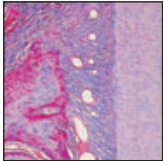




Effekte von Schmelzmatrix-Derivat und Basic Fibroblast Growth Factor mit Beta-Tricalciumphosphat auf die parodontale Regeneration von einwandigen intraossären Defekten: Eine experimentelle Studie an Hunden



Yoshinori Shirakata, DDS, PhD¹
 Naoshi Takeuchi, DDS²
 Takehiko Yoshimoto, DDS, PhD¹
 Katsuyoshi Taniyama, DDS²
 Kazuyuki Noguchi, DDS, PhD³

In dieser Studie wurden die Effekte von Schmelzmatrix-Derivat (EMD) und Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) in Kombination mit Beta-Tricalciumphosphat (β -TCP) auf die parodontale Heilung intraossärer Defekte bei Hunden untersucht. Die bei den Hunden geschaffenen einwandigen intraossären Defekte wurden nur mit β -TCP (β -TCP), mit EMD und β -TCP (EMD/ β -TCP), mit bFGF und β -TCP (bFGF/ β -TCP) oder mit einer Kombination aller Materialien (EMD/bFGF/ β -TCP) behandelt. In keiner der Gruppen kam es zu einer signifikanten Knochenneubildung. In der EMD/bFGF/ β -TCP-Gruppe wurde signifikant mehr neuer Zement gebildet als in der β -TCP- und der bFGF/ β -TCP-Gruppe und – allerdings nicht signifikant – mehr Zement als in der EMD/ β -TCP-Gruppe. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Behandlung mit EMD/bFGF/ β -TCP zu einer Zementregeneration führt. (Int J Par Rest Zahnheilkd 2013;33:595–603.)

In jüngster Zeit wurden erhebliche Fortschritte auf dem Gebiet der parodontalen regenerativen Therapie erzielt, die auf einem neuen Verständnis der zellulären und molekularen Biologie von Entwicklung und Regeneration des Parodonts beruhen. Außerdem wurden parodontologische Tissue-Engineering-Verfahren entwickelt, die entweder alleine oder in Kombination mit Scaffolds, Wachstumsfaktoren und Zellen eingesetzt werden¹. Schmelzmatrix-Derivat (EMD) und Wachstumsfaktoren stimulieren über pleiotrope Effekte mehrere Schlüsselemente der parodontalen Regeneration, wie die Synthese der Desoxyribonukleinsäure, Chemotaxis, Differenzierung und Matrixsynthese².

EMD wurde als Modulator der Gewebsheilung entwickelt und imitiert die normale Wurzelentwicklung. Dadurch bietet es eine alternative Möglichkeit zur Stimulation der parodontalen Regeneration^{3,4}. In kontrollierten klinischen Studien wurde gezeigt, dass die Behandlung intraossärer Defekte mit EMD das klinische Attachment stärker erhöht als eine Lappenoperation^{5,6}.

Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF), ein Mitglied der Familie von Heparin-binding Growth Factor, ist an zahlreichen mitogenen Aktivitäten und Aspekten des Zellüberlebens beteiligt, wie der Angiogenese, Wundheilung und embryonalen Ent-

¹ Assistenzprofessor, Department of Periodontology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Japan.

² Postgraduate Student, Department of Periodontology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Japan.

³ Professor, Department of Periodontology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Japan.

Korrespondenz an: Dr. Yoshinori Shirakata, Department of Periodontology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan. Fax: +81 99 275 6209. E-Mail: syoshi@dent.kagoshima-u.ac.jp

©2013 by Quintessence Publishing Co Inc.



Abb. 1 Klinisches Foto eines operativ angelegten einwandigen intraossären Defekts.

wicklung. Die topische Applikation von rekombinatem humanem bFGF (rhbFGF) unterstützt in präklinischen Tiermodellen die parodontale Regeneration ohne Ankylose oder Einwachsen von Epithel in die parodontalen intraossären und Furkationsdefekte⁷⁻⁹ und fördert beim Menschen die Zunahme des klinischen Attachments und des Alveolarknochens¹⁰.

Vor Kurzem wurde nach der Behandlung von zweiwandigen Defekten beim Hund mit bFGF eine stärkere Knochenneubildung beobachtet¹¹, wobei sich die Zementneubildung zwischen den mit bFGF und EMD behandelten Gruppen nicht signifikant unterschied. In der vorliegende Studie werden an einem einwandigen intraossären Defektmodell beim Hund die Effekte von EMD und bFGF in Kombination mit Beta-Tricalciumphosphat (β -TCP) auf die parodontale Heilung untersucht.

Material und Methode

Die Studie erfolgte an vier gesunden Hunden (Beagle, Alter 11 bis 15 Mo-

nate, Gewicht: 11,3 bis 12,6 kg). Die Verfahren und das Studiendesign wurden von der Ethikkommission des Animal Research Center der Kagoshima University in Kagoshima, Japan, genehmigt.

