

탈회동결건조골이 수직골 형성에 미치는 영향

박주희¹, 권영혁^{1,2}, 박준봉^{1,2}, 정종혁^{1,2}, 신승일¹, 허익^{1,2*}

- 1. 경희대학교 치의학전문대학원 치주과학교실
- 2. 경희대학교 치의학전문대학원 구강생물학연구소

The effect of human demineralized freeze-dried xenograft on vertical bone formation in beagle dogs

Ju-Hee Park¹, Young-Hyuk Kwon^{1,2}, Joon-Bong Park^{1,2}, Jong-Hyuk Chung^{1,2}, Seung-Il Shin, Yeek Herr^{1,2*}

- 1. Department of Periodontology, School of Dentistry, Kyung Hee University
- 2. Institute of Oral Biology, School of Dentistry, Kyung Hee University

ABSTRACT

Purpose: The purpose of this study was to evaluate exophytically vertical bone formation in the mandibular premolar area of beagle dogs by the concept of guided bone regeneration with a titanium reinforced e-PTFE membrane combined with human demineralized freeze-dried bone.

Materials and Methods: Four one-year old beagle dogs were divided into control and experimental group. All mandibular premolars were extracted and surgical vertical defects of 5 mm in height were created in the extracted sockets. At 8 weeks after the extraction, TR e-PTFE membrane sized with 8 mm in length, 5 mm in width, and 4 mm in height was placed on the decorticated mandible, fixed with metal pins and covered with full-thickness flap and assigned as control group. In experimental group, decorticated mandible was treated with TR e-PTFE membrane and human demineralized freeze-dried bone. The animals were sacrificed at 16 weeks after the regenerative surgery, and new bone formation was assessed by histomorphometric as well as statistical analysis.

Results: Average of new bone formation was 38% in the control group, whereas was 25% in the experimental group ($p<0.05$). Average of connective tissue formation was 42% in the experimental group, whereas was 30% in the control group ($p<0.05$). The lamellar bone formation with haversian canals was observed in the both groups. In the experimental group, the particles of human demineralized freeze-dried bone were observed after 16 weeks and complete resorption of graft was not observed.

Conclusion: On the basis of these findings, we conclude that titanium reinforced e-PTFE membrane may be used alone for vertical guided bone regeneration, but demineralized freeze-dried bone has no additional effect on vertical guided bone regeneration. (*J Korean Acad Periodontol* 2008;38:75-82)

KEY WORDS: human demineralized freeze-dried xenograft; vertical bone formation; titanium reinforced e-PTFE membrane; GBR

서론

임플란트를 식립 시 가장 중요한 요소는 식립 부위의 골량으로, 임플란트의 골유착과 연조직 형태 즉 심미에 영향을 미친다¹⁾. 치아상실 후 1년 내에 전체 골폭의 25%가 상실되며 4

mm의 높이가 감소된다. 평균 첫 3년 내에 40~60%의 치조제 양이 감소한다²⁾. 위축된 골과 해부학적 제한 요소들은 임플란트 수술 시 정확한 식립 각도와 위치를 어렵게 하여 보철물의 심미적 및 기능적인 문제를 일으킨다.

심한 치주염에 이환된 치아, 외상성 발치 또는 악안면 외상으로 인해 치조제의 변형이 생긴 부위는 임플란트를 식립 전, 치조제의 폭과 높이를 증대시키거나 임플란트 식립과 동시에 골결손부를 제거하기 위해 골유도재생술이 함께 성공적으로 이용되어 왔다.

Dahlin 등³⁾과 Buser 등⁴⁾은 골유도재생술이라는 개념을 제

Correspondence: Dr. Yeek Herr
Department of Periodontology, School of Dentistry, Kyung Hee University, 1 Hoeki-dong, Dongdaemoon-gu, Seoul, 130-701, Korea
e-mail: yherr@khu.ac.kr, Tel: 82-2-958-9380, Fax: 82-2-958-9387
접수일: 2008년 2월 20일; 채택일: 2008년 3월 6일

안하였으며, 골유도재생술이란 골결손 부위에 차폐막을 밀접하게 위치시켜 인접상피와 결합조직으로부터 섬유모세포의 유입을 차단하고 골과 차폐막 사이의 공간을 유지하여 인접 골조직으로부터 혈관의 침투와 골세포의 분화 및 증식을 유도하여 신생골을 형성하는 술식이다.

