen erhalten eine instrumentelle Therapie mittels SRP. Die eine Gruppe erhält zusätzlich eine systemische AB, während die andere Gruppe zusätzlich mittels aPDT behandelt wird.

2.1.3 Randomisierung / Art der Blindstudie

Die Studie ist randomisiert. Eine Randomisierung erfolgt durch die zufällige Einteilung in zwei Therapiegruppen, die sich in der Form der adjuvanten antimikrobiellen Therapie unterscheiden. Sie ist im Hinblick auf die Enzymwertmessung (MMP-8) als split-mouth angelegt mit Untersuchungs- und Kontrollparodontien bei jedem Probanden.

Die Studie ist im Hinblick auf die adjuvante Therapie keine Blindstudie, da die adjuvante Anwendung der aPDT unmittelbar vor der Hauptbehandlung mittels SRP erfolgt ist. Die Kontrolluntersuchungen zur Bestimmung des Therapieerfolgs sowie die Entnahme der Bakterienproben und Enzymproben wurden doppelt geblindet durchgeführt. Taschentiefenmessung sowie Probenentnahme zur Bakterien- und Enzymwertbestimmung erfolgten durch wechselnde Behandler. Sowohl die Behandler bei der Kontrolluntersuchung als auch das Laborpersonal zur Probenauswertung hatten keine Kenntnis von der Gruppenzugehörigkeit.

2.1.4 Bestimmung der klinischen Parameter und Messstellen

Bei der Patientenaufnahme wird eine allgemeine und eine spezielle Anamnese aufgenommen. Es werden ein Zahnbefund sowie ein parodontaler Befund erhoben. Letzterer beinhaltet einen Röntgenstatus und eine Messung der klinischen TT. Der PSI wird ermittelt. Anhand der Messergebnisse entscheidet sich die Aufnahme in die Studie. Es folgt eine Diagnosestellung und im Falle einer schweren Parodontitis die Aufnahme in die Probandenliste. Eine Zuteilung zu den zwei Behandlungsgruppen (syst. AB/aPDT) wird randomisiert vorgenommen. Die Entnahmestellen für die Probenentnahme werden individuell für jeden Probanden festgelegt und während des gesamten Studienverlaufs beibehalten. Für die Entnahme von Sulkusflüssigkeit zur aMMP-8-Messung werden der jeweils tiefste Messpunkt eines Sulkus dreier Zähne mit den tiefsten Taschen zwecks „Poolung“ festgelegt. Für die Eichprobe wird ein Kontrollzahn mit möglichst geringer TT und negativem BOP ausgewählt. Dieser sollte mit den Messzähnen korrespondieren. Die mikrobielle Keimbestimmung wird an den gleichen Zähnen vorgenommen, an denen schon die aMMP-8 Bestimmung stattgefunden hat. Da die Entnahme für die aMMP-8 Messung am Sulkusrand erfolgt und die mikrobielle Keimbestimmung am Sulkusboden, kommt es bei zeitlicher Aufeinanderfolge der Entnahme nicht zu einer gegenseitigen Beeinflussung der Messergebnisse.

2.1.5 Ablauf und Ausführung der Therapie

Die Behandlung unterteilt sich in zwei Termine innerhalb von zwei Wochen zur Vorbehandlung und ein bis zwei Termine innerhalb von 48 Stunden zur Hauptbehandlung. Daran schließen sich drei Kontrolltermine mit weiteren Probenentnahmen an. Diese finden jeweils nach 30, 90 und 180 Tagen statt und dienen der Überprüfung des Behandlungserfolges. Zur ersten Behandlung bringt der Patient die unterschriebene Einwilligungserklärung mit. Es folgt eine einmalige Speichelprobenentnahme mit einem Sticktest der Fa. Roche. An den vorher festgelegten Entnahmestellen wird die MMP-8 Poolprobe inklusive einer Eichprobe mittels Papierspitzen entnommen. Daraufhin wird fünf Minuten später die ebenfalls gepoolte Probe für den mikrobiologischen DNS-Nachweis an denselben Entnahmestellen durchgeführt. Es wird eine standardisierte Mundhygieneinstruktion erteilt. Die erste ca. 15 minütige Vorbehandlung mittels Sonic-Sys[®] zur Entfernung von supra- und subgingivalen Belägen findet statt. Die Reinigung wird entsprechend den gemessenen TT durchgeführt. Eine Woche später findet die zweite Vorbehandlung statt. Die Patienten der AB-Gruppe erhalten ein Rezept für ein Antibiotikum nach Antibiogramm. Das Antibiotikum wird nach den Richtlinien der DGZMK (s. Anhang 6.3) für die adjuvante Antibiotikagabe im Rahmen der Parodontitistherapie verabreicht. Die Probanden werden angehalten, mit der Einnahme des Antibiotikums 24 Stunden vor der Hauptbehandlung zu beginnen.

Eine Woche später wird die Hauptbehandlung begonnen. Vorab wird eine aMMP-8 Testung vorgenommen. Die Hauptbehandlung besteht aus einer geschlossenen Küretage mittels SRP. Darauf folgt gruppenspezifisch die antimikrobielle Therapie.

Die Probanden der Gruppe, die eine systemische Antibiose zur Unterstützung erhalten, haben bereits 24 Stunden vor Beginn der Behandlung angefangen diese einzunehmen. Die andere Gruppe erhält zusätzlich die adjuvante antimikrobielle photodynamische Therapie.

30 Tage nach der Hauptbehandlung findet ein Kontrolltermin zwecks Bestimmung des aMMP-8 Spiegels statt.

Nach 90 und 180 Tagen im Anschluss an die Hauptbehandlung wird nochmals der aMMP-8 Spiegel bestimmt. Anschließend wird zusätzlich ein DNS-Test zur Bestimmung der Markerkeime durchgeführt. Es folgt die parodontale Befunderhebung mit TT-Bestimmung mittels TPS-Sonde[®].

2.2 Probeentnahmetechniken und Auswertungsverfahren

Die Messung der TT erfolgte mit Hilfe der Vivacare TPS Probe mit einem standardisierten Druck von 200 N/cm². Die Scaleneinteilung entspricht der Vorgabe zur Erstellung des CPITN-Indexes nach WHO-Richtlinien und ist in die Bereiche 0,5 – 3,5 – 5,5 – 8,5 – 11,5 mm eingeteilt. Der Sondenspitzendurchmesser beträgt 0,5 mm (WHO). Die verwendete Messsonde war die „rigid metal tactile Sensor“. Die Messsonden wurden jeweils exklusiv für einen Patienten über den gesamten Studienzeitraum benutzt.



Abb. 6: TPS-Probe der Fa. Vivadent.

2.2.1 Sticktestung auf Erys/Hb und Leukozyten im Speichel

Für die Sticktestung auf pH-Wert, Erythrozyten/Hämoglobin und Leukozyten im Speichel wurden „Urine Analysis strips“ von der Fa. Roche Diagnostics benutzt. Mittels eines großen Wattestäbchens wurde der Speichel über 60 Sekunden im geschlossenen Mund aufgenommen und dann auf den Teststreifen durch Rollen aufgebracht. Der Farbumschlag wurde mit dem beiliegenden Muster optisch verglichen und der Farbaufteilung der Tabelle entsprechend den Messwerten zugeordnet. Eindeutige Reaktions-, sowie die speziellen Lackdruck-Vergleichsfarben ermöglichen ein einfaches Ablesen der jeweiligen Konzentration.

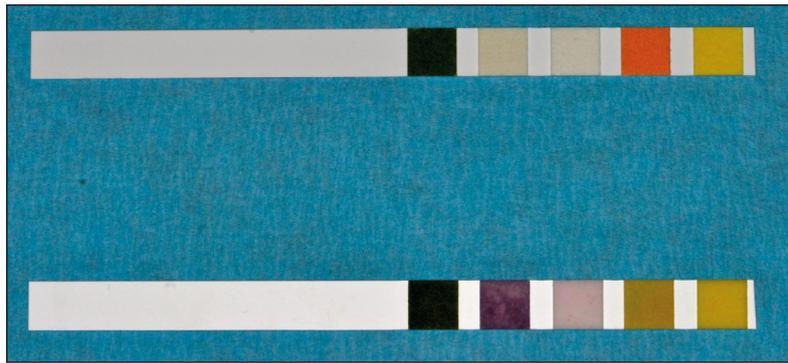


Abb. 7: Modifizierter Streifen des Combur-Test der Fa. Roche Diagnostiks.



Abb. 8: Combur-Test der Fa. Roche Diagnostiks zur Analyse von Urin.

Im pH-Bereich von 5-9 zeigt sich eine Farbabstufung von orange über gelbgrün bis blaugrün. Methylrot (2-[4-(Dimethylamino)-phenylazo]-benzolsäure) gehört zur Gruppe der Azofarbstoffe und wird als pH-Indikator verwendet. Methylrot schlägt bei pH 4,4-6,2 von rot nach gelb um. Bromthymolblau (3,3'-Dibromthymolsulfonphthalein) dient als Indikator bei der Säure-Base-Titration. Bromthymolblau schlägt bei pH 6,0-7,8 von gelb nach blau. Phenolphthalein (3,3-Bis (4-hydroxyphenyl)-Phthalid) ist ein weißes, kristallines Pulver, unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol oder Alkalien. Im sauren bis neutralen pH-Bereich liegt überwiegend die Phthalid-Form vor. Die Phenolphthalein-Lösung ist dann farblos. Mit Alkalien überwiegt bei pH 8,4-10,0 die chinoide Struktur und es tritt ein Farbumschlag nach rosa ein.

Die Leukozytentestung beruht auf der Esteraseaktivität von Granulozyten und Histiozyten. Histiozyten tauchen auch bei Entzündungsprozessen auf und können unter dem Mikroskop für gewöhnlich nicht von Leukozyten unterschieden werden. Nicht nur intakte Leukozyten, sondern auch bereits lysierte Zellen werden von dem Test erfasst. Ein Bereich des Teststreifens enthält einen Indoxylester, der durch Granulozytenesterase gespalten wird. Das freigewordene Indoxyl reagiert mit Diazonium-Salz zu einem violetten Farbstoff. Nachweisgrenze: 10–25 Leukozyten/ μl .

Hämoglobin und intakte Erythrozyten gelangen auf den Teststreifen, wo sie lysiert werden. Das freigesetzte Hämoglobin löst eine Farbreaktion aus. Der Teststreifen färbt sich grün ein. Der Test basiert auf der peroxidativen Wirkung von Hämoglobin und Myoglobin. Beide katalysieren die Oxidation des Farbindikators TMB durch ein organisches Hydroperoxid (2,5-dimethylhexane-2,5-dihydroperoxide). Dabei bildet sich eine blaugrüne Farbe, die auf dem gelben Teststreifen einen Farbumschlag zu grün bewirkt. Eine hohe Sensitivität wird durch die Beigabe eines Aktivators erzeugt. Nachweisgrenze: 0-5 Erythrozyten/ μl .

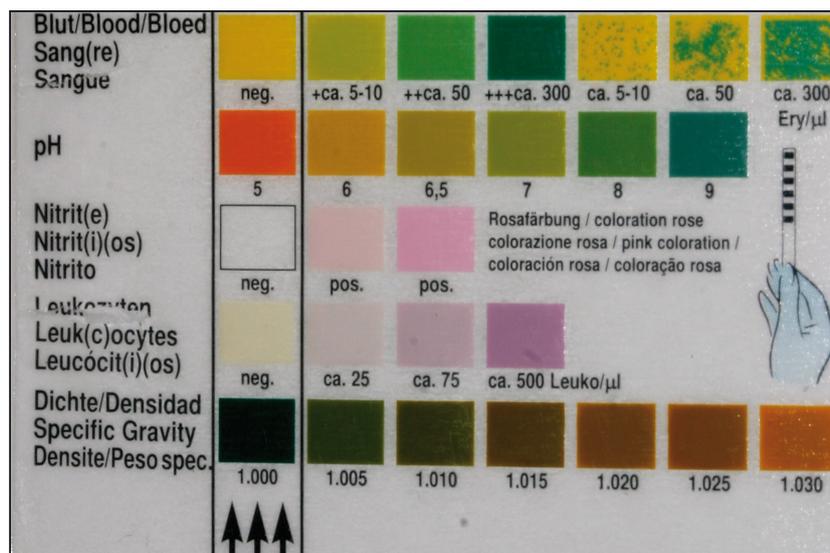


Abb. 9: Etikettierung als Vergleichsmuster.

2.2.2 Bestimmung der aMMP-8 Werte (ELISA)

Die Sulcusfluid-Entnahme findet vor jeder anderen Behandlung, die zu einer Reizung der Gingiva führen könnte, statt. Vor der Kollagenasemessung wird die Krone des Zahnes vorsichtig gereinigt und von supragingivaler Plaque befreit. Anschließend wird der Zahn einer relativen Trockenlegung unterzogen. Um eine Kontamination mit Speichel auszuschließen, wird die Entnahmestelle mit Watterollen von der Mundhöhle isoliert. Eine Papierspitze (Fa. Helbo) wird von oben für 30 Sekunden an den Sulkus gelegt und zum Transport in sterile Eppendorfröhrchen mit mit 70 µl RTF-Medium (reduced transport fluid mit 25 % Glucose) gegeben. Die Lagerung bis zum Transport geschieht im Kühlschrank bei 4° C. Innerhalb von 4-5 Stunden erfolgt der Transport ins Labor.



Abb. 10: Papierspitze zur Entnahme des GCF (MMP-8).

Die aMMP-8 Enzymwerte werden nach Entnahme und Aufbewahrung im Probengefäß im Labor per ELISA-Verfahren getestet. Die Entnahmestellen entsprechen denen der Bakterientestung.

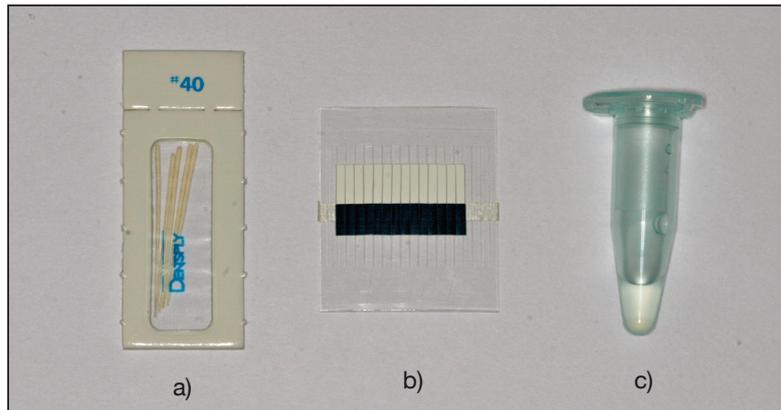


Abb. 11: a) Papierspitze Mikrobiologie
 b) Papierspitze Enzymwertanalyse
 c) Eppendorff-Gefäß zum Transport von aMMP-8

2.2.3 Mikrobiologische Testung (PCR)

Es handelt sich um einen molekularbiologischen Test zum Nachweis von Parodontitis-assoziierten Mikroorganismen. Die Entnahmestellen entsprechen denen der Enzymwerttestung. Die Papierspitzen werden ebenfalls an den Sulkusrand gehalten, in diesem Fall aber tiefer in die Zahnfleischtasche versenkt. Dabei wird die Provokation einer Blutung vermieden.



Abb. 12: Papierspitze zur Entnahme der Probe für die mikrobiologische Testung auf Markerkeime.



Abb. 13: Papierspitze wird zum Transport in Eppendorff-Röhrchen verbracht.

Aus jedem Primär-Probengefäß mit den gepoolten Papierspitzen (Dentsply ISO 40) wird die DNS in Anwesenheit von Proteinase K extrahiert, über QIAGEN Minisäulen nach Hersteller-Vorschrift von störenden sonstigen Zellbestandteilen gereinigt, von der Silikatmatrix abgelöst und in Elutionspuffer (Fa. Qiagen) aufgenommen. Die so aus den Zellen oder Bakterien extrahierte DNS eignet sich nun für die Analyse per PCR. Der PCR-Ansatz wird in PCR-Reaktionsgefäßen, bestehend aus Primer-Nukleotid-Mix, Taq-Polymerase und den zugehörigen Puffern, sowie der isolierten DNS-Poolprobe im Thermocycler laut Protokoll amplifiziert.



Abb. 14: Thermocycler aus dem Labor Dr. Bauermeister in Moers.

Jedes Amplifikat wird denaturiert und mit Nitrocellulose-Streifen inkubiert, auf denen Gensonden der nachzuweisenden Keime (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*) aufgebracht sind. Dabei kommt es zur spezifischen Hybridisierung. Nach verschiedenen Waschschritten wird das Konjugat (Streptavidin-markierte Antikörper) auf jeden Streifen gegeben und inkubiert, danach gewaschen und mit Substrat erneut inkubiert. Dadurch werden Zonen mit spezifischen Hybridisierungen sichtbar gemacht. Die Detektion erfolgt unter definierten Temperaturbedingungen in einem automatisierten Liquid Handling System.

Anschließend werden die Streifen entnommen und zwischen Filterpapier getrocknet. Die Auswertung erfolgt durch Vergleich der auf den Teststreifen entwickelten Banden mit Referenzstreifen. Das Auftreten und die Lage der Banden dienen hierbei zur Identifikation und zur semiquantitativen Bestimmung der zu detektierenden Bakterien. Die Ergebnisse der Bakterientests sind numerisch angegeben, um sie besser auswerten zu können.

Dabei gelten folgende Richtwerte:

- 0** unter der Nachweisgrenze von 10^4
- 0,5** grenzwertig um 10^4
- 1** geringer Nachweis, bis ca. 5×10^4
- 2** mittlerer Nachweis, bis ca. 2×10^5
- 3** hoher Nachweis, bis ca. 10^6
- 4** sehr hoher Nachweis, mehr oder wesentlich mehr als ca. 10^6

Der Bereich 0,5 wurde nicht berücksichtigt.

2.3 Antimikrobielle Therapie

2.3.1 Scaling und Root Planing (SRP)

Die mechanische Reinigung der Wurzeloberflächen mittels SRP erfolgt in ein bis zwei Sitzungen innerhalb von 48 Stunden unter lokaler Betäubung. Als Betäubungsmittel dient Ultracain DS forte, regulär oder ohne Vasokonstriktor. Die Scaler und Gracey-Küretten sind von der Firma Braun/Aesculap und werden entsprechend der Wurzelanatomie (Ergo HDL 1/2, 3/4 bis 13/14) eingesetzt. Nach SRP werden die Taschen mit H₂O₂ (3 %) gespült.

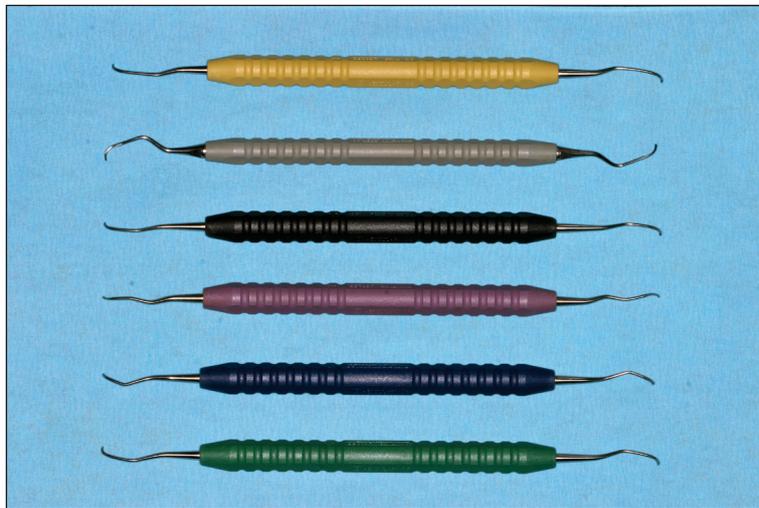


Abb. 15: Gracey Küretten (kompletter Satz).

2.3.2 Antibiotikatherapie

Die systemische Gabe von Antibiotika richtet sich nach den Empfehlungen der DGZMK „Adjuvante Antibiotika in der Parodontitistherapie“ aus dem Jahr 2002 (s. Anhang 6.3). Die unterstützende Gabe von Antibiotika soll die Progredienz parodontaler Attachementverluste aufhalten oder zumindest stark reduzieren. Die Menge parodontopathogener Bakterien in der parodontalen Tasche soll über die Wirkung des mechanischen Debridements hinaus verringert, und wenn möglich sollen die parodontopathologischen Keime aus der Mundhöhle eliminiert werden. Zum Einsatz kommen das Spektrum parodontopathogener Keime abdeckende Antibiotika nach Antibiogramm.

Die empfohlenen Dosierungen antibiotischer Wirkstoffe (per os) im Rahmen der adjuvanten Antibiotikatherapie lauten hiernach:

Tetracyclin 250 mg	4 x 250 mg/Tag	21 Tage
Doxycyclin 100 mg	1 x 200 mg/Tag	1 Tag
Metronidazol 400 mg	1 x 100 mg/Tag	18 Tage
Metronidazol 400 mg	3 x 400 mg/Tag	7 Tage
Metronidazol 400 mg und Amoxicillin 500 mg	3 x 400 mg/Tag	7 Tage
Metronidazol 400 mg und Amoxicillin 500 mg	3 x 500 mg/Tag	7 Tage
Metronidazol 400 mg und Ciprofloxacin 250 mg	3 x 400 mg/Tag	7 Tage
Ciprofloxacin 250 mg	2 x 250 mg/Tag	7 Tage
Amoxicillin 500 mg	3 x 500 mg/Tag	14 Tage
Ciprofloxacin 250 mg	2 x 250 mg/Tag	10 Tage
Clindamycin 300 mg	4 x 300 mg/Tag	7 Tage

Tab. 3: Empfohlene Dosierungen antibiotischer Wirkstoffe im Rahmen der adjuvanten Antibiotika-Therapie nach Wirkstoff, Dosierung und Anwendungsdauer gemäß den Richtlinien der DGZMK.

2.3.3 Antimikrobielle Photodynamische Therapie

Das Therapiesystem zur Durchführung der antimikrobiellen Photodynamischen Therapie umfasst als wesentliche Komponenten einen HELBO[®] TheraLite Laser. Hierbei handelt es sich um einen Diodenlaser mit 670 nm Wellenlänge mit integrierter Leistungssteuerung. Dazu gehören HELBO[®] Faseroptiken, und die HELBO[®] 3D Pocket Probe für infizierte Taschen. Letztere weist eine gewinkelte Optik auf, die für eine dreidimensionale und gleichmäßige Belichtung der Zahnfleischtaschen sorgt.

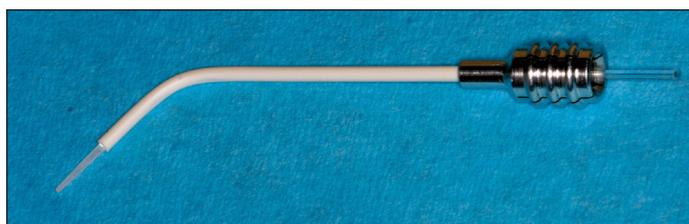


Abb. 16: 3D Pocket Probe 8mm der Fa. Helbo.

Zur Vermeidung einer Keimverschleppung wird ein steriles Einzelprodukt verwendet. HELBO® Blue Photosensitizer ist eine sterile Lösung, die im Glasapplikator mit gewinkelter Soft-Touch-Kanüle geliefert wird.



Abb. 17: Applikationskanüle für Photosensitizer

Der enthaltene lichtaktive Farbstoff, Phenothiazinchlorid, wird zur histologischen und intravitralen Färbung eingesetzt. Seine bakteriensensitivierende Wirkung schont das umliegende Gewebe. Eine CE-Zulassung nach Medizinproduktgesetz liegt vor.



Abb. 18: HELBO® Blue Photosensitizer

Der HELBO® T-Controller (T=Time & Therapy Control) wurde für die Steuerung der relevanten Leistungsparameter eingesetzt.



Abb. 19: Soft-Diodenlaser mit 660 nm und 100 mW Leistung und T-Controller der Fa. Helbo.

Die Einfärbung der Mikroorganismen mit HELBO® Blue Photosensitizer erfolgte nach Angaben des Herstellers mittels Glasapplikator durch Bewegung vom Sulkus der Tasche nach koronal, zirkulär um den Zahn herum. Die Einwirkzeit des Photosensitizers betrug ein bis drei Minuten.

Die nachfolgende Belichtung und Aktivierung des Photosensitizers zur Anregung und Überführung der Photosensitizermoleküle, vom angeregten Singulettzustand in den stabileren Triplettzustand, erfolgte durch zirkuläre Belichtung mit dem HELBO® Therapielaser. Dabei betrug die Einwirkzeit pro Zahn/cm² mindestens eine Minute.



Abb. 20: Applikation des HELBO® Blue Photosensitizers.

