
Vækstfaktorer i regenerativ parodontalbehandling

ANDREAS STAVROPOULOS & PALLE HOLMSTRUP

Indledning

Udviklingen inden for molekylær cellebiologi har afsløret, at forskellige vækst- og differentieringsfaktorer [*growth and differentiation factors* (GDF)], der er naturlige biologiske mediatorer med afgørende rolle for udviklingen af væv og organer, også kan støtte sårheling og regeneration. Dette sker ved etableringen af et miljø, der fremmer helingen eller umiddelbart inducerer *de novo*-vævsdannelse. Adskillige GDF, associeret med de parodontale væv, er blevet evalueret for deres evne til at fremme parodontal sårheling og regeneration, fx *platelet derived growth factor* (PDGF), *insulin-like growth factor* I og II (IGF-I/-II), *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *transforming growth factor* β (TGF- β), og *bone morphogenetic proteins* (BMP); for en mere detaljeret oversigtsartikel se (1). Imidlertid har kun få af disse vækstfaktorer nået klinisk afprøvning.

Formålet med denne artikel er at give en kort oversigt over GDF, som har været evalueret i klinikken i forbindelse med behandling af parodontale defekter eller er tilgængelige på markedet.

PDGF

PDGF produceres primært fra blodpladerne, men også af en række andre celler, herunder makrofager, fibroblaster, muskelcel-

ler, endotelceller og knoglemarvsceller. PDGF-familien omfatter fire isoformer (A, B, C og D), som altid optræder i dimerisk form (dvs. – AA, –BB, –AB osv.), og alle har en række biologiske aktiviteter og spiller en vigtig rolle for vækst, overlevelse og funktion af flere forskellige typer bindevævsceller, herunder knogleceller. Desuden bidrager PDGF i sårhelingsprocesser, især i angiogenesen. Af de fire eksisterede PDGF-isoformer, er PDGF-A, -B, og -AB blevet evalueret for deres potentiale til at stimulere parodontal sårheling og regeneration. PDGF-A ser i den forbindelse ud til at spille en rolle i de tidlige stadier af sårheling, mens PDGF-B optræder noget senere. PDGF-B er tilsyneladende den mest effektive isoform, og data fra *in vitro*- og *in vivo*-undersøgelser tyder på, at denne vækstfaktor kan påvirke forskellige aspekter, relevante for sårheling og regeneration af parodontiet. For eksempel har PDGF-B, der blev påført demineraliseret dentin, vist sig at stimulere proliferation af humane parodontalligamentceller og øge mitoseaktiviteten af cementoblaster. PDGF-B har også vist sig at besidde en anabolisk effekt på osteoblaster og osteoklaster. Desuden har systemisk anvendelse af PDGF-B i en osteoporotisk dyremodel øget knogledannelsen, den trabekulære knogletæthed og den biomekaniske knoglestyrke.

I en række dyreforsøg er resultatet af kirurgisk PDGF-applikation i akutte og kroniske parodontale defekter vurderet. PDGF har således i en gelé-matriks alene eller kombineret med styret vævsregeneration (GTR) vist sig at øge den parodontale regeneration sammenlignet med kontrolbehandlinger på hunde og aber (2-4). Anvendelsen af PDGF i kombination med et allogent, demineraliseret og frysetørret knogletransplantat (DFDBA) er blevet evalueret i klinikken på et begrænset antal tænder med dybe intraossøse defekter eller furkaturinvolveringer, som blev anset for at have håbløs prognose, og som var planlagt til ekstraktion (5,6). Der sås væsentlige forbedringer i langt de fleste tilfælde efter behandling; fx viste approksimale defekter en gennemsnitlig pouchereduktion på 6,4 mm, klinisk fæstegevinst på 6,2 mm og radiologisk bedømt knoglegendannelse på 2,1 mm. Derudover afslørede histologisk

evaluering af behandlingsresultaterne på disse håbløse tænder, at helingen var karakteriseret af parodontal regeneration i varierende grad.