Schmid 등⁵⁾은 토끼 두개관에서 e-PTFE 막을 이용하여 3개월 후 막하방에 약간의 수직골 형성이 있었다고 보고하였고, Jovanovic 등⁶⁾은 성견에 임플란트를 식립 후 이식재 사용 없이 수직적 골유도재생술 6개월 후의 결과를 비교 시 티타늄 강화 e-PTFE(TR e-PTFE) 차폐막을 사용할 때 골재생이 더욱 많았다고 보고하였다. Simion 등⁷⁾은 5명의 환자에서 이식재 사용 없이 티타늄 강화 차폐막을 이용한 수직적 골유도재생술 결과 9개월 후 3~4 mm의 골이 형성되었다고 하였다. 2007년에 Simion 등⁸⁾은 성견에서 수직적 골결손부 형성 4개월 후 임플란트를 5 mm 돌출되게 식립 후 TR-ePTFE막을 사용한 수직적 골유도재생술 결과 57%의 신생골 형성을 보인다고 보고하였다.

티타늄 강화 차폐막은 티타늄 구조물이 두 겹의 e-PTFE 막 사이에 위치한 상태로 구부릴 수 있으며 골결손부와 차폐막 사이에 공간을 형성, 유지 가능하다⁹⁾. 또한, 부가적인 골이식재 없이 혈병 안정화를 위한 공간을 유지하여 수직골 유도 재생이 가능하다⁶⁻⁸⁾.

골재생을 증가시키고 차폐막 하방의 공간을 유지하기 위해 다양한 골이식재가 사용되었다. Tinti 등¹⁰⁾은 자가골과 티타늄 강화 차폐막을 이용하여 최대 7 mm까지 수직적 골재생을 보고하였다. Simion 등^{11,12)}은 인간을 대상으로 하여 탈회동결건조골과 자가골 사용시 4~8 mm까지 수직골 형성이 가능했다고 보고하였다. 골유도재생술에서 골이식재를 함께 사용 시 막 하방의 공간을 유지하여 막의 붕괴를 방지하며, 골아세포와 주위 혈관조직의 비계로 작용하여 혈병을 안정화하며, 막의 미세진동을 감소시키며, 골형성을 증가시키는 요소의 운반 인자로 사용될 수 있다^{11,13,14)}. 여러 임상연구에서 차폐막하의 자가골은 뛰어난 골형성력으로 가장 좋은 이식재로 인식되나, 공여부의 2차 수술, 잠재적인 흡수, 크기의 부적합, 불충분한 양으로 인한 한계를 가지고 있다¹⁵⁾. 이에 다양한 골이식재를 이용한 골유도재생술에서 성공적인 결과가 보고되었다^{16,17)}.

Fugazzotto 등¹⁷⁾은 티타늄 강화 차폐막과 탈회동결건조골을 이용한 수평적 골유도재생술에서는 96~97%, 수직적 골유도재생술에서는 92%의 성공률을 보고하였다. 탈회동결건조골은 골전도능과 골유도능이 있다고 보고되었다^{18,19)}. Urist 등¹⁸⁾

은 피질골을 0.6 N 염산에 의한 탈회과정을 통해 골기질 내의 골유도 단백질을 노출시켜 숙주간엽세포를 골아세포로 분화하도록 자극하여 골형성을 유도한다고 보고하였으며, 탈회과정을 통해 탈회동결건조골은 콜라겐, 비콜라겐성 골기질 단백질, 성장인자, 약간의 잔존 미네랄로 구성되어 있다²⁰⁾. 탈회동결건조골은 빠른 혈관과 경조직 성장을 허용하여 골재생을 촉진하며²¹⁾ 수직적 골유도재생술에서 탈회동결건조골의 골유도, 골전도에 의한 3~4 mm의 신생골 형성이 보고되었다^{11,12)}.

여러 학자가 토끼 두개관에서 돛 형태의 티타늄막을 고정시킨 후 수직골 형성을 보고하였다²²⁻²⁴⁾. 이번 연구는 비글견에서 실험적으로 수직골 결손부를 형성한 치조제에서 티타늄 강화 차폐막을 단독으로 사용할 경우의 골재생 효과와 탈회동결건조골을 같이 사용할 경우 골재생에 미치는 효과에 관하여 조직학적 및 조직계측학적으로 비교 분석하기 위하여 시행되었다.