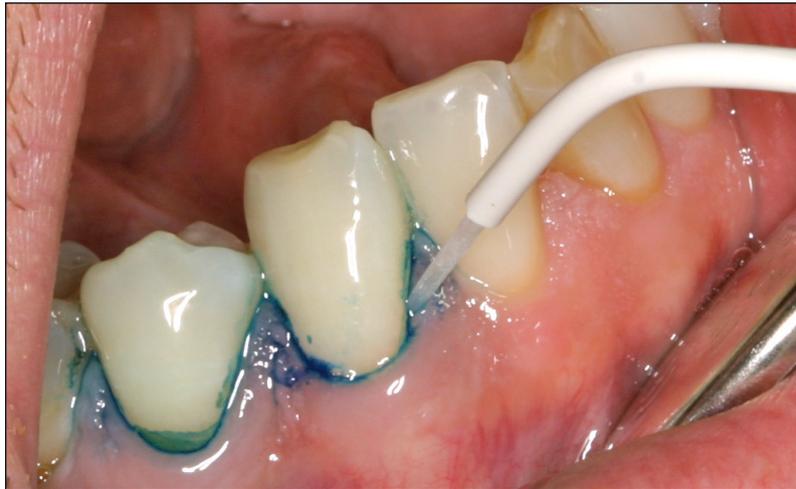


Abb. 21: Lasereinsatz mittels 3D-Pocketprobe der Fa. HELBO®.

2.4 Vorbehandlung, MHI, Compliance

Die zwei Vorbehandlungen erfolgten jeweils eine und zwei Wochen vor der Hauptbehandlung mittels SRP. In den Taschen wurde mit Ultraschallspitzen bis zu den gemessenen Tiefen möglichst atraumatisch eine Belagentfernung durchgeführt. In der Gruppe der mit adjuvanter aPDT behandelten Patienten erfolgte die adjuvante Lasertherapie bereits bei jeder Vorbehandlung. Somit wurde in dieser Gruppe jeder Proband dreimal mittels photodynamischer Therapie zur Keimreduktion behandelt.

Standardisierte Mundhygieneinstruktionen (MHI) zur Verbesserung der häuslichen Mundhygiene wurden gruppenunabhängig durchgeführt. Dazu gehörten adaptierte Putztechnik, adaptierte Interdentalraumpflege und Ernährungslenkung. Zur Steigerung der Compliance wurde in ruhiger Atmosphäre ohne Zeitdruck gearbeitet. Ausreichende Gesprächszeit vor und während der einzelnen Termine bauten negative Aggressionen und Stress ab. Intensive Fürsorge und Aufklärung über die Krankheitsursachen steigerten das Vertrauen in den Arzt und die Behandlung. Zusätzlich sorgte der Erlass aller Zusatzkosten für den Fall der Teilnahme an allen Terminen und erfolgreichen Abschlusses der Behandlungsserie für zusätzliche Motivation.

2.5 Statistische Auswertung

Die Erfassung der Daten erfolgte mit dem Tabellen-Programm der Open Office Software, kompatibel mit Excel aus Microsoft Office. Die statistische Auswertung wurde mit WinStat 3.1 (Kalmia Company, USA) vorgenommen.

Zunächst erfolgt eine deskriptive Auswertung der Variablen mit der Ermittlung von Häufigkeit (n) und Anteil (%). Bei allen durchgeführten statistischen Testverfahren (t-, U-, Wilcoxon-, und Spearman-Test) wird die Irrtumswahrscheinlichkeit in drei Signifikanzniveaus angegeben ($p < 0,1$ schwach signifikant, $p < 0,05$ signifikant und $p < 0,01$ hochsignifikant).

Mit Hilfe des **Wilcoxon-Tests** werden zwei verbundene Stichproben auf Unterschiedlichkeit getestet. Es wird keine bestimmte Verteilungsform vorausgesetzt. Zudem muss die Variable nur ordinalskaliert sein, da nicht die Messwerte selbst, sondern ihre Rangplätze verwendet werden. Ordinalskaliert bedeutet, dass die Daten Wertungen darstellen, wobei die Linearität der Skala nicht gesichert ist. In der vorliegenden Studie wird der Test für den Vergleich der Keimkonzentrationen vor und nach der Behandlung angewandt. Der verbundene t-Test wird bei einer Stichprobe durchgeführt, in der zwei Messungen unter verschiedenen Bedingungen vorgenommen werden. Bei dem Test wird davon ausgegangen, dass die gültigen Differenzen der Variablenpaare normalverteilt sind. Der Test wird für den Vergleich der TT vor und nach der Behandlung angewandt.

Mittels des **U-Tests** (Mann, Whitney und Wilcoxon) werden zwei unverbundene Stichproben derselben Variablen auf Unterschiedlichkeit getestet. Es wird keine bestimmte Verteilungsform vorausgesetzt. Zudem muss die Variable auch hier nur ordinalskaliert sein, da nicht die Messwerte selbst, sondern ihre Rangplätze verwendet werden. Mit dem Test wird ermittelt, ob die Differenz der Keimkonzentrationen vom Geschlecht, der genetischen Disposition und dem Alter der Probanden abhängig ist.

Durch den **t-Test** werden die Mittelwerte zweier unverbundener Stichproben derselben intervallskalierten Variablen auf Unterschiedlichkeit getestet. Intervallskaliert heißt, dass die Variable eine lineare Eigenschaft misst. Die Messwerte müssen normalverteilt sein und die Stichproben die gleiche Varianz aufweisen. Ermittelt wird mit dem Test, ob eine Abhängigkeit der Differenz der TT vom Geschlecht, der genetischen Disposition und dem Alter der Probanden besteht.

Mit Hilfe der **Spearman-Rangkorrelation** werden zwei Variablen auf Korrelation getestet. Die Verteilungsform ist nicht an irgendwelche Maßgaben gebunden, die Variablen brauchen nur ordinalskaliert zu sein. Der Test wird angewandt, um zu ermitteln, ob ein Zusammenhang zwischen den Variablen Alter, zeitlicher Abstand, Differenz der Keimkonzentrationen und Differenz der TT besteht (*Auswahl und Erläuterung zu Testverfahren, von Groddeck, 2010*).

3. ERGEBNISSE

3.1 Verteilung der Probandenmerkmale in den Behandlungsgruppen

Bei der willkürlich vorgenommenen Verteilung der Probanden auf die Behandlungs- und Kontrollgruppe wurden die Kriterien Alter, Geschlecht und zwei genetische Dispositionen untersucht. Die Geschlechterverteilung innerhalb beider Gruppen unterscheidet sich nicht signifikant voneinander ($p=0,805$; Chi²-Test). Die Verteilung der Disposition, einer Risikokonstellation immunogenetischer Marker an Genloci, die für proinflammatorische Mediatoren kodieren, unterscheidet sich ebenfalls nicht signifikant in den beiden Gruppen ($p=0,181$; Chi²-Test). Auch die Verteilung eines anderen Genotyps, der mit einem erhöhten Risiko für aggressive Parodontitis assoziiert ist, unterscheidet sich nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen ($p=0,524$; Chi²-Test).

m/w männlich	Gruppe 1 Antibiotika	Gruppe 2 aPDT-Gruppe	Summen
Häufigkeit	8	11	19
Erwartete Häufigkeit	7,6	11,4	
Zeilenprozent	42,11	57,89	
Spaltenprozent	44,44	40,74	
Totalprozent	17,78	24,44	42,22
Zell-Chi-Quadrat	0,0210526	0,0140351	
weiblich			
Häufigkeit	10	16	26
Erwartete Häufigkeit	10,4	15,6	
Zeilenprozent	38,46	61,54	
Spaltenprozent	55,56	59,26	
Totalprozent	22,22	35,56	57,78
Zell-Chi-Quadrat	0,0153846	0,0102564	
Summen	18	27	45
Prozent	40	60	100

Tab. 4: Die Tabelle zeigt die Geschlechterverteilung der Probanden in den verschiedenen Therapiegruppen. Die prozentuale Verteilung von 57,78% Frauen zu 42,22% Männern im gesamten Probandenpool findet sich in etwa gleichem Verhältnis in den beiden Therapiegruppen (Gruppe 1-Antibiotikagruppe: 55,56% zu 44,44% und Gruppe 2-aPDT-Gruppe: 59,26% zu 40,74%). Auch die prozentuale Verteilung der Probanden auf die Therapiegruppen von 60% (27) in der Gruppe aPDT zu 40% (18) in der Gruppe Antibiotika entspricht dem Verteilungsverhältnis der männlichen Probanden (57,89%-42,11%) zu den weiblichen Probanden (61,54% zu 38,46%).

Die Altersverteilung unterscheidet sich signifikant zwischen den beiden Gruppen ($p=0,0226$; t-Test). Es bestand jedoch in Bezug auf die klinischen Ergebnisse der Studie (Taschentiefenveränderung von Anfang bis Ende der Studie) keine signifikante Korrelation zwischen dem Alter und der Taschentiefenveränderung ($p=0,218$; Spearman Rangkorrelation).

3.2 THERAPIEERGEBNISSE AB GEGEN aPDT

3.2.1 Taschentiefen (TT)

Beim Vergleich der Taschentiefen in Millimetern zwischen den beiden Therapiegruppen zeigt sich vor Beginn der Studie kein signifikanter Unterschied ($p=0,139$, t-Test unabh.). Die mittleren Taschentiefen und somit der Schweregrad der parodontalen Destruktion ist in beiden Therapiegruppen gleichmäßig verteilt (Abbildung 22). Auch die Veränderungen der Taschentiefen zwischen 3 und 6 Monaten unterscheidet sich in den Gruppen nicht signifikant ($p=0,915$, t-Test unabh.) voneinander. Die Veränderung in den ersten 3 Monaten und über den gesamten Beobachtungszeitraum von 6 Monaten ist jedoch signifikant ($p=0,030$, t-Test unabh.) und hoch signifikant ($p=0,000797$, t-Test unabh.) wie in Abbildung 23 anschaulich dargestellt ist.

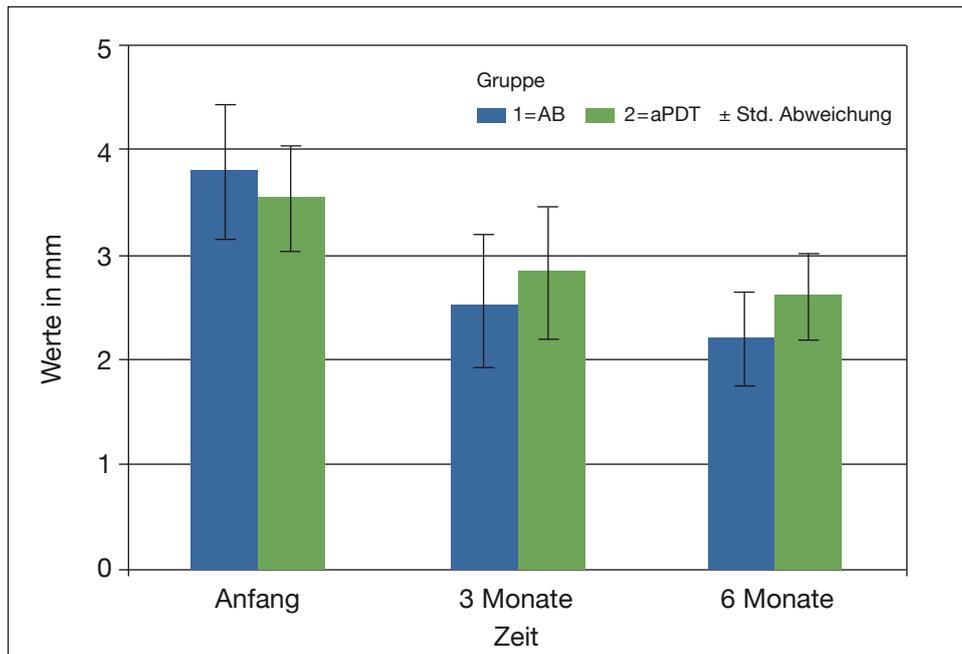


Abb. 22: Taschentiefen (Mittelwerte) in mm während des gesamten Studienverlaufs. Die Taschentiefen beider Therapiegruppen werden zu Beginn der Studie, nach 3 Monaten und nach 6 Monaten dargestellt. Aus dem Säulendiagramm ist die stärkere Verringerung der Taschentiefen in der Antibiotikagruppe (blau) im Vergleich zur aPDT-Gruppe (grün) ersichtlich. Besonders deutlich ist die Verringerung während der ersten 3 Monate, während sie in den folgenden 3 Monaten sich nicht signifikant zwischen den Therapieformen unterscheidet.

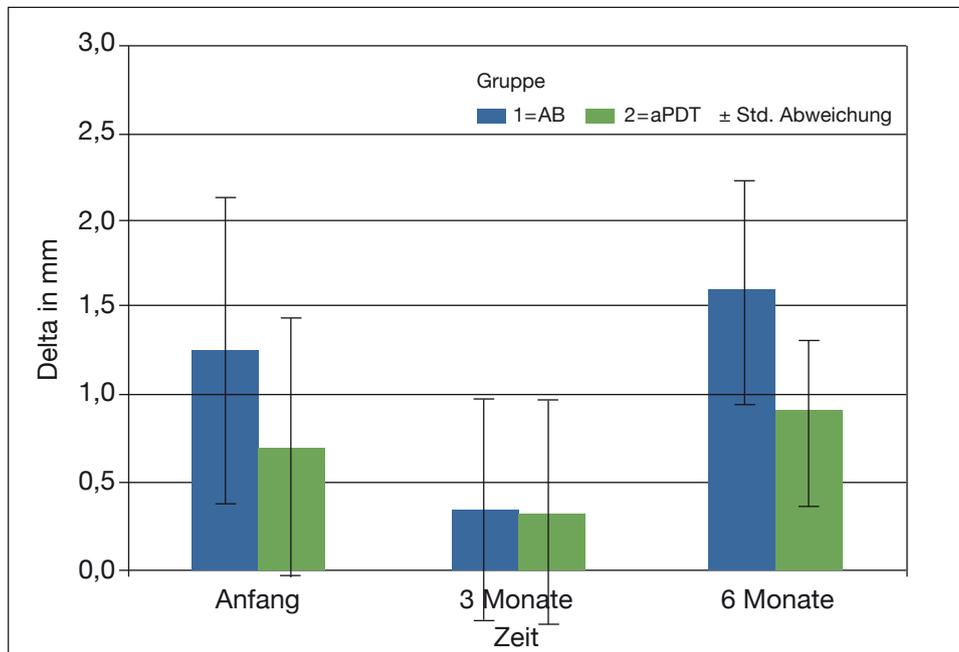


Abb. 23: Veränderung (delta) der Taschentiefen (TT) beider Therapiegruppen AB/aPDT in mm über den gesamten Zeitraum der Studie. Während die Veränderung der TT zwischen 3 und 6 Monaten in beiden Gruppen annähernd identisch verläuft, zeigt die Darstellung deutlich die signifikant größere Verringerung der Taschentiefen in der Antibiotikagruppe (blau) während der ersten 3 Monate und die hochsignifikante Verringerung gegenüber der aPDT-Gruppe (grün) über den gesamten Zeitraum der Studie.

Vergleicht man den klinischen Verlauf der Taschentiefen innerhalb der Therapiegruppen, so ist festzustellen, dass nicht nur an den gemittelten Messstellen der erkrankten Zähne eine Taschentiefenreduktion über den Behandlungszeitraum stattfindet, sondern auch die gesunden Kontrollstellen eine wenn auch geringere Reduktion in den Taschentiefen erfahren (Abbildungen 24 und 25). Der Effekt ist in der Antibiotikagruppe messbar größer als in der aPDT-Gruppe. Dies gilt sowohl für erkrankte, als auch für gesunde Kontrollstellen.

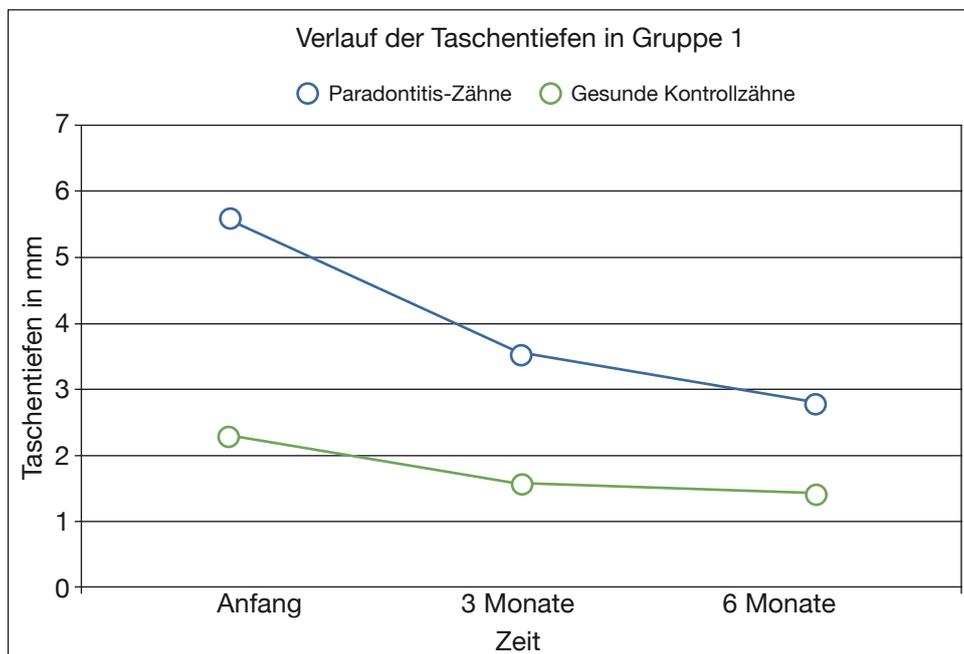


Abb. 24: Vergleich der Taschentiefenreduktion (gemittelt) in mm erkrankter Zähne und gesunder Kontrollstellen innerhalb der mit adjuvanter Antibiotikagabe therapierten Patienten. Auch hier wird die stärkste Reduktion parodontaler Taschen in den ersten 3 Monaten gemessen. Der generelle Verlauf der gesunden Kontrollstellen gleich dem der erkrankten Taschen. Durch die generell geringere Ausgangstiefe der Tasche ist die Veränderung entsprechend geringer.

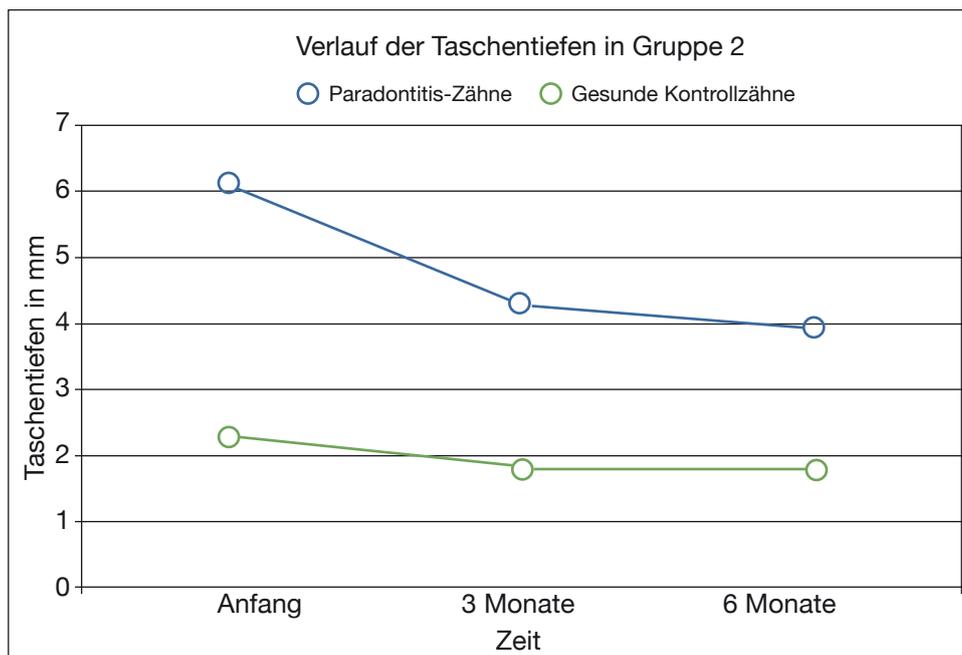


Abb. 25: Vergleich der Taschentiefenreduktion (gemittelt) in mm erkrankter Zähne und gesunder Kontrollstellen innerhalb der mit adjuvanter photodynamischer Therapie behandelten Patientengruppe. Auch hier wird die stärkste Reduktion parodontaler Taschen in den ersten 3 Monaten gemessen. Der generelle Verlauf der gesunden Kontrollstellen gleich dem der erkrankten Taschen. Durch die generell geringere Ausgangstiefe der Tasche ist die Veränderung entsprechend geringer.

3.2.2 Bakterien / Keimkategorien

Die bakterielle Besiedelung der Taschen in Bezug auf die gemessenen Markerkeime für Parodontitis unterscheidet sich zu Beginn der Studie nicht signifikant voneinander. Für die einzelnen Keime ergeben sich folgende nicht signifikante Werte: A.a. ($p=0,493$, U-Test), P.i. ($p=0,800$, U-Test), P.g. ($p=0,192$, U-Test), B.f. ($p=0,357$, U-Test), T.d. ($p=0,296$, U-Test). Die Ausgangssituation zwischen den Therapiegruppen ist als gleichwertig zu bezeichnen. Im Zuge der Parodontitistherapie kommt es vor allem in der Antibiotikagruppe während der ersten 3 Monate der Therapie zu einer ausgeprägten Keimzahlverminderung aller Markerkeime. Danach sind die Veränderungen nur noch marginal (Abbildung 26). In der aPDT-Gruppe ist die beschriebene signifikante Keimzahlverringering nur für die Keime P.g. und P.i. Zu beobachten. Die Zahl von Treponemen (T.d.) nimmt hier sogar in den ersten 3 Monaten nach der Therapie leicht zu. Speziell P.g. nimmt an Menge in den Monaten 3 bis 6 überdurchschnittlich zu (Abbildung 27).

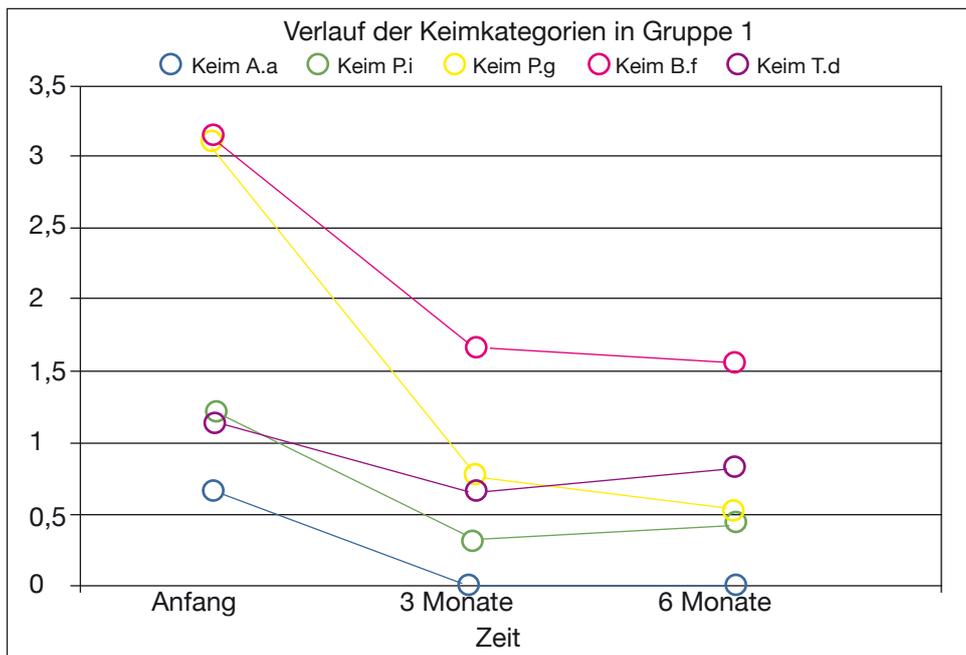


Abb. 26: Entwicklung der Markerkeime in den Zahnfleischtaschen über den gesamten Studienverlauf in der Antibiotikagruppe. Deutlich zu erkennen ist die Keimzahlverringern aller Markerkeime innerhalb von 3 Monaten nach Therapiebeginn. Das erreichte Niveau wird ausnahmslos gehalten und es kommt zu keinem signifikanten Wiederanstieg innerhalb von 6 Monaten.

