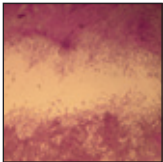


Wirkung eines Schmelzmatrix-Derivats und zyklischer mechanischer Belastung auf humane Gingivafibroblasten in einem In-vitro-Defektheilungsmodell



Jill E. Sanders, DDS¹/Augustine Chuang, PhD²/Gary D. Swiec, DDS³
Fredrick C. Bisch, DMD⁴/Robert W. Herold, DDS⁵
Thomas B. Buxton, PhD²/James C. McPherson III, PhD²

Gingivafibroblasten (GF) spielen für den Erhalt des Gingivaapparats und bei der Weichgewebereparatur eine wichtige Rolle. Sind eine parodontale Wunde oder ein Weichgewebetransplantat mobil, ist die GF-vermittelte Weichgewebeheilung beeinträchtigt. Schmelzmatrix-Derivat (EMD) ist ein Schmelzmatrix-Protein, das klinisch zur parodontalen Regeneration intraossärer Defekte und Furkationen sowie zur Behandlung von Gingivarezessionen verwendet wird. In diesem In-vitro-Defektheilungsmodell wurde der Effekt unterschiedlicher EMD-Konzentrationen mit bzw. ohne zyklische mechanische Belastung auf die zelluläre Wundfüllung durch humane GF untersucht. Diese wurden in 6er-Kulturplatten mit elastischen Böden gebracht und kultiviert. Im zentralen Anteil jedes Wells wurde bei Konfluenz eine 3 mm große Wunde angelegt. Drei Wells wurden mit einer EMD-Konzentration von 0 µg/ml (Kontrolle), 30 µg/ml, 60 µg/ml oder 120 µg/ml behandelt. Die Platten wurden in einem Inkubator mit einer Belastungseinheit einer zyklischen Belastung ausgesetzt (Test). Ein identischer Satz Kontrollplatten war nicht elastisch und unterlag keiner Belastung. Die Zellen wurden an den Tagen 4, 8, 12 und 16 untersucht. Dabei wurden Mikrofotografien angefertigt, mit einem Bildauswertungsprogramm die Wundfüllung gemessen und ihr prozentualer Anteil ausgerechnet. Bei allen Kontrollplatten kam es bis zum Tag 16 in vergleichbarer Geschwindigkeit und unabhängig von der EMD-Konzentration zu einer Defektfüllung > 90 %. Auf den Testplatten hatte EMD einen negativen Effekt auf die Defektfüllung. Dort betrug sie an Tag 16 55,7 % (0 µg/ml EMD), 48,2 % (30 µg/ml EMD), 36,7 % (60 µg/ml EMD) und 34,1 % (120 µg/ml EMD). Bei den Kontroll-GF wirkte sich EMD in Konzentrationen bis zu 120 µg/ml nicht signifikant auf die Defektfüllung aus. Bei den Test-GF hingegen beeinträchtigte die Zugabe von EMD die Defektfüllung dosisabhängig erheblich. (Int J Par Rest Zahnheilkd 2011;31:666-674.)

¹ Parodontologin, Fort Lewis, Washington; zuvor US Army Advanced Training Program in Periodontics, Fort Gordon, Georgia, USA.

² Forscher/in, Department of Clinical Investigations, Fort Gordon, Georgia, USA.

³ Parodontologin, Fort Meade, Maryland; zuvor US Army Advanced Training Program in Periodontics, Fort Gordon, Georgia, USA.

⁴ Direktor, US Army Advanced Training Program in Periodontics, Fort Gordon, Georgia, USA.

⁵ Parodontologin, Fort Eustis, Virginia; zuvor US Army Advanced Training Program in Periodontics, Fort Gordon, Georgia, USA.

Korrespondenz an: Robert W. Herold, COL, DC, Tignor Dental Clinic, 669 Monroe Ave, Fort Eustis, VA 23604, USA; Fax: +1 757 878-5369; E-Mail: robert.herold1@us.army.mil

Die hier geäußerten Ansichten entsprechen nicht der offiziellen Meinung des Verteidigungsministeriums der USA, des Heeresministeriums oder der zahnmedizinischen Sanitätseinheit. Im Artikel genannte Handelsnamen bedeuten nicht, dass sie von der Regierung der USA unterstützt werden.

In der gesunden Gingiva sind Gingivafibroblasten (GF) der vorherrschende Zelltyp. Sie sind am Erhalt des Zahnhalteapparats beteiligt. Fibroblasten spielen eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung, dem Erhalt und der Reparatur der gingivalen Bindegewebe. Sie stellen die Komponenten der extrazellulären Bindegewebsmatrix, z. B. verschiedene Kollagenarten, sowie verschiedene Glykoproteine und Proteoglykane der Grundsubstanz bereit. Außerdem bauen Fibroblasten das Kollagen bei der Bindegewebsreparatur um¹.

