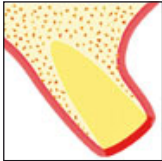


## Effektivität von drei Ridge-Preservation-Techniken: Eine randomisierte, kontrollierte Pilotstudie



Gustavo Avila-Ortiz, DDS, MS, PhD<sup>1</sup>  
Juan Carlos Rodriguez, DDS<sup>2</sup>  
Ivan Rudek, DDS<sup>3</sup>/Erika Benavides, DDS, PhD<sup>4</sup>  
Hector Rios, DDS, PhD<sup>5</sup>/Hom-Lay Wang, DDS, MS, PhD<sup>6</sup>

In dieser Pilotstudie wurden erste Daten zur Effektivität von drei Ridge-Preservation-Techniken im Vergleich zu einer Kontrolle erhoben. Dazu wurden Patienten, bei denen einwurzelige Zähne extrahiert werden mussten, aufgenommen und randomisiert in vier Behandlungsgruppen eingeteilt: Gruppe 1 (Kontrolle) – Kollagen-Plug, Gruppe 2 – Transplantation der Alveole und Barrieremembran aus Polytetrafluorethylen (PTFE), Gruppe 3 – Transplantation der Alveole, bukkale Überkonturierung und PTFE-Membran, Gruppe 4 – Transplantation der Alveole, Kollagenmembran und PTFE-Membran. In allen Gruppen wurde ein Allograft transplantiert. Nach 16 Wochen erfolgte eine Zweitoperation, in deren Rahmen eine Knochenprobe für die histomorphometrische Analyse entnommen wurde. Zu Beginn und vor der Zweitoperation wurde eine digitale Volumetomografie durchgeführt. Die volumetrischen und die klinischen Ergebnisse (Veränderungen der keratinisierten Mukosa [KM] und der bukkolingualen Alveolarkammstärke [RW]) wurden statistisch ausgewertet. Insgesamt wurden 20 Patienten aufgenommen (fünf Patienten in jeder Gruppe). Die KM und die bukkolinguale RW änderten sich im Lauf der 16 Wochen in allen Gruppen nur minimal und statistisch nicht signifikant. Die volumetrische Analyse ergab in den Gruppen 1 (3 %), 2 (7 %) und 4 (5 %) eine vergleichbare Resorption des Alveolarkamms, während die Reduktion in Gruppe 3 stärker ausfiel (16 %). Die histomorphometrische Analyse zeigte in allen Gruppen eine ausreichende mittlere Menge an mineralisiertem Gewebe (Gruppe 1: 46,4 %, Gruppe 2: 28,88 %, Gruppe 3: 48,81 %, Gruppe 4: 41,13 %). Gemessen an den klinischen und volumetrischen Ergebnissen war keines der Verfahren der Kontrolle überlegen. Das in dieser Studie verwendete Komposit-Allograft (gefriergetrockneter Knochen und demineralisierter gefriergetrockneter Knochen) ist ein sicheres und geeignetes Biomaterial für die intraorale Transplantation. (Int J Par Rest Zahnheilkd 2014; 34: 485–497.)

Zahnverluste haben eine verheerende Wirkung auf verschiedene Aspekte der Lebensqualität, wie eine gestörte Selbstwahrnehmung, ästhetische Gesichtsveränderungen, reduzierte Kaufähigkeit und Veränderungen der normalen Sprechweise<sup>1–3</sup>. Außerdem wird durch die Zahnextraktion eine Reihe lokaler biologischer Ereignisse ausgelöst, die zu einem Verlust des Alveolarkammvolumens führen<sup>4,5</sup>. Zahlreiche präklinische und klinische Studien haben belegt, dass dieser Volumenverlust vor allem Folge einer Resorption des Alveolarkamms ist und hauptsächlich den fazialen und koronalen Anteil der Extraktionsalveole betrifft<sup>6–9</sup>. Es ist allgemein bekannt, dass die Volumenänderungen im oberen Frontzahnbereich ausgeprägter sind als im Seitenzahnbereich, weil dort die Bukkalplatte normalerweise dünner ist<sup>10–12</sup>. In den letzten 30 Jahren, seit der ursprünglichen Beschreibung des Socket Filling in den 1980er-Jahren, wurden zahlrei-

<sup>1</sup> Assistenzprofessor, Department of Periodontics, The University of Iowa, Iowa City, Iowa, USA; zuvor Klinischer Assistenzprofessor, Department of Periodontics and Oral Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA.

<sup>2</sup> Assistenzarzt der Graduate Periodontics, Department of Periodontics and Oral Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA.

<sup>3</sup> Klinischer Assistenzprofessor, Department of Periodontics and Oral Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA.

<sup>4</sup> Assistenzprofessorin, Department of Periodontics and Oral Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA.

<sup>5</sup> Department of Periodontics and Oral Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA.

<sup>6</sup> Professor und Leiter der Graduate Periodontics, Department of Periodontics and Oral Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA.

Korrespondenz an: Dr. Gustavo Avila-Ortiz, Department of Periodontics, The University of Iowa, 801 Newton Rd, Iowa City, IA 52242, USA. Fax: +1 319-335-7239.  
E-Mail: gustavo-avila@uiowa.edu

che Therapieverfahren zur Prävention und Reduktion dieser Volumenänderung vorgeschlagen<sup>13</sup>. In mehreren Studien wurden die Vorteile einer zusätzlichen Transplantation im Gegensatz zur alleinigen Extraktion belegt<sup>14-18</sup>. Es gibt jedoch aktuelle Belege dafür, dass sich die Knochenresorption unabhängig vom verwendeten Transplantatmaterial nicht vollständig verhindern lässt und, was noch wichtiger ist, dass die Socket Preservation nicht in allen klinischen Situationen vorhersagbar ist<sup>19-22</sup>. Um einige der Einschränkungen des konventionellen Socket Filling zu überwinden, wurde vor Kurzem ein neuartiger Ansatz mit Überkonturierung der bukkalen Platte vorgestellt<sup>23</sup>. Für diesen modifizierten Ansatz wird eine zusätzliche Schicht aus Transplantatmaterial über dem Bereich mit der stärksten Knochenresorption (bukkal und koronal) eingebracht, um die natürliche Resorption auszugleichen. Bislang gibt es nur begrenzte Daten zur klinischen Effektivität dieser vielversprechenden Technik beim Menschen<sup>24,25</sup>.

Neben der Resorption des Alveolarkamms kann der beginnende Umbauprozess nach der Zahnextraktion die Breite der keratinisierten Mukosa (KM) signifikant reduzieren<sup>15</sup>. Das Abdecken der Extraktionsalveole mit einer nicht porösen Barrieremembran aus Polytetrafluorethylen (PTFE) soll den Alveolarkamm und die KM erhalten, ohne dass ein Lappen mobilisiert oder eine zusätzliche Weichgewebetransplantation durchgeführt wurde<sup>26,27</sup>. Kürzlich wurde ein neuartiges minimalinvasives Verfahren zur Ridge Preservation beschrieben. Es soll die klinischen Ergebnisse durch das Abdecken des Knochentransplantats mit einer doppelten Schicht verbessern<sup>28</sup>. Bei dieser Technik werden eine nicht resorbierbare PTFE-Membran und eine resorbierbare Kollagenmembran kombiniert, was theoretisch die Adhäsion an die da-

runterliegenden Gewebe verbessert. In einer präklinischen Studie wurden mit diesem Doppelmembranverfahren ausgezeichnete Ergebnisse bei der Ridge Preservation erreicht<sup>29</sup>. Allerdings gibt es keine verwertbaren Daten über den Vergleich dieses Doppelmembranansatzes mit anderen Techniken beim Menschen.

In dieser Pilotstudie wurden erste Daten zur Effektivität von drei Ridge-Preservation-Techniken (Auffüllen der Alveole mit einem Allograft und Abdecken mit einer PTFE-Membran, Auffüllen der Alveole und faciale Überkonturierung mit einem Allograft und Abdecken mit einer PTFE-Membran sowie Auffüllen der Alveole mit einem Allograft und Abdecken mit einer PTFE- und einer Kollagenmembran) im Vergleich zu einer Kontrolle erhoben. Ein weiteres Ziel war die histomorphometrische Untersuchung des Gewebes, das sich nach der Transplantation mit einem Komposit-Allograft (gefriergetrocknetes Knochen-Allograft [FDBA] und demineralisiertem gefriergetrocknetem Knochen-Allograft [DFDBA]) gebildet hatte.

