

---

# Forschung · Wissenschaft Recherche · Science

**Editor-in-chief**  
**Chefredaktor**  
**Rédacteur en chef**  
Jürg Meyer, Basel

**Editors**  
**Redaktoren**  
**Rédacteurs**  
Urs Belser, Genève  
Rudolf Gmür, Zürich  
Peter Hotz, Bern

**Assistant Editor**  
**Redaktions-Assistent**  
**Rédacteur assistant**  
Tuomas Waltimo, Basel

## **Advisory board / Gutachtergremium / Comité de lecture**

T. Attin, Zürich  
P. Baehni, Genève  
J.-P. Bernard, Genève  
C.E. Besimo, Basel  
M. Bornstein, Bern  
D. Bosshardt, Bern  
S. Bouillaguet, Genève  
U. Brägger, Bern  
D. Buser, Bern  
M. Cattani, Genève  
B. Ciucchi, Genève  
K. Dula, Bern  
D. Ettl, Zürich  
G. Eyrich, Zürich  
A. Filippi, Basel  
J. Fischer, Zürich  
L.M. Gallo, Zürich  
U. Gebauer, Bern  
R. Glauser, Zürich  
W. Gnoinski, Zürich  
T. Göhring, Zürich  
K.W. Grätz, Zürich  
Ch. Hämmerle, Zürich

N. Hardt, Luzern  
T. Imfeld, Zürich  
K.H. Jäger, Basel  
J.-P. Joho, Genève  
R. Jung, Zürich  
S. Kiliaridis, Genève  
I. Krejci, Genève  
J.Th. Lambrecht, Basel  
N.P. Lang, Bern  
T. Lombardi, Genève  
H.U. Luder, Zürich  
A. Lussi, Bern  
H. Lüthy, Basel  
C. Marinello, Basel  
G. Menghini, Zürich  
R. Mericske-Stern, Bern  
J.-M. Meyer, Chêne-Bougeries  
A. Mombelli, Genève  
W. Mörmann, Zürich  
F. Müller, Genève  
S. Palla, Zürich  
S. Paul, Zürich  
T. Peltomäki, Zürich

M. Perrier, Lausanne  
B. Pjetursson, Bern  
M. Ramseier, Bern  
M. Richter, Genève  
H.F. Sailer, Zürich  
G. Salvi, Bern  
J. Samson, Genève  
U.P. Saxer, Zürich  
J.-P. Schatz, Genève  
S. Scherrer, Genève  
P. Schüpbach, Horgen  
J. Türp, Basel  
H. van Waas, Zürich  
P. Velvart, Zürich  
T. von Arx, Bern  
F. Weber, Zürich  
R. Weiger, Basel  
A. Wichelhaus, Basel  
A. Wiskott, Genève  
H.F. Zeilhofer, Basel  
N.U. Zitzmann, Basel

**Publisher**  
**Herausgeber**  
**Editeur**  
Schweizerische Zahnärzte-Gesellschaft SSO  
Société Suisse d'Odonto-Stomatologie  
CH-3000 Bern 7

**Adresse der wissenschaftlichen Redaktion**  
Prof. Jürg Meyer  
Universitätskliniken für Zahnmedizin  
Institut für Präventivzahnmedizin und Orale Mikrobiologie  
Hebelstr. 3  
4056 Basel

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

## ▼ Zusammenfassung

Die physikochemischen Anforderungen an eine Membran, welche für GBR-/GTR-Verfahren eingesetzt werden soll, umfassen u. a. Biokompatibilität, Gewebeintegration, Barrierefunktion und Formstabilität. Neuerdings befassen sich viele Untersuchungen mit dem Einsatz von bovinem und porkinem Kollagen Typ I und III. Der Abbau kollagener Membranen erfolgt primär enzymatisch durch gewebespezifische Proteasen und Kollagenasen. Um die Resorptionsdauer zu erhöhen, werden verschiedene physikalische und chemische Verfahren zur Quervernetzung eingesetzt. Obwohl diese Verfahren heutzutage standardmässig zum Einsatz kommen, ist deren Einfluss auf die physikochemischen Eigenschaften der Membranen weitestgehend unbekannt. Das Ziel des vorliegenden Übersichtsartikels ist es, auf Grundlage bestehender Evidenz den potenziellen Einsatz verschiedener kollagener Membranen für GBR-/GTR-Verfahren zu bewerten.

Schweiz Monatsschr Zahnmed 116: 1112–1123 (2006)

Schlüsselwörter: gesteuerte Geweberegeneration, gesteuerte Knochenregeneration, Kollagenmembran, Quervernetzung

Zur Veröffentlichung angenommen: 27. Juli 2006

FRANK SCHWARZ<sup>1</sup>, MARTIN SAGER<sup>2</sup>, DANIEL ROTHAMEL<sup>1</sup>, MONIKA HERTEN<sup>1</sup>, ANTON SCULEAN<sup>3</sup> und JÜRGEN BECKER<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Poliklinik für Zahnärztliche Chirurgie und Aufnahme, Westdeutsche Kieferklinik, Heinrich Heine Universität, Düsseldorf

<sup>2</sup> Tierversuchsanlage, Heinrich Heine Universität, Düsseldorf

<sup>3</sup> Abteilung für Parodontologie, Radboud Universität, Nijmegen, Niederlande

## 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. Der Einsatz

Korrespondenzadresse:

PD Dr. Frank Schwarz

Poliklinik für Zahnärztliche Chirurgie und Aufnahme  
Westdeutsche Kieferklinik, Heinrich Heine Universität  
D-40225 Düsseldorf

Tel. 0211 8118149, Fax 0211 1713542

E-Mail: info@frank-schwarz.de

von mechanischen Barrieremembranen spielt bei diesen Prozessen eine entscheidende Rolle (DAHLIN et al. 1988, GOTTLAW et al. 1986, HÄMMERLE & KARRING 1998, HÄMMERLE & LANG 2001, KARRING et al. 1993). Die erste getestete Generation von Barrieremembranen bestand aus nicht resorbierbaren Materialien wie z. B. einem Zellulose-Ester (Milipore®-Filter) sowie aus expandiertem Polytetrafluorethylen (ePTFE) (GOTTLAW et al. 1984, 1986, KARRING et al. 1993, NYMAN et al. 1982). In einer ersten humanhistologischen Untersuchung von NYMAN et al. (1982) konnte drei Monate nach Applikation einer Milipore®-Filter-Membran 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 (GOTTLAW 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 et al. 1993, KARRING et al. 1993, PONTORIERO et al. 1988, 1992, SELVIG et al. 1992). Das Prinzip der GBR/GTR konnte auch erfolgreich für die Regeneration knöcherner Defekte eingesetzt werden (DAHLIN et al. 1988). Hierbei konnten durch den Einsatz einer nicht resorbierbaren Teflon®-Membran standardisierte mandibuläre Defekte in Ratten im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe knöchern regeneriert werden (DAHLIN et al. 1988).

Ein Nachteil nicht resorbierbarer 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 et al. 1983). Weiterhin wurde im Zusammenhang mit ePTFE-Membranen häufig von einer Spontanperforation der bedeckenden Schleimhaut berichtet, die unweigerlich zu einer bakteriellen Kontamination der Membran führt und deren frühzeitige Entfernung erfordert (SELVIG et al. 1992, TEMPRO & NALBANDIAN 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 & CATON 1993, HUTMACHER et al. 1996, KOHAL et al. 1998, MAGNUSSON et al. 1988). Zunehmend wird über den Einsatz von Membranen berichtet, die aus bovinem und porkinem Kollagen Typ I und III gewonnen werden (BUNYARATAVEJ & WANG 2001).

### Anforderungen an Membranen für GBR-/GTR-Verfahren

Ein Material, welches 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 et al. 1993). Auf der Basis zahlreicher experimenteller Untersuchungen im Hundemodell konnte unter Verwendung eines supraalveolären Defektmodells (WIKESJÖ 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 & NILVEUS 1990, WIKESJÖ et al. 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 vier Wochen vorwiegend durch die Ausbildung eines langen Saumepithels charakterisiert. Im Vergleich hierzu konnte durch den zusätzlichen Einsatz einer ePTFE-Membran (HANEY et al. 1993) oder die Einlage eines PLA-Implantates (WIKESJÖ & NILVEUS 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 von deren Abbauprodukten stellt 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 davon, 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. 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 darstellt (SOMERMAN et al. 1991).

