



Dr. Frank Schwarz



Prof. Dr. Jürgen Becker



Dr. Daniel Rothamel



Dr. Monika Hertel

Korrespondenzadresse:

Dr. Frank Schwarz
 Poliklinik für Zahnärztliche Chirurgie und
 Aufnahme
 Westdeutsche Kieferklinik
 Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
 40225 Düsseldorf
 Tel.: 0211 8118149
 Fax: 0211 1713542
 E-Mail: info@frank-schwarz.de

Einsatz nativer und quervernetzter Kollagenmembranen für die gesteuerte Gewebe- und Knochenregeneration



FOTO-CREDIT

Abb. 4a: Unilaterale Freiendsituation von 12 bis 017. Für eine gute Ästhetik ist eine vertikale Augmentation in regio 013 und eine Kieferkammerverbreiterung notwendig.

Einleitung

Die gesteuerte Knochen- (GBR) und Geweberegeneration (GTR) kann heutzutage als therapeutisches Standardverfahren in der Parodontologie, Implantologie sowie Oral- und Kieferchirurgie angesehen werden. Das Prinzip dieser Verfahren beruht auf der Isolation potenziell regenerativer Zelltypen, wie z. B. Desmodontalfibroblasten und Osteoblasten von schnell proliferierenden Epithel- und Bindegewebszellen, mit dem Ziel einer vorhersehbaren Regeneration verloren gegangenen Gewebes [Dahlin, C. et al., 1988; Gottlow, J. et al., 1986; Hämmerle, C. H. und Karring, T., 1998; Hämmerle, C. H. und Lang, N. P., 2001; Karring, T. et al., 1993; Nyman, S. et al., 1982]. Dieser Prozess kann durch den Einsatz einer mechanischen Barrieremembran beeinflusst werden.

Die erste getestete Generation von Barrieremembranen bestand aus nichtresorbierbaren Materialien, wie z. B. einem Zellulose-Ester (Milipore®-Filter), sowie aus expandiertem Polytetrafluorethylen (ePTFE) [Gottlow, J. et al., 1984, 1986; Karring, T. et al., 1993; Nyman, S. et al., 1982]. In einer ersten humanhistologischen Untersuchung von Nyman, S. et al. (1982) konnte drei Monate nach Applikation einer Milipore®-Fil-

termembran eine neue Zementschicht mit inserierenden Kollagenfasern auf der ehemals erkrankten Wurzeloberfläche festgestellt werden. Vergleichbare histologische Ergebnisse wurden auch nach dem ersten Einsatz einer ePTFE-Membran im Menschen beschrieben [Gottlow, J. et al., 1986]. Das Ausmaß der Regeneration schien jedoch von verschiedenen Faktoren, wie z. B. der Restmenge von gesundem parodontalem Ligament sowie der Defektkonfiguration, abhängig zu sein. Diese Ergebnisse konnten in einer Vielzahl histologischer und klinischer Untersuchungen bestätigt werden [Cortellini, P. et al., 1993; Karring, T. et al., 1993; Pontoriero, R. et al., 1988, 1992; Selvig, K. A. et al., 1992]. Das Prinzip der GTR konnte auch erfolgreich für die Regeneration knöcherner Defekte eingesetzt werden [Dahlin, C. et al., 1988, 1989]. Hierbei konnten durch den Einsatz einer nichtresorbierbaren Teflon®-Membran sowohl standardisierte mandibuläre Defekte als auch periimplantäre Dehissenzdefekte in der Tibia von Ratten im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe knöchern regeneriert werden [Dahlin, C. et al., 1988, 1989].

Ein Nachteil nichtresorbierbarer Materialien besteht jedoch in der Notwendigkeit eines zweiten chirurgischen Eingriffs, um die Membran zu entfernen. Hierbei kann die Periostlösung zu einer krestalen Resorption des Alveolarknochens und somit zu einer Beeinträchtigung des Behandlungsergebnisses führen [Pihlström, B. L. et al., 1983]. Weiterhin wurde im Zusammenhang mit ePTFE-Membranen häufig von einer Spontanperforation der bedeckenden Schleimhaut berichtet, die unweigerlich zu einer bakteriellen Kontamination des Membrankörpers führt und deren frühzeitige Entfernung erfordert [Hardwick, R. et al., 1994; Selvig, K. A. et al., 1992; Tempro, P. J. und Nalbandian, J., 1993]. Um diese Nachteile zu umgehen, wurden während der letzten Jahre zahlreiche bioresorbierbare Membranen entweder aus natürlichen (Dura mater) oder synthetischen (Polylaktiden-PLA, Polyglykoliden-PGA oder Polyurethan) Biomaterialien hergestellt und auf einen möglichen Einsatz für GBR/GTR-Verfahren hin untersucht [Greenstein, G. und Caton, J. G., 1993; Hutmacher, D. et al., 1996; Kohal, R. J. et al., 1998; Magnusson, I. et al., 1988]. Neuerdings wird zunehmend über den Einsatz von Membranen berichtet, die aus bovinem und porkinem Kollagen Typ I und III gewonnen werden [Bunyaratavej, P. und Wang, H. L., 2001].

Anforderungen an Membranen für GBR/GTR-Verfahren

Ein Material, das als Membran für GBR/GTR-Verfahren zum Einsatz kommen soll, muss verschiedenartigen Anforderungen genügen. Neben der bereits o. g. Barrierefunktion wurde auf die Wichtigkeit der Stabilisierung des Blutkoagulums im Wundbereich hingewiesen [Haney, J. M. et al., 1993]. Auf der Basis zahlreicher experimenteller Untersuchungen im Hundemodell konnte unter Verwendung eines supraalveolären Defektmodells [Wikesjö, U. M. et al., 1994] gezeigt werden, dass das Ausmaß der zu erwartenden parodontalen Regeneration primär von einer stabilen Adhärenz des Blutkoagulums auf der gereinigten Wurzeloberfläche abhängig zu sein scheint [Wikesjö, U. M. et al., 1990, 1991]. Die Hypothese dieser Untersuchungen bestand darin, dass durch eine Konditionierung der Wurzeloberfläche mittels Heparin ein instabiler Verbund zwischen Wurzeloberfläche und Blutkoagulum entsteht. Die histologische Heilung in der Testgruppe (Heparin) war nach 4 Wochen vorwiegend durch die Ausbildung eines langen Saumepithels charakterisiert. Im Vergleich hierzu konnte durch den zu-

sätzlichen Einsatz einer ePTFE-Membran [Haney, J. M. et al., 1993] oder der Einlage eines PLA-Implantates [Wikesjö, U. M. und Nilveus, R., 1990] eine bindegewebige Defektheilung erzielt werden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Stabilisierung des Blutkoagulums eine besondere Bedeutung zukommen sollte.