연구재료 및 방법

1. 실험동물

생후 1년 된 평균 체중 12 kg의 웅성 비글견 4마리를 사용하였다. 대조군, 실험군 각각 두 마리씩 사용하였으며 하악 좌우측 치조제를 실험부위로 사용하였다.

2. 연구재료

차폐막으로는 티타늄 강화 e-PTFE막(TR9W, W. L. Gore & Associates, INC, U.S.A)을 길이 8 mm, 폭 5 mm, 높이 4 mm 되는 직육면체의 형태로 만들어서 ethylene oxide로 소독하여 사용하였고, 골이식재로는 탈회동결건조골(DEMBONE, human demineralized freeze-dried xenograft)을 사용하였다.

3. 연구방법

1) 실험군과 대조군 설정

실험동물 중 티타늄 강화 e-PTFE막만을 사용한 군을 대조군, 티타늄 강화 e-PTFE막과 탈회동결건조골을 사용한 군을 실험군으로 설정하였다.

2) 수술 과정

케타민(유한양행, 한국)과 렘폰(바이엘코리아, 한국)을 1:1

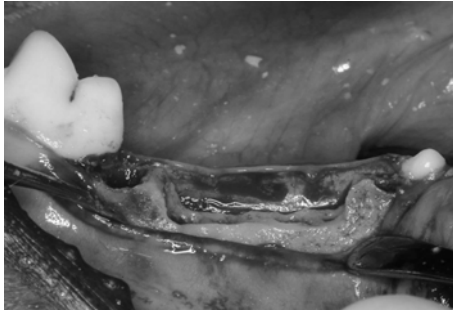


Figure 1. Formation of alveolar bone after teeth extraction.

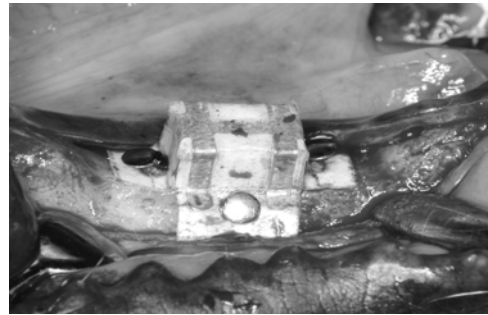


Figure 2. Fixation of TR-ePTFE with metal pins.

로 섞은 후 5 ml을 근육 주사하여 전신마취를 시행하고, 수술 부위는 2% 염산리도카인(1:100,000 epinephrine 함유, 광명, 한국)으로 국소 마취를 한 다음 전층판막을 거상하고 하악의 좌, 우측 소구치 3개를 발치하였다. 이후 기저골까지 수직골 결손부의 높이가 5 mm가 될 때까지 round carbidebur(HP Long #6)로 치조골을 삭제한 후(Fig. 1) 판막을 제위치시켜 4-0 Nylon으로 봉합하였다.

발치 및 수직적 골결손부 형성 8주 후 하악 소구치부 치조골에 치조정 절개 및 전층판막을 거상하였다. 주수 하에 round carbide bur(HP Long #6)를 이용하여 1~2 mm 깊이로 피질골을 제거하였다. 골내 출혈을 확인한 후 길이 8 mm, 폭 5 mm, 높이 4 mm의 형태로 미리 제작된 티타늄 강화 e-PTFE막을 위치시킨 후 핀으로 고정하여 대조군으로 설정하였다(Fig. 2). 실험군은 티타늄 강화 차폐막 내부에 생리식염수에 30분간 침적한 탈회동결건조골을 채우고 핀으로 고정하였다. 비흡수성 봉합사(e-PTFE suture material, TR9W, W. L. Gore & Associate Inc., U.S.A)로 전층판막을 봉합하고 술 후 3일까지 Gentamycin(동화약품, 한국) 2 ml와 Ketoprofen(유니바이오테크, 한국) 0.5 ml를 근육 주사하였다. 치태조절을 위해 하루에 1번 클로르헥시딘(0.12%, 부광약품)을 사용하였다.

3) 조직준비 및 분석

실험동물들을 술 후 16주 후에 과량의 줄레틸(Virbac, France)을 근육주사하고 경동맥을 통한 중성 포르말린 고정액을 주입하여 희생시켰다. 차폐막을 포함하여 치조골 일부를 절제하여 조직 절편을 채득하였다. 중성 포르말린 고정액으로 1주일 이상 고정한 후 통법에 따라 비탈회 조직 표본을 제작하였다.