Nach einem Gewebeschaden kann die Wundheilung nur nach Rekrutierung von Zellen mit regenerativer Kapazität erfolgen. Nach ihrer Rekrutierung im verletzten Bereich müssen sich die Fibroblasten immobilisieren und mit der Matrixsynthese beginnen können. Das Anheften von Fibroblasten an der Extrazellulärmatrix ist für die Aufrechterhaltung einer geeigneten Zellform, Zellfunktion und Gewebeintegrität entscheidend². Jede Störung der normalen Zellfunktion der Fibroblasten kann sich ungünstig auf das Parodont auswirken.

Sind eine parodontale Wunde oder ein Weichgewebetransplantat mobil, ist die durch Gingivafibroblasten vermittelte Weichgewebeheilung

beeinträchtigt. Oft wird ein erheblicher Aufwand betrieben, um den bedeckenden Mukoperiostlappen zu stabilisieren (entsprechende Periostschlitzung, spezielle Nahttechniken und gelegentlich Parodontalverbände). Entscheidend für das Ergebnis rekonstruktiver Parodontaleingriffe ist die durch das Fibringerinnsel vermittelte Stabilität des Attachments zwischen Wurzeloberfläche und Gingivalappen³.

Schmelzmatrix-Derivat (EMD; Emdogain, Straumann) wird klinisch zur parodontalen Regeneration intraossärer Defekte, Furkationen und Gingivarezessionen verwendet. Es handelt sich um ein resorbierbares gefriergetrocknetes Material aus hydrophoben Schmelzmatrix-Proteinen, die aus embryonalem Schmelz porcinen Ursprungs extrahiert werden⁴. EMD soll das verloren gegangene parodontale Attachment wiederherstellen, indem es die Neubildung azellulären extrinsischen Faserzements und damit das Wachstum von Parodontalgewebe und Knochen anregt (echte parodontale Regeneration). Nach Gestrelus et al.⁵ ermöglicht EMD die Regeneration der verloren gegangenen Parodontalgewebe mit fast natürlicher Architektur und Funktion. Sie mutmaßten, dass EMD den Zellen als vitale Matrix dient. In ihrer Studie an einer Affenpopulation beschrieben sie das In-vivo-Wachstum von Zellen und zeigten, dass EMD die Kolonisierung der Wurzeloberfläche durch fibroblastenartige Zellen im Lauf der Zeit erhöht⁵.

Lackler et al.⁶ entwickelten ein In-vitro-Wundheilungsmodell für parodontale Zellen mit humanen Gingivafibroblasten (hGF). Rincon et al.⁷ untersuchten die Effekte von EMD auf das humane Parodontalligament (PDL), Fibroblasten und Gingivafibroblasten. Sie zeigten, dass die Zugabe von EMD zu einem rascheren und

vollständigeren Wundschluss durch Gingivafibroblasten statt durch PDL-Fibroblasten führt, obwohl die Wundfüllung durch humane Gingivafibroblasten unter EMD-Exposition fast identisch mit derjenigen der Gingivafibroblasten im Kontrollmedium war⁷.

Bei Standardverfahren zur Zellkultur wird die Wirkung der mechanischen Aktivität auf die Zellen allgemein ignoriert, da das Zellwachstum in einer statischen Umgebung auf Kulturplatten mit harten Böden erfolgt. Die Flexercell Strain Unit (Flexcell) wurde entwickelt, um die In-vivo-Bedingungen mit mechanischer Aktivität in einer kontrollierten In-vitro-Umgebung reproduzierbar zu simulieren⁸. In dieser Arbeit wurde die zelluläre Wiederbesiedlung durch hGF, die mit unterschiedlichen EMD-Konzentrationen behandelt wurden, verglichen. Dies erfolgte in einem In-vitro-Defektheilungsmodell mit (Test) bzw. ohne zyklische mechanische Belastung (Kontrolle).