Alle Operationen wurden aseptisch unter Allgemein- und Lokalanästhesie durchgeführt. Um die Spontanatmung zu erhalten, wurde für die Allgemeinanästhesie Natriumthiopental (0,005 ml/kg i. v.; Ravalon, Tanabe Pham) eingesetzt. Für die Lokalanästhesie wurde Lidocainhydrochlorid 2 % mit 1:80000 Adrenalin (Xylocain, Fujisawa) verwendet. Zunächst wurden im Unterkiefer alle zweiten und dritten Prämolaren sowie die ersten Molaren extrahiert, um ausreichend Platz für die Defekte zu schaffen. Nach einer Heilungsphase von 10 Wochen wurde ein Mukoperiostlappen mobilisiert und an der mesialen und distalen Seite des vierten unteren Prämolaren bilateral einwandige intraossäre Defekte (5 x 5 x 5 mm) angelegt (Abb. 1). Dazu wurden Rund- und Fissurenbohrer unter Kühlung mit steriler Kochsalzlösung eingesetzt. Der Zement wurde mit Gra-

cey-Küretten und einem Meißel entfernt. Für die histometrische Analyse wurden an der Defektbasis und an der Schmelz-Zement-Grenze (SZG) mit einem Rundbohrer Nr. 1 Referenzkerben angebracht. Die operativ erzeugten einwandigen intraossären Defekte (n = 16) wurden randomisiert behandelt: nur mit β -TCP (250 bis 500 μ m; Cerasorb Perio, Curasan), mit EMD (Emdogain Gel, Straumann) und β -TCP (EMD/ β -TCP), mit bFGF (gefriergetrockneter rekombinanter humaner FGF-2 in einer 3 % Hydroxypropylzelluloselösung mit 0,3 % bFGF) und β -TCP (bFGF/ β -TCP) oder mit allen drei Substanzen (EMD/bFGF/ β -TCP). In der β -TCP-Gruppe wurden die β -TCP-Granula vor dem Einbringen in den Defekt mit frischem Blut aus dem Defekt vermischt (Abb. 2a). Die Defekte der Wurzeloberflächen, auf die EMD aufgetragen werden sollte, wurden für 15 s mit einem 35 % Phosphorsäuregel vorbereitet und dann gemeinsam mit den benachbarten Mukoperiostlappen gründlich mit steriler Kochsalzlösung abgespült. Anschließend wurde das EMD-Gel auf die Wurzeloberfläche

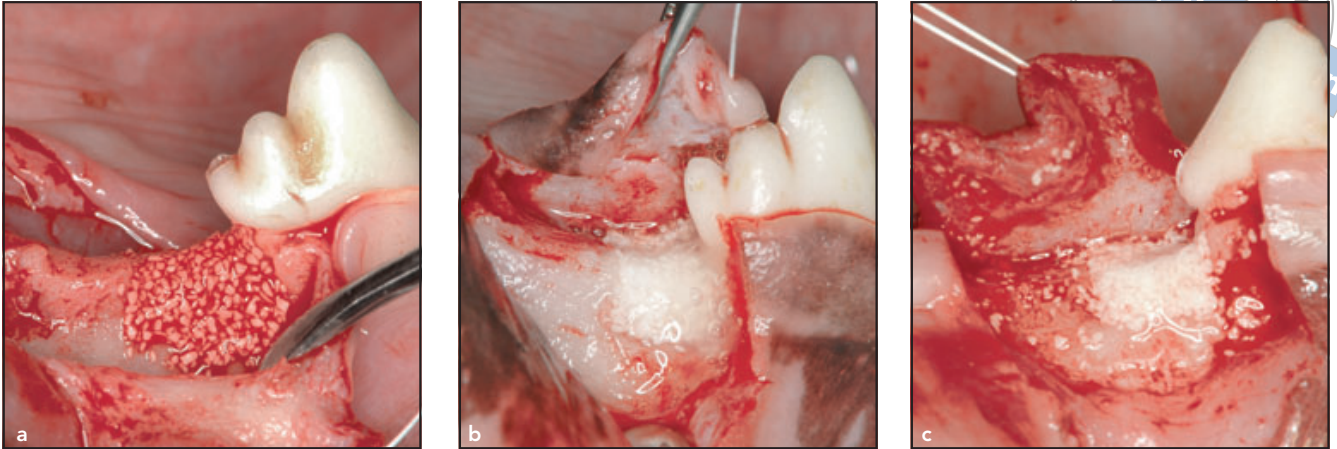
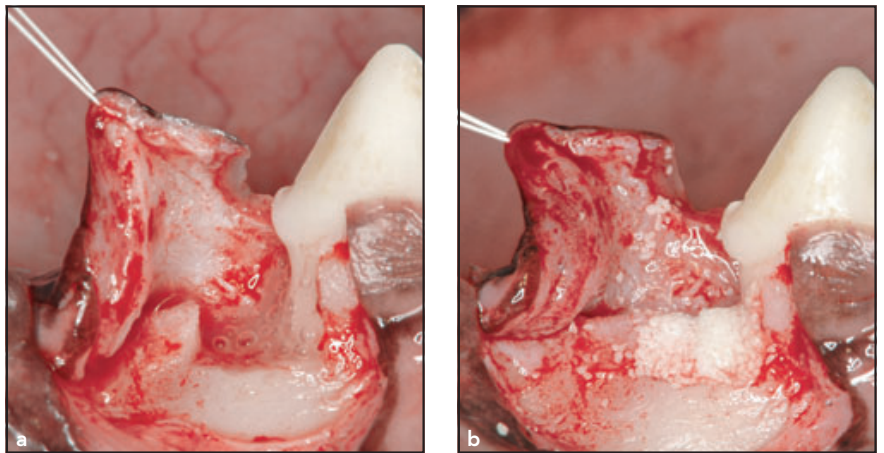


Abb. 2a bis c Einwandige intraossäre Defekte, die mit (a) β -TCP, (b) EMD und β -TCP, und (c) bFGF und β -TCP behandelt wurden.

