

Aus der Poliklinik für Zahnärztliche Prothetik  
der Klinik und Polikliniken für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten  
der Universität Würzburg

**Direktor: Professor Dr. med. dent. Dipl.-Ing. E.-J. Richter**

---

**Tierexperimentelle Studie über den Einfluss hyperbaren Sauerstoffs auf  
das Knochenneuwachstum in Knochendefekten "kritischer Größe"**

**Inaugural – Dissertation**  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von  
**Christoph Reiner Hespelt**  
aus Schwäbisch Hall

Würzburg, Januar 2010

Referent: Prof. Dr. med. dent. Dipl.-Ing. E.-J. Richter

Korreferent: Prof. Dr. med. dent B. Klaiber

Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 05.07.2010

Der Promovend ist Zahnarzt.

**Meiner Familie in Dankbarkeit gewidmet**



## Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung und Problemstellung .....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>Kenntnisstand und Grundlagen.....</b>	<b>2</b>
2.1	Physiologie des Knochens .....	2
2.1.1	Die Osteoklasten.....	2
2.1.2	Die Osteoblasten.....	2
2.1.3	Grundlagen der Osteogenese und der Defektheilung .....	2
2.2	Entwicklung der GBR .....	4
2.2.1	Membranen .....	7
2.3	Die hyperbare Oxygenierung .....	11
2.3.1	Wirkung des Sauerstoffs auf Knochengewebe.....	11
2.3.2	Wirkung des Drucks auf Knochengewebe.....	11
2.3.3	Definition der hyperbaren Sauerstofftherapie .....	11
2.3.4	Geschichte der hyperbaren Sauerstofftherapie.....	12
2.3.5	Physikalische Grundlagen der hyperbaren Sauerstofftherapie .....	12
2.3.6	Heutige Indikationen und Anwendungsgebiete .....	13
2.3.6.1	Luft- und Gasembolien .....	14
2.3.6.2	Quetschverletzungen .....	15
2.3.6.3	Verbrennungen .....	15
2.3.6.4	Clostridiale Myonekrose (Gasbrand).....	16
2.3.6.5	Gefährdete Haut- und Weichteiltransplantate .....	16
2.3.6.6	Verbesserung der Heilung ausgesuchter „Problemwunden“ .....	17
2.3.6.7	Osteoradionekrosen .....	17
2.3.6.8	Intrakraniale Abszesse .....	18
2.3.6.9	Kohlenmonoxidvergiftungen.....	18
2.3.6.10	Therapieresistente Osteomyelitis .....	19
2.3.6.11	Nekrotisierende Weichteilinfektionen .....	20
2.3.6.12	Außergewöhnlicher Blutverlust.....	20
2.3.6.13	Dekompressionskrankheit .....	20
2.3.6.14	Nebenwirkungen und Kontraindikationen.....	21

<b>3.</b>	<b>Material und Methode .....</b>	<b>23</b>
3.1	Versuchstiere .....	23
3.2	Anästhesie und Schmerzkontrolle .....	23
3.3	Einteilung der Untersuchungsgruppen .....	23
3.4	Chirurgische Durchführung .....	24
3.5	Behandlung mit hyperbarem Sauerstoff und Opferung .....	25
3.6	Herstellung der Schnittpräparate.....	25
3.7	Messdurchführung (histologisch und histomorphometrisch) .....	26
3.8	Statistische Auswertung .....	28
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>29</b>
4.1	Klinische Beobachtungen.....	29
4.2	Histologische Beobachtungen .....	29
4.3	Darstellung der Ergebnisse .....	29
4.4	Histomorphometrische Messungen .....	30
4.4.1	Linke Randschnitte.....	30
4.4.2	Rechte Randschnitte .....	31
4.4.3	Mittelschnitte.....	32
4.5	Darstellung der Defektauffüllung .....	33
<b>5.</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>34</b>
5.1	Beurteilung von Material und Methode.....	34
5.1.1	Rattenmodell .....	34
5.1.2	Diskussion der Methode.....	35
5.2	Beurteilung der Untersuchungsergebnisse .....	36
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>39</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>40</b>

**Danksagung**

**Lebenslauf**

## Abkürzungen (in alphabetischer Reihenfolge)

atm	1 Physikalische Atmosphäre = 760 Torr = 1013,25 hPa
BMPs	Bone Morphogenetic Proteins
CO	Kohlen(stoff)monoxid
DCS	Decompression Sickness
ePTFE	expandiertes Polytetrafluorethylen
GBR	Guided Bone Regeneration
GTR	Guided Tissue Regeneration
HBO	Hyperbaric Oxygen
HBOT	Hyperbaric Oxygen Therapy
hPa	Hektopascal
kg	Kilogramm
mg	Milligramm
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
PTFE	Polytetrafluorethylen
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor-beta
Trapez-Flächenformel	$A=(a + c)/2 * h$

## 1. Einleitung und Problemstellung

Bedingt durch Zahnverluste, Parodontitis, Infektionen oder operative Tumorentfernung, wird oftmals der Wiederaufbau von verlorenem Knochen notwendig. Auch die mit zunehmendem Alter einsetzende Kieferkammatrophy kann regenerative Maßnahmen notwendig machen [1]. Moderne Zahnbehandlungen, wie die Implantologie, werden dadurch häufig erst möglich. Besonders der zunehmend wichtige Aspekt einer zufriedenstellenden „roten Ästhetik“ macht einen vorausgehenden Knochenaufbau oftmals erforderlich. Der Einsatz von Barrieremembranen für die Regeneration verlorengegangenen Knochens hat die Zahnmedizin nachhaltig verändert. Diese auch „Guided Bone Regeneration“ (GBR) genannte Technik wurde erstmals 1959 beschrieben [2]. Zahlreiche Studien haben sich seither mit diesem Thema beschäftigt. Sie erlaubt die Regeneration selbst größerer Defekte und kann in Verbindung mit Knochenersatzmaterialien oder autologem Knochen angewandt werden [3-6]. Eine erfolgreiche Abschirmung des knöchernen Defekts vor schnell proliferierendem Bindegewebe steht dabei im Vordergrund [7]. Trotz des Einsatzes modernster Materialien kann die vollständige knöcherne Regeneration bis zu mehreren Monaten dauern [8].

Die hyperbare Sauerstofftherapie kommt bei Erkrankungen zum Einsatz, die direkt von den physikalischen und biologischen Wirkungen von Sauerstoff oder Druck signifikant profitieren. Hauptwirkungsweise der HBOT ist die Verbesserung der Sauerstoffversorgung von hypoxischen oder ischämischen Geweben und die Initiierung einer Neoangiogenese [9].

Ziel der vorliegenden Studie war es, diese positiven Effekte auf die GBR zu übertragen und den Einfluss von Druck und Sauerstoff, mit oder ohne Barrieremembranen, auf das Knochenneuwachstum zu untersuchen. Dazu wurde ein tierexperimentelles Modell mit 40 Laborratten gewählt, um eine quantitative Bestimmung von neugewachsenem Knochen durchzuführen.

## **2. Kenntnisstand und Grundlagen**

### **2.1 Physiologie des Knochens**

#### **2.1.1 Die Osteoklasten**

Osteoklasten sind mehrkernige Knochenzellen, die zum mononukleär-phagozytären System (MPS) gehören und sich aus hämatopoetischen Stammzellen entwickeln. Ihre Hauptaufgabe ist die Resorption der Knochensubstanz. Ein Osteoklast kann die gleiche Menge Knochen abbauen, die 100 Osteoblasten in dieser Zeit aufbauen [10, 11].

#### **2.1.2 Die Osteoblasten**

Osteoblasten sind spezialisierte, fibroblasten-ähnliche Zellen mesenchymalen Ursprungs. Aktive Osteoblasten sind in der Lage, Kollagen Typ I zu bilden, die organische Komponente der Knochenmatrix, sowie eine Anzahl weiterer Proteine wie Osteocalcin und phosphorylierte Glycoproteine [12]. Nach der Aktivierung an der benötigten Stelle bilden Osteoblasten eine Zellschicht aus. Nach erfolgter Proliferation bildet sich das sogenannte Osteoid. Bei diesem Prozess verändern sie sich zu Osteozyten, die nicht mehr teilungsfähig sind, mineralisieren und Calcium speichern [12, 13].

Die gebildete Knochenmatrix besteht zu etwa 35% aus organischen Verbindungen (vorwiegend Kollagen I). Der anorganische Anteil enthält überwiegend Calciumphosphate (85 %), Calciumkarbonat (10 %), Magnesium- und Calciumfluorid (5 %) [14].

#### **2.1.3 Grundlagen der Osteogenese und der Defektheilung**

Bei der Osteogenese des menschlichen Knochens unterscheidet man 2 verschiedene Mechanismen:

- Bei der desmalen Ossifikation entsteht das Knochengewebe direkt aus mesenchymalen Zellen. Durch anschließende Einwanderung von Osteoblasten und Mineralisation reift der Knochen und bildet seine Endhärte aus.
- Bei der chondralen Knochenbildung erfolgt zuerst eine Knorpelbildung aus embryonalem Bindegewebe. Die anschließende Umbildung und Mineralisation erfolgt durch Chondroklasten und Osteoblasten.

Bei der Defektheilung unterscheidet man die primäre von der sekundären Knochenheilung:

- Die primäre Knochenheilung setzt voraus, dass sich die Defektenden direkt berühren. Dies kann nur erreicht werden durch
  - operative Darstellung und
  - Fixation unter Kompression [15]
- Die sekundäre Knochenheilung stellt bei zahnärztlichen Eingriffen normalerweise den Regelfall dar. Nach Einblutung der Wunde und eines sich bildenden Hämatoms entsteht in der Folge eine entzündliche Reaktion und der beginnende Abraum nekrotischen Gewebes. Gesteuert durch Wachstumsfaktoren, hier überwiegend durch die zur TGF- $\beta$ -Gruppe gehörenden morphogenetischen Knochenproteine (BMPs), erfolgen Proliferations- und Differenzierungsvorgänge. Der dadurch gebildete Kallus besteht erst aus Granulationsgewebe, später aus Bindegewebe. Nach etwa 10 Tagen erfolgt die Einlagerung von Hydroxylapatitkristallen. Durch wechselnde Aktivitäten der Osteoblasten und Osteoklasten und Einbau von Calcium- und Magnesiumsalzen wird der normale Bau des Knochens induziert. Durch Remodellingprozesse entsteht ein in Form und Funktion dem ortsständigen, umgebenden Knochen angepasstes Knochengewebe. Ein Marker zur Bestimmung des Knochenstoffwechsels ist die Ostase, eine alkalische Phosphatase [15].

## 2.2 Entwicklung der GBR

Rekonstruktion und Wiederaufbau zahnloser Abschnitte der Kieferknochen stellen eine Herausforderung für den Behandler dar. Durch Traumata, Infektionen oder Tumorsektionen entstandene Defekte des Knochens müssen vor einer adäquaten Versorgung aufgebaut werden [7]. Knochen hat unter den Körpergeweben die einzigartige Fähigkeit, vollständig zu regenerieren. Dies bedingt allerdings einiger Faktoren [16]:

- ausreichende Blutversorgung
- ausreichende mechanische Stabilität
- keine überdimensionierten Defekte
- Schutz vor proliferierendem Nachbargewebe.

Osteoblasten können ihre Funktion nur in unmittelbarer Nachbarschaft von Blutgefäßen und dem damit verbundenen ausreichenden Sauerstoffangebot hinreichend ausüben. Genügend stabilisierte Oberflächen sind unabdingbare Voraussetzung für die Knochenneubildung [17]. Es konnte gezeigt werden, dass eine direkte Abhängigkeit des Knochenneuwachstums von der Defektgröße besteht. Defekte mit einem Durchmesser von 0,2 mm (der durchschnittlichen Größe eines Osteons) werden direkt konzentrisch mit lamellärem Knochen aufgefüllt. Untersuchungen mit unterschiedlichen Defektdurchmessern haben ergeben, dass in Defekten von 0,2 bis 1 mm Durchmesser die Knochenneubildung innerhalb weniger Tage ohne vorausgehende Resorptionen seitens der Osteoklasten beginnt. Dies wird als „osteogenic jumping distance“ bezeichnet. Dadurch erreicht man Regenerationszeiten von etwa 4 Wochen [18]. Bei größeren Defekten ist es nicht möglich, diese mit „einem Sprung“ zu überbrücken. Hier muss zuvor ein Gerüst aus Geflechtknochen gebildet und anschließend zu lamellärem Knochen umgebaut werden. Dadurch verlängert sich die Heilungszeit teilweise um Monate [8].

Hauptproblem bei der erfolgreichen Auffüllung von knöchernen Defekten und der Schaffung neuen Knochens ist der Schutz vor schnell wachsendem Bindegewebe, da dieses als weniger differenziertes Gewebe eine höhere

Proliferationsrate besitzt als hochdifferenzierter Knochen. Dadurch kann die Osteogenese stark behindert werden oder sogar unvollständig sein [19].

Basierend auf den vielfachen Erfolgen und dokumentierten tierexperimentellen Studien bei der gesteuerten Geweberegeneration (GTR) in der Parodontologie, die Membranen als Barriere gegen das schnell wachsende Bindegewebe erfolgreich einsetzt, um neues Attachment zu generieren, wurde diese Methode zunehmend für den Aufbau knöcherner Defekte und der Bildung neuen Knochens herangenommen [7]. Ursprünglich geht diese Technik auf eine Methode aus den 50er Jahren des vergangenen Jahrhunderts zurück. *Campbell/Bassett* (1956) regenerierten Mittels Cellulose-Azetat-Filtern Nerven- und Sehngewebe. *Murray et al.* (1957) postulierten drei Grundvoraussetzungen für Knochenneuwachstum:

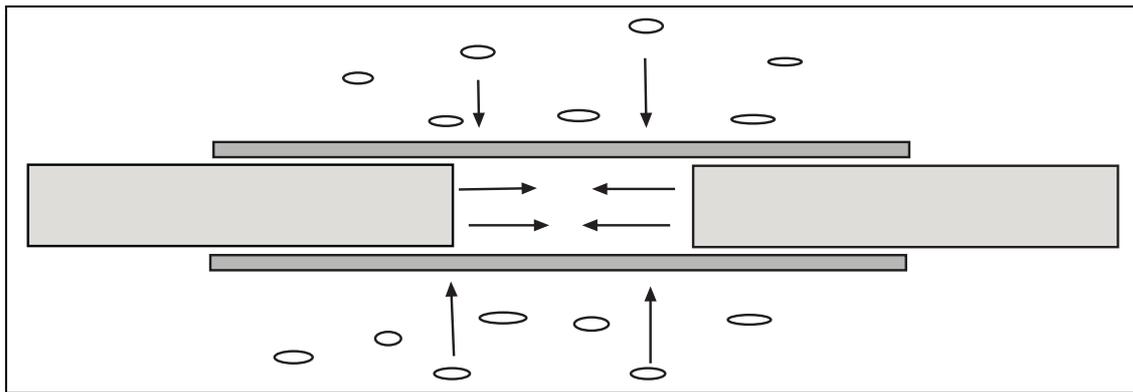
- die Bildung eines Blutthrombus,
- funktionstüchtige Osteoblasten und ein
- direkter Kontakt mit „lebendem“ Gewebe.