Experimentelle und klinische Untersuchungen ergaben, dass das Ausmass der Regeneration von der Morphologie des Knochendefekts beeinflusst werden kann (GOTTLAW et al. 1984, KARRING et al. 1993, SELVIG et al. 1993). In Abhängigkeit von der Konfiguration 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.

Neuerdings wird auch auf die Wichtigkeit einer frühzeitigen transmembranösen Angiogenese hingewiesen. In einer tierexperimentellen Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die Ausbildung von Blutkapillaren in einer unmittelbaren räumlichen sowie zeitlichen Korrelation zu einer extraskelettalen Knochenneubildung stand (SCHMID et al. 1997). Diese Beobachtung kann mithilfe 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 et al. 1995, REILLY et al. 1998, RICKARD et al. 1996). Aufgrund dieser Untersuchung könnte man schlussfolgern, dass eine frühzeitige transmembranöse Vaskularisation, welche 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 et al. 1990, SCHMID et al. 1994). LUNDGREN et al. (2000) konnten in einer tierexperi-

Tab. I Anforderungen an Membranen für GBR-/GTR-Verfahren

Anforderung	Bedeutung
1. Biokompatibilität	beeinflusst Zellattachment, Proliferation und Gewebeintegration reduziert/verhindert entzündliche Abbaugänge, 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

mentellen Untersuchung jedoch zeigen, dass eine Dekortikation im Bereich der Calvaria von Kaninchen zu keiner Verbesserung der Knochenneubildung führte im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Dekortikation. Bisher existieren jedoch noch keine experimentellen Untersuchungen, die sich mit dem Einfluss der Angiogenese auf den Heilungsverlauf befasst 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 (Tab. I).

## 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 mindestens 19 unterschiedliche Kollagenvarianten. In kochendem Wasser sind sie löslich und bilden Leim, woher sich ihr latei-

nischer Name ableitet (kolla = Leim). Sie quellen nach Zugabe von Säure, lösen sich in Laugen auf und lassen sich durch Pepsin 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 et al. 1996, LOCCI et al. 1997, POSTLETHWAITE et al. 1978, YAFFE et al. 1984). Ein Nachteil des nativen Kollagens ist jedoch dessen geringe Stabilität aufgrund einer raschen Biodegradation durch gewebespezifische Proteasen, Kollagenasen und Makrophagen (TATAKIS 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 vonseiten des Herstellers nicht genannt. Die im nachfolgenden Text untersuchten Kollagenmembranen sind in Tabelle II dargestellt.

## Morphologie und Abbaumechanismen verfügbarer Kollagenmembranen

Die Ergebnisse einer kürzlich durchgeführten tierexperimentellen Studie zeigten deutliche histologische Unterschiede hinsichtlich des morphologischen Aufbaus kommerziell erhältlicher Kollagenmembranen (ROTHAMEL et al. 2005). BioGide® (BG) und Tutodent® (TD) wiesen als einzige Bilayer-Membranen die Struktur eines interkonnektierenden Porensystems auf. Im Gegensatz zu BG war die TD-Membran jedoch deutlich kompakter, womöglich als Ursache der dichten Struktur des bovinen Perikards. Im Gegensatz hierzu erschienen die Biomend®- (BM) und Biomend-Extend®- (BME) Membranen 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 ge-

Tab. II Verfügbare Kollagenmembranen

Produktname	Hersteller	Herkunft und Struktur	Vernetzung
BioGide® BioGidePerio® (BG)	Geistlich Pharma AG, Wollhusen, 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 Husharon, Israel	bovin Typ I-Kollagen Achillessehne	Polysaccharide
Tutodent® (TD)	Tutogen, Neunkirchen a. B., Deutschland	bovin Typ I-Kollagen Perikard Bilayer	nativ



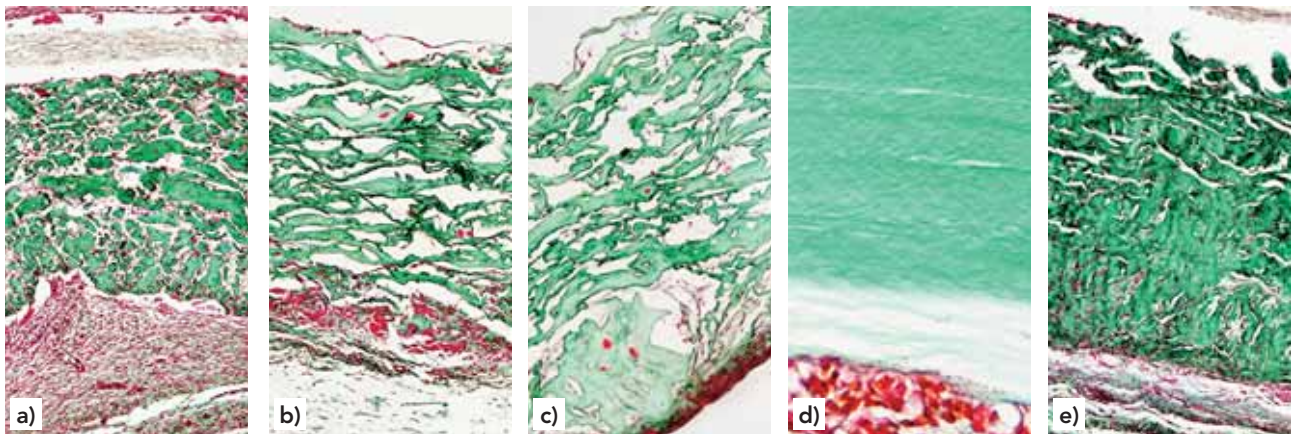


Abb. 1 Morphologie verschiedener kollagener Membranen zwei Wochen nach subkutaner Implantation in Ratten; a) BioGide®, b) BioMend®, c) BioMend Extend®, d) Ossix®, e) Tutodent® (Goldner Trichrome, Originalvergrößerung  $\times 40$ ).

genüber BM. Von allen untersuchten Produkten zeigte Ossix® (OS) die kompakteste Struktur ohne erkennbare Zwischenräume (Abb. 1a–e) (SCHWARZ et al. 2004).

Der Abbau kollagener Membranen erfolgt primär enzymatisch durch gewebespezifische Proteasen und Kollagenasen (TATAKIS 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 et al. 2005, ZHAO 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 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 et al. 2003). Durch die enzymatische Aktivität von *P. gingivalis* wurden sowohl BG als auch BM aufgelöst. Dagegen war *T. denticola* lediglich in der Lage, BG enzymatisch zu spalten. Der wohl aggressivste Markerkeim *A. actinomycetemcomitans* war nicht in der Lage, wirksame Kollagenasen gegen BG und BM zu produzieren (SELA 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 vier Wochen eine vollständige sekundäre Granulation über der Schleimhautdehiszenz beobachtet werden (FRIEDMANN et al. 2001). Die Exposition der Membran schien histologisch keinen negativen Einfluss auf die Knochenregeneration zu haben (FRIEDMANN 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 *A. actinomycetemcomitans* hatte, welcher in Abhängigkeit von der Konzentration das Attachment humaner PDL-Fibroblasten nicht negativ beeinflusste (CHEN et al. 2003).