비탈회 조직 표본은 시편을 흐르는 물에 세척한 후 70%에

탄올에 1일간 담가둔 후, Villanueva bone stain 용액에 3일간 담궈 전염색시킨 다음 4℃, 70%, 90%, 95%, 100% 에탄올에 각각 1일씩 담구어 탈수시키고 methyl methacrylate monomer, MMA polymer(Wako, Japan)와 benzoyl peroxide를 섞어 만든 레진으로 포매하였다. 시편은 경조직 절단기(Maruto Co., Japan)를 이용하여 500 μm 두께로 절단한 후 경조직 연마기(Maruto Co., Japan)로 40 μm의 절편을 얻었다. 조직 슬라이드를 BX51 Olympus 현미경으로 조직 관찰 후에 DP71 현미경용 카메라로 40배에서 디지털 사진 촬영 후 Tomoro Scope Eye(Techsan, Korea) 프로그램을 이용하여 조직계측학적 분석을 시행하였다.

4. 조직계측학적 분석 방법

1) 신생골 형성률

신생골 형성률은 차폐막에 의하여 형성된 공간의 면적에 대한 새로이 형성된 신생골 면적 총합의 백분율로 계산한다.

$$\text{New bone formation(\%)} = \frac{\text{Diameter of new bone formation(mm}^2\text{)}}{\text{Diameter of space created by the Ti-reinforced e-PTFE(mm}^2\text{)}} \times 100$$

2) 결합조직 형성률

결합조직 형성률은 차폐막에 의해 형성된 공간의 면적에 대한 형성된 결합조직의 면적 총합의 백분율로 계산한다.

$$\text{New connective tissue(CT) formation} = \frac{\text{Diameter of CT formation(mm}^2\text{)}}{\text{Diameter of space created by the Ti-reinforced e-PTFE(mm}^2\text{)}} \times 100$$

5. 통계학적 분석

실험기간 동안 대조군 및 실험군간의 신생골 형성률과 결합조직 형성에 대한 비교는 Mann Whitney U test를 이용하였으며, 통계 프로그램은 SPSS ver 12.0을 사용하였다.

연구 성적

1. 조직학적 소견

1) 대조군

티타늄 강화 차폐막은 막의 변형 없이 공간을 잘 유지하고

있으며 기존골 표면에 신생골의 형성이 관찰되며, 신생골 상방에 결합조직과 함께 막 내부에 조직으로 채워지지 않은 빈 공간이 존재하며, 막 변연 부위에 연조직 침투는 보이지 않았다(Fig. 4). 고배율로 관찰 시 기저골 상방에 층판골과 하버시안관과 골세포로 구성된 골원이 관찰되었다(Fig. 4a).

2) 실험군

재생 공간 내부에 빈 공간이 존재하며 기존골 상방으로 신생골 형성과 결합조직, 막 내부에 빈 공간이 관찰되었다. 막 변연 부위로의 연조직의 유입은 관찰되지 않았다(Fig. 5). 고배율로 관찰 시 기저골 상방에 층판골과 골원, 신생골에 둘러싸인 흡수되지 않은 탈회동결건조골 입자가 관찰되었다(Fig. 5a).

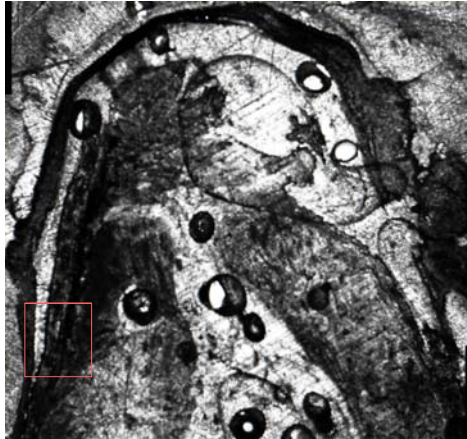


Figure 4. Control site 16weeks
Newly formed bone, connective tissue and empty cavity were shown. (Villanueva bone stain, Original magnification $\times 20$)



Figure 4a. Inset of Figure 4.
Osteon composed of osteocyte and Haversian canals was shown. (Villanueva bone stain, Original magnification $\times 100$)