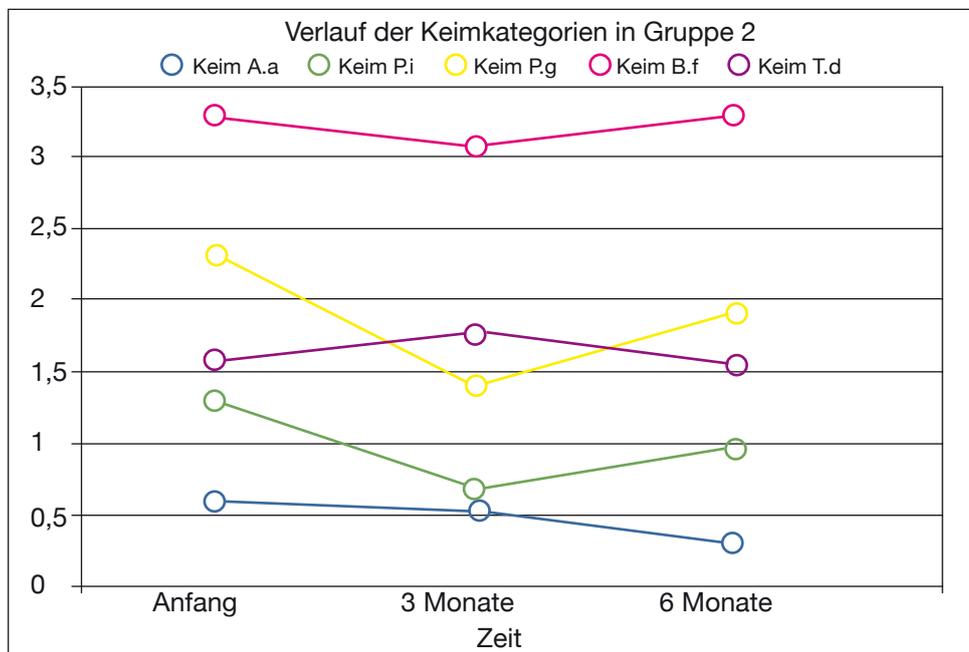


Abb. 27: Entwicklung der Markerkeime in den Zahnfleischtaschen über den gesamten Studienverlauf in der aPDT-Gruppe. Die Keimzahlen lassen sich über einen Zeitraum von 6 Monaten nicht signifikant verringern. Lediglich P.g. und P.i. Zeigen eine deutliche Keimzahlreduktion über den Zeitraum von 0 bis 3 Monaten, steigen danach aber wieder auf Werte ähnlich den Ausgangswerten.

Addiert man die Keimzahlwerte aller Probanden einer Gruppe zu jedem Zeitpunkt der Studie, wobei die Werte (0-4) stellvertretend für die Keimzahlen ($<1 \times 10^4$ bis $>1 \times 10^6$) zusammengenommen werden, lassen sich die Ergebnisse für beide Therapiegruppen wie folgt graphisch darstellen (Abbildungen 28 u. 29). Da die Höhe der Säulen von der Probandenzahl einer Gruppe abhängt, ist die Dimensionen der Ordinate so angepasst, dass die Ausgangswerte beider Diagramme optisch angeglichen erscheinen. Die Werte der Ordinate sind in diesem Vergleich beider Therapiegruppen nicht von Bedeutung. Die Zahlenwerte der Keime eines jeden Probanden reichen von 0 (unterhalb der Nachweisgrenze) bis 4 (sehr hoher Nachweis, mehr oder wesentlich mehr als ca. 10^6). Zu jedem Zeitpunkt der Messungen wurden die Keimzahlen der Probanden für beide Gruppen separat voneinander addiert.

Keimzahlwerte entsprechen den nachfolgenden tatsächlichen Keimzahlkonzentrationen:

- 0** unter der Nachweisgrenze von 10^4
- 1** geringer Nachweis, bis ca. 5×10^4
- 2** mittlerer Nachweis, bis ca. 2×10^5
- 3** hoher Nachweis, bis ca. 10^6
- 4** sehr hoher Nachweis, mehr oder wesentlich mehr als ca. 10^6

Die nachfolgenden Abbildungen 29 und 30 enthalten die addierten Keimzahlwerte der Probanden der jeweiligen Therapiegruppen.

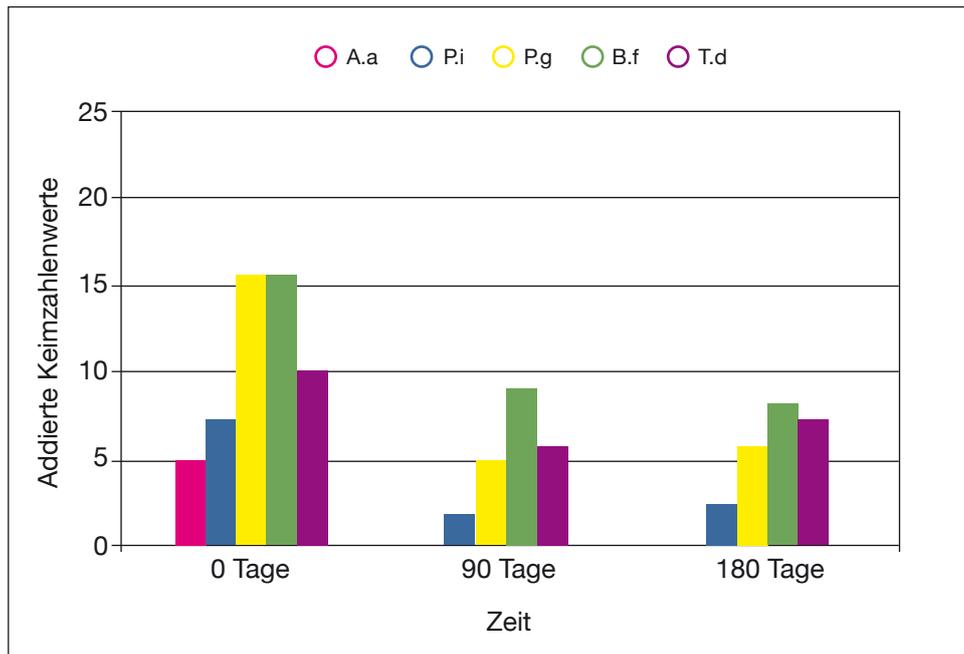


Abb. 28: Entwicklung der festgestellten Mengen der jeweiligen Markerkeime bei den Probanden der Gruppe 1 (Antibiotika-Gruppe). Zu erkennen sind sowohl die unterschiedlich hohe Besiedelung der Taschen mit den verschiedenen Markerkeimen, sowie die Reduzierung der Keime in den ersten 3 Monaten. Darüber hinaus bleiben die Bakterienzahlen konstant niedrig.

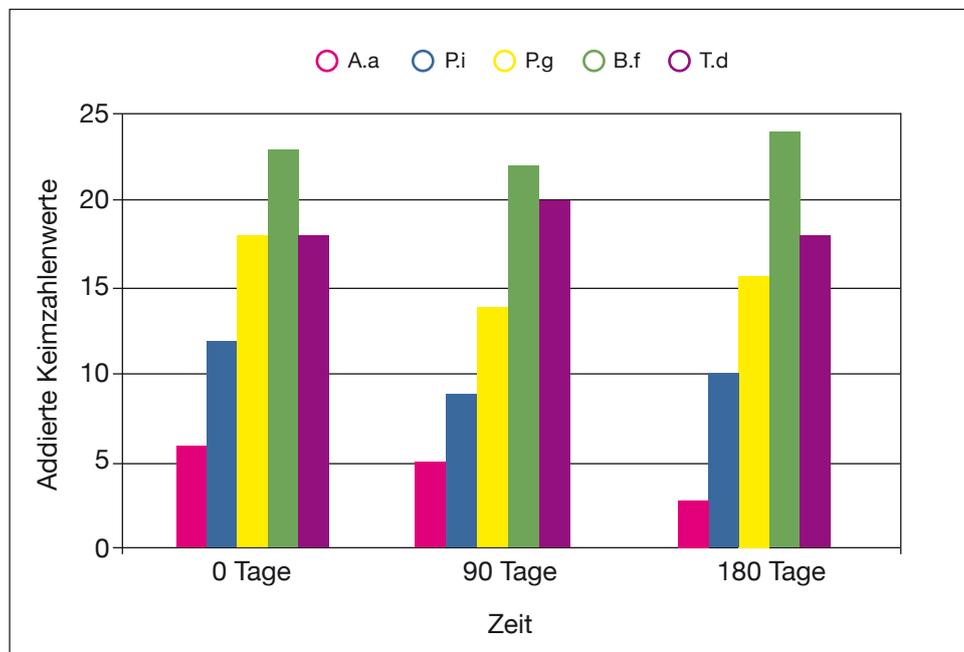


Abb. 29: Entwicklung der festgestellten Mengen der jeweiligen Markerkeime bei den Probanden der Gruppe 2 (aPDT-Gruppe). Im Vergleich zur Antibiotika-Gruppe (Abbildung 28) findet hier vom Beginn der Studie bis zu deren Ende nahezu keine Veränderung der Keimzahlen aller Markerkeime statt.

3.2.3 aMMP-8 Verläufe

Bei den Abbildungen 30 bis 33 handelt es sich um die Darstellung der Verläufe von aMMP-8 in ng/ml während des 6-monatigen Studienverlaufs. Hierbei werden wie bei der graphischen Darstellung der Taschentiefen in den Abbildungen 24 und 25 die erkrankten Taschen mit den gesunden Kontrollstellen verglichen. Abbildungen 30 und 31 enthält die jeweiligen Medianwerte, während die Abbildungen 32 und 33 aus den Mittelwerten erstellt wurden. Abweichung der beiden Angaben informiert darüber, ob die Verteilung symmetrisch ist bzw. ob der Mittelwert von Ausreißern beeinflusst wird. Bei Reaktionszeiten, Altersangaben etc., generell vor allem bei Daten mit einem „natürlichen“ Nullpunkt, kann es schiefe Verteilungen, Ausreißer und Extremwerte nach oben geben, die den Mittelwert natürlich hoch ziehen. Dieser Effekt ist bei der durchgeführten Mittelung der aMMP-8 Werte zu beobachten. Für beide Betrachtungsweisen ergibt sich erwartungsgemäß ein Absinken des aMMP-8 nach einem Monat. Während dieser Effekt bei den Probanden der Antibiotikagruppe über 6 Monate annähernd stabil bleibt, geht er innerhalb der aPDT-Gruppe zumindest zum Teil wieder verloren. In Analogie zu den TT der Kontrollzähne nimmt auch der aMMP-8 der Kontrollzähne gleichermaßen ab. Dies zeigt sich besonders gut in der Darstellung der Mittelwerte, bei welcher hohe Werte besonders durchschlagen. Die wieder ansteigenden Werte nach 1 bzw. 3 Monaten gehen mit dem Verlauf der TT konform, stehen aber in keinem Zusammenhang zu den Bakterienverläufen (Abbildungen 26-29).

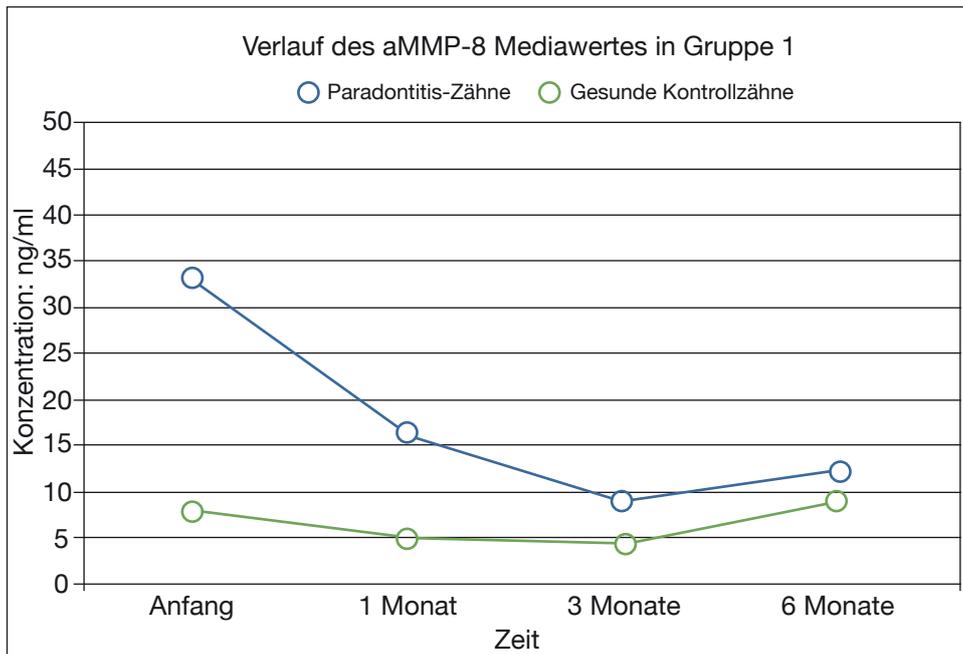


Abb. 30: Zeitliche Entwicklung der aMMP-8 Medianwerte in den Taschen an Parodontitis erkrankter Zähne (blau) und gesunder Kontrollzähne (grün) in Behandlungsgruppe 1 (Antibiotika-Gruppe). Man sieht deutlich die Abnahme von aMMP-8 auf ein Niveau um 10ng/ml innerhalb von einem Monat. Der Effekt ist relativ stabil über den 6 monatigen Studienverlauf. In Analogie zu den TT ist auch eine geringfügige Abnahme des aMMP-8 bei Messungen der gesunden Kontrolltaschen festzustellen.

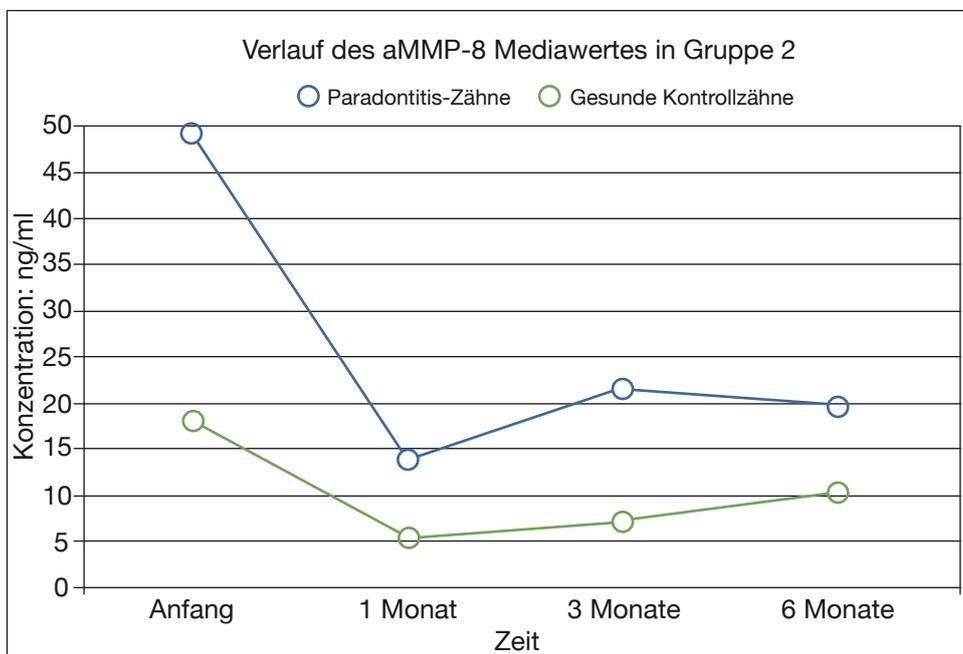


Abb. 31: Zeitliche Entwicklung der aMMP-8 Medianwerte in den Taschen an Parodontitis erkrankter Zähne (blau) und gesunder Kontrollzähne (grün) in Behandlungsgruppe 2 (aPDT-Gruppe). Man sieht deutlich die Abnahme von aMMP-8 auf ein Niveau um 10ng/ml innerhalb von einem Monat. Der Effekt geht über den 6 monatigen Studienverlauf dann teilweise wieder verloren. In Analogie zu den TT ist auch eine geringfügige Abnahme des aMMP-8 bei Messungen der gesunden Kontrolltaschen festzustellen.

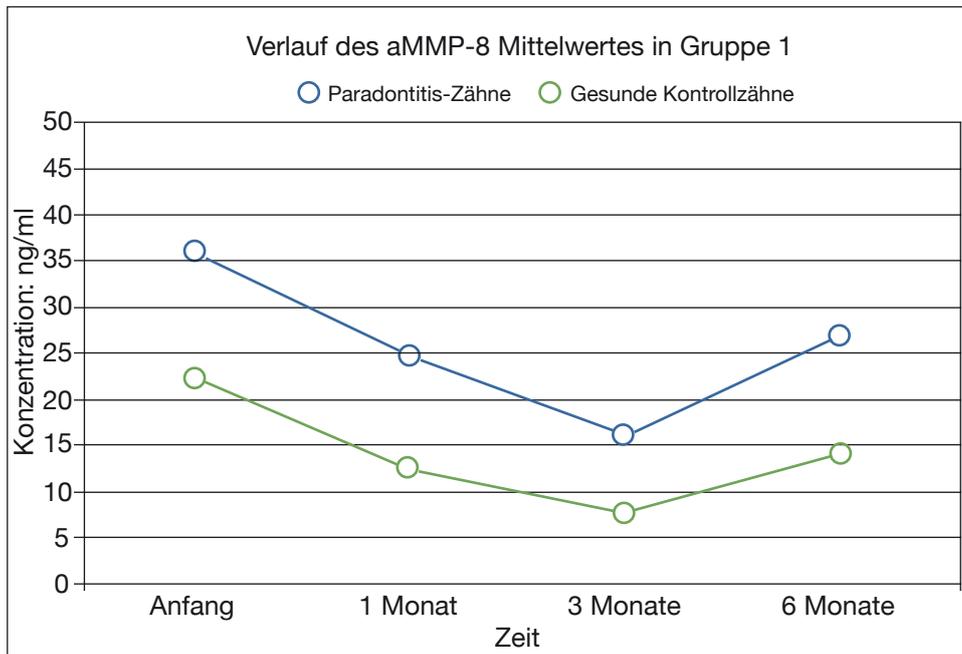


Abb. 32: Zeitliche Entwicklung der aMMP-8 Mittelwerte in den Taschen an Parodontitis erkrankter Zähne (blau) und gesunder Kontrollzähne (grün) in Behandlungsgruppe 1 (Antibiotika-Gruppe). Man sieht deutlich die Abnahme von aMMP-8 auf ein Niveau um 15 ng/ml innerhalb von 3 Monaten. Der Effekt ist relativ stabil über den 6 monatigen Studienverlauf. In Analogie zu den TT ist auch eine Abnahme des aMMP-8 bei Messungen der gesunden Kontrolltaschen festzustellen. Die Mittelwerte der Kontrolltaschen liegen aber deutlich über den Medianwerten.

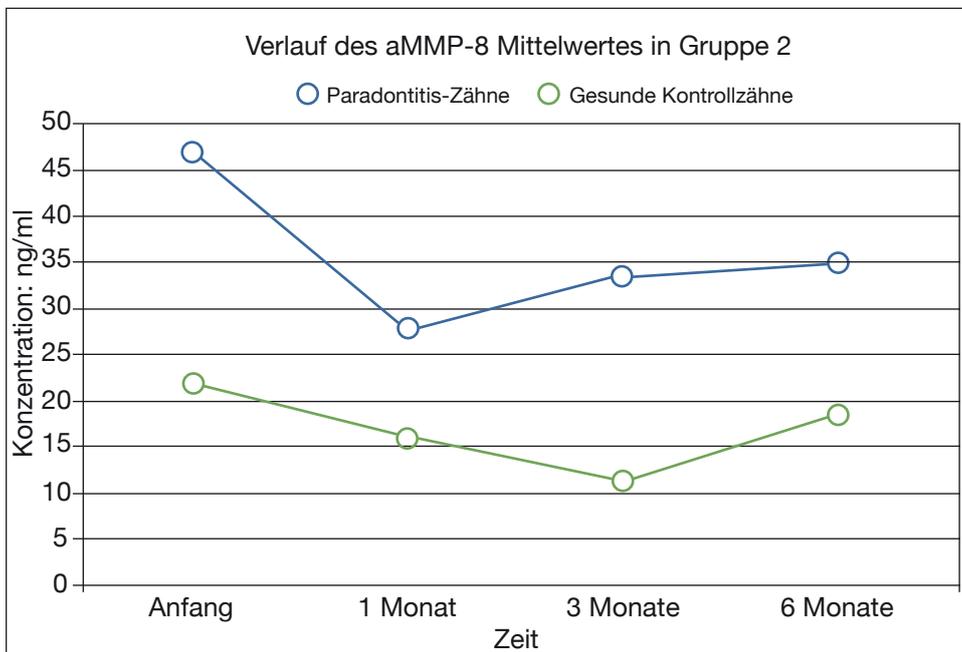


Abb. 33: Zeitliche Entwicklung der aMMP-8 Mittelwerte in den Taschen an Parodontitis erkrankter Zähne (blau) und gesunder Kontrollzähne (grün) in Behandlungsgruppe 2 (aPDT-Gruppe). Man sieht die Abnahme von aMMP-8 auf ein im Vergleich zur Gruppe 1 hohes Niveau um 30 ng/ml innerhalb von 1 Monat, der dann auf über den 6 monatigen Studienverlauf wieder ansteigt. In Analogie zu den TT ist auch eine Abnahme des aMMP-8 bei Messungen der gesunden Kontrolltaschen festzustellen. Die Mittelwerte der Kontrolltaschen liegen aber deutlich über den Medianwerten.

3.2.4 MMP-8 und TT

a) Patientenbezogene Auswertung

Die Abbildungen 34-37 zeigen die auf die Patienten bezogene Auswertung der aMMP-8 Werte (grün) und der TT (blau) während des 6 monatigen Studienverlaufs. Für die Abbildungen 34 und 35 wurden die Mittelwerte aMMP-8 gegen die TT aufgetragen und in den Abbildungen 36 und 37 die Medianwerte aMMP-8 gegen die TT. In der Antibiotikagruppe (Abbildungen 34 und 36) verlaufen TT und aMMP-8 relativ gleichsinnig. In der Gruppe 2 (aPDT-Gruppe) verschlechtern sich aMMP-8-Werte bereits nach 3 Monaten wieder. In der patientenbezogenen Betrachtungsweise erscheinen TT und aMMP-8 ähnliche Aussagen zu ergeben.

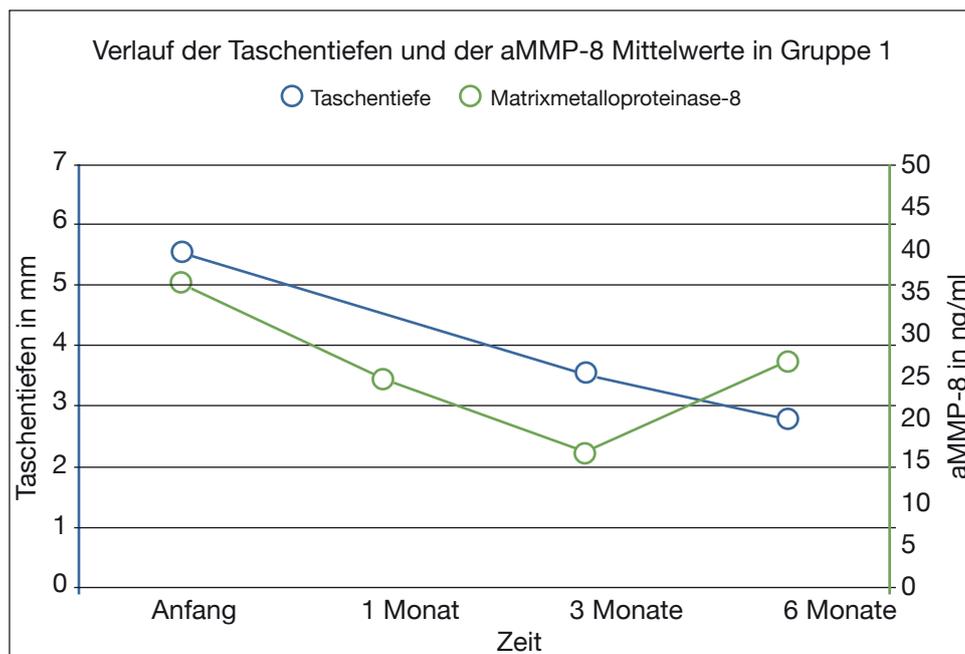


Abb. 34: Veränderung der aMMP-8 Mittelwerte (grün) und der Taschentiefen (blau) in Behandlungsgruppe 1 (Antibiotika-Gruppe). Die Mittelwerte der aMMP-8 Messungen verlaufen gleichsinnig mit den TT-Werten. Nach 3 Monaten steigen aMMP-8 Werte wieder an, während die TT weiter rückläufig bleiben.