Dass der Schutz des entstehenden Thrombus dabei von äußerster Wichtigkeit ist, konnte von *Melcher* und *Dreyer* (1961) gezeigt werden. Aufgrund ihrer experimentellen Daten mit verschiedenen Membrantypen konnten sie aufzeigen, dass eine Membranabschirmung zweierlei Aufgaben erfüllen muss:

- sie schützt das Hämatom vor dem Einwandern nicht-osteogener Zellen, und
- beeinflusst die Größe des Thrombus und verhindert dessen Verformung durch den umgebenden Gewebedruck.

Dieser Effekt wird als Osteopromotion bezeichnet [7].

Die nachfolgende Grafik veranschaulicht schematisch die protektive Wirkung einer Barrieremembran über einem knöchernen Defekt vor einsprießenden Bindegewebszellen und die dadurch ermöglichte geschützte Migration osteogener Zellen von den Seiten in den Thrombus.



**Abb. 1** Schematische Darstellung des Osteopromotionsprinzips

*Kahnberg* (1979) konnte in ähnlichen Versuchen mittels einer Teflonmembran diese Defektheilung an Hasenunterkiefen demonstrieren. Er platzierte die Membran in direktem Knochenkontakt über den Defekt, klappte den gebildeten Mukoperiostlappen darüber und sorgte für einen dichten Wundverschluss. An diesem prinzipiellen Vorgehen hat sich seitdem wenig verändert. *Dahlin* et al. (1988) konnten in einem Experiment an Ratten den Nutzen von ePTFE-Membranen für die Osteopromotion aufzeigen. Hierzu wurden standardisierte, bilateral durchgängige Defekte im Unterkieferwinkel von Ratten operativ erzeugt. Dadurch ergaben sich zwei direkt miteinander vergleichbare knöcherne Defekte. Jeweils eine Seite (Kontrolle) wurde nur mit dem Mukoperiostlappen verschlossen, die andere (Testseite) zusätzlich mit einer Membran abgedeckt. Histologische Analysen zeigten, dass auf der Testseite nach drei Wochen die Hälfte und nach sechs Wochen alle Defekte eine vollständige knöcherne Ausheilung aufwiesen. Auf der Kontrollseite konnte selbst nach 22 Wochen keine oder nur wenig knöcherne Auffüllung nachgewiesen werden [20]. *Jovanovic* et al. (1992) berichteten von nahezu 90% Defektauffüllung [6]. *Dahlin* et al. (1993) konnten an Ratten zeigen, dass eine Kombination aus Membrantechnik und HBOT nach 14 Tagen eine signifikant gesteigerte Knochenneubildung ermöglicht [21]. Die Gruppe um *Dahlin* (1994) berichtete weiterhin, dass selbst bereits mit Bindegewebe gefüllte knöcherne Defekte durch eine Wundrevision mit anschließender Membranabdeckung nach 6 Wochen wieder vollständig mit Knochen ausgefüllt sein können [22].

Ebenso konnte bewiesen werden, dass die GBR nicht nur zur Regeneration bestehender knöcherner Defekte herangezogen werden, sondern auch

zusätzlichen neuen Knochen formen kann. *Buser et al.* (1990) erreichten zwischen 1,5 und 5,5 mm Alveolarkammerhöhung durch GBR, wenn es zu keinen Wundheilungsstörungen kam [4]. *Jovanovic et al.* (1995) berichteten von bis zu 6 mm an neuem Knochen [23]. *Linde et al.* (1993) benutzten kuppelförmige, unterschiedlich steife Membranen, die auf der Schädelkalotte von Ratten angebracht wurden. Abhängig von der Einheilzeit, konnte bis zu 80% Neuknochen unter den Kuppeln nachgewiesen werden [24]. *Weng et al.* (2000) konnten in einem Affenexperiment durchschnittlich 68% Knochenneuwachstum unter Titannetzen zeigen. Mit zusätzlicher Membranabdeckung erhöhte sich das Wachstum auf durchschnittliche 77% [25].

Um bestmögliche Ergebnisse zu erzielen, ist ein dichter primärer Wundverschluss anzustreben, da frühzeitige Membranexposition und bakterielle Besiedelung die Ergebnisse negativ beeinflussen können [26, 27]. Die Gruppe um *Becker* (1994) fand in einer Untersuchung an 49 membrangedeckten Implantaten 20 frühzeitige Membranexpositionen [3]. *Machtei* (2001) konnte in einer großen Meta-Analyse aufzeigen, dass das Knochenneuwachstum bei vorzeitiger Membranexposition um den Faktor 6 geringer ausfällt im Falle von Implantation und gleichzeitiger GBR [28].

### 2.2.1 Membranen

Die richtige Wahl eines Membranmaterials für das zu erreichende Ziel ist wichtigste Voraussetzung für einen vorhersagbaren Erfolg. *Hardwick* (1994) postulierte die fünf folgenden, grundsätzlichen Anforderungen an ein Membranmaterial [29]:

- Biokompatibilität,
- Zellundurchlässigkeit,
- Platz- und Raumerhaltung,
- Gewebeintegration und
- klinische Handhabbarkeit.

Eine elementare Anforderung an alle in den Körper einzubringende Materialien ist die Biokompatibilität. *Williams* (1976) definiert diese als einen Zustand, in dem ein Biomaterial sich in einer physiologischen Umgebung befindet, durch diese aber nicht negativ beeinflusst wird und umgekehrt seine Umgebung nicht negativ und signifikant beeinflusst [30]. Diese Definition muss allerdings als relativ betrachtet werden. Abhängig von der Art des Materials, der gewünschten Funktion und des Applikationsortes muss diese jeweils neu interpretiert werden. So beeinflussen resorbierbare Materialien, hier allerdings gewollt, ihre Umgebung und treten mit dieser in Interaktion [29]. Selbst chemisch gleich aufgebaute Materialien, die sich aber in ihrer Makro- und/oder Mikrostruktur unterscheiden, verursachen unterschiedliche zelluläre oder systemische Reaktionen [31]. Deshalb ist es wichtig, die individuellen Biocharakteristiken der eingesetzten Materialien genau zu kennen, damit Interaktionen zwischen Umgebung und Biomaterial einer Erfüllung des gewünschten Effekts nicht im Wege stehen und die Gesundheit des Patienten nicht gefährdet wird [29].

Eine weitere Forderung liegt im mechanischen Schutz des knöchernen Defekts vor einsproießenden, schnell proliferierenden Bindegewebszellen (Zelloklusivität), da diese inhibierend auf die Osteogenese einwirken [32]. Allerdings sollte die Membran durchlässig für Nährstoffe, aber möglichst impermeabel für Mikroorganismen sein [2]. Dieser wichtige Aspekt konnte von *Becker et al.* (1994), *Ling et al.* (2003) und *Verardi und Simion* (2007) gezeigt werden, die in Studien von Problemen mit

- Wunddehiszenzen,
- Membranexpositionen und damit verbundenen möglichen
- Wundheilungsstörungen sowie
- verstärkten Resorptionen berichteten [3, 33, 34].

Die Mehrheit der derzeit gebräuchlichen Membranen bestehen aus einem inneren steifen, zellundurchlässigen Anteil und einem porösen weicheren, äußeren Anteil, der die Befestigung an umliegendes Bindegewebe ermöglicht [29]. Diese Fähigkeit zur Gewebeintegration inhibiert das Einwachsen von Epithelzellen über den Wundrand, führt damit zu einer verbesserten Wundstabilität und schützt vor bakterieller Infektion im Fall einer Membranexposition [35].

*Haney* et al. (1993) konnten an Hunden zeigen, dass die Bildung von Neuknochen unmittelbar mit dem zur Verfügung stehenden Raum zwischen Membran und Knochen abhängt [36]. Zum selbigen Ergebnis gelangten *Lundgren* et al. (1998) in einer Studie an 22 Hasen, die einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Platzhalterfunktion einer Membran und der Bildung von Neuknochen zeigen konnten [37]. Daraus kann abgeleitet werden, dass die Membran steif genug sein muss, um nicht nur ihrem eigenen Gewicht, sondern auch dem Druck des umgebenden Gewebes, sowie Drücken z.B. durch Mastikation, standzuhalten. Diese Steifheit erleichtert sowohl die Adaptation über dem Wundgebiet, als auch die Ausformung und Aufrechterhaltung des benötigten Platzes, während sich der äußere, flexiblere Ring leicht zuschneiden lässt und eine gute morphologische Anpassung auch an schwierigen topographischen Stellen erlaubt. Bei größeren Defekten können zusätzlich titanverstärkte Membranen eingesetzt werden [38].

Das am besten dokumentierte und als sogenannter „Goldstandard“ [39] bezeichnete Membranmaterial ist expandiertes Polytetrafluorethylen (ePTFE), auch bekannt als Gore-Tex<sup>®</sup> (WL Gore & Associates, Newark, Delaware, USA). Entwickelt wurde es 1969 vom US-Amerikaner *Robert W. Gore*. Die Mikrostruktur dieser Membran besteht aus einer Matrix aus Polytetrafluorethylen, angeordnet in Knoten und Fibrillen mit verschiedenen Porositäten, wodurch unterschiedliche klinische und biologische Anforderungen erzielt werden können. ePTFE ist gewebeverträglich [40]. Zahlreiche Behandler setzen weltweit mit großem Erfolg dieses Material ein [41]. Unzählige Studien haben die Biokompatibilität und sichere Anwendung in der Medizin bestätigt. Es gibt Membranen in transgingivalen und schleimhautbedeckten Konfigurationen [40].

Studien mit nicht-expandiertem PTFE haben sehr gute Ergebnisse in Situationen gezeigt, bei welchen ein primärer Wundverschluss und damit eine vollständige Abdeckung der Membran nicht möglich ist [42]. Versuche mit Titanfolien zeigten sehr gute Erfolge bei der Augmentation in über 90% der untersuchten Fälle [43].

Nicht-resorbierbare Membranen erfüllen zwar die von *Hardwick* (1994) [29] aufgestellten Kriterien, haben allerdings auch Nachteile:

- die Membran muss in einem Zweiteingriff entfernt werden,
- häufig vorkommende Membranexpositionen mit anschließender bakterieller Besiedelung können die Knochenregeneration stören [3] und
- durch die Zweitoperation bei der Membranentfernung kann es zu verstärkten Resorptionen kommen [44].

Aus diesem Grund wurden resorbierbare Materialien untersucht, die oben genannte Anforderungen erfüllen können. Die Resorption geschieht entweder durch Hydrolyse oder enzymatischen Abbau. Der Degradationsprozess darf dabei allerdings nicht negativ auf die Wundheilung wirken und die für die Liegezeit geforderte Platzhalterfunktion muss gewährleistet sein [39].

Kollagen gehört in dieser Gruppe zu den am umfangreichsten untersuchten Materialien [45]. Dieses Molekül wird in physiologischer Weise metabolisiert, besitzt geringe Antigenität und günstige Effekte auf die Koagulation und Wundheilung [46]. Anfängliche Nachteile durch zu schnelle Degradation und vorzeitigem Verlust der Platzhalterfunktion konnten durch Weiterentwicklungen der Kollagenmembranen verbessert werden. Eine vergleichende Studie mit ePTFE an humanen Klasse-II-Furkationsdefekten zeigte vergleichbare oder teilweise bessere Ergebnisse einer Kollagenmembran gegenüber ePTFE und der chirurgischen Wurzelglättung allein [47]. Auch bei horizontalen Defektauffüllungen zeigte Kollagen signifikant bessere Ergebnisse [48].

Weitere vielversprechende Membranmaterialien sind Polylactid und Polyglykolid, Kalziumsulfat, azelluläre dermale Allotransplantate und laminarer Knochen [49].

## **2.3 Die hyperbare Oxygenierung**

### **2.3.1 Wirkung des Sauerstoffs auf Knochengewebe**

Steigende Sauerstoffsättigung hat sowohl Einfluss auf die Knochenresorption als auch auf die -synthese. Mit ansteigendem lokalen Sauerstoffdruck erhöht sich die Resorption durch gesteigerte Osteoklastenaktivität. Ab Drücken oberhalb von 0,5 bar kehrt sich dies wieder um und führt zunehmend zum Stillstand der Resorption aufgrund einer deutlichen Abnahme der Osteoklastenaktivität [50], während die Aktivitäten der alkalischen Phosphatase sowie der Kollagensynthese ansteigen [51] und die Angiogenese verbessert wird [52].

Niedrige Sättigungsraten wiederum zeigen einen negativen Einfluss auf alkalische Phosphatase und Kollagensynthese, während die Zellproliferation zunimmt [51]. Dies lässt eine unmittelbare Triggerrolle der Sauerstoffsättigung bei der Knochen-Remodellierung vermuten, da gezeigt werden konnte, dass Zellen ihren Metabolismus abrupt auf die jeweils gegebene Sättigung einstellen können [53].