Die Biokompatibilität der Membranen sowie deren Abbauprodukte stellen eine weitere Grundvoraussetzung für einen komplikationslosen Heilungsverlauf dar. In ihrer einfachsten Definition ist Biokompatibilität die Reaktion eines Körpergewebes auf einen Werkstoff, der natürlicherweise nie dazu bestimmt war, am Menschen eingesetzt zu werden. Die Gewebereaktion ist zum einen vom Materialtyp abhängig, aber sie wird ebenso beeinflusst vom Ort der Applikation, von der zugeordneten Funktion für den Werkstoff und von der Zeit, wie lange der Werkstoff im Körper verbleibt. Außerdem spielen Alter, Gewohnheiten und der allgemeine Gesundheitszustand des Patienten eine wichtige Rolle. Folglich kann die Biokompatibilität eines Werkstoffes als sein Verhalten in Wechselwirkung mit seiner Umgebung angesehen werden [Wataha, J. C. et al., 2001]. Die Biokompatibilität hat weiterhin einen unmittelbaren Einfluss auf die Gewebeintegration des inkorporierten Materials. Eine durch den Werkstoff oder dessen Abbauprodukte hervorgerufene Fremdkörperreaktion im angrenzenden Gewebe kann dessen Gewebeintegration verhindern oder reduzieren, da die Anlagerung und Proliferation von Fibroblasten eine Grundvoraussetzung für die Kollagensynthese und nachfolgende Gewebeintegration darstellen [Somerman, M. J. et al., 1991]. Weiterhin wurde berichtet, dass eine reduzierte Gewebeintegration zu einer bindegewebigen Einkapselung einer Membran führen kann [Warrer, K. et al. 1992].

Experimentelle und klinische Untersuchungen ergaben, dass das Ausmaß der Regeneration von der Morphologie des Knochendefekts beeinflusst werden kann [Gottlow, J. et al., 1984; Karring, T. et al., 1993; Selvig, K. A. et al., 1993]. In Abhängigkeit von der Wandigkeit oder Größe des Knochendefekts besteht die Gefahr, dass die Membran in das Wundgebiet kollabiert und somit den für den Regenerationsprozess benötigten Raum limitiert. Um dieser Komplikation entgegenzuwirken, hat man die Formstabilität als weitere Anforderung an GBR/GTR-Membranen gestellt [Hardwick, R. et al., 1994].

Neuerdings wird auch auf die Wichtigkeit einer frühzeitigen transmembranösen Angiogenese hingewiesen [Hardwick, R. et

al., 1994]. In einer tierexperimentellen Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die Ausbildung von Blutkapillaren in einer unmittelbaren räumlichen sowie zeitlichen Korrelation zu einer extraskelettalen Knochenneubildung standen [Schmid, J. et al., 1997]. Diese Beobachtung kann mit Hilfe des Prinzips der Knochenbildung erklärt werden, da sich osteogenetische Zellen aus undifferenzierten mesenchymalen Progenitorzellen entwickeln, die sich entweder im Bindegewebe des Knochenmarks befinden, oder aus Perizyten des angrenzenden Bindegewebes kleiner Blutkapillaren entwickeln [Long, M. W. et al., 1995; Reilly, T. M. et al., 1998; Rickard, D. J. et al., 1996]. Auf Grundlage dieser Untersuchung könnte man schlussfolgern, dass eine frühzeitige transmembranöse Vaskularisation, die eine Anastomose zwischen der Blutversorgung des angrenzenden Mukoperiostlappens und dem Wundgebiet herstellt, die Knochenneubildung positiv beeinflusst. Aus klinischer Sicht kann diese Hypothese auch durch die Tatsache unterstützt werden, dass einige Autoren eine Perforation des angrenzenden kortikalen Knochens während GBR/GTR-Verfahren empfehlen, um die Knochenneubildung über eine Eröffnung angrenzender Knochenmarksräume zu verbessern [Buser, D. et al., 1990; Schmid, J. et al., 1994]. Bisher existieren jedoch noch keine experimentellen Untersuchungen, die sich mit dem Einfluss der Angiogenese auf den Heilungsverlauf befassen haben.

Als weitere Anforderungen an Membranen lassen sich deren praktikables klinisches Handling, der histologische Nachweis der Regeneration sowie die erfolgreiche klinische Testung in prospektiven randomisierten klinischen Studien stellen. Weiterhin sollte vor dem Einsatz eines Biomaterials auf die Zulassung nach dem Medizinproduktegesetz geachtet werden (Tabelle 1).

Struktur und charakteristische Eigenschaften von Kollagen

Kollagenfasern sind stabile Fasern des extrazellulären Bindegewebes, die aus Kollagenfibrillen aufgebaut sind, in denen drei Peptidketten schraubenförmig zu einer Tripelhelix verdreht sind. Die unverzweigten Fasern sind sehr zugfest und nur zu ca. 5 % dehnbar. Je nach Primärstruktur der Peptidketten existieren mind. 19 unterschiedliche Kollagenvarianten. In kochendem Wasser sind sie löslich und bilden Leim, woher sich ihr lateinischer Name ableitet (kolla = Leim). Sie quellen nach Zugabe von Säure, lösen sich in Laugen auf und lassen sich durch Pepsin

Anforderung	Bedeutung
1. Biokompatibilität	beeinflusst Zellattachement, Proliferation und Gewebeintegration, reduziert/verhindert entzündliche Abbauvorgänge antigenfrei
2. Barrierefunktion	inhibiert Einwachsen schnell proliferierender Epithel- und Bindegewebszellen in den Wundbereich
3. Formstabilität	Volumenerhalt des Wundbereichs Erhalt der Geometrie und Lokalisation des Augmentats
4. Gewebeintegration	Stabilisation des Blutkoagulums, verhindert bindegewebige Einkapselung
5. Semipermeabilität	ermöglicht frühzeitige transmembranöse Angiogenese
6. Handling	praktikable klinische Anwendbarkeit

Tabelle 1: Anforderungen an Membranen für GBR/GTR-Verfahren

rasch verdauen. Für einen möglichen Einsatz von Kollagen spricht die Tatsache, dass es eine strukturelle Komponente des parodontalen Ligaments darstellt sowie eine aktive Rolle bei der Ausbildung des Blutkoagulums spielt (hämostatische Eigenschaft) und demnach eine frühzeitige Stabilisation des Wundbereichs fördern kann. Weiterhin konnte beobachtet werden, dass Kollagen chemotaktisch auf desmodontale Fibroblasten wirkt (Gewebeintegration) und semipermeable Eigenschaften aufweist (transmembranöse Angiogenese) [Hutmacher, D. et al., 1996; Locci, P. et al., 1997; Postlethwaite, A. E. et al., 1978; Yaffe, A. et al., 1984]. Ein Nachteil nativen Kollagens ist jedoch dessen geringe Stabilität aufgrund einer raschen Biodegradation durch gewebespezifische Proteasen, Kollagenasen und Makrophagen [Tatakis, D. N. et al., 1999].

Die häufigsten Kollagentypen sind I, II und III, wobei das gingivale Bindegewebe zu ca. 60 % aus Typ I Kollagen aufgebaut ist. Alle derzeit verfügbaren Kollagenmembranen für GBR/GTR-Verfahren werden überwiegend aus bovinem und porkinem Kollagen Typ I und III gewonnen. Als bovines Ursprungsgewebe des Kollagens Typ I dient zum einen die Achillessehne und zum anderen das Perikard. Das Ursprungsgewebe von porkinem Kollagen Typ I und III wird von Seiten des Herstellers nicht genannt. Die im nachfolgenden Text untersuchten Kollagenmembranen sind in Tabelle 2 dargestellt.

