

Histologische Untersuchung von rhPDGF-BB nach der Anwendung in Defekten der Extraktionsalveole: Eine Fallserie



Bradley S. McAllister, DDS, PhD*
 Kamran Haghighat, BDS, MS**
 Hari S. Prasad, BS, MDT***
 Michael D. Rohrer, DDS, MS****

Mit den jüngsten Entwicklungen im Bereich des therapeutischen molekularen Enhancements wurden für die Parodontologie günstige klinische Ergebnisse erreicht. Für eine Optimierung der klinischen Ergebnisse sind allerdings noch weitere Studien nötig, in denen diese Technologie angewandt wird. 12 Extraktionsalveolen von Prämolaren wurden nach dem Zufallsprinzip für die Behandlung mit 0,3 mg/ml rekombinatem humanem thrombozytärem Wachstumsfaktor (rhPDGF-BB) in Kombination mit einem Kollagen eingeteilt, das entweder anorganischen deproteinisierten bovinen Knochen (Xenotransplantat) oder Beta-Tricalciumphosphat (β -TCP) enthielt.

Die Heilung der Extraktionsalveolen wurde nach drei Monaten histologisch untersucht. Die histologischen Ergebnisse für den vitalen Knochen waren bei β -TCP (21 %) und dem Xenotransplantat (24 %) ähnlich. Beide Behandlungsalternativen führten zu einer komplikationslosen Alveolenheilung. Bei der Wiedereröffnung konnten alle Implantate inseriert werden, ohne dass eine weitere Augmentation erforderlich war, und bei der abschließenden Untersuchung (nach der definitiven prothetischen Versorgung) waren alle Implantate in Funktion. (Int J Par Rest Zahnheilkd 2010;30:353–361.)

* Privatpraxis, Tigard, Oregon; Assistenzprofessor, Department of Periodontology, Oregon Health and Science University, Portland, Oregon, USA.

** Privatpraxis, Tigard, Oregon, USA.

*** Senior Research Scientist, Hard Tissue Research Laboratory, University of Minnesota School of Dentistry, Minneapolis, Minnesota, USA.

**** Professor, Director of the Hard Tissue Research Laboratory and Oral Pathology Laboratories, University of Minnesota School of Dentistry, Minneapolis, Minnesota, USA.

Korrespondenz an: Dr. Bradley S. McAllister, 11525 SW Durham Rd, Suite D6, Tigard, OR 97224, USA; Fax: 503-968-5419; E-Mail: mcallister@portlandimplantdentistry.com

Eine Zahnextraktion infolge einer Parodontalerkrankung, von Karies oder Trauma ist einer der häufigsten chirurgischen Eingriffe. Evian et al.¹ haben den histologischen Ablauf der Ereignisse in einer Extraktionsalveole nach einer Zahnextraktion beim Menschen beschrieben. In vielen Studien, vor allem in Fallserien, wird der Verlust der Höhe und Breite des Alveolarkamms nach einer Zahnextraktion dokumentiert, vor allem in Bereichen mit dünnerfazialer oder bukkaler Kortikalis²⁻⁵. Damit wird die Notwendigkeit einer Socket Preservation/Augmentation und von Techniken der gesteuerten Knochenregeneration (GBR) belegt⁵⁻¹². Um die Dimensionen des Alveolarkamms nach einer Zahnextraktion zu erhalten, wurden unterschiedliche Vorgehensweisen vorgeschlagen^{6, 8, 13-15}. Die Augmentation der Alveole fördert zwar die Bildung von Hartgewebe, aber sie verzögert nachweislich auch die Heilung¹⁶⁻¹⁸. Araújo et al.¹⁹ berichteten vor Kurzem, dass die Augmentation von Extraktionsalveolen zwar einem Umbau der Alveolenwände nicht vorbeugte, aber eine Knochenneubildung an den Rändern förderte, wodurch sich das Kammprofil verbesserte. Allerdings gibt es dazu zurzeit noch keine randomisierten kontrollierten Studien und keine anerkannten Standards für

das Management von Extraktionsalveolen. Deshalb sind eindeutige klinische Richtlinien vonnöten, die auf sichereren wissenschaftlichen Erkenntnissen beruhen.