### **2.3.2 Wirkung des Drucks auf Knochengewebe**

Setzt man Knochen zunehmendem Druck aus, kann man beobachten, dass die Knochenabbaurate der Osteoklasten deutlich abnimmt [54]. Andererseits erhöht sich dadurch die Biomineralisation des Knochens, also eine Zunahme der Calciumeinlagerung und der Aktivität der alkalischen Phosphatase [55]. Im Gegensatz dazu wird bei vermindertem Druck deutlich weniger Calcium eingelagert, wodurch die Festigkeit des Knochens abnimmt [56].

### **2.3.3 Definition der hyperbaren Sauerstofftherapie**

Die hyperbare Sauerstofftherapie (HBOT) ist definiert als eine periodische Aufnahme reinen, 100%igen Sauerstoffs in einer Behandlungskammer, in welcher der Druck höher ist als auf Meereshöhe (1 atm=1,013 hPa=760 mmHg) [57, 58].

### **2.3.4 Geschichte der hyperbaren Sauerstofftherapie**

Die ersten Ansätze, verschiedene Krankheiten mit Überdruck zu behandeln, stammen bereits aus dem 17. Jahrhundert. Damals versuchte der britische Arzt *Henshaw* (1664), Patienten in einer mit Blasebälgen betriebenen Druckkammer zu behandeln [57].

Die heutigen gebräuchlichen Anwendungen der HBOT haben ihren Ursprung in Dekompressionsbehandlungen von Tauchern und Bergwerksarbeitern aus den 20er- und 30er- Jahren des vorigen Jahrhunderts. Auf Betreiben des Militärs wurde die Forschung deutlich intensiviert, um gesicherte und standardisierte Behandlungen für Militärtäucher zu entwickeln, welche die Regeneration der Soldaten beschleunigen sollten. Daraus leiten sich auch die heutigen Erkenntnisse über die Toxizitätsgrenzen bei der Sauerstoffbehandlung ab [58]. Erst nach dem 2. Weltkrieg fand die Überdruckbehandlung in weiteren medizinischen Bereichen Anwendung. So wurde Ende der 50er- Jahre des 20. Jahrhunderts die erste Operation am offenen Herzen durchgeführt, welche nur durch den Einsatz einer Druckkammer möglich wurde. Niederländischen Chirurgen um *Boerema* (1960) gelang in Amsterdam eine erfolgreiche Behandlung von Gasbrand sowie der bahnbrechende Erfolg, einen Organismus ohne Hämoglobin, nur mit physikalisch gelöstem Sauerstoff am Leben zu erhalten („life without blood“) [57, 61]. Seitdem haben sich eine Vielzahl von Therapien und Indikationen etabliert, die durch das weiterentwickelte Verständnis physiologischer Zusammenhänge und langjähriger klinischer Studien erst möglich wurden [62, 63].

### **2.3.5 Physikalische Grundlagen der hyperbaren Sauerstofftherapie**

Der hyperbaren Sauerstofftherapie liegen verschiedene physikalische Prinzipien zugrunde:

1. Die Druck-Volumenbeziehung:

Dieses Prinzip beruht auf dem Gesetz von *Boyle/Mariotte* (1662/1676) und

besagt, dass sich bei zunehmendem Druck das Volumen verkleinert. Sowie umgekehrt bei zunehmendem Volumen der Druck abnimmt.

### 2. Das Partialdruck-Prinzip:

Dieses stützt sich auf die Erkenntnisse *Daltons* (1805), dass der Gesamtdruck eines Gasgemisches aus den Einzeldrücken seiner beinhalteten Gase besteht. Auf Meereshöhe (1,0 bar) besteht die Zusammensetzung der Atemluft aus 21% Sauerstoff, 78% Stickstoff und ca. 1% Edelgasen, Kohlendioxid und anderen Gasen. Daraus ergibt sich: 0,21 bar Sauerstoff, 0,78 bar Stickstoff und etwa 0,01 bar Partialdruck der Restgase.

### 3. Die Löslichkeit von Gasen in Flüssigkeiten:

Nach den Gesetzen von *Henry* (1803) hängt die Löslichkeit eines Gases vom auf die Flüssigkeit ausgeübten Druck ab [59].

Beim Menschen wird Sauerstoff durch das in Erythrozyten enthaltene Hämoglobin transportiert, wobei die Anzahl der roten Blutkörperchen ausschlaggebend für die Transportkapazität ist. Durch Erhöhung des Drucks und Gabe von 100%igem Sauerstoff wird mehr Sauerstoff zusätzlich im Blutplasma gelöst. Dadurch ist es möglich, die Transportkapazität des Blutes zu erhöhen, wodurch eine bessere Versorgung besonders im Kapillarbereich erreicht wird [60].

### **2.3.6 Heutige Indikationen und Anwendungsgebiete**

HBOT kommt bei hypoxischen Wunden zur Anwendung, deren lokaler Sauerstoffdruck ungenügend für eine selbständige Heilung ist [64].

Wissenschaftlich gesicherte und verbindliche Indikationen und Empfehlungen für heutige Anwendungen werden von der *UHMS* (Undersea and Hyperbaric Medical Society, Durham, USA) herausgegeben. Diese werden regelmäßig neu überprüft und entsprechend aktualisiert. Aus der Übersicht von 2003 ergeben sich folgende Indikationen [65]:

01. Luft- oder Gasembolien
02. Quetschverletzungen
03. Verbrennungen
04. Clostridiale Myonekrose (Gasbrand)
05. Gefährdete Haut- und Weichteiltransplantate
06. Verbesserung der Heilung ausgewählter „Problemwunden“
07. Bestrahlungsbedingte Gewebeschäden (Osteoradionekrose)
08. Intrakraniale Abszesse
09. Kohlenmonoxidvergiftungen
10. Therapieresistente Osteomyelitis
11. Nekrotisierende Weichteilinfektionen (subkutanes Gewebe, Muskeln, Faszien)
12. Außergewöhnlicher Blutverlust (Anämie)
13. Dekompressionskrankheit

### **2.3.6.1 Luft- und Gasembolien**

Als Gasembolien werden bedrohliche Zustände bezeichnet, bei denen Gas oder Luft in das zirkulatorische System der Blutgefäße eintritt [66].

Arterielle Gasembolien entstehen meist beim zu schnellen Auftauchen während eines Tauchgangs durch eine Überblähung der Lunge oder bei der maschinellen Beatmung. Ebenso können Embolien bei zentral-venösen Kathetern, bei der Herz-Thorax-Chirurgie und der Dialyse auftreten [59]. Initiale Schäden der Gasblasen sind mechanischer Art wie verminderter Blutfluss durch verengte Gefäße. Dadurch wird das Endothel geschädigt. In der weiteren Folge kommt es zur Aktivierung von Leukozyten und des Komplementsystems, sowie zur Blutgerinnung. Durch eine Zunahme der vaskulären Permeabilität und nachfolgendem Austritt von Flüssigkeit ins Interstitium erfolgt eine Eindickung des Blutes [67]. Im Gehirn werden die Mikrozirkulation und die Autoregulation gestört. Die Blut-Hirn-Schranke bricht zusammen [68].

HBOT reduziert entstandene Ödeme und verringert die Größe der Gasblasen, wodurch sie wieder in Lösung kommen und über die Lunge abgeatmet werden können [58, 69].

### **2.3.6.2 Quetschverletzungen**

Quetschverletzungen zählen zu den schweren Verletzungen der Extremitäten. Unmittelbare Bedrohung für den Gesamtorganismus entstehen durch Hypoxie und Ischämie. Quetschverletzungen verschlechtern sich unbehandelt und unterhalten sich autonom [9]. In der Folge entwickeln sich posttraumatische Ödeme, da die intrazelluläre Flüssigkeit der hypoxischen Zellen ausläuft. Der dadurch ansteigende Gewebedruck führt zu einem Stillstand von Reparationsprozessen, wie der Fibroblastenmigration und -proliferation, sowie weiterhin der Sekretion von Kollagen, welches wiederum für die kapilläre Angiogenese nicht mehr zur Verfügung steht.

Die HBO-Therapie als Standardbehandlung [70] hat zweifache Wirkung. Durch die Erhöhung der Sauerstoffverfügbarkeit im Kapillarbereich führt sie zu Sauerstoffgewebedrücken, die oben genannte Reparaturmaßnahmen wieder möglich machen. Dadurch verbessert sie die Geweberegeneration und vermindert die Notwendigkeit rekonstruktiver Chirurgie [71]. Eine Behandlung mit 2 bar Druck innerhalb der ersten 4 bis 6 Stunden [72] verbessert den Blutsauerstoffgehalt um 125% und erhöht die Sauerstoffdiffusion im Gewebe um den Faktor 3 [9].

### **2.3.6.3 Verbrennungen**

Verbrennungen stellen die verheerendsten physischen und psychischen Verletzungen dar, die ein Mensch erleiden kann. Hauptursachen sind Feuer und Verbrühungen. Eine durch ein solches Ereignis entstehende Wunde zeichnet sich durch eine zentrale Zone der Koagulation mit Gefäßverschlüssen, weiterhin einer umgebenden Stasezone und einem Erythem aus. Innerhalb der ersten 48

Stunden entstehen ischämische Nekrosen und Ödeme durch Mikrothrombenbildung, auch in Gebieten, die nicht unmittelbar betroffen sind [73]. HBOT führt zu einem Rückgang der Ödeme [74, 75], einer Verkürzung des Heilungsprozesses und der Infektionsschwere, sowie zur Verbesserung der Mikrovaskularisation [73, 76].

#### **2.3.6.4 Clostridiale Myonekrose (Gasbrand)**

Gasbrand ist eine akute, rasch progressiv verlaufende, nicht eiternde Erkrankung der Muskeln und Weichgewebe bakteriellen Ursprungs. Hauptverursacher ist *Clostridium perfringens*. Charakterisiert wird die Erkrankung durch eine starke Intoxizität, ausgeprägte Ödeme, ein massives Absterben von Gewebe und einer variablen Gasproduktion der Bakterien [77].

Bei schnellem Therapiebeginn, kombiniert mit Antibiotika und chirurgischen Maßnahmen, liegt die therapeutische Wirkung der HBOT in der Bildung freier Radikale -bei relativer Abwesenheit freier radikalabbauender Enzyme-, der bakterio-statischen Wirkung auf *Clostridium perfringens* und der verminderten Produktion von Alpha-Toxin [58, 77, 78].

#### **2.3.6.5 Gefährdete Haut- und Weichteiltransplantate**

Bei unkomplizierten Transplantaten scheint hyperbarer Sauerstoff weder notwendig zu sein, noch wird er in der Literatur gefordert [79]. Anders für Gewebe, die durch Bestrahlungen, Infektionen oder Minderdurchblutung bis hin zu anämischen Zuständen beeinträchtigt und bedroht sind [80].

HBOT führt dort zu einer deutlichen prozentualen Zunahme der Überlebensraten von Transplantaten [81] und sollte schnellstmöglich im Anschluss an die chirurgischen Maßnahmen erfolgen [82].

### **2.3.6.6 Verbesserung der Heilung ausgesuchter „Problemwunden“**

Unter „Problemwunden“ versteht man Verletzungen und Erkrankungen, die in zunehmender Weise unser Gesundheitssystem sowohl in finanzieller und substanzialer Art, als auch von der Schwere der Behandlung vor große Herausforderungen stellen [83]. Dazu gehören beispielsweise Ulzerationen der unteren Extremitäten, ausgelöst durch Diabetes mellitus [64, 84], venöse Beinulci, sowie Druck-Ulzerationen bettlägeriger Patienten durch lange Liegezeiten in Pflegeheimen und anderen Intensivbetreuungseinrichtungen [83, 85]. Bedingt durch bestehende systemische Erkrankungen wird eine Heilung oftmals erschwert. Persistierende Infektionen, mangelnde Durchblutung, Hypoxie, sowie wiederkehrende Traumata und Versagen der zellulären Systeme sind die Folge [83, 86].

Die Anwendung hyperbaren Sauerstoffs im Rahmen der Therapie vermindert die Bildung bakteriellen Toxins, steigert die Kollagensynthese und verbessert die Leukozytenfunktion sowie die Wirkung von Antibiotika [83, 87].

### **2.3.6.7 Osteoradionekrosen**

Strahlenbedingte Schäden biologischer Gewebe werden in 3 Gruppen eingeteilt:

1. Akute Verletzungen entstehen infolge unmittelbarer DNA-Schäden durch freie Radikale. Sie werden symptomatisch behandelt und sind normalerweise auf den direkten Einwirkungsbereich der Strahlung beschränkt. Ein Übergang in chronische Stadien ist nicht bekannt. Allerdings können sie für die Dauer ihres Auftretens sehr belastend für den Organismus sein [88].
2. Subakute Erkrankungen treten normalerweise 2 bis 3 Monate nach erfolgter Bestrahlungstherapie in nur wenigen bestimmten Organen auf, z.B. Lungenentzündungen nach Bestrahlung von Lungenkarzinomen. Gelegentlich entwickeln sich subakute Erkrankungen zu Späterkrankungen [88].

3. Spätschäden entwickeln sich erst Jahre nach erfolgter Bestrahlung. Oftmals entstehen sie aufgrund notwendiger chirurgischer Maßnahmen im ehemaligen Bestrahlungsgebiet. Die Ätiologie dieser Erkrankungen mag von Organ zu Organ unterschiedlich sein, gemeinsam ist allen die Hypoxie durch Endarteriitis [89] und die sekundäre Fibrose sowie Ödeme. Die Entwicklung fibrotischer Zytokine durch Interleukin-13 und Transforming Growth Factor-beta1 (TGF-beta1) beginnt bereits ab der ersten Bestrahlung [88, 90].

HBOT verbessert in diesem Zusammenhang die Neovaskularisierung, den Zellstoffwechsel in bestrahlten oder anderweitig hypoxischen Geweben [88] und vermindert entstandene Ödeme [91].

### **2.3.6.8 Intrakraniale Abszesse**

Trotz Verbesserung der Diagnosen und Behandlungen stellen intrakraniale Abszesse nach wie vor eine Herausforderung dar [92]. Zum Krankheitsbild der intrakranialen Abszesse gehören der cerebrale Abszess, das subdurale Empyem und das epidurale Empyem. Die Mortalitätsrate dieser Erkrankungen liegt derzeit noch bei etwa 20% [58].