Fornylig blev et produkt, bestående af PDGF-BB og β -TCP-partikler som bærer for vækstfaktoren, kommercielt tilgængeligt i USA (GEM 21, Luitpold Pharmaceuticals, Inc., Shirley, NY, USA). I en stor multicenterundersøgelse af 178 patienter med dybe intraossøse defekter, behandlet med PDGF-BB/ β -TCP og vurderet tre måneder efter behandling, opnåedes væsentligt større klinisk fæstegevinst end tilsvarende defekter, som kun behandlede med β -TCP (7). Dog var den gennemsnitlige effekt begrænset (3,8 mm *versus* 3,3 mm), og forskellen mellem grupperne seks måneder efter behandling var ikke statistisk signifikant længere (3,8 mm *versus* 3,5 mm). Ikke desto mindre blev der observeret signifikant større radiologisk bedømt knogledannelse i PDGF-BB/ β -TCP-behandlede defekter, sammenlignet med kontroldefekter (2,6 mm *versus* 0,9 mm). I en histologisk undersøgelse af intraossøse defekter, behandlet med PDGF-BB/ β -TCP, fandtes dog begrænset parodontal regeneration (fra 0,3 mm til 1,6 mm) i 12 ud af de 16 defekter seks måneder efter kirurgien. Ny knogledannelse var begrænset til området tæt på de oprindelige defektvægge og aldrig kombineret med nydannet cement; en stor del af defekterne var desuden fyldt med β -TCP-rester indlejret i fibrøst bindevæv, og knogledannelsen var aldrig trængt ind i β -TCP-massen eller i kontakt med selve partiklerne.

De forholdsvis begrænsede kliniske og histologiske forbedringer, observeret i disse undersøgelser, sætter absolut spørgsmålstegn ved potentialet af denne behandlingsmetode i klinikken. Dog blev et væsentligt bedre resultat observeret i et andet studie af defekter på hunde, implanteret med større β -TCP-partikler i kombination med PDGF, sammenlignet med defekter, som blev behandlet med det kommercielle produkt eller kun vækstfaktoren (8). Disse fund understreger bærerstoffets afgørende betydning, men de viser også, at der muligvis findes et potentiale for udvikling af PDGF's anvendelse i forbindelse med parodontal sårheling og regeneration.

IGF

IGF er en familie af vækstfaktorer, herunder insulin, relaxin, IGF-I og IGF-II, som produceres af flere celletyper. IGF stimulerer en lang række biologiske funktioner i celler, herunder kemotaksi, proliferation, differentiering og transformation. Desuden spiller IGF en afgørende rolle for kroppens udvikling ved at stimulere organdannelsen og væksten i de tidlige stadier af embryogeneresen samt ved at regulere specifikke væv og organfunktioner på et senere udviklingsstrin. Baseret på data fra *in vitro*- og *in vivo*-undersøgelser har det været antaget, at IGF-I kunne udøve en positiv effekt på parodontal regeneration. For eksempel øger IGF-I migration og proliferation af fibroblaster fra parodontalligament og gingiva fra rotte og menneske. Effekten er dosis- og tidsafhængig, men tilsyneladende opnås ikke en effekt på fibroblasters produktion af type I-kollagen. Desuden stimulerer IGF-I knogledannelse, herunder osteoblastproliferation, -differentiering, og kollagen type I-syntese i osteoblaster, mens den hæmmer kollagenedbrydning ved at blokere kollagenaseaktiviteten. Endvidere øger infusion af IGF-I kortikal og trabekulær knogledannelse signifikant og stimulerer proliferation af osteoblaster, mens antallet af osteoklaster reduceres. IGF-I kan dog også stimulere osteoklastisk resorption gennem direkte eller indirekte veje, der understøtter produktion og aktivering af osteoklaster.

Resultaterne af prækliniske undersøgelser har, i modsætning til det forventede, ikke kunnet støtte antagelsen af, at IGF fremmer parodontal sårheling og regeneration. For eksempel kunne IGF-I i et studie på aber ikke fremme parodontal regeneration mere end det, som fandtes i kontroldefekterne (9). Tilsvarende observationer er gjort på hunde med naturligt opståede parodontale defekter, der blev behandlet med IGF-I (10).

Samlet set viser resultaterne, at IGF-I har begrænset, om overhovedet nogen, effekt på parodontal sårheling og regeneration. Der er dog konstateret synergistiske virkninger af en kombination af PDGF og IGF-I i *in vitro*- og *in vivo*-undersøgelser af andre typer

væv, fx hudsår. Synergistisk effekt blev også set i prækliniske undersøgelser i hunde og aber i forbindelse med parodontal regeneration (9). I en klinisk evaluering af en kombination af PDGF-BB/IGF-I på 38 patienter med bilaterale intraossøse defekter og furkaturinvolveringer fandtes statistisk signifikant øget knoglegendannelse sammenlignet med kontrolgruppen (2,1 mm *versus* 0,8 mm, svarende til 42 % *versus* 19 % af defektens højde) (11). På trods af disse lovende resultater er ingen yderligere evaluering af denne kombination endnu rapporteret.