Morphologie und Abbau-mechanismen verfügbarer Kollagenmembranen

Die Ergebnisse einer kürzlich durchgeführten tierexperimentellen Studie zeigten deutliche histologische Unterschiede hinsichtlich des morphologischen Aufbaus kommerziell erhältlicher Kollagenmembranen [Rothamel, D. et al., 2004]. BG und TD wiesen als einzige Bilayermembranen die Struktur eines interkonnektierenden Porensystems auf. Im Gegensatz zu BG war der Membrankörper von TD jedoch deutlich kompakter, womöglich als Ursache der dichten Struktur des bovinen Perikards. Im Gegensatz hierzu erschien

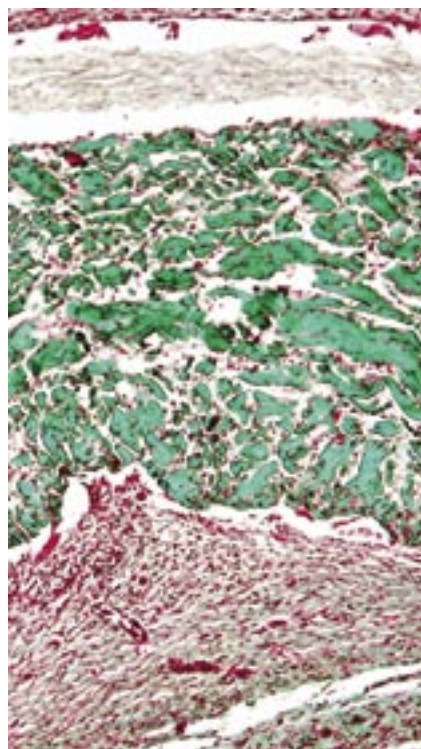


Abb. 1a: BioGide®

der Membrankörper von BM und BME eher geschichtet. Zwischen den Schichten waren weite Hohlräume erkennbar, die nicht miteinander in Verbindung standen. Die histomorphometrische Analyse ergab eine ca. 10 % dickere Membranstruktur von BME gegenüber BM. Von allen untersuchten Produkten zeigte OS den kompaktesten Membrankörper ohne erkennbare Zwischenräume (Abb. 1 a – e) [Schwarz, F. et al., 2004].

Der Abbau kollagener Membranen erfolgt primär enzymatisch durch gewebespezifische Proteasen und Kollagenasen [Tatakis, D. N. et al., 1999]. Weiterhin scheinen jedoch bei der Resorption von nativem und quervernetztem Kollagen in geringem Umfang auch polymorphkernige Granulozyten und Makrophagen beteiligt zu sein [Rothamel, D. et al., 2004; Zhao, S. et al., 2000]. In einer *In-vitro*-Untersuchung wurde beobachtet, dass die Adhärenz der parodontopathogenen Markerkeime *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* und *Treponema denticola* an BM signifikant höher war als an PTFE und ePTFE [Sela, M. N. et al., 1999]. In einer weiteren *In-vitro*-Untersuchung konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass diese Bakterien ebenfalls in der Lage sind, Kollagenasen zu bilden [Sela, M. N. et al., 2003]. Durch die enzymatische Aktivität von *Porphyromonas gingivalis* konnten sowohl BG als auch BM aufgelöst werden. Dagegen war

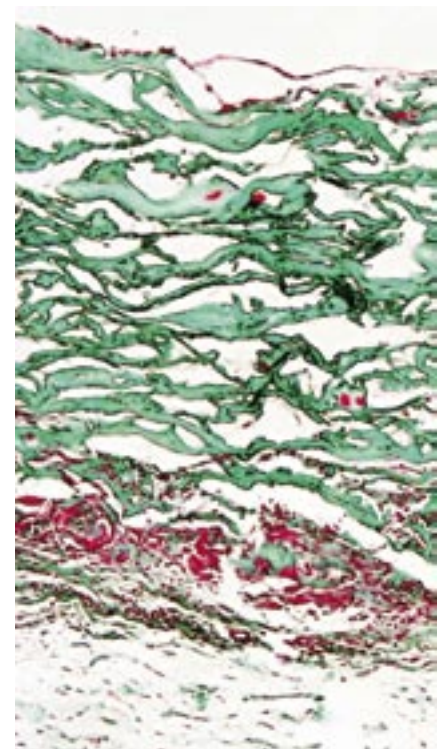


Abb. 1b: BioMend®

Abb. 1: Morphologie verschiedener kollagener Membranen 2 Wochen nach subkutaner Implantation in Ratten (Goldner Trichrome, Originalvergrößerung x 40)

Produktname	Hersteller	Herkunft und Struktur	Vernetzung
BioGide® BioGidePerio® (BG)	Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Schweiz	porkin Typ I und III Kollagen Bilayer	nativ
BioMend® (BM)	Zimmer Dental GmbH, Freiburg, Deutschland	bovin Typ I Kollagen Achillessehne	Glutaraldehyd
BioMend Extend® (BME)	Zimmer Dental GmbH, Freiburg, Deutschland	bovin Typ I Kollagen Achillessehne	Glutaraldehyd
Ossix® (OS)	3i, Colbar R&D Ltd., Ramat Hasharon, Israel	bovin Typ I Kollagen Achillessehne	Polysaccharide
Tutodent® (TD)	Tutogen, Neunkirchen a. B., Deutschland	bovin Typ I Kollagen Perikard Bilayer	nativ

Tabelle 2: Verfügbare Kollagenmembranen

Treponema denticola lediglich in der Lage, BG enzymatisch zu spalten. Der wohl aggressivste Markerkeim *Actinobacillus actinomycetemcomitans* war nicht in der Lage, wirksame Kollagenasen gegen BG und BM zu produzieren [Sela, M. N. et al., 2003]. Aus klinischer Sicht scheinen demnach bestimmte parodontopathogene Bakterien insbesondere nach Exposition an der raschen Biodegradation kollagener Membranen beteiligt zu sein. Im Falle von OS konnte bereits nach 4 Wochen eine vollständige sekundäre Granulation über der

Schleimhautdehiszenz beobachtet werden [Friedmann, A. et al., 2001]. Die Exposition der Membran schien histologisch keinen negativen Einfluss auf die Knochenregeneration zu haben [Friedmann, A. et al., 2002].

Um einer potenziellen Kontamination des Wundbereichs jedoch grundsätzlich entgegenzuwirken, wurde eine Kombination von GBR/GTR-Membranen mit antibakteriellen Wirkstoffen vorgeschlagen. Die Ergebnisse einer kürzlich veröffentlichten *In-vitro*-Untersuchung konnten zeigen,

dass eine mit Chlorhexidin Digluconat benetzte OS-Membran einen inhibitorischen Effekt auf *Actinobacillus actinomycetemcomitans* hatte, der in Abhängigkeit von der Konzentration das Attachment humaner PDL-Fibroblasten nicht negativ beeinflusste [Chen, Y. T. et al., 2003].