HBO verbessert die Leukozytenaktivität und scheint die Wirkung von Antibiotika in infizierten sowie hypoxischen Wunden zu erhöhen [92, 93]. Bei „Problempatienten“ mit Immunsuppression, multiplen oder tief sitzenden Abszessen und reduziertem Allgemeinzustand konnte die Mortalitätsrate auf 2% gesenkt werden [50].

### **2.3.6.9 Kohlenmonoxidvergiftungen**

Kohlenmonoxid ist ein hoch giftiges, geschmack- und geruchloses, unsichtbares Gas, das bei der unvollständigen Verbrennung von Kohlenstoffen entsteht, z.B. in Automotoren [94]. Seine Gefährlichkeit besteht darin, dass die Affinität von

CO an Hämoglobin um den Faktor 210 höher ist als die von Sauerstoff (O<sub>2</sub>). Dadurch sinkt die Fähigkeit des Blutes, Sauerstoff in ausreichender Menge zu transportieren. Besonders betroffen durch entstehendes Carboxyhämoglobin sind das Herz und das Gehirn, dort vor allem der Cortex, die weiße Substanz und die Basalganglien [94, 95]. Erste Anzeichen einer Kohlenstoffmonoxidvergiftung sind Kopfschmerzen, Übelkeit und Störungen des optischen Systems. In weiterer Folge Ohnmacht bis Koma, Lungen- und Hirnödeme, Arrhythmien und Angina pectoris Anfälle bis hin zum Tod [59, 94].

Aufgrund der Behandlung mit HBO wird die Sauerstoffversorgung der Gewebe durch die verstärkte Abspaltung des CO vom Hämoglobin verbessert [58]. Entstandene Hirnödeme werden reduziert [96].

#### **2.3.6.10 Therapieresistente Osteomyelitis**

Unter dem Begriff der „Osteomyelitis“ vereinen sich die Entzündung des Knochenmarks und der umgebenden Kompakta (Ostitis). Überwiegend sind diese bakteriellen Ursprungs. Seltener sind abakterielle Entzündungen, z.B. durch physikalische Reize [97]. Der Terminus „therapieresistente Osteomyelitis“ bezeichnet eine bestehende, chronische oder rekurrende Osteomyelitis oder eine akute Osteomyelitis, die trotz entsprechender Behandlung nicht ausheilt. Patienten, die an einer refraktären Osteomyelitis leiden, zeigen meist zusätzliche lokale oder systemische Begleiterkrankungen, die ihr körpereigenes Infektionsmanagement beeinträchtigen [98].

Die hyperbare Sauerstofftherapie, verbunden mit parenteraler Antibiotikagabe und chirurgischen Maßnahmen [99], scheint eine vielversprechende Therapieform der chronisch refraktären Osteomyelitis zu sein, mit Erfolgswahrscheinlichkeiten von 80% [96, 97, 100]

### **2.3.6.11 Nekrotisierende Weichteilinfektionen (subkutanes Gewebe, Muskeln, Faszien)**

Unter nekrotisierenden Weichteilinfektionen werden Mischinfektionen erfasst, die in der Regel bakteriellen Ursprungs sind. Meist entstehen diese nach Traumata und in chirurgischen Wunden [58]. Typische Zeichen solcher Entzündungen sind lokale Hypoxie und eine infektionsinduzierte okklusive Endarteriitis [101]. Standardtherapie ist die, falls erforderlich, chirurgische Entfernung nekrotischen Gewebes und die Gabe systemischer Antibiotika, gegebenenfalls in Verbindung mit HBOT bei einer eintretenden Verschlechterung [102]. Hyperbare Sauerstofftherapie hemmt hierbei das bakterielle Wachstum und fördert die Phagozytose [101]. Durch Bildung freier Radikale wirkt sie zusätzlich bakteriotoxisch [102].

### **2.3.6.12 Außergewöhnlicher Blutverlust**

Das Problem des starken Blutverlustes ist die rapid abnehmende Fähigkeit des Blutes, Sauerstoff zu transportieren. Dabei gilt: Je schneller der Blutverlust vonstatten geht, desto intoleranter reagiert der Körper auf den Insult [58].

Die hyperbare Sauerstofftherapie sollte deshalb innerhalb von 4 bis 6 Stunden [96] und dann zum Einsatz kommen, wenn medizinische, zum Beispiel inkompatible Blutgruppen oder religiöse Gründe, einer Bluttransfusion entgegen stehen. Aufgrund des höheren Partialdrucks kann die Sauerstoffversorgung der Gewebe aufrecht erhalten werden, bis der Patient durch Bildung eigener Erythrozyten wieder selbst dazu in der Lage ist [103].

### **2.3.6.13 Dekompressionskrankheit**

Eine Dekompressionskrankheit (engl. DCS) entsteht bei zu schnellem Aufstieg/Druckentlastung bei Tauchern und Fliegern oder bei Benutzung einer

Über-/Unterdruckkammer durch Inertgasblasenbildung (Helium, Stickstoff) in Blutgefäßen und Geweben oder aufgrund einer arteriellen Gasembolie nach Lungenriss. Eingeatmete Pressluft geht im Blut abhängig von ihrem Partialdruck in Lösung. Das Blut wird wegen des höheren Drucks mit Stickstoff übersättigt. Bei zu schnellem Druckabfall kann dieses überzählige Gas nicht in ausreichender Menge abgeatmet werden und es kommt zu Gasblasenbildung [104]. Es werden 3 Schweregrade mit unterschiedlichen, aufeinander aufbauenden Symptomen, wie juckende Hautveränderungen (sog. Taucherflöhe) [99], Schwindel, Embolien, bis hin zu Knochennekrosen [105], unterschieden.

Durch die HBO-Therapie werden vorhandene Gasblasen verkleinert, ischämische Gewebe wieder durchblutet und mit Sauerstoff versorgt, sowie bereits entstandene Ödeme reduziert [69, 104].

### **2.3.6.14 Nebenwirkungen und Kontraindikationen**

Die häufigsten Nebenwirkungen der HBOT werden dem Druckanstieg angelastet. Man bezeichnet diese als Barotraumen [106]. Dies sind Verletzungen in natürlichen oder künstlichen Körperhöhlen (wie Nasennebenhöhlen, Lunge, Karieskavitäten) aufgrund der Steigerung des Umgebungsdrucks und des ausbleibenden Druckausgleichs, wobei ein relativer Unterdruck in diesen Höhlen entsteht [58, 74]. Traumen des Mittelohrs bis hin zur Trommelfellruptur werden hierbei am häufigsten beschrieben, gefolgt von Barotraumen der Nasennebenhöhlen. Betroffen davon sind oftmals Patienten mit Infektionen des oberen Respirationstraktes oder allergischen Rhinitiden [106]. In weiterer Folge kann auch die hohe Sauerstoffkonzentration an sich, bei gleichbleibend hohem Druck, für Komplikationen sorgen. Hauptsächlich betroffen davon sind Gehirn und Lunge [106]. Reversible Kurzsichtigkeit [59], Übelkeit, epileptische Krampfanfälle sowie Schwindel bis hin zu Ohnmacht und Atemstillständen sind beschriebene, aber äußerst seltene Komplikationen [57, 106].

Bei strikter Anwendung des Behandlungsprotokolls, d.h. Begrenzung der einzelnen Behandlungsanwendungen auf maximal 120 Minuten, ständige

Überwachung der Vitalfunktionen [107] und des Kammer-Sauerstoffgehalts (< 22%), sowie keiner Überschreitung des 3-fachen Atmosphärendrucks, ist die HBO-Therapie als eine sehr sichere Therapieform einzustufen [59]. Zwingende Ausschlusskriterien sind frische Brustkorb-Operationen, kürzlich erlittene Herzinfarkte und der Pneumothorax. Schwangerschaften, Herzschrittmacher und Lungenerkrankungen sind als relative Kontraindikationen anzusehen und müssen gegenüber dem Behandlungserfolg mit HBOT abgewogen werden [57, 58, 106].

### **3. Material und Methode**

#### **3.1 Versuchstiere**

Für diese Studie wurden 40 männliche Albino Sprague-Dawley Ratten ausgewählt. Das Gewicht der Tiere lag zwischen 400 g und 500 g. Die Einzeltierhaltung erfolgte für die Dauer der Studie artgerecht in Kunststoffkäfigen unter einheitlichen Bedingungen. Die Umgebungstemperatur betrug 21° C. Der Tag-/Nachtwechsel geschah automatisch nach jeweils 12 h. Die Versuchstiere hatten ständig freien Zugang zu Frischwasser und Nahrung.

#### **3.2 Anästhesie und Schmerzkontrolle**

Die Sedierung erfolgte durch intraperitoneale Injektion mit 60-75 mg Ketamin und 5 mg Xylazin pro kg Körpergewicht. Falls erforderlich wurde intraoperativ nachsediert. Eine örtliche Hämostase im Operationsgebiet konnte durch Gabe von 1 ml 2%igem Lidocain mit Adrenalinzusatz erreicht werden.

Zur postoperativen Schmerzkontrolle kam 0,1-0,5 mg Buprenorphin pro kg Körpergewicht zum Einsatz.

#### **3.3 Einteilung der Untersuchungsgruppen**

Jeweils 10 Ratten wurden einer Gruppe zugeordnet:

- °Gruppe 1: ePTFE + O<sub>2</sub>-Gruppe
- °Gruppe 2: Flap + O<sub>2</sub>-Gruppe
- °Gruppe 3: Flap-Gruppe
- °Gruppe 4: ePTFE-Gruppe

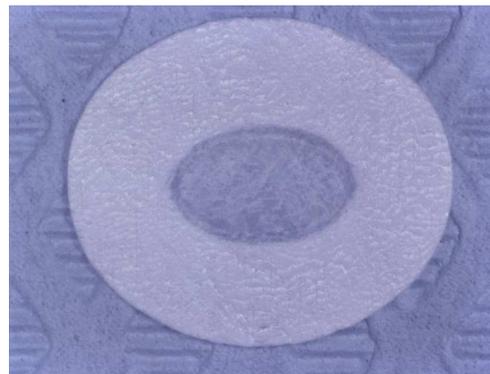
### 3.4 Chirurgische Durchführung



**Abb.2** Knochendefekt nach Trepanation

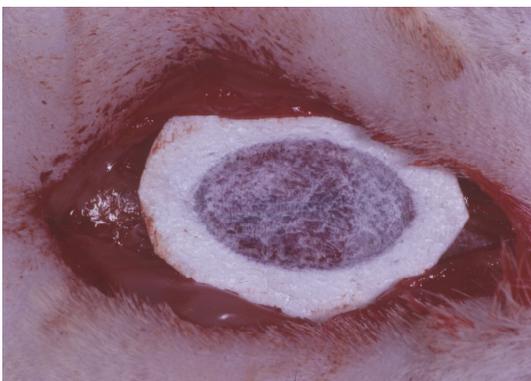
Nach Inzision in der Frontalregion konnte ein Mukoperiostlappen präpariert und der Schädelknochen dargestellt werden. Mit einem Trepanbohrer ( $\varnothing$  8 mm) wurde ein runder Knochendefekt erzeugt, der groß genug war, um nicht der Spontanheilung unterworfen zu sein („kritische Größe“).

Bei 20 Tieren (Gruppen 1 und 4) wurde der Defekt mit einer ePTFE-Membran (Gore Tex Augmentation Material, W.L.Gore & Associates, Newark, USA) abgedeckt. Die übrigen Gruppen erhielten keine weitergehende Wundbehandlung.



**Abb.3** Gore-Tex Membran

Die Membranen überlappten den Defekt allseits um 2-3 mm. Alle gebildeten Mukoperiostlappen wurden vorsichtig zurückgeklappt und mit Matratzen- und fortlaufenden Nähten (ePTFE Nahtmaterial, Gore Tex) primär verschlossen.



**Abb.4** Membran in situ



**Abb.5** primärer Wundverschluss

### **3.5 Behandlung mit hyperbarem Sauerstoff und Opferung**

Die Testgruppen 1 und 2 wurden postoperativ mit hyperbarem Sauerstoff in einer Druckkammer (Modell 2000, Mechidyne Systems Inc., Houston, Texas, USA) behandelt. Die Kammertemperatur betrug  $23^{\circ} \pm 2^{\circ}$  C. Eine Anreicherung von CO<sub>2</sub> in der Kammer konnte durch ständige Belüftung mit 0,6 l/min reinen Sauerstoffs verhindert werden.

Der Druckanstieg auf das Maximum von 2,8 atm erfolgte kontinuierlich über 10 min und wurde für weitere 80 Minuten gehalten. Daran schloss sich eine Dekompressionsphase von 5 Minuten an. Die Behandlung begann am zweiten postoperativen Tag und wurde insgesamt über 10 Tage durchgeführt. Anschließend erhielten die Tiere eine 48-stündige Regeneration unter Normalbedingungen. Die Opferung aller 40 Versuchstiere erfolgte schließlich nach 14 Tagen.

### **3.6 Herstellung der Schnittpräparate**

Nach durchgeführter Opferung mit einer Überdosis Kohlenmonoxid wurden Blockbiopsiepräparate des Knochens und der umgebenden Weichgewebe hergestellt, anschließend die Präparate in 10% gepuffertem Formalin fixiert, mit EDTA entmineralisiert, getrocknet und schließlich in Paraffin eingebettet. Für die Auswertung sollten pro Präparat zwei Schnitte für die Randbereiche (jeweils 2 mm vom Rand gemessen) und ein Schnitt für die Defektmitten hergestellt werden. Nach Anfertigung der 4 µm dünnen, vertikalen Schnitte in anterior-posteriorer Richtung erfolgte die Anfärbung der Präparate mit Hämatoxylin-Eosin und Trichrom.