## Material und Methode

### *Patientenauswahl und Operationsvorbereitung*

Der klinische Teil dieser Studie wurde von Oktober 2010 bis zum Studienende im September 2011 in der Graduate Periodontics Clinic an der University of Michigan School of Dentistry durchgeführt. Das University of Michigan Institutional Review Board genehmigte das Studienprotokoll im August 2010. Patienten, die an einer Studienteilnahme interessiert waren, durchliefen zunächst ein telefonisches Screening. Beim klinischen Screening wurden die Patienten über die Ziele und den zeitlichen Ablauf

der Studie aufgeklärt (Abb. 1). Alle Patienten mussten das Einwilligungsfeld lesen, verstehen und unterzeichnen können. Dazu gehörte auch eine gründliche Erklärung des zu erwartenden Nutzens und möglicher Risiken. Die erwachsenen Patienten (> 18 Jahre), bei denen ein einwurzeliger Zahn (ausgenommen die unteren Schneidezähne) extrahiert werden musste, zeigten keine der folgenden Ausschlusskriterien: eine bekannte Allergie oder Überempfindlichkeit gegenüber einem der in der Studie eingesetzten Produkte, Raucher (Patienten, die in den letzten sechs Monaten vor Studienbeginn geraucht haben), ein nicht kontrollierter Diabetes mellitus Typ 1 oder 2, schwere hämatologische Erkrankungen (wie Hämophilie oder Leukämie), eine lokale oder systemische Infektion, die die normale Heilung beeinträchtigt (z. B. eine ausgedehnte periapikale Pathologie), eine Funktionsstörung/Versagen von Leber oder Niere, eine aktuelle Krebsbehandlung oder eine weniger als 18 Monate zurückliegende Radio- oder Chemotherapie, die Langzeiteinnahme von oralen Bisphosphonaten (mindestens 10 Jahre), eine intravenöse Therapie mit Bisphosphonaten, schwere Knochenkrankungen (z. B. Paget-Krankheit der Knochen), Schwangerschaft oder Stillzeit sowie die Unfähigkeit oder mangelnde Bereitschaft, die Instruktionen im Rahmen der Studie zu befolgen. Nach dem initialen Screening wurde der betreffende Zahn bei jedem Patienten intraoral und radiologisch untersucht. Sofern dies nicht möglich war, wurden periapikale Röntgenaufnahmen des Zahns angefertigt, um die Studieneignung festzustellen. Kandidaten mit klinischen und/oder radiologischen Hinweisen auf eine aktive Parodontalerkrankung wurden von der Studienteilnahme ausgeschlossen.

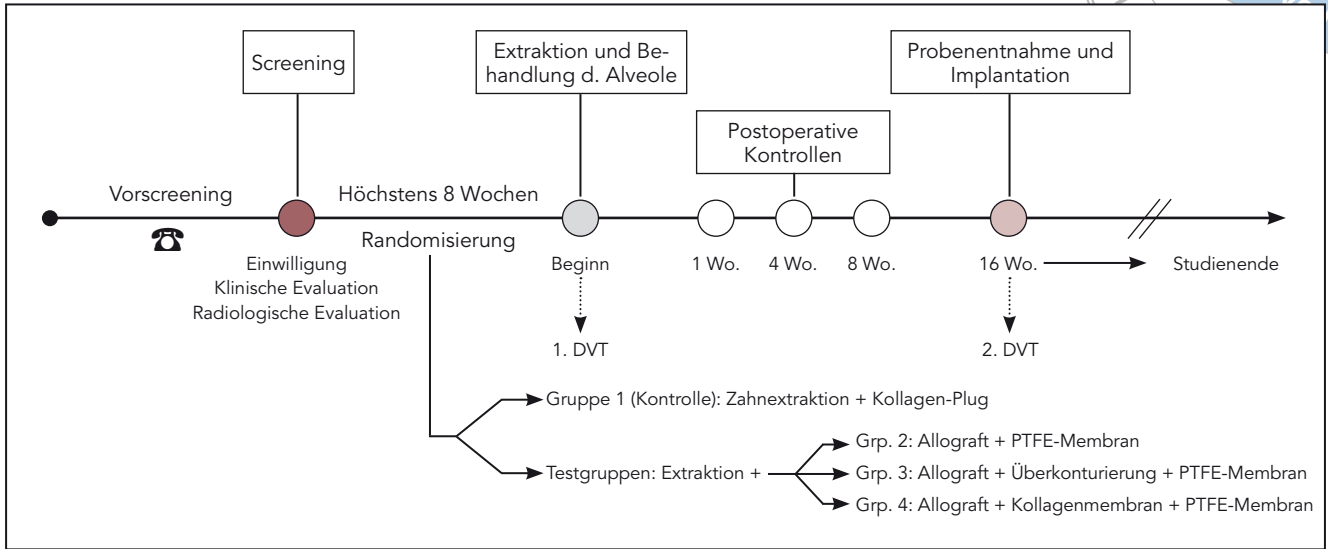


Abb. 1 Zeitlicher Studienverlauf. DVT = digitale Volumentomografie, Wo. = Woche(n).

### Gruppen und Randomisierung

Nach der Aufnahme in die Studie wurden die Teilnehmer randomisiert auf die vier Behandlungsgruppen verteilt: Gruppe 1 (Kontrolle) – Zahnextraktion, rasch resorbierbarer Kollagen-Plug (CollaPlug, Zimmer Dental) und PTFE-Naht (Cytoplast, Osteogenics Biomedical); Gruppe 2 – Zahnextraktion, Transplantation der Alveole mit einem Komposit-Allograft aus FDBA und DFDBA (enCore, Osteogenics Biomedical), Barrieremembran aus Polytetrafluorethylen (PTFE) (Cytoplast TXT-200 Singles, Osteogenics Biomedical) und PTFE-Naht; Gruppe 3 – Zahnextraktion, Transplantation der Alveole, bukkale Überkonturierung mit einem Allograft und PTFE-Naht; Gruppe 4 – Zahnextraktion, Transplantation der Alveole mit einem Allograft, Kollagenmembran (RTM Collagen, Osteogenics Biomedical) und darüber PTFE-Membran und -Naht. Die Randomisierung erfolgte mit versiegelten Briefumschlägen. Bei der Ausgangsintervention wurde aus einer verdeckten Schublade aus 20 Briefumschlägen, die

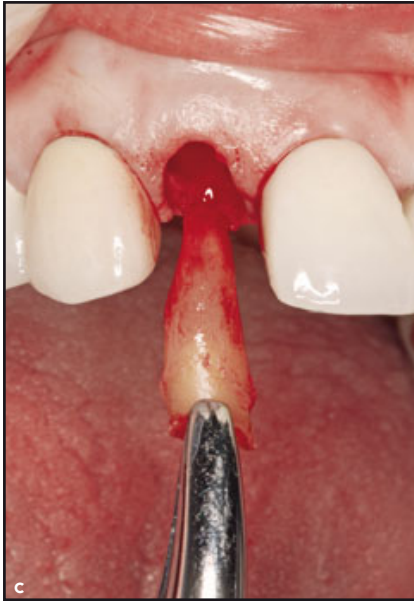
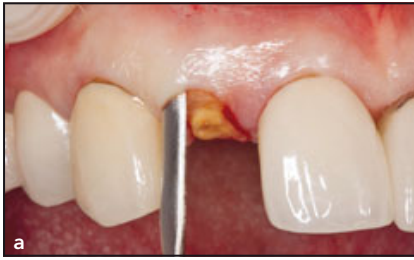
jeweils eine Nummer (1, 2, 3 oder 4) der Behandlungsgruppen enthielten, ein Umschlag ausgewählt. Um die Teilnehmer gleichmäßig auf die Gruppen zu verteilen, kam jede Ziffer nur fünfmal vor.