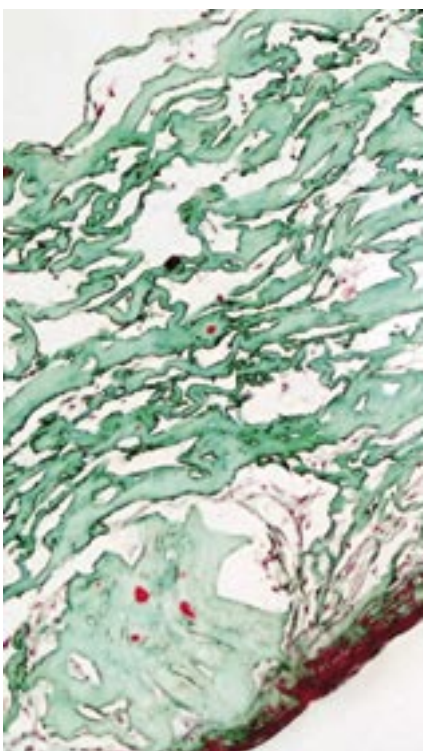


Abb. 1c: BioMend Extend®

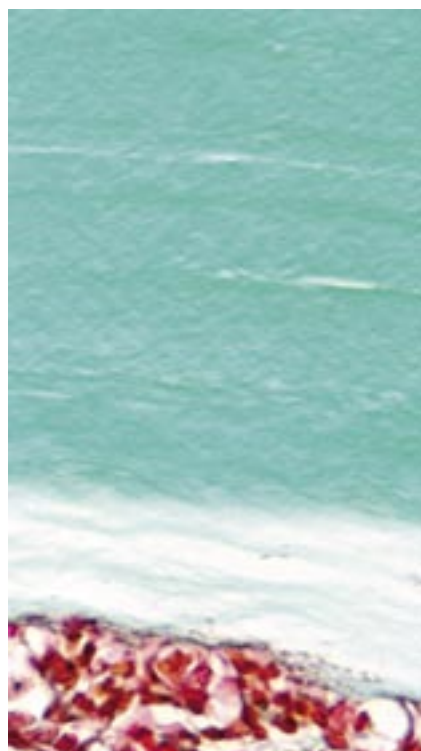


Abb. 1d: Ossix®

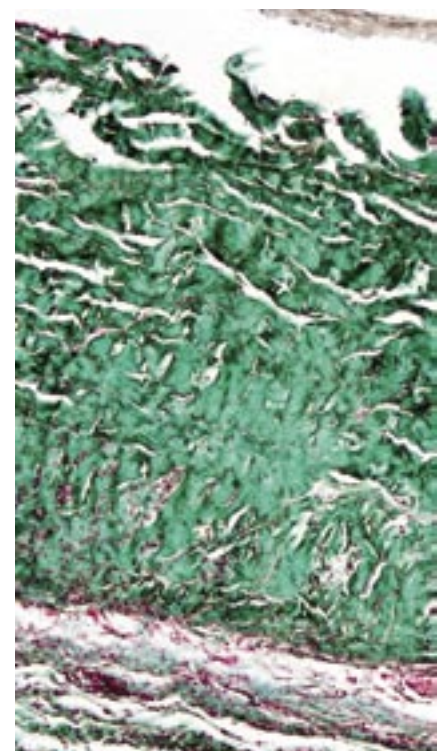


Abb. 1e: Tutodent®

Techniken der Quervernetzung und Auswirkungen auf die Biokompatibilität

Um die Barrierefunktion und Formstabilität kollagener Membranen zu optimieren, werden seit einiger Zeit unterschiedliche Verfahren zur Quervernetzung eingesetzt. Diese reichen von physikalischen Behandlungen mittels Druck, Temperatur und UV-Licht über chemische Verfahren wie Behandlung mit Glutaraldehyd, Diphenylphosphorylazid oder Hexmethylenediisocyanat bis hin zur enzymatischen Quervernetzung über Polysaccharide [Brunel, G. et al., 1996; Bunyaratavej, P. und Wang, H. L., 2001; Kodama, T. et al., 1989; Minabe, M. et al., 1989; Quteish, D. und Dolby, A. E., 1992; Zahedi, S. et al., 1998]. Die Ergebnisse tierexperimenteller Untersuchungen konnten zeigen, dass die Resorption quervernetzter Membranen zum einen signifikant langsamer verläuft als die nicht quervernetzter Membranen [Paul, B. F. et al., 1992; Pitaru, S. et al., 1988] und die Resorptionsdauer zum anderen proportional mit zunehmendem Vernetzungsgrad ansteigt [Brunel, G. et al., 1996]. Bisher existieren nur wenige Untersuchungen, die sich mit der Fragestellung der Biokompatibilitätsestung der hier vorgestellten nativen und quervernetzten Kollagenmembranen in der Zellkultur beschäftigt haben [Rothamel, D.

et al., 2004; Takata, T. et al., 2001 a, 2001 b; Wang, H. L. et al., 2002]. Takata et al. (2001 a) untersuchten Attachment, Proliferation und Differenzierung von aus Ratten isolierten PDL-Fibroblasten. Hierbei wurde beobachtet, dass das initiale Zellattachement nach 1,5 Stunden auf BM im Vergleich zu einer bovinen Typ I Kollagenmembran (TG), Polylaktid/Polyglykolid, oder e-PTFE-Membran signifikant reduziert war. Die Zellproliferation auf BM wurde jedoch nicht negativ beeinflusst. Wang et al. (2002) untersuchten das Attachment von Maus-Osteoblasten (MC3T3-E1-Osteoprogenitor-Zellen) nach 1,5 und 24 Stunden. Eine Zellulose-Ester-Mixtur (MF) zeigte ein statistisch signifikant höheres Zellattachement als die untersuchten Membranen der Testgruppen. Für MF betrug die mittlere Zellzahl pro mm² nach 1,5 Stunden 27,5 ± 2,1 und 67,6 ± 3,6 nach 24 Stunden, wohingegen die mittlere Zellzahl pro mm² für BM nach 1,5 Stunden 14,5 ± 1,4 und 15,4 ± 0,9 nach 24 Stunden betrug. Demnach konnte keine Zellproliferation auf BM festgestellt werden. Takata et al. (2001 b) untersuchten den biologischen Effekt verschiedener GBR/GTR-Membranen auf die Migration von Maus-Osteoblasten (MC3T3-E1-Osteoprogenitor-Zellen). Es wurde beobachtet, dass BM, TG und MF eine vergleichbare Zellmigrationsrate aufwiesen wie die positive Kontrolle (Plastikinsert-

CD). Im Gegensatz hierzu zeigte BG nach 5 Tagen die signifikant geringste Zellmigration [Takata, T. et al., 2001 b]. Erste Untersuchungen mit humanen PDL-Fibroblasten und SaOs-2-Osteoblasten zeigten eine signifikante Reduktion von Attachment und Proliferation auf allen untersuchten Kollagenmembranen im Vergleich zu CD [Rothamel, D. et al., 2004]. Attachment und Proliferation humaner PDL-Fibroblasten zeigten sich nach 7 Tagen in folgender Reihenfolge: CD (434±76) > BG (64±19) = OS (61±8) > TD (44±4) > BM (12±5). Vergleichbare Ergebnisse wurden auch für humane SaOs-Osteoblasten beobachtet: CD (453±92) > BG (94±46) = TD (84±49) > OS (41±23) > BM (0). Somit zeigte BM die statistisch signifikant niedrigste Zellproliferation nach 7 Tagen für PDL-Fibroblasten und gar einen zytotoxischen Effekt auf SaOs-2-Osteoblasten. Die raster-elektronenmikroskopische Untersuchung ergab eine vergleichbare Zellmorphologie der PDL-Fibroblasten sowohl in den Test- als auch den Kontrollgruppen. Die Zellmorphologie der SaOs-2-Osteoblasten, die auf BG, BM, TD und OS kultiviert wurden, zeigten jedoch im Vergleich zur Kontrollgruppe eine geringe Affinität zur Oberfläche mit deutlich erkennbarer Abkuglung des Zellkörpers ohne Ausbildung von Zytoplasmaausläufern [Rothamel, D. et al., 2004].