### 3.7 Messdurchführung (histologisch und histomorphometrisch)

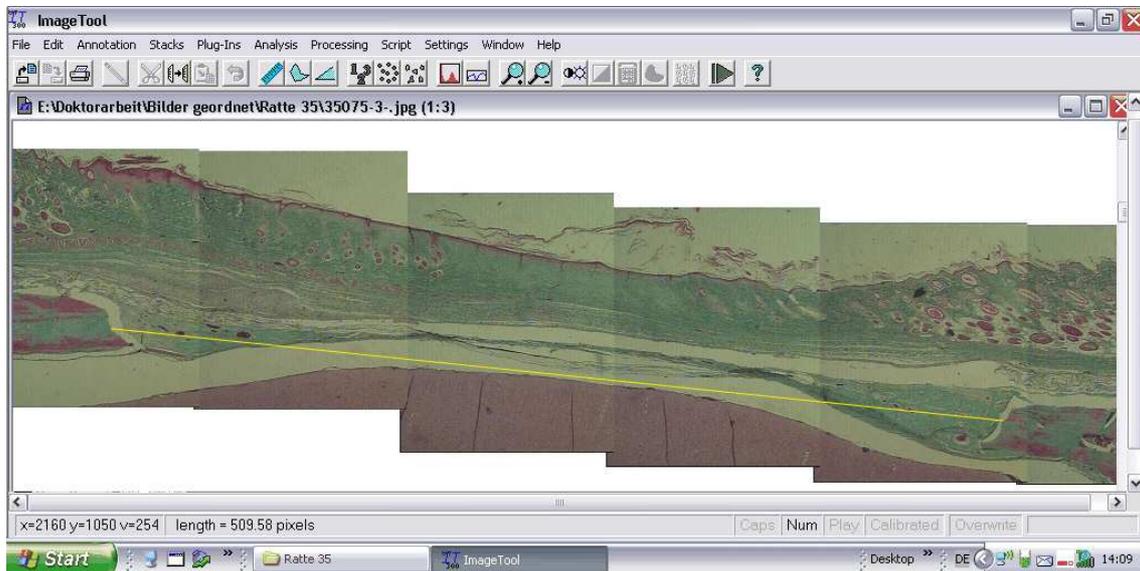
Die Auswertung der histologischen Präparate wurde am Durchlichtmikroskop durchgeführt. Zuerst erfolgte die Betrachtung der Präparate in 16-facher Vergrößerung, um inflammatorische Prozesse, eingewandertes Bindegewebe und Defektgrenzen exakt erkennen zu können. Nach Darstellung in 2,5-facher Vergrößerung wurde anschließend das segmentweise Abfotografieren mit Hilfe einer an das Mikroskop angeschlossenen Digitalkamera und eines Computers durchgeführt. Die dadurch entstandenen Einzelbilder wurden mittels der Grafiksoftware *Adobe Photoshop 6.0* (Adobe Systems Inc., USA) in 300%-iger Größendarstellung und 63%-iger Transparenz exakt wieder zu einem Gesamtbild zusammengefügt und gruppenweise gespeichert. Für die darauffolgende histomorphometrische Auswertung kam die Software *ImageTool 3.0* (The University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas, USA) zum Einsatz.

Gemessen wurde mit dem integrierten Messinstrument des *ImageTool*-Programms. Bei jedem Schnitt erfolgte zu Beginn der Messungen die Eichung des Instruments. Messparameter waren die Gesamtdefektlänge, Länge und Fläche der neuverknöcherten Areale. Die Gesamtdefektfläche wurde mit Hilfe der Trapezflächenformel berechnet.

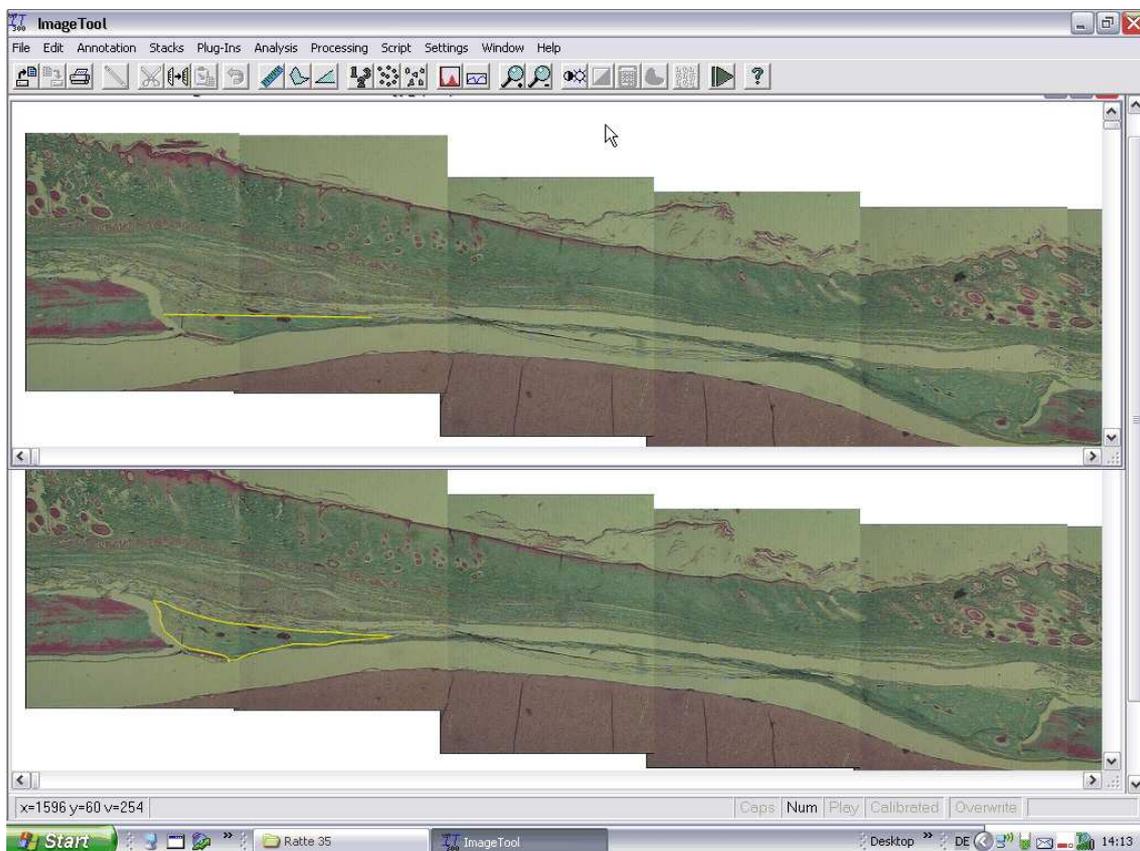
Für die statistische Auswertung wurden folgende Parameter ermittelt:

- A** Regenerierte Länge in mm: Strecke vom Defektrand bis zur Spitze der Knochenneubildung. Anteriore, posteriore Abschnitte sowie eventuelle Zwischenstücke wurden addiert.
- B** Regenerierte Länge in %: Prozentuales Verhältnis der neuverknöcherten Abschnitte zur Gesamtdefektlänge
- C** Regenerierte Fläche in mm<sup>2</sup>: Flächenmessung der regenerierten Abschnitte. Anteriore, posteriore und eventuelle Zwischenstücke wurden addiert.
- D** Regenerierte Fläche in %: Prozentuales Verhältnis der regenerierten Flächen zur Gesamtdefektfläche.

Abbildung 6 zeigt die Messung der Gesamtdefektlänge. In Abbildung 7 ist die Längen- und Flächenmessung exemplarisch an einem Schnittbild dargestellt.



**Abb. 6** Lineare Messung der Gesamtdefektlänge



**Abb. 7** Lineare Längenmessung (oben) und Flächenmessung (unten)

### **3.8 Statistische Auswertung**

Alle gemessenen Schnitte wurden gruppenweise gemittelt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen wurden tabellarisch und graphisch dargestellt. Statistische Signifikanzen konnten mit dem ANOVA- und dem Bonferroni-Test errechnet werden. Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde mit  $p < 0,05$  angenommen.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1 Klinische Beobachtungen**

Die Wundheilung verlief bei allen 40 untersuchten Versuchstieren komplikationslos. Es konnten keinerlei Wunddehiszenzen mit anschließender Membranexposition oder Entzündungen der Wundränder beobachtet werden. Die Überdruckbehandlungen der Tiere in den beiden Sauerstoffgruppen wurden täglich zur gleichen Uhrzeit durchgeführt und verliefen allesamt unauffällig.

### **4.2 Histologische Beobachtungen**

Histologisch waren bis auf eine Schnittserie alle Präparate auswertbar und wiesen keinerlei Anzeichen von entzündlichen Infiltraten auf. Die ePTFE-Membranen waren ausnahmslos intakt und gut erkennbar. Die chirurgisch erzeugten Knochendefekte ließen sich gut gegenüber den umgebenden Geweben abgrenzen, wodurch sich exakte Grenzen bestimmen ließen. Ebenso verhielt es sich mit dem gebildeten Neuknochen, der sich auf Grund der kurzen Heilzeit überwiegend als unreifer Geflechtknochen darstellte.

### **4.3 Darstellung der Ergebnisse**

Die ermittelten Längen- und Flächenresultate des Neuknochenwachstums werden unten tabellarisch dargestellt. Zur Veranschaulichung der Ergebnisverhältnisse wird das Neuknochenlängenwachstum mit Balkendiagrammen grafisch dargestellt.

#### 4.4 Histomorphometrische Messungen

##### 4.4.1 Linke Randschnitte

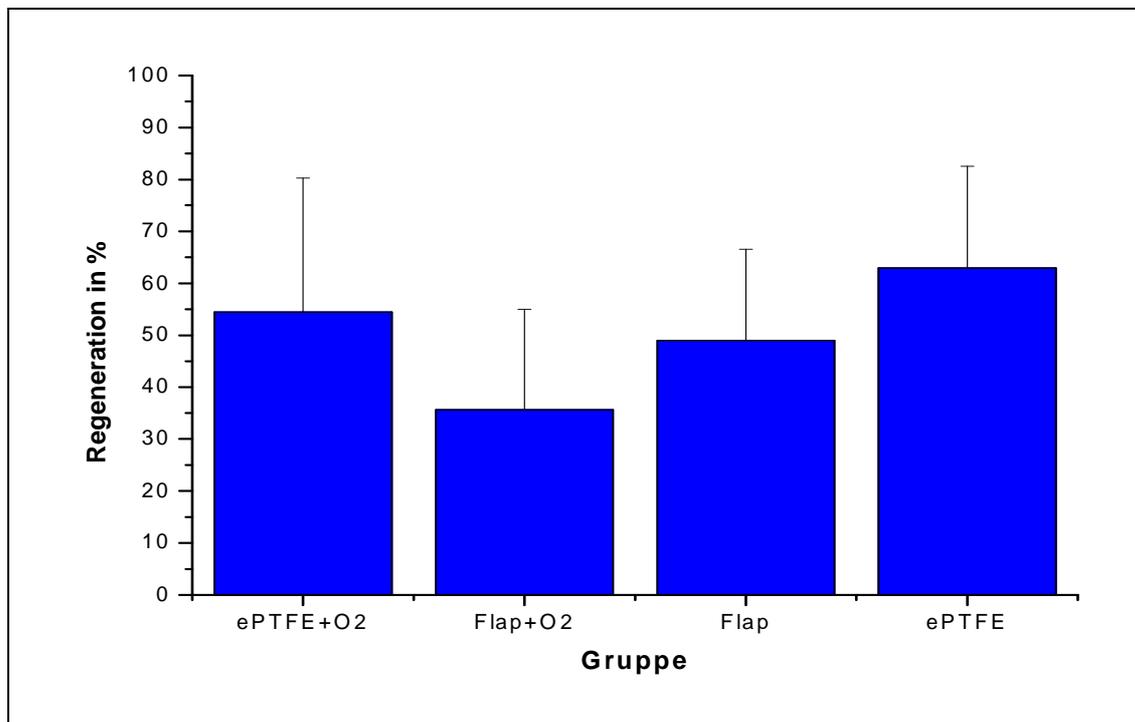
Tabelle 1 zeigt die gemessenen Werte der linken Randschnitte.

Signifikante Unterschiede ließen sich zwischen der Flap+O<sub>2</sub>-Gruppe und der ePTFE-Gruppe in den Parametern **A\*** und **D\*\*** ermitteln.

\*p=0,043; \*\*p=0,003

Gruppe	<b>A</b> regenerierte Länge in mm	<b>B</b> regenerierte Länge in %	<b>C</b> regenerierte Fläche in mm <sup>2</sup>	<b>D</b> regenerierte Fläche in %
ePTFE+O <sub>2</sub>	3,56 ± 1,69	54,47 ± 25,81	0,77 ± 0,55	22,61 ± 14,72
Flap+O <sub>2</sub>	2,33 ± 1,27	35,65 ± 19,38	0,44 ± 0,24	14,26 ± 7,47
Flap	3,20 ± 1,15	48,96 ± 17,65	0,66 ± 0,40	22,44 ± 10,08
ePTFE	4,11 ± 1,28	62,97 ± 19,58	0,95 ± 0,37	35,01 ± 11,75

**Tab.1** Mittelwerte und S.A. der linken Randschnitte



**Grafik 1** Darstellung des Neuknochenlängenwachstums linke Randschnitte

#### 4.4.2 Rechte Randschnitte

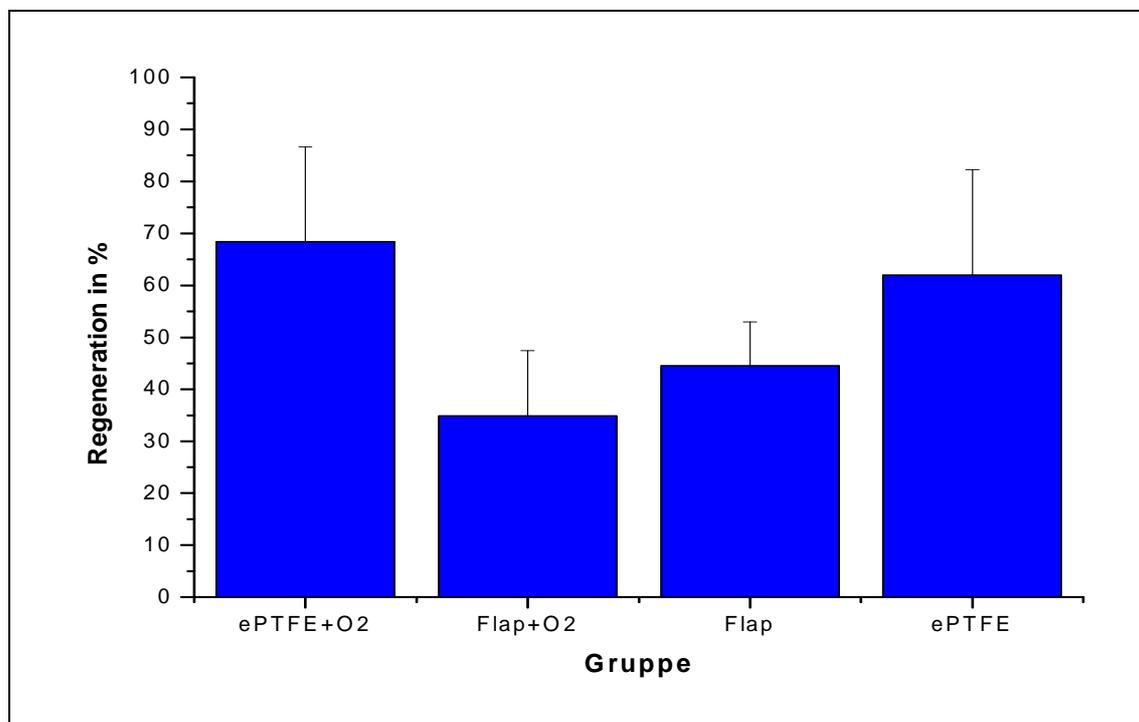
In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der rechten Randschnitte aufgeführt.