Bisher ist allgemein akzeptiert, dass die rasche Knochenbildung in einer Extraktionsalveole wünschenswert ist, wenn eine Sofort- oder frühe Implantation geplant ist. In einer neueren Studie vertraten Suba et al.²⁰ die Meinung, dass im Bereich der Eckzähne die Beigabe von Wachstumsfaktoren in die Extraktionsalveole die Knochenneubildung zu einem frühen Zeitpunkt beschleunigen kann. In ihrer Split-Mouth-Studie wurde Beta-Tricalciumphosphat (β -TCP) mit plättchenreichem Plasma kombiniert und in die Extraktionsalveolen von Prämolaren inseriert (Test). In die kontralateralen Extraktionsalveolen wurde nur β -TCP inseriert (Kontrolle). Die histomorphometrischen Daten zeigten in der Testgruppe nach sechs Wochen eine statistisch signifikant größere knöcherne Auffüllung (45,9 %) als in der Kontrollgruppe (30,8 %). Nach 24 Wochen war die prozentuale knöcherne Auffüllung in der Test- und der Kontrollgruppe ähnlich und es gab keine statistisch signifikanten Unterschiede mehr. Die Untersucher kamen zu dem Schluss, dass die Beigabe von plättchenreichem Plasma zu der keramischen osteokonduktiven Matrix die Knochenneubildung in der Extraktionsalveole beschleunigen kann, dass aber zu diesem Konzept noch weitere Humanstudien erforderlich sind. Eine raschere Knochenbildung und volumetrische Stabilität in der Extraktionsalveole sind wünschenswert für eine sofortige oder frühe Implantatinsertion, um die Implantatstabilität und anschließende Osseointegration zu fördern. Eine Untersuchung der Auswirkungen von Wachstumsfaktoren auf die Knochenregeneration in Extraktionsalveolen zu einem frü-

hen Zeitpunkt erscheint daher sinnvoll. In dieser Studie werden die histologischen und histomorphometrischen Parameter der humanen Knochenregeneration in Extraktionsalveolen untersucht, in die thrombozytärer Wachstumsfaktor (PDGF) inseriert worden war.

Beta-Tricalciumphosphat ist eine gereinigte, multikristalline, poröse Form von Calciumphosphat mit einem Ca:PO_4 -Verhältnis, das dem von natürlichem Knochenmineral ähnlich ist. In umfangreichen klinischen Tier- und Humanstudien wurde in den letzten 25 Jahren die Biokompatibilität von β -TCP gezeigt. Eine nachteilige Reaktion wurde in keinem der veröffentlichten Berichte erwähnt²¹⁻²⁷. Mit β -TCP werden knöcherne Defekte aufgefüllt, womit einem Kollaps von Weichgewebe in den knöchernen Defekt vorgebeugt wird. Es dient als Matrix oder Gerüst für die Knochenneubildung. Der neugebildete Knochen wird anschließend umgebaut und letztlich durch Wirtsknochen ersetzt, wie in zahlreichen klinischen Tier- und Humanstudien gezeigt wurde^{21, 23, 27-38}.

PDGF ist der in der Parodontologie am besten untersuchte Wachstumsfaktor. Seit den ersten Beobachtungen zur PDGF-induzierten parodontalen Regeneration (Knochen, Zement und parodontales Ligament) Ende der 1980er-Jahre³⁹ wurden fast 100 Studien veröffentlicht, in denen Wirkungsmechanismen von PDGF, seine Auswirkungen auf das parodontale Ligament, die Zellen des Alveolarknochens und auf die Regeneration des Parodonts bei Tieren und Menschen gezeigt wurde. Das Vorhandensein von Zelloberflächenrezeptoren für PDGF in den Zellen des parodontalen Ligaments und des Alveolarknochens wurde nachgewiesen und die stimulierende Wirkung von PDGF auf die Vermehrung und Chemotaxe dieser Zellen erläu-

tert^{40, 41}. In zahlreichen Tierstudien wurde gezeigt, dass die Verwendung von rekombinantem humanem PDGF-BB (rhPDGF-BB) die Regeneration des parodontalen Gewebes – des Knochens, des Zements und des parodontalen Ligaments – fördert^{39, 42-48}. Außerdem wurde in einer neueren klinischen Studie mit 180 Patienten gezeigt, dass mit rhPDGF-BB in Kombination mit β -TCP parodontale Defekte sicher und effektiv behandelt werden können⁴⁹.

Material und Methode

Auswahl der Patienten

Es wurden Patienten (n = 11) im Alter von 25 bis 75 Jahren ausgewählt, bei denen obere Prämolare zur Extraktion vorgesehen waren und die sich mit der Behandlung einverstanden erklärten. Sie wurden in die Studie aufgenommen, wenn keines der in Tabelle 1 aufgeführten Ausschlusskriterien auf sie zutraf und sie als Ersatz für den extrahierten Zahn eine implantatgetragene Krone wünschten.