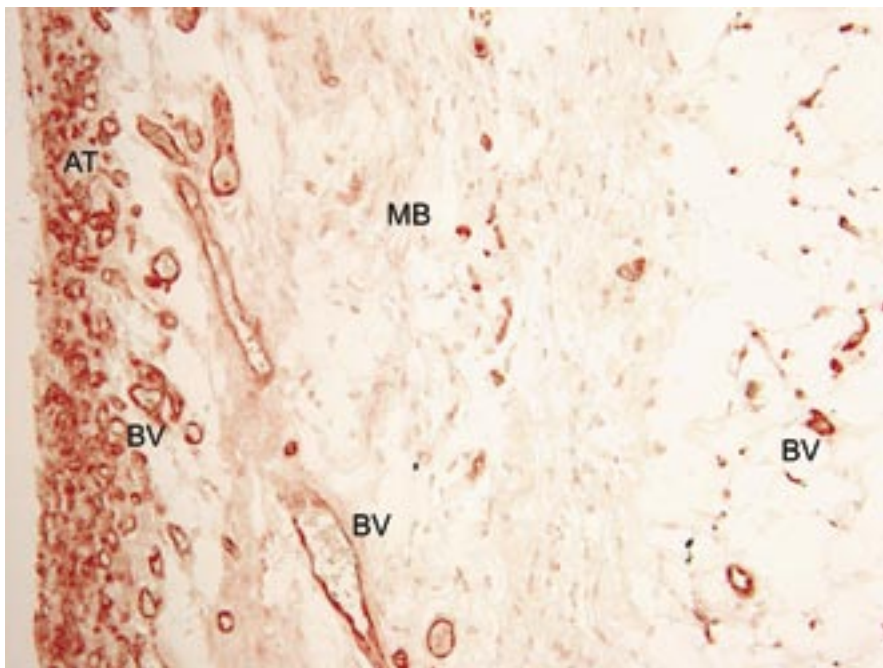


Abb. 2: Immunhistochemische Darstellung der transmembranösen Angiogenese von BG, 2 Wochen nach subkutaner Implantation in der Ratte (Transglutaminase II, Originalvergrößerung x 40) AT = angrenzendes Bindegewebe, BV = Blutgefäße, MB = Membrankörper

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Biodegradation und Angiogenese

Bisher liegen nur wenige Daten aus kontrollierten tierexperimentellen Untersuchungen vor, die einen Anhalt für den Mechanismus der Biodegradation und transmembranösen Angiogenese der hier vorgestellten Kollagenmembranen geben können. Zhao, S. et al. beobachteten erste Resorptionen von BG nach subkutaner Implantation im Rattenmodell bereits nach 4 Tagen. Über den gesamten Versuchszeitraum von 21 Tagen wurde eine deutliche Fremdkörperreaktion um BG beschrieben [Zhao, S. et al., 2000]. In einer weiteren Untersuchung wurde die Resorption von BG im Hundemodell nach palatinaler Implantation über einen Beobachtungszeitraum von 4 Monaten untersucht [Owens, K. W. und Yukna, R. A., 2001]. Die histologische Auswertung zeigte bereits nach 4 Wochen mittelstarke Resorptionerscheinungen, jedoch ohne Anzeichen einer Fremdkörperreaktion. Nach 3 Monaten war die Membran vom umliegenden Gewebe nicht mehr zu unterscheiden [Owens, K. W. und Yukna, R.

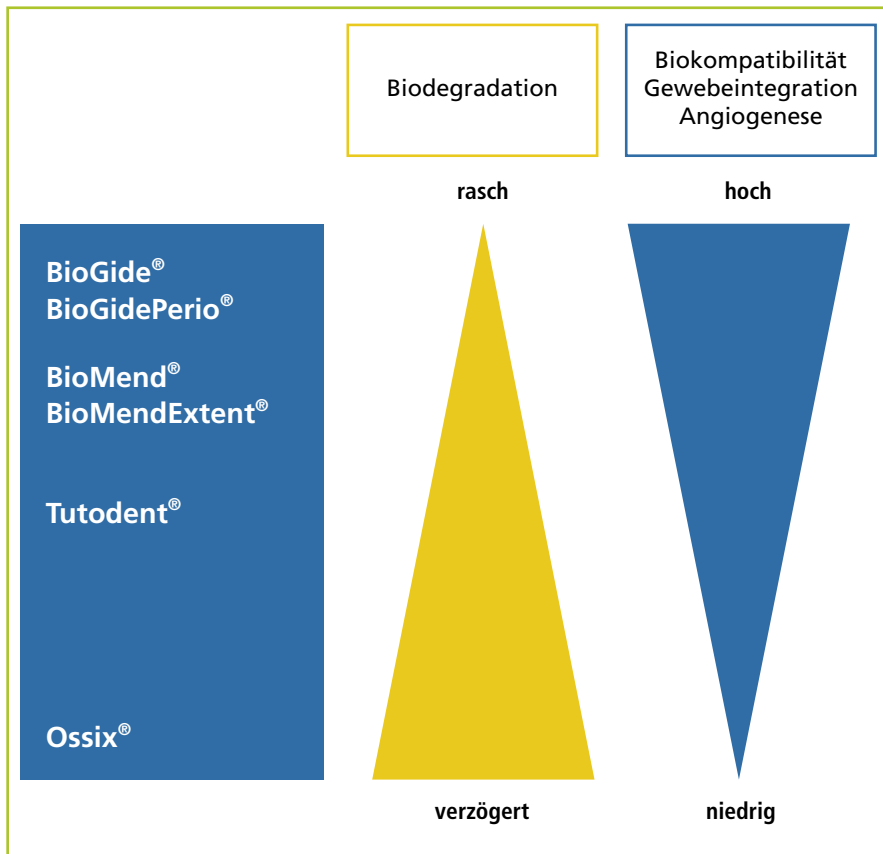


Abb. 3: Einfluss des Ursprungsmaterials sowie der Quervernetzung auf die Membraneigenschaften

A., 2001]. In einer kürzlich durchgeführten tierexperimentellen Untersuchung wurden BG, BM, BME, OS und TD subkutan im Rattenmodell über einen Zeitraum von 24 Wochen untersucht [Rothamel, D. et al., 2005]. Neben der Biodegradation wurden die Gewebeintegration, die Vaskularisation des Membrankörpers sowie das Auftreten mehrkerniger Riesenzellen und Makrophagen als Zeichen einer Fremdkörperreaktion bewertet. Die höchste Gewebeintegration und Vaskularisation zeigte BG, gefolgt von BM, BME und TD. OS war vom umgebenden Bindegewebe durch einen schmalen Spalt getrennt und zeigte erst nach einem Beobachtungszeitraum von 24 Wochen erste Zeichen einer oberflächlichen Vaskularisation und Resorption. Die histomorphometrische Auswertung ergab die nachfolgenden Resorptionszeiten: BG (2 – 4 Wochen), BM und BME (4 – 8 Wochen), TD (8 – 16 Wochen) und OS (> 24 Wochen). Die Biodegradation von BM, BME und TD war von leicht ausgeprägten entzündlichen Reaktionen sowohl im Randbereich als auch im Membrankörper begleitet [Rothamel, D. et al., 2005]. Erste tierexperimentelle Ergebnisse deuten auch darauf hin, dass sich die hier vorge-

stellten Kollagenmembranen mit Hinblick auf die frühzeitige transmembranöse Angiogenese nach subkutaner Implantation im Rattenmodell signifikant unterscheiden [Schwarz, F. et al., 2005]. Eine immunhistochemische Charakterisierung (Transglutaminase II) der initialen Vaskularisation zeigte, dass die transmembranöse Angiogenese von BG bereits nach 2 Wochen abgeschlossen war (Abb. 2). Im Vergleich hierzu waren die Membrankörper von BM, BME und TD erst nach einem Beobachtungszeitraum von 4 bis 8 Wochen angiogenetisch erschlossen. Für OS konnte immunhistochemisch keine Vaskularisation bis zu 24 Wochen nach Implantation nachgewiesen werden [Schwarz, F. et al., 2005]. Welchen Einfluss diese Faktoren auf die Gewebe- und Knochenregeneration haben könnten, muss in weiteren Studien untersucht werden (Abb. 3).