FGF

FGF repræsenterer en stor familie af proteiner, omfattende mere end 20 medlemmer. FGF betragtes som en af de mest potente vækst- og differentieringsregulatorer og mest potente angiogenesefaktorer, og denne vækstfaktorfamilie spiller en betydelig rolle for udvikling og sårheling. Blandt de vigtigste FGF er basisk FGF (bFGF, også kaldet FGF-2). bFGF stimulerer sårheling og reparation af væv ved at fremme angiogenese, celleproliferation og syntese af ikke-kollagenproteiner. bFGF anses at spille en betydelig rolle for knoglevækst og -dannelse, og lokal applikation af bFGF øger frakturheling. bFGF produceres primært af parodontalligamentfibroblaster og endotelceller, og bFGF-niveauer er lave i kroniske parodontitis-læsioner.

bFGF's potentiale til at stimulere parodontal sårheling og regeneration er blevet testet i omfattende dyreforsøg. Kirurgisk inducerede intraossøse defekter og furkaturinvolveringer i hunde og aber, som blev implanteret med bFGF i forskellige koncentrationer, viste efter seks og otte uger signifikant større parodontal regeneration i forhold til kontrolgrupperne, dvs. defekter behandlet med bærerstof alene eller med almindelig parodontalkirurgi (12). Ingen af de bFGF-behandlede defekter viste epitelnedvækst, ankylose, eller rodresorption. Disse resultater blev reproduceret i efterfølgende forsøg fra samme forskningsgruppe (13,14). I en

anden undersøgelse på hunde blev klasse III-furkaturinvolveringer behandlet med tetracyklinhydrochlorid (HCl) og bFGF i kombination med GTR (15). Efter en 90-dages helingsperiode viste defekter, behandlet med vækstfaktoren, øget regeneration sammenlignet med HCl + GTR-behandlede defekter. Ankylose eller rodresorption blev heller ikke observeret i denne undersøgelse. I endnu en undersøgelse på hunde fandtes øget cementdannelse i rektangulære dentindefekter på ekstraherede og derefter reimplanterede fortænder efter anvendelse af bFGF i en kollagen gel (16). Få tilfælde af ankylose blev dog observeret kun fire uger efter behandlingen.

Baseret på disse prækliniske studier med lovende resultater, er der gennemført kliniske undersøgelser af bFGF (17,18). I den største undersøgelse, der omfatter 253 patienter fordelt på 24 centre, blev forskellige koncentrationer af bFGF i en hydroxypropylcellulose- (HPC) -bærer anvendt i intraossøse to- og trevægsdefekter ≥ 3 mm. Radiologisk vurdering efter 36 uger viste statistisk signifikant større knogledannelse i defekter, behandlet med vækstfaktor, sammenlignet med defekter, behandlet med HPC-bæreren alene (50,6 % *versus* 15 % af den oprindelige intraossøse defekt). Imidlertid var der ingen forskelle mellem grupperne mht. nogen af de evaluerede kliniske parametre. Ydermere var den gennemsnitlige fæstegevinst 1½ år efter behandlingen 2,1 mm *versus* 2,4-2,5 mm i *carrier*- og bFGF-grupperne. Omfanget af de kliniske og radiologiske forbedringer, observeret i denne undersøgelse, sætter således spørgsmålstegn ved bFGF's potentiale mhp. stimulering af parodontal regeneration.

BMP

BMP er medlemmer af TGF- β -superfamilien og spiller afgørende roller for den rum- og tidsmæssige modellering af skelettet, for celledifferentiering, vævsmorfo- og organogenese under fosterudviklingen samt for postføtal vækst i både hvirveldyr og hvirvel-

løse dyr. BMP påvirker flere forskellige væv og organer som nyrer, øjne, nervesystem, lunger, tænder, hud og hjerte. På nuværende tidspunkt overstiger BMP-familien 20 homo- eller heterodimeriske, strukturelt relaterede proteiner og er blevet identificeret i en lang række arter, herunder hos mennesket.