Chirurgisches Vorgehen

Die Extraktionsalveolen wurden nach dem Zufallsprinzip für die Behandlung mit rhPDGF-BB und β -TCP (Gem21, Osteohealth) oder mit rhPDGF-BB und einem Xenotransplantat (BioOss Collagen, Osteohealth) eingeteilt. Im Anschluss an die örtliche Betäubung erfolgte die Extraktion mit minimaltraumatischen Techniken, gefolgt von der Kürettage der Alveole. Vor der Insertion des Augmentats wurde der gesamte interradikuläre Knochen entfernt (Abb. 1). Das Augmentationsmaterial wurde im Set geliefert – ein Behälter mit β -TCP und eine separate Spritze, die eine Lösung rhPDGF-BB (0,3

Tabelle 1 Ausschlusskriterien der Patientenauswahl

Bukkale Dehiszenzdefekte > 4 mm vom Alveolarkamm
Bukkale Fenestrationsdefekte > 4 mm
Periapikale Pathologie: periapikale Radioluzenzen > 3 mm über die Wurzelspitze hinaus
Schwangerschaft oder der Wunsch, im Studienzeitraum schwanger zu werden
Krebs oder HIV-Infektionen in der Krankengeschichte
Allergien gegen Hefeprodukte
Unbehandelte Parodontalerkrankung, vor allem neben einem Zahn, der extrahiert werden musste
Erkrankung oder Behandlung, die die Weich- oder Hartgewebeheilung verändert (z. B. Osteoporose, Hyperthyreose, Autoimmunerkrankungen, Einnahme von Chemotherapeutika oder Immunsuppressiva, Steroiden, Actonel, Fosamax oder anderen ähnlichen Medikamenten).

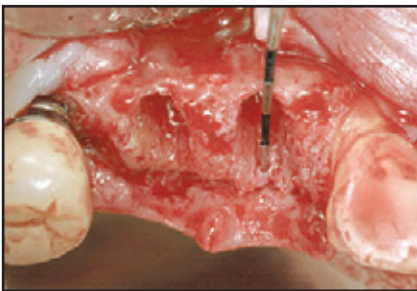


Abb. 1 Die Zähne wurden atraumatisch extrahiert, um die Alveole zu erhalten.

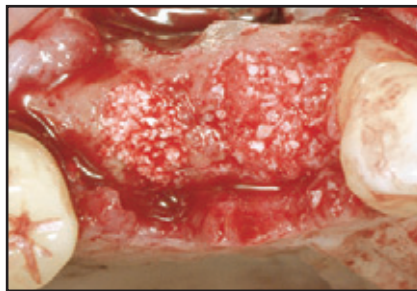


Abb. 2 Mit rhPDGF getränkte Augmentate wurden locker in die Alveolen eingebracht. Im Bereich des zweiten Prämolars wurde β -TCP, im Bereich des ersten Prämolars Xenotransplantat verwendet.

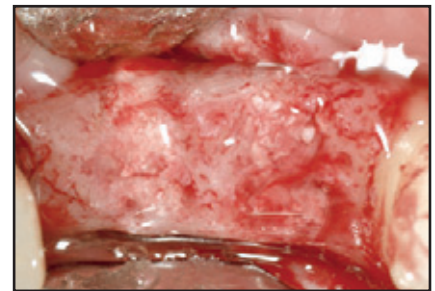


Abb. 3 Die augmentierten Alveolen vor der Biopsatentnahme 3 Monate nach dem Eingriff.

mg/ml) enthält. Zum Zeitpunkt des Eingriffs wurden entweder die β -TCP-Partikel oder das Xenotransplantat vollständig mit der rhPDGF-BB-Lösung getränkt. Aus einer Spritze wurde 0,5 ml rhPDGF hinzugegeben, um das Augmentat vollständig damit zu tränken (entweder 0,5 ml β -TCP, wie vom Hersteller verpackt, oder ein Anteil der 0,5-ml-Packung Kollagen, die das Xenotransplantat enthielt). In einer einzelnen Spritze (0,5 ml) befand sich genügend rhPDGF, um jeden Defekt zu behandeln, sodass keine zusätzliche Lösung notwendig war. Das Augmentat hatte ausreichend Zeit (15 Minuten) für die Hydrierung und die

Verbindung mit dem rhPDGF-BB und wurde anschließend locker in die Alveolen eingebracht (Abb. 2). Zur Sicherung und für den Primärverschluss wurde das Augmentat mit einem gestielten palatinalen Bindegewebestransplantat abgedeckt⁵⁰. Der Wundverschluss erfolgte mit einer Vicryl-4-0-Naht. Die Patienten erhielten nach dem Eingriff die üblichen Anweisungen und Medikamente. Es wurde weiterhin darauf geachtet, dass der Bereich in den ersten zwei Wochen der Einheilung keiner Belastung ausgesetzt war. Bei keinem Patienten traten postoperativ Komplikationen auf. Die Entnahme der

Biopsate war für den Zeitpunkt der Implantatinsertion, im Anschluss an eine Heilungszeit von 12 Wochen, geplant (Abb. 3).