### Chirurgisches Vorgehen, postoperative Behandlung und Kontrolluntersuchungen

Alle Operationsverfahren wurden unter Anästhesie durchgeführt. Die Zahnextraktion wurde vorsichtig mit Handinstrumenten vorgenommen, um ein Trauma der Gingiva und des darunterliegenden Alveolarkamms zu verhindern (Abb. 2a bis c). Anschließend wurden alle Alveolen vorsichtig kürettiert (Abb. 2d) und die apikokoronale mittbukkkale Breite der keratinisierten Gingiva (von der Mukogingivallinie bis zum Gingivasaum) sowie der bukkolinguale Durchmesser der Alveole vom Operateur mit einer Parodontalsonde (UNC-Parodontalsonde, Hu-Friedy) gemessen (Abb. 3). In der Kontrollgruppe wurde die

Alveole mit einem Kollagen-Plug und einer horizontalen Matratzennaht stabilisiert. In allen Testgruppen (2, 3 und 4) wurde die Alveole mit einem Allograft aufgefüllt und eine subperiostale bukkolinguale Tasche von 2 bis 3 mm erzeugt (Abb. 4). In Gruppe 2 wurde die Alveole mit einer individuell getrimmten PTFE-Barrieremembran abgedeckt (Abb. 5). In Gruppe 3 wurde die faziale Tasche mit 0,1 bis 0,2 ml Allograft aufgefüllt, um den Alveolarkamm zu überkonturieren, der Bereich wurde dann mit einer PTFE-Barrieremembran abgedeckt. In Gruppe 4 wurde die aufgefüllte Alveole mit einer individuell zugeschnittenen Kollagenmembran und diese wiederum mit einer PTFE-Barrieremembran abgedeckt (Abb. 6). Sofort nach dem operativen Eingriff wurde eine digitale Volumentomografie (DVT) durchgeführt (i-CAT, Imaging Sciences International). Zur Reduktion der Strahlenexposition wurde nur der Kiefer, in dem sich der behandelte Bereich befand, untersucht. Das Field of View betrug 6 cm; das Gerät war für alle Untersuchungen auf 120 kVp und 18,66 mAs eingestellt.

**Abb. 2** Zahnextraktion (Beispiel aus Gruppe 2).

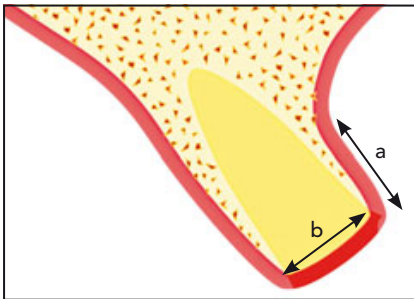


**Abb. 2a** Einsatz eines dünnen Periostoms.

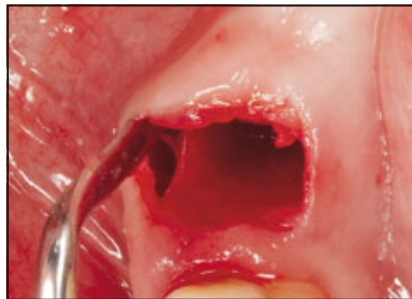
**Abb. 2b** Vorsichtige Extraktion mit einer Zange.

**Abb. 2c** Abgeschlossene Zahnextraktion.

**Abb. 2d** Okklusale Ansicht des Operationsbereichs nach Kürettage und Spülung der Alveole.



**Abb. 3** Klinische Messungen nach der Extraktion. (a) Apikokoronale Breite der bukkalen keratinisierten Mukosa. (b) Bukkolingualer Durchmesser der Alveole im Alveolarkamm.



**Abb. 4** Präparation der subperiostalen Tasche mit einem dünnen Periostom.

Die Patienten erhielten ausführliche mündliche und schriftliche postoperative Anweisungen sowie Antiphlogistika (600 mg Ibuprofen alle sechs bis acht Stunden für drei bis fünf Tage) und eine Mundspülung (0,12 % Chlorhexidin, 500 ml). Nach einer Woche wurden die Fäden entfernt und die Patienten zur Mundhygiene motiviert. Den Patienten der Gruppe 2, 3 und 4 wurde gezeigt, wie sie die exponierte PTFE-Membran mit einem in 0,12 % Chlorhexidin getränkten Wattestäbchen reinigen sollen. Nach vier Wochen wurden die Defekte begutachtet und die PTFE-Membran bei den Patienten der Gruppe 2, 3 und 4 unter topischer Anästhesie mit einer zahnärztlichen Pinzette entfernt. Nach acht Wochen wurden die Bereiche erneut inspiziert und präoperative Anweisungen gegeben.

### Zweitoperation

Im Rahmen dieses Eingriffs 16 Wochen nach Studienbeginn wurde unter Lokalanästhesie eine Knochenbiopsie durchgeführt und ein enossales Implantat gesetzt (Abb. 7). Vor dieser Operation wurde ein zweites DVT angefertigt, um die mittbukale KM-Breite zu dokumentieren. Nach der Mobilisation eines Vollschichtlappens wurde mit einer Parodontalsonde von einem nicht geblindeten Untersucher (nicht den Chirurgen) der bukkolinguale Durchmesser des Alveolarkamms gemessen. Dann wurde mit einem Trepanbohrer (Salvin Dental) mit einem Innendurchmesser von 2,0 mm ein etwa 10 cm langer Biopsiezylinder aus dem künftigen Implantatbett entnommen (Abb. 8). Der bukkale und der linguale Lappen wurden mit PTFE-Fäden verschlossen. Die Patienten erhielten postoperative Anweisungen. An diesem Zeitpunkt war die klinische Studienphase beendet (Abb. 1).



**Abb. 5** Beispiel für eine Alveolentransplantation in Gruppe 2 (derselbe Patient wie in Abb. 2).



**Abb. 5a** Platzierung des Komposit-Allografts.



**Abb. 5b** Allograft in der Alveole.



**Abb. 5c** PTFE-Barrieremembran in situ vor der Naht.



**Abb. 6** PTFE-Membran (links) und Kollagenmembran (rechts).

## Ergebnismessung

Die Ergebnisvariablen dieser Studie waren (1) die Veränderung der KM-Breite und der bukkolingualen Alveolarkambbreite (RW) nach 16 Wochen gegenüber dem Ausgangswert und (2) die mittels DVT ermittelte Volumenabnahme des Alveolarkamms nach 16 Wochen gegenüber dem Ausgangswert. Außerdem wurde in den nach 16 Wochen entnommenen Knochenproben histomorphometrisch der Anteil der verschiedenen Gewebe bestimmt.