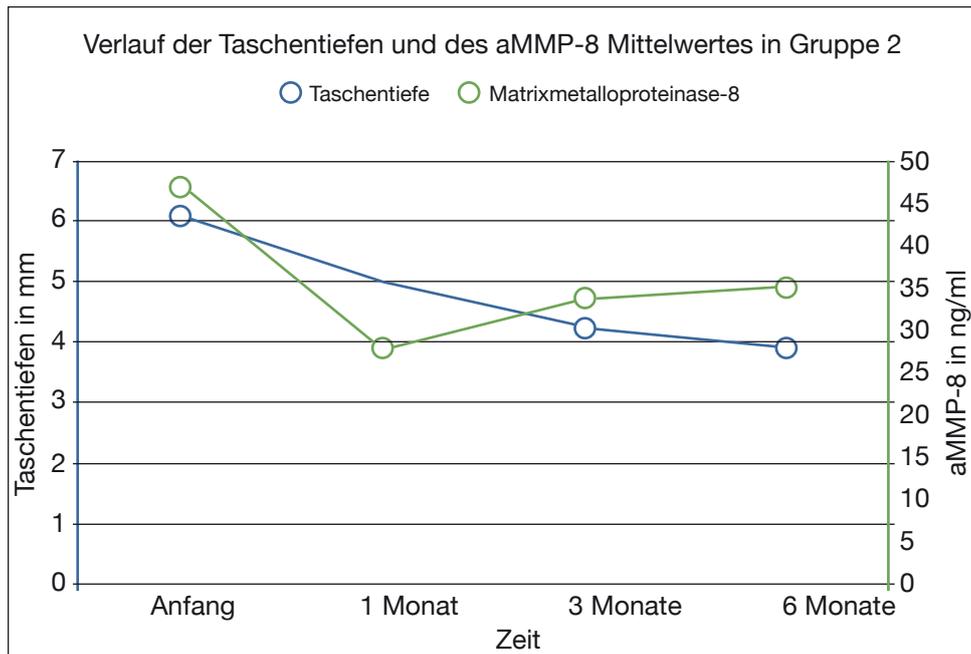


Abb. 35: Veränderung der aMMP-8 Mittelwerte (grün) und der Taschentiefen (blau) in Behandlungsgruppe 2 (aPDT-Gruppe). Die Mittelwerte der aMMP-8 Messungen verlaufen gleichsinnig mit den TT-Werten. Nach bereits 1 Monat steigen aMMP-8 Werte wieder geringfügig an, während die TT weiter rückläufig bleiben. Das Ausmaß der Verbesserung der TT ist jedoch geringer als in der Antibiotikagruppe.

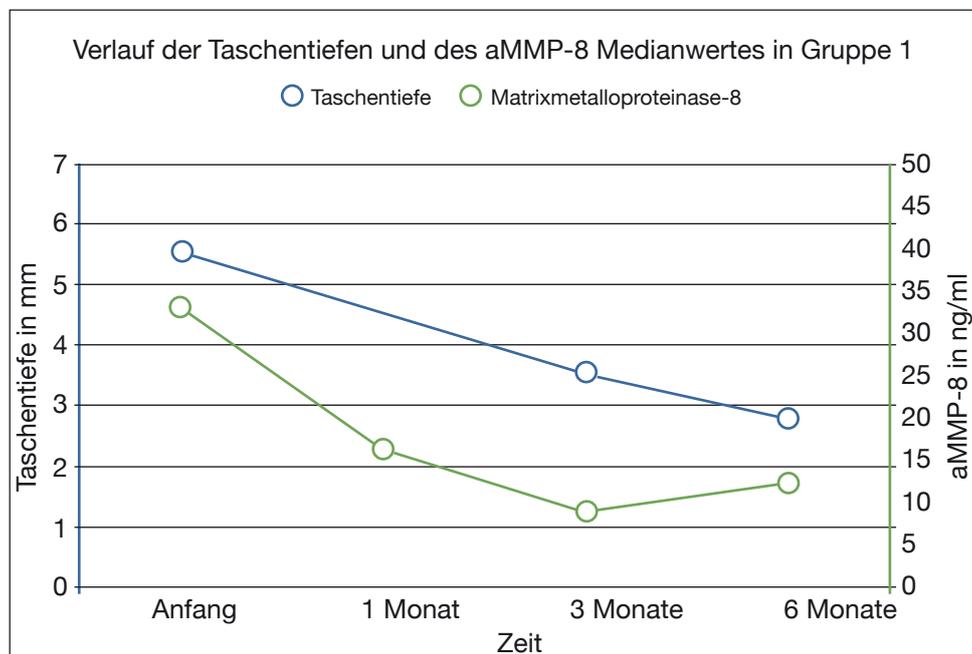


Abb. 36: Veränderung der aMMP-8 Medianwerte (grün) und der Taschentiefen (blau) in Behandlungsgruppe 1 (Antibiotika-Gruppe). Die Medianwerte der aMMP-8 Messungen verlaufen gleichsinnig mit den TT-Werten. Nach 3 Monaten steigen aMMP-8 Medianwerte unwesentlich geringer als die Mittelwerte (Abbildung 35) wieder an, während die TT weiter rückläufig bleiben.

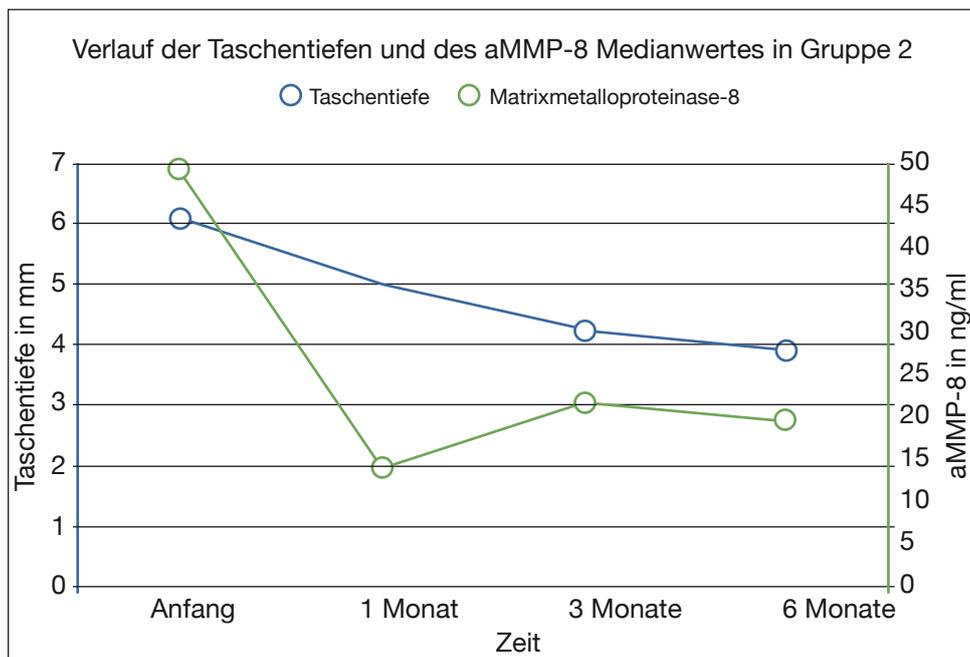


Abb. 37: Veränderung der aMMP-8 Medianwerte (grün) und der Taschentiefen (blau) in Behandlungsgruppe 2 (aPDT-Gruppe). Die Medianwerte der aMMP-8 Messungen verlaufen gleichsinnig mit den TT-Werten. Nach bereits 1 Monat steigen aMMP-8 Werte wieder geringfügig an, während die TT weiter rückläufig bleibt. Das Ausmaß der Verbesserung der TT ist jedoch geringer als in der Antibiotikagruppe.

b) Site-bezogene Betrachtung

Wegen der Zeitachse ergeben sich hier $3 \times 2 = 6$ Diagramme. Die Abbildungen 38, 39 und 40 zeigen den Zusammenhang von gemessenen aMMP-8-Werten und den dazugehörigen TT einzelner Messstellen (Sites). Alle Messstellen werden zu Beginn (Abbildung 38), nach 3 Monaten (Abbildung 39) und nach 6 Monaten (Abbildung 40) mit ihren entsprechenden TT und den dazugehörigen Enzymwerten aufgetragen. Die Abbildungen 41, 42 und 43 zeigen den Zusammenhang von gemittelten aMMP-8 Werten und TT der einzelnen Patienten. Abbildung 41 zu Beginn, Abbildung 42 nach 3 Monaten und Abbildung 43 nach 6 Monaten. Alle Diagramme zeigen eine mehr oder weniger chaotische Verteilung der aMMP-8-Werte auf verschiedene Taschentiefen. Betrachtet man einzelne Sites, so ist kein Zusammenhang zwischen Enzymwerten und Taschentiefen feststellbar. Zwar stellt man auch bei dieser Betrachtungsweise eine Reduktion der TT durch Therapie, wie auch eine Häufung der aMMP-8-Werte zwischen 0-20 ng/ml nach durchgeführter Therapie fest, aber eine Veränderung des direkten Bezuges beider Parameter lässt sich nicht feststellen.

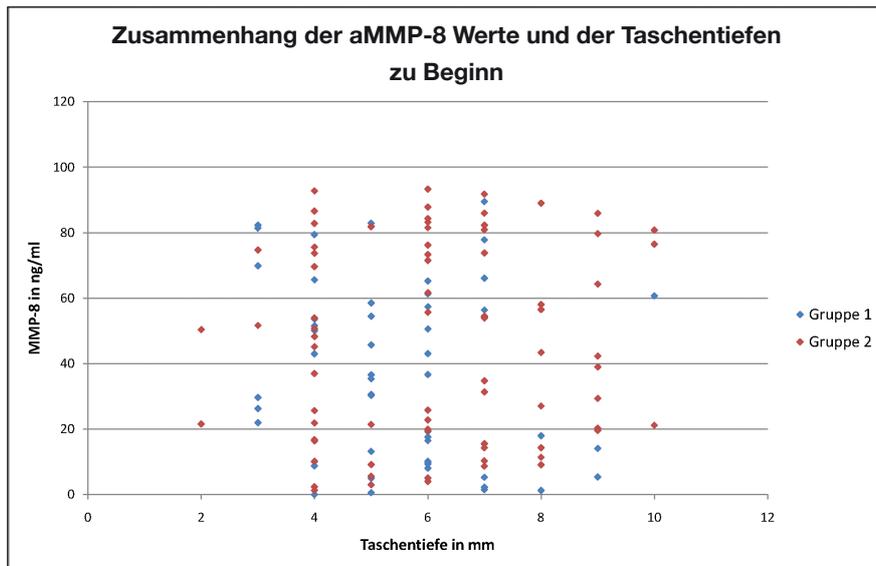


Abb. 38: Site-bezogene Darstellung zu Beginn der Therapie. Alle Messstellen mit ihrem jeweiligen aMMP-8 Wert und der dazugehörigen Taschentiefe wurden aufgetragen. Die Gruppen sind farblich markiert Gruppe 1 (AB-Gruppe) blau und Gruppe 2 (aPDT- Gruppe) rot. Es lassen sich zu bestimmten TT keine aMMP-8-Werte zuordnen.

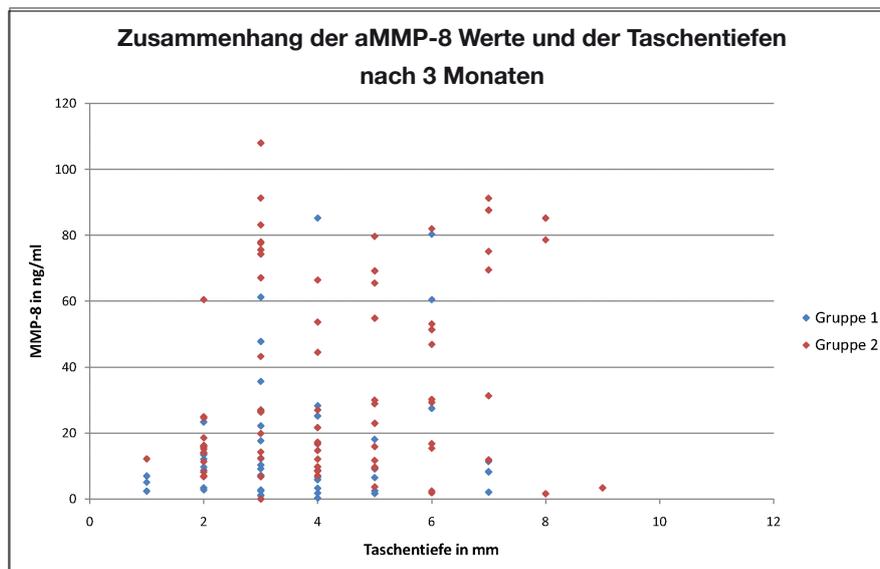


Abb. 39: Site-bezogene Darstellung 3 Monate nach Therapiebeginn. Alle Messstellen mit ihrem jeweiligen aMMP-8 Wert und der dazugehörigen Taschentiefe wurden aufgetragen. Die Gruppen sind farblich markiert Gruppe 1 (AB-Gruppe) blau und Gruppe 2 (aPDT- Gruppe) rot. Es ist eine deutliche in weiten Teilen gruppenunabhängige Verringerung der TT und aMMP-Werte zu erkennen (vgl. Abbildung 38). Es lassen sich zu bestimmten TT jedoch keine aMMP-8-Werte zuordnen.

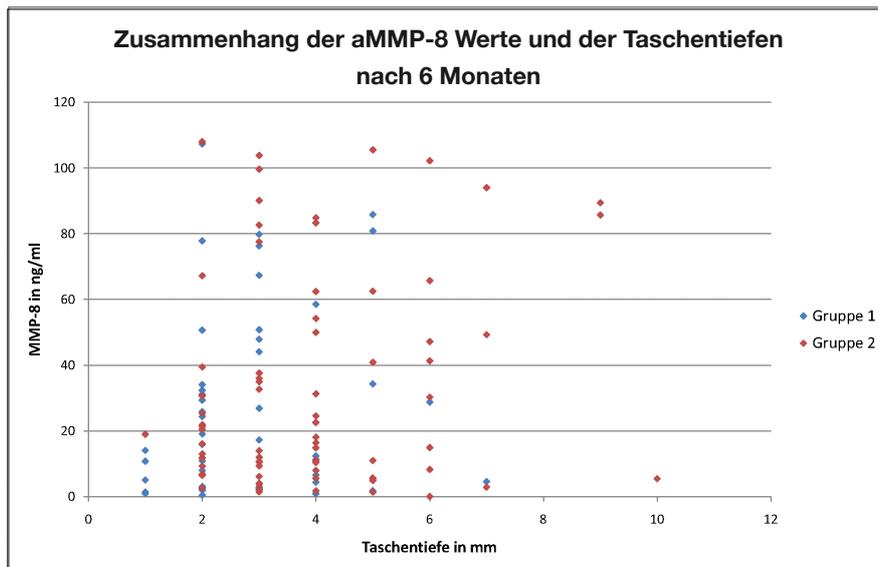


Abb. 40: Site-bezogene Darstellung 6 Monate nach Therapiebeginn. Alle Messstellen mit ihrem jeweiligen MMP-8 Wert und der dazugehörigen Taschentiefe wurden aufgetragen. Die Gruppen sind farblich markiert Gruppe 1 (AB-Gruppe) blau und Gruppe 2 (aPDT- Gruppe) rot. Es ist eine deutliche in weiten Teilen gruppenunabhängige Verringerung der TT und aMMP-Werte zu erkennen (vgl. Abbildung 38). Es lassen sich zu bestimmten TT jedoch keine aMMP-8-Werte zuordnen.

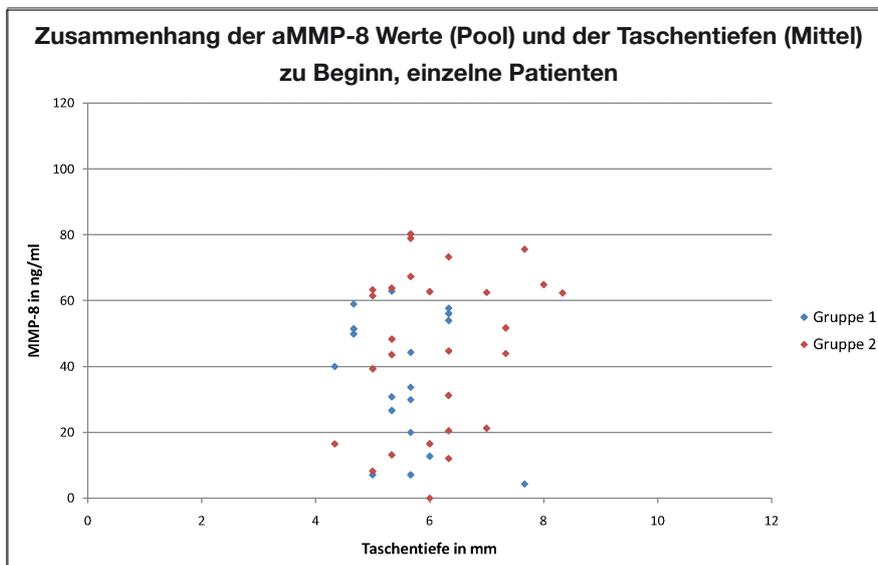


Abb. 41: Site-bezogene Darstellung gemittelter aMMP-8-Werte und TT einzelner Patienten zu Beginn der Therapie. Patienten werden mit ihrem jeweiligen MMP-8 Wert (Pool) und der dazugehörigen gemittelten Taschentiefe aufgetragen. Die Gruppen sind farblich markiert: Gruppe 1 (AB-Gruppe) blau und Gruppe 2 (aPDT- Gruppe) rot. Es lassen sich zu bestimmten TT keine aMMP-8-Werte zuordnen.

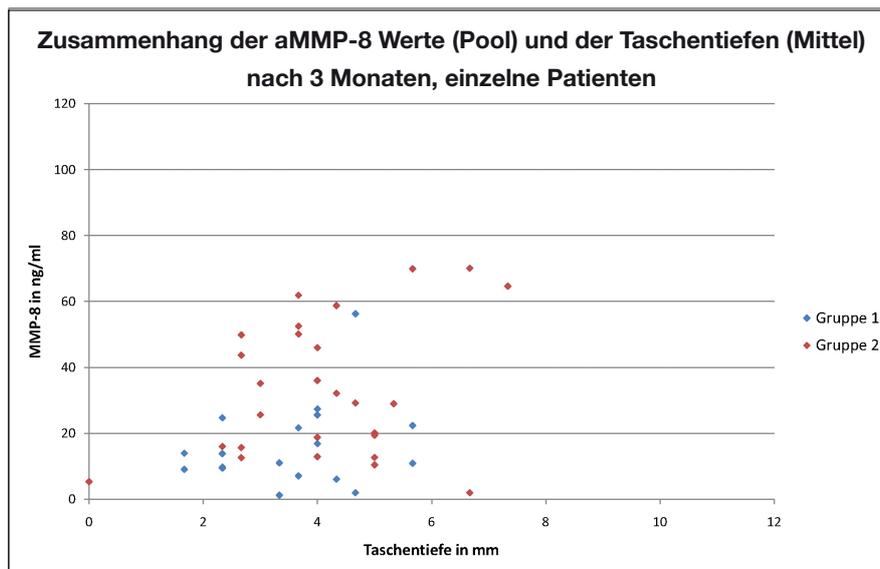


Abb. 42: Site-bezogene Darstellung gemittelter aMMP-8-Werte und TT einzelner Patienten 3 Monate nach Therapiebeginn. Patienten werden mit ihrem jeweiligen MMP-8 Wert (Pool) und der dazugehörigen gemittelten Taschentiefe aufgetragen. Die Gruppen sind farblich markiert: Gruppe 1 (AB-Gruppe) blau und Gruppe 2 (aPDT- Gruppe) rot. Es ist eine deutliche in weiten Teilen gruppenunabhängige Verringerung der TT und aMMP-Werte zu erkennen (vgl. Abbildung 41). Es lassen sich zu bestimmten TT jedoch keine aMMP-8-Werte zuordnen.

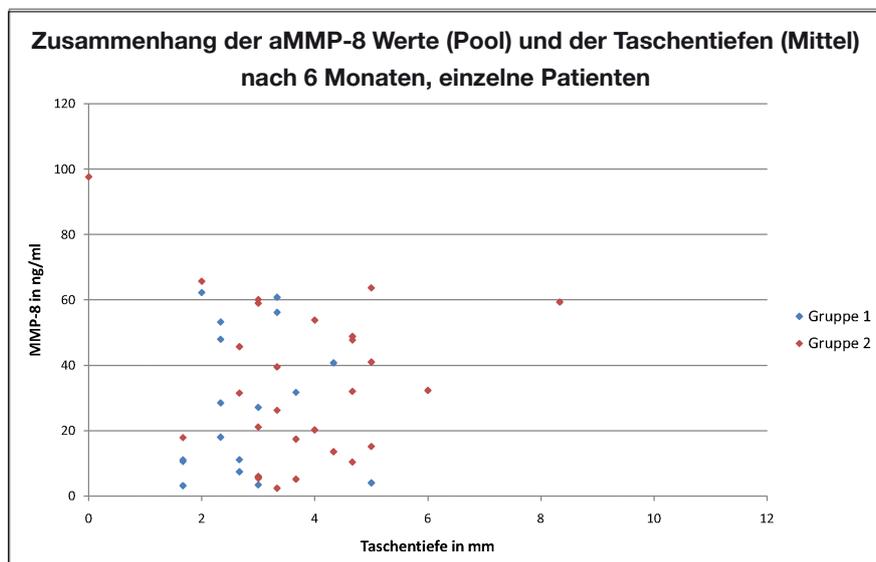


Abb. 43: Site-bezogene Darstellung poolter aMMP-8-Werte und gemittelter TT einzelner Patienten 6 Monate nach Therapiebeginn. Patienten werden mit ihrem jeweiligen MMP-8 Wert (Pool) und der dazugehörigen gemittelten Taschentiefe aufgetragen. Die Gruppen sind farblich markiert: Gruppe 1 (AB-Gruppe) blau und Gruppe 2 (aPDT- Gruppe) rot. Es ist eine deutliche in weiten Teilen gruppenunabhängige Verringerung der TT und aMMP-Werte zu erkennen (vgl. Abbildung 41). Es lassen sich zu bestimmten TT jedoch keine aMMP-8-Werte zuordnen.

Die Enzymwerte (aMMP-8) der erkrankten und gesunden Taschen zu Beginn der Studie unterscheiden sich hochsignifikant voneinander ($p < 0,0001$; Wilcoxon-Test). Tabelle 5 zeigt die gepoolten Anfangswerte, sowie die gemittelten Anfangswerte des aMMP-8 erkrankter Taschen jeweils in Bezug auf die gesunden Kontrolltaschen. Die Veränderung der Markerkeimzahlen korrelieren nicht signifikant mit Taschentiefen und Enzymwerten ($p > 0,05$; Spearman Rangkorrelation).

Variable:	aMMP8-Mess.Kont.-Anf.				
Variable:	aMMP8-Mess.Pool.-Anf.				
Unterschiede	N	Rangsumme	Z	P1	P2
Negativ	37	882			
Positiv	6	64	-4,94	3,93E-07	7,87E-07
Null	0				
Variable:	aMMP8-Mess.Kont.-Anf.				
Variable:	aMMP8-Mess.Mit.-Anf.				
	N	Rangsumme	Z	P1	P2
Negativ	37	793			
Positiv	6	153	-3,86	5,58E-05	1,12E-04
Null	0				

Tab. 5: Die Enzymwerte erkrankter (Poolprobe / Mittelwerte) und gesunder (Kontroll-)Taschen unterscheiden sich hochsignifikant ($p < 0,0001$, Wilcoxon-Test).

3.3 Genetische Dispositionen und Behandlungsergebnisse

3.3.1 aMMP-8

Die Veränderung der aMMP-8 Enzymwerte während der Parodontaltherapie ist verglichen mit der genetischen Disposition für Aggressive Parodontitiden (Agg) nicht signifikant (Abbildungen 44 und 45). Bei einem Vergleich mit dem Polymorphismus im Interleukinbereich (P/I) zeigen sich Tendenzen bei zwei der 14 aMMP-8 Pool- und Mittelwerte und eine signifikante Korrelation (Abbildungen 46 und 47).

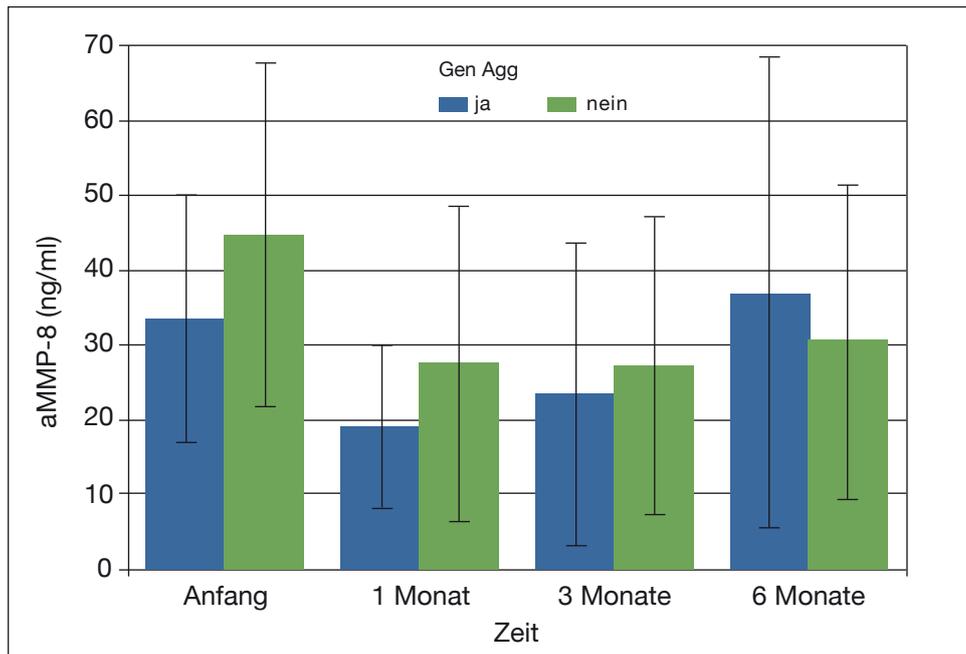


Abb. 44: Gemittelte aMMP-8 Werte der Probanden mit (blau) und ohne (grün) genetische Disposition für aggressive Parodontitiden (Agg). Die Ausgangswerte, sowie der Verlauf zeigen keine erhöhten Enzymwerte vor Beginn der Studie und keinen unterschiedlichen Verlauf während der Therapie.