Knochenbiopsate

Drei Monate nach dem Eingriff zur Augmentation erfolgte die Implantatinsertion. Dabei wurde mit einem Trepanbohrer von 2,7 mm innerem Durchmesser (äußerer Durchmesser 3,5 mm) ein Biopsat entnommen. Die Biopsate wurden in dem Trepan belassen und zum Fixieren in 10 % neutrales gepuffertes Formalin gege-

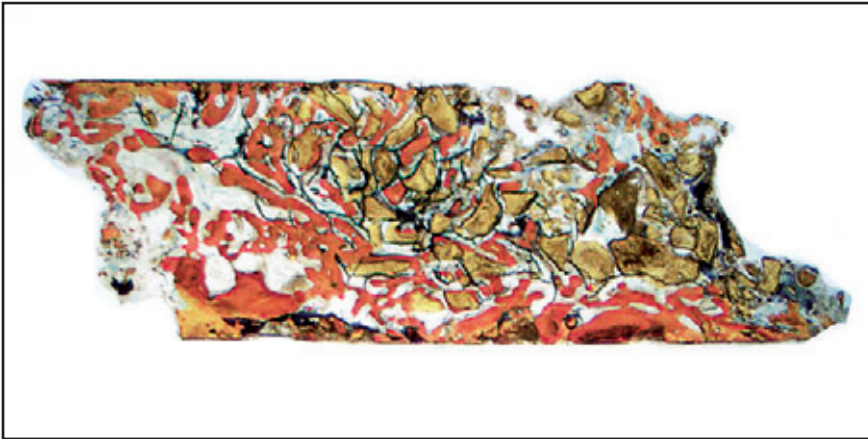


Abb. 4a Komplettes Biopsat der Kontrollgruppe (Xenotransplantat und rhPDGF-BB), das nach 3 Monaten entnommen worden war (Vergrößerung x 25).

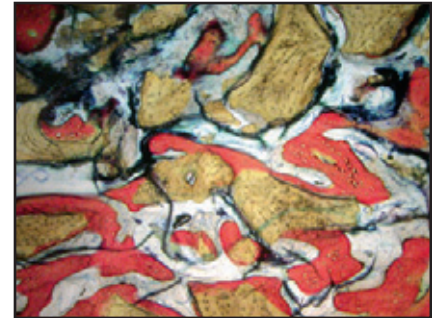


Abb. 4b Es ist neuer Knochen (rot) zu sehen, der sich direkt auf den Xenotransplantatpartikeln (hellbraun) gebildet hat (Vergrößerung x 150).

ben. Nach der Biopsatentnahme wurden in die Osteotomiebereiche Implantate inseriert.

Histologische Präparation

Die Biopsate wurden entnommen und in 10 % neutrales gepuffertes Formalin gegeben. Anschließend wurden sie an das Hard Tissue Research Laboratory der University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, USA geschickt. Dort wurden die Biopsate mit einer aufsteigenden Alkoholreihe über neun Tage dehydriert. Danach wurden sie in lichthärtendes Harz (Technovit 7200 VLC, Kulzer) eingebettet. Nach 20 Tagen Infiltrierung unter konstantem Schüttern bei normalem atmosphärischem Druck wurden die Biopsate eingebettet und mit einer 450-nm-Lampe polymerisiert. Dabei stieg die Temperatur der Biopsate nie über 40 °C. Nach der Säge-Schliff-Technik von Donath und Breuner^{51, 52} erfolgte die Präparation der Biopsate mit einem EXAKT-Trenddünnschliffsystem (EXAKT Technologies). Zunächst wurden sie

auf eine Dicke von 150 µm beschliffen, anschließend mit einem EXAKT-Mikroschleifsystem auf eine Dicke von 45 bis 65 µm beschliffen und poliert (Polierscheiben mit einer Körnung von 800 bis 2400). Abschließend wurden sie mit einer 0,3-µm-Aluminiumoxidpolierpaste poliert. Für die histologische Analyse mit einer Hellfelduntersuchung und dem Polarisationsmikroskop wurden die Präparate mit Stevenel-Blau und van Giesonschem Picrofuchsin eingefärbt.

Histomorphometrie

Nach der nicht dekalzifizierten histologischen Präparation wurden die Biopsate morphometrisch ausgewertet. Alle Präparate wurden mit derselben Vergrößerung mit einem Zeiss Axiolabmikroskop und einer Digitalkamera (Nikon Coolpix 4500) digitalisiert. Für die histomorphometrischen Messungen wurde eine Kombination aus Adobe Photoshop (Adobe Systems) und der lizenzfreien Software NIH Image⁵³ verwendet. Es wurden mindestens zwei Präparate von

jedem Biopsat ausgewertet. Die ausgewerteten Parameter waren das gesamte Kernbiopsat, die prozentuale Neubildung von Knochen und der prozentuale restliche Anteil von Augmentationsmaterial.

Ergebnisse

Histologie

Bei der qualitativen Untersuchung im koronalen Bereich der Kontrollbiopsate (Xenotransplantat) (Abb. 4a und 4b) zeigte sich mehr neuer Knochen als in den Testbiopsaten (β-TCP) (Abb. 5a und 5b). Der meiste vitale Knochen fand sich bei beiden Gruppen im apikalen Bereich. Der Knochen bildete sich offensichtlich durch Anlagerung an die Xenotransplantatpartikel. Bei dem β-TCP hingegen war der neue Knochen anscheinend eher ein Ersatz für das Augmentationsmaterial. In einem der β-TCP-Bereiche konnte nach drei Monaten kein Biopsat entnommen und kein



Abb. 5a Komplettes Biopsat der Testgruppe (β -TCP und rhPDGF-BB), das nach 3 Monaten entnommen worden war (Vergrößerung x 25).