Die Flap+O<sub>2</sub>-Gruppe unterschied sich statistisch signifikant von der ePTFE-Gruppe in den Parametern **A\*** und **D\*\***, sowie von der ePTFE+O<sub>2</sub>-Gruppe in **A\*** und **C\*\*\***. Signifikanz bestand weiterhin zwischen der Flap- und der ePTFE+O<sub>2</sub>-Gruppe in Parameter **A\***. Die Flap-Gruppe wies einen signifikanten Unterschied im Untersuchungsparameter **D\*\*** zur ePTFE-Gruppe auf.

\*p=0,001; \*\*p=0,002; \*\*\*p=0,009

Gruppe	<b>A</b> regenerierte Länge in mm	<b>B</b> regenerierte Länge in %	<b>C</b> regenerierte Fläche in mm <sup>2</sup>	<b>D</b> regenerierte Fläche in %
ePTFE+O <sub>2</sub>	4,47 ± 1,19	68,39 ± 18,20	0,94 ± 0,52	26,89 ± 14,67
Flap+O <sub>2</sub>	2,28 ± 0,82	34,85 ± 12,58	0,48 ± 0,29	14,87 ± 7,50
Flap	2,90 ± 0,56	44,46 ± 8,50	0,51 ± 0,14	18,25 ± 3,65
ePTFE	4,04 ± 1,33	61,88 ± 20,40	0,86 ± 0,36	32,23 ± 11,89

**Tab.2** Mittelwerte und S.A. der rechten Randschnitte



**Grafik 2** Darstellung des Neuknochenlängenwachstums rechte Randschnitte

### 4.4.3 Mittelschnitte

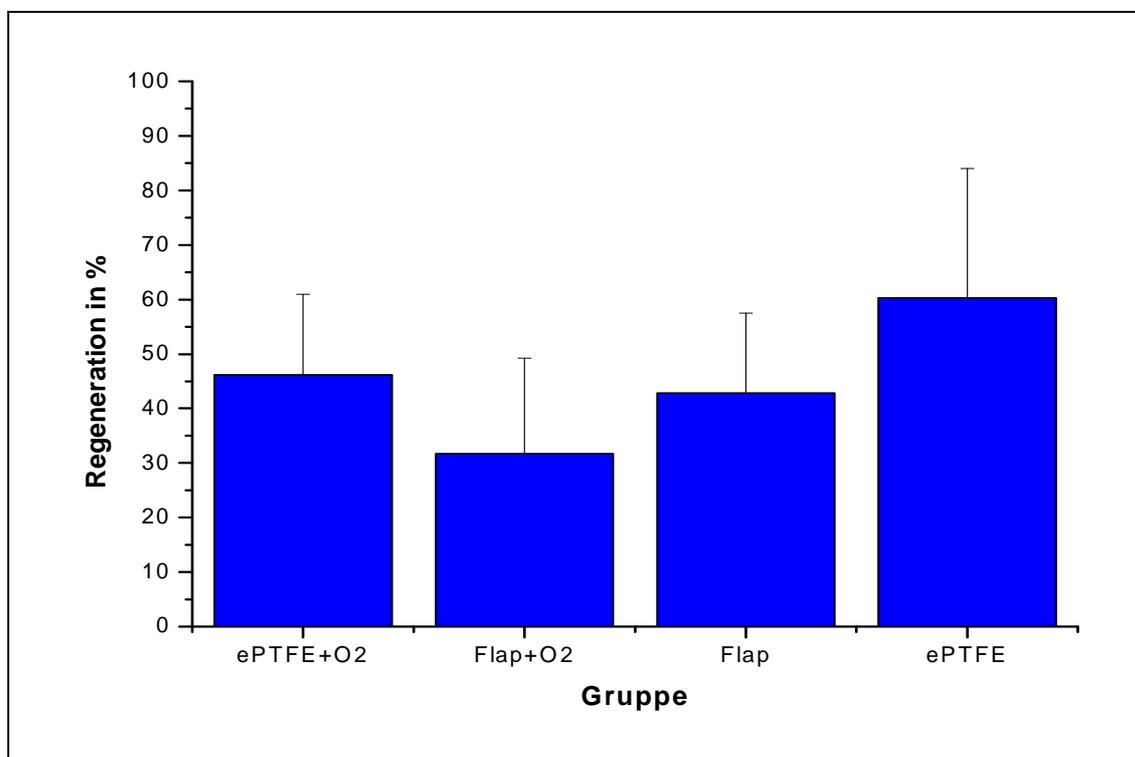
Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse der Mittelschnitte.

Bei der Flap+O<sub>2</sub>-Gruppe konnten statistische Signifikanzen zur ePTFE-Gruppe in den Parametern **A\*\*\***, **C\*\*** und **D\***, sowie zur ePTFE+O<sub>2</sub>-Gruppe im Parameter **C\*\*** errechnet werden.

\*p=0,002; \*\*p=0,006; \*\*\*p=0,011

Gruppe	<b>A</b> regenerierte Länge in mm	<b>B</b> regenerierte Länge in %	<b>C</b> regenerierte Fläche in mm <sup>2</sup>	<b>D</b> regenerierte Fläche in %
ePTFE + O <sub>2</sub>	3,69 ± 1,19	46,14 ± 14,83	1,58 ± 0,69	25,08 ± 10,24
Flap + O <sub>2</sub>	2,53 ± 1,41	31,66 ± 17,58	0,73 ± 0,40	14,85 ± 7,99
Flap	3,43 ± 1,17	42,84 ± 14,66	1,14 ± 0,42	25,80 ± 12,76
ePTFE	4,82 ± 1,90	60,29 ± 23,74	1,63 ± 0,54	35,51 ± 11,59

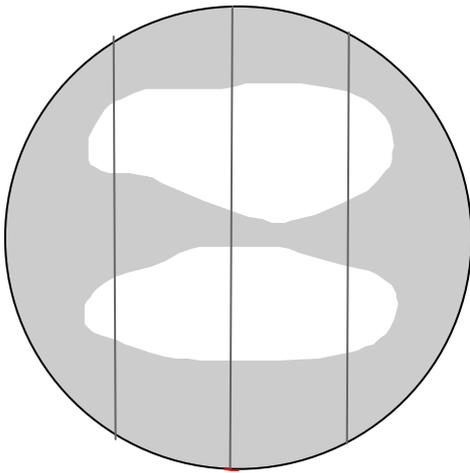
**Tab.3** Mittelwerte und S.A. der Mittelschnitte



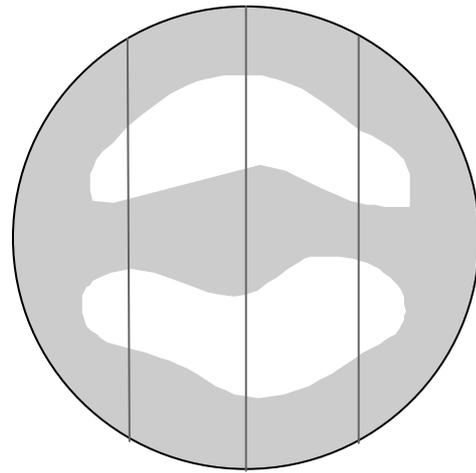
**Grafik 3** Darstellung des Neuknochenlängenwachstums der Mittelschnitte

#### 4.5 Darstellung der Defektauffüllung

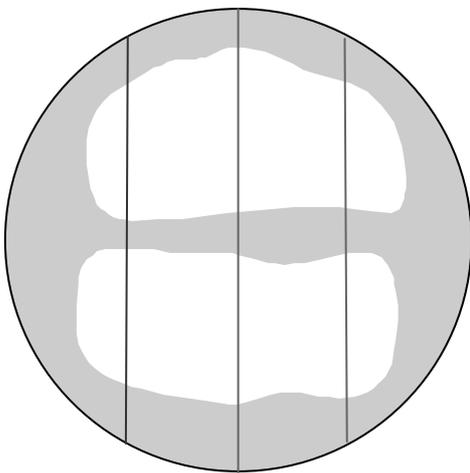
Die nachfolgend dargestellten Grafiken mit eingezeichneten Schnittlinien zeigen näherungsweise die Defektauffüllung innerhalb der einzelnen Gruppen. Der regenerierte Knochen ist in grauer Farbe dargestellt.



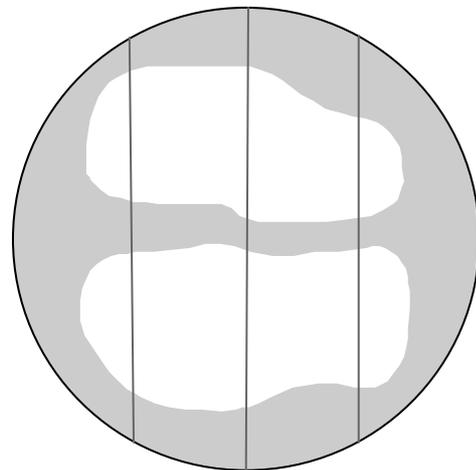
**Grafik 4** ePTFE+O<sub>2</sub>-Gruppe



**Grafik 5** ePTFE-Gruppe



**Grafik 6** Flap+O<sub>2</sub>-Gruppe



**Grafik 7** Flap-Gruppe

## **5. Diskussion**

### **5.1 Beurteilung von Material und Methode**

#### **5.1.1 Rattenmodell**

Für diese Arbeit wurde ein Sprague-Dawley Ratten-Modell gewählt. Diese Tierart wurde bereits mehrfach erfolgreich für tierexperimentelle Untersuchungen zur GBR herangezogen [22, 108-110]. Trotz vorhandener phylogenetischer Unterschiede, lassen sich Rückschlüsse für Behandlungen am Menschen ziehen. Vorteilig erscheint die ausreichende Verfügbarkeit und die vergleichsweise unkomplizierte Haltung dieser Tiere im Vergleich zu Hunden oder Hasen. Auch weisen Hasen im Gegensatz zu Ratten ein grazileres und frakturanfälligeres Knochenskelett auf. Als nachteilig für die Defektheilung könnte angesehen werden, dass die Schädelkalotte von Ratten vergleichsweise schwach vaskularisiert ist und kein Knochenmark enthält [111]. *Wang* und *Glimcher* (1999) konnten nachweisen, dass die undifferenzierten Vorläufer der knochenbildenden Zellen primär aus der Dura mater in den Defekt einwandern und nicht aus dem angrenzenden Altknochen [110]. Bei der Präparation muss daher sorgfältig darauf geachtet werden, die Dura mater nicht zu beschädigen.

Sowohl die prä- als auch die postoperative Haltung, Ernährung und Versorgung der Tiere erfolgte artgerecht. Das Ausbleiben von Wundheilungsstörungen und Dehizensen lässt auf eine vorhersagbare und sichere Membrandeckung und Wundversorgung schließen. Die Opferung wurde mit einer Überdosis Kohlenmonoxid durchgeführt. Die gewählte Anzahl von 40 Versuchstieren scheint angemessen, um eine ausreichend aussagekräftige Menge an Daten zu erhalten. Ein größeres Kollektiv hätte, außer im Kommabereich, in der Summe sicherlich keinen Einfluss auf das statistische Ergebnis gehabt.

### 5.1.2 Diskussion der Methode

Um möglichst viele Fehler von vornherein auszuschließen oder mögliche Fehlerquellen auf ein Minimum zu reduzieren, wurden sämtliche Arbeiten, sei es das Abfotografieren am Mikroskop, das anschließende Zusammensetzen der Einzelbilder und die histomorphometrischen Auswertungen, von ein und demselben Behandler mit den gleichen Geräteeinstellungen durchgeführt, um ein Höchstmaß an Standardisierung zu erreichen. Auch wurden die Messungen mindestens zweimal durchgeführt und bei Differenzen die Werte gemittelt.

Eine möglicherweise noch genauere Methode wäre, die Messungen von verschiedenen Behandlern unabhängig voneinander durchführen zu lassen, um Fehlinterpretationen bei Defektgrenzen und Alt-Neuknochenkontakten, mit daraus sich ergebenden Ungenauigkeiten, durch Mittelung zu reduzieren. Dies hätte jedoch den personellen Rahmen dieser Studie gesprengt.