## Volumetrische Analyse

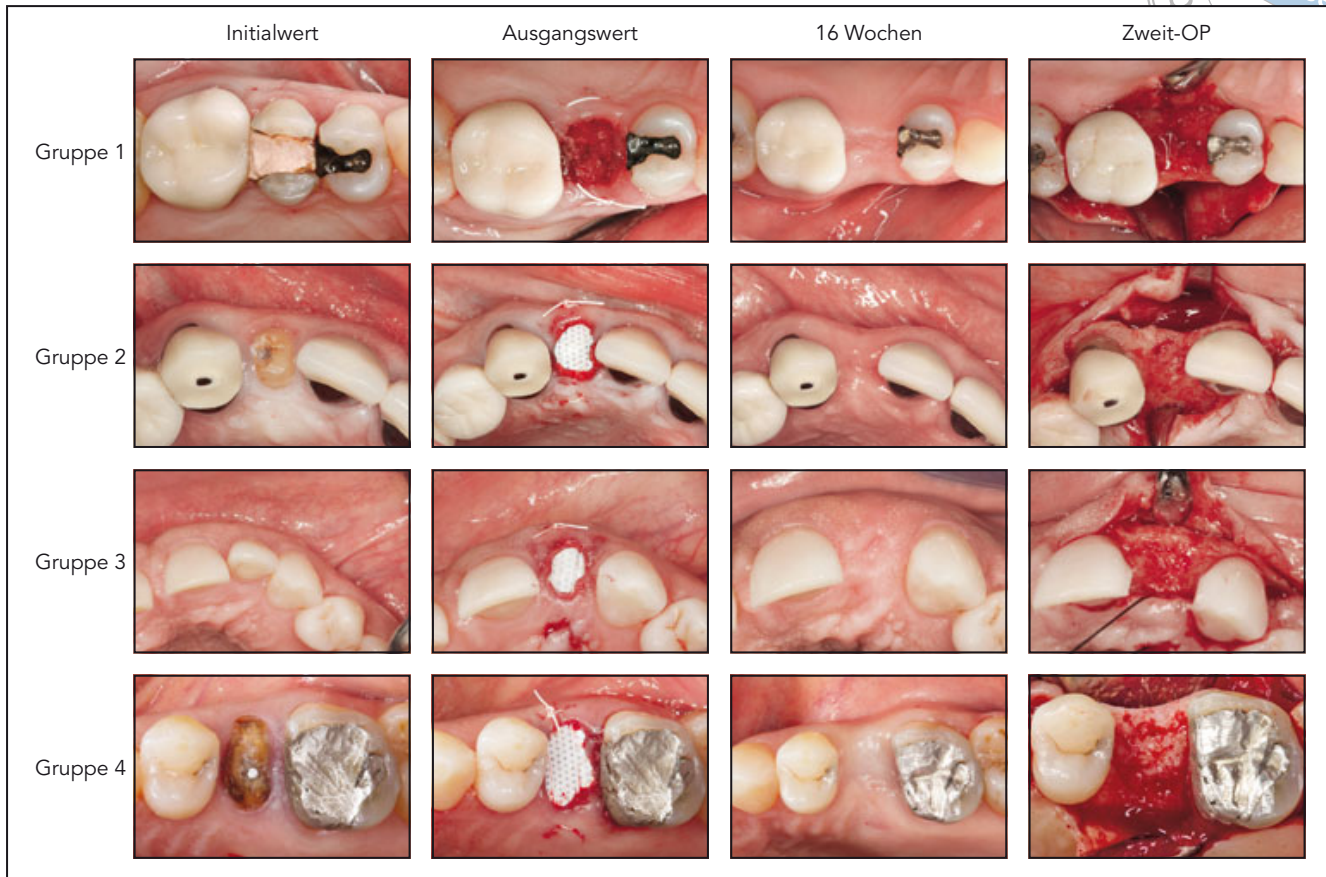
Das Computerprogramm (Mimics, Materialise), mit dem die DICOM-Dateien (Digital Imaging and Communication in Medicine) des DVTs geöffnet wurden, erlaubte die Auswahl einer Region of Interest (ROI), die nur

Hartgewebe enthielt. Um vergleichbare Volumina zu erhalten, wurden bei den Aufnahmen nach 16 Wochen dieselben ROI-Einstellungen verwendet wie bei dem Ausgangs-DVT. Die dreidimensionalen volumetrischen Rekonstruktionen (stereolithografische Dateien) der ROI wurden in ein anderes Programm (Geomagic Studio, Geomagic) exportiert und das Volumen der ROI quantifiziert (Abb. 9a und b). Danach berechnete ein geblinderter Untersucher (IR) durch Subtraktion den Volumenverlust im Laufe der 16 Wochen und errechnete daraus die prozentuale Abnahme.

## Histologische Präparation und Untersuchung

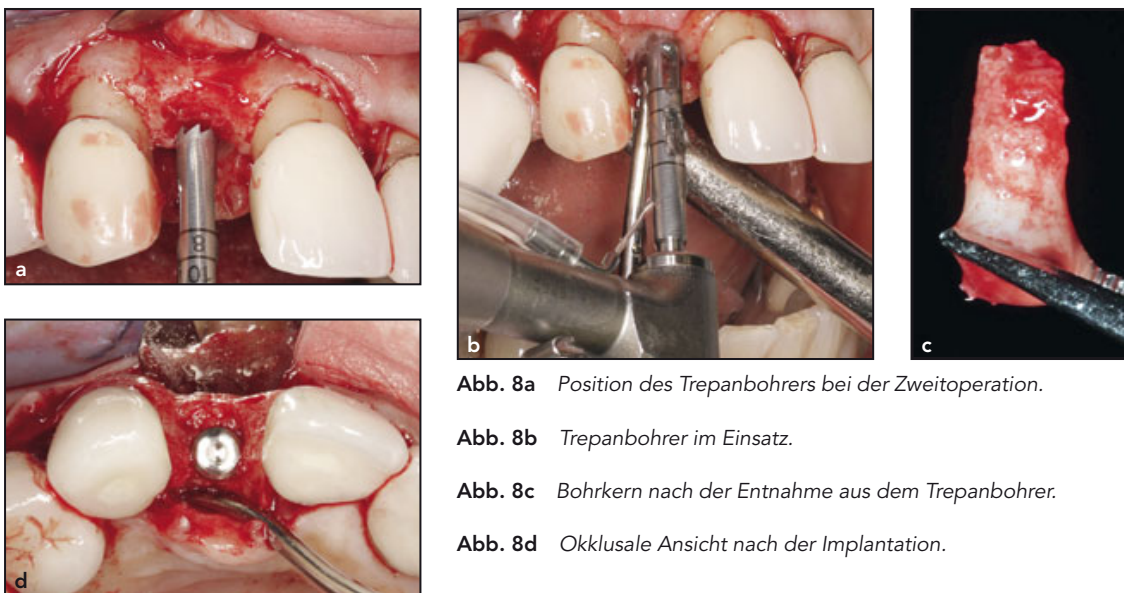
Die Knochenproben wurden für 24 Stunden in einer 10 % gepufferten Formalinphosphatlösung fixiert. Danach wurden sie für vier Wochen

mit 10 % Ethylendiamintetraacetat (EDTA; Sigma-Aldrich) dekalzifiziert und anschließend in Paraffinblöcke eingebettet. Diese wurden entlang der apikokoronaren Achse geschnitten und die entstandenen Schnittpräparate entwachst, hydriert und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Die histomorphometrischen Messungen wurden von einem geblindeten Untersucher (JCR) durchgeführt. Er betrachtete von jedem Schnittpräparat drei zufällig ausgewählte Bilder bei 10-facher Vergrößerung unter dem Lichtmikroskop (Eclipse 50i, Nikon), das mit einer Digitalkamera (DS-Fi1 digitale Farbkamera, Nikon) mit Anschluss an einen Computer mit NIS-Elements Software (Nikon) ausgestattet war. Der Anteil an mineralisiertem Gewebe, Transplantatpartikeln und nicht mineralisiertem Gewebe wurde separat für jedes Kompartment des Bilds in Prozent angegeben und die Mittelwerte für jede Gruppe berechnet.