Flere BMP er blevet undersøgt for deres potentiale til at fremme parodontal regeneration, men fokus har hovedsageligt været på BMP-2, -3 (også kendt som osteogenin), -7 (også kendt som *osteogenic protein 1*, OP-1) og fornylig på BMP-14 [oftest kaldt *growth and differentiation factor 5* (GDF-5), eller *cartilage derived morphogenetic protein 1* (CDMP-1)]. Undersøgelse af fordelingen af BMP-2, -3 og -7 under rodudvikling i 12-18 dage gamle mus har vist, at BMP-3 og -7 er lokaliseret i alveoleknogle, cement og parodontalligament, mens BMP-2 kun er lokaliseret i alveoleknoglen. Alle tre BMP var til stede i prædentin, dentin, odontoblaste, osteoblaste, osteocytter, osteoid, brusk, og kondrocytter, mens BMP-7 også blev fundet i ameloblaste. Undersøgelser på rotter har vist, at GDF-5 er udtrykt under parodontiets udvikling. De findes i selve ligamentet, både i celler, placeret langs alveolarknoglen og langs rodcementen, og specielt på steder, hvor parodontalligamentfibrene indlejrede sig i cement under roddannelsen. GDF-5 nedreguleres imidlertid efter roddannelsens afslutning. Desuden er GDF-5 og dets receptor blevet påvist i humane parodontalligamentceller, og GDF-5 øgede disse cellers mitogenese.

BMP-2

Effekten på parodontal sårheling af BMP-2 i et resorbérbart bærerstof blev undersøgt i supraalveolære parodontale defekter på hunde. Efter otte ugers heling viste defekter, behandlet med BMP, signifikant mere dannelse af alveoleknogle, sammenlignet med kontrolbehandling med bærerstof alene (95 % *versus* 20 % af defektens højde). Generelt blev der observeret begrænset rodresorption og ankylose umiddelbart apikalt for emalje-cementgrænsen sv.t. dette tidlige helingstidspunkt. Imidlertid blev en

parodontalligament-lignende struktur, indeholdende funktionelt orienterede kollagenfibre, kun sjældent observeret (19). Det viste sig dog ved nyere forsøg med længere observationsperiode, at det nydannede løse, fibrovaskulære væv, som opstod mellem cementlignende væv og alveoleknogle, udviklede sig til knogle og knoglemarv med omfattende rodresorption og ankylose til følge (20).

BMP-3

Potentialet af BMP-3 til at fremme parodontal sårheling og regeneration har været evalueret på aber og i klinikken. I humane undersøgelser blev BMP-3, der var isoleret fra humane rørknogler, kombineret med DFDBA eller med et bærerstof af bovin kollagen, implanteret i intraossøse parodontale defekter (21). Kontroldefekter blev behandlet med DFDBA eller kollagenbærerstoffet alene. Nogle af de behandlede tænder var dækket af mukogingivale lapper under helingen. Histologisk undersøgelse viste væsentligt større parodontal regeneration i defekter, behandlet med BMP-3 end kontroldefekter, men dette sås kun ved tænder, som ikke var dækket under heling. Dette første tegn på, at BMP-3 kan stimulere parodontal sårheling og regeneration blev bekræftet på aber (22). En BMP-blanding – overvejende indeholdende BMP-3, men også BMP-2 og BMP-7 – i et kollagenbærerstof blev implanteret i klasse II-furkatundefekter på underkæbens molarer. Histologien viste signifikant større regeneration af det parodontale væv i defekter, der modtog BMP-3-blandingen, sammenlignet med defekter, implanteret med kollagenbærerstoffet alene. Det nydannede parodontalligament indeholdt sharpeyske fibre, som indlejrede sig i nydannet cementoid med foci af mineralisering. På trods af de ovennævnte lovende observationer er yderligere evaluering af BMP-3 ikke foretaget.