### 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 Hexamethylenediisocyanat bis hin zur enzymatischen Quervernetzung über Polysaccharide (BRUNEL et al. 1996, BUNYARATAVEJ & WANG 2001, KODAMA et al. 1989, MINABE et al. 1989, QUTEISH & DOLBY 1992, ZAHEDI et al. 1998). Die Ergebnisse tierexperimenteller Untersuchungen zeigten, dass die Resorption quervernetzter Membranen zum einen signifikant langsamer verläuft als die nicht quervernetzter Membranen (PAUL et al. 1992, PITARU et al. 1988, VON ARX et al. 2005) und die Resorptionsdauer zum anderen proportional mit zunehmendem Vernetzungsgrad ansteigt (BRUNEL et al. 1996). Bisher existieren nur wenige Untersuchungen, die sich mit der Fragestellung der Biokompatibilitätstestung der hier vorgestellten nativen und quervernetzten Kollagenmembranen in der Zellkultur beschäftigt haben (ROTHAMEL et al. 2004, TAKATA et al. 2001a, b, WANG et al. 2002). TAKATA et al. (2001a) untersuchten Attachment, Proliferation und Differenzierung von aus Ratten isolierten PDL-Fibroblasten. Hierbei wurde beobachtet, dass das initiale Zellattachment nach 1,5 h auf BM im Vergleich zu einer bovinen Typ-I-Kollagen-Membran (TG), Polylaktid-/Polyglykolid-, oder ePTFE-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 h. Eine Zellulose-Ester-Mixtur (MF) zeigte ein statistisch signifikant höheres Zellattachment als die untersuchten Membranen der Testgruppen. Für MF betrug die mittlere Zellzahl pro  $\text{mm}^2$  nach 1,5 h  $27,5 \pm 2,1$  und nach 24 h  $67,6 \pm 3,6$ , wohingegen die mittlere Zellzahl pro  $\text{mm}^2$  für BM nach 1,5 h  $14,5 \pm 1,4$  und  $15,4 \pm 0,9$  nach 24 h betrug. Demnach konnte keine Zellproliferation auf BM festgestellt werden. TAKATA et al. (2001b) 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 fünf Tagen die signifikant geringste Zellmigration (TAKATA et al. 2001b). 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 et al. 2004). Attachment und Proliferation humaner PDL-Fibroblasten zeigten

sich nach sieben Tagen in folgender Reihenfolge: CD ( $434 \pm 76$ ) > BG ( $64 \pm 19$ ) = OS ( $61 \pm 8$ ) > TD ( $44 \pm 4$ ) > BM ( $12 \pm 5$ ). Vergleichbare Ergebnisse wurden auch für humane SaOs-Osteoblasten beobachtet: CD ( $453 \pm 92$ ) > BG ( $94 \pm 46$ ) = TD ( $84 \pm 49$ ) > OS ( $41 \pm 23$ ) > BM (0). Somit zeigte BM die statistisch signifikant niedrigste Zellproliferation nach sieben Tagen für PDL-Fibroblasten und gar einen zytotoxischen Effekt auf SaOs-2-Osteoblasten. Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung ergab eine vergleichbare Zellmorphologie der PDL-Fibroblasten sowohl in den Test- als auch den Kontrollgruppen. Die Zellmorphologie der SaOs-2-Osteoblasten, welche 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 et al. 2004).

### Tierexperimentelle Untersuchungen zur Biodegradation und Angiogenese

Bisher liegen nur wenige Daten aus kontrollierten tierexperimentellen Untersuchungen vor, die einen Anhaltspunkt für den Mechanismus der Biodegradation und transmembranösen Angiogenese der hier vorgestellten Kollagenmembranen geben können. ZHAO et al. (2000) beobachteten erste Resorptionen von BG nach subkutaner Implantation im Rattenmodell bereits nach vier Tagen. Über den gesamten Versuchszeitraum von 21 Tagen wurde eine deutliche Fremdkörperreaktion um BG beschrieben (ZHAO et al. 2000). In einer weiteren Untersuchung wurde die Resorption von BG im Hundemodell nach palatinaler Implantation über einen Beobachtungszeitraum von vier Monaten untersucht (OWENS & YUKNA 2001). Die histologische Auswertung zeigte bereits nach vier Wochen mittelstarke Resorptionserscheinungen, jedoch ohne Anzeichen einer Fremdkörperreaktion. Nach drei Monaten war die Membran vom umliegenden Gewebe nicht mehr zu unterscheiden (OWENS & YUKNA 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 et al. 2005). Neben der Biodegradation wurden die Gewebeintegration, die Vaskularisation der Membran sowie das Auftreten mehrkerniger Riesenzellen und Makrophagen als Zeichen einer Fremdkörperreaktion bewertet (Abb. 2). Die höchste Gewebeintegration und Vaskularisation zeigte BG, gefolgt von BM, BME und TD. OS war vom umgebenden Bindegewebe durch einen

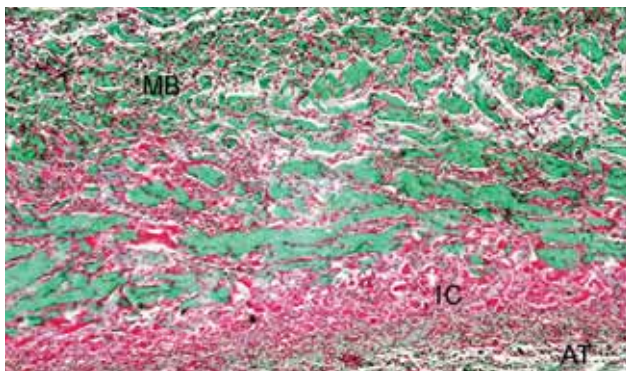


Abb. 2 Entzündungsreaktion im Randbereich einer chemisch quervernetzten Kollagenmembran zwei Wochen nach subkutaner Implantation in der Ratte (Goldner Trichrome, Originalvergrößerung  $\times 200$ ). AT = angrenzendes Bindegewebe, IC = entzündliches Zellinfiltrat, MB = Membran.

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 (zwei bis vier Wochen), BM und BME (vier bis acht 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 Inneren der Membran begleitet (ROTHAMEL et al. 2005). Erste tierexperimentelle Ergebnisse deuten auch darauf hin, dass sich die hier vorgestellten Kollagenmembranen mit Hinblick auf die frühzeitige transmembranöse Angiogenese nach subkutaner Implantation im Rattenmodell signifikant unterscheiden (SCHWARZ et al. 2006). Eine immunhistochemische Charakterisierung (Transglutaminase II) der initialen Vaskularisation zeigte, dass die transmembranöse Angiogenese von BG bereits nach zwei Wochen abgeschlossen war. Im Vergleich hierzu waren die BM-, BME- und TD-Membranen erst nach einem Beobachtungszeitraum von vier bis acht Wochen angiogenetisch erschlossen. Für OS konnte immunhistochemisch keine Vaskularisation bis zu 24 Wochen nach Implantation nachgewiesen werden (SCHWARZ et al. 2006). 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 alleine oder in Kombination mit einem xenogenen Knochenersatzmaterial bovinen Ursprungs (BDX, BioOss®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Schweiz) bei der Behandlung intraossärer parodontaler Defekte untersucht. In beiden Behandlungsgruppen konnte acht Wochen nach Therapie histologisch eine signifikante Neubildung von Wurzelzement mit inserierenden Kollagenfasern sowie Alveolarknochen

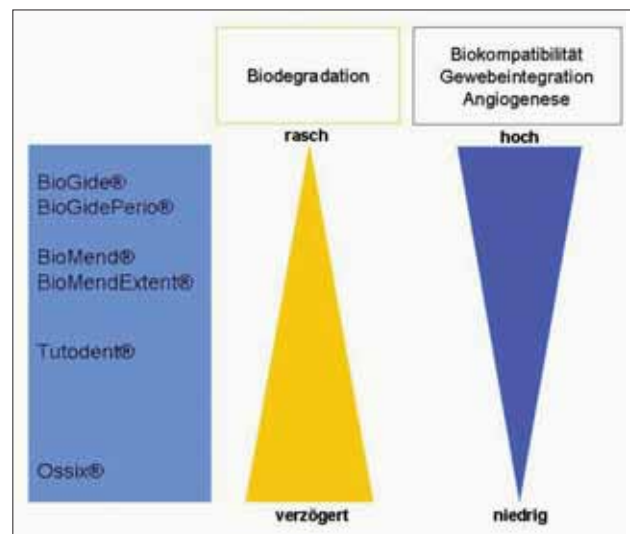


Abb. 3 Einfluss des Ursprungsmaterials sowie der Quervernetzung auf die Membraneigenschaften.



beobachtet werden. Die Kombinationstherapie BDX + BG führte jedoch zu einer signifikant grösseren Knochenneubildung als BG allein (YAMADA et al. 2002). Vergleichbare Beobachtungen wurden auch in humanhistologischen Untersuchungen gemacht. So führten sowohl BG allein als auch die Kombination BDX + BG neun Monate nach der GTR-Therapie am Menschen zu einem signifikanten Attachmentgewinn sowie histologisch zu einer Neubildung von Alveolarknochen und Wurzelzement mit inserierenden Kollagenfasern (CAMELO et al. 1998). Die Kombination BDX + BG führte jedoch histologisch zu einer besseren Knochenregeneration als BDX allein (CAMELO et al. 1998). Diese Ergebnisse konnten durch die Kombination von autologem Knochen + BDX + BG zusätzlich verbessert werden (CAMELO et al. 2001). In einem humanhistologischen Fallbericht führte auch die Kombination von BG mit einem kollagenbeschichteten BDX (BDX-C) zu einer parodontalen Regeneration (NEVINS 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 sechs Monate postoperativ eine vergleichbare Neubildung von Wurzelzement mit inserierenden Kollagenfasern sowie neuem Alveolarknochen histologisch beobachtet werden (SCULEAN 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 alleine (BLUMENTHAL et al. 2003).