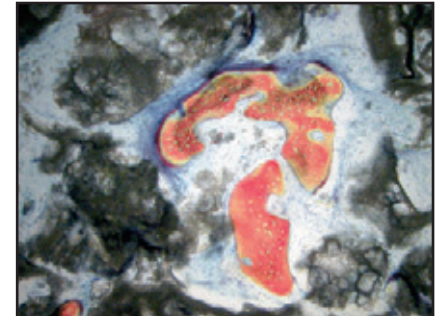
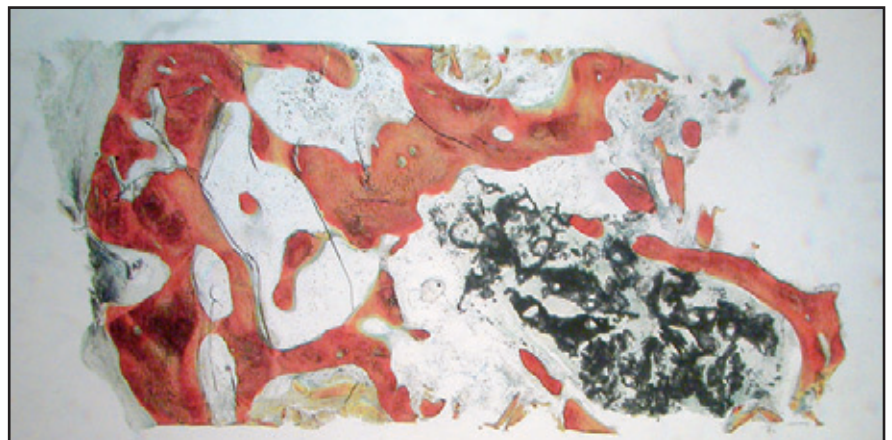


Abb. 5b Es ist neuer Knochen (rot) zu sehen, der sich unabhängig von den β -TCP-Partikeln (schwarz) gebildet hat (Vergrößerung x 150).

Abb. 6 Komplettes Biopsat der Testgruppe (β -TCP und rhPDGF-BB), das nach 11 Monaten entnommen worden war. Es ist neuer Knochen (rot) zu sehen, der sich unabhängig von den β -TCP-Partikeln (schwarz) gebildet hat. Die β -TCP-Partikel sind zum größten Teil durch Knochen ersetzt (Vergrößerung x 25).



Implantat inseriert werden. Die Daten zu diesem Bereich wurden nicht in die histomorphometrischen Ergebnisse aufgenommen. Bei einem Biopsat, das erst nach 11 Monaten entnommen worden war, war der Ersatz der β -TCP-Partikel besonders offensichtlich, mit 39 % neuem Knochen und 10 % β -TCP (Abb. 6).

Histomorphometrie

Die Behandlung mit rhPDGF-BB und β -TCP führte im Durchschnitt zu 21 % Bildung von vitalem Knochen (Bereich 15 % bis 31 %) und durchschnittlich 24 % restlichen β -TCP-Partikeln (fünf Patienten). Die Behandlung mit rhPDGF-BB und einem Xenotransplantat führte im Durch-

schnitt zu 24 % Bildung von vitalem Knochen (Bereich 10 % bis 51 %) und durchschnittlich 17 % restlichen Xenotransplantatpartikeln (sechs Patienten).

Diskussion

Die Kombination von Xenotransplantaten und Kollagen wurde schon in vielen oralen Knochenaugmentaten verwendet^{19, 54-56}. Es wird vermutet, dass das Vorhandensein von Kollagen in dem mineralisierten Knochen-Transplantat bovinen Ursprungs die Bindekapazität von rhPDGF-BB verbessert und die anschließende Freisetzung verlangsamt, anders als bei dem β -TCP, das derzeit als Trägermaterial für rhPDGF-BB auf dem Markt ist. Offensichtlich sind weitere Studien zur Bindung und Freisetzung notwendig, um mögliche Trägermaterialien für diese bioaktiven Partikel zu untersuchen.