Material und Methode

Zellkultur

Die hGFs wurden aus Gingivabiopsaten allgemein und parodontal gesunder, nicht rauchender Patienten gemäß einem zugelassenen Protokoll des Internal Review Board der Georgia Health Sciences University (vormals Medical College of Georgia), School of Dentistry, Augusta, Georgia, USA gewonnen. Das Institutional Review Board des Dwight David Eisenhower Army Medical Center, Fort Gordon, Georgia, USA genehmigte und leitete diese Forschungsarbeit. Das Gewebe wurde aus interdentalen Papillen von Prämolaren und Molaren der Spender entnommen, in $2 \times 2 \times 3 \text{ mm}^3$ Stücke zerkleinert und auf 6er-Kulturplatten

gegeben. Diese enthielten Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM) mit 10 % fetalem bovines Serum (FBS), 100 Units/ml Penicillin, 100 µg/ml Streptomycin und 50 µg/ml Amphotericin B. Die Explantate wurden bei 37 °C in einer Atmosphäre mit 5 % Kohlendioxid und 95 % Luft inkubiert. Das Medium wurde alle drei Tage ersetzt, bis eine Konfluenz zu erkennen war. Zellen, die aus den Gewebeeplantaten herauswanderten, wurden mit 0,25 % Trypsin-Ethylendiamintetraacetat (Invitrogen/GIBCO) von den Gewebekulturen gelöst und in DMEM in Kulturflaschen zu 75 cm^2 umgesetzt. Diese Zellen wurden als Passage 1 bezeichnet, in Kulturmedium aufbewahrt und wöchentlich oder bei Bedarf für ein Experiment subkultiviert. Verwendet wurden die Zellen zwischen der vierten und achten Passage.

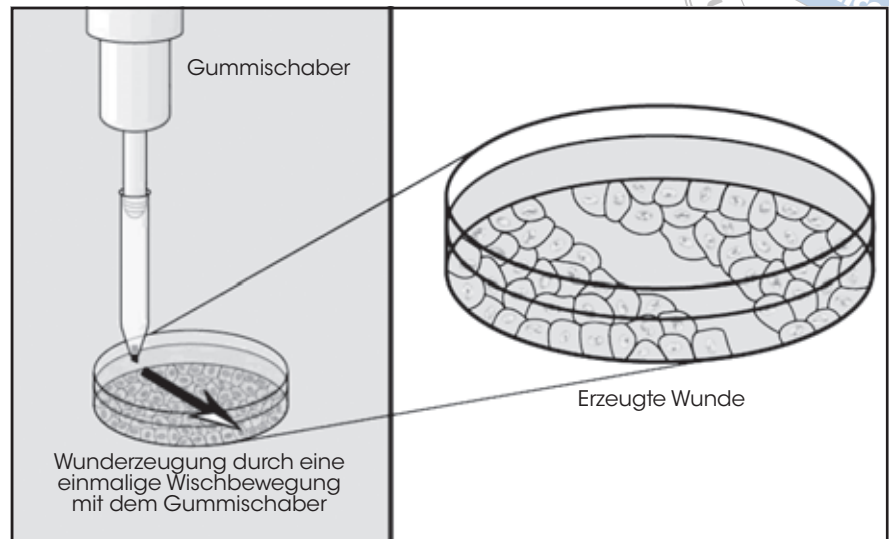
Plattenpräparation

Die konfluenten hGF-Kulturen wurden mit einer Dichte von etwa $2,5 \times 10^4$ Zellen je Well in die 6er-Kulturplatten mit elastischem Boden und Kollagenabdeckung (FlexWell 1, FlexWell) in DMEM mit 10 % FBS plattiert. Anschließend wurden sie bei 37 °C in einer Atmosphäre mit 5 % Kohlendioxid und 95 % Luft inkubiert, bis eine Konfluenz von 90 % erreicht war. Das Kulturmedium wurde für 24 Stunden durch DMEM mit 5 % FBS ersetzt und dann für 24 Stunden durch DMEM mit 1,5 % FBS, um einen Ruhezustand zu erreichen und den Zellen die Synchronisation ihres Zyklus zu ermöglichen.

In-vitro-Wundprotokoll

Das in dieser Studie verwendete Defektheilungsmodell ist ein modi-

Abb. 1 An einem Ende der Mitte des Wells wurde ein Gummischaber aufgesetzt und mit einer Wischbewegung ein Defekt mit einer Größe von 3 mm erzeugt.



fiziertes Verfahren, das erstmals von Lackler et al. beschrieben wurde⁶. In jedem Well wurde ein 3 mm breiter Defekt erzeugt (ein Loch in der einzelligen Schicht; Abb. 1), indem ein auf einer 5-ml-Pipette befestigter Gummischaber über die Oberfläche der Gewebekultur gezogen wurde. In Verbindung mit dem Saugen der Pipette wurde so Zellmaterial aus dem Wundbereich entfernt und der Zellverbund gestört, sodass ein Defekttrand entstand. Die Wunde wurde in der Mitte des Wells angelegt und reichte über seine gesamte Länge.

EMD-Exposition

Nach der Störung des Zellverbunds wurde das Kulturmedium durch DMEM mit 6 % FBS und entweder 0 µg/ml, 30 µg/ml, 60 µg/ml oder 120 µg/ml EMD ersetzt. Es wurde

eine niedrige EMD-Konzentration gewählt, um die übermäßige Akkumulation nicht lösbarer EMD-Komponenten in den Langzeitkulturen zu verhindern⁷. Das Medium wurde alle zwei Tage erneuert. Die Kulturen wurden an den Tagen 4, 8, 12 und 16 beendet.