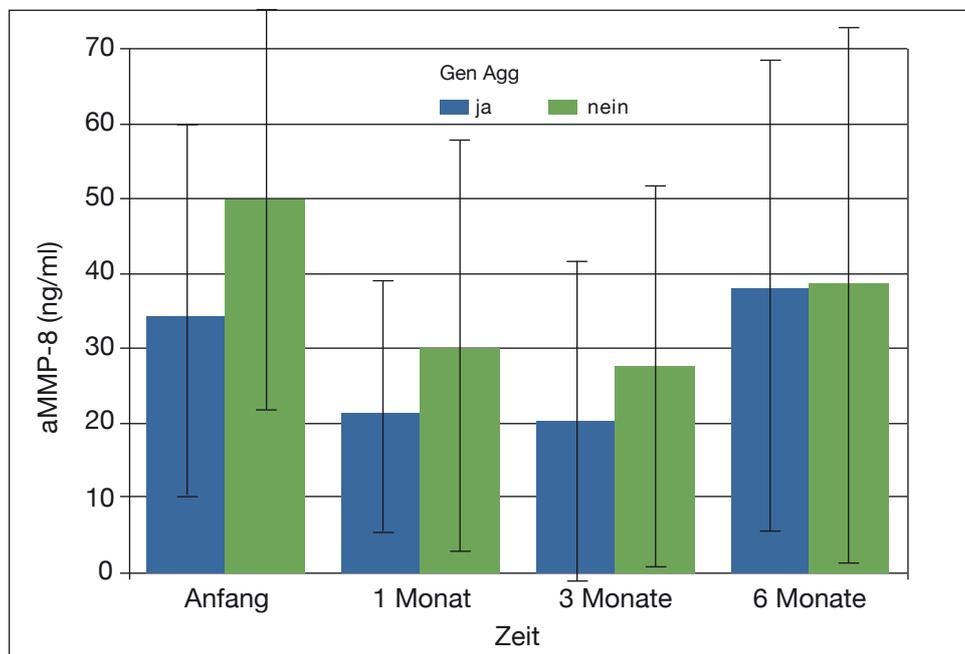


Abb. 45: Gepoolte aMMP-8 Werte der Probanden mit (blau) und ohne (grün) genetische Disposition für aggressive Parodontitiden (Agg). Die Ausgangswerte, sowie der Verlauf zeigen keine signifikant erhöhten Enzymwerte vor Beginn der Studie und keinen signifikant unterschiedlichen Verlauf während der Therapie.

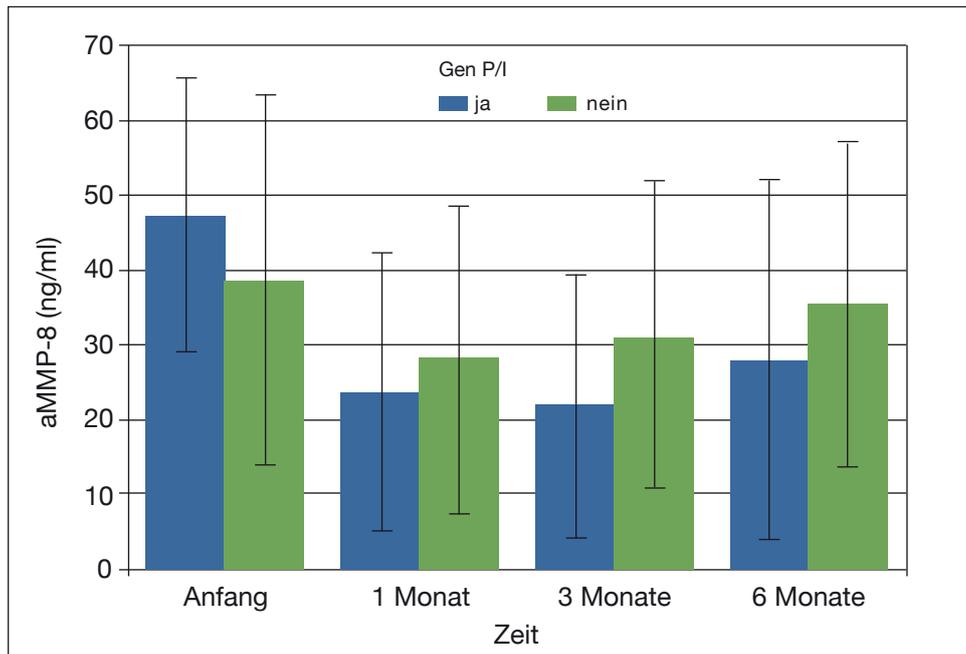


Abb. 46: Gemittelte aMMP-8 Werte der Probanden mit (blau) und ohne (grün) genetische Disposition für einen Polymorphismus im Interleukinbereich (PI). Die Ausgangswerte, sowie der Verlauf zeigen keine signifikant erhöhten Enzymwerte vor Beginn der Studie und keinen signifikant unterschiedlichen Verlauf während der Therapie.

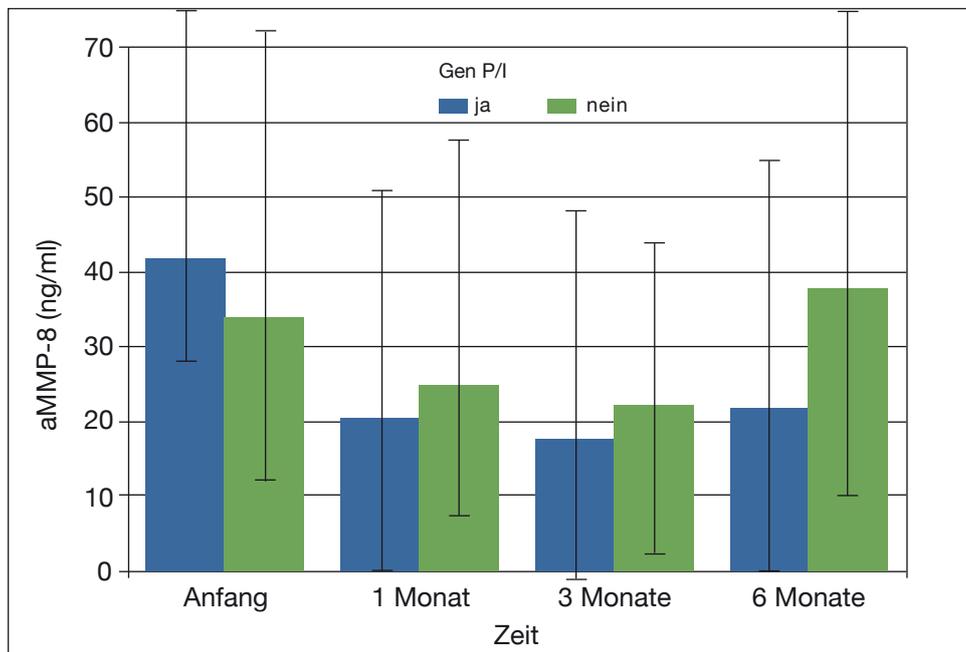


Abb. 47: Gepoolte aMMP-8 Werte der Probanden mit (blau) und ohne (grün) genetische Disposition für aggressive Parodontitiden (Agg). Die Ausgangsbefunde zeigen keine erhöhten Enzymwerte vor Beginn der Studie und keinen signifikant unterschiedlichen Verlauf während der Therapie.

3.3.2 Taschentiefen

Die Taschentiefen nehmen während der Therapie ab. Dies ist kontinuierlich und im Bezug auf die untersuchten genetischen Dispositionen auf aggressive Parodontitiden und den Polymorphismus im Interleukinbereich nicht signifikant (Abbildungen 48 und 49).

Für die TT-Mittelwertveränderungen während der Monate 0-3 Monate ($p=0,255$; t-Test unabh.) und 3-6 Monate ($p=0,397$; t-Test unabh.) sowie 0-6 Monate ($p=0,326$; t-Test unabh.) ergab sich statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen dem genetisch positiven und negativen Merkmal für aggressive Parodontitiden (Abbildung 48). Untersucht man die TT-Mittelwertveränderungen im Bezug auf das Merkmal Polymorphismus im Interleukinbereich erhält man folgende nicht signifikante Werte. Für TT-Mittelwertveränderungen 0-3 Monate ($p=0,515$; t-Test unabh.), 3-6 Monate ($p=0,364$; t-Test unabh.) und 0-6 Monate ($p=0,514$; t-Test unabh.) zwischen genetisch positiven und negativen Patienten.

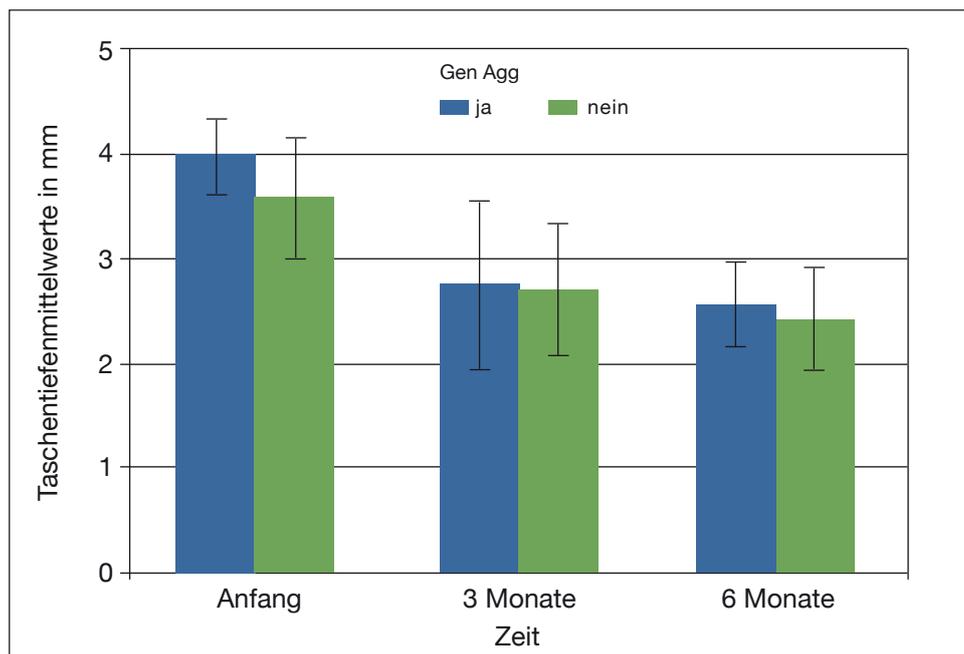


Abb. 48: Das Diagramm zeigt die deutliche Verringerung der Taschentiefen aller Probanden über den Verlauf der Untersuchung von 6 Monaten. Die veränderte Taschentiefe im Bezug auf das untersuchte Probandenmerkmal einer genetischen Disposition auf aggressive Parodontitiden (blau), unterschied sich nicht signifikant von den Patienten, die dieses Merkmal nicht trugen (grün).

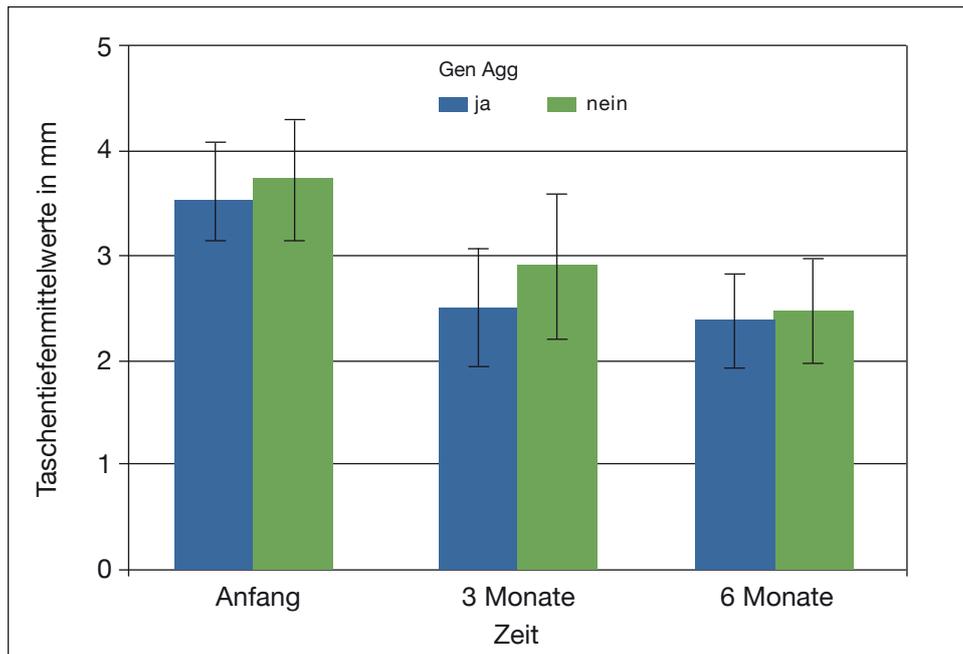


Abb. 49 : Das Diagramm zeigt die deutliche Verringerung der Taschentiefen aller Probanden über den Verlauf der Untersuchung von 6 Monaten. Die veränderte Taschentiefe im Bezug auf das untersuchte Probandenmerkmal eines Polymorphismus im Interleukinbereich (blau) unterschied sich nicht signifikant von den Patienten, die dieses Merkmal nicht trugen (grün).

3.3.3 Bakterien

Die Auswertung der Bakterienzahlen bei Probanden mit Polymorphismus im Interleukinbereich weisen verglichen mit den nicht vom Polymorphismus betroffenen Probanden tendenziell signifikante Unterschiede auf. Während zu Beginn der Studie die Leitkeimzahlen in beiden Gruppen gleichmäßig verteilt waren, zeigen sich im Verlauf der Studie höhere Keimzahlen bei den Probanden, die negativ auf Polymorphismus im Interleukinbereich getestet wurden.

Für P.i. zum Zeitpunkt 6 Monate besteht ein tendenziell signifikanter Unterschied ($p=0,06$; U-Test) in Bezug auf den Polymorphismus im Interleukinbereich.

Für P.g. zum Zeitpunkt 3 Monate besteht ein tendenziell signifikanter Unterschied ($p=0,08$; U-Test) in Bezug auf den Polymorphismus im Interleukinbereich.

Für P.g. zum Zeitpunkt 6 Monate besteht ein tendenziell signifikanter Unterschied ($p=0,06$; U-Test) in Bezug auf den Polymorphismus im Interleukinbereich.

Für P.g. 0-6 Monate besteht ein tendenziell signifikanter Unterschied ($p=0,08$; U-Test) in Bezug auf den Polymorphismus im Interleukinbereich.

Für T.d. zum Zeitpunkt 6 Monate besteht ein signifikanter Unterschied ($p=0,01$; U-Test) in Bezug auf den Polymorphismus im Interleukinbereich.

Für T.d. 0-6 Monate besteht ein tendenziell signifikanter Unterschied ($p=0,08$; U-Test) in Bezug auf den Polymorphismus im Interleukinbereich.

3.4 Speichelprobenauswertung

Zuerst wurde die anfängliche Verteilung der Erythrozytenwerte und Leukozytenwerte gruppiert nach vorhandenen Polymorphismen PI ($p=0,4/p=0,48$) und genetischer Disposition für aggressive Parodontitiden Agg ($p=0,19/p=0,27$) untersucht. Die gemessenen Werte unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

Variable:	Hb/Erys		
Gruppiert nach:	Gen P / I		
	N	Rangmittel	P1
1	20	21,53	0,4
2	23	22,41	
Variable nach:	Leukozyten		
Gruppiert nach:	Gen P/I		
	N	Rangmittel	P1
1	20	22,08	0,48
2	23	21,93	

Tab. 6: Die Verteilung der Variablen Hb/Erys und Leukozyten vor der Behandlung, gruppiert nach Polymorphismus im Interleukinbereich (PI). Gruppenmerkmal 1 bedeutet positiv und 2 negativ auf das Gruppenmerkmal (PI).

Variable:	Hb/Erys		
Gruppiert nach:	Gen Agg		
	N	Rangmittel	P1
1	8	18,69	0,19
2	35	22,76	
Variable nach:	Leukozyten		
Gruppiert nach:	Gen Agg		
	N	Rangmittel	P1
1	8	23,88	0,27
2	35	21,57	

Tab. 7: Die Verteilung der Variablen Hb/Ery und Leukozyten vor der Behandlung, gruppiert nach genetischer Disposition für aggressive Parodontitiden (Agg). Gruppenmerkmal 1 bedeutet positiv und 2 negativ auf das Merkmal (Agg).

Vergleicht man die Probanden der Studie mit einer zusätzlich genommenen Vergleichsgruppe parodontal gesunder Probanden (wurde nur als Vergleich für die Stickstoffung erhoben), stellt man hinsichtlich der Leukozyten einen hochsignifikanten Unterschied ($p < 0,0001$; U-Test) und beim Hämoglobin/Erys einen signifikanten Unterschied ($p = 0,0321$; U-Test) fest.

Der Parameter pH-Wert weist hinsichtlich der Gruppierung gegen die genetische Disposition für aggressive Parodontitiden (Agg.) einen tendenziell signifikanten Unterschied auf ($p = 0,06$; U-Test).

Variable:	Leukozyten					
Gruppiert nach:	Gruppe					
	N	Rangmittel	U	Z	P1	P2
Gesunde	37	24,38	199	-6,15	3,79E-10	7,58E-10
Kranke	43	54,37	1392			
Variable:	Hb/Erys					
Gruppiert nach:	Gruppe					
	N	Rangmittel	U	Z	P1	P2
Gesunde	37	34,58	580	-2,14	0,02	0,03
Kranke	43	45,51	1011			

Tab. 8: Die Verteilung der Variablen Leukozyten und Hb/Ery vor der Behandlung geordnet nach Gruppe Parodontitispatienten gegen gesunde Vergleichsgruppe. Die Leukozytenzahl ist hochsignifikant niedriger in den parodontal gesunden Patienten und der Ery/Hämoglobinwert ist signifikant niedriger.

Variable:	pH					
Gruppiert nach:	Gen Agg					
	N	Rangmittel	U	Z	P1	P2
1	8	29,25	198	1,92	0,03	0,06
2	35	20,34	82			

Tab. 9: Die Verteilung der Variablen pH vor Behandlungsbeginn gruppiert nach Gruppe genetische Disposition für aggressive Parodontitiden (Agg). Der pH-Wert liegt niedriger bei vorhandener Disposition für aggressive Parodontitiden.

4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die Vorhersagbarkeit des parodontalen Gewebeabbaus während einer Parodontitis gehört zu den angestrebten Zielen in der parodontalen Forschung der letzten Jahre. Neben den klinischen und radiologischen diagnostischen Verfahren haben sich sogenannte Biomarker etabliert, um den fortschreitenden Gewebeabbau anzuzeigen. In dieser prospektiven Studie wurden bei 46 Probanden mit mittelschwerer bis schwerer Parodontitis, die mit SRP und adjuvanten antimikrobiellen Verfahren therapiert wurden und über einen Zeitraum von 6 Monaten nachuntersucht wurden, die diagnostischen Daten systematisch analysiert. Dies erfolgte bei einer Gruppe mit systemischer Antibiose nach Antibiogramm (AB-Gruppe), und bei einer Gruppe mit antimikrobieller photodynamischer Therapie (aPDT-Gruppe) nach Zufallsauswahl.

Der Fokus dieser Studie liegt auf dem untersuchten Biomarker, der Matrix-Metalloproteinasen-8 (Kollagenase-2). Er ist der Hauptvermittler des Gewebeabbaus der meisten parodontalen Erkrankungen (*Sorsa et al., 1999*). Die MMP-8 hat ihren Ursprung in den Granula der polymorphkernigen Granulozyten, mit denen sie ausgeschieden werden (*Hanemaaijer et al., 1997*); ihre erhöhte Aktivität findet sich im GCF sowohl in experimenteller Gingivitis, als auch in Parodontitis (*Kinane, 2000; Kinane et al., 2003*). Die Konzentration aktivierter MMP-8 geht hierbei konform mit dem Grad der Erkrankung (*Sorsa et al., 2004*).

Diese Studie wählt die TT als Maß des Zerstörungsgrades des parodontalen Stützgewebes. Während der API für die Vorhersagbarkeit der Progression nicht aussagekräftig ist (*Haffajee et al., 1983; Kaldahl et al., 1990*), korrelieren BOP und TT linear (*Checchi et al., 2009; Chaves et al., 1993*). TT kann eine Veränderung des klinischen Attachements vorhersagen (*Adonogianaki et al., 1996; Claffey und Egelberg, 1995; Mc Guire, 1991; Niemi-nen, 1997*).

Manuelle Sonden variieren bei Wiederholungsmessungen zwar am wenigsten (*Mayfield et al., 1996*), jedoch führt die Wahl einer druckgeichteten, kontrollierten Sonde wie der hier verwandten TPS-Sonde zu weniger falsch-positiven Ergebnissen (*Newborn, 1996*).

Die Messergebnisse bei parodontal erkrankten unbehandelten Patienten variieren jedoch nur gering (*Silva-Boghossian et al., 2008; Niederman, 2009*). Radiologische Verfahren zur Beurteilung der marginalen Knochenhöhe durch ein Orthopantomogramm oder Zahnfilme blieben in dieser Untersuchung auf Grund der Ungenauigkeit bei fehlender Ratifizierung durch einfach oder doppelt geblindete Behandler unberücksichtigt (*Da Silva, 2008*). Exaktere, quantitative und reproduzierbare Aussagen über den Zustand des parodontalen Knochenniveaus erlauben digitale Techniken wie die Subtraktionsradiographie (*Okano et al., 1990*). Zukünftige Studien mit digitalen Techniken könnten exaktere Ergebnisse liefern. Die Biomarkerwerte (aMMP-8) in dieser Studie wurden nicht gepoolt, um gesunde von erkrankten Sites zu unterscheiden und der noch nicht untersuchten Fragestellung nachzugehen, ob einzelne Taschentiefen und deren Biomarkerkonzentrationen im GCF korrelieren. Bisher konnten Parodontitispatienten mit refraktärem Krankheitsverlauf, die in kurzen Abständen über einen längeren Zeitraum auf kollagenolytische Aktivität hin kontrolliert werden, von Patienten mit stabilen Verhältnissen durch die Höhe der gemessenen aMMP-8-Werte klar unterschieden werden (*Sorsa et al., 2010*). Die Abbildungen 30-33 stellen die Mittelwert- und Medianverläufe der aMMP-8 Werte grafisch dar. Aus beiden Betrachtungsweisen ergibt sich ein erwartungsgemäßes Absinken der aMMP-8 Werte im ersten Monat. Dieser Effekt bleibt in der AB-Gruppe bis sechs Monate weitgehend stabil (Abbildungen 30 und 32), während er in der aPDT-Gruppe zum Teil wieder verloren geht (Abbildungen 31 und 33). Auch in den Kontrollparodontien nimmt der aMMP-8 Wert analog zu den Taschentiefen ab. Besonders gut ist dieser Effekt bei der Darstellung der Mittelwerte (Abbildungen 32 und 33) zu erkennen, hier schlagen hohe Werte stärker durch. Eine Interpretation ist, dass die gesunden Kontrollstellen durch die entzündungsärmere orale Gesamtsituation zusätzlich entlastet werden. Nach ein bis drei Monaten steigen die Entzündungsparameter erneut an. Dies geschieht unabhängig vom Verlauf der Bakterienkategorien und hat auch nach sechs Monaten keine Auswirkungen auf die Taschentiefen (klinischen Parameter). Ein Absinken der Entzündungsparameter (aMMP-8) führt stets zu einer klinischen Verbesserung der parodontalen Situation, ein Wiederanstieg der Enzymwerte verschlechtert hingegen direkt oder mit Verzögerung die klinische Situation.