**Abb. 7** Klinische Befunde der Gruppen zu den verschiedenen Messzeitpunkten.

**Abb. 8** Beispiel für eine Stanzbiopsie und Implantation in Gruppe 2 (derselbe Patient wie in Abb. 2 und 5).

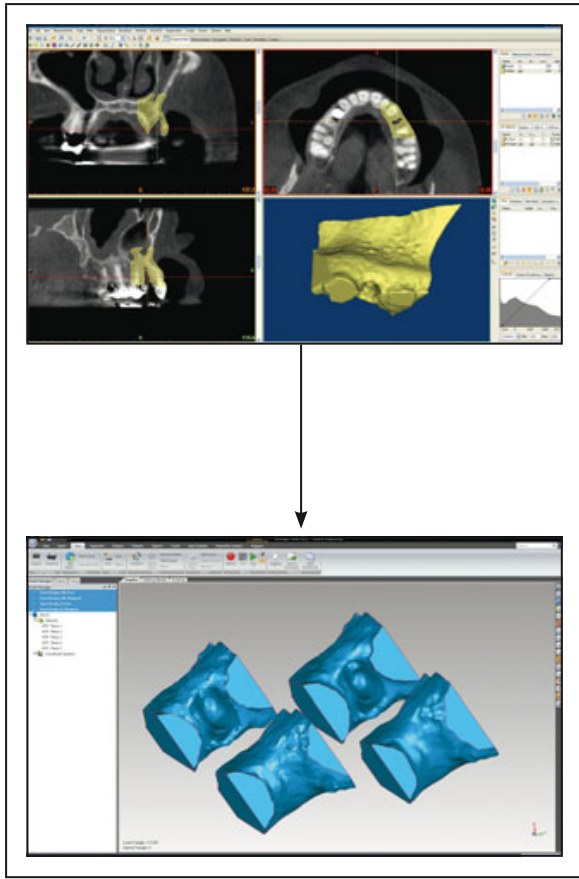


**Abb. 8a** Position des Trepanbohrers bei der Zweitoperation.

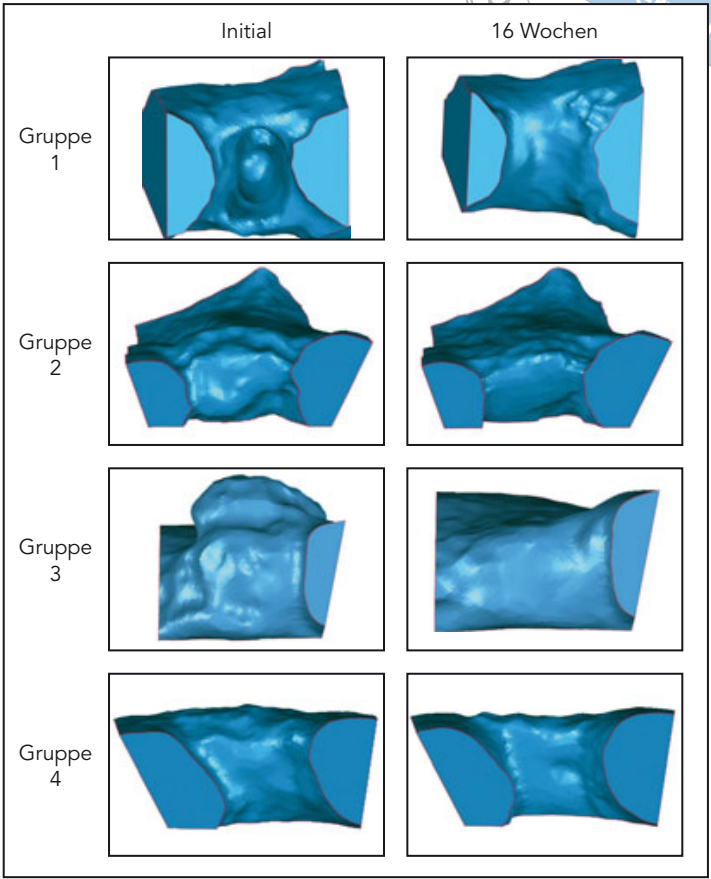
**Abb. 8b** Trepanbohrer im Einsatz.

**Abb. 8c** Bohrkern nach der Entnahme aus dem Trepanbohrer.

**Abb. 8d** Okklusale Ansicht nach der Implantation.



**Abb. 9a** Screenshots der volumetrischen Computeranalyse: Mimics (oben) und Geomagic (unten).



**Abb. 9b** Beispiele für dreidimensionale Rekonstruktionen der ROI für jede Gruppe zu Beginn und nach 16 Wochen.

**Datenauswertung**

Die Auswertung der volumetrischen und histomorphometrischen Daten erfolgte mittels deskriptiver Statistik und die Auswertung der Veränderungen von bukkaler KM und bukkolingualer RW mit einem Test für wiederholte Messungen. Mit einer einseitigen Varianzanalyse (ANOVA) für wiederholte Messungen wurden die klinischen Parameter der verschiedenen Therapiegruppen nach 16 Wochen auf signifikante Unterschiede untersucht. Als statistisch signifikant galt  $p < 0,05$ .

**Ergebnisse**

**Studienteilnehmer und Defekte**

In diese Pilotstudie wurden insgesamt 20 Patienten (11 Männer, neun Frauen) aufgenommen und randomisiert in vier gleich große Behandlungsgruppen ( $n = 5$  Patienten) eingeteilt. Sie waren zwischen 32 und 72 Jahren alt (mittleres Alter: 55,5 Jahre). In Tabelle 1 sind die demografischen Daten der vier Studiengruppen aufgeschlüsselt. Bei jedem Patienten wurde nur ein Zahn behandelt. Alle Zähne wiesen ein gut erhaltenes Parodont (interproximaler Knochenver-

lust  $< 2$  mm) auf. Die behandelten Zähne verteilten sich wie folgt: vier obere zentrale Schneidezähne, fünf obere laterale Schneidezähne, ein oberer Eckzahn, ein oberer erster Prämolare, sieben obere zweite Prämolaren, ein unterer erster Prämolare und ein unterer zweiter Prämolare. Die Gründe für die Extraktion waren: Frakturen ( $n = 4$ ), eine nicht restaurierbare Karies oder ein endodontischer Misserfolg ( $n = 12$ ) und eine ausgedehnte Wurzelresorption ( $n = 4$ ). Die Heilung verlief fast ohne Komplikationen; Nur bei einem Patienten der Gruppe 1 entwickelte sich eine Woche nach Studienbeginn eine Alveolitis nach der Extraktion. Er wurde behandelt



**Tabelle 1** Demografische Ausgangsdaten der Patienten der einzelnen Gruppen

Gruppe	Patienten-nr.	Alter (J.)
1	03 (F)	54
	06 (M)	59
	11 (M)	48
	12 (F)	55
	18 (M)	63
	Mittelwert	55,8
2	02 (F)	72
	07 (F)	32
	10 (M)	59
	14 (M)	52
	17 (M)	67
	Mittelwert	56,4
3	01 (M)	34
	08 (F)	44
	09 (F)	45
	13 (F)	52
	20 (M)	60
	Mittelwert	47
4	04 (F)	60
	05 (M)	64
	15 (M)	64
	16 (F)	69
	19 (M)	59
	Mittelwert	63,2

F = Frauen, M = Männer.

und erholte sich gut, wurde aber bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Alle anderen Teilnehmer beendeten die Studie planmäßig.

### Klinische Ergebnisse

Die mittlere KM-Breite betrug bei allen behandelten Zähnen zu Beginn  $4,6 \pm 1,6$  mm und nach 16 Wochen  $4,8 \pm 1,9$  mm. Die mittleren Unterschiede sind in Tabelle 2 für jede Behandlungsgruppe aufgeführt. In Gruppe 1, 2 und 3 wurde mit 0,7 mm, 0,8 mm und 0,5 mm eine minimale Zunahme der KM-Breite beobachtet, in Gruppe 4 nahm sie um 1,2 mm ab. Die mittlere bukkolinguale RW betrug an allen behandelten Zähnen zu Beginn  $6,9 \pm 1,8$  mm und nach 16 Wochen  $7,0 \pm 1,2$  mm. Sie veränderte sich ebenso wie die KM-Breite während der 16-wöchigen Beobachtungsphase nur minimal ( $< 1$  mm). Für die Veränderung dieser beiden klinischen Parameter ergab die einseitige ANOVA keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen (KM-Breite  $p = 0,27$ ; bukkolinguale RW  $p = 0,59$ ).

### Volumetrische Ergebnisse

Drei DVTs (jeweils eine in Gruppe 1, 2 und 4) konnten wegen übermäßiger Streuung nicht ausgewertet werden. Außerdem beendete ein Patient der Gruppe 1 die Studie nicht planmäßig, sodass auch keine volumetrischen Änderungen erfasst wurden. Die volumetrisch ermittelte Resorptionsrate des Alveolarkamms war mit 3 % in Gruppe 1, 7 % in Gruppe 2 und 5 % in Gruppe 4 vergleichbar, während die Patienten der Gruppe 3 nach vierwöchiger Heilung mit 16 % eine stärkere Resorption aufwiesen.

### Histomorphometrische Ergebnisse

Insgesamt wurden vier Knochenproben (eine in jeder Gruppe) verworfen, weil sie nach der Entnahme und Fixierung für eine histologische Präparation zu beschädigt waren. Insgesamt wurden 16 Biopsate verarbeitet und untersucht. Die histomorphometrischen Daten sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Wie Abbildung 10 zeigt, enthielten die Proben der Gruppe 1 ähnlich viel mineralisiertes (46,4 %) und nicht mineralisiertes Gewebe (53,6 %). In Gruppe 2, 3 und 4 ähnelte sich das histologische Muster stark und bestand aus drei gut differenzierten Kompartimenten: mineralisiertes Gewebe, verbliebene Allograft-Partikel und nicht mineralisiertes Gewebe (Abb. 11). Der durchschnittliche Anteil an mineralisiertem Gewebe in Gruppe 3 (48,81 %) und Gruppe 4 (41,13 %) war vergleichbar mit dem in Gruppe 1, während er in Gruppe 2 im Mittel geringer war (28,88 %).