Gesteuerte Geweberegeneration (GTR)

Aufgrund ihrer reduzierten Formstabilität werden insbesondere native Kollagenmembranen häufig mit Knochenersatzmaterialien kombiniert, um einen Kollaps der Membran in das Wundgebiet zu verhindern.

Histologische Untersuchungen

In einer tierexperimentellen Untersuchung im Hundemodell wurde der Einsatz von BG entweder allein oder in Kombination mit einem xenogenen Knochenersatzmaterial (BDX) bei der Behandlung intraossärer parodontaler Defekte untersucht. In beiden Behandlungsgruppen konnte 8 Wochen nach Therapie histologisch eine signifikante Neubildung von Wurzelzement mit inserierenden Kollagenfasern sowie Alveolarknochen beobachtet werden. Die Kombinationstherapie BDX + BG führte jedoch zu einer signifikant größeren Knochenneubildung als BG allein [Yamaha, S. et al., 2002]. Vergleichbare Beobachtungen wurden auch in humanhistologischen Untersuchungen gemacht. So führten sowohl BG allein als auch die Kombination BDX + BG 9 Monate nach GTR-Therapie am Menschen zu einem signifikanten Attachmentgewinn sowie histologisch zu einer Neubildung von Alveolarknochen und Wurzelzement mit inserierenden Kollagenfasern [Camelo, M. et al., 1998]. Die Kombination BDX + BG führte jedoch histologisch zu einer besseren Knochenregeneration als BDX allein [Camelo, M. et al., 1998]. Diese Ergebnisse konnten durch die Kombination von autologem Knochen + BDX + BG zusätzlich verbessert werden [Camelo, M. et al., 2001]. In einem humanhistologischen Fallbericht führte auch die Kombination von BG mit einem Kollagen-beschichteten BDX (BDX-C) zu einer parodontalen Regeneration [Nevins, M. L. et al., 2003]. Im Vergleich zu der Kombination BDX + BG (n = 5 Patienten) führte der Einsatz von BDX-C + BG (n = 3 Patienten) jedoch zu keiner zusätzlichen Verbesserung der Heilung. In beiden Gruppen konnte 6 Monate postoperativ eine vergleichbare Neubildung von Wurzelzement mit inserierenden Kollagenfasern sowie neuem Alveolarknochen histologisch beobachtet werden [Sculean, A. et al., 2004].

In einer tierexperimentellen Untersuchung an Affen (n = 8 Tiere) konnte ebenfalls beobachtet werden, dass bei der Behandlung intraossärer parodontaler Defekte die Kombinationstherapie BM +

humaner, demineralisierter, gefriergetrockneter Knochen (DFDBA) zu einer statistisch signifikant besseren klinischen und histologischen Heilung führte als BM allein [Blumenthal, N. M. et al., 2003].

Klinische Untersuchungen

In einer ersten klinischen Re-entry-Studie wurde die Behandlung intraossärer parodontaler Defekte (n=22 Defekte) 6 Monate nach Applikation von BDX + BG im Vergleich zur Lappenoperation untersucht [Camargo, P. M. et al., 2000]. Die Testbehandlung führte zu einem signifikant größeren Attachmentgewinn als die Kontrollgruppe. Beim Re-entry zeigte die Kombination BDX + BG eine ebenfalls signifikant größere Defektauffüllung (Differenz: $2,67 \pm 0,91$ mm an bukkalen Stellen sowie $2,54 \pm 0,87$ mm an lingualen Stellen) [Camargo, P. M. et al., 2000]. In weiteren kontrollierten klinischen Studien konnten diese Ergebnisse bestätigt werden [Sculean, A. et al., 2003; Zitzmann, N. U. et al., 2003]. Der klinische Einsatz der Kombination BDX + BG führte bei der Behandlung intraossärer parodontaler Defekte 12 Monate postoperativ zu einem signifikant höheren klinischen Attachmentgewinn als die konventionelle Lappenoperation [Sculean, A. et al., 2003]. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch bei der Behandlung angulärer Knochendefekte (n=22 Defekte) über einen Beobachtungszeitraum von 2 Jahren beobachtet [Zitzmann, N. U. et al., 2003]. Beim klinischen Vergleich von BDX + BG und BDX + PLA/PGA konnten bei der Behandlung intraossärer parodontaler Defekte (n=28 Patienten) statistisch signifikante Attachmentgewinne jeweils 12 Monate postoperativ gemessen werden. Da die Unterschiede zwischen beiden Gruppen statistisch nicht signifikant waren, wurde von der Autoren geschlossen, dass das Membranmaterial *per se* kein kritischer Faktor für den Ausgang der Heilung im Rahmen von GTR-Verfahren mit resorbierbaren Membranen darstellt [Stavropoulos, A. et al., 2004]. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch nach der Behandlung intraossärer parodontaler Defekte (n=19 Patienten) mit BM oder PGA/PLA beobachtet. Beide Membrantypen führten beim Re-entry nach 6 Monaten zu einem vergleichbaren Attachmentgewinn [Mattson, J. S. et al., 1999]. In einer kürzlich veröffentlichten multizentrischen Studie konnte weiterhin gezeigt werden, dass 12 Monate nach der Behandlung intraossärer parodontaler Defekte die Kombinationstherapie BDX + BG zu einem signifikant höheren Attachmentgewinn führte als die „Papilla-

Preservation Technique“ allein [Tonetti, M. S. et al., 2004].

Erste klinische Ergebnisse bei der Behandlung mandibulärer Grad-II-Furkationen deuten auch darauf hin, dass die Kombination BDX + BG zu einer signifikant höheren Reduktion der horizontalen Sondierungstiefen führte als die Lappenoperation allein [Houser, B. E. et al., 2001]. Kontroverse Ergebnisse wurden nach dem Einsatz von BM im Vergleich zur Lappenoperation allein bei der Behandlung von Grad-II-Furkationen im Unterkiefer beschrieben [Wang, H. L. et al., 1994]. Während sich zwischen beiden Behandlungsgruppen nach einer Heilungsphase von 6 Monaten keine statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich der klinischen Parameter ergaben, war beim Re-entry jedoch eine signifikant größere knöcherne Defektauffüllung nach dem Einsatz von BM erkennbar.

Bisher existieren keine Daten aus histologischen oder kontrollierten klinischen Studien, die eine Aussage über die parodontale Regeneration nach Einsatz von BME, TD oder OS zulassen.

Gesteuerte Knochenregeneration (GBR)

Histologische Untersuchungen

In einer ersten humanhistologischen Untersuchung (n=6 Patienten) konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe der Kombinationstherapie BDX + BG eine vorhersehbare Augmentation von Kieferkammdefekten im Oberkiefer (OK) möglich ist. Die histologische Untersuchung der im Rahmen von Implantatinsertionen gewonnenen Biopsien nach 6 bis 7 Monaten zeigte einen aktiven Remodellierungsprozess mit Ausbildung von Geflechtknochen sowie Anzeichen einer Resorption von BDX [Zitzmann, N. U. et al., 2001 a]. Ersanli, S. et al. (2004) untersuchten in einem vergleichbaren Studiendesign die Remodellierungsprozess im Ober- und Unterkiefer (UK) nach Applikation von BDX + BG (n=11 Patienten). Während einer durchschnittlichen postoperativen Wundheilungsperiode von 7 Monaten konnte in 3 Fällen eine Membranexposition beobachtet werden, die jedoch nach 8 Tagen komplikationslos über freie Granulation ausheilten. Die histomorphometrische Analyse ergab eine mittlere Knochenneubildung von 46% im OK sowie 75% im UK. Von Norton, M. R. et al., (2003) wurde mit durchschnittlich 27% jedoch eine geringere Knochenneubildung nach dem Einsatz von BDX + BG beschrieben.