Die auf die Messstellen bezogenen grafischen Auswertungen (Abbildungen 38 - 43) zeigen eine eher ungeordnete Verteilung der MMP-8 Werte und ihrer zugehörigen Taschentiefen. Auf der Site-Ebene korrelieren die Taschentiefen und MMP-8 Werte nicht miteinander. Zwar ist erkennbar, dass sich die Taschentiefen durch die Therapie verringern und sich die MMP-8 Werte nach der Therapie im Bereich 0-20 ng/ml häufen, ein direkter Bezug zwischen den Enzymwerten und den klinischen Parametern besteht aber nicht. Insbesondere zeigt sich keine signifikante Korrelation zwischen der Veränderung der Keimzahlen, Taschentiefen und Enzymwerten ($p > 0,05$; Spearman Rangkorrelation).

Die erfolgreiche Behandlung der Parodontitis durch geschlossene Wurzelreinigung mittels SRP, die in dieser Studie Anwendung findet, stützt sich auf mehrere Langzeitstudien (*Michigan Studie, Göteborg Studien*). Das quadrantenweise Vorgehen bei der SRP wurde hier mit der oft propagierten full-mouth SRP gleichberechtigt durchgeführt (*Apatzidou und Kinane, 2004; Jervøe-Storm et al., 2006*).

Neben Handinstrumenten (Scaler und Küretten) kamen zur maschinellen Grobreinigung und Vorbehandlung Ultraschallgeräte und Vibrationsscaler mit veränderter Schwingungseigenschaft zum Einsatz (*Braun et al., 2006*).

Auf die Reinigung betroffener Zahnoberflächen durch Pulverstrahlgeräte und verschiedene Lasersysteme (*Schwarz et al., 2006*) und unterstützende maschinelle Feinreinigung durch rotierenden Systeme wie Root Shape Diamanten sowie Perio Polisher und Perio Torr wurde verzichtet.

Ziel ist die Eliminierung oder Reduzierung parodontal pathogener Keime aus der Mundhöhle mittels keimreduzierender Maßnahmen. Bei moderaten Erkrankungen und bei parodontal stabilen Verhältnissen ist durch die zusätzliche Gabe von Antibiotika klinisch und mikrobiologisch kein Vorteil zu erzielen (*Jenkins et al., 1989; Winkel et al., 1998; Giedrys-Leeper et al., 1985*). Nach alleiniger SRP oder chirurgischer Therapie schwerer Parodontitisfälle ohne begleitende therapeutische antimikrobielle oder antibiotische Maßnahmen zeigten mikrobiologische Untersuchungen eine immer noch hohe Anzahl von Parodontalpathogenen (*Gunsolley et al., 1994; Mombelli et al., 1994; Renvert et al., 1990a, 1990b*), insbesondere im parodontalen Bindegewebe (*Christersson et al., 1987*) und in den Dentinkanälen der Wurzeloberflächen (*Adriaens et al., 1988*). Die deutsche Gesellschaft für Parodontologie (DGP) empfiehlt bei „Patienten mit aggressiver, schwerer chronischer, refraktärer und bei systemischen, das Immunsystem beeinflussenden Erkrankungen, begleitet von mittelschweren bis schweren Parodontitiden“ die adjuvante Gabe von Antibiotika (*Beikler und Flemming, 2005*). Eine adjuvante systemische Antibiose unterstützt die konventionelle mechanische Therapie bei schweren chronischen und akuten Parodontitiden (*Berglundh et al., 1998*). Hierbei muss an allen Wirkorten, dem GCF, eingeschlossen Wange und Zunge (*Müller et al., 1995*) mindestens eine minimale inhibitorische Konzentration (MIC) erreicht werden, damit Resistenzen vermieden werden (*Kleinfelder et al., 1999*). Stabile klinische Verhältnisse hängen von der erfolgreichen und dauerhaften Eliminierung des *A. actinomycetemcomitans* durch ein Antibiotikum ergänzend zur SRP ab (*Saxen und Asikainen, 1993*). SRP allein erweist sich als nicht ausreichend (*Slots und Rosling, 1983; Kornman und Robertson, 1985; Christersson et al., 1986; Renvert et al., 1990b; Berglundh et al., 1998*). Ähnliche Ergebnisse erzielten Loesche et al., 1983, 1991 bei schweren chronischen Parodontitiden und Bragd et al., 1987, Gusberti et al., 1988 und Mc Culloch et al., 1990 bei therapierefraktären Parodontitiden. Die unterstützende Gabe von Antibiotika ist

mit zahlreichen Nebenwirkungen behaftet. Da im Hinblick auf Sondierungstiefenreduktion und parodontales Reattachement die mechanische und antibiotische Kombinationstherapie mit anschließender parodontaler Nachsorge das Mittel der Wahl ist (*Gutsche et al., 2004*), wurde in dieser Studie ein durch zahlreiche in vitro- und in vivo-Studien durch Wilson et al. am Eastman Dental Institute in London demonstriertes Verfahren alternativ zur systemischen Gabe von Antibiotika in Bezug auf die diagnostischen Parameter mit einbezogen. Seit 1993 ist die Wirksamkeit der antimikrobiellen photodynamischen Therapie (aPDT) erfolgreich bei Parodontitiden untersucht worden (*Komerik et al., 2000; Komerik et al., 2002; Komerik et al., 2003; Sarkar und Wilson, 1993*). Weitere Studien dokumentieren die aPDT als effizientes Mittel der Bakterienreduktion auf Implantatoberflächen (*Haas et al., 2000; Dörtbudak et al., 2001*). Die bakteriellen Proben aller Probanden wurden in dieser Studie sinnvollerweise gepoolt, da die einzelne Entnahmestelle nicht von Bedeutung ist (*Eick und Pfister, 2009*) und die Proben dann mit PCR analysiert. Im Vergleich zur konventionellen Bakterienkultur ist die PCR als mikrobiologisches Analyseverfahren gleichwertig und in besonderen Fällen sogar sensitiver (*Jervøe-Storm et al., 2005*). Die DNS-Nachweise und Sondentests werden grundsätzlich als einfach und zuverlässig bewertet (*Schmidt et al., 2000*). Gen-Sonden sind gegenüber der Bakterienkultur z.B. für *Porphyromonas gingivalis* (*Tsai et al., 2003*) überlegen.

In dieser Studie fand eine hochsignifikante Abnahme der Keimzahlen in der Antibiotika-Gruppe bis zu drei Monaten statt und stabilisierte sich auf niedrigem Niveau. In Gruppe 2 (aPDT) hingegen erfahren die Bakterienzahlen der gemessenen Markerkeime keine oder nur geringfügige Veränderungen (Abbildungen 26 und 27). Die gleichförmig verringerten Taschentiefern in beiden Gruppen können somit nicht auf die Bakterienzahlen zurückzuführen sein. Dies deckt sich mit der Erkenntnis, dass der parodontale Schaden insbesondere durch überschießende Abwehrreaktionen des Organismus und weniger durch die Erreger selbst ausgelöst wird.

Ein in dieser Studie auf Eignung und Aussagekraft untersuchter Speichelschnelltest (Stick) auf Parodontitis ist bei allen Probanden (erkrankt) vor Beginn der Therapie und an einer zusätzlichen Kontrollgruppe gesunder Individuen durchgeführt worden. Dieser Speichelschnelltest misst die Anwesenheit von Blutbestandteilen im Speichel. Die Auswertung der Speichelproben ergab innerhalb der Probandengruppen keine Korrelation für die Parameter Hb/Erys oder Leukozyten in Bezug auf die genetischen Dispositionen (Tabelle 6 und 7). Der pH-Wert zeigt einen tendenziellen Unterschied hinsichtlich der Gruppierung gegen den Polymorphismus Agg. ($p=0,06$ U-Test). Ob ein Zusammenhang besteht oder es sich um zufällige Akkumulationen handelt, ist bei der schwachen Tendenz und den niedrigen Probandenzahlen schwer zu sagen. Weitere Tests mit mehr Probanden könnten Aufschluss geben. Im Vergleich zu den parodontal gesunden Vergleichsprobanden be-

steht hinsichtlich der Leukozyten ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p < 0,0001$, U-Test) und beim Hämoglobin/Eryts ein signifikanter Unterschied ($p = 0,0321$, U-Test). Trotz der nicht abgestimmten Sensitivität auf den Bereich der Mundhöhle und ihrer vorherrschenden Bedingungen ist das Ergebnis überraschend eindeutig (Tabelle 8). Mit einer verbesserten Ausführung und Anpassung der Teststreifen auf den Messbereich der Mundhöhle könnte ein Streifentest Teil eines Testverfahrens auf Parodontitis werden. In zukünftigen Studien muss noch ausgeschlossen werden, dass die Bestandteile durch iatrogene Verletzungen im Rahmen der Mundhygiene, der Nahrungsaufnahme oder anderweitig entstanden sind.

Bei allen Probanden wurden zwei genetische Dispositionen berücksichtigt. Dabei handelt es sich zum einen um eine Risikokonstellation immunogenetischer Marker an Genloci, die für proinflammatorische Mediatoren kodieren und zu einer überschießenden Entzündungsreaktion führen und zum anderen um einen Genotyp, der mit einem erhöhten Risiko für aggressive Parodontitis assoziiert ist (beide Testungen durch Dentogistics GmbH, Jena, Deutschland). Es existieren verschiedene kommerzielle Testkits zur Bestimmung genetischer Risikofaktoren für Parodontitis. Gemäß einer Studie zu diesen Testkits liegt bei positivem Testergebnis ein erhöhtes Risiko für eine aggressive Parodontitis mit ausgeprägtem Knochenabbau vor (*Kornman und Giovine, 1998*). Eine Längsschnittstudie von Cullinan et al. aus 2001 legt nahe, Polymorphismen des Interleukin-1 Gens nicht als wesentlichen Faktor für die Progredienz einer Parodontitis zu betrachten. Zu einem gleichen Ergebnis kommen Huynh-Ba et al. im Jahr 2007 in einem „systematic review“, die nur ungenügende Beweise für einen Zusammenhang zwischen positivem Interleukin-1 Genotyp und dem Verlauf oder Erfolg der Parodontitisbehandlung sehen. Ergebnisse aus dieser Studie weisen keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen Enzymwerten und der genetischen Disposition für aggressive Parodontitiden (Agg) auf (Abbildungen 44 und 45). Beim Vergleich mit dem Polymorphismus im Interleukinbereich (PI) ergeben sich allenfalls Tendenzen, die auf eine stärkere Absenkung oder Beeinflussung der Entzündungsparameter (aMMP-8) durch die Therapie hindeuten (Abbildungen 46 und 47).

Die klinischen Parameter sind von der genetischen Disposition der Probanden nicht beeinflusst (Abbildungen 48 und 49). Die Anzahl der Treponemen veränderte sich durch beide Therapien am wenigsten. Betrachtet man die Veränderung in Bezug auf die genetische Disposition des Polymorphismus im Interleukinbereich, stellt man eine signifikante Veränderung ($p = 0,01$; U-Test) zum Zeitpunkt sechs Monate und eine Tendenz für null bis sechs Monate fest. Auch für P.g. zum Zeitpunkt drei Monate, P.i. zum Zeitpunkt sechs Monate, P.g. zum Zeitpunkt sechs Monate und P.g. null bis sechs Monate sind signifikante Veränderungen erkennbar. Die Bakterienzahlen weisen in Bezug auf die genetische Disposition hinsichtlich Genloci, die für aggressive Parodontitiden kodieren, keine Korrelationen auf.

In der Literatur finden sich hierfür auch keine Anhaltspunkte. Die Zusammenhänge sind rechnerisch schwach und ursächlich wenig schlüssig. Weitere Tests könnten Aufschluss über derartige Zusammenhänge geben. Generell bestätigen die gefundenen Zahlen die schwache Beweislage für einen Zusammenhang zwischen genetischer Disposition und Verlaufsform sowie die Heilungstendenz von Parodontalerkrankungen.

Im Vergleich der diagnostischen Verfahren wird die in der Literatur beschriebene gute Korrelation der aMMP-8-Werte und der klinischen Taschentiefen (PD) bestätigt. Die Verschlechterung der enzymatischen Parameter geht hierbei der klinischen Destruktion voraus. Hier liegt das große Potential enzymatischer Diagnostikverfahren, das in weiteren Studien noch genauer untersucht werden muss.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In einer Studie im Sinne einer monozentrischen, randomisierten prospektiven Untersuchung wurden 46 an schwerer oder therapierefraktärer Parodontitis erkrankte Probanden ausgewählt und in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe erhielt zusätzlich zur instrumentellen Therapie (SRP) eine systemische AB, während die andere Gruppe zusätzlich mittels antimikrobieller photodynamischer Therapie (aPDT) behandelt wurde. Die aPDT hat sich in zahlreichen Studien als erfolgversprechende alternative antimikrobielle Begleittherapie bei Parodontitiden herausgestellt.

Im Hinblick auf die Enzymwertmessung (aMMP-8) war die Studie im split-mouth Design angelegt. Kontrolluntersuchungen und Probenentnahmen wurden doppelt blind durchgeführt. Unter Berücksichtigung von MHI und Patientencompliance wurde nach zwei Vorbehandlungen im Abstand von je einer Woche und einer oder zwei Hauptbehandlungen innerhalb von 48 Stunden der Therapieerfolg mittels klinischer Parameter (TT), Entzündungsparameter (aMMP-8) und DNS-Testung (Markerkeime) nach einem, drei und sechs Monaten bewertet.

Zusätzlich wurde ein Sticktest der Fa. Roche Diagnostiks zur Bestimmung von Hb/Erys und Leukozyten im Speichel bei allen Probanden eingesetzt und mit einer separaten Gruppe parodontal gesunder Individuen verglichen.

Die Markerkeimbestimmung erfolgte durch PCR in einem mikrobiologischen Labor, die Bestimmung der Enzymwerte (aMMP-8) mittels ELISA. Die photodynamischen Therapie (Fa. Helbo®) wurde jeweils bei beiden Vorbehandlungen und der Hauptbehandlung eingesetzt, während die AB-Gruppe entsprechend den Richtlinien der DGZMK ein Antibiotikum systemisch zur Hauptbehandlung erhielt.

Es zeigt sich keine signifikante Korrelation zwischen der Veränderung der Keimzahlen,

Taschentiefen und Enzymwerten ($p > 0,05$, Spearman Rangkorrelation), sowie zwischen Enzymwerten und der genetischen Disposition für aggressive Parodontitiden. Bei einem Vergleich mit dem Polymorphismus im Interleukinbereich (PI) zeigen sich Tendenzen, die auf eine stärkere Absenkung oder Beeinflussung der Entzündungsparameter (aMMP-8) hinweisen. Generell bestätigen die gefundenen Zahlen die schwache Beweislage für einen Zusammenhang zwischen genetischer Disposition und Verlaufsform sowie Heilungstendenz von Parodontalerkrankungen.

Die Leukozytenzahlen weisen einen hochsignifikanten ($p < 0,0001$; U-Test) und Hämoglobin/Eryt einen signifikanten ($p = 0,0321$; U-Test) Unterschied zwischen erkrankten und gesunden Individuen auf.

Die hochsignifikant unterschiedliche Entwicklung der Taschentiefen ($p = 0,000797$; t-Test unabhängig) belegt die unterschiedliche Wirksamkeit der adjuvanten Therapien bei schweren Parodontitiden. Dies betrifft erkrankte sowie gesunde Kontrolltaschen. Die Keimzahlen in der Antibiotika-Gruppe nehmen hochsignifikant ab. Die Enzymwerte sinken im ersten Monat stark ab und bleiben in der AB-Gruppe bis sechs Monate stabil. Auch in den Kontrollparodontien nimmt der aMMP-8 Wert analog zu den Sondierungstiefen ab. Nach ein bis drei Monaten steigen die Entzündungsparameter unabhängig von den Bakterienzahlen und Taschentiefen (klinischen Parameter) wieder an. In der aPDT-Gruppe findet bereits nach drei Monaten wieder eine Verschlechterung der klinischen und enzymatischen Parameter statt.

Während die Entzündungsparameter auf Site-Ebene einzelner Taschen nicht mit den gemessenen Taschentiefen korrelieren, ist eine Häufung im Bereich von 0-20 ng/ml nach der Therapie erkennbar. Während ein Absinken der aMMP-8 Werte stets zu einer klinischen Verbesserung der parodontalen Situation führt, findet umgekehrt eine Verschlechterung der klinischen Situation nach Wiederanstieg der Enzymparameter direkt oder mit Verzögerung statt. Enzymbasierte Diagnostikverfahren bieten in Zukunft die Möglichkeit der frühzeitigen Erkennung therapieresistenter Parodontitiden und der Überprüfung und Überwachung der Therapieregime bei Parodontalerkrankungen. Hierzu sind weitere Studien zur Aufklärung der Zusammenhänge zwischen Krankheitsverläufen und Enzymparametern im parodontalen Gewebe nötig.

6 ANHANG

6.1 Anamnesebogen

Der allgemeine Anamnesebogen umfasst die Fragen, die jeder Patient der Praxis, in der die Studie stattgefunden hat vor der ersten Behandlung zu beantworten hat. Alle an der Studie teilnehmenden Probanden erhielten einen speziellen Zusatzbogen zum Allgemeinen Anamnesebogen, der ausschließlich für die Studie relevante Fragen zur Anamnese beinhaltet.

Zusatzbogen zum ALLGEMEINEN ANAMNESEBOGEN
Studie zur „Parodontose-Behandlung“

Name:..... Vorname:.....

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,
Krankheiten aller Art können Auswirkungen auf Ihre Behandlung und die Ergebnisse der Studie haben. Bitte füllen Sie deshalb diesen Fragebogen sorgfältig aus. Die Angaben unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht und dienen ausschließlich dazu, die Behandlung Ihrem Gesundheitszustand anzupassen. Sollten Sie Schwierigkeiten mit der Beantwortung einzelner Fragen haben, helfen wir Ihnen gerne.
(Bitte ausfüllen bzw. zutreffendes ankreuzen!)

- | | | | |
|-----|---|------|--------|
| 1. | Waren Sie innerhalb der letzten zwei Jahren im Krankenhaus oder in ärztlicher Behandlung? | Ja o | Nein o |
| 2.1 | Nehmen Sie regelmäßig Medikamente ein?
Wenn ja, welche? | Ja o | Nein o |
| 2.2 | Nehmen Sie Medikamente ein, welche die Blutgerinnung hemmen (z.B. Macumar)?
Wenn ja, welche? | Ja o | Nein o |
| 2.3 | Vertragen Sie bestimmte Medikamente nicht?
Wenn ja, welche? | Ja o | Nein o |
| 3.1 | Besitzen Sie einen Allergiepaß? | Ja o | Nein o |
| 3.2 | Neigen Sie zu allergischen Reaktionen?
Bei bestimmten Materialien?
Bei bestimmten Arzneimitteln?
Bei bestimmten Nahrungsmitteln? | Ja o | Nein o |
| 3.3 | Haben Sie eine Penicillinallergie?
Jodallergie?
Latexallergie? | Ja o | Nein o |
| 4. | Haben oder hatten Sie eine Erkrankung des Herzens?
Wenn ja, welche? | Ja o | Nein o |

Fortsetzung auf der nächsten Seite

- | | | | |
|-----|--|--------------------------|----------------------------|
| | Angeborene oder erworbener Herzfehler? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Herzklappenfehler oder Herzklappenprothese? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Endokarditis (Herzinnenhautentzündung)? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Herzoperationen? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Haben Sie einen Herzschrittmacher? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| 5. | Leiden oder litten Sie an nachfolgenden Krankheiten? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Infektionskrankheiten (z.B. Tuberkulose, Hepatitis, Aids)? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Lebererkrankungen? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Herzerkrankungen (Herzinfarkt, Angina pectoris)? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Zu hoher Blutdruck? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Zu niedriger Blutdruck? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Schlaganfall? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Nierenerkrankungen? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Diabetes? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Magen-Darmerkrankungen? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Schilddrüsenerkrankung? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Rheumatismus / rheumatisches Fieber? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Asthma / Lungenerkrankungen? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Blutkrankheiten oder Blutgerinnungsstörungen? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Nervenerkrankungen? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Anfallsleiden (z.B. Epilepsie)? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| 6. | Sonstige Erkrankungen? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Wenn ja, welche? | | |
| | | | |
| 6.1 | Wurde bei Ihnen schon eine „Parodontosebehandlung“ durchgeführt? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Wenn ja, wann? | | |
| 6.2 | Nehmen Sie homöopathische Medikamente ein? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Wenn ja, welche? | | |
| 6.3 | Rauchen Sie? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| 6.4 | Knirschen Sie mit den Zähnen? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| 6.5 | Sind Sie momentan in kieferorthopädischer Behandlung? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| 6.6 | Haben Sie in den letzten 3 Monaten Antibiotika eingenommen? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| 6.7 | Bei Frauen: Besteht eine Schwangerschaft? | Ja <input type="radio"/> | Nein <input type="radio"/> |
| | Wenn ja, in welchem Monat?..... | | |
| 7. | Name und Anschrift des Hausarztes: | | |
| | | | |

Vielen Dank für Ihr Verständnis

.....
Ort, Datum

.....
Unterschrift des Patienten

6.2 Patienteninformation und Einverständniserklärung

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

sie nehmen an einer wissenschaftlichen Untersuchung zum Therapieverlauf von Parodontitis unter der Leitung der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn und dem Leiter der Abteilung für Parodontitis Prof. Dr. Frentzen und unserer Praxis teil.

Sie sind an einer von verschiedenen Parodontitisformen erkrankt. In Ihren Zahnfleischtaschen haben sich Ablagerungen gebildet und bestimmte aggressive Bakterien angesiedelt. Die Ablagerungen werden mittels Ultraschall und manueller Therapie entfernt und gleichzeitig werden die Bakterien eliminiert. Hierbei werden unterstützend zwei bewährte Methoden angewandt:

APT antimikrobielle photodynamische Therapie oder systemische Antibiose nach Antibiogramm

Sollte ihre spezielle Anamnese (Krankengeschichte) keine dieser Methoden ausschließen, werden Sie einer der beiden Behandlungsgruppen zugeteilt. Beide Verfahren sind wissenschaftlich und klinisch bewährt und entsprechen den neuesten wissenschaftlichen Erkenntnissen.

Zusätzlich wird Ihnen im Rahmen der Entwicklung eines völlig neuen Testsystems zur Erfassung des „Parodontoserisikos“ während der Behandlung in unserer Praxis mit einem Papierstreifen eine winzige Menge Flüssigkeit am Zahnfleisch entnommen, ebenso eine winzige Menge von einer gesunden Kontrollstelle. Diese kleine Probe wird analysiert. Die erhaltenen Daten dienen nur zu Forschungs- und Entwicklungszwecken. Sie werden mit einer Nummer versehen und ohne Bezug zu Ihrem Namen verwendet. Die Parodontitisbehandlung selbst läuft wie in unserer Praxis üblich mit der gewohnten Sorgfalt ab und ist davon nicht betroffen.

Die Parodontitisbehandlung wird über die Krankenkassen abgerechnet. Die in jedem Fall entstehenden Zusatzkosten, welche die Krankenkassen nicht erstatten, werden Ihnen nach Beendigung der Studie nach 180 Tagen erlassen. Sollten sie die Behandlung vorzeitig abbrechen, an Terminen unentschuldig fehlen oder ohne vorherige Mitteilung und Rücksprache gegen die Studienauflagen verstoßen, werden Ihre Daten nicht in der Studie berücksichtigt werden können. In diesem Fall entfällt das Sponsoring der beteiligten Firmen. Die oben erwähnten Zusatzkosten, über die wir sie vorher aufgeklärt haben, werden Ihnen dann wie sonst auch üblich in Rechnung gestellt.

Wir bedanken uns bei Ihnen für die Teilnahme an der Studie.

Ich bin über die Behandlung und die Teilnahmebedingungen der Studie aufgeklärt.

.....

Patient

.....

Arzt

6.3 DGZMK Kriterien für „Adjuvante Antibiotika in der Parodontitistherapie“ (Auszug)

Ziel der Antibiotikagabe:

Die unterstützende Gabe von Antibiotika soll die Progredienz parodontaler Attachementverluste aufhalten oder stark reduzieren. Die Keimzahl parodontopathogener Bakterien in der parodontalen Tasche soll über die Wirkung des mechanischen Debridements hinaus verringert, und wenn möglich die parodontopathologischen Keime aus der Mundhöhle eliminiert werden. Es sollen das Spektrum parodontopathogener Keime abdeckende Antibiotika nach Antibiogramm zum Einsatz kommen.