Mechanische Belastung

Um die Wirkung einer zyklischen mechanischen Belastung auf die Zellkulturen zu ermitteln (Test), wurden die FlexWell-Platten im Kohlendioxidinkubator bei 37 °C auf das Flexercell-Gerät gestellt. Die Kontrollplatten standen im selben Inkubator, wurden aber nicht mechanisch belastet. Die Deformation erfolgte mit drei Zyklen pro Minute (0,05 Hz) oder durch eine maximale Dehnung für 10 Sekunden (um 24 %) mit einer anschließenden

Relaxation von 10 Sekunden⁹. Dieses Belastungsprogramm blieb die gesamte Zeit über konstant und wurde ununterbrochen auf die elastischen Zelleinheiten angewandt, bis das jeweilige Experiment beendet war (16 Tage). Das Medium mit 6 % FBS und der entsprechenden EMD-Konzentration wurde alle 48 Stunden durch eine frisch angesetzte Lösung erneuert.

Messung der Neubesiedlung des Defekts

Zur Messung der Defektbesiedlung wurden die Zellen nach einer Kulturzeit von vier, acht, 12 und 16 Tagen fixiert und mit Gill-Hämatoxylin Nr. 3 und Eosin Y gefärbt. Anschließend wurde im Defektbereich mit einem Zoom-Mikroskop (Maerican Optical Sterea Star, Leica Microsystems) nach eingewanderten gefärbten

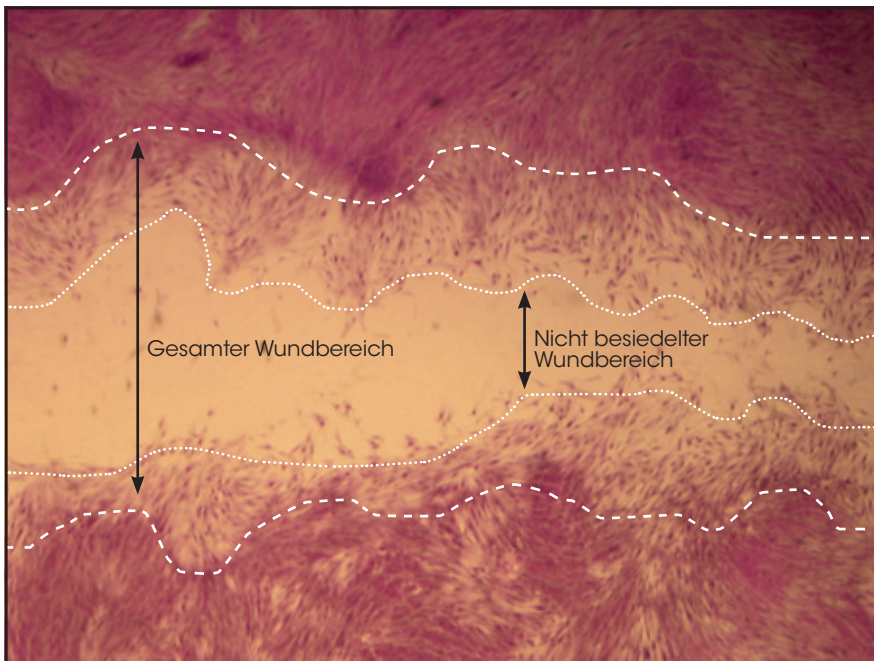


Abb. 2 Die Defektbesiedlung wurde durch Subtraktion des nicht besiedelten Defektbereichs vom Gesamtddefekt ermittelt und als prozentualer besiedelter Bereich angegeben.

Zellen gesucht. Weiterhin wurden mit einer Digitalkamera (Sony DXC-390, Sony) Mikrofotografien aufgenommen. Die Mikrofotografien des Defektbereichs wurden mit einem Bildverarbeitungsprogramm (Scion Image Software, Scion) ausgewertet. Für jeden Defektrand wurde der besiedelte Bereich berechnet. Die Zellbesiedlung wurde als prozentuale Defektfüllung angegeben (Abb. 2).

Die prozentuale Defektfüllung wurde für jeden Well berechnet und die Daten mit einer dreiseitigen sowie einer zweiseitigen Varianzanalyse und einem Verfahren für multiple paarige Vergleiche (Holm-Sidak oder Tukey-Test) ausgewertet, um die statistische Signifikanz zu ermitteln. Ein P-Wert $\leq 0,05$ galt als statistisch signifikant.