BMP-7

I et studie på aber blev BMP-7 (OP-1) anvendt i et kollagenbæ-

rerstof ved behandlingen af kirurgisk inducerede klasse II-furkaturdefekter på molarer i underkæben (23). Efter to måneder blev fundet signifikant gendannelse af cement med indlejrede sharpseyske fibre i disse defekter, mens begrænset regeneration blev observeret i defekter, der var behandlet med kollagenbærerstoffet alene. Den nydannede cement var adskilt fra den gendannede knogle med et fibrovaskulært væv, som lignede parodontalligamentet. I et andet studie på hunde konstateredes mere udtalt parodontal regeneration i supraalveolære defekter efter anvendelse af BMP-7, sammenlignet med kontroldefekter (24). Imidlertid var defekterne med omfattende regeneration kompromitteret af ankylose og rodresorption. Når kombinationen af BMP-2/BMP-7 blev undersøgt på aber, sås ingen væsentlig forskel i mængden af parodontal regeneration efter behandling med den enkelte vækstfaktor eller de to faktorer i kombination. Erkendelse af problemerne med ankylose og rodresorption efter brug af BMP-2 og BMP-7 i parodontale defekter har medført, at disse vækstfaktorer kun har fået tilladelse til anvendelse i forbindelse med knoglegeneration, fx forud for implantat behandling.

GDF-5

GDF-5 synes at have et lovende potentiale til behandling af parodontale defekter. GDF-5 har, omend i moderat grad, vist sig at forstærke knogledannelsen i forskellige kraniofaciale defekter, i både små og store dyremodeller (25-28) og i indledende kliniske undersøgelser af sinusløft-behandling i forbindelse med tandimplantater (29). Nyere prækliniske studier på hunde har desuden vist, at rhGDF-5 i et resorbérbart kollagenbærerstof (rhGDF-5/ACS) eller adsorberet på mikro-/makroporøse β -TCP-partikler (rhGDF-5/ β -TCP) fremmer parodontal sårheling og regeneration sammenlignet med implantation af bærerstof eller det kommercielt tilgængelige PDGF-B/ β -TCP-produkt (30-32). Allervigtigst blev der ikke konstateret betydningsfulde bivirkninger i disse undersøgelser.

For nylig gennemførtes en randomiseret, kontrolleret, klinisk og histologisk undersøgelse af effekten af kirurgisk behandling med GDF-5/ β -TCP i intraossøse parodontale defekter, og resultatet blev sammenlignet med healing efter konventionel lapoperation (33). Undersøgelsen omfattede patienter med kronisk parodontitis, der hver havde mindst én tand planlagt til ekstraktion med en pochedybde ≥ 6 mm og en tilhørende intraossøs defekt ≥ 4 mm efter initial parodontalbehandling (Fig.1). Behandling med GDF-5/ β -TCP resulterede i større reduktion af pochedybden (3,7 mm *versus* 3,1 mm), mindre gingival retraktion (0,5 mm *versus* 1,4 mm) og næsten to gange større klinisk fæstegevinst (3,2 mm *versus* 1,7 mm) på den dybeste del af defekten i forhold til kontrolgruppen (Fig. 2). Histologisk var knogleregenerationen næsten tre gange større for rhGDF-5/ β -TCP-gruppen, sammenlignet med kontrolgruppen (2,2 mm *versus* 0,8 mm). Der blev observeret regeneration af et funktionelt orienteret parodontalligament, og ny cementdannelse var ca. to gange større i defekter, behandlet med vækstfaktoren, end i defekter, behandlet uden denne (2,2 mm *versus* 1,2 mm) (Fig. 3). Desuden blev der ikke observeret ankylose eller rodresorption. Således har de ovennævnte dyreforsøg og den kliniske og histologiske undersøgelse vist, at rhGDF-5/ β -TCP væsentligt kan understøtte parodontal sårheling/regeneration, og yderligere klinisk evaluering af dette materiale må anses for relevant.

Konklusion

Adskillige vækst- og differentieringsfaktorer er blevet identificeret som potentielle kandidater for at fremme parodontal sårheling og regeneration. Imidlertid har kun få faktorer været evalueret i klinikken, og p.t. er det kun PDGF-BB, som har FDA-godkendelse i USA til brug i parodontale defekter. Omend de prækliniske undersøgelser tyder på, at PDGF-BB fremmer parodontal regeneration, viser de kliniske resultater og observationer fra humane histolo-

giske kasuistikker, at det kommercielt tilgængelige produkt ikke væsentligt forbedrer parodontal regeneration. Det tyder således på, at β -TCP-bærerstoffet, som i øjeblikket anvendes, interfererer uhensigtsmæssigt med knogledannelsen. Anvendelse af BMP-2 og BMP-7 i parodontale defekter har ofte resulteret i omfattende ankylose og rodresorption, og dermed er disse vækstfaktorer kun godkendt til kirurgiske knogleprocedurer. Præklinisk og klinisk dokumentation, herunder human histologi, tyder på, at GDF-5 har et betydeligt potentiale for at fremme parodontal regeneration uden betydningsfulde komplikationer.