### Klinische Untersuchungen

In einer ersten klinischen Re-Entry-Studie wurde die Behandlung intraossärer parodontaler Defekte (n=22 Defekte) sechs Monate nach Applikation von BDX + BG im Vergleich zur Lappenoperation untersucht (CAMARGO 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 et al. 2000). In weiteren kontrollierten klinischen Studien konnten diese Ergebnisse bestätigt werden (SCULEAN et al. 2003, ZITZMANN et al. 2003). Der klinische Einsatz der Kombination BDX + BG führte bei der Behandlung intraossärer parodontaler Defekte zwölf Monate postoperativ zu einem signifikant höheren klinischen Attachmentgewinn als die konventionelle Lappenoperation (SCULEAN et al. 2003). Vergleichbare Ergebnisse wurden auch bei der Behandlung angulärer Knochendefekte (n=22 Defekte) über einen Zeitraum von zwei Jahren beobachtet (ZITZMANN 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 zwölf Monate postoperativ gemessen werden. Da die Unterschiede zwischen beiden Gruppen statistisch nicht signifikant waren, wurde von den Autoren geschlussfolgert, dass das Membranmaterial per se keinen kritischen Faktor für den Ausgang der Heilung im Rahmen von GTR-Verfahren mit resorbierbaren Membranen darstellt (STAVROPOULOS 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 sechs Monaten zu einem vergleichbaren Attachmentgewinn (MATTSON et al.

1999). In einer kürzlich veröffentlichten multizentrischen Studie konnte weiterhin gezeigt werden, dass zwölf Monate nach der Behandlung intraossärer parodontaler Defekte die Kombinationstherapie BDX + BG zu einem signifikant höheren Attachmentgewinn führte als die «Papilla Preservation Technique» allein (TONETTI 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 et al. 2001). Kontroverse Ergebnisse wurden nach dem Einsatz von BM im Vergleich zur Lappenoperation alleine bei der Behandlung von Grad-II-Furkationen im Unterkiefer beschrieben (WANG et al. 1994). Während sich zwischen beiden Behandlungsgruppen nach einer Heilungsphase von sechs 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.

Grundsätzlich sollte jedoch bei der Augmentation sowohl von intraossären als auch von Furkationsdefekten hervorgehoben werden, dass eine Reduktion der Sondierungstiefe auch durch ein Auffüllen mit Knochenersatzmaterialien möglich ist, was über den klinischen Erfolg hinwegtäuschen könnte.

## Gesteuerte Knochenregeneration (GBR)

### Histologische Untersuchungen

In einer ersten humanhistologischen Untersuchung (n=6 Patienten) konnte gezeigt werden, dass mithilfe 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 sechs bis sieben Monaten zeigte einen aktiven Remodellierungsprozess mit Ausbildung von Geflechtknochen sowie Anzeichen einer Resorption von BDX (ZITZMANN et al. 2001b). ERSANLI et al. (2004) untersuchten in einem vergleichbaren Studiendesign die Remodellierungsprozesse im Ober- und Unterkiefer (UK) nach Applikation von BDX + BG (n=11 Patienten). Während einer durchschnittlichen postoperativen Wundheilungsperiode von sieben Monaten konnte in drei Fällen eine Membranexposition beobachtet werden, welche jedoch nach acht Tagen komplikationslos über freie Granulation ausheilte. Die histomorphometrische Analyse ergab eine mittlere Knochenneubildung von 46% im OK sowie 75% im UK. Von NORTON 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 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 zwölf 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 et al. 2000). Der allei-

nige Einsatz von BG führte in einer histologischen Untersuchung nach GBR-Verfahren um dehiscente Implantate in *Macaca fascicularis*-Affen zu einer signifikant geringeren Knochenneubildung als die Kombinationen BG + BDX oder ePTFE + BDX. Die Unterschiede zwischen BG + BDX und ePTFE + BDX waren statistisch nicht signifikant (HÜRZELER 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 et al. 1999). Hierzu erfolgte eine standardisierte Präparation knöcherner Defekte nach Implantatinserterion 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 alleine (78%, 45%) sowie in der unbehandelten Kontrollgruppe (21%, 22%) reduziert. Der direkte Knochen-Implantat-Kontakt war mit 17–20% jedoch in allen Testgruppen vergleichbar und höher als in der Kontrollgruppe (12%) (HOCKERS et al. 1999). Ähnliche Ergebnisse wurden nach regenerativen Therapieverfahren ligaturinduzierter periimplantärer Infektionen im Hundemodell beobachtet. Nach einer Beobachtungszeit von fünf Monaten zeigte die histomorphometrische Auswertung die grösste vertikale Knochenneubildung für BDX + BG (27,77%), gefolgt von BG alleine (21,78%), BDX alleine (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 (NOCTTI et al. 2001b). Auch der direkte Knochen-Implantat-Kontakt (Reosseointegration) war zwischen allen Gruppen statistisch nicht signifikant unterschiedlich (NOCTTI et al. 2001a). 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 gegenüber BDX alleine führte (BOTTICELLI 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 sieben Monate postoperativ eine vergleichbare Knochenneubildung in beiden Behandlungsgruppen. Die Struktur von OS war nach diesem Zeitraum jedoch noch deutlich erkennbar (FRIEDMANN et al. 2002). Bisher existiert nur eine tierexperimentelle Untersuchung, die BG und BME bei der Behandlung periimplantärer Dehiszenzdefekte miteinander verglichen hat (OH 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-Implantat-Kontakt (Abb. 4a–e).

### Klinische Untersuchungen

In ersten klinischen Fallstudien wurde der Einsatz von BDX + BG bei der Therapie periimplantärer Dehiszenzdefekte untersucht. HÜRZELER et al. (1996) beobachteten beim Re-Entry nach einer Heilungsphase von sechs Monaten (n=15 Patienten) eine komplette knöcherne Defektauffüllung bei 22 von 35 Implantaten. Vergleichbare Ergebnisse wurden ebenfalls von HÄMMERLE & LANG (2001) nach dem Einsatz von BDX + BG bei der Behand-

lung von bukkalen Dehiszenzdefekten nach Implantatinserterion (n=10 Patienten) im Rahmen einer transgingivalen Einheilung beschrieben. Beim Re-Entry nach sechs 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 & LANG 2001). TAWIL et al. (2001) beobachteten beim Re-Entry (n=17 Patienten) nach 16–32 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 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, welche mit einer frühzeitigen Entfernung der Membran verbunden war (ZITZMANN et al. 1997). Nach einer Beobachtungszeit von fünf Jahren betrug das mittlere marginale Knocheniveau in der BDX- + BG-Gruppe 1,83 mm sowie 2,21 mm in der Gruppe BDX + ePTFE. Die Überlebensrate der augmentierten Implantate war mit 93–97% in beiden Gruppen vergleichbar (ZITZMANN et al. 2001a) (Abb. 5a–d). Erste human-histologische und klinische Untersuchungen von JUNG et al. (2003) konnten weiterhin zeigen, dass eine Augmentation mit BDX + BG im Bereich vestibulärer Dehiszenzdefekte zu einer signifikanten Reduktion der vertikalen Defekthöhe von  $5,8 \pm 1,81$  mm zu Beginn auf  $0,4 \pm 0,66$  mm nach sechs Monaten führte (vertikale Defektauffüllung von 91%). Die Beschichtung von BDX mit rekombinant hergestelltem humanem *Bone Morphogenetic Protein 2* (rhBMP-2) und zusätzlicher Applikation von BG führte zu einer vertikalen Defektauffüllung von  $7,0 \pm 2,67$  mm zu Beginn auf  $0,2 \pm 0,35$  mm nach sechs Monaten (vertikale Defektauffüllung von 96%). Im Vergleich zu BDX ergab die histomorphometrische Untersuchung entnommener Gewebeproben eine signifikant grössere Knochenanlagerung an rhBMP-2 + BDX (30% vs. 57%) (JUNG et al. 2003).