Indikation der Antibiotikatherapie:

In der Regel beschränkt sich die Indikation nur auf bestimmte Parodontitiden; u.a. schwere chronische Parodontitiden mit einem PSI Code 4. Empfohlene Dosierungen antibiotischer Wirkstoffe (per os) im Rahmen der adjuvanten Antibiotikatherapie:

Tetracyclin 250 mg	4 x 250 mg/Tag	21 Tage
Doxycyclin 100 mg	1 x 200 mg/Tag	1 Tag
	1 x 100 mg/Tag	18 Tage
Metronidazol 400 mg	3 x 400 mg/Tag	7 Tage
Metronidazol 400 mg	3 x 400 mg/Tag	7 Tage
Und		
Amoxicillin 500 mg	3 x 500 mg/Tag	7 Tage
Metronidazol 400 mg	3 x 400 mg/Tag	7 Tage
Und		
Ciprofloxacin 250 mg	2 x 250 mg/Tag	7 Tage
Amoxicillin 500 mg	3 x 500 mg/Tag	14 Tage
Ciprofloxacin 250 mg	2 x 250 mg/Tag	10 Tage
Clindamycin 300 mg	4 x 300 mg/Tag	7 Tage

Tab. 3: Empfohlene Dosierungen antibiotischer Wirkstoffe im Rahmen der adjuvanten Antibiotika-Therapie nach Wirkstoff, Dosierung und Anwendungsdauer gemäß den Richtlinien der DGZMK.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Addy M, Jenkins S, Newcombe R. The effect of some chlorhexidin-containing mouthrinses on salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol* 1991; 1: 90-93

Adonogianaki E, Mooney J, Kinane DF. Detection of stable and active periodontitis sites by clinical assessment and gingival crevicular acute-phase protein levels. *J Periodontal Res* 1996; 31: 135-143

Adriaens PA, De Boever JA, Loesche WJ. Bacterial invasion of root cementum and radicular dentine of periodontally diseased teeth in humans – a reservoir of periodonto-pathic bacteria. *J Periodontol* 1988; 15: 222-229

Albandar JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal disease. *Periodontol* 2000 2002; 29: 177-206

Aleo JJ, De Renzis FA, Farber PA. The presence of biologic activity of cementum bound endotoxin. *J Periodontol* 1974; 45: 672-681

Aleo JJ, De Renzis FA, Farber PA. In vitro attachment of human gingival fibroblasts to root surfaces. *J Periodontol* 1975; 46: 639-645

Apahalajahti S, Sorsa T, Ingman T. Matrixmetalloproteinase-2, -8, -9, and -13 in gingival crevicular fluid of short root anomaly patients. *Eu J Orthod* 2003; 25: 365-369

Apatzidou DA, Kinane DF. Quadrant root planing versus same-day full-mouth root planing. Clinical findings. *J Clin Periodontol* 2004; 2: 132-140

Apte SS, Olsen BR, Murphy G. The gene structure of tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP-3) and its inhibitory activities define the distinct TIMP gene family. *J Biol Chem* 1995; 270: 14313-14318.

Ash MM jr., Gitlin BN, Smith WA. Correlation between plaque and gingivitis. *J Periodontol* 1964; 35: 424-429

Attström R. Presence of leukocytes in crevices of healthy and chronical inflamed gingival fluids. *J Periodont Res* 1970; 5: 42-47

Baker P, Evans R, Coburn R. Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. *J Periodontol* 1983; 54 : 580-585

Beighton D, Deuker J, Homer KH. Effects of chlorhexidin on proteolytic and glucosidic enzyme activities of dental plaque bacteria. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 85-89

Beikler TKH, Flemming TF. Mikrobiologische Diagnostik in der Parodontitistherapie. Gemeinsame Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie (DGP) und der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten (DGZMK) 2005

Bergenholtz A, Al-Harbi N, Al-Hummayani FM, Anton P, Al-Kahtani S. The accuracy of the Vivacare true pressure-sensitive periodontal probe system in terms of probing force. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 93-98

Berglundt T, Krok L, Liljenberg B, Westfelt E, Serino G, Lindhe J. The use of metronidazol and amoxicillin in treatment of advanced periodontal disease. A prospective controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 345-362

Bhatty M, MacRobert A, Henderson B, Shepherd P, Cirtland J, Wilson M. Antibodytargeted lethal photosensitization of porphyromonas gingivalis. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2615-2618

Bhide VM, Smith L, Overall CM, Birek P, McCulloch CAG. Use of fluorogenic septapeptide matrix metalloproteinase assay to assess response to periodontal treatment. *J Periodontol* 2000; 71: 690-700

Bickel M, Cimasoni G, Andersen E. Flow and albumin content of early (pre-inflammatory) gingival crevicular fluid from human subjects. *Arch Oral Biol* 1985; 30: 599-602

Bickel M, Cimasoni G. Recent advances in gingival crevicular fluid research. In: Lehner T, Cimasoni G, HRSG. The borderland between caries and periodontal disease. *Genf: Médecine et Hygiène*, 1986: 61-70

Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol* 1993; 64: 474-484

Birkedal-Hansen H. Links between microbial colonization, inflammatory response and tissue destruction. In: Guggenheim B, Shapiro S, HRSG. Oral biology at the turn of the century. Basel: Karger Verlag, 1998: 170-178

Bode W, Fernandez-Catalan C, Grams F, Gomis-Ruth FX, Nagase H, Tschesche H, Mas-kos K. Insights into MMP-TIMP interactions. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 878: 73-91

Bogren A, Teles RP, Torresyap G, Haffajee AD, Socransky SS, Wennström JL. Locally delivered doxycycline during supportive periodontal therapy: a 3-year study. *J Periodontol* 2008; 79: 827-835

Bonito AJ, Lux L, Lohr KN. Impact of local adjuncts to scaling and rootplaning in periodontal disease therapy: A systemic review. *J Periodontol* 2005; 76: 1227-1236

Bonesvoll P, Gjermo PA. Comparison between chlorhexidine and some quarternary ammonium compounds with regard to retention, salivary concentration and plaque-inhibiting effect in the human mouth after mouth rinse. *Arch Oral Biol* 1978; 23: 289-294

Borkowska ED, Watts TL, Weinman J. The relationship of health beliefs and physiological mood to patient adherence to oral hygiene behaviour. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 187-193

Bosshardt DD, Lang NP. The junctional epithelium: from health to disease. *J Dent Res* 2005; 84: 9-20

Botta GM, Radin L, Costa A. Gas liquid chromatography of gingival fluid as an aid in periodontal diagnosis. *J Periodont Res* 1985; 20: 450-457

Bragd L, Dahlen G, Wikstrom M, Slots J. The capability of *A. actinomycetemcomitans*, *B. gingivalis* and *B. intermedius* to indicate progressive periodontitis; a retrospective study. *J Clin Periodontol* 1987; 14: 95-99

Braun A, Krause F, Hartschen V, Falk W, Jepsen S. Efficiency of the Vector system compared with conventional subgingival debridement in vitro and in vivo. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 568-574

Brill N, Krasse B. The passage of fluid into the clinically healthy gingival pocket. *Acta Odontol Scand* 1958; 16: 233-245

Buduneli N, Varda S, Atilla G, Sorsa T, Luoto H, Baylas H. Gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels following adjunctive use of meloxicam and initial phase of periodontal therapy. *J Periodontol* 2002; 73: 103-109

Carlton D, Bricknell K, Newman MG, Youn N, Wolfe S, Horikoshi A. Comparison of chromatographic profiles of plaque from idiopathic juvenile periodontitis. *J Dent Res* 1979; 58: 177

Caton JG. Periodontal disease and diagnostic aids. In: Nevin M, Becker W, Kornman K, HRSG. *Proceedings of the world workshop in clinical periodontics*. Chicago: Am Acad Periodontol, 1989: 1-22

Caton JG, Cianco SG, Blieden TM, Bradshaw M, Crout RJ, Hefti AF, Massaro JM, Polson AM, Thomas J, Walker C. Treatment with subantimicrobial doxycycline improves the efficiency of scaling and root planing in patients with adult periodontitis. *J Periodontol* 2000; 4: 521-532

Chang YC, Yang SF, Lai CC, Lui JY, Hsieh YS. Regulation of matrix metallo-proteinase production by cytokines, pharmacological agents and periodontal pathogens in human periodontal ligament fibroblast cultures. *J Periodont Res* 2002; 37: 196-203

Charon JA, Luger TA, Mergenhagen SE, Oppenheim JJ. Increased thymocyte activating factor in human gingival fluid during gingival inflammation. *Infect Immun* 1982; 38: 1190-1195

Chaves ES, Wood RC, Jones AA, Newbold DA, Manwell MA, Kornman KS. Relationship of „bleeding on probing“ and „gingival index bleeding“ as clinical parameters of gingival inflammation. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 139-143

Chaves ES, Jeffcoat MK, Ryerson CC, Snyder B. Persistent bacterial colonization of *P. gingivalis*, *P. intermedia* and *A.actinomycetemcomitans* in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months of therapy. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 897-903

Checchi L, Montevecchi M, Checchi V, Zappulla F. The relationship between bleeding on probing and subgingival deposits. An endoscopical evaluation. *Open Dent J* 2009; 3: 154-60

Checchi L, Pelliccioni GA, Gatto MRA. Patient compliance with maintenance therapy in an Italian periodontal practice. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 309-312

Chen HY, Cox SW, Eley BM, Mäntylä P, Rönkä H, Sorsa T. Matrix Metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology* 2000; 27: 366-369

Choi DH, Moon IS, Choi BK. Effects of sub-antimicrobial dose doxycycline therapy on crevicular fluid MMP-8 and gingival tissue MMP-9, TIMP-1 and IL-6 levels in chronic periodontitis. *J Periodont Res* 2004; 39: 20-26

Christersson LA, Emrich LJ, Dunford RG, Genco RJ. Analysis of data from clinical studies of localized juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1986; 13: 476-487

Christersson LA, Albin B, Zambon JJ, Wikesjö UM, Genco RJ. Tissue localization of *A. actinomycetemcomitans* in human periodontitis. Light, immunofluorescence and electron microscopic studies. *J Periodontol* 1987; 58: 529-539

Ciancio SG. Agents for the management of plaque and gingivitis. *J Dent Res* 1992; 71: 1450-1454

Ciancio SG, Mather ML, Mc Mullen JA. An evaluation of minocycline in patient with periodontal disease. *J Periodontol* 1980; 51: 530-534

Claesson R, Johansson A, Belibasakis G, Hänström L, Kalfas S. Release and activation of matrix metalloproteinase 8 from human neutrophils triggered by the leukotoxin of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodont Res* 2002; 37: 353-359

Claffey N, Egelberg J. Clinical indicators of probing attachment loss following initial periodontal treatment in advanced periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 690-696

Consensus report Periodontal diseases: Pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol* 1996; 1: 926-932

Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial Biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284: 1318-1322

Cugini MA, Haffajee AD, Smith C, Kent RL jr., Socransky SS. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 30-36

Cullinan MP, Westerman B, Hamlet SM, Palmer JE, Faddy MJ, Lang NP, Seymour GJ. A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 1137-1144

Curtis MA, Gillet IR, Griffiths GS, Maiden MFJ, Sterne JAC, Wilson DT, Wilton JMA, Johnson NW. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases: Laboratory markers from analysis of gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 1-11

Da Silva LAB, da Silva RAB, Branco LGS, Navarro VP, Nelson-Filho VP. Quantitative radiographic evaluation of periapical bone resorption in dog's teeth contaminated with bacterial endotoxin (LPS) associated or not with calcium hydroxide. *Braz Dent J* 2008; 19: 296-300

Dahlen G, Pipattanagovit P, Rosling B, Möller AJR. A comparison of two transport media for saliva and subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 375-382

Darby IB, Mooney J, Kinane DF. Changes in subgingival microflora and humoral immune response following periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 796-805

Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64: 847-867

Demetriou N, Tsami-Pandi A, Parashis A. Compliance with supportive periodontal treatment in private periodontal practice. A 14 year retrospective study. *J Periodontol* 1995; 66: 145-149

Dobson J, Wilson M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-

power laser. Arch Oral Biol 1992; 37: 883-887

Dörtbudak O, Haas R, Bernhart T, Mailath-Pokorny G. Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of periimplantitis. Clin Oral Implants Res 2001; 12: 104-108

Dörtbudak O, Haas R, Dörtbudak-Kneissl E, Bernhart T, Mailath-Pokorny G. Die photodynamische Therapie: Eine neue Methode zur Dekontamination von Implantatoberflächen bei der Behandlung von Periimplantitis. Stomatologie 2000a; 3: 67-71

Dörtbudak O, Haas R, Mailath-Pokorny G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. Clin Oral Implants Res 2000b; 11: 540-545

Ehlers V, Kasaj A, Röhrig B, Prescher N, Willershausen B. MMP-8-Konzentrationen bei Patienten mit chronischer Parodontitis und Periimplantitis. Dtsch Zahnärztl Z 2008; 63: 564-567

Eick S, Pfister W. Die Rolle der mikrobiologischen Diagnostik bei Parodontitis. ZWR Das deutsche Zahnaerzteblatt 2009; Juli und August: 354 - 362

Eick S, Pfister W. Comparison of microbial cultivation and a commercial PCR based method for detection of periodontipathogenic species in subgingival plaque samples. J Clin Periodontol 2002; 29: 638-644

Emingil G, Atilla G, Sorsa T, Luoto H, Kirilmaz L, Baylas H. The effect of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels in chronic periodontitis. J Periodontol 2004; 75: 106-115

Ferner, WT, Miskuff, RL, Yolken, RH, Vonderfecht SL. Comparison of methods for detection of serum antibody to murine rotavirus. J Clin Microbiol 1987; 25: 1364-1369

Fine DH, Mandell ID. Indicators of periodontal disease activity: An evaluation. J Clin Periodontol 1986; 13: 533-546

Flores-de-Jacoby L, Tsalikis L. Atlas der parodontalen Mikrobiologie. Berlin: Quintessenz Verlags GmbH, 1996: 11-13, 61-64, 111-138

Fuhrmann F, Fuhrmann J, Kleber BM. Nutzung kommerzieller mikrobiologischer und IL-1-Polymorphismus-Tests für die parodontale Diagnostik. *Parodontologie* 2003; 14: 377-381

Gaffar A, Scherl D, Afflitto J, Coleman EJ. The effect of triclosan on mediators of gingival inflammation. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 480-484

Gapski R, Barr JL, Sarment DP, Layher MG, Socranski SS, Giannobile WV. Effect of systemic matrix metalloproteinase inhibition on periodontal wound repair: A proof of concept trial. *J Periodontol* 2004; 75: 493-494

Garcia L, Tercero JC, Legido B, Ramos JA, Alemany J, Sanz M. Rapid detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* and *Porphyromonas gingivalis* by multiplex PCR. *J Periodont Res* 1998; 33: 59-64

Genco RJ. Current view of risk factors in periodontal diseases. *J Periodontol* 1996; 67: 1041-1049

Giedrys-Leeper E, Selipsky H, Williams BL. Effects of short-term administration of metronidazole on the subgingival microflora. *J Clin Periodontol* 1985; 12: 797-814

Glavind L. The result of periodontal treatment in relationship to various background factors. *J Clin periodontol* 1986; 13: 789-794

Göbel U, Krekeler G, Pelz K. Derzeitiger Stand der parodontalen Mikrobiologie. 2. Workshop Mikrobiologie und Immunologie der parodontalen Erkrankungen. In: Flores-de-Jacoby L, Mannheim W, HRSG. Berlin: Quintessenz Verlags GmbH, 1992: 33-42

Golub LM, Lee HM, Ryan ME, Giannobile WV, Payne J, Sorsa T. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res* 1998; 12: 12-26

Grossman E, Mechel AH, Isaacs RL, Feretti GA. A clinical comparison of antibacterial mouthrinses: Effects of chlorhexidine, phenolics and sanguinarine on dental plaque and gingivitis. *J Periodontol* 1989; 60: 435-439

Gunsolley JC, Zambon JJ, Mellott CA, Brooks CN, Kaugars CC. Periodontal therapy in young adults with severe generalized periodontitis. *J Periodontol* 1994; 65: 268-273

Gusberti FA, Syed SA, Lang, NP. Combined antibiotic (metronidazole) and mechanical treatment effects on the subgingival bacterial flora of sites with recurrent periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 353-359

Gutsche G, Eger T, Zöller L, Eisele R und Lüdde R. Prävalenz und Persistenz von *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* und *Tannerella forsythensis* bei Patienten mit aggressiver Parodontitis. *Parodontol* 2004; 15: 145-155

Haffajee AD, Socransky SS, Goodson JM. Clinical parameters as predictors of destructive periodontal disease activity. *J Clin Periodontol* 1983; 10: 257-265

Haas R, Baron M, Dörtbudak O, Watzek G. Lethal photosensitization, autogenous bone and ePTFE membrane for the treatment of periimplantitis: Preliminary results. *Int Oral Maxillofac Implants* 2000; 15: 374-382

Hanemaaijer R, Sorsa T, Konttinen YT, Ding Y, Sutinen M, Visser H, van Hinsbergh VWM, Helaakoski T, Kainulainen T, Rönkä H, Tschesche H, Salo T. Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells. Regulation by tumor necrosis factor-alpha and doxycycline. *J Biol Chem* 1997; 272: 31504-31509

Hanes PJ, Purvis JP. Local anti-infective therapy: pharmacological agents. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003; 8: 79-98

Haynes RB, Taylor DW, Sackett DL. How to detect and manage low patient compliance in chronic illness. Dt. Übersetzung Schrey A, Noack EA, HRSG. München Wien: R. Oldenbourg Verlag, 1982: 11-18

Hellwege, KD. Die Praxis parodontaler Infektionskontrolle und Gewebemodulation. Lauterecken: Selbstverlag, 2003

Hof H, Dörries R. Medizinische Mikrobiologie. New York: Thieme Verlag Stuttgart, 2002: 252

Hoffler U, Niederau W, Pulverer G. Susceptibility of *Bacterium A.actinomycetemcomitans* to 45 antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1980; 17: 943-946

Holmberg K, Killander J. Quantitative determination of Immunglobuline (IgG, IgA, IgM) and identification IgA-type in the gingival fluid. *J Periodont Res* 1971; 6: 1-8

Holmes SG, Still K, Buttle DJ, Bishop NJ, Grabowski PS. Chemically modified tetracyclines act through multiple mechanisms directly on osteoclast precursors. *Bone* 2004; 35: 471-478

Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* und *Tannerella forsythia*: The „red complex“, a prototype polybacterial pathogenic consortium in Periodontitis. *Periodontol 2000* 2005; 38: 72-122

Horwitz J, Machtei E, Beled M, Laufer D. Amine fluoride/stannous fluoride and chlorhexidin mouthwashes as adjuncts to surgical periodontal therapy. A comparative study. *J Periodontol* 2000; 10: 1601-1606

Huynh-Ba G, Lang NP, Tonetti MS, Salvi GE. The association of the composite IL-1 genotype with periodontitis progression and/or treatment outcomes: a systematic review. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 305–317

Iino Y, Hopps RM. The bone resorbing activities in tissue culture of lipopolysaccharides from bacteria *A. actinomycetemcomitans*, *B. gingivalis*, *Cochracea* isolated from human mouth. *Arch Oral Biol* 1984; 29: 59-63

Ingman T, Tervahartialah T, Ding Y. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 1127-1132

Jenkins WM, MacFarlane TW, Gilmour WH, Ramsay I, MacKenzie D. Systemic metronidazole in the treatment of periodontitis. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 443-450

Jervøe-Storm PM, Koltzsch M, Falk W, Dörfler A, Jepsen S. Comparison of Culture and real-time PCR for detection and quantification of five putative periodontopathogenic bacteria in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 778-783

Jervøe-Storm PM, Kruppenbacher JP. Parodontitis – Diagnostik und Therapie. ZMK Magazin für Zahnheilkunde 2000; 3: 96-104

Jervøe-Storm PM, Semaan E, Al Ahdab H, Engel S, Fimmers R, Jepsen S. Clinical outcomes of quadrant root planing versus full-mouth root planing. J Clin Periodontol 2006; 33: 209-215

Kähäri VM, Saarialho-Kere U. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumour growth and invasion. Ann Med 1999; 31: 34-45

Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD, Molvar MP. Relationship of gingival bleeding, gingival suppuration and supragingival plaque to attachment loss. J Periodontol 1990; 61: 347-351

Kinane DF, Darby IB, Said S, Luoto H, Sorsa T, Tikanoja S, Mäntylä P. Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. J Periodont Res 2003; 38: 400-404

Kinane DF. Regulators of tissue destruction and homeostasis as diagnostic aids in periodontology. Periodontol 2000 2000; 24: 215-225

Kinane DF, Darby IB, Said S, Luoti H, Sorsa T, Tikanoja S, Mäntylä P. Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. J Periodont Res 2003; 38: 400-404

Kleinfelder JW, Müller RF, Lange DE. Antibiotic susceptibility of putative periodontal pathogens in advanced periodontitis patients. J Clin Periodontol 1999; 26: 347-351

Komerik N, Wilson M, Poole S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram-negative bacteria. Photochem Photobiol 2000; 72: 676-680

Komerik N, Wilson M. Factors influencing the susceptibility of gram-negative bacteria to toluidine blue O-mediated lethal photosensitization. J Appl Microbiol 2002; 92: 618-623

Komerik N, Nakanishi H, MacRobert AJ, Henderson B, Speight P, Wilson M. In vivo killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine blue mediated photosensitization in an animal model. Antimicrob Agent Chemother 2003; 47: 932-940

Kornman KS, Di Giovine FS. Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann Periodontol* 1998; 1: 327

Kornman KS; Robertson PB. Clinical and microbiological evaluation of therapy for juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1985; 56: 443-446

Kowashi Y, Jaccard F, Cimasoni G. Increase of free collagenase and neutral protease activities in gingival crevice during experimental gingivitis in man. *Arch oral biol* 1979; 24: 645-650

Krakauer T, Buckley M. Doxycycline is antiinflammatory and inhibits Staphylococcal exotoxin-induced cytokines and chemokines. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47: 3630-3633

Kraus RL, Pasieczny R, Lariosa-Willingham K, Turner MS, Jiang A, Trauger JW. Antioxidant properties of minocycline neuroprotection in an antioxidative stress assay and direct radical-scavenging activity. *J Neurochem* 2005; 94: 819-827

Kremer HA, Loos BG, van der Welden U, Winkelhoff A, Craandijk H, Bulthuis H, Hutter J, Varoufaki A, van Steenberghe M. Peptostreptococcus micros smooth and rough genotypes in periodontitis and gingivitis. *J Periodontol* 2000; 71: 209-217

Kühner MK, Raetzke PB. The effect of health belief on the compliance of periodontal patients with oral hygiene instructions. *J Periodontol* 1989; 60: 51-56

Lacroix JM und Mayrand D. The effect of subminimal inhibitory concentrations of antimicrobial agents on three bacterial mixtures. *Oral Microbiol Immunol* 1989; 4: 82-88

Ladwig GP, Robson MC, Liu R, Kuhn MA, Muir DF, Schultz GS. Ratios of activated matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in wound fluids are inversely correlated with healing of pressure ulcers. *Wound Repair Regen* 2002; 10: 26-37

Lai C, Listgarten M, Shirakawa M and Slots J. *Bacteroides forsythus* in adult gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1987; 2: 152-157

Lamster IB, Vogel RI, Hartley LJ, De George CA, Gordon JM. Lactase dehydrogenase, beta-Glucuronidase and arylsulfatase activity in gingival crevicular fluid associated with experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1985; 56: 139-147

Lamster IB. Current concepts and future trends for periodontal disease and periodontal therapy, Part 2: Classification, diagnosis, and nonsurgical and surgical therapy. *Dent Today* 2001; 20: 86-91

Lang NP, Joss A, Orsanic T, Gusperti FA, Siegrist BE. Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease? *J Clin Periodontol* 1986; 13: 590-596

Lang NP, Brex MC. Chlorhexidine digluconate: An agent for chemical plaque control and prevention of gingival inflammation. *J Periodontal Res* 1986; 21: 74-89

Lee HM, Ciancio SG, Tuter G, Ryan ME, Komaroff E, Golub M. Subantimicrobial dose doxycycline efficiency as a matrix metalloproteinase inhibitor in chronic periodontitis patients is enhanced when combined with non-steroidal anti-inflammatory drug. *J Periodontol* 2004; 75: 453-463

Lichtinghagen R, Michels D, Haberkorn CI, Arndt B, Bahr M, Flemming P, Manns MP, Boeker KH. Matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-7, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are closely related to the fibroproliferative process in the liver during chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001; 34: 239-247

Listgarten MA. Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease. *J Periodontol* 1976; 47: 1-18

Listgarten MA, Lindhe J, Hellden L. Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease. Clinical, microbiological and histological observations. *J Clin Periodontol* 1978; 5: 246-271

Listgarten MA, Levin S. Positive correlation between the proportions of subgingival spirochetes and motile bacteria and susceptibility of human subjects to periodontal deterioration. *J Clin Periodontol* 1981; 8: 122-138

Listgarten MA. The structure of dental plaque. *Periodontology* 2000 1994; 5: 52-65

Llambes F, Silvestre FJ, Hernandez-Mijares A, Guiha R, Caffesse R. Effect of non-surgical periodontal treatment with or without doxycycline on the periodontium of type 1 diabetic patients. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 915-920

Llavaneras A, Ramamurthy NS, Heikkilä P, Teronen O, Salo T, Rifkin BR, Ryan ME, Golub LM, Sorsa T. A combination of a chemically modified doxycycline and a bisphosphonate synergistically inhibits endotoxin-induced periodontal breakdown in rats. *J Periodontol* 2001; 72: 1069-1077

Loe H, Schiott CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodont Res* 1970; 5: 79-83

Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis in man. *J Periodontol* 1965; 36: 177-187

Loesche W, Syed S, Laughon B, Stoll J. The bacteriology of acute necrotizing ulcerative Gingivitis. *J Periodontol* 1982; 53: 223-230

Loesche WJ, Syed SA, Morrison EC, Kerry GA, Higgins T, Stoll J. Metronidazole in periodontitis. Clinical and bacteriological results after 15 to 30 weeks. *J Periodontol* 1983; 55: 325-335

Loesche WJ, Schmidt E, Smith BA, Morrison EC, Caffesse R, Hujoel PP. Effects of metronidazole on periodontal treatment needs. *J Periodontol* 1991; 62: 247-257

Lövdal A, Schei O, Waerhaug J, Arno A. Tooth mobility and alveolar bone resorption as a function of occlusal stress and oral hygiene. *Acta Odontol Scan* 1959; 17: 61

López NJ, Valenzuela CY, Jara L. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms associated with periodontal disease in type 2 diabetes. *J Periodontol* 2009; 80: 1590-1598

Lovegrove JM. Dental plaque revisited: Bacteria associated with periodontal disease. *JNZ Soc Periodontol* 2004: 7-20

Ma J, Kittu U, Teronen O, Sorsa T, Husa V, Laine P, Ronka H, Salo T, Lindqvist C, Konttinen YT. Collagenases in different categories of periimplant vertical bone loss. *J Dent Res* 2000; 79: 1870-1873

Mäntylä P, Stenman M, Kinane DF, Tikanoja S, Luoto H, Salo T, Sorsa T. Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis.