Abb. 3a und b Klinische Fotos eines operativ angelegten einwandigen intraossären Defekts, der nach der EMD-Applikation mit bFGF und β -TCP behandelt wurde (EMD/bFGF/ β -TCP-Gruppe). (a) Vor dem Einbringen des β -TCP-Kompositransplantats wurde EMD auf die freigelegte Wurzeloberfläche aufgetragen. (b) Einbringen von bFGF mit β -TCP in den Defekt nach 5 min.



aufgetragen und die Defekte bis auf Höhe des Alveolarkamms aufgefüllt. Die β -TCP-Partikel wurden vor dem Einbringen von EMD/ β -TCP oder bFGF/ β -TCP mit jedem Gel gesättigt und für etwa 10 min ziehen gelassen. Anschließend wurden damit die Defekte mit mäßigem Druck von unten nach oben bis auf Höhe des Alveolarkamms aufgefüllt, um die Partikel nicht zu zerdrücken (Abb. 2b und c). Bei den Defekten der EMD/bFGF/ β -TCP-Gruppe wurde das bFGF/ β -TCP-Transplantat 5 min nach dem EMD auf die freigelegten Wurzeloberflä-

chen gegeben (Abb. 3a und b). Nach einer entlastenden Periostschlitzung wurde der Lappen koronal verschoben; anschließend wurde er leicht koronal der SZG vernäht (Gore-Tex CV-6, W.L. Gore).

Die Tiere erhielten zwei Wochen lang weiche Kost sowie für drei Tage Buprenorphinhydrochlorid (0,05 ml/kg i. m.; Lepetan, Otsuka Pharmaceutical) und ein Antibiotikum (200000 U i. m.; Penicillin G). Die Plaque-Kontrolle wurde für 10 Wochen postoperativ mit einer 2 % Chlorhexidingleucanatlösung durchgeführt. Die Fäden

wurden zwei Wochen postoperativ entfernt. 10 Wochen nach der Operation wurden die Tiere mit einer Überdosis Natriumthiopental euthanasiert.

Histologische und histometrische Analyse

Sowohl die Test- als auch die Kontrolldefekte wurden mit den umgebenden Hart- und Weichgeweben disseziert. Die Gewebelöcke wur-

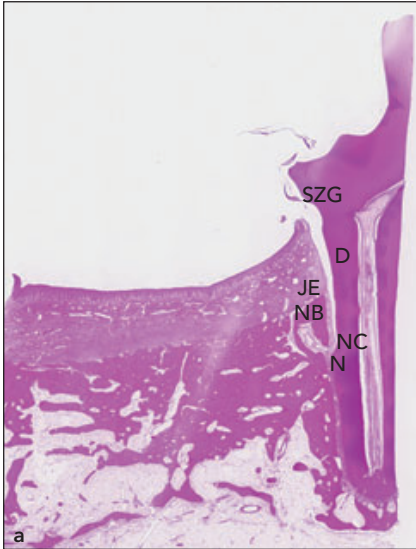
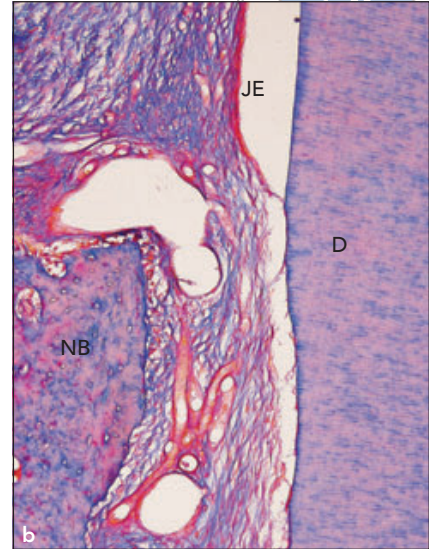


Abb. 4a und b Repräsentativer mikroskopischer Befund eines einwandigen intraosären Defekts, der nur mit β -TCP behandelt wurde. (a) Das Heilungsmuster war durch die begrenzte Regeneration von Zement mit künstlicher Separation des neuen Zements von der Wurzeloberfläche gekennzeichnet (Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung $\times 10$). (b) Stärkere Vergrößerung des mittleren Defektabschnitts mit locker angeordneten Kollagenfasern nahe dem Wurzel-dentin (D) (Azan; Vergrößerung $\times 200$). SZG = Schmelz-Zement-Grenze; JE = Saumepithel; NB = neuer Knochen; NC = neuer Zement; N = apikale Kerbe.