Erste klinische und histologische Untersuchungen deuten auf darauf hin, dass mit der Kombination BDX + BG eine erfolgreiche Sinusbodenelevation durchgeführt werden kann (HALLMAN et al. 2002). Die Kombinationstherapie BDX + BG führte jedoch zu besseren klinischen Ergebnissen im Hinblick auf die Implantatüberlebensrate als die Applikation von BDX alleine (93,1% vs. 78,1% nach 22,4 Monaten) (TAWIL & MAWLA 2001). Die Kombination BDX + DFDBA führte nach  $6,5 \pm 1,9$  Jahren jedoch zu einer schlechteren Implantatüberlebensrate (90%) als die Applikation von BDX alleine (96,8%) (VALENTINI & ABENSUR 2003). 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 von bovinem 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



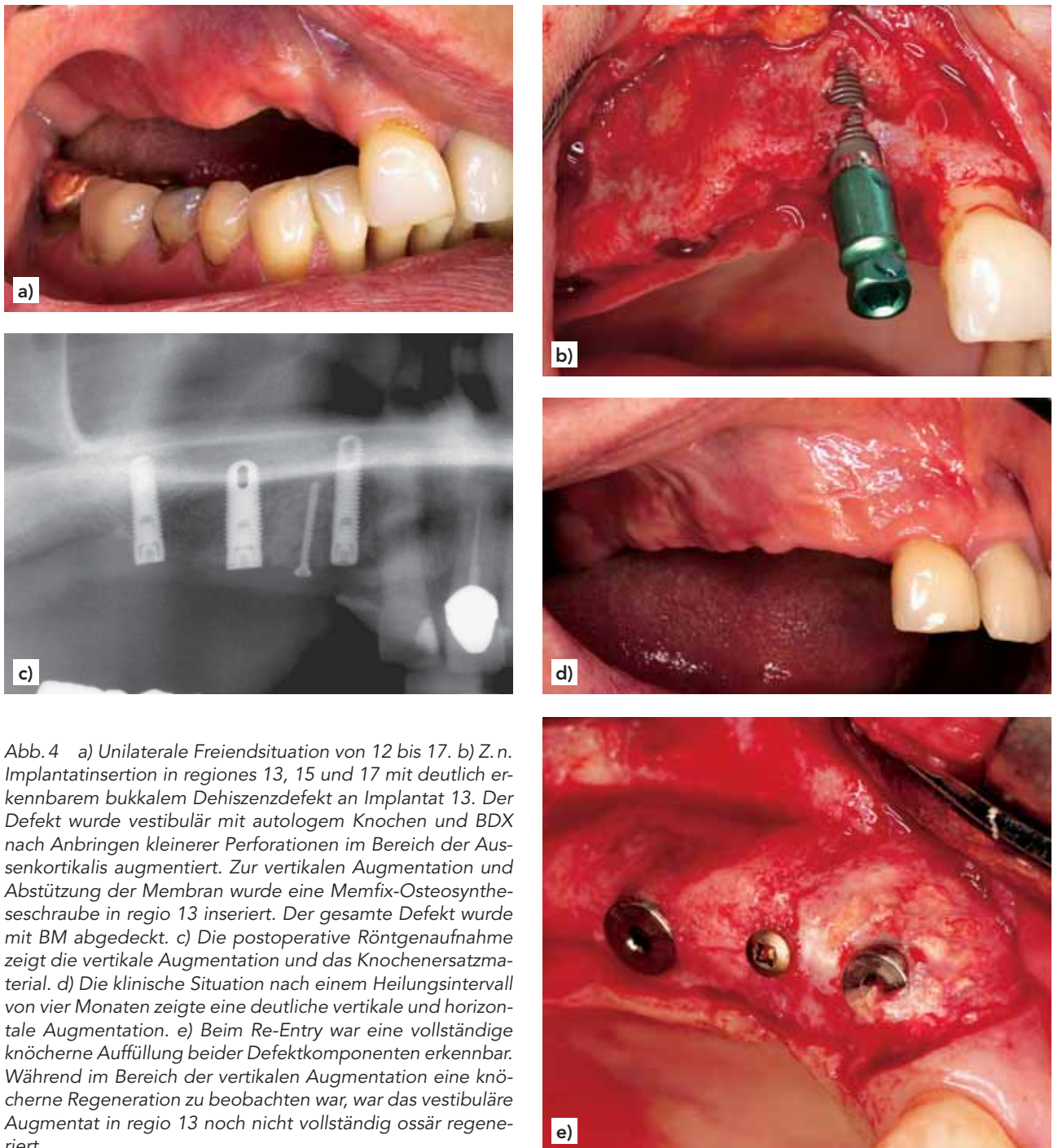


Abb. 4 a) Unilaterale Freiendsituation von 12 bis 17. b) Z.n. Implantatinsertion in regiones 13, 15 und 17 mit deutlich erkennbarem bukkalem Dehiszenzdefekt an Implantat 13. Der Defekt wurde vestibulär mit autologem Knochen und BDX nach Anbringen kleinerer Perforationen im Bereich der Auslenkorkortikalis augmentiert. Zur vertikalen Augmentation und Abstützung der Membran wurde eine Memfix-Osteosyntheseschraube in regio 13 inseriert. Der gesamte Defekt wurde mit BM abgedeckt. c) Die postoperative Röntgenaufnahme zeigt die vertikale Augmentation und das Knochenersatzmaterial. d) Die klinische Situation nach einem Heilungsintervall von vier Monaten zeigte eine deutliche vertikale und horizontale Augmentation. e) Beim Re-Entry war eine vollständige knöchernerne Auffüllung beider Defektkomponenten erkennbar. Während im Bereich der vertikalen Augmentation eine knöchernerne Regeneration zu beobachten war, war das vestibuläre Augmentat in regio 13 noch nicht vollständig ossär regeneriert.

vorgestellten Kollagenmembranen im Rahmen des Abbauvorganges eine leicht ausgeprägte Fremdkörperreaktion. Die zu erwartende Resorptionsdauer liegt für BG bei ca. vier Wochen, für BM und BME bei ca. vier bis acht Wochen und für TD bei ca. 8–16 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 Membranexposition dienen. Histologische sowie kontrollierte klinische Studien zur GTR-Thera-

pie 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 Membranmaterial per se scheint jedoch