Ergebnis

Bei Betrachtung des gesamten Datensatzes bestand ein signifikanter Unterschied ($P \leq 0,05$) zwischen der Defektfüllung in den Test- (mechanische Belastung) und Kontroll-hGF-Zellkulturen (ohne mechanische Belastung) (Tab. 1 und 2). In den Kontrollzellkulturen fand sich von Tag 4 bis 16 eine signifikante Zunahme ($P \leq 0,001$) der Defektfüllung (Abb. 3). Die Zugabe von EMD in Konzentrationen von 30 bis 120 $\mu\text{g/ml}$ zu den Kontrollzellkulturen erhöhte die Defektfüllung im Vergleich zu den Kontrollen von Tag 4 bis 16 nicht signifikant, sondern hemmte die Defektfüllung an Tag 4 bei der EMD-Konzentration von 120 $\mu\text{g/ml}$ zwar geringfügig, aber signifikant ($P \leq 0,01$). Bei den Testkulturen (Abb. 4) fand

Tabelle 1 Mittlere prozentuale Defektfüllung bei den Testzellen (mit mechanischer Belastung)

Tag	EMD			
	0 µg/ml	30 µg/ml	60 µg/ml	120 µg/ml
4	32,58 %	31,90 %	24,31 %	25,89 %
8	41,96 %	41,45 %	38,29 %	31,50 %
12	56,05 %	52,71 %	38,75 %	34,22 %
16	59,49 %	48,23 %	41,66 %	34,09 %

Tabelle 2 Mittlere prozentuale Defektfüllung bei den Kontrollzellen (ohne mechanischer Belastung)

Tag	EMD			
	0 µg/ml	30 µg/ml	60 µg/ml	120 µg/ml
4	42,20 %	41,86 %	35,72 %	30,62 %
8	66,34 %	57,92 %	74,39 %	66,62 %
12	82,27 %	80,16 %	88,78 %	83,41 %
16	90,89 %	93,71 %	94,33 %	93,84 %

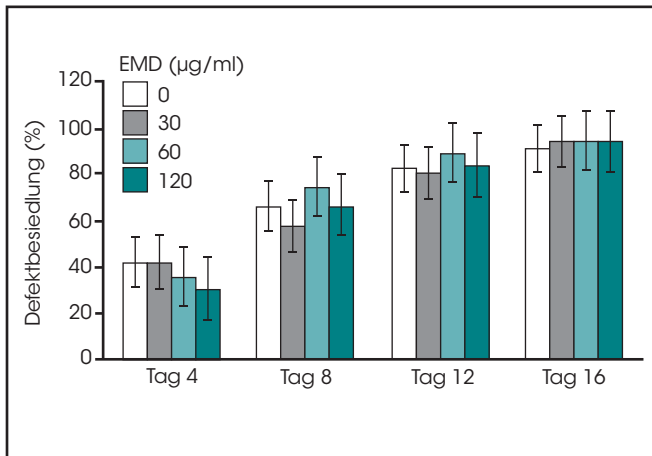


Abb. 3 Mittlere prozentuale Defektbesiedlung bei den Kontroll-hGF.

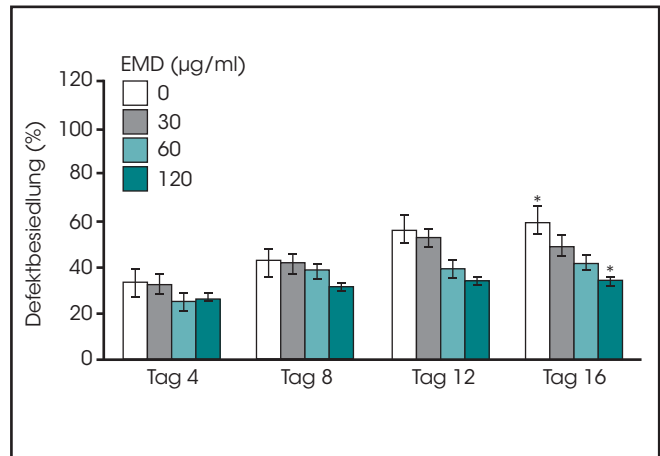


Abb. 4 Mittlere prozentuale Defektbesiedlung bei den Test-hGF. * $P \leq 0,01$.

sich ein dosisabhängiger negativer Effekt: Die Defektfüllung nahm bei zunehmender EMD-Konzentration ab, was für die Konzentrationen von 0 bis 120 µg/ml an Tag 16 signifikant war ($P \leq 0,01$).