Alle vorliegenden Schnittbilder wurden direkt am Mikroskop abfotografiert, um eine spätere Auswertung und Ausmessung mit einem geeigneten Computerprogramm zu ermöglichen. Beim anschließenden Zusammensetzen der einzelnen Schnittfotografien zu einem erneuten Gesamtbild wurde sehr auf ein exaktes Übereinanderlegen der Einzelbilder geachtet. Es wurde versucht, mögliche Fehlpassungen durch 300%ig vergrößerte Darstellung und 63%ige Transparenz zu minimieren. Bei diesem Vorgehen ist es nicht auszuschließen, dass geringe Ungenauigkeiten beim Zusammenfügen entstehen können. Dieses indirekte Vorgehen der Übertragung von histologischen Schnitten auf einen Computer war unvermeidbar, da keine technische Möglichkeit bestand, die Schnitte in toto zu fotografieren oder direkt am Mikroskop auszumessen. Unter solchen Voraussetzungen ließe sich die notwendige Anfertigung von Einzelbildern und das anschließende Wiederzusammenfügen mit allen sich daraus ergebenden möglichen Fehlerquellen vermeiden.

Die Verwendung von Hämatoxylin-Eosin- und Trichromfärbung ermöglichte eine genaue Unterscheidung zwischen Alt- und Neuknochen sowie der umgebenden Gewebe. In der Literatur sind zwar weitere Färbemethoden beschrieben, z.B. Toluidinblau, die einfacher durchführbar sind und Umbauprozesse in

Knochengewebe gut sichtbar machen, jedoch keine Farbunterscheidung zwischen Alt- und Neuknochen ermöglichen.

## 5.2 Beurteilung der Untersuchungsergebnisse

Mit der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, inwieweit die Anwendung hyperbaren Sauerstoffs auf die GBR übertragbar und praktikabel ist, sowie ob und welchen Einfluss dieser auf das Knochenneuwachstum in Knochendefekten „kritischer Größe“ hat. Zu diesem Zweck wurde die Neuknochenlänge ermittelt, um Aussagen über den horizontalen Defektschluss treffen zu können, sowie die Neuknochenfläche für die Beurteilung der Defektauffüllung insgesamt.

Der „Goldstandard“ in der geführten Knochenregeneration ist nach wie vor der Einsatz von Barrieremembranen aus expandiertem Polytetrafluorethylen (ePTFE), was durch zahlreiche histologische Studien bewiesen wurde [3-5, 20, 26, 112].

In der vorliegenden Arbeit konnte in allen 4 Untersuchungsgruppen nach einem Zeitraum von 2 Wochen Knochenneuwachstum nachgewiesen werden. Für die ePTFE-Gruppe wurden Regenerationslängenwerte für die Randbereiche von (links)  $\approx 63\%$ , (rechts)  $\approx 61,9\%$  und für die Defektmitten von  $\approx 60,3\%$  ermittelt. Im Vergleich dazu lagen die Ergebnisse der ePTFE+O<sub>2</sub>-Gruppe nur bei den rechten Randschnitten mit  $\approx 68,4\%$  über diesen Referenzwerten, ansonsten bei  $\approx 54,5$  und  $\approx 46,1\%$ . Allerdings waren diese Differenzen nicht statistisch signifikant.

Ähnliches war bei den Nicht-Membrangruppen festzustellen. Auch hier lagen die Werte der Flap-Gruppe in allen untersuchten Schnitten mit  $\approx 49,0\%$ ,  $\approx 44,5\%$  und  $\approx 42,8\%$  über denen der Flap+O<sub>2</sub>-Gruppe, für die  $\approx 35,7\%$ ,  $\approx 34,9\%$  und  $\approx 31,7$  errechnet wurden. Statistisch signifikant waren diese Werte nicht.

Bei der Auswertung der Knochenflächen konnte Vergleichbares aufgezeigt werden. Für die ePTFE-Gruppe wurden Werte von  $\approx 35,0\%$ ,  $\approx 32,2\%$  und  $\approx 35,5\%$  ermittelt. Für die ePTFE+O<sub>2</sub>-Gruppe  $\approx 22,6\%$ ,  $\approx 26,9\%$  sowie  $\approx 25,1\%$ .

Bei den periostgedeckten Schnitten ergaben die Berechnungen der Flap-Gruppe  $\approx 22,4\%$ ,  $\approx 18,2\%$  und  $\approx 25,8\%$ . Für die Flap+O<sub>2</sub>-Gruppe konnten  $\approx 14,3\%$ ,  $\approx 14,9\%$  und  $\approx 14,9\%$  errechnet werden.

In der Summe wiesen die rein membrangedeckten Defekte in allen untersuchten Parametern mit über 60% die höchste Längenregeneration auf. Auch bei der Neuknochenfläche lagen diese mit über 30% Regeneration deutlich über den Werten der Vergleichsgruppen. Worin der Grund für die hohen Werte der Gruppe 1 in der Länge bei den rechten Randschnitten begründet liegt, konnte nicht ermittelt werden.

Vergleicht man die Gruppen untereinander, kann man die zusätzliche Anwendung hyperbaren Sauerstoffs als einen eher negativen Faktor bezeichnen. Die Tiere mit HBOT-Anwendung zeigten insgesamt schlechtere Ergebnisse als die unbehandelten Tiere. Die regelmäßigen statistischen Signifikanzen zwischen der ePTFE-Gruppe und der Flap+O<sub>2</sub>-Gruppe verdeutlichen, dass die ohnehin geringere Knochenneubildungsrate bei periostgedeckten Defekten [25] unter dem Einfluss hyperbaren Sauerstoffs weiter abnimmt.

In diesem Modell konnte kein therapeutisch nutzbarer Effekt der HBOT auf das Knochenneuwachstum bewiesen werden, trotz der nachgewiesenen günstigen Eigenschaften von HBO bei der Therapie von Ödemen, Verbrennungen und auch Transplantaten, sowie der positiven Wirkungen auf das Knochengewebe und der knochenbildenden Zellen. Vielleicht ist in diesen Fällen die verbesserte Neoangiogenese der ausschlaggebende Faktor.

Worin die Negativbeeinflussung beruht, kann nicht mit Sicherheit aufgezeigt werden. Ein Grund könnte die Defektgröße sein. Möglicherweise kommen diese Eigenschaften erst dann zum Tragen, wenn sich die Gewebe berühren, bzw. der Raum dazwischen nicht zu groß ist, wie beispielsweise bei der Frakturheilung. Auch denkbar wäre, dass die singuläre Anwendung pro Tag nicht ausreichend ist. *Niinikoski* (1970) konnte unter dem Einfluss von zweimaliger HBOT pro Tag eine deutliche Zunahme der Kallusbildung an Rattentibiae nachweisen, mit anschließend deutlich erhöhter Mineralisation und Zugfestigkeit [113].

Gegebenenfalls war der Untersuchungszeitraum auch zu kurz gewählt, da die Effekte möglicherweise erst zeitversetzt auftreten. *Niinikoski* (1970) stellte obige Beobachtungen erst ab dem 11. postoperativen Tag fest. Auch brauchen die Zellen 24 h Zeit, um eine wirksame Abwehr gegen anfangs auftretende Sauerstoffradikale zu bilden [114].

Schlussfolgernd kann gesagt werden, dass die kombinierte Behandlung von Knochendefekten „kritischer Größe“ mit ePTFE-Membranen und hyperbarem Sauerstoff keinen verstärkenden Effekt auf die Knochenneubildung zu haben scheint. Tendenziell scheint die zusätzliche Anwendung von Sauerstoff eher von hemmender Wirkung zu sein.

## 6. Zusammenfassung

In der modernen Zahnmedizin stellen rekonstruktive Maßnahmen große Anforderungen an den Behandler. Verlorengangener Alveolarknochen kann mit der geführten Knochenregeneration wieder aufgebaut und sogar vermehrt werden. Dieses Verfahren hat sich als sogenannter „Goldstandard“ etabliert.

In der Medizin gehört die Anwendung hyperbaren Sauerstoffs bei ausgewählten Krankheitsbildern mittlerweile zum Standard. Aufgrund seiner positiven Eigenschaften auf die Neoangiogenese, Sauerstoffdiffusion und seiner bakteriziden Wirkung wird das Behandlungsergebnis teilweise erheblich verbessert oder eine Therapie dadurch erst möglich.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, quantitative Aussagen darüber zu treffen, ob die Kombination aus geführter Knochenregeneration mit nichtresorbierbaren Membranen aus expandiertem Polytetrafluorethylen und der Anwendung hyperbaren Sauerstoffs das Knochenneuwachstum signifikant beeinflusst. Dazu wurde ein Modell mit 40 Albino Sprague-Dawley Ratten, unterteilt in 4 Gruppen à 10 Tieren, gewählt, um nach einer Versuchsdauer von 14 Tagen anhand angefertigter histologischer Schnittbilder Neuknochen histometrisch zu bestimmen und zu vergleichen. Untersuchungsparameter waren die Neuknochenlänge und Neuknochenfläche.

Die statistische Auswertung der ermittelten Daten bestätigte die Überlegenheit membrangeführter Knochenregeneration (Gruppe 4) im Vergleich zur rein schleimhaut- und periostgedeckten Defektbehandlung (Gruppe 3). Zahlreiche Untersuchungen dazu liegen in der Literatur vor. Die zusätzliche Anwendung von hyperbarem Sauerstoff ergab keine signifikante Verbesserung der Ergebnisse. Im Gegenteil zeigte sich eine tendenzielle Verschlechterung, was die Signifikanzen beim statistischen Vergleich der Gruppen 2 und 4 belegen.

In diesem Modell konnte nicht gezeigt werden, dass die vielen positiven Eigenschaften des hyperbaren Sauerstoffs auf den Knochen für Knochendefekte „kritischer Größe“ begünstigend und verbessernd anwendbar sind.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Neukam F W, Hausamen J E, Scheller H:  
*Possibilities and limitations of implantology in older patients*  
Dtsch Zahnarztl Z 1989; 44: 490-492
2. Hurley L, Stinchfield F, Bassett A, Lyon W:  
*The role of soft tissues in osteogenesis: an experimental study of canine spine fusions*  
J Bone Joint Surg Am 1959; 41-A: 1243-1254
3. Becker W, Dahlin C, Becker B, Lekholm U, van Steenberghe D, Higuchi K, Kultje C:  
*The use of e-PTFE barrier membranes for bone promotion around titanium implants placed into extraction sockets: a prospective multicenter study*  
Int J Oral Maxillofac Implants 1994; 9: 31-40
4. Buser D, Bragger U, Lang N, Nyman S:  
*Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration*  
Clin Oral Implants Res 1990; 1: 22-32
5. Dahlin C, Andersson L, Linde A:  
*Bone augmentation at fenestrated implants by an osteopromotive membrane technique. A controlled clinical study*  
Clin Oral Implants Res 1991; 2: 159-165
6. Jovanovic S A, Spiekermann H, Richter E J:  
*Bone regeneration around titanium dental implants in dehiscenced defect sites: a clinical study*  
Int J Oral Maxillofac Implants 1992; 7: 233-245

7. Dahlin C:  
*Scientific Background of Guided Bone Regeneration*  
Buser D, Dahlin C, Schenk R: Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry 1. 1994. Quintessence Publishing Co, Ing. Berlin. 0-86715-249-4: 31-34
  
8. Schenk R, Willenegger H:  
*Histology of primary bone healing: modifications and limits of recovery of gaps in relation to extent of the defect*  
Unfallheilkunde 1977; 80: 155-160
  
9. Strauss M:  
*Hyperbaric Oxygen*  
Hyperbaric Oxygen: Indications and Results; The Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report 2003. Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc. Kensington, MD
  
10. Suda T, Takahashi N, Martin T:  
*Modulation of osteoclast differentiation*  
Endocr Rev 1992; 13: 66-80
  
11. Vaananen H, Zhao H, Mulari M, Halleen J:  
*The cell biology of osteoclast function*  
J Cell Sci 2000; 113: 377-381
  
12. Arnett T:  
*Update on bone cell biology*  
Eur J Orthod 1990; 12: 81-90
  
13. MacDonald B, Gowen M:  
*The cell biology of bone*  
Baillieres Clin Rheumatol 1993; 7: 421-443

14. Garg A:  
*Knochen*  
1. 2006. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin. 3-87652-672-8: 3-12
15. Schubert J:  
*Wundlehre*  
Schwenzer N, Ehrenfeld M.: Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde. Allgemeine Chirurgie; 3. 2000. Georg Thieme Verlag. Stuttgart - New York. 3-13-593403-9: 12-13
16. Schenk R:  
*Bone Regeneration: Biologic Basis*  
Buser D, Dahlin C, Schenk R  
Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry. 1. 1994. Quintessence Publishing Co, Ing. Berlin. 0-86715-249-4: 49-100
17. Hunziker E, Schenk R, Cruz-Orive L:  
*Quantitation of chondrocyte performance in growth-plate cartilage during longitudinal bone growth*  
J Bone Joint Surg Am 1987; 69: 162-173
18. Johner R:  
*Dependence of bone healing on defect size*  
Helv Chir Acta 1972; 39: 409-411
19. Dahlin C:  
*Scientific Background of Guided Bone Regeneration*  
Buser D, Dahlin C, Schenk R: Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry. 1. 1994. Quintessence Publishing Co, Ing. 0-86715-249-4: 35-38

20. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S:  
*Healing of bone defects by guided tissue regeneration*  
Plast Reconstr Surg 1988; 81: 672-676
21. Dahlin C, Linde A, Rockert H:  
*Stimulation of early bone formation by the combination of an osteopromotive membrane technique and hyperbaric oxygen*  
Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg 1993; 27: 103-108
22. Dahlin C, Sandberg E, Alberius P, Linde A:  
*Restoration of mandibular nonunion bone defects. An experimental study in rats using an osteopromotive membrane method*  
Int J Oral Maxillofac Surg 1994; 23: 237-242
23. Jovanovic S A, Nevins M:  
*Bone formation utilizing titanium-reinforced barrier membranes*  
Int J Periodontics Restorative Dent 1995; 15: 56-69
24. Linde A, Thoren C, Dahlin C, Sandberg E:  
*Creation of new bone by an osteopromotive membrane technique: an experimental study in rats*  
J Oral Maxillofac Surg 1993; 51: 892-897
25. Weng D, Hürzeler M, Quinones C, Ohlms A, Caffesse R:  
*Contribution of the periosteum to bone formation in guided bone regeneration: a study in monkeys*  
Clin Oral Implants Res 2000; 11: 546-554
26. Simion M, Baldoni M, Rossi P, Zaffe D:  
*A comparative study of the effectiveness of e-PTFE membranes with and without early exposure during the healing period*  
Int J Periodontics Restorative Dent 1994; 14: 166-180