Zwar hat sich rhPDGF-BB als effektive therapeutische Anwendung für die parodontale Regeneration erwiesen⁴⁹, aber es gibt nur in begrenztem Umfang Nachweise für eine Knochenregeneration^{57, 58}. Simion und Kollegen zeigten in einer kleinen Hundestudie und anschließend in zwei Humanstudien, dass rhPDGF-BB in Kombination mit Blöcken aus deproteinisiertem bovinem Knochen zu einer signifikanten vertikalen Knochenregeneration führen konnte^{57, 58}. Andere Autoren hingegen vertraten die Ansicht, dass PDGF in Tiermodellen entweder eine dosisabhängige negative Auswirkung auf die Knochenbildung hatte, da es die Wirkung von Wachstumsfaktoren wie den Osteogeninen beeinträchtigte und die Transplantatresorption reduzierte, oder dass es die Knochenregeneration und Osseointegration nur in unbedeutender Weise verbesserte⁵⁹⁻⁶¹. Die unterschiedlichen Reaktionen, von denen berichtet wurde, zeigen, wie wichtig kontrollierte Studien für die Untersuchung von Trägermaterialien und die optimale Konzentration für die Knochenbildung sind.

In dieser Studie zeigte sich im koronalen Bereich der Kontrolle mehr

neuer Knochen als in den Testbiopsaten. Die Untersuchung der gesamten Biopsate zeigte, dass der prozentuale Anteil an vitalem Knochen in den beiden Gruppen ähnlich war. Allerdings fand sich im apikalen Bereich bei beiden Gruppen mehr vitaler Knochen. Dazu trugen zwei Faktoren bei: Erstens bildet sich neuer Knochen von der apikalen und lateralen Seite der Alveole aus. Deshalb wurde der zentrale koronale Bereich zuletzt mineralisiert. Dies wurde im Tiermodell gezeigt^{2, 62}. Zweitens erfolgt die Biopsatentnahme nicht immer aus dem zentralen Bereich der Alveole. Auch ist nicht immer der apikalste Bereich eingeschlossen. Die Biopsate werden im Bereich der besten Implantatposition entnommen, die sich nach dem prothetischen Plan richtet. Biopsate, die aus heilenden Alveolen von Zähnen mit gekrümmten Wurzeln entnommen werden, enthalten daher nicht nur Bereiche, in denen eine Knochenneubildung stattgefunden hat. Da für diese Studie obere Prämolare verwendet wurden, war diese Auswirkung hier minimiert, und die Biopsate konnten aus dem zentralsten Bereich der heilenden Alveole entnommen werden. Im Gegensatz dazu besteht bei der Verwendung von Eck- oder Schneidezähnen der Nachteil, dass wegen der prothetischen Anforderungen das Biopsat aus einer Position entnommen werden muss, die leicht palatinal zum zentralen Bereich der Alveole liegt. Ein etwas komplexerer Defekt, z. B. eine bukkale Dehiszenz, ist zwar für eine Untersuchung etwas attraktiver, aber solche Defekte treten nicht einheitlich auf. Außerdem kommen sie meist bei Patienten vor, bei denen vorher eine entzündliche Erkrankung bestand oder z. B. eine kieferorthopädische Therapie erfolgt ist. Angesichts konservativer Extraktionstechniken, die auf den Erhalt der bukkalen Knochenwand abzielen, ist

die Zahl der Patienten mit signifikanten knöchernen Defekten begrenzt. Deshalb ist der Test in einer Prämolaralveole ein realistisches Modell. Es ist außerdem bekannt, dass solche Defekte von Extraktionsalveolen auch dann, wenn kein Knochenaugmentat verwendet wird, komplikationslos und mit einer normalen knöchernen Auffüllung heilen.

Schlussfolgerungen

Innerhalb der Grenzen dieser Studie führte PDGF in der Kombination mit β -TCP oder einem Xenotransplantat nach der Insertion in die Extraktionsalveolen von Prämolaren zu einem ähnlichen Knochenvolumen und einem adäquaten Erhalt des Kieferkammes (Ridge Preservation), der eine erfolgreiche Implantatinsertion und anschließende prothetische Versorgung ermöglichte. Weitere Studien mit mehr Biopsaten und Kontrollen sind erforderlich, um die Auswirkungen von unterschiedlichen Wachstumsfaktoren, darunter PDGF, auf das Knochenwachstum in Extraktionsalveolen und anderen alveolären Defekte zu untersuchen, die im Rahmen einer Implantatbehandlung häufig auftreten.