Diskussion

Man geht davon aus, dass die Mobilität einer parodontalen Wunde eine

starke Belastung für die Fibroblasten ist und die Wundheilung verzögern oder stören kann. Die Theorie, wonach die Mobilität von Fibroblasten die Neubesiedlung eines Defekts verzögert, wird durch die vorliegende Untersuchung gestützt. In dieser Studie besiedelten hGF, die einer zyklischen Belastung ausgesetzt waren, den Defekt signifikant langsamer als nicht belastete hGF ($P \leq 0,05$). An Tag 16 erreichten alle Kontrollkultur-

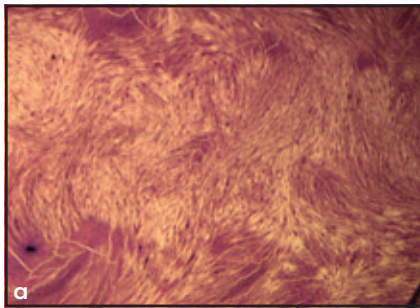


Abb. 5 Defektbesiedlung bei Kontroll-hGF an Tag 16 bei (a) 0 µg/ml, (b) 30 µg/ml, (c) 60 µg/ml und (d) 120 µg/ml EMD.

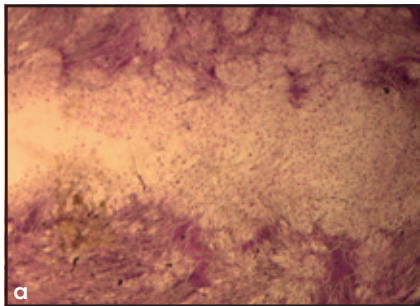
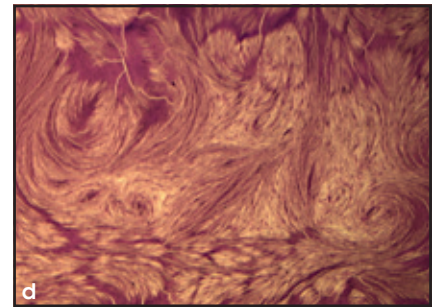
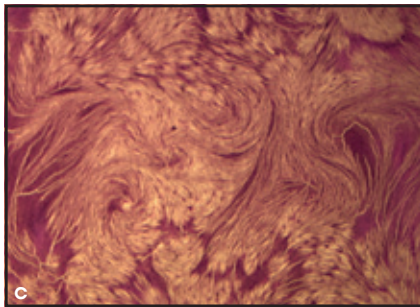
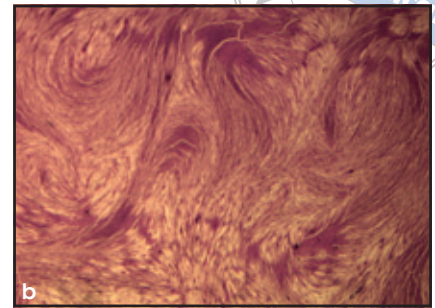
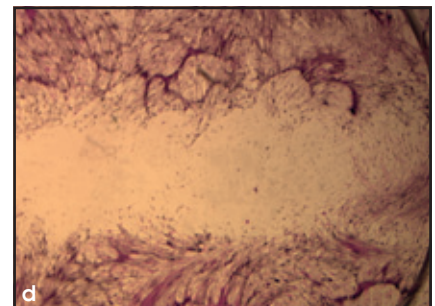
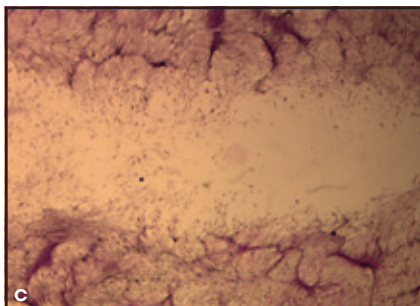
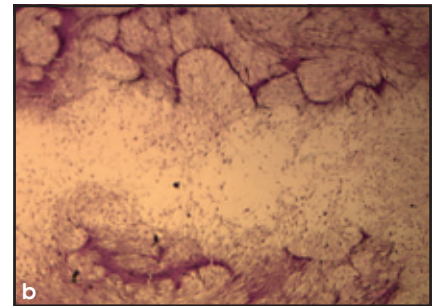


Abb. 6 Defektbesiedlung bei Test-hGF an Tag 16 bei (a) 0 µg/ml, (b) 30 µg/ml, (c) 60 µg/ml und (d) 120 µg/ml EMD.



platten unabhängig von der EMD-Konzentration eine Defektfüllung > 90 %, während die Defektfüllung in der Testgruppe an Tag 16 nie über 60 % lag.