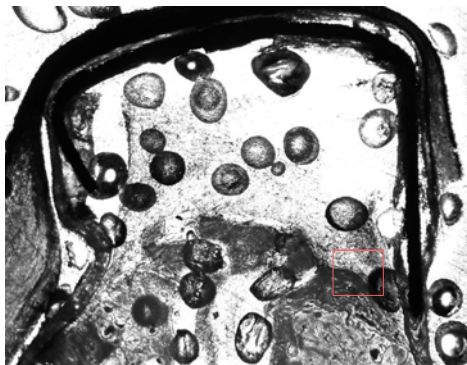


Figure 5. Test site 16weeks
Newly formed bone, connective tissue and empty cavity were shown. (Villanueva bone stain, Original magnification $\times 20$)

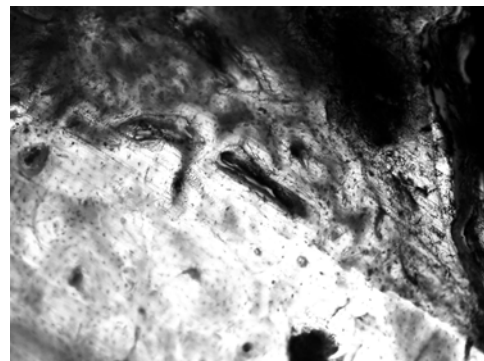


Figure 5a. Inset of Figure 5.
Osteon was shown. (Villanueva bone stain, Original magnification $\times 100$)

2. 조직계측학적 분석

1) 신생골 형성

대조군은 평균 38%, 실험군은 평균 25%로 대조군에서 통계학적으로 유의하게 골의 형성이 많았다($P<0.05$)(Table 1).

2) 결합조직 형성

대조군은 평균 30%, 실험군은 평균 42%로 실험군에서 통

계적으로 유의하게 대조군에 비하여 결합조직의 형성이 많았다($P<0.05$)(Table 2).

총괄 및 고찰

이번 연구는 실험적으로 형성한 구강내 위축 치조제에서 외방성 수직골 재생을 유도하고자 티타늄 강화 차폐막과 탈회동결건조골을 이용하여 골유도재생술을 시행하였을 때 골이

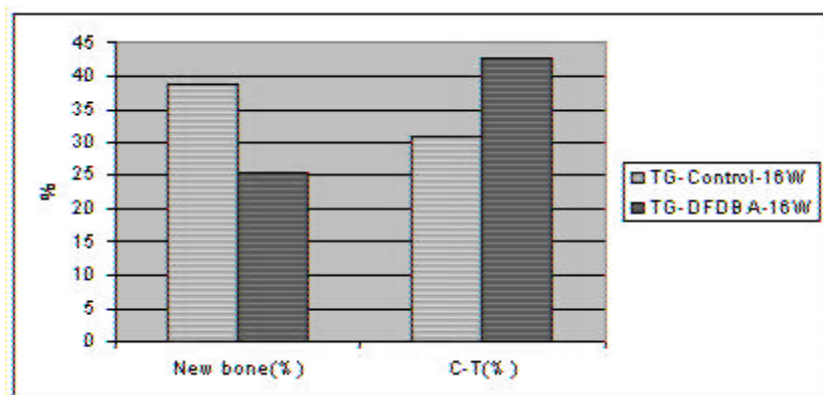
Table 1. Newly-Formed Bone(%) in the Space Created By The TR-ePTFE Membrane at The Control and Experimental Sites.

	TG-Control-16W	TG-DFDBA-16W
1	40.12	25.79
2	38.40	24.75
3	38.54	25.39
4	38.19	25.66
Mean S.D.	0.88	1.29
Mean	38.81	25.40

Table 2. Connective Tissue Formation(%) in the Space Created by the TR-ePTFE Membrane at The Control and Experimental Sites.

	TG-Control-16W	TG-DFDBA-16W
1	30.58	44.39
2	30.84	41.82
3	30.56	42.26
4	31.13	42.08
Mean S.D.	0.26	0.45
Mean	30.78	42.64

Table 3. Histomorphometric Comparative Analysis ($P<0.05$)



식재가 골 형성 및 골성숙에 영향을 주는지를 평가하고 티타늄 강화 차폐막의 기능을 다시 평가하는 것이다. 티타늄 강화 차폐막은 막 내의 티타늄구조물에 의해 견고한 기계적 성질을 가지고 있으며 원하는 형태로 구부릴 수 있어서 공간의 형성 및 유지가 가능하여 수직적 골재생을 얻으리라 사료되어 이번 실험에 사용되었고 막의 고정을 위하여 핀을 사용하여 막의 변연부에서 주변 연조직의 침투를 방지하였다. 또한 주변의 골조직으로부터 골 형성세포의 이주에 의한 골재생을 배제하고자 인레이 형태의 골내 결손부가 아닌 외방형 골증식 모델을 사용하였고 치조골 상방의 피질골을 천공하여서 골형성 세포의 이주와 함께 혈액공급을 원활하게 하였다.