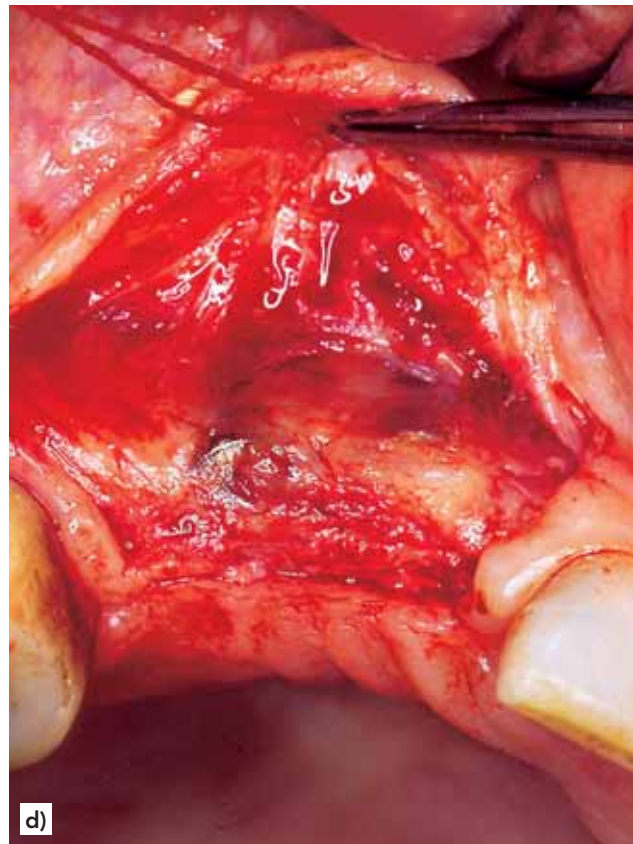
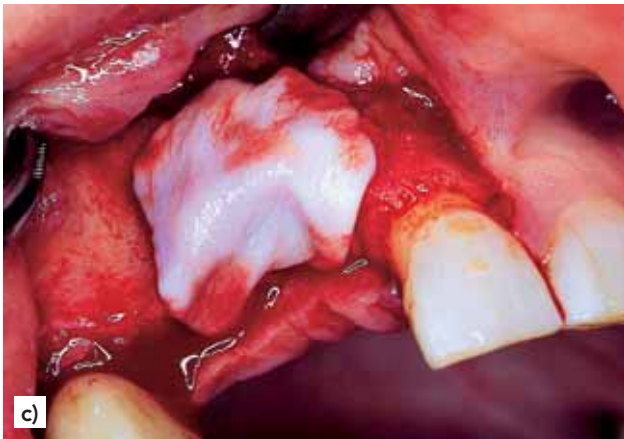
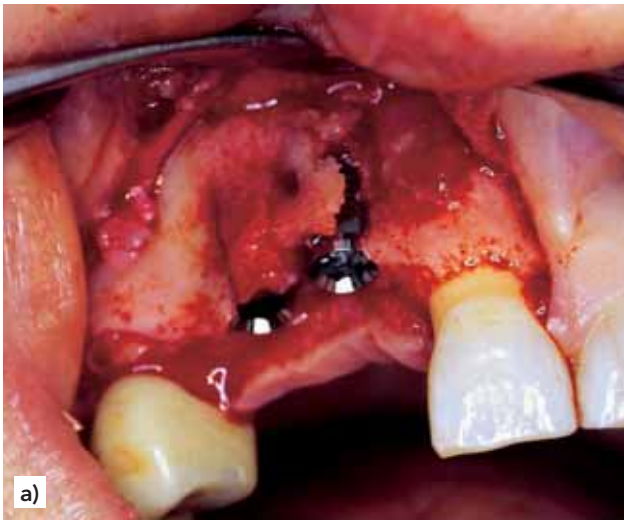


Abb. 5 a) Zustand nach Implantation in regiones 12 und 13 mit Kieferkammspreizung und Perforation der vestibulären Kortikalis. b) Augmentation mit autologem Knochen aus dem KF-T3-Filter. c) Abdeckung des Augmentats mit einer BG-Membran. d) Re-Entry nach vier Monaten im Rahmen der Freilegung. Deutlich 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.

keinen unmittelbaren Einfluss auf die zu erwartende Gewebe- oder Knochenregeneration zu haben.

## Summary

SCHWARZ F, SAGER M, ROTHAMEL D, HERTEN M, BECKER J: **Use of native and cross-linked collagen membranes for guided tissue and bone regeneration** (in German). *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 116: 1112–1123 (2006)

A material which is used as a barrier for GBR/GTR procedures has to satisfy several physicochemical characteristics such as biocompatibility, tissue integration, barrier function, and dimensional stability. Recently, many investigations reported on the use of products derived from type I and type III porcine or bovine collagen. Collagen membranes are predominantly resorbed by

enzymatic activity (protease and collagenase). To decrease resorption, various physical and chemical cross-linking techniques have been used. Although nowadays cross-linking of collagen seems to be a commonly used procedure, its impact on physicochemical properties of the membrane is still unknown. The aim of the present literature review is to evaluate the potential use of different collagen membranes for GBR/GTR procedures.

## Résumé

Les exigences physico-chimiques pour une membrane destinée à être utilisée pour les techniques GBR/GTR comprennent, entre autres, la biocompatibilité, l'intégration tissulaire, la fonction de barrière et la stabilité de forme. Depuis peu, plusieurs études traitent de l'emploi de collagène bovin et porcin de types I et III.



Les membranes en collagène sont en premier lieu résorbées par activité enzymatique (protéase et collagénase). Pour augmenter le temps de résorption, différents procédés physiques et chimiques de réticulation sont utilisés. Bien que ces techniques soient actuellement standard, leurs influences sur les propriétés physico-chimiques des membranes sont en partie inconnues. Le but de ce présent article de revue est d'évaluer – sur la base d'évidences existantes – l'utilisation potentielle de différentes membranes en collagène pour les techniques GBR/GTR.

## Literaturverzeichnis

- AABOE M, SCHOU S, HJORTING-HANSEN E, HELBO M, VIKJAER D: Osseointegration of subperiosteal implants using bovine bone substitute and various membranes. *Clin Oral Implants Res* 11: 51–58 (2000)
- BLUMENTHAL N M, ALVES M E, AL-HUWAIS S, HOFBAUER A M, KOPERSKI R D: Defect-determined regenerative options for treating periodontal intrabony defects in baboons. *J Periodontol* 74: 10–24 (2003)
- BOTTICELLI D, BERGLUNDH T, LINDHE J: The influence of a biomaterial on the closure of a marginal hard tissue defect adjacent to implants. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 15: 285–292 (2004)
- BRUNEL G, PIANTONI P, ELHARAR F, BENQUE E, MARIN P, ZAHEDI S: Regeneration of rat calvarial defects using a bioabsorbable membrane technique: influence of collagen cross-linking. *J Periodontol* 67: 1342–1348 (1996)
- BUNYARATAVEJ P, WANG H L: Collagen membranes: a review. *J Periodontol* 72: 215–229 (2001)
- BUSER D, BRÄGGER U, LANG N P, NYMAN S: Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration. *Clin Oral Implants Res* 1: 22–32 (1990)
- CAMARGO P M, LEKOVIC V, WEINLÄNDER M, NEDIC M, VASILIC N, WOLINSKY L E, KENNEY E B: A controlled re-entry study on the effectiveness of bovine porous bone mineral used in combination with a collagen membrane of porcine origin in the treatment of intrabony defects in humans. *J Clin Periodontol* 27: 889–896 (2000)
- CAMELO M, NEVINS M L, SCHENK R K, SIMION M, RASPERINI G, LYNCH S E, NEVINS M: Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-Oss and Bio-Gide. *Int J Periodontics Restorative Dent* 18: 321–331 (1998)
- CAMELO M, NEVINS M L, LYNCH S E, SCHENK R K, SIMION M, NEVINS M: Periodontal regeneration with an autogenous bone-Bio-Oss composite graft and a Bio-Gide membrane. *Int J Periodontics Restorative Dent* 21: 109–119 (2001)
- CHEN Y T, HUNG S L, LIN L W, CHI L Y, LING L J: Attachment of periodontal ligament cells to chlorhexidine-loaded guided tissue regeneration membranes. *J Periodontol* 74: 1652–1659 (2003)
- CORTELLINI P, CLAUSER C, PRATO G P: Histologic assessment of new attachment following the treatment of a human buccal recession by means of a guided tissue regeneration procedure. *J Periodontol* 64: 387–391 (1993)
- DAHLIN C, LINDE A, GOTTLAW J, NYMAN S: Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg* 81: 672–676 (1988)
- ERSANLI S, OLGAC V, LEBLEBICIOGLU B: Histologic analysis of alveolar bone following guided bone regeneration. *J Periodontol* 75: 750–756 (2004)
- FRIEDMANN A, STRIETZEL F P, MARETZKI B, PITARU S, BERNIMOULIN J P: Observations on a new collagen barrier membrane in 16 consecutively treated patients. Clinical and histological findings. *J Periodontol* 72: 1616–1623 (2001)
- FRIEDMANN A, STRIETZEL F P, MARETZKI B, PITARU S, BERNIMOULIN J P: Histological assessment of augmented jaw bone utilizing a new collagen barrier membrane compared to a standard barrier membrane to protect a granular bone substitute material. *Clin Oral Implants Res* 13: 587–594 (2002)
- GOTTLAW J, NYMAN S, KARRING T, LINDHE J: New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 11: 494–503 (1984)
- GOTTLAW J, NYMAN S, LINDHE J, KARRING T, WENNSTRÖM J: New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. *J Clin Periodontol* 13: 604–616 (1986)
- GREENSTEIN G, CATON J G: Biodegradable barriers and guided tissue regeneration. *Periodontol* 2000 1: 36–45 (1993)
- HALLMAN M, SENNERBY L, LUNDGREN S: A clinical and histologic evaluation of implant integration in the posterior maxilla after sinus floor augmentation with autogenous bone, bovine hydroxyapatite, or a 20:80 mixture. *Int J Oral Maxillofac Implants* 17: 635–643 (2002)
- HÄMMERLE C H, KARRING T: Guided bone regeneration at oral implant sites. *Periodontology* 2000 17: 151–175 (1998)
- HÄMMERLE C H, LANG N P: Single stage surgery combining transmucosal implant placement with guided bone regeneration and bioresorbable materials. *Clin Oral Implants Res* 12: 9–18 (2001)
- HANEY J M, NILVEUS R E, MCMILLAN P J, WIKESJÖ U M: Periodontal repair in dogs: expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes support wound stabilization and enhance bone regeneration. *J Periodontol* 64: 883–890 (1993)
- HOCKER T, ABENSUR D, VALENTINI P, LEGRAND R, HÄMMERLE C H: The combined use of bioresorbable membranes and xenografts or autografts in the treatment of bone defects around implants. A study in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res* 10: 487–498 (1999)
- HOUSER B E, MELLONIG J T, BRUNSVOLD M A, COCHRAN D L, MEFFERT R M, ALDER M E: Clinical evaluation of anorganic bovine bone xenograft with a bioabsorbable collagen barrier in the treatment of molar furcation defects. *Int J Periodontics Restorative Dent* 21: 161–169 (2001)
- HÜRZELER M B, WENG D, HUTMACHER D: Knochenregeneration um Implantate – eine klinische Studie mit einer neuen resorbierbaren Membran. *Dtsch Zahnärztl Z* 51: 298–303 (1996)
- HÜRZELER M B, KOHAL R J, NAGHSHBANDI J, MOTA L F, CONRADT J, HUTMACHER D, CAFFESSE R G: Evaluation of a new bioresorbable barrier to facilitate guided bone regeneration around exposed implant threads. An experimental study in the monkey. *Int J Oral Maxillofac Surg* 27: 315–320 (1998)
- HUTMACHER D, HÜRZELER M B, SCHLIEPHAKE H: A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications. *Int J Oral Maxillofac Implants* 11: 667–678 (1996)
- JUNG R E, GLAUSER R, SCHARER P, HÄMMERLE C H, SAILER H F, WEBER F E: Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. *Clin Oral Implants Res* 14: 556–568 (2003)
- KARRING T, NYMAN S, GOTTLAW J, LAURELL L: Development of the biological concept of guided tissue regeneration – animal and human studies. *Periodontol* 2000 1: 26–35 (1993)
- KODAMA T, MINABE M, HORI T, WATANABE Y: The effect of various concentrations of collagen barrier on periodontal wound healing. *J Periodontol* 60: 205–210 (1989)
- KOHAL R J, MELLAS P, HÜRZELER M B, TREJO P M, MORRISON E, CAFFESSE R G: The effects of guided bone regeneration and