Literatur

1. Evian CI, Rosenberg ES, Coslet JG, Corn H. The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in humans. *J Periodontol* 1982;53:81–85.
2. Araújo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005;32:212–218.
3. Cardaropoli G, Araújo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 2003;30:809–818.
4. Petrokovski J, Massler M. Residual ridge remodeling after tooth extraction in monkeys. *J Prosthet Dent* 1971;26:119–129.
5. Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: A clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2003;23:313–323.
6. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: Histomorphometric evaluations at 9 months. *J Periodontol* 2000;71:1015–1023.
7. Christensen GJ. Ridge preservation: Why not? *J Am Dent Assoc* 1996;127:669–670.
8. Froum S, Cho SC, Rosenberg E, Rohrer M, Tarnow D. Histological comparison of healing extraction sockets implanted with bioactive glass or demineralized freeze-dried bone allograft: A pilot study. *J Periodontol* 2002;73:94–102.
9. Iasella JM, Greenwell H, Miller RL, et al. Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: A clinical and histologic study in humans. *J Periodontol* 2003;74:990–999.
10. Lekovic V, Camargo PM, Klokkevold PR, et al. Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioabsorbable membranes. *J Periodontol* 1998;69:1044–1049.
11. Lekovic V, Kenney EB, Weinlaender M, et al. A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. *J Periodontol* 1997;68:563–570.
12. Misch C. *Contemporary Implant Dentistry*, ed 2. St Louis: Mosby, 1999:455–464.
13. Araújo MG, Sukekava F, Wennström JL, Lindhe J. Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005;32:645–652.
14. Becker W, Clokie C, Sennerby L, Urist MR, Becker BE. Histologic findings after implantation and evaluation of different grafting materials and titanium micro screws into extraction sockets: Case reports. *J Periodontol* 1998;69:414–421.
15. Paolantonio M, Dolci M, Scarano A, et al. Immediate implantation in fresh extraction sockets. A controlled clinical and histological study in man. *J Periodontol* 2001;72:1560–1571.
16. Hämmerle CH, Chiantella GC, Karring T, Lang NP. The effect of a deproteinized bovine bone mineral on bone regeneration around titanium dental implants. *Clin Oral Implants Res* 1998;9:151–162.
17. Schmid J, Walkkamm B, Hämmerle CH, Gogolewski S, Lang NP. The significance of angiogenesis in guided bone regeneration. A case report of a rabbit experiment. *Clin Oral Implants Res* 1997;8:244–248.
18. Slotte C, Lundgren D. Augmentation of calvarial tissue using non-permeable silicone domes and bovine bone mineral. An experimental study in the rat. *Clin Oral Implants Res* 1999;10:468–476.
19. Araújo M, Linder E, Wennström JL, Lindhe J. The influence of Bio-Oss Collagen on healing of an extraction socket: An experimental study in the dog. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28:123–135.
20. Suba Z, Takács D, Gyulai-Gaál S, Kovács K. Facilitation of beta-tricalcium phosphate-induced alveolar bone regeneration by platelet-rich plasma in beagle dogs: A histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:832–838.
21. Bhaskar SN, Brady JM, Getter L, Grower MF, Driskell T. Biodegradable ceramic implants in bone. Electron and light microscopic analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971;32:336–346.



22. Bhaskar SN, Cutright DE, Knapp MJ, Beasley JD, Perez B, Driskell TD. Tissue reaction to intrabony ceramic implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971;31:282–289.
23. Cameron HU, Macnab I, Pilliar RM. Evaluation of biodegradable ceramic. *J Biomed Mater Res* 1977;11:179–186.
24. Levin MP, Getter L, Adrian J, Cutright DE. Healing of periodontal defects with ceramic implants. *J Clin Periodontol* 1974;1:197–205.
25. Levin MP, Getter L, Cutright DE, Bhaskar SN. Biodegradable ceramic in periodontal defects. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974;38:344–351.
26. McDavid PT, Boone ME 2nd, Kafrawy AH, Mitchell DF. Effect of autogenous marrow and calcitonin on reactions to a ceramic. *J Dent Res* 1979;58:1478–1483.
27. Nery EB, Lynch KL, Hirthe WM, Mueller KH. Bioceramic implants in surgically produced infrabony defects. *J Periodontol* 1975;46:328–347.
28. Baldock WT, Hutchens LH Jr, McFall WT Jr, Simpson DM. An evaluation of tricalcium phosphate implants in human periodontal osseous defects of two patients. *J Periodontol* 1985;56:1–7.
29. Buser D, Hoffmann B, Bernard JP, Lussi A, Mettler D, Schenk RK. Evaluation of filling materials in membrane-protected bone defects. A comparative histomorphometric study in the mandible of miniature pigs. *Clin Oral Implants Res* 1998;9:137–150.
30. Ferraro JW. Experimental evaluation of ceramic calcium phosphate as a substitute for bone grafts. *Plast Reconstr Surg* 1979;63:634–640.
31. Froum S, Stahl SS. Human intraosseous healing responses to the placement of tricalcium phosphate ceramic implants. II. 13 to 18 months. *J Periodontol* 1987;58:103–109.
32. Gatti AM, Zaffe D, Poli GP. Behaviour of tricalcium phosphate and hydroxyapatite granules in sheep bone defects. *Biomaterials* 1990;11:513–517.
33. Muschik M, Ludwig R, Halbhübner S, Bursche K, Stoll T. Beta-tricalcium phosphate as a bone substitute for dorsal spinal fusion in adolescent idiopathic scoliosis: preliminary results of a prospective clinical study. *Eur Spine J* 2001;10(suppl 2):S178–184.
34. Nery EB, Lynch KL. Preliminary clinical studies of bioceramic in periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1978;49:523–527.
35. Saffar JL, Colombier ML, Detienville R. Bone formation in tricalcium phosphate-filled periodontal intrabony lesions. Histological observations in humans. *J Periodontol* 1990;61:209–216.
36. Snyder AJ, Levin MP, Cutright DE. Alloplastic implants of tricalcium phosphate ceramic in human periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1984;55:273–277.
37. Stahl SS, Froum SJ. Histologic and clinical responses to porous hydroxylapatite implants in human periodontal defects. Three to twelve months postimplantation. *J Periodontol* 1987;58:689–695.
38. Strub JR, Gaberthüel TW, Firestone AR. Comparison of tricalcium phosphate and frozen allogenic bone implants in man. *J Periodontol* 1979;50:624–629.
39. Lynch SE, Williams RC, Polson AM, et al. A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 1989;16:545–548.
40. Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI, Genco RJ. Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. *J Periodontol* 1992;63:515–525.
41. McAllister BS, Leeb-Lundberg F, Mellonig JT, Olson MS. The functional interaction of EGF and PDGF with bradykinin in the proliferation of human gingival fibroblasts. *J Periodontol* 1995;66:429–437.
42. Cho MI, Lin WL, Genco RJ. Platelet-derived growth factor-modulated guided tissue regenerative therapy. *J Periodontol* 1995;66:522–530.
43. Giannobile WV. Advances in gene therapy for periodontal bioengineering. In: Lynch SE, Nevins M, Marx RE (eds). *Tissue Engineering: Applications in Oral and Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Chicago: Quintessence, 2008:37–46.
44. Lynch SE, Wisner-Lynch LA, Nevins M. Use of rhPDGF to improve bone and periodontal regeneration. In: Lynch SE, Nevins M, Marx RE (eds). *Tissue Engineering: Applications in Oral and Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Chicago: Quintessence, 2008:87–102.
45. Lynch SE. Introduction. In: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (eds). *Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Chicago: Quintessence, 1999.
46. Lynch SE, de Castilla GR, Williams RC, et al. The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J Periodontol* 1991;62:458–467.
47. Park JB, Matsuura M, Han KY, et al. Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. *J Periodontol* 1995;66:462–477.
48. Rutherford RB, Niekraash CE, Kennedy JE, Charette MF. Platelet-derived and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys. *J Periodontol Res* 1992;27:285–290.
49. Nevins M, Giannobile WV, McGuire MK, et al. Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: Results of a large multicenter randomized controlled trial. *J Periodontol* 2005;76:2205–2215.
50. Mathews DP. The pediculated connective tissue graft: A technique for improving unaesthetic implant restorations. *Pract Proced Aesthet Dent* 2002;14:719–724.
51. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 1982;11:318–326.