탈회동결건조골은 골유도, 골전도능으로 인해 널리 사용되는 골이식재이나 아직까지 골유도능에 관해서는 논란의 여지가 많다. 초기의 연구들은 탈회동결건조골이 골유도능이 있다고 보고하였으나²⁵⁾ 최근의 연구는 탈회동결건조골의 골유도능에 대해 회의적이다. 탈회동결건조골은 기계적 견고성이 낮으며 동결건조골에 비해 빠른 흡수를 보인다. Becker 등^{26,27)}은 탈회동결건조골을 사람의 발치와에 이식 후 조직학적 평가 시 탈회동결건조골을 사용하지 않을 때와 큰 차이가 없다고 보고하였고, Schwartz 등²⁸⁾은 조직은행에서의 처리과정에 따라, 신생골의 형성능력에 차이가 있으며, 공여자의 나이, 성별, 질병 유무에 따라 골유도 능력이 다르다고 보고하였다.

또한 Sato 등²⁹⁾은 진화된 동물일수록 골유도 자극에 덜 반응하므로 더 많은 농도의 골형태형성 단백질이 필요하다고 주장하였다. 결론적으로 탈회 건조 동결골이 골유도능을 가지나 골조직은행에서 표준화되고 사람에서의 골유도능에 대한 효율성이 검증될 때까지 주의 깊게 사용되어야 할 것이다.

Simion 등⁶⁾과 Jovanovic 등⁷⁾은 이식재 사용 없이 티타늄 강화 차폐막을 이용한 사람, 성견에서의 수직적 골유도재생술에서 차폐막 하부의 공간이 완전히 골로 채워지지 않고, 결합 조직층이 신생골과 차폐막 사이에 형성됨을 관찰하였으며 불완전한 골형성의 원인을 다음과 같이 제안하였다. 초기 치유 과정 중 차폐막 하방의 혈액수축, 차폐막하방의 공기의 유입, 차폐막의 미세동요, 불충분한 치유기간에 의해 결합조직층이 신생골과 차폐막 사이에 형성된다고 가정하였다.

Mellonig과 Nevins 등³⁰⁾은 초기 10~20 μm 의 미세동요가 간엽세포를 골아세포 대신 섬유아세포로 분화시킨다고 보고했으며, Dahlin 등³¹⁾은 사람 연구에서 차폐막이 미세하게 움직일 시 판막으로부터 연조직이 침투하여 연조직층이 형성된다고 보고하였다. 이번 실험에서 주변 조직이 막 하방으로 침

투되는 것은 관찰되지 않았는데, 이는 사방에 견고한 핀으로 차폐막을 고정하여 연조직을 차단할 수 있었고 또한 미세동요도 방지할 수 있었기 때문인 것으로 사료된다.

골이식재의 사용은 혈병 형성을 용이하게 하며 더 균일하고 안정적인 환경을 제공하여 신생골 형성을 촉진한다고 보고되었다^{13,32)}. 현 연구에서 재생 공간을 유지하고 부가적으로 골재생을 촉진시키기 위하여 탈회동결건조골을 이용하였으나 수직골 재생에는 효과적이지 않았다. Simion 등¹¹⁾은 자가골 또는 탈회동결건조골을 이용한 수직 골유도재생술 결과 거의 모든 공간에 신생골이 형성되었으며 1 mm 미만의 연조직층이 형성되었다고 보고하였다. 그러나 Hammerle 등³³⁾과 Kostopoulos 등³⁴⁾은 비록 골이식재가 생체 적합하더라도 재생될 공간을 차지하여 이식재를 사용할 때 더 적은 양의 신생골이 형성된다고 보고하였다.