Forskning er i dag rettet mod at finde den optimale dosis og/eller kombination af vækst- og differentieringsfaktorer samt metoder til optimal dosering i et bærerstof, således at vækstfaktorernes potentiale bliver udnyttet optimalt.

LITTERATUR

1. Stavropoulos A, Wikesjö UM. Periodontal tissue engineering: focus on growth factors. In: Sculean A, ed. Periodontal regenerative therapy. London: Quintessence Publishing; 2010. p. 193–214.
2. Rutherford RB, Ryan ME, Kennedy JE, Tucker MM, Charette MF. Platelet-derived growth factor and dexamethasone combined with a collagen matrix induce regeneration of the periodontium in monkeys. *J Clin Periodontol* 1993;20:537–44.
3. Park JB, Matsuura M, Han KY, Norderyd O, Lin WL, Genco RJ 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;66:462–77.
4. Cho MI, Lin WL, Genco RJ. Platelet-derived growth factor-modulated guided tissue regenerative therapy. *J Periodontol* 1995;66:522–30.
5. Nevins M, Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, Lynch SE. Periodontal regeneration in humans using recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) and allogenic bone. *J Periodontol* 2003;74: 1282–92.

6. Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, Lynch SE, Nevins M. Periodontal regeneration in human Class II furcations using purified recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) with bone allograft. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2003;23:213–25.
7. Nevins M, Giannobile WV, McGuire MK, Kao RT, Mellonig JT, Hinrichs JE 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;76:2205–15.
8. Irokawa D, Ota M, Yamamoto S, Shibukawa Y, Yamada S. Effect of β -tricalcium phosphate particle size on recombinant human platelet-derived growth factor-BB-induced regeneration of periodontal tissue in dog. *Dent Mater J* 2010;29:721–30.
9. Giannobile WV, Hernandez RA, Finkelman RD, Ryan S, Kiritsy CP, D'Andrea M et al. Comparative effects of platelet-derived growth factor-BB and insulin-like growth factor-I, individually and in combination, on periodontal regeneration in *Macaca fascicularis*. *J Periodont Res* 1996;31:301–12.
10. Lynch SE, de Castilla GR, Williams RC, Kiritsy CP, Howell TH, Reddy MS 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;62:458–67.
11. Howell TH, Fiorellini JP, Paquette DW, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 1997;68:1186–93.
12. Murakami S, Takayama S, Ikezawa K, Shimabukuro Y, Kitamura M, Nozaki T et al. Regeneration of periodontal tissues by basic fibroblast growth factor. *J Periodontal Res* 1999;34:425–30.
13. Murakami S, Takayama S, Kitamura M, Shimabukuro Y, Yanagi K, Ikezawa K et al. Recombinant human basic fibroblast growth factor (bFGF) stimulates periodontal regeneration in class II furcation defects created in beagle dogs. *J Periodontal Res* 2003;38:97–103.
14. Takayama S, Murakami S, Shimabukuro Y, Kitamura M, Okada H. Periodontal regeneration by FGF-2 (bFGF) in primate models. *J Dent Res* 2001;80:2075–9.