den in 10 % gepuffertem Formalin fixiert, zurechtgeschnitten und mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung gespült. Dann wurden die Proben dekalifiziert, dehydriert und in Paraffin eingebettet. Anschließend wurden in der mesiodistalen Ebene in Abständen von 90 μm serielle Schnitte mit einer Dicke von 6 μm präpariert und mit Hämatoxylin-Eosin oder Azan gefärbt. Alle Proben wurden mit einem Lichtmikroskop (Eclipse E800, Nikon) mit einem computer-gesteuerten Bildverarbeitungssystem (Image-Pro Plus, Media Cybernetics) histometrisch untersucht. Zur histometrischen Analyse wurden aus dem zentralen Bereich jedes einwandigen Defekts, der mithilfe der Länge des Wurzelkanals und der Markierungskerben ermittelt wurde, drei Schnitte ausgewählt. Für jeden histometrischen Parameter wurde der am jeweiligen Defekt berechnete Mittelwert angegeben. Folgende fünf Parameter wurden von einem erfahrenen, geblindeten Untersucher bestimmt: (1) Defekthöhe, Abstand

zwischen der apikalen Ausdehnung der Wurzelglättung und der SZG, (2) apikale Ausdehnung des Saumepithels, Abstand zwischen der apikalen Ausdehnung des Saumepithels und der SZG, (3) Bindegewebsadhäsion (ohne Zement), Abstand zwischen der apikalen Ausdehnung des Saumepithels und der koronalen Ausdehnung des neugebildeten Zements, (4) Knochenneubildung, Abstand zwischen der apikalen Ausdehnung der Wurzelglättung und der koronalen Ausdehnung des neu entlang der Wurzeloberfläche gebildeten Alveolarknochens und (5) neugebildeter Zement, Abstand zwischen der apikalen Ausdehnung der Wurzelglättung und der koronalen Ausdehnung des neugebildeten Zements auf der freigelegten Wurzeloberfläche.

Statistische Auswertung

Für jeden Parameter und jede Behandlungsgruppe wurden anhand

der bei den Versuchstieren ($n = 4$) ermittelten Werte die Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Die Mittelwerte wurden mittels einseitiger Kovarianzanalyse und einem Post-hoc-Test für multiple Vergleiche auf Unterschiede zwischen den Versuchsbedingungen getestet. Als statistisch signifikant galt ein P-Wert von $< 0,05$. Alle Berechnungen erfolgten mit statistischer Software (StatView, Version 5.0, Abacus Concepts).

Ergebnisse

Klinische Befunde

Postoperativ verlief die klinische Heilung bei allen 16 Defekten komplikationslos mit nur begrenzten Zeichen einer Entzündung. Während der Studienphase wurden keine unerwünschten Reaktionen beobachtet, wie eine Materialexposition, vermehrte Zahnmobilität, Infektion oder Eiterung.

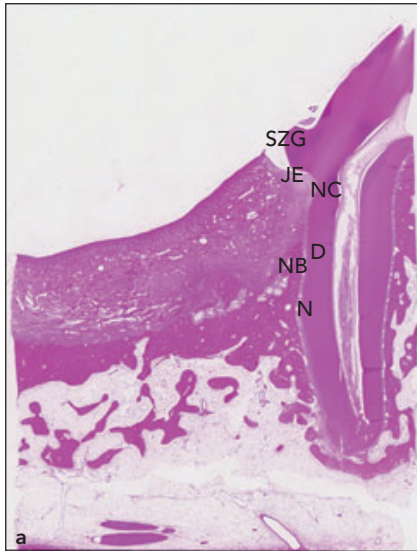
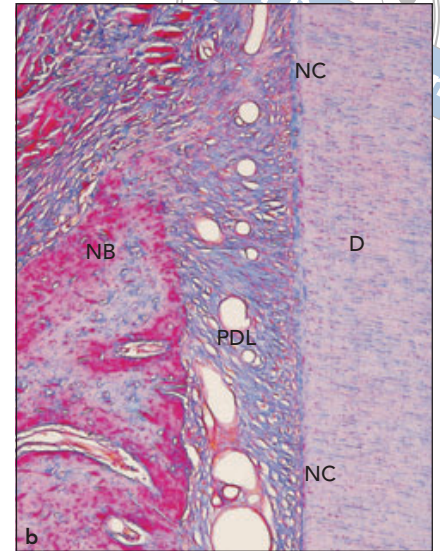


Abb. 5a und b Repräsentativer mikroskopischer Befund eines einwandigen intraosären Defekts, der mit EMD und β -TCP behandelt wurde. (a) Es findet sich nur ein schmaler Streifen neuer Knochen (NB) entlang der Wurzeloberfläche. Im apikalen und koronalen Defektanteil befindet sich eine dünne, durchgehende Schicht aus neugebildetem Zement (NC) (Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung $\times 10$). (b) Stärkere Vergrößerung des mittleren Defektabschnitts mit schräg verlaufenden Kollagenfasern zwischen dem Knochen und dem überwiegend azellulären Zement (Azan; Vergrößerung $\times 200$). SZG = Schmelz-Zement-Grenze; JE = Saumepithel; PDL = Parodontalligament; N = apikale Kerbe; D = Wurzel dentin.



Histologische Befunde

β -TCP-Gruppe

Über der apikalen Kerbe wurde kaum neuer Zement gebildet. Die Bindegewebsfasern verliefen parallel oder abgelöst von der freigelegten Wurzeloberfläche. In der β -TCP-Gruppe fand sich so viel Bindegewebe neben der Wurzeloberfläche ohne eine Zementbildung wie in keiner anderen Gruppe (Abb. 4a und b).