피질골 천공은 혈관형성을 증가시키며¹⁴⁾, 여러 가지 성장 인자를 국소적으로 증가시키며¹⁰⁾, 피질골 외상은 국소가속현상(regional acceleratory phenomenon)³⁵⁾을 개시하여 혈액공급과 골형성 세포를 증가시켜 골형성이 증가한다고 하였다. Schmid 등¹⁴⁾, Rompen 등³⁶⁾, Majoub 등³⁷⁾은 토끼 두개관에서 티타늄 강화 차폐막을 이용한 골유도재생술에서 피질골을 천공 시 혈액공급과 골형성세포를 증가시켜 신생골 형성과 골 밀도를 증가한다는 보고가 있는 반면 Lundgren 등²²⁾은 피질골의 천공 없이 판막 형성시의 골막손상으로 인한 소혈관으로부터의 혈액공급이 신생골 형성에 충분하다고 보고하였다. 이번 연구에서는 골아세포의 이주를 돕기 위해 피질골 천공을 시행하였으나 그 효과에 대한 검증은 할 수 없었다.

이번 연구에서는 전 실험기간 동안 티타늄 강화 차폐막의 염증반응이 없었던 것으로 보아 조직 친화성이 좋았으며, 함몰이나 변형이 관찰되지 않아 재생공간의 유지에 충분한 기계적 강도를 가져서 공간을 유지하며 혈병을 안정화시키고 부가적인 이식재 사용 없이 수직적 골유도재생술에 사용가능함을 보여주었으나, 탈회동결건조골은 재생 공간을 유지하고 부가적으로 골재생을 촉진시키기 위하여 사용되었으나 수직골 재생에는 효과적이지 않았다.

참고문헌

1. Albrektsson T, Dahl E, Embolm L. Osseointegrated oral implants. A Swedish multicenter study of 8139 consecutively inserted Nobelpharma implants. J Periodontol 1998;

- 59:287-296.
2. Tallgren A. The continuing reduction of the residual ridges in complete denture wearers: A mixed-longitudinal study covering 25 years. *J Prosthet Dent* 1972;27:120-132.
 3. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plastic Reconstr Surg* 1988;81:672.
 4. Buser D, Dula K, Belser U, Hirt HP, Berthold H. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. I. Surgical procedure in the maxilla. *Int J Periodont Rest Dent* 1993;13:29-45.
 5. Schmid J. Supraplant a novel implant system based on the principle of guided bone regeneration. *Clin Oral Impl Res* 1991;2:199-202.
 6. Jovanovic SA, Schenk RK, Orsini M, Kenney Eb. Supracrestal bone formation around dental implants: An experimental dog study. *Int J Oral Maxillofac Impl* 1995; 10:23-31.
 7. Simion M, Trisi P, Piattelli A. Vertical ridge augmentation using a membrane technique associated with osseointegrated implants. *Int J Periodont Rest Dent* 1994;14:497-511.
 8. Simion M, Dahlin C, Rocchietta I. Vertical ridge augmentation with guided bone regeneration in association with dental implants: an experimental study in dogs. *Clin Oral Impl Res* 2007;18:86-94.
 9. Hammerle CH, Jung R.E. Bone augmentation by means of barrier membranes. *Peiodontology* 2000 2003;33:36-53.
 10. Tinti C, Parma-Benfenati S. Polizzi. Vertical augmentation: what is the limit? *Int J Periodont Rest Dent* 1996;16: 220-229.
 11. Simion M, Jovonavic S.A, Trisi P, Scarano A, Piattelli A. Vertical ridge augmentation around dental implants using a membrane technique and autogenous bone or allografts in humans. *Int J Periodont Rest Dent* 1998;18:8-23.
 12. Simion M, Jovonavic S.A, Tinti C, Parma-Benfenati S.P. Long-term evaluation of osseointegrated implants inserted at the time or after vertical ridge augmentation. A retrospective study on 123 implants with 1-5 year follow-up. *Clin Oral Impl Res* 2001;12:35-45.
 13. Schmid J, Hammerle C.H, Fluckiger L et al. Blood-filled spaces with and without filler materials in guided bone regeneration. A comparative experimental study in the rabbit using bioresorbable membranes. *Clin Oral Impl Res* 1997;8:75-81.
 14. Bradley S, McAllister Kamran. AAP-Commissioned Review. Bone augmentation technique *J Periodontol* 2007; 78:377-396.
 15. Ellis E. Biology of bone grafting: An overview. *Oral Maxillofac Surg* 1993;2:1-15.
 16. Nevins M, Mellonig JT. Enhancement of the damaged edentulous ridge to receive dental implants: A combination of allograft & the GORE-TEX Membrane. *Int J Periodont Rest Dent* 1992;12:97-111.
 17. Fugazzotto PA. Report of 302 consecutive ridge augmentation procedures: Technical consideration & cinical results, *Int J Periodont Rest Dent* 1998;13:358-368.
 18. Urist MR. Bone Formation by autoinduction. *Science* 1965;150:893-899.
 19. Urist MR, Dowel TA, Hay PH, Strates BS. Inductive substrates for bone formation. *Lin Orthop* 1968;59:59-96.
 20. Mellonig JT. Decalcified freeze-dried bone allograft as an material in human periodontal defect. *Int J Periodont Rest Dent* 1984;4:40-55.
 21. Sassard WR, Eidman DK, Gray PMJ. Analysis of spine fusion utilizing demineralized bone matrix. Presented at Western Orthopedic Association Meeeting, August 1994, Philadelphia.
 22. Lundgren D, Lundgren AK, Sennerby L, Nyman S. Augmentation of intramembrane pus bone beyond the skeletal envelope using an occlusive titanium barrier. An experimental study in the rabbit. *Clin Oral Impl Res* 1995; 6:67-72.
 23. Schmid J, Hammerle CH, Olah AJ, Lang NP. Membrane permeability is unnecessary for guided regeneration of new bone. An experimental study in the rabbit. *Clin Oral Impl Res* 1994;5:125-130.
 24. von Steenberghe D, Johansson C, Quirynen M et al. Bone augmentation by means of a stiff occlusive titanium barrier. A study in rabbits and humans. *Clin Oral Impl Res* 2003; 14:63-71.
 25. Pinholt EM, Haanaes HR, Donath K, Bang G. Titanium implant insertion into dog alveolar ridges augmented by allogenic material. *Clin Oral Impl Res* 1994;5:213-219.
 26. Becker W, Lekholm U, Dahlin C et al. Immediate placement of titanium implants into fresh extraction sockets protected by e-PTFE membrane barriers. A clinical multicenter study. *Int J Oral Maxillofac Impl* 1994;9:31-40.
 27. Becker W, Schenk R, Higuchi K, Lekholm U, Becker BE.

- Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: a study in dog. *Int J Oral Maxillofac Impl* 1995;10:143-154.
28. Schwartz Z, Mellonig JT, Carnes DR et al. Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation. *J Periodontol* 1996;67:918-926.
 29. Sato K, Urist MR. Induced regeneration of calvaria by bone morphogenetic protein in dogs. *Clin Orthop* 1985;197:301-311.
 30. Mylon Nevins, James T. Mellonig. Enhancement of the Damaged Edentulous Ridge to Receive Dental Implants: A Combination of Allograft & the GORE-TEX Membrane. *Int J Periodont Rest Dent* 1992;12:97-111.
 31. Dahlin C, Simion M, Nanmark U, Sennerby L. Histological morphology of the e-PTFE/tissue interface in humans subjected to guided bone regeneration in conjunction with oral implant treatment. *Clin Oral Impl Res* 1998;9:100-106.
 32. Okazaki K, Shimizu Y, Xu H, Ooya K. Blood-filled spaces with and without deproteinized bone grafts in guided bone regeneration. A histomorphometric study of the rabbit skull using non-resorbable membrane. *Clin Oral Impl Res* 2005; 16:236-243.
 33. Hammerle C.H.F, Olah A.J, Schmid J et al. The biological effect of natural bone mineral on bone neoformation on the rabbit skull. *Clin Oral Impl Res* 1997;8:198-207.
 34. Kostopoulos, L, Lioubavina N, Karring T, Uruguchi R. Role of chitin beads in the formation of jaw bone by guided tissue regeneration. An experiment in the rat. *Clin Oral Impl Res* 2001;12:325-331.
 35. Avinoam Yaffe et al. Regional Accelerated Phenomenon in the Mandible Following Mucoperiosteal flap surgery *J Periodontol* 1994;65:79-83.
 36. Rompen EH, Biewer R, Vanheusden A, Zahedi S, Nusgens B. The influence of cortical perforations and of space filling with peripheral blood on the kinetics of guided bone generation. A comparative histometric study in the rat. *Clin Oral Impl Res* 1999;10:85-94.
 37. Zeina Majzoub et al. Role of intramarrow penetration in osseous repair: A Pilot study in the rabbit calvaria. *J Periodontol* 1999;70:1501-1510.