### Diskussion

In dieser Pilotstudie wurden erste Daten zur Effektivität von drei Ridge-Preservation-Techniken im Vergleich zu einer Kontrolle erhoben. Die Analyse der volumetrischen Änderungen nach 16 Wochen erbrachte nur minimale Unterschiede zwischen den Gruppen 1 (3 %), 2 (7 %) und 4 (5 %) und eine erheblich stärkere Reduktion in Gruppe 3 (16 %). Trotzdem war in allen Fällen eine Implantation möglich. Dieses Ergebnis zeigt, dass das bukkal eingebrachte Transplantatmaterial nach 16 Wochen stark resorbiert war, was durch die minimal unterschiedliche klinische Veränderung der bukkolinguale RW der Behandlungsgruppen gestützt wird (Tabelle 2). Während die beiden DVTs nach der ersten Operation und vor der Zweitoperation durchgeführt wurden, wurde die bukkolinguale



**Tabelle 2** Bukkale KM und bukkolinguale RW (Mittelwert ± SA) an den Messzeitpunkten, aufgeschlüsselt nach den Testgruppen

Gruppe	Bukkale KM (mm)			Bukkolinguale RW (mm)		
	Ausgangswert	16 Wo.	Veränderung	Ausgangswert	16 Wo.	Veränderung
1	4,5 ± 1,0	5,2 ± 1,9	0,7 ± 1,3	7,0 ± 1,3	7,25 ± 0,7	0,25 ± 1,0
2	5,3 ± 0,9	6,1 ± 1,7	0,8 ± 0,8	6,4 ± 1,1	7,1 ± 1,4	0,7 ± 0,4
3	3,3 ± 1,6	3,8 ± 2,5	0,5 ± 1,4	6,8 ± 2,4	6,4 ± 1,1	-0,4 ± 2,0
4	5,6 ± 1,9	4,4 ± 0,5	-1,2 ± 1,6	7,4 ± 2,3	7,5 ± 1,6	0,1 ± 1,3

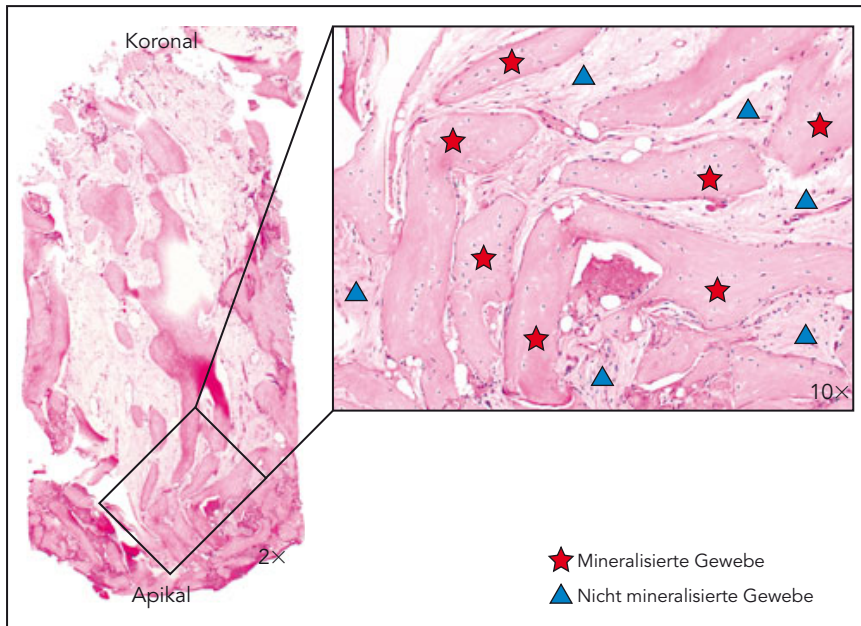
KM = Veränderungen der keratinisierten Mukosa, RW = Veränderungen der bukkolingualen Alveolarkammstärke, SA = Standardabweichung.

RW sofort nach der Zahnextraktion (also vor der Transplantation) und bei der Zweitoperation gemessen. Fickl und Mitarbeiter untersuchten in zwei Tierstudien<sup>30,31</sup> volumetrisch und histologisch die Veränderungen des Alveolarkammverlaufs nach dem Auffüllen der Alveole mit bukkaler Überkonturierung durch Fazialverlagerung des bukkalen Knochens oder durch Weichgewebetransplantate. Sie stellten fest, dass sich die Veränderungen des Alveolarkamms nach einer Zahnextraktion nicht durch eine bukkale Überkonturierung verhindern lassen, was mit den Beobachtungen der hier vorgestellten Studie übereinstimmt. Brugnami und Caiazzo<sup>24</sup> untersuchten in einer klinischen Studie die Effizienz eines Überkonturierungsverfahrens, das dem Vorgehen in Gruppe 3 dieser Studie entspricht, im Vergleich zu einer Kontrolle. Sie behandelten insgesamt 10 Alveolen in jeder Gruppe und beobachteten nach sechs Wochen in der Kontrollgruppe einen durchschnittlichen Rückgang der bukkolingualen RW um  $0,9 \pm 0,65$  mm und in der Testgruppe eine mittlere Zunahme um  $0,85 \pm 0,75$  mm. Allerdings lag der Messzeitpunkt mit sechs Wochen vermutlich zu früh in der Heilungsphase, da der Umbau und die Konsolidierung des Kno-

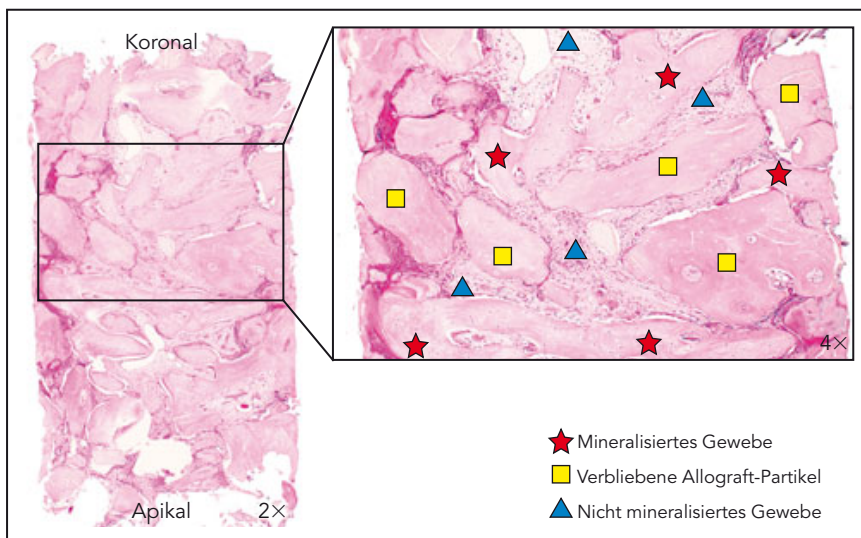
**Tabelle 3** Mittlere histomorphometrische Daten

Gruppe	Patientennummer	Mineralisierte Gewebe (%)	Verbliebenes Allograft (%)	Nicht mineralisierte Gewebe (%)
1	03	48,74	N/A	51,26
	06	21,04	N/A	78,96
	12	57,54	N/A	42,46
	18	58,29	N/A	41,71
	Mittelwert	46,40	N/A	53,60
2	02	33,40	43,16	23,43
	10	24,93	43,33	31,74
	14	16,44	41,85	41,71
	17	40,73	21,52	37,75
	Mittelwert	28,88	37,47	33,66
3	08	51,65	7,15	41,19
	09	27,54	16,67	55,79
	13	56,52	29,20	14,28
	20	59,54	25,60	14,86
	Mittelwert	48,81	19,66	31,53
4	04	39,62	14,61	45,77
	15	33,16	13,93	52,91
	16	42,49	2,98	54,53
	19	49,24	23,64	27,12
	Mittelwert	41,13	13,79	45,08

N/A = nicht analysiert (ohne Allograft).