52. Rohrer MD, Schubert CC. The cutting-grinding technique for histologic preparation of undecalcified bone and bone-anchored implants. Improvements in instrumentation and procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992;74:73–78.
53. United States National Institutes of Health. NIH Image. <http://rsb.info.nih.gov/ni-image/>. Accessed 24 March 2010.
54. Sculean A, Chiantella GC, Windisch P, Arweiler NB, Brex M, Gera I. Healing of intra-bony defects following treatment with a composite bovine-derived xenograft (Bio-Oss Collagen) in combination with a collagen membrane (Bio-Gide PERIO). *J Clin Periodontol* 2005;32:720–724.
55. Hämmerle CH, Jung RE, Yaman D, Lang NP. Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: A report of twelve consecutive cases. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:19–25.
56. Cardaropoli D, Re S, Manuzzi W, Gaveglia L, Cardaropoli G. Bio-Oss Collagen and orthodontic movement for the treatment of infrabony defects in the esthetic zone. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006;26:553–559.
57. Simion M, Rocchietta I, Dellavia C. Three-dimensional ridge augmentation with xenograft and recombinant human platelet-derived growth factor-BB in humans: Report of two cases. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2007;27:109–115.
58. Simion M, Rocchietta I, Kim D, Nevins M, Fiorellini J. Vertical ridge augmentation by means of deproteinized bovine bone block and recombinant human platelet-derived growth factor-BB: A histologic study in a dog model. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006;26:415–423.
59. Ranly DM, McMillan J, Keller T, et al. Platelet-derived growth factor inhibits demineralized bone matrix-induced intramuscular cartilage and bone formation. A study of immunocompromised mice. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:2052–2064.
60. Ranly DM, Lohmann CH, Andreacchio D, Boyan BD, Schwartz Z. Platelet-rich plasma inhibits demineralized bone matrix-induced bone formation in nude mice. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89:139–147.
61. Marden LJ, Fan RS, Pierce GF, Reddi AH, Hollinger JO. Platelet-derived growth factor inhibits bone regeneration induced by osteogenin, a bone morphogenetic protein, in rat craniotomy defects. *J Clin Invest* 1993;92:2897–2905.
62. Cardaropoli G, Araújo M, Hayacibara R, Sukekava F, Lindhe J. Healing of extraction sockets and surgically produced—augmented and non-augmented—defects in the alveolar ridge. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005;32:435–440.