- grafting on implants placed into immediate extraction sockets. An experimental study in dogs. *J Periodontol* 69: 927–937 (1998)
- LOCCHI P, CALVITTI M, BELCASTRO S, PUGLIESE M, GUERRA M, MARI-NUCCI L, STAFFOLANI N, BECCHETTI E: Phenotype expression of gingival fibroblasts cultured on membranes used in guided tissue regeneration. *J Periodontol* 68: 857–863 (1997)
- LONG M W, ROBINSON J A, ASHCRAFT E A, MANN K G: Regulation of human bone marrow-derived osteoprogenitor cells by osteogenic growth factors. *J Clin Invest* 95: 881–887 (1995)
- LUNDGREN A K, LUNDGREN D, HÄMMERLE C H, NYMAN S, SENNERBY L: Influence of decortication of the donor bone on guided bone augmentation. An experimental study in the rabbit skull bone. *Clin Oral Implants Res* 11: 99–106 (2000)
- MAGNUSSON I, BATICH C, COLLINS B R: New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradable membranes. *J Periodontol* 59: 1–6 (1988)
- MATTSON J S, GALLAGHER S J, JABRO M H: The use of 2 bioabsorbable barrier membranes in the treatment of interproximal intrabony periodontal defects. *J Periodontol* 70: 510–517 (1999)
- MINABE M, KODAMA T, KOGOU T, TAMURA T, HORI T, WATANABE Y, MIYATA T: Different cross-linked types of collagen implanted in rat palatal gingiva. *J Periodontol* 60: 35–43 (1989)
- NEVINS M L, CAMELO M, LYNCH S E, SCHENK R K, NEVINS M: Evaluation of periodontal regeneration following grafting intrabony defects with bio-oss collagen: a human histologic report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 23: 9–17 (2003)
- NOCITI F H, JR., MACHADO M A, STEFANI C M, SALLUM E A: Absorbable versus nonabsorbable membranes and bone grafts in the treatment of ligature-induced peri-implantitis defects in dogs: a histometric investigation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16: 646–652 (2001a)
- NOCITI F H, JR., MACHADO M A, STEFANI C M, SALLUM E A, SALLUM A W: Absorbable versus nonabsorbable membranes and bone grafts in the treatment of ligature-induced peri-implantitis defects in dogs. Part I. A clinical investigation. *Clin Oral Implants Res* 12: 115–120 (2001b)
- NORTON M R, ODELL E W, THOMPSON I D, COOK R J: Efficacy of bovine bone mineral for alveolar augmentation: a human histologic study. *Clin Oral Implants Res* 14: 775–783 (2003)
- NYMAN S, LINDHE J, KARRING T, RYLANDER H: New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 9: 290–296 (1982)
- OH T J, MERAW S J, LEE E J, GIANNOBILE W V, WANG H L: Comparative analysis of collagen membranes for the treatment of implant dehiscence defects. *Clin Oral Implants Res* 14: 80–90 (2003)
- OWENS K W, YUKNA R A: Collagen membrane resorption in dogs: a comparative study. *Implant Dent* 10: 49–58 (2001)
- PAUL B F, MELLONIG J T, TOWLE H J, GRAY J L: Use of a collagen barrier to enhance healing in human periodontal furcation defects. *Int J Periodontics Restorative Dent* 12: 123–131 (1992)
- PIHLSTRÖM B L, MCHUGH R B, OLIPHANT T H, ORTIZ-CAMPOS C: Comparison of surgical and nonsurgical treatment of periodontal disease. A review of current studies and additional results after 6½ years. *J Clin Periodontol* 10: 524–541 (1983)
- PITARU S, TAL H, SOLDINGER M, GROSSKOPF A, NOFF M: Partial regeneration of periodontal tissues using collagen barriers. Initial observations in the canine. *J Periodontol* 59: 380–386 (1988)
- PONTORIERO R, LINDHE J, NYMAN S, KARRING T, ROSENBERG E, SANAVI F: Guided tissue regeneration in degree II furcation-involved mandibular molars. A clinical study. *J Clin Periodontol* 15: 247–254 (1988)
- PONTORIERO R, NYMAN S, ERICSSON I, LINDHE J: Guided tissue regeneration in surgically-produced furcation defects. An experimental study in the beagle dog. *J Clin Periodontol* 19: 159–163 (1992)
- POSTLETHWAITE A E, SEYER J M, KANG A H: Chemotactic attraction of human fibroblasts to type I, II, and III collagens and collagen-derived peptides. *Proc Natl Acad Sci USA* 75: 871–875 (1978)
- QUTEISH D, DOLBY A E: The use of irradiated-crosslinked human collagen membrane in guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 19: 476–484 (1992)
- REILLY T M, SELDES R, LUCHETTI W, BRIGHTON C T: Similarities in the phenotypic expression of pericytes and bone cells. *Clin Orthop*: 95–103 (1998)
- RICKARD D J, KASSEM M, HEFFERAN T E, SARKAR G, SPELSBERG T C, RIGGS B L: Isolation and characterization of osteoblast precursor cells from human bone marrow. *J Bone Miner Res* 11: 312–324 (1996)
- ROTHAMEL D, SCHWARZ F, SCULEAN A, HERTEN M, SCHERBAUM W, BECKER J: Biocompatibility of various collagen membranes in cultures of human PDL fibroblasts and osteoblast-like cells. *Clin Oral Implants Res* 15: 443–449 (2004)
- ROTHAMEL D, SCHWARZ F, SAGER M, HERTEN M, SCULEAN A, BECKER J: Biodegradation of differently cross-linked collagen membranes. An experimental study in the rat. *Clin Oral Implants Res* 16: 369–378 (2005)
- SCHMID J, HÄMMERLE C H, OLAH A J, LANG N P: Membrane permeability is unnecessary for guided generation of new bone. An experimental study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res* 5: 125–130 (1994)
- SCHMID J, WALLKAMM B, HÄMMERLE C H, GOGOLEWSKI S, LANG N P: The significance of angiogenesis in guided bone regeneration. A case report of a rabbit experiment. *Clin Oral Implants Res* 8: 244–248 (1997)
- SCHWARZ F, ROTHAMEL D, SAGER M, BECKER J: Bewertung experimenteller und klinischer Untersuchungen kollagener Membranen für die gesteuerte Knochen- und Geweberegeneration. *Zeitschr Zahnärztl Implantol* 20: 112–118 (2004)
- SCHWARZ F, ROTHAMEL D, HERTEN M, SAGER M, BECKER J: Angiogenesis pattern of native and cross-linked collagen membranes. An immunohistochemical study in the rat. *Clin Oral Implants Res* 17: 403–409 (2006)
- SCULEAN A, BERAKDAR M, CHIANTELLA G C, DONOS N, ARWEILER N B, BREX M: Healing of intrabony defects following treatment with a bovine-derived xenograft and collagen membrane. A controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 30: 73–80 (2003)
- SCULEAN A, STAVROPOULOS A, WINDISCH P, KEGLEVICH T, KARRING T, GERA I: Healing of human intrabony defects following regenerative periodontal therapy with a bovine-derived xenograft and guided tissue regeneration. *Clin Oral Investig* 8: 70–74 (2004)
- SELA M N, STEINBERG D, KLINGER A, KRAUSZ A A, KOHAVI D: Adherence of periodontopathic bacteria to bioabsorbable and non-absorbable barrier membranes in vitro. *Clin Oral Implants Res* 10: 445–452 (1999)
- SELA M N, KOHAVI D, KRAUSZ E, STEINBERG D, ROSEN G: Enzymatic degradation of collagen-guided tissue regeneration membranes by periodontal bacteria. *Clin Oral Implants Res* 14: 263–268 (2003)
- SELVIG K A, KERSTEN B G, CHAMBERLAIN A D, WIKESJÖ U M, NILVEUS R E: Regenerative surgery of intrabony periodontal defects using ePTFE barrier membranes: scanning electron microscopic evaluation of retrieved membranes versus clinical healing. *J Periodontol* 63: 974–978 (1992)