**Abb. 10** Schwach vergrößerte (links) und stark vergrößerte (rechts) Mikrofotografien eines histologischen Präparats aus der Kontrollgruppe. Bei der starken Vergrößerung sind Struktur und Verteilung des mineralisierten Gewebes (rote Sterne) und nicht mineralisierten Gewebes (blaue Dreiecke) zu erkennen.



**Abb. 11** Schwach vergrößerte (links) und stark vergrößerte (rechts) Mikrofotografien eines histologischen Präparats aus Gruppe 4. Bei starker Vergrößerung sind verbliebene Allograft-Partikel (gelbe Kästchen) sowie mineralisiertes Gewebe (rote Sterne) und nicht mineralisiertes Gewebe (blaue Dreiecke) zu erkennen.

chentransplantats zu diesem Zeitpunkt noch nicht abgeschlossen sind. Außerdem wurden alle Messungen, auch die der Weichgewebe, an Gipsmodellen vorgenommen und waren daher sehr unzuverlässig. In der hier vorgestellten Studie wurde hingegen zur volumetrischen Analyse der Reduktion eine neuartige computergestützte Methode verwendet. Sie erlaubt im Gegensatz zu traditionellen

linearen Messungen eine präzisere, objektivere und besser reproduzierbare Beurteilung der morphologischen Veränderungen, die der Alveolarkamm während der Heilung nach einer Zahnextraktion durchläuft. Dies wurde schon von anderen Autoren betont<sup>32,33</sup>. Außerdem fehlten wegen der geringen Probengröße die volumetrischen Daten der Reduktion für die Kontrollgruppe, wodurch

Aussagen über die klinische Effizienz in den anderen Gruppen schwierig werden.

Histomorphometrisch wiesen Gruppe 1 (46,4 %), 3 (48,81 %) und 4 (41,13 %) ähnlich viel mineralisiertes Gewebe auf, während der mittlere Anteil in Gruppe 2 mit 28,88 % deutlich geringer war. Diese Ergebnisse passen zu den Resultaten anderer Studien mit einer ähnlichen Metho-

dologie der Testgruppen, in denen der Anteil an mineralisiertem Gewebe mit 23 bis 58 % angegeben wurde<sup>8,14,18,34</sup>. Der mittlere Anteil an mineralisiertem Gewebe war in Gruppe 2 geringer als in den anderen Gruppen, weil dort ein Ausreißer vorhanden war, dessen Biopsat nur 16,44 % mineralisiertes Gewebe enthielt (Patient 14; Tabelle 3). In allen Knochenproben hatten die meisten Allograft-Partikel (FDBA + DFDBA) direkten Kontakt mit mineralisiertem Gewebe, was die osteokonduktiven Eigenschaften dieses Mischtransplantats bestätigt (Abb. 11).

Die klinischen Veränderungen der KM und der bukkolingualen RW 16 Wochen postoperativ waren minimal und unterschieden sich statistisch nicht signifikant zwischen den Behandlungsgruppen. In Gruppe 1, 2 und 3 nahm die KM-Breite leicht zu (< 1 mm) und in Gruppe 4 nahm sie mit 1,2 mm ab. Die bukkolinguale RW nahm zwar in Gruppe 1, 2 und 4 zu, allerdings nur um  $\leq 0,8$  mm, was auf den Untersucherfehler von  $\pm 1$  mm für parodontale Messungen zurückgeführt werden kann. Es gibt zwar Studien mit ähnlichen Ergebnissen<sup>35,36</sup>, die hier berichteten Resultate stehen aber doch im Widerspruch zu den Ergebnissen der meisten anderen Studien mit einem ähnlichen Testprotokoll<sup>8,14-18</sup>. Für diese Abweichung gibt es mehrere Erklärungsansätze. Zunächst wurden in Studien zur oralen Knochenregeneration abhängig von mehreren systemischen, funktionellen und lokalen anatomischen Faktoren große inter- und intraindividuelle Unterschiede beim Knochenumbau ermittelt<sup>37-42</sup>. Obwohl es sehr viele Studien zur Ridge Preservation gibt, ist der Einfluss von Faktoren, wie der Ausgangsmorphologie, der Alveolengröße und dem parodontalen Biotyp (bukkale Knochenplatte und Weichgewebedicke), auf die Resorptionsdynamik nicht gut etabliert. So scheint die Alveo-

larkammresorption nach einer Zahnextraktion vermutlich aufgrund der dünnen fazialen Knochenplatte im oberen Frontzahnbereich besonders ausgeprägt zu sein<sup>10-12</sup>. Allerdings gibt es kaum Informationen über den Einfluss der Dicke des Alveolarkamms auf seine Resorption, weswegen dazu weitere Studien erforderlich sind<sup>35</sup>. Bei Zähnen, die wegen einer Wurzelresorption extrahiert werden mussten, kommt als weiterer möglicher Faktor die Größe der Läsion hinzu, die sich direkt auf das Knochenangebot und die Morphologie des Alveolarkamms auswirkt. Außerdem könnten die strikten Einschlusskriterien mit Homogenisierung der Gruppe anhand von Variablen, die in früheren Studien nicht berücksichtigt wurden, die Ergebnisse beeinflusst haben. So wurden Molaren und untere Schneidezähne ausgeschlossen, da sich Größe und Morphologie ihrer Alveolen sehr von den Alveolen der Eckzähne, Prämolaren und oberen Schneidezähne unterscheiden. Diese anatomischen Unterschiede können den Knochenumbau beeinflussen. Dies wurde von Schropp et al.<sup>9</sup> gezeigt, die an den Extraktionsalveolen von Molaren eine stärkere mittlere Knochenreduktion beobachteten als an den Alveolen von Prämolaren. Außerdem wurden in der vorliegenden Studie Raucher und Patienten mit Parodontitis (und anderen Krankheiten) ausgeschlossen. Wichtig ist zudem, dass die klinischen Messungen (RW und KM-Breite) durch einen nicht geblindeten Untersucher erfolgten, was zu einem Bias geführt haben könnte. Allerdings waren die klinischen und volumetrischen Messungen vergleichbar, sodass sich dieser Aspekt nicht kritisch auf die Ergebnisse ausgewirkt hat. Schließlich soll noch auf eine signifikante Einschränkung dieser Pilotstudie hingewiesen werden, die in der Natur der Sache liegt: die geringe Probengröße. Sie könnte erklären, warum einige der Beobach-

tungen dieser Studie im Widerspruch zu den meisten anderen Studien zu diesem Thema stehen. Aus diesem Grund sollten die hier vorgestellten Ergebnisse zurückhaltend bewertet werden. Trotzdem werden die Daten gemäß der primären Intention dieser Studie zur Planung größerer Studien verwendet, mit denen die Aufstellung vorhersagbarer, evidenzbasierter klinischer Protokolle für die Ridge Preservation ermöglicht wird.

## Schlussfolgerungen

In dieser Pilotstudie zeigte keiner der untersuchten Parameter nach der Behandlung mit einer der Ridge-Preservation-Techniken bessere Ergebnisse als in der Kontrolle. Die Daten dieser Studie sollen dazu dienen, klinische Untersuchungen mit mehr Studienteilnehmern zu planen, um die Aufstellung evidenzbasierter klinischer Protokolle für die erfolgreiche Behandlung in verschiedenen klinischen Situationen zu ermöglichen.

## Danksagungen und Interessenerklärung

Die Autoren danken Ed Rothman (University of Michigan Center for Statistical Consultations and Research, Ann Arbor, Michigan, USA) und Miguel Padiál-Molina (Wissenschaftler im Labor von Dr. Rios), Mary Layher (klinische Forschungs koordinatorin der Graduate Periodontics), Cynthia Tsoukalas, Erika Mischung und Amy Lawson (klinische Assistentinnen) und Lori Jackson (Verwaltungsmitarbeiterin) des Department of Periodontics and Oral Medicine, University of Michigan School of Dentistry, Ann Arbor, Michigan, USA, für ihre unschätzbare Hilfe bei der Entwicklung dieser Studie. Außerdem danken die Autoren Randy Groscurth (IBUR BioSystems LLC, Troy, Michigan, USA) für den großzügigen Zugang zur Software für die volumetrischen Untersuchungen. Dr. Avila-Ortiz und Dr. Rios danken der American Academy of Periodontology Foundation für die Unterstützung bei der Aufnahme



einer akademischen Karriere auf dem Gebiet der Parodontologie.