In einer vergleichenden tierexperimentellen Untersuchung wurden individuell hergestellte gitterförmige, subperiostale Titanimplantate beidseitig an der Tibia im Kaninchenmodell befestigt [Aaboe, M. et al., 2000]. Der angrenzende kortikale Knochen wurde jeweils punktförmig perforiert und mit BDX bedeckt. Die Abdeckung der Implantate erfolgte mittels BG, ePTFE oder PLA. Nach einer Heilungsperiode von 12 Wochen zeigte die histologische Untersuchung, dass alle Implantate vergleichbar osseointegriert waren. Im Vergleich zur ePTFE-Membran wiesen sowohl die BG- als auch PLA-Membranen einen gering ausgeprägten Kollaps in das Wundgebiet auf. In beiden Fällen waren geringe Resorptionszeichen des neu gebildeten Knochens nachweisbar [Aaboe, M. et al., 2000]. Der alleinige Einsatz von BG führte in einer histologischen Untersuchung nach GBR-Verfahren um dehiszente Implantate in *Macac-fascicularis*-Affen zu einer signifikant geringeren Knochenneubildung als die Kombinationen BG + BDX oder e-PTFE + BDX. Die Unterschiede zwischen BG + BDX und e-PTFE + BDX waren statistisch nicht signifikant [Hürzeler, M. B. et al., 1998]. Der Einfluss einer Membranunterstützung von BG auf die periimplantäre Knochenneubildung wurde auch in einer tierexperimentellen Studie im Hundemodell (n=3 Tiere) untersucht [Hockers, T. et al., 1999]. Hierzu erfolgte eine standardisierte Präparation knöcherner Defekte nach Implantatinsertion im Unterkiefer unter Verwendung des Split-mouth Designs (n=6 Implantate pro Tier). Diese Defekte wurden mit nachfolgenden Therapieformen behandelt: BDX + BG, autologer Knochen (AB) + BG, unbehandelte Kontrolldefekte. Nach einer Heilungsperiode von 16 Wochen ergab die histomorphometrische Analyse eine vergleichbare horizontale und vertikale Knochenneubildung für die Kombinationen BDX + BG (81%, 78%) und AB + BG (82%, 69%). Im Gegensatz hierzu war die horizontale und vertikale Knochenneubildung nach Einsatz von BG allein (78%, 45%) sowie in der unbehandelten Kontrollgruppe (21%, 22%) reduziert. Der direkte Knochen-Implantat-Kontakt war mit 17 bis 20% jedoch in allen Testgruppen vergleichbar und höher als in der Kontrollgruppe (12%) [Hockers, T. et al., 1999]. Ähnliche Ergebnisse wurden nach regenerativen Therapieverfahren Ligatur-induzierter periimplantärer Infektionen im Hundemodell beobachtet. Nach einer Beobachtungszeit von 5 Monaten zeigte die histomorphometrische Auswertung die größte vertikale Knochenneubildung



Abb. 4 a

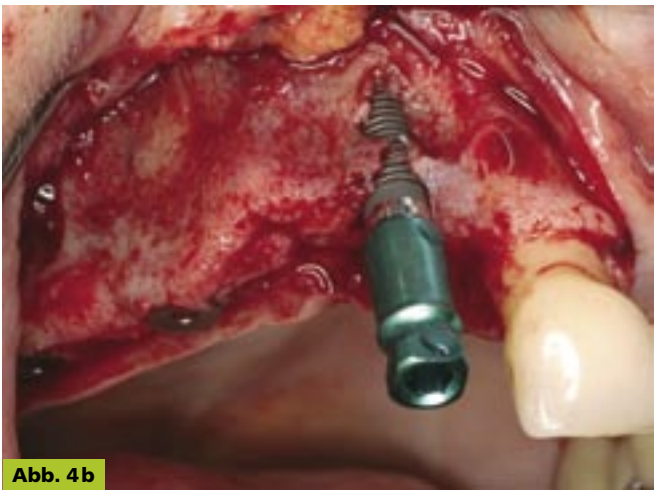


Abb. 4 b



Abb. 4 c



Abb. 4 d



Abb. 4 e

Abb. 4 a: Unilaterale Freiendsituation von 12 bis 017. Für eine gute Ästhetik ist eine vertikale Augmentation in regio 013 und eine Kieferkammerverbreiterung notwendig.

Abb. 4 b: Z. n. Implantatinsertion in regio 013, 015 und 017 mit deutlich erkennbarem bukkalem Dehiszenzdefekt an Implantat 013. Der Defekt wurde vestibulär mit autologem Knochen und BDX nach Anbringen kleinerer Perforationen im Bereich der Außenkortikalis augmentiert. Zur vertikalen Augmentation und Abstützung der Membran wurde eine Memfix-Osteosyntheseschraube in regio 013 inseriert. Der gesamte Defekt wurde mit BM abgedeckt.

Abb. 4 c: Die postoperative Röntgenaufnahme zeigt die vertikale Augmentation und das Knochenersatzmaterial.

Abb. 4 d: Die klinische Situation nach einem Heilungsintervall von 4 Monaten zeigte eine deutliche vertikale und horizontale Augmentation.

Abb. 4 e: Beim Re-entry war eine vollständige knöcherne Auffüllung beider Defektkomponenten erkennbar. Während im Bereich der vertikalen Augmentation eine knöcherne Regeneration zu beobachten war, war das vestibuläre Augmentat in regio 013 noch nicht vollständig ossär regeneriert.



Abb. 5a: Zustand nach Implantation in regio 012 und 013 mit Kieferkammspreizung und Perforation der vestibulären Kortikalis



Abb. 5b: Augmentation mit autologem Knochen aus dem KF-T3-Filter



Abb. 5c: Abdeckung des Augmentats mit einer BG-Membran

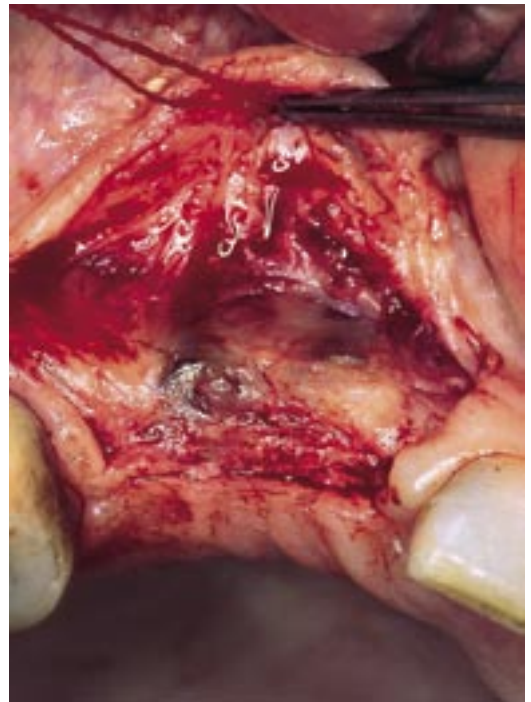


Abb. 5d: Re-entry nach 4 Monaten im Rahmen der Freilegung. Deutlich ist die ossäre Regeneration zu erkennen, das autologe Augmentat hat über 50 % seines Volumens verloren, da es nicht mit einem Knochenersatzmaterial stabilisiert wurde. Die Perforation der Kortikalis ist vollständig regeneriert.

für BDX + BG (27,77 %), gefolgt von BG allein (21,78 %), BDX allein (21,26 %), ePTFE + BDX (19,57 %), ePTFE allein (18,86 %). Die alleinige Defektreinigung führte zu einer vertikalen Knochenneubildung von 14,03 %. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren statistisch jedoch nicht signifikant [Nociti, F. H., Jr. et al., 2001 a]. Auch der direkte Knochen-Implantat-Kontakt (Reosseointegration) war zwischen allen Gruppen statistisch nicht signifikant unterschiedlich [Nociti, F. H., Jr. et al., 2001 b]. In einer weiteren tierexperimentellen Untersuchung im Hundemodell wurde ebenfalls beobachtet, dass der zusätzliche Einsatz von BG zu BDX zu keiner signifikanten Verbesserung der knöchernen Regeneration bukkaler Dehiszenzdefekte führte als BDX allein [Botticelli, D. et al., 2004].