EMD/ β -TCP-Gruppe

In den mit EMD/ β -TCP behandelten Defekten bildete sich unterschiedlich viel neuer Knochen entlang der Wurzeloberfläche und mehr neuer Zement als in der β -TCP-Gruppe. Auf der freigelegten Wurzeloberfläche fand sich vor allem eine dünne, durchgängige Schicht aus neuem azellulärem Zement, in den schräg zur Wurzeloberfläche dichte Kollagenfasern einstrahlten. Das stark vaskularisierte

neue Parodontalligament-ähnliche Gewebe, das passgenau zwischen dem neuen Zement und dem neuen Knochen lag, war bis in den koronalen Anteil gleich breit (Abb. 5a und b).

bFGF/ β -TCP-Gruppe

In den mit bFGF/ β -TCP behandelten Defekten bildete sich nahe dem Saumepithel eine signifikante Menge von neuem Knochen und neuem Zement. Die Knochenneubildung reichte vom knöchernen Defektbett bis zum koronalen Defektbereich (Abb. 6a). Der neue Zement enthielt Kollagenfasern, die schräg zur Wurzeloberfläche ausgerichtet waren. Es fand sich häufiger dicker, zellreicher Zement als in den anderen Behandlungsgruppen (Abb. 6b).

EMD/bFGF/ β -TCP-Gruppe

In dieser Gruppe bildete sich entlang und um die Wurzeloberfläche

neuer Knochen (Abb. 7a). Der gesamte Defekt enthielt mäßig dicken neuen Zement, in den Kollagenfasern einstrahlten, die rechtwinklig zur Wurzeloberfläche verliefen. In unregelmäßiger Verteilung fanden sich apikokoronal auf der freigelegten Wurzeloberfläche zellulärer und azellulärer Zement. Der neugebildete Zement war fest mit der Wurzeloberfläche verbunden (Abb. 7b).

Vereinzelt waren β -TCP-Reste vorhanden, die in allen Defekten unterschiedlich stark von neugebildetem Knochen oder Bindegewebe umkapstelt waren.

Histometrische Analyse

Die Ergebnisse der histometrischen Analyse sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Das Saumepithel war in der EMD/bFGF/ β -TCP-Gruppe signifikant kürzer als in den anderen Gruppen. Die Bindegewebsadhäsion war in der β -TCP-Gruppe signifikant

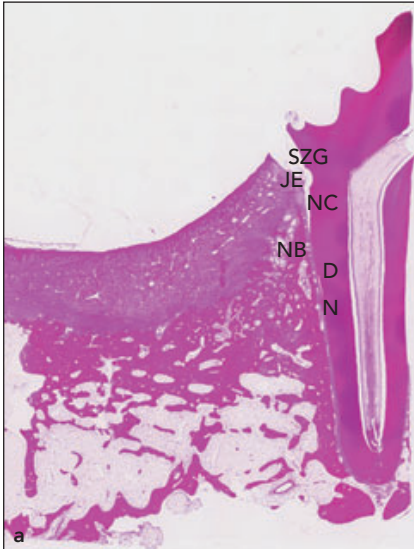


Abb. 6a und b Repräsentativer mikroskopischer Befund eines einwandigen intraossären Defekts, der mit bFGF und β -TCP behandelt wurde. (a) Es ist in großem Umfang neuer Knochen (NB) entstanden, der vom knöchernen Defektboden bis zum koronalen Defektende reicht (Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung $\times 10$). (b) Stärkere Vergrößerung des mittleren Defektabschnitts mit dickem neuem Zement (NC), schräg zur Wurzeloberfläche verlaufenden Kollagenfasern und zahlreichen Blutgefäßen (Azan; Vergrößerung $\times 200$). SZG = Schmelz-Zement-Grenze; JE = Saumepithel; PDL = Parodontalligament; N = apikale Kerbe; D = Wurzeldentin.

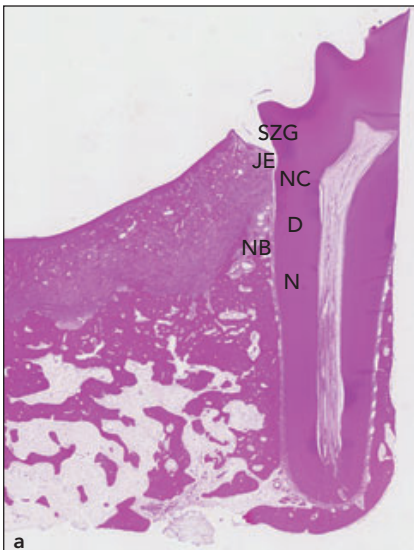
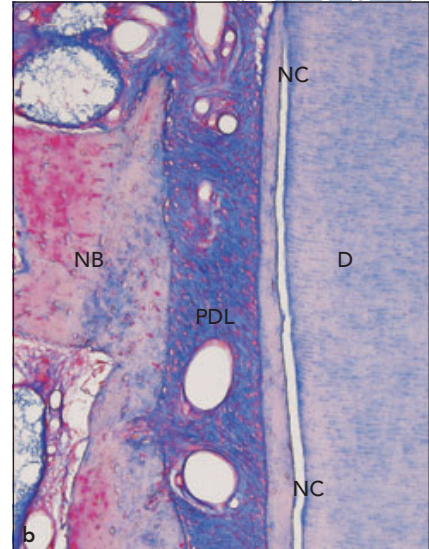
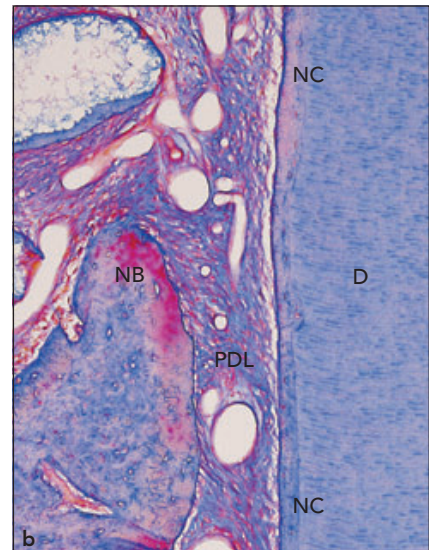