Diese Studie wurde von Osteogenics Biomedical und dem University of Michigan Graduate Periodontics Research Fund finanziell unterstützt. Dr. Hom-Lay Wang hat Vortragshonorare von Osteogenics Biomedical erhalten. Alle anderen Autoren geben bezogen auf diese Studie keine Interessenkonflikte an.

## Literatur

- Brennan DS, Spencer AJ, Roberts-Thomson KF. Tooth loss, chewing ability and quality of life. *Qual Life Res* 2008; 17:227–235.
- Inukai M, John MT, Igarashi Y, Baba K. Association between perceived chewing ability and oral health-related quality of life in partially dentate patients. *Health Qual Life Outcomes* 2010;8:118.
- Steele JG, Sanders AE, Slade GD, et al. How do age and tooth loss affect oral health impacts and quality of life? A study comparing two national samples. *Community Dent Oral Epidemiol* 2004; 32:107–114.
- Tan WL, Wong TL, Wong MC, Lang NP. A systematic review of post-extraction alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clin Oral Implants Res* 2012;23(Suppl 5):1–21.
- Van der Weijden F, Dell'Acqua F, Slot DE. Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: A systematic review. *J Clin Periodontol* 2009; 36:1048–1058.
- Araujo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005;32:212–218.
- Araujo MG, Lindhe J. Socket grafting with the use of autologous bone: An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 2011;22:9–13.
- Barone A, Aldini NN, Fini M, Giardino R, Calvo Guirado JL, Covani U. Xenograft versus extraction alone for ridge preservation after tooth removal: A clinical and histomorphometric study. *J Periodontol* 2008;79:1370–1377.
- 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.
- Braut V, Bornstein MM, Belser U, Buser D. Thickness of the anterior maxillary facial bone wall—A retrospective radiographic study using cone beam computed tomography. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2011;31:125–131.
- Huynh-Ba G, Pjetursson BE, Sanz M, et al. Analysis of the socket bone wall dimensions in the upper maxilla in relation to immediate implant placement. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:37–42.
- Januario AL, Duarte WR, Barriviera M, Mesti JC, Araujo MG, Lindhe J. Dimension of the facial bone wall in the anterior maxilla: A cone-beam computed tomography study. *Clin Oral Implants Res* 2011; 22:1168–1171.
- Kentros GA, Filler SJ, Rothstein SS. Six month evaluation of particulate Durapatite in extraction sockets for the preservation of the alveolar ridge. *Implantology* 1985;3:53–62.
- Aimetti M, Romano F, Griga FB, Godio L. Clinical and histologic healing of human extraction sockets filled with calcium sulfate. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009;24:902–909.
- Barone A, Ricci M, Tonelli P, Santini S, Covani U. Tissue changes of extraction sockets in humans: A comparison of spontaneous healing vs. ridge preservation with secondary soft tissue healing [epub ahead of print 12 July 2012]. *Clin Oral Implants Res* doi:10.1111/j.1600-0501.2012.02535.x.
- Cardaropoli D, Tamagnone L, Roffredo A, Gaveoglio L, Cardaropoli G. Socket preservation using bovine bone mineral and collagen membrane: A randomized controlled clinical trial with histologic analysis. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2012;32:421–430.
- Festa VM, Addabbo F, Laino L, Femiano F, Rullo R. Porcine-derived xenograft combined with a soft cortical membrane versus extraction alone for implant site development: A clinical study in humans. *Clin Implant Dent Relat Res* 2013;15: 707–713.
- 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.
- Horvath A, Mardas N, Mezzomo LA, Needleman IG, Donos N. Alveolar ridge preservation. A systematic review. *Clin Oral Investig* 2013;17:341–363.
- Morjaria KR, Wilson R, Palmer RM. Bone healing after tooth extraction with or without an intervention: A systematic review of randomized controlled trials. *Clin Implant Dent Relat Res* 2014;16:1–20.
- Ten Heggeler JM, Slot DE, Van der Weijden GA. Effect of socket preservation therapies following tooth extraction in non-molar regions in humans: A systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2011;22: 779–788.
- Vignoletti F, Matesanz P, Rodrigo D, Figuero E, Martin C, Sanz M. Surgical protocols for ridge preservation after tooth extraction. A systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2012;23(Suppl 5):22–38.
- Caiazzo A, Brugnami F, Mehra P. Buccal plate augmentation: A new alternative to socket preservation. *J Oral Maxillofac Surg* 2010;68:2503–2506.
- Brugnami F, Caiazzo A. Efficacy evaluation of a new buccal bone plate preservation technique: A pilot study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2011;31:67–73.
- Poulias E, Greenwell H, Hill M, et al. Ridge preservation comparing a socket allograft alone to a socket allograft plus a facial overlay xenograft: A clinical and histologic study in humans. *J Periodontol* 2013;84:1567–1575.
- Barber HD, Lignelli J, Smith BM, Barteck BK. Using a dense PTFE membrane without primary closure to achieve bone and tissue regeneration. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65:748–752.
- Hoffmann O, Barteck BK, Beaumont C, Kasaj A, Deli G, Zafiroopoulos GG. Alveolar bone preservation in extraction sockets using non-resorbable dPTFE membranes: A retrospective non-randomized study. *J Periodontol* 2008;79:1355–1369.

28. Yun JH, Jun CM, Oh NS. Secondary closure of an extraction socket using the double-membrane guided bone regeneration technique with immediate implant placement. *J Periodontol* 2011;41:253–258.
29. Al-Hezaimi K, Rudek I, Al-Hamdan KS, Javed F, Nooh N, Wang HL. Efficacy of using a dual layer of membrane (dPTFE placed over collagen) for ridge preservation in fresh extraction sites: A micro-computed tomographic study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2013;24:1152–1157.
30. Fickl S, Schneider D, Zuhr O, et al. Dimensional changes of the ridge contour after socket preservation and buccal overbuilding: An animal study. *J Clin Periodontol* 2009;36:442–448.
31. Fickl S, Zuhr O, Wachtel H, Kebschull M, Hurzeler MB. Hard tissue alterations after socket preservation with additional buccal overbuilding: A study in the beagle dog. *J Clin Periodontol* 2009;36:898–904.
32. Clozza E, Biasotto M, Cavalli F, Moimas L, Di Lenarda R. Three-dimensional evaluation of bone changes following ridge preservation procedures. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2012;27:770–775.
33. Lambert F, Vincent K, Vanhoutte V, Seidel L, Lecloux G, Rompen E. A methodological approach to assessing alveolar ridge preservation procedures in humans: Hard tissue profile. *J Clin Periodontol* 2012;39:887–894.
34. 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.
35. Brownfield LA, Weltman RL. Ridge preservation with or without an osteoinductive allograft: A clinical, radiographic, micro-computed tomography, and histologic study evaluating dimensional changes and new bone formation of the alveolar ridge. *J Periodontol* 2012;83:581–589.
36. Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, et al. Influence of bioactive glass on changes in alveolar process dimensions after exodontia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000;90:581–586.
37. Avila G, Wang HL, Galindo-Moreno P, et al. The influence of the bucco-palatal distance on sinus augmentation outcomes. *J Periodontol* 2010;81:1041–1050.
38. Avila-Ortiz G, Neiva R, Galindo-Moreno P, Rudek I, Benavides E, Wang HL. Analysis of the influence of residual alveolar bone height on sinus augmentation outcomes. *Clin Oral Implants Res* 2012;23:1082–1088.
39. Avila-Ortiz G, Wang HL, Galindo-Moreno P, Misch CE, Rudek I, Neiva R. Influence of lateral window dimensions on vital bone formation following maxillary sinus augmentation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2012;27:1230–1238.
40. Galindo-Moreno P, Moreno-Riestra I, Avila G, et al. Histomorphometric comparison of maxillary pristine bone and composite bone graft biopsies obtained after sinus augmentation. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:122–128.
41. Price AM, Nunn M, Oppenheim FG, Van Dyke TE. De novo bone formation after the sinus lift procedure. *J Periodontol* 2011;82:1245–1255.
42. Retzepi M, Lewis MP, Donos N. Effect of diabetes and metabolic control on de novo bone formation following guided bone regeneration. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:71–79.