Die Kombination BDX + OS wurde ebenfalls mit der Standardtherapie BDX + ePTFE im Rahmen von GBR-Verfahren in Menschen verglichen. Die histomorphometrische Analyse zeigte 7 Monate postoperativ eine vergleichbare Knochenneubildung in beiden Behandlungsgruppen. Die Struktur von OS war nach diesem Zeitraum jedoch noch deutlich erkennbar [Friedmann, A. et al., 2002]. Bisher existiert nur eine tierexperimentelle Untersuchung, die BG und BME bei der Behandlung periimplantärer Dehiszenzdefekte miteinander verglichen haben [Oh, T. J. et al., 2003]. Beide Membranen führten nach 16 Wochen im Vergleich zur Kontrollgruppe (ohne Membran) zu einer statistisch signifikant höheren Knochenneubildung sowie einem größeren Knochen zu Implantat-Kontakt (Abb. 4 a – e).

Klinische Untersuchungen

In ersten klinischen Fallstudien wurde der Einsatz von BDX + BG bei der Therapie periimplantärer Dehiszenzdefekte untersucht. [Hürzeler, M. B. et al., 1996] beobachteten beim Re-entry nach einer Heilungsphase von 6 Monaten (n=15 Patienten) eine komplette knöcherne Defektauffüllung bei 22 von 35 Implantaten. Vergleichbare Ergebnisse wurden ebenfalls von Hämmerle, C. H. und Lang, N. P. (2001) nach dem Einsatz von BDX + BG bei der Behandlung von bukkalen Dehiszenzdefekten nach Implantatinsertion (n=10 Patienten) im Rahmen einer transgingivalen Einheilung beschrieben. Beim Re-entry nach 6 Monaten konnte beobachtet werden, dass sich die mittlere Defektausdehnung von $3,6 \pm 1,6$ mm zu Beginn auf $2,5 \pm 0,6$ mm statistisch signifikant verringert hatte. Die knöcherne Bedeckung ehemals exponierter Implantatanteile betrug im Mittel

86 % [Hämmerle, C. H. und Lang, N. P., 2001]. Tawil, G. et al. (2001 a) beobachteten beim Re-entry (n=17 Patienten) nach 16 bis 32 Wochen ebenfalls eine knöcherne Defektausheilung von 87,6% nach dem Einsatz von BDX + BG an ehemals dehiszenten Titanimplantaten. In einer ersten kontrollierten klinischen Untersuchung zur Behandlung periimplantärer Dehiszenzdefekte im Menschen wurden die Kombinationen BDX + BG und BDX + ePTFE im Split-mouth Design miteinander verglichen [Zitzmann, N. U. et al., 1997]. Beim Re-entry wurde in der Gruppe BDX + BG eine knöcherne Defektauffüllung von 92 % und in der Kontrollgruppe von 78 % beobachtet. Insgesamt führte der Einsatz der ePTFE-Membran in 44 % der Fälle zu einer Membranexposition, die mit einer frühzeitigen Entfernung der Membran verbunden war [Zitzmann, N. U. et al., 1997]. Nach einer Beobachtungszeit von 5 Jahren betrug das mittlere marginale Knochenniveau in der BDX- + BG-Gruppe 1,83 mm sowie 2,21 mm in der BDX + ePTFE. Die Überlebensrate der augmentierten Implantate war mit 93 bis 97 % in beiden Gruppen vergleichbar [Zitzmann, N. U. et al., 2001 b] (Abb. 5 a – d). Erste klinische und histologische Untersuchungen deuten auch darauf hin, dass mit Kombination BDX + BG eine erfolgreiche Sinusbodenelevation durchgeführt werden kann [Hallman, M. et al., 2002]. Die Kombinationstherapie BDX + BG führte jedoch zu besseren klinischen Ergebnissen mit Hinblick auf die Implantatüberlebensrate als die Applikation von BDX allein (93,1 % vs. 78,1 % nach 22,4 Monaten) [Tawil, G. und Mawla, M., 2001 b].

Bisher existieren keine Daten aus histologischen oder kontrollierten klinischen Studien, die eine Aussage über den Einsatz von TD im Rahmen von GBR-Verfahren zulassen.

Fazit für die Praxis

Durch verschiedenste Arten der Quervernetzung kann heutzutage die Resorptionsdauer von nativem Kollagen gesteigert werden. Im Falle vom bovines Kollagen Typ I führt die Vernetzung mit Glutaraldehyd (BM und BME) jedoch unter *In-vitro*-Bedingungen zu einer signifikanten Abnahme der Biokompatibilität. Dagegen scheinen natives Kollagen sowie die Vernetzung über Polysaccharide keinen negativen Einfluss auf die Zellanlagerung und Proliferation zu haben. Weiterhin zeigten alle hier vorgestellten Kollagenmembranen im Rahmen des Abbauvorganges eine leicht ausgeprägte Fremdkörperreaktion. Die zu erwartende Resorptionsdauer liegt für BG bei ca. 4 Wochen, für BM und BME bei ca. 4 bis 8 Wochen und für TD bei ca. 8 bis 16 Wochen. Die Biodegradation von OS erscheint anhand derzeit vorliegender Daten als fragwürdig. Neben einem Abbau durch gewebespezifische Proteasen und Kollagenasen scheinen spezielle parodontopathogene Markerkeime an der Biodegradation kollagener Membranen beteiligt zu sein. Diese Tatsache könnte womöglich als Erklärung für den komplikationslosen klinischen Verlauf nach einer Membran-Exposition dienen. Histologische sowie kontrollierte klinische Studien zur GTR-Therapie liegen derzeit nur für BG und in begrenztem Umfang für BM vor. Der Einsatz dieser Membranen kann die parodontale Regeneration fördern. Es gibt jedoch bisher keine klare Evidenz über den Vorteil einer Kombinationstherapie mit Knochenersatzmaterialien gegenüber den Einzeltherapien. Histologische und kontrollierte klinische Studien zur GBR-Therapie liegen derzeit nur für BG und in begrenztem Umfang für OS vor. Durch den Einsatz dieser Membranen können Kieferkammdefekte sowie bukkale Dehiszenzdefekte bei der Implantatinsertion vorhersehbar regeneriert werden. Durch die Kombination mit autologem Knochen oder BDX kann das Heilungsergebnis positiv beeinflusst werden. Das Membran-Material *per se* scheint jedoch keinen unmittelbaren Einfluss auf die zu erwartende Gewebe- oder Knochenregeneration zu haben.

Literatur bei den Verfassern