J Periodont Res 2003; 38: 436-439

Mäntylä P. The scientific basis and development of a matrix metalloproteinase (MMP)-8 specific chair-side test for monitoring periodontal health and disease from gingival crevicular fluid. Academic dissertation for the degree of PhD, University of Helsinki; 2006

Mäntylä P, Stenman M, Paldanius M, Saikku P, Sorsa T, Meurman JH. Chlamydia pneumoniae together with collagenase-2 (MMP-8) in periodontal lesions. Oral Diseases 2004; 10: 32-35

Mah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. Trends Microbiol 2001; 9: 34-39

Maltz M, Emilson CG. Susceptibility of oral bacteria to various fluoride salts. J Dent Res 1982; 61: 786-790

Mancini S, Romanelli R, Laschinger CA, Overall CM, Sodek J, Mc Culloch CAG. Assessment of a novel screening test for neutrophil collagenase activity in the diagnosis of periodontal diseases. J Periodontol 1999; 70: 1292-1302

Marsh PD. Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. J Dent Res 1992; 71: 1431-1438

Marsh P, Martin MV. Orale Mikrobiologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2003

Martin S, Zafiropoulos GG, Zick R, Kolb GF. Parodontitis bei Diabetes mellitus: Eine bislang unterschätzte lokale Komplikation mit systemischer Bedeutung. Diabetes und Stoffwechsel 2001; 10: 23-28

Martorelli de Lima AF, Cury CC, Palioto DB, Duro AM, Da Silva RC, Wolff LF. Therapy with adjunctive doxycycline local delivery in patients with type 1 diabetes mellitus and periodontitis. J Clin Periodontol 2004; 31: 648-653

Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurements of interleukin-1-alpha and -1-beta in gingival crevicular fluid: Implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 1990; 25: 156-163

Mayfield L, Bratthall G, Attström R. Periodontal probe precision using 4 different periodontal probes. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 76-82

Mazza JE, Newman MG, Sims TN. Clinical and antimicrobial effect of stannous fluoride on periodontitis. *J Clin Periodontol* 1981; 8: 203-212

Mc Guire MK. Prognosis versus actual outcome: a longterm survey of 100 treated periodontal patients under maintenance care. *J Periodontol* 1991; 62: 51-58

Mc Culloch CA, Birek P, Overall C, Aitken S, Lee W, Kulkarni G. Randomized controlled trial of doxycycline in prevention of recurrent periodontitis in high-risk patients: antimicrobial activity and collagenase inhibition. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 616-622

Mc Murry LM, Oethinger M, Levy SB. Overexpression of marA, soxS, or acrAB produces resistance to triclosan in laboratory and clinical strains of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett* 1998; 166: 305-309

Meisel P, Siegemund A, Dombrowa S, Sawaf H, Fanghaenel J, Kocher T. Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1alpha, IL-1beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 2002 ; 73: 27-32

Mikits K, Hahn H. *Basiswissen Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Berlin: Springer Verlag, 1999: 291-306

Mombelli A, Gmur R, Gobbi C, Lang NP. *A. actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. Topographic distribution before and after treatment. *J Periodontol* 1994; 65: 820-826

Moore WE, Holdemann LV, Cato EP, Smibert RM, Burmeister JA, Palcanes KG, Ranney RR. Comparative bacteriology of juvenile periodontitis. *J Infect Immunol* 1985; 48: 507-519

Moran J, Addy M, Newcombe RG, Marlow II. A study to assess the plaque inhibitory activity of a new triclosan mouthrinse formulation. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 806-809

Moses MA, Marikovsky M, Harper JW, Vogt P, Eriksson E, Klagsbrun M, Langer R. Temporal study of the activity of matrix metalloproteinases and their endogenous inhibitors during wound healing. *J Cell Biochem* 1996; 60: 379-386

Müller HP, Eickholz P, Heinecke A, Pohl S, Müller RF, Lange DE. Simultaneous isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from subgingival and extracrevicular locations of the mouth. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 413-419

Müssig E, Berger M, Komposch G, Brunner M. Prädiktoren für die Compliance in der Kieferorthopädischen Behandlung. *Gesundheitswesen* 2008; 70: 164-169

Munjal SK, Prescher N, Struck F, Sorsa T, Maier K, Netuschil L. Evaluation of immunoassay-based MMP-8 detection in gingival crevicular fluid on a point-of-care platform. *Ann NY Acad Sci* 2007; 1098: 490-492

Murphy G, Knauper V. Relating matrix metalloproteinase structure to function: why the „hemopexin“ domain? *Matrix Biol* 1997; 15: 511-518

Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem* 1997; 378: 151-160

Nagase H, Woessner F. Matrix Metalloproteinases. *Biol Chem* 1999; 274: 21491- 21494

Nakamura M, Slots J. Aminopeptidase activity of *Campylobacter*. *J Periodont Res* 1982; 17: 597-603

Nanda RS, Kierl MJ. Prediction of cooperation in orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1992; 102: 15-21

Netuschil L. Die dentale Plaque – ein Paradebiofilm. *Plaquencare* 2006; 2: 10-12

Neumann S, Lang H. Entzündung. In: Greiling H, Gressner AM. *Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathobiochemie*. Stuttgart: Schattauer Verlag, 1998: 1023-1054

Newbrun E. Indices to measure gingival bleeding. *J Periodontol* 1996; 67: 555-561

Niederman R. Manual and electronic probes have similar reliability in the measurement of untreated periodontitis. *Evid Based Dent* 2009; 10: 39

Niekraash CE, Patters MR. Simoultaneous assessment of complement components C3, C4 and B and their cleavage products in human gingival fluid. *J Periodont Res* 1985; 20: 268-275

Nieminen A. Advanced adult periodontitis. Clinical, microbiological, immunological and biochemical markers for treatment response. PhD-Thesis. University of Helsinki. Helsinki, Finland 1997

Novaes AB, Novaes AB jr. Compliance with supportive periodontal Therapy Part 1. Risk of Non-Compliance in the first 5 year period. *J Periodontol* 1999; 70: 679-682

Nwomeh BC, Liang HX, Diegelmann RF, Cohen IK, Yager DR. Dynamics of the matrix metalloproteinases MMP-1 and MMP-8 in acute open human dermal wounds. *Wound Repair Regen* 1998; 6: 127-134

Nwomeh BC, Liang HX, Cohen IK, Yager DR. MMP-8 is the predominant collagenase in healing wounds and nonhealing ulcers. *J Surg Res* 1999; 81: 189-195

Offenbacher S, Farr DH, Goodson JM. Measurement of prostaglandin E2 in crevicular fluid. *J Clin Periodont* 1981; 8: 359-367

Offenbacher S, Odle BM, Gray RC, Van Dyke TE. The use of crevicular fluid prostaglandine E2 levels as a measure of the periodontal disease status of adult and juvenile periodontitis patients. *J Periodont Res* 1984; 19: 1-13

Ogawa H, Yoshihara A, Hirotsomi T, Ando Y, Miyazaki H. Risk factors for periodontal disease progression in among elderly people. *J Clin Periodontology* 2002; 7: 592

Okano T, Mera T, Ohki M, Ishikawa I, Yamada N. Digital subtraction of radiograph in evaluating alveolar bone changes after initial periodontal therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69: 258-262

Overall CM, Weibkin OM, Thonard JC. Demonstration of collagenase activity in vivo and its relationship to inflammation severity in human gingiva. *J Periodont Res* 1987; 22: 81-88

Page RC, Schroeder HE. Periodontitis in man and other animals. A comparative review. *Periodontol 2000* 1982; 14: 216-248

Palosaari H, Pennington CJ, Larmas M, Edwards DR, Tjaderhane L, Slao T. Expression profile of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in mature human odontoblasts and pulp tissue. *Eur J Oral Sci* 2003; 111: 117-127

Parks WC, Mecham RP. *Matrix Metalloproteinases*. San Diego: Academic Press, 1998

Patters MR, Niekrash CE, Lang NP. Assessment of complement cleavage in gingival fluid during experimental gingivitis in man. *J Clin Periodont* 1989; 16: 33-37

Pfister W, Eick S. Mikrobiologische Diagnostik progressiver Formen der Parodontitis marginalis. *Thüringer Zahnärztliches Blatt* 2001; 2: 22-28

Prescher N, Maier K, Munjal S, Sorsa T, Bauermeister CD, Struck F, Netuschil L. Rapid quantitative chairside test for active MMP-8 in gingival crevicular fluid. *Ann NY Acad Sci* 2007; 1098: 493-495

Quirinen M, De Soete M, Dierickx K, Van Steenberghe D. The intraoral translocation of periodontopathogenes jeopardises the outcome of periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 499-507

Ravanti L, Kähäri VM. Matrix metalloproteinases in wound repair. *Int J Mol Med* 2000; 6: 391-407

Renvert S, Wikstrom M, Dahlen G, Slots J, Egelberg J. Effect of root debridement on the elimination of *A. actinomycetemcomitans* and *B. gingivalis* from periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1990a; 17: 345-350

Renvert S, Wikstrom M, Dahlen G, Slots J, Egelberg J. On the inability of root debridement and periodontal surgery to eliminate *A. actinomycetemcomitans* from periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1990b; 17: 351-355

Reynolds JJ. Collagenases and tissue inhibitors of metalloproteinases: a functional balance in tissue degradation. *Oral Dis* 1996; 2: 70-76

Ribeiro DA, Bazo AP, Da Silva Franchi CA, Marques ME, Salvadori DM. Chlorhexidine induces DNA damage in rat peripheral leukocytes and oral mucosal cells. *J Periodontal Res* 2004; 39: 358-361

Riep BG, Bernimoulin JP, Barnett ML. Comparative antiplaque effectiveness of an essential oil and an amine fluoride/stannous fluoride mouthrinse. *J Clin Periodontol* 1999; 26: 164-168

Ries C, Petrides PE. Cytokine regulation of matrix metalloproteinase activity and its regulatory dysfunction in disease. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1995; 376: 345-355

Ryu JK, Choi HB, Mc Larnon JG. Combined minocycline plus pyruvate treatment enhances effects of each agent to inhibit inflammation, oxidative damage and neuronal loss in an excitotoxic animal model of Huntington's disease. *Neuroscience* 2006; 141: 1835-1848

Rizzo A, Mergenhagen EJ. Local and systemic effects of endotoxin applied to oral mucosa. *J Dent Res* 1961; 40: 665

Said S, Mohd H, Sander L, Rönkä H, Sorsa T, Kinane DF. GCF levels of MMP-3 and MMP-8 following placement of bioresorbable membranes. *J Clin Periodontol* 1999; 26: 757-763

Sanderink RBA, Bernhardt H, Knoke M, Meyer J, Weber C, Weiger R. *Curriculum Orale Mikrobiologie und Immunologie*. Berlin: Quintessenz Verlags GmbH, 2004

Sapardin AN, Fleischmajer R. Tetracyclines nonantibiotic properties and their implications. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54: 258-265

Sarkar S, Wilson M. Lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque from patients with chronic periodontitis. *J Periodont Research* 1993; 28: 204-210

Saxen L, Asikainen S. Metronidazole in the treatment of localized juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 166-171

Schmidt H, Knöfler G, Okun M, Purschwitz R, Strzelczyk P, Brosteanu O. Vergleich zweier Testmethoden zum Nachweis von parodontalpathogenen Keimen. Quintessenz 51 2000; 4: 379-383

Schwarz F, Bieling K, Venghaus S, Sculean A, Jepsen S, Becker J. Influence of fluorescence-controlled Er: YAG laser radiation, the Vector system and hand instruments on periodontally diseased root surfaces in vivo. J Clin Periodontol 2006; 33: 200-208

Sculean A, Jepsen S. Diabetes mellitus als Risikofaktor für Parodontitis aus Risikokompensandum Parodontitis, Deutsche Gesellschaft für Parodontologie e.V., KZVH. Berlin: Quintessenz Verlags GmbH, 2002: 7-16

Sellmann HH. Risikountersuchungen in der Zahnarztpraxis. Spitta Fachinformationen, Balingen 2007

Shirodaria S, Smith J, Mc Kay IJ, Kennett CN, Hughes FJ. Polymorphisms in the IL-1 α gene are correlated with levels of interleukin-1 α protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. J Dent Res 2000; 79: 1864-1869

Silva-Boghossian CM, Amaral CS, Maia LC, Luiz RR, Colombo AP. Manual and electronic probing of the periodontal attachment level in untreated periodontitis: a systemic review. J Dent 2008; 36: 651-657

Slots J. The predominant cultivable organisms in juvenile periodontitis. Scand J Dent Res 1976; 84: 1-10

Slots J. Microflora in the healthy gingival sulcus in man. Scand J Dent Res. 1977; 85: 247-254

Slots J, Genco RJ. Black pigmented Bacteroides species, Capnocytophaga species and A. actinomycetemcomitans in human periodontal disease: Virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. J Dent Res 1984; 63: 412-421

Slots J, Listgarden MA. B. intermedius und A. Actinomycetemcomitans in human periodontal disease. J Clin Periodontol 1988;15: 85-93

Slots J, Moenbo D, Langebaek J, Frandsen A. Microbiota of gingivitis in man. *Scand J Dent Res* 1978; 86: 174-181

Slots J, Rosling BG. Suppression of the periodontopathic microflora in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. *J Clin Periodontol* 1983; 10: 465-486

Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol* 1992; 63: 322-331

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL jr.. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 134-144

Socransky S, Haffajee AD. Mikrobiologie der Parodontitis. In: Lindhe J, Karring T, Lang N, HRSG. *Klinische Parodontologie und Implantologie*. Berlin: Quintessenz Verlags GmbH, 1999: 138-188

Socransky S, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology* 2000 2002; 28: 12-55

Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Duff GW. Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 810-818

Soell M, Elkaim R, Tenenbaum H. Cathepsin C, matrix metalloproteinases, and their tissue inhibitors in gingiva and gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Dent Res* 2002; 81: 174-178

Soo C, Shaw WW, Zhang X, Longaker MT, Howard EW, Ting K. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue-derived inhibitors in cutaneous wound repair. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105: 638-647

Sorsa T, Ding YL, Ingman T, Salo T, Westerlund U, Haapasalo M, Tschesche H, Konttinen YT. Cellular source, activation and inhibition of dental plaque collagenase. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 709-717

Sorsa T, Mäntylä P, Ronka H, Kallio P, Kallis GB, Lundqvist C, Kinane DF, Salo T, Golub LM, Teronen O, Tikanoja S. Scientific basis of a matrix metalloproteinase-8 specific chair-side test for monitoring periodontal and peri-implant health and disease. *Ann NY Acad Sci* 1999; 878: 130-140

Sorsa TA, Tikanoja SH, Lundqvist LC. Methods and test kits for specific and sensitive diagnosing of periodontal diseases. European Patent Specification: EP 0 777 859 B1: 2002

Sorsa T, Tjäderhane L, Slao T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Diseases* 2004; 10: 311-318

Sorsa T, Hernandez M, Leppilahti J, Munjal S, Netuschil L, Mäntylä P. Detection of GCF MMP-8 levels with different laboratory and chair-side methods. *Oral Diseases* 2010; 16: 39-45

Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17: 463-516

Sundquist G, Bengtson A, Carlsson J. Generation and degradation of the complement fragment C5a in human serum by *B. gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol* 1988; 3: 103-107

Sundquist G, Carlsson J, Herrmann B, Tärnvik A. Degradation of human immunoglobulins G and M and complement factors C3 and C5 by black pigmented *Bacteroides*. *J Med Microbiol* 1985; 19: 85-94

Syed SA, Loesche WJ. Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl Microbiol* 1972; 24: 638-644

Tanner ACR, Haffer C, Bratthall GT, Visconti RA, Socransky SS. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J Clin Periodontol* 1979; 6: 278-307

Takahashi Y, Okuno Y, Yamanouchi T, Takada N, Yamanishi K. Comparison of immunofluorescence and hemagglutination inhibition tests and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibody in rats infected with hemorrhagic fever with renal syndrome virus. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 712-715

Takimoto K, Taharaguchi M, Morikawa S, Ike F, Yamada YK. Detection of the antibody to lymphocytic choriomeningitis virus in sera of laboratory rodents infected with viruses of laboratory and newly isolated strains by ELISA using purified recombinant nucleoprotein. *Exp Anim* 2008; 57: 357–365

Tamargo RJ, Bok RA, Brem H. Angiogenesis inhibition by minocycline. *Cancer Res* 1991; 51: 672-675

Teichert MC, Jones JW, Usacheva MN, Biel MA. Treatment of oral candidiasis with methylene blue-mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93: 155-160

Teronen O, Konttinen YT, Lindqvist C, Salo T, Ingman T, Lauhio A, Ding Y, Santavirta S, Sorsa T. Human neutrophil collagenase MMP-8 in peri-implant sulcus fluid and its inhibition by clodronate. *J Dent Res* 1997; 76: 1529-1537

Tervahartiala T, Pirilä E, Ceponis A, Maisi P, Salo T, Tuter G, Kallio P, Törnwall J, Srinivas R, Konttinen YT, Sorsa T. The in vivo expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases (MMP-2, -8, -13, and -14) and matrilysin (MMP-7) in adult and localized juvenile periodontitis. *J Dent Research* 2000; 79: 1969-1977

Tinanoff N, Hock J, Camosci D, Hellden L. Effect of stannous fluoride mouthrinse on dental plaque formation. *J Clin Periodontol* 1980; 7: 232-241

Theilade E, Wright WH, Börjglum-Jensen S, Løe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodont Res* 1966; 1: 1-13

Trengrove NJ, Stacey MC, Macauley S, Bennett N, Gibson J, Burslem F, Murphy G, Schultz G. Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair Regen* 1999; 7: 442

Trombelli L, Tatakis DN. Periodontal diseases: current and future indications for local antimicrobial therapy. *Oral Diseases* 2003; 9/Suppl.1: 11-15

Tsai CY, Wolff LF, Germaine G, Hodges J. A rapid probe test compared to culture methods for identification of subgingival plaque bacteria. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 57-62

Turre C, Robert M, Cimasoni G, Baehni P. Gingival sulcular leukocytes in periodontitis and in experimental gingivitis in humans. *J Periodont Res* 1984; 19: 457-468

Uitto VJ, Suomalainen K, Sorsa T. Salivary collagenase. Origin, characteristics and relationship to periodontal health. *J Periodont Res* 1990; 25: 135-142

Ulevitch RJ, Mathison JC, Lee JH, Kravchenko V, Gegner J, Pugin S, Steinemann D, Leturque A, Moriarty A, Kirkland T, Tobias PS. CD-14 and polysaccharide binding protein control host responses to bacterial lipopolysaccharide. In: Genco R, Hamada S, HRSG. *Molecular pathogenesis of periodontal disease*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1994

Ulrich D, Noah EM, von Heimburg D, Pallua N. TIMP-1, MMP-2, MMP-9, and PIIINP as serum markers for skin fibrosis in patients following severe burn trauma. *Plast Reconstr Surg* 2003; 111: 1423-1431

Usacheva MN, Teichert MC, Biel MA. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms. *Lasers Surg Med* 2001; 29: 165-173

Van Winkelhoff AJ, De Graaf J. Microbiology in the management of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 406-410

Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003; 92: 827- 839

Wagner H, Wierer M, Bauer R. In vitro inhibition of prostaglandin biosynthesis by essential oils and phenolic compounds. *Planta Med* 1986; 3: 184-187

Walker CB. The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. *Periodontol* 2000 1996; 10: 79-88

Wainwright M, Phoenix DA, Marland J, Wareing DR, Bolton FJ. A study of photobactericidal activity in the phenothiazinium series. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1997; 19: 75-80

Wennstroem JL, Newman HM, Mac Neill SR, Killoy WJ, Griffith GS, Gillam DG, Krok L, Needleman IG, Weiss G, Garrett S. Utilisation of locally delivered doxycycline in non-surgical treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 753-761

Wikesjö UM, Baker PJ, Christersson LA, Genco RJ, Lyall RM, Hic S, Diflorio RM, Teranova VP. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J Periodontal Res* 1986; 21: 322-329

Wilson M, Dobson J, Harvey W. Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation. *Curr Microbiol* 1992; 25: 77-81

Wilson M. Photolysis of oral bacteria and its potential use in the treatment of caries and periodontal disease. *J Appl Bacteriol* 1993; 75: 299-306

Wilson M, Dobson J, Sarkar S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 182-187

Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U. Additional clinical and microbiological effects of amoxicillin and metronidazole after initial periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 857-864

Xu L, Yu Z, Lee HM, Wolff MS, Golub LM, Sorsa T, Kuula H. Characteristics of collagenase-2 from gingival crevicular fluid and peri-implant sulcular fluid in periodontitis and peri-implantitis patients. *Acta Odont Scand* 2008; 66: 219-224

Yager DR, Nwomeh BC. The proteolytic environment of chronic wounds. *Wound Rep Reg* 1999; 7: 433-441

Young PK, Grinnell F. Metalloproteinase activation cascade after burn injury: a longitudinal analysis of the human wound environment. *J Invest Dermatol* 1994; 103: 660-664

Zambon JJ, Haraszthy VJ. The laboratory diagnosis of periodontal infections. *Periodontology* 2000 1996; 7: 69-82

8 DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Mathias Frentzen möchte ich für die Überlassung des Themas danken. Besonderer Dank gilt seinem steten Interesse am Fortschreiten der Arbeit und seinem Vertrauen in die Fähigkeiten des gesamten Praxisteam der Zahnarztpraxis Winkelmann.

In diesem Sinne danke ich meinem gesamten Praxisteam, besonders Frau Barbara Ostermayer für ihre ausgezeichnete Arbeit mit und am Patienten. Besonderer Dank geht auch an Kerstin Bruckschen für die Koordination und Einarbeitung der Probandentermine in den Praxisablauf. Karin Schöter und Damian Ziebura danke ich für die Erstellung und Übertragung der Datenmengen in Exceldateien und wiederholte Überprüfung auf Richtigkeit. Sabine Schönborn danke ich ebenfalls für die Hilfe und Motivation bei der Überprüfung der Daten auf Konsistenz. Axel Pelzer und Dr. Markus Tosse danke ich für Korrekturlesung.

Dr. Bauermeister und dem Labor Dr. Bauermeister danke ich für die mikrobiologischen und enzymatischen Untersuchungen der Proben.

Dr. Netuschil und der Firma Dentognostiks gebührt mein herzlichster Dank für die Erstellung von Grafiken und die wertvollen Diskussionen zu den Ergebnissen.

Der Firma Helbo sei gedankt für die Überlassung der Materialien und des Systems der antimikrobiellen photodynamischen Therapie.

Des Weiteren danke ich Herrn Dr. von Grodeck für die kompetente Hilfe bei der Erstellung der statistischen Datenanalyse. Frau Ridders-Wolf von Kittner Werbung und Design danke ich für Satz und Layout.

Meinen Eltern danke ich für die wertvolle Unterstützung, mit der sie nicht nur die vorliegende Arbeit, sondern mein gesamtes Studium und meinen Berufseinstieg gefördert haben. Meinem Vater danke ich vor allem für seine Geduld.

Zu allerletzt möchte ich ganz besonders meinem Freund Dr. Joachim Ingendahl danken, ohne dessen besondere Schaffung von Arbeitsatmosphäre, durch wiederholte Klausursitzungen und geistige Inspiration diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.