Abb. 7a und b Repräsentativer mikroskopischer Befund eines einwandigen intraossären Defekts, der mit bFGF, EMD und β -TCP behandelt wurde. (a) Neugebildeter Knochen (NB) entlang der Wurzeloberfläche und in ihrer Umgebung (Hämatoxylin-Eosin; Vergrößerung $\times 10$). (b) Stärkere Vergrößerung des koronalen Defektabschnitts mit mäßig dickem neuem Zement (NC) und einstrahlenden Kollagenfasern, die fest mit der Wurzeloberfläche verbunden sind (Azan; Vergrößerung $\times 200$). SZG = Schmelz-Zement-Grenze; JE = Saumepithel; PDL = Parodontalligament; N = apikale Kerbe; D = Wurzeldentin.



stärker als in der EMD/ β -TCP-, bFGF/ β -TCP- und EMD/bFGF/ β -TCP-Gruppe. Die Knochenneubildung unterschied sich nicht signifikant zwischen den Behandlungsgruppen. In der EMD/ β -TCP-, bFGF/ β -TCP- und EMD/bFGF/ β -TCP-Gruppe bildete sich signifikant mehr neuer Zement mit kontinuierlichem, dem Parodon-

talligament ähnlichem Gewebe als in der β -TCP-Gruppe. Die Zementneubildung war in der EMD/bFGF/ β -TCP-Gruppe signifikant stärker als in der bFGF/ β -TCP-Gruppe. Die Zementneubildung unterschied sich statistisch nicht signifikant zwischen der EMD/ β -TCP- und der EMD/bFGF/ β -TCP-Gruppe.

Diskussion

Die parodontale regenerative Behandlung einwandiger intraossärer Defekte mit geringen raumschaffenden Eigenschaften ohne Transplantationsmaterialien führt zu unzuverlässigen Ergebnissen¹²⁻¹⁴. In den einwandigen intraossären Defekten



Tabelle 1 Histometrische Parameter (Mittelwert \pm Standardabweichung, mm) für die experimentellen Bedingungen

	β -TCP	EMD/ β -TCP	bFGF/ β -TCP	bFGF/EMD/ β -TCP	Statistisch signifikanter Unterschied
DH	5,03 \pm 0,24	4,80 \pm 0,25	4,87 \pm 0,08	4,97 \pm 0,25	NS
JE	1,18 \pm 0,53	0,83 \pm 0,47	0,88 \pm 0,21	0,34 \pm 0,18	1 vs 4 2 vs 4 3 vs 4
CT	1,79 \pm 1,02	0,40 \pm 0,40	0,91 \pm 0,51	0,32 \pm 0,14	1 vs 2 1 vs 3 1 vs 4
NB	2,66 \pm 0,53	2,47 \pm 0,74	3,03 \pm 0,33	2,99 \pm 0,79	NS
NC	2,02 \pm 1,21	3,58 \pm 1,06	3,08 \pm 0,56	4,31 \pm 0,32	1 vs 2 1 vs 3 1 vs 4 3 vs 4

β -TCP = Beta-Tricalciumphosphat, EMD = Schmelzmatrix-Derivat, bFGF = Basic Fibroblast Growth Factor, DH = Defekthöhe, JE = Migration des Saume epithels, CT = Bindegewebsattachment (ohne Zement), NB = neuer Knochen, NC = neuer Zement, NS = nicht signifikant.

bei Hunden bilden sich acht bis 10 Wochen nach einer offenen Küretage mit Lappenabhebung nur auf 30 bis 35 % der Defekthöhe neuer Knochen und neuer Zement¹⁵⁻¹⁷. In der vorliegenden Studie wurden die Defekte bis auf eine Höhe von 50 bis 60 % mit neuem Knochen gefüllt, der in allen Gruppen noch geringe Anteile von β -TCP enthielt, wobei keine statistisch signifikanten Unterschiede vorhanden waren. β -TCP dient bei intraossären Defekten beim Hund nicht nur als Scaffold^{1,18}, sondern induziert auch die Zellproliferation, die Osteogenese und die Knochenregeneration¹⁹. In früheren Tierstudien

wurde jedoch bei der Verwendung von bovinem porösem Knochen-Xenograft (BDX) mit EMD oder β -TCP plus bFGF eine signifikant stärkere Knochenneubildung in zweiwandigen intraossären Defekten belegt als bei der Verwendung von BDX oder β -TCP alleine^{18,20}. Die Unterschiede hinsichtlich der Knochenneubildung in der vorliegenden Studie und in anderen Studien beruhen vermutlich auf der Art und Größe der intraossären Defekte^{12,15} oder der Interaktion zwischen den verwendeten Biomaterialien und Wachstumsfaktoren²¹. Wachstumsfaktoren (einschließlich Platelet-derived Growth Factor, Bone