- SELVIG K A, KERSTEN B G, WIKESJÖ U M: Surgical treatment of intrabony periodontal defects using expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes: influence of defect configuration on healing response. *J Periodontol* 64: 730–733 (1993)
- SOMERMAN M J, SAUK J J, FOSTER R A, NORRIS K, DICKERSON K, ARGRAVES W S: Cell attachment activity of cementum: bone sialoprotein II identified in cementum. *J Periodontol Res* 26: 10–16 (1991)
- STAVROPOULOS A, SCULEAN A, KARRING T: GTR treatment of intrabony defects with PLA/PGA copolymer or collagen bioresorbable membranes in combination with deproteinized bovine bone (Bio-Oss). *Clin Oral Investig* 8: 226–232 (2004)
- TAKATA T, WANG H L, MIYAUCHI M: Attachment, proliferation and differentiation of periodontal ligament cells on various guided tissue regeneration membranes. *J Periodontol Res* 36: 322–327 (2001a)
- TAKATA T, WANG H L, MIYAUCHI M: Migration of osteoblastic cells on various guided bone regeneration membranes. *Clin Oral Implants Res* 12: 332–338 (2001b)
- TATAKIS D N, PROMSUDTHI A, WIKESJÖ U M: Devices for periodontal regeneration. *Periodontol* 2000 19: 59–73 (1999)
- TAWIL G, MAWLA M: Sinus floor elevation using a bovine bone mineral (Bio-Oss) with or without the concomitant use of a bilayered collagen barrier (Bio-Gide): a clinical report of immediate and delayed implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16: 713–721 (2001)
- TAWIL G, EL-GHOULE G, MAWLA M: Clinical evaluation of a bilayered collagen membrane (Bio-Gide) supported by autografts in the treatment of bone defects around implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16: 857–863 (2001)
- TEMPRO P J, NALBANDIAN J: Colonization of retrieved polytetrafluoroethylene membranes: morphological and microbiological observations. *J Periodontol* 64: 162–168 (1993)
- TONETTI M S, CORTELLINI P, LANG N P, SUVAN J E, ADRIAENS P, DUBRAVEC D, FONZAR A, FOURMOUSIS I, RASPERINI G, ROSSI R, SILVESTRI M, TOPOLL H, WALLKAMM B, ZYBUTZ M: Clinical outcomes following treatment of human intrabony defects with GTR/bone replacement material or access flap alone. A multicenter randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 31: 770–776 (2004)
- VALENTINI P, ABENSUR D J: Maxillary sinus grafting with anorganic bovine bone: a clinical report of long-term results. *Int J Oral Maxillofac Implants* 18: 556–560 (2003)
- VON ARX T, BROGGINI N, JENSEN S S, BORNSTEIN M M, SCHENK R K, BUSER D: Membrane durability and tissue response of different bioresorbable barrier membranes: a histologic study in the rabbit calvarium. *Int J Oral Maxillofac Implants* 20: 843–853 (2005)
- WANG H L, O'NEAL R B, THOMAS C L, SHYR Y, MACNEIL R L: Evaluation of an absorbable collagen membrane in treating Class II furcation defects. *J Periodontol* 65: 1029–1036 (1994)
- WANG H L, MIYAUCHI M, TAKATA T: Initial attachment of osteoblasts to various guided bone regeneration membranes: an in vitro study. *J Periodontol Res* 37: 340–344 (2002)
- WIKESJÖ U M, NILVEUS R: Periodontal repair in dogs: effect of wound stabilization on healing. *J Periodontol* 61: 719–724 (1990)
- WIKESJÖ U M, CLAFFEY N, EGELBERG J: Periodontal repair in dogs. Effect of heparin treatment of the root surface. *J Clin Periodontol* 18: 60–64 (1991)
- WIKESJÖ U M, KEAN C J, ZIMMERMAN G J: Periodontal repair in dogs: supraalveolar defect models for evaluation of safety and efficacy of periodontal reconstructive therapy. *J Periodontol* 65: 1151–1157 (1994)
- YAFFE A, EHRLICH J, SHOSHAN S: Restoration of periodontal attachment employing enriched collagen solution in the dog. *J Periodontol* 55: 623–628 (1984)
- YAMADA S, SHIMA N, KITAMURA H, SUGITO H: Effect of porous xenographic bone graft with collagen barrier membrane on periodontal regeneration. *Int J Periodontics Restorative Dent* 22: 389–397 (2002)
- ZAHEDI S, LEGRAND R, BRUNEL G, ALBERT A, DEWE W, COUMANS B, BERNARD J P: Evaluation of a diphenylphosphorylazide-cross-linked collagen membrane for guided bone regeneration in mandibular defects in rats. *J Periodontol* 69: 1238–1246 (1998)
- ZHAO S, PINHOLT E M, MADSEN J E, DONATH K: Histological evaluation of different biodegradable and non-biodegradable membranes implanted subcutaneously in rats. *J Craniomaxillofac Surg* 28: 116–122 (2000)
- ZITZMANN N U, NAEF R, SCHARER P: Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 12: 844–852 (1997)
- ZITZMANN N U, SCHARER P, MARINELLO C P: Long-term results of implants treated with guided bone regeneration: a 5-year prospective study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16: 355–366 (2001a)
- ZITZMANN N U, SCHARER P, MARINELLO C P, SCHÜPBACH P, BERGLUNDH T: Alveolar ridge augmentation with Bio-Oss: a histologic study in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent* 21: 288–295 (2001b)
- ZITZMANN N U, RATEITSCHAK-PLUSS E, MARINELLO C P: Treatment of angular bone defects with a composite bone grafting material in combination with a collagen membrane. *J Periodontol* 74: 687–694 (2003)