Die Zugabe unterschiedlicher EMD-Konzentrationen wirkte sich auf

die Kontrollzellen nicht signifikant aus. EMD schien die Defektfüllung bei diesen Zellkulturen über die gesamte Studienlänge weder zu fördern noch zu behindern (Abb. 5). Allerdings wirkte sich EMD dosisabhängig negativ auf die Testzellpopu-

lationen aus (Abb. 6). Bereits an Tag 4 war ein negativer Trend zu erkennen, der bis Tag 16 eskalierte. Zu diesem Zeitpunkt war der Unterschied bei der Defektfüllung zwischen der Gruppe mit 0 µg/ml EMD und 120 µg/ml EMD statistisch signifikant

($P \leq 0,01$). An Tag 16 betrug die Defektfüllung bei 0 $\mu\text{g/ml}$ EMD 59,49 % und bei 120 $\mu\text{g/ml}$ EMD 34,09 %. Offenbar stört EMD bei beeinträchtigter Zellstabilität die Defektheilung.

In der Literatur wird EMD bei verschiedenen Formen der parodontalen Heilung als hilfreich beschrieben. Cardaropoli und Leonhardt¹⁰ kamen in ihrer Studie zu dem Ergebnis, dass die Anwendung von Matrixproteinen in Kombination mit einer offenen Kürettage und Wurzelglättung zur Anhebung des klinischen Attachmentniveaus und zur Füllung von tiefen intraossären Defekten führt. Froum et al.¹¹ erzielten in einer 12-monatigen Reentry-Studie ähnliche Ergebnisse und stellten fest, dass die Behandlung parodontaler intraossärer Defekte mit EMD klinisch einer Behandlung ohne EMD hinsichtlich der Abnahme der Sondierungstiefe, der Zunahme des klinischen Attachments und der knöchernen Defektfüllung überlegen war. Auch die Kombination aus EMD und einem Lappen wurde zur Behandlung von Gingivarezessionen eingesetzt. McGuire und Nunn¹² verglichen bei Patienten mit Rezessionsdefekten die klinische Effizienz von EMD bzw. subepitheliales Bindegewebe, jeweils kombiniert mit einem koronalen Verschiebelappen, und ermittelten für beide Gruppen vergleichbare Ergebnisse¹². Cueva et al.¹³ verglichen einen koronalen Verschiebelappen mit bzw. ohne die Zugabe von EMD in einer Split-mouth-Studie und stellten fest, dass das Auftragen von EMD auf die freigelegten Wurzeloberflächen die prozentuale Wurzeldeckung signifikant erhöhte.

Die Wundheilung des Parodontalgewebes erfolgt dynamisch zellulär und extrazellulär. Ziel dieser Arbeit war die In-vivo-Beurteilung der Proliferation von Gingivafibroblasten in einen Defektbereich, was jedoch

nur ein Aspekt der Wundheilung ist. Die Zellbewegung vollzieht sich abhängig von den Gradienten verschiedener chemischer Signale, von physikalischen Interaktionen am Zell-Substrat-Interface und von der mechanischen Belastung durch das Substrat. Veränderungen der Gewebefestigkeit und Belastungen spielen vermutlich bei mehreren Prozessen eine Rolle, wie den Zellbewegungen¹⁴. Die Fähigkeit dieser Zellen zur mechanischen Langstreckeninteraktion auf elastischen Substraten ist eine effektive Kommunikationsform, die vermutlich die aufeinander zu gerichtete Bewegung von zwei Zellpopulationen erklärt, die sich im Abstand von wenigen Millimetern in vitro auf einem Kollagengel befinden. Von van der Pauw et al.¹⁵ wurde die Interaktion zwischen PDL und hGF auf Beschichtungen mit Schmelzmatrix-Protein untersucht. Sie stellten fest, dass an der Interaktion zwischen den Zellen und EMD Integrine beteiligt sind.

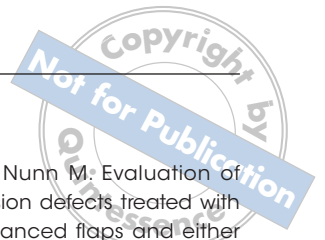
Es ist denkbar, dass EMD mit der Fortbewegungsfähigkeit von mechanisch belasteten Fibroblasten interagiert und sie daran hindert, auf zellulärer Ebene angemessen und effizient auf die Belastung zu reagieren. Wenn das stimmt, würde die Zugabe von EMD in eine parodontale Wunde mit beeinträchtigter Stabilität die Weichgewebeheilung behindern, weil sie die Fibroblastenproliferation stört. Die Wundstabilität des abdeckenden Lappens kann durch zahlreiche Faktoren eingeschränkt sein, wie Zahnmobilität, Okklusionstraumen, Frenulum, Muskelansatz, inadäquate Lappenadaptation und/oder -naht sowie patientenabhängige Verletzungen bei der Mundhygiene oder beim Kauen.