15. Rossa CJ, E M Jr, Cirelli JA, Marcantonio RA, Spolidorio LC, Fogo JC. Regeneration of Class III furcation defects with basic fibroblast growth factor (b-FGF) associated with GTR. A descriptive and histometric study in dogs. *J Periodontol* 2000;71:775–84.
16. Sato Y, Kikuchi M, Ohata N, Tamura M, Kuboki Y. Enhanced cementum formation in experimentally induced cementum defects of the root surface with the application of recombinant basic fibroblast growth factor in collagen gel in vivo. *J Periodontol* 2004;75:243–8.
17. Kitamura M, Akamatsu M, Machigashira M, Hara Y, Sakagami R, Hirofujii T et al. FGF-2 stimulates periodontal regeneration: results of a multi-center randomized clinical trial. *J Dent Res* 2011;90:35–40.
18. Kitamura M, Nakashima K, Kowashi Y, Fujii T, Shimauchi H, Sasano T et al. Periodontal tissue regeneration using fibroblast growth factor-2: randomized controlled phase II clinical trial. *PLoS ONE* 2008;3:e2611.
19. Sigurdsson TJ, Lee MB, Kubota K, Turek TJ, Wozney JM, Wikesjö UM. Periodontal repair in dogs: recombinant human bone morphogenetic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration. *J Periodontol* 1995;66:131–8.
20. Wikesjö UME, Lim WH, Thomson RC, Cook AD, Wozney JM, Hardwick WR. Periodontal repair in dogs: evaluation of a bioabsorbable space-providing macroporous membrane with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *J Periodontol* 2003;74:635–47.
21. Bowers G, Felton F, Middleton C, Glynn D, Sharp S, Mellonig J et al. Histologic comparison of regeneration in human intrabony defects when osteogenin is combined with demineralized freeze-dried bone allograft and with purified bovine collagen. *J Periodontol* 1991;62:690–702.
22. Ripamonti U, Heliotis M, van den HB, Reddi AH. Bone morphogenetic proteins induce periodontal regeneration in the baboon (*Papio ursinus*). *J Periodontal Res* 1994;29:439–45.
23. Ripamonti U, Heliotis M, Rueger DC, Sampath TK. Induction of cementogenesis by recombinant human osteogenic protein-1 (hop-1/bmp-7) in the baboon (*Papio ursinus*). *Arch Oral Biol* 1996;41:121–6.
24. Giannobile WV, Ryan S, Shih MS, Su DL, Kaplan PL, Chan TC. Recombinant human osteogenic protein-1 (OP-1) stimulates periodontal wound healing in class III furcation defects. *J Periodontol* 1998;69: 129–37.

25. Poehling S, Pippig SD, Hellerbrand K, Siedler M, Schütz A, Dony C. Superior effect of MD05, beta-tricalcium phosphate coated with recombinant human growth/differentiation factor-5, compared to conventional bone substitutes in the rat calvarial defect model. *J Periodontol* 2006;77:1582–90.
26. Weng D, Poehling S, Pippig S, Bell M, Richter E-J, Zuhr O et al. The effects of recombinant human growth/differentiation factor-5 (rhGDF-5) on bone regeneration around titanium dental implants in barrier membrane-protected defects: a pilot study in the mandible of beagle dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009;24:31–7.
27. Gruber RM, Ludwig A, Merten H-A, Achilles M, Poehling S, Schliephake H. Sinus floor augmentation with recombinant human growth and differentiation factor-5 (rhGDF-5): a histological and histomorphometric study in the Goettingen miniature pig. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:522–9.
28. Gruber RM, Ludwig A, Merten H-A, Pippig S, Kramer F-J, Schliephake H. Sinus floor augmentation with recombinant human growth and differentiation factor-5 (rhGDF-5): a pilot study in the Goettingen miniature pig comparing autogenous bone and rhGDF-5. *Clin Oral Implants Res* 2009;20:175–82.
29. Stavropoulos A, Becker J, Capsius B, Açil Y, Wagner W, Terheyden H. Histological evaluation of maxillary sinus floor augmentation with recombinant human growth and differentiation factor-5 coated beta-tricalcium phosphate (rhGDF-5/-TCP). Results of a multicenter randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2011, 38: doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01754.x
30. Kim T-G, Wikesjö UME, Cho K-S, Chai J-K, Pippig SD, Siedler M et al. Periodontal wound healing/regeneration following implantation of recombinant human growth/differentiation factor-5 (rhGDF-5) in an absorbable collagen sponge carrier into one-wall intrabony defects in dogs: a dose-range study. *J Clin Periodontol* 2009;36:589–97.
31. Kwon DH, Bisch FC, Herold RW, Pompe C, Bastone P, Rodriguez NA et al. Periodontal wound healing/regeneration following the application of rhGDF-5 in a beta-TCP/PLGA carrier in critical-size supra-alveolar periodontal defects in dogs. *J Clin Periodontol* 2010;37:667–74.

32. Kwon H-R, Wikesjö UME, Park J-C, Kim Y-T, Bastone P, Pippig SD et al. Growth/differentiation factor-5 significantly enhances periodontal wound healing/regeneration compared with platelet-derived growth factor-BB in dogs. *J Clin Periodontol* 2010;37:739–46.
33. Stavropoulos A, Windisch P, Gera I, Capsius B, Sculean A, Wikesjö UM. A pPhase IIa randomized controlled clinical and histological pilot study evaluating rhGDF-5/ β -TCP for periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 2011;38 (*In press*).