Morphogenetic Protein, Vascular Endothelial Growth Factor und bFGF) können von β -TCP-Materialien absorbiert und in unterschiedlichem Umfang wieder freigesetzt werden^{21,22}. Daher besteht die Möglichkeit, dass β -TCP in dieser Studie von EMD und/oder bFGF absorbiert wurde und als Träger für sie diente. Allerdings wurden die Bindungs- und Freisetzungskinetik in dieser Studie nicht untersucht, sodass weitere Untersuchungen erforderlich sind, um diesen Punkt zu klären.

In der vorliegenden Studie wurde in der bFGF/ β -TCP-Gruppe tendenziell mehr neuer Knochen gebil-

det als in der EMD/ β -TCP-Gruppe. Diese Ergebnisse passen zu denen einer früheren Studie zum Vergleich der Heilungsmuster nach der Behandlung zweiwandiger Defekte bei Hunden mit bFGF oder EMD¹¹. Zu den Ergebnissen der Knochenneubildung gibt es Berichte, die zu folgenden Ergebnissen kommen: EMD hat geringere osteokonduktive Eigenschaften^{23,24} oder löst nach der überwiegenden Bildung von azellulärem Zement und Parodontalligament eine moderate Knochenneubildung aus^{17,25,26}; bFGF fördert die Angiogenese^{27,28}, die Produktionssteigerung der extrazellulären Matrix in den Zellen des Parodontalligaments^{29,30} und stimuliert eher die Proliferation von Osteoblasten als von Fibroblasten, Gefäßendothelzellen oder Epithelzellen und löst damit eine intensive osteogene Knochenneubildung aus.

In der bFGF/ β -TCP-Gruppe wurde überwiegend dicker, zellulärer Zement gebildet und in der EMD/ β -TCP-Gruppe überwiegend dünner, azellulärer Zement mit dichten Kollagenfasern. Die EMD/bFGF/ β -TCP-Gruppe wies eine signifikant stärkere Zementregeneration auf als die bFGF/ β -TCP-Gruppe. Diese Beobachtungen zeigen, dass sich die EMD-Ablagerung auf der Wurzeloberfläche stark auf die Zementbildung auswirkt. Durch EMD werden vermehrt nicht differenzierte Mesenchymzellen gebildet, insbesondere Zementoblasten, die entsprechende Bildung von Alveolarknochen ist entscheidend für die Reifung des Parodontalligaments^{3,25,26}. Außerdem erbrachte die EMD/bFGF/ β -TCP-Kombination die größte Menge von mäßig dickem, neuem azellulärem und zellulärem Zement. In dieser Gruppe war außerdem am wenigsten Epithel nach unten gewachsen. Dies dürfte das Ergebnis der kombinierten Effekte von EMD und bFGF auf die Zementbildung sein.

Schlussfolgerungen

Im Rahmen dieser Studie kann festgestellt werden, dass die Behandlung einwandiger intraossärer Defekte bei Hunden mit EMD/bFGF/ β -TCP zu einer effektiven Zementneubildung führt. Allerdings wurden diese Ergebnisse bei der akuten Wundheilung lediglich bei einer kleinen Anzahl von Hunden erzielt, sodass sie nur unter Vorbehalt auf die Behandlung einwandiger intraossärer Defekte bei Menschen mit chronischer Parodontitis übertragen werden können. Der klinische Effekt von β -TCP-haltigem EMD und bFGF sollte unter strikt standardisierten Bedingungen evaluiert werden.

Danksagung und Interessenerklärung

Diese Studie wurden durch einen Grant-in-Aid for Encouragement of Young Scientists B (Nr. 20791472 für Dr. Y. Shirakata) vom Ministerium für Bildung, Wissenschaft, Sport und Kultur, Japan, gefördert. Der rekombinante humane Basic Fibroblast Growth Factor (rh-bFGF) wurde kostenlos von Kaken Pharmaceutical zur Verfügung gestellt. Die Autoren geben bezogen auf diese Studie keine Interessenkonflikte an.

Literatur

1. Taba M Jr, Jin Q, Sugai JV, Giannobile WV. Current concepts in periodontal bioengineering. *Orthod Craniofac Res* 2005;8:292–302.
2. Giannobile WV, Somerman MJ. Growth and amelogenin-like factors in periodontal wound healing. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:193–204.
3. Hammarström L, Heijl L, Gestrelus S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J Clin Periodontol* 1997;24:669–677.
4. Heijl L, Heden G, Svärdröm G, Östgren A. Enamel matrix derivative (Emdogain) in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol* 1997;24:705–714.