Jedes In-vitro-Modell zur Defektheilung unterliegt gewissen Einschränkungen. Fehler können durch nicht identische Wunden der Zellschicht,

die Medien und die Verwendung von Zellen unterschiedlicher Spender entstehen. Diese Faktoren haben sich möglicherweise im vorliegenden Modell auf die Zellproliferation ausgewirkt. Zur Simulation einer Umgebung aus extrazellulärer Matrix wurden kollagenbedeckte Kulturplatten verwendet, damit die Fibroblasten an die Silikonbasis der FlexWell-1-Platten anhaften und wachsen konnten. Eine Deformierung bedeutet nicht, dass das gesamte Well gleichförmig belastet wird. Auf den ovalen FlexWell-1-Platten kommt es zu einer unterschiedlich starken Verlängerung der Zellen¹⁶. Zudem spiegelt das hier verwendete Deformierungsregime das Ausmaß und die Dauer der Zellverlängerung in der Mundhöhle nur unzureichend wider.

Schlussfolgerung

In Konzentrationen von bis zu 120 $\mu\text{g/ml}$ beeinflusste EMD die Defektbesiedlung durch Gingivafibroblasten, die ohne mechanische Belastung kultiviert wurden, nicht signifikant. Bei einer mechanischen Belastung der Fibroblasten wirkte sich die Zugabe von EMD jedoch dosisabhängig negativ auf die Defektfüllung aus. Die EMG-Zugabe ist also vermutlich in einem In-vitro-Modell zur Defektheilung bei zellulärer Stabilisierung für die zelluläre Neubesiedlung unerheblich. Wird die zelluläre Stabilisierung jedoch gestört, kann EMD die Defektheilung sogar behindern.



Literatur

1. Cate AR, Deporter DA. The degradative role of the fibroblast in the remodelling and turnover of collagen in soft connective tissue. *Anat Rec* 1975;182:1-13.
2. Abercrombie M, Heaysman JEM, Pegrum SM. The locomotion of fibroblasts in culture. *Exp Cell Res* 1971;67:359-367.
3. Wikesjö UME, Nilvéus RE, Selvig KA. Significance of early healing events on periodontal repair: A review. *J Periodontol* 1992;63:158-165.
4. Greenstein G. Emdogain: Evidence of efficacy. *Compend Contin Educ Dent* 2000;21:299-308.
5. Gestrelus S, Andersson C, Lidström D, Hammarström L, Somerman M. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol* 1997;24:685-692.
6. Lackler KP, Cochran DL, Hoang AM, Takacs V, Oates TW. Development of an in vitro wound healing model for periodontal cells. *J Periodontol* 2000;71:226-237.
7. Rincon JC, Haase HR, Bartold PM. Effect of Emdogain on human periodontal fibroblasts in an in vitro wound-healing model. *J Periodontal Res* 2003;38:290-295.
8. Banes AJ, Link GW Jr, Gilbert JW, Tran Son Tay R, Monbureau O. Culturing cells in a mechanically active environment. *Am Biotechnol Lab* 1990;8:12-22.
9. Buckley MJ, Banes AJ, Jordan RD. The effects of mechanical strain on osteoblasts in vitro. *J Oral Maxillofac Surg* 1990;48:276-282.
10. Cardaropoli G, Leonhardt AS. Enamel matrix proteins in the treatment of deep intrabony defects. *J Periodontol* 2002;73:501-504.
11. Froum SJ, Weinberg MA, Rosenberg E, Tarnow D. A comparative study utilizing open flap debridement with and without enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: A 12-month re-entry study. *J Periodontol* 2001;72:25-34.
12. McGuire MK, Nunn M. Evaluation of human recession defects treated with coronally advanced flaps and either enamel matrix derivative or connective tissue. Part 1: Comparison of clinical parameters. *J Periodontol* 2003;74:1110-1125.
13. Cueva MA, Boltchi FE, Hallmon WH, Nunn ME, Rivera-Hidalgo F, Rees T. A comparative study of coronally advanced flaps with and without the addition of enamel matrix derivative in the treatment of marginal tissue recession. *J Periodontol* 2004;75:949-956.
14. Lo CM, Wang HB, Dembo M, Wang YL. Cell movement is guided by the rigidity of the substrate. *Biophys J* 2000;79:144-152.
15. van der Pauw MTM, Everts V, Beertsen W. Expression of integrins by human periodontal ligament and gingival fibroblasts and their involvement in fibroblast adhesion to enamel matrix-derived proteins. *J Periodontal Res* 2002;37:317-323.
16. Gilbert JA, Weinhold PS, Banes AJ, Link GW, Jones GL. Strain profiles for circular cell culture plates containing flexible surfaces employed to mechanically deform cells in vitro. *J Biomech* 1994;27:1169-1177.