5. Silvestri M, Ricci G, Rasperini G, Sartori S, Cattaneo V. Comparison of treatments of infrabony defects with enamel matrix derivative, guided tissue regeneration with a nonresorbable membrane and Widman modified flap. A pilot study. *J Clin Periodontol* 2000;27:603–610.
6. Sculean A, Windisch P, Chiantella GC, Donos N, Brex M, Reich E. Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. A prospective controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 2001;28:397–403.
7. Takayama S, Murakami S, Shimabukuro Y, Kitamura M, Okada H. Periodontal regeneration by FGF-2 (bFGF) in primate models. *J Dent Res* 2001;80:2075–2079.
8. Murakami S, Takayama S, Ikezawa K, et al. Regeneration of periodontal tissues by basic fibroblast growth factor. *J Periodontol Res* 1999;34:425–430.
9. Murakami S, Takayama S, Kitamura M, et al. Recombinant human basic fibroblast growth factor (bFGF) stimulates periodontal regeneration in class II furcation defects created in beagle dogs. *J Periodontol Res* 2003;38:97–103.
10. Kitamura M, Nakashima K, Kowashi Y, et al. Periodontal tissue regeneration using fibroblast growth factor-2: Randomized controlled phase II clinical trial. *PLoS One* 2008;3:e2611.
11. Shirakata Y, Taniyama K, Yoshimoto T, et al. Regenerative effect of basic fibroblast growth factor on periodontal healing in two-wall intrabony defects in dogs. *J Clin Periodontol* 2010;37:374–381.
12. Tonetti MS, Pini-Prato G, Cortellini P. Periodontal regeneration of human intrabony defects. IV. Determinants of healing response. *J Periodontol* 1993;64: 934–940.
13. Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Nedic M, Aleksic Z, Kenney EB. A comparison between enamel matrix proteins used alone or in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *J Periodontol* 2000;71:1110–1116.
14. Cochran DL, Jones A, Heijl L, Mellonig JT, Schoolfield J, King GN. Periodontal regeneration with a combination of enamel matrix proteins and autogenous bone grafting. *J Periodontol* 2003;74:1269–1281.

15. Kim CS, Choi SH, Chai JK, et al. Periodontal repair in surgically created intrabony defects in dogs: Influence of the number of bone walls on healing response. *J Periodontol* 2004;75:229–235.
16. Kim CS, Choi SH, Cho KS, Chai JK, Wikesjö UME, Kim CK. Periodontal healing in one-wall intra-bony defects in dogs following implantation of autogenous bone or a coral-derived biomaterial. *J Clin Periodontol* 2005;32:583–589.
17. Shirakata Y, Yoshimoto T, Goto H, et al. Favorable periodontal healing of 1-wall infrabony defects after application of calcium phosphate cement wall alone or in combination with enamel matrix derivative: A pilot study with canine mandibles. *J Periodontol* 2007;78:889–898.
18. Oi Y, Ota M, Yamamoto S, Shibukawa Y, Yamada S. Beta-tricalcium phosphate and basic fibroblast growth factor combination enhances periodontal regeneration in intrabony defects in dogs. *Dent Mater J* 2009;28:162–169.
19. Neamat A, Gawish A, Gamal-Eldeen AM. Beta-tricalcium phosphate promotes cell proliferation, osteogenesis and bone regeneration in intrabony defects in dogs. *Arch Oral Biol* 2009;54:1083–1090.
20. Yamamoto S, Masuda H, Shibukawa Y, Yamada S. Combination of bovine-derived xenografts and enamel matrix derivative in the treatment of intrabony periodontal defects in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2007;27:471–479.
21. Ziegler J, Mayr-Wohlfart U, Kessler S, Breitig D, Günther KP. Adsorption and release properties of growth factors from biodegradable implants. *J Biomed Mater Res* 2002;59:422–428.
22. Bateman J, Intini G, Margarone J, et al. Platelet-derived growth factor enhancement of two alloplastic bone matrices. *J Periodontol* 2005;76:1833–1841.
23. Plachokova AS, van den Dolder J, Jansen JA. The bone-regenerative properties of Emdogain absorbed onto poly(D,L-lactide-co-glycolic acid)/calcium phosphate composites in an ectopic and an orthotopic rat model. *J Periodontol Res* 2008;43:55–63.
24. Intini G, Andreana S, Buhite RJ, Bobek LA. A comparative analysis of bone formation induced by human demineralized freeze-dried bone and enamel matrix derivative in rat calvaria critical-size bone defects. *J Periodontol* 2008;79:1217–1224.
25. 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.
26. Mellonig JT. Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: Technique and clinical and histologic case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999;19:8–19.
27. Nicosia RF, Bonanno E, Smith M, Yurchenco P. Modulation of angiogenesis in vitro by laminin-entactin complex. *Dev Biol* 1994;164:197–206.
28. Takayama S, Murakami S, Miki Y, et al. Effects of basic fibroblast growth factor on human periodontal ligament cells. *J Periodontol Res* 1997;32:667–675.
29. Shimabukuro Y, Ichikawa T, Takayama S, et al. Fibroblast growth factor-2 regulates the synthesis of hyaluronan by human periodontal ligament cells. *J Cell Physiol* 2005;203:557–563.
30. Terashima Y, Shimabukuro Y, Terashima H, et al. Fibroblast growth factor-2 regulates expression of osteopontin in periodontal ligament cells. *J Cell Physiol* 2008;216:640–650.