27. Nowzari H, Slots J:  
*Microbiologic and clinical study of polytetrafluoroethylene membranes for guided bone regeneration around implants*  
Int J Oral Maxillofac Implants 1995; 10: 67-73
28. Machtei E E:  
*The effect of membrane exposure on the outcome of regenerative procedures in humans: a meta-analysis*  
J Periodontol 2001; 72: 512-516
29. Hardwick W:  
*Membrane Design Criteria for Guided Bone Regeneration of the Alveolar Ridge*  
Buser D, Dahlin C, Schenk R: Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry. 1. 1994. Quintessence Publishing Co, Ing. 0-86715-249-4: 101-136
30. Williams D:  
*Biomaterials and biocompatibility*  
Med Prog Technol 1976; 4: 31-42
31. Coleman D, King R, Andrade J:  
*The foreign body reaction: a chronic inflammatory response*  
J Biomed Mater Res 1974; 8: 199-211
32. Ogiso B, Hughes F, Melcher A, McCulloch C:  
*Fibroblasts inhibit mineralised bone nodule formation by rat bone marrow stromal cells in vitro*  
J Cell Physiol 1991; 146: 442-450

33. Ling L, Hung S, Lee C, Chen Y, Wu K:  
*The influence of membrane exposure on the outcomes of guided tissue regeneration: clinical and microbiological aspects*  
J Periodontal Res 2003; 38: 57-63
34. Verardi S, Simion M:  
*Management of the exposure of e-PTFE membranes in guided bone regeneration*  
Pract Proced Aesthet Dent 2007; 19: 111-117
35. Winter G:  
*Transcutaneous implants: reactions of the skin-implant interface*  
J Biomed Mater Res 1974; 8: 99-113
36. Haney J, Nilveus R, McMillan P, Wikesjo U:  
*Periodontal repair in dogs: expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes support wound stabilization and enhance bone regeneration*  
J Periodontol 1993; 64: 883-890
37. Lundgren A, Sennerby L, Lundgren D:  
*Guided jaw-bone regeneration using an experimental rabbit model*  
Int J Oral Maxillofac Surg 1998; 27: 135-140
38. Blumenthal N:  
*A clinical comparison of collagen membranes with e-PTFE membranes in the treatment of human mandibular buccal class II furcation defects*  
J Periodontol 1993; 64: 925-933
39. Gottlow J:  
*Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: initial healing and long-term results*  
J Periodontol 1993; 64: 1157-1165

40. W L Gore & Associates N, Delaware, USA:  
*Regenerative Material Manual*  
© 1997, 1998, 2003 W L Gore & Associates Inc; Flagstaff, Arizona, USA  
2003
41. Hürzeler M, Quinones C, Schupbach P:  
*Guided bone regeneration around dental implants in the atrophic alveolar ridge using a bioresorbable barrier: an experimental study in the monkey*  
Clin Oral Implants Res 1997; 8: 323-331
42. Bartee B:  
*The use of high-density polytetrafluoroethylene membrane to treat osseous defects: clinical reports*  
Implant Dent 1995; 4: 21-26
43. Watzinger F, Luksch J, Millesi W, Schopper C, Neugebauer J, Moser D:  
*Guided bone regeneration with titanium membranes: a clinical study*  
Br J Oral Maxillofac Surg 2000; 38: 312-315
44. Jovanovic S, Buser D:  
*Guided Bone Regeneration in Dehiscence Defects and Delayed Extraction Sockets*  
Buser D, Dahlin C, Schenk R: Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry. 1. 1994. Quintessence Publishing Co, Ing. Berlin. 0-86715-249-4: 155-188
45. Bornstein M, Bosshardt D, Buser D:  
*Effect of two different bioabsorbable collagen membranes on guided bone regeneration: a comparative histomorphometric study in the dog mandible*  
J Periodontol 2007; 78: 1943-1953

46. Hyder P, Dowell P, Singh G, Dolby A:  
*Freeze-dried, cross-linked bovine type I collagen: analysis of properties*  
J Periodontol 1992; 63: 182-186
47. Yukna C, Yukna R:  
*Multi-center evaluation of bioabsorbable collagen membrane for guided tissue regeneration in human Class II furcations*  
J Periodontol 1996; 67: 650-657
48. Pruthi V, Gelskey S, Mirbod S:  
*Furcation therapy with bioabsorbable collagen membrane: a clinical trial*  
J Can Dent Assoc 2002; 68: 610-615
49. Garg A:  
*Knochen*  
1. 2006. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin. 3-87652-672-8: 72-81
50. Gray D, Hamblen D:  
*The effects of hyperoxia upon bone in organ culture*  
Clin Orthop Relat Res 1976: 225-230
51. Tuncay O, Ho D, Barker M:  
*Oxygen tension regulates osteoblast function*  
Am J Orthod Dentofacial Orthop 1994; 105: 457-463
52. Granström G:  
*Radiotherapy, osseointegration and hyperbaric oxygen therapy*  
Periodontol 2000 2003; 33: 145-162
53. Heppenstall R, Goodwin C, Brighton C:  
*Fracture healing in the presence of chronic hypoxia*  
J Bone Joint Surg Am 1976; 58: 1153-1156

54. Goldhaber P:  
*The effect of hyperoxia on bone resorption in tissue culture*  
AMA Arch Pathol 1958; 66: 635-641
55. Wu D, Malda J, Crawford R, Xiao Y:  
*Effects of hyperbaric oxygen on proliferation and differentiation of osteoblasts from human alveolar bone*  
Connect Tissue Res 2007; 48: 206-213
56. Penttinen R:  
*Biochemical studies on fracture healing in the rat, with special reference to the oxygen supply*  
Acta Chir Scand Suppl 1972; 432: 1-32
57. Moon R, Camporesi E:  
*Hyperbaric oxygen therapy: from the nineteenth to the twenty-first century*  
Respir Care Clin N Am 1999; 5: 1-5
58. Hyperbaric Oxygen: Indications and Results; The Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report 1989 Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc. Kensington, MD
59. Tibbles P, Edelsberg J:  
*Hyperbaric-oxygen therapy*  
N Engl J Med 1996; 334: 1642-1648
60. Schmidt R, Thews G:  
*Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*  
Springer Verlag Heidelberg-New York 2005. 29. 3-540-21882-3: 783 -792

61. Boerema I, Meyne N G, Brummelkamp W H, Bouma S, Mensch M H, Kamermans F, Stern Hanf M, van A:  
*Life without blood*  
Ned Tijdschr Geneeskd 1960; 104: 949-954
62. Welslau W, Rinneberg G, Almeling M, Tirpitz D:  
*Hyperbare Sauerstofftherapie - wissenschaftliche Bewertung ausgesuchter Indikatoren*  
1998. Archimedes Verlag. Göttingen. 3-9805716-2-9: 125-131
63. Witte M C:  
*Hyperbaric oxygen therapy*  
Iowa Med 1989; 79: 65-66
64. Niinikoski J:  
*Hyperbaric oxygen therapy of diabetic foot ulcers, transcutaneous oxymetry in clinical decision making*  
Wound Repair Regen 2003; 11: 458-461
65. MacFarlane C, Cronje F:  
*Hyperbaric oxygen and surgery*  
S Afr J Surg 2001; 39: 117-121
66. Fukaya E, Hopf H:  
*HBO and gas embolism*  
Neurol Res 2007; 29: 142-145
67. Schmidt W, Thews G, Schnabel K:  
*Results of distribution analysis of ventilation, perfusion and O<sub>2</sub> diffusing capacity in the human lung: investigations in healthy subjects and in patients with obstructive lung diseases*  
Respiration 1972; 29: 1-16

68. Barratt D, Harch P, Van Meter K:  
*Decompression illness in divers: a review of the literature*  
Neurologist 2002; 8: 186-202
69. Moon R, de Lisle Dear G, Stolp B:  
*Treatment of decompression illness and iatrogenic gas embolism*  
Respir Care Clin N Am 1999; 5: 93-135
70. Buettner M, Wolkenhauer D:  
*Hyperbaric oxygen therapy in the treatment of open fractures and crush injuries*  
Emerg Med Clin North Am 2007; 25: 177-188
71. Bouachour G, Cronier P, Gouello J, Toulemonde J, Talha A, Alquier P:  
*Hyperbaric oxygen therapy in the management of crush injuries: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial*  
J Trauma 1996; 41: 333-339
72. Aгаian N, Khangulian G:  
*Hyperbaric oxygenation in the treatment of crush syndrome*  
Khirurgiiа (Mosk) 1991: 120-125
73. Ciani P, Slade J:  
*Thermal Burns*  
Hyperbaric Oxygen: Indications and Results; The Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report 2003.  
Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc. Kensington, MD
74. Cochard G:  
*Hyperbaric oxygen therapy: indications and uses*  
Ann Biol Clin (Paris) 2003; 61: 207-211

75. Nylander G, Nordstrom H, Eriksson E:  
*Effects of hyperbaric oxygen on oedema formation after a scald burn*  
Burns Incl Therm Inj 1984; 10: 193-196
76. Hart B, Strauss M:  
*Hyperbaric oxygen therapy*  
Stroke 2003; 34: 153-155
77. Bakker D:  
*Clostridial Myonecrosis*  
Hyperbaric Oxygen: Indications and Results, The Hyperbaric Oxygen  
Therapy Committee Report 2003  
Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc. Kensington, MD
78. Hart B, Lamb R, Strauss M:  
*Gas gangrene*  
J Trauma 1983; 23: 991-1000
79. Zamboni W, Himansu R:  
*Skin Grafts and Flaps*  
Hyperbaric Oxygen: Indications and Results; The Hyperbaric Oxygen  
Therapy Committee Report 2003  
Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc. Kensington, MD
80. Zamboni W, Browder L, Martinez J:  
*Hyperbaric oxygen and wound healing*  
Clin Plast Surg 2003; 30: 67-75
81. Ulkur E, Yuksel F, Acikel C, Celikoz B:  
*Effect of hyperbaric oxygen on pedicle flaps with compromised circulation*  
Microsurgery 2002; 22: 16-20

82. Nemiroff P, Merwin G, Brant T, Cassisi N:  
*Effects of hyperbaric oxy. and irradiation on experimental skin flaps in rats*  
Otolaryngol Head Neck Surg 1985; 93: 485-491
83. Warriner R, Hopf H:  
*Healing in Problem Wounds*  
Hyperbaric Oxygen: Indications and Results; The Hyperbaric Oxygen  
Therapy Committee Report 2003  
Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc. Kensington, MD
84. Strauss M:  
*Hyperbaric oxygen as an intervention for managing wound hypoxia: its role  
and usefulness in diabetic foot wounds*  
Foot Ankle Int 2005; 26: 15-18
85. Sahni T, Singh P, John M:  
*Hyperbaric oxygen therapy: current trends and applications*  
J Assoc Physicians India 2003; 51: 280-284
86. Gurbuz A, Elbuken E, Yazgan Y, Yildiz S:  
*A different therapeutic approach in severe ulcerative hyperbaric oxygen  
treatment*  
Rom J Gastroenterol 2003; 12: 170-171
87. Halm M, Zearley C:  
*Assessment and follow-up of problem wounds in the hyperbaric oxygen  
setting*  
Ostomy Wound Manage 1991; 37: 51-59

88. Feldmeier J, Matos A:  
*Delayed Radiation Injuries (Soft Tissue and bony necrosis)*  
Hyperbaric Oxygen: Indications and Results; The Hyperbaric Oxygen  
Therapy Committee Report 2003  
Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc. Kensington, MD
89. Kohshi K, Imada H, Nomoto S, Yamaguchi R, Abe H, Yamamoto H:  
*Successful treatment of radiation-induced brain necrosis by hyperbaric  
oxygen therapy*  
J Neurol Sci 2003; 209: 115-117
90. Fichtner-Feigl S, Fuss I, Young C, Watanabe T, Geissler E, Schlitt H,  
Kitani A, Strober W:  
*Induction of IL-13 triggers TGF-beta1-dependent tissue fibrosis in chronic  
2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid colitis*  
J Immunol 2007; 178: 5859-5870
91. Anderson D:  
*Using hyperbaric oxygen therapy to heal radiation wounds*  
Nursing 2003; 33: 50-53
92. Kutlay M, Colak A, Yildiz S, Demircan N, Akin O N:  
*Stereotactic aspiration and antibiotic treatment combined with hyperbaric  
oxygen therapy in the management of bacterial brain abscesses*  
Neurosurgery 2005; 57: 1140-1146
93. Kohshi K, Abe H, Mizoguchi Y, Shimokobe M:  
*Successful treatment of cervical spinal epidural abscess by combined  
hyperbaric oxygenation*  
Mt Sinai J Med 2005; 72: 381-384

94. Prockop L, Chichkova R:  
*Carbon monoxide intoxication: an updated review*  
J Neurol Sci 2007; 262: 122-130
95. Thorn S, Weaver L:  
*Carbon Monoxide Poisoning*  
Hyperbaric Oxygen: Indications and Results; The Hyperbaric Oxygen  
Therapy Committee Report 2003. Undersea and Hyperbaric Medical  
Society, Inc. Kensington, MD
96. Ludwig L:  
*The role of hyperbaric oxygen in current emergency medical care*  
J Emerg Nurs 1989; 15: 229-237
97. Ehrenfeld M, Winter W:  
*Entzündungen des Knochens*  
Schwenzer N, Ehrenfeld M: Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde. Allgemeine  
Chirurgie; 3. 2000. Georg Thieme Verlag. Stuttgart New York. 3-13-  
593403-9: 193-213
98. Chen C, Ko J, Fu T, Wang C:  
*Results of chronic osteomyelitis of the femur treated with hyperbaric  
oxygen: a preliminary report*  
Chang Gung Med J 2004; 27: 91-97
99. Aitasalo K, Niinikoski J, Grenman R, Virolainen E:  
*A modified protocol for early treatment of osteomyelitis and  
osteoradionecrosis of the mandible*  
Head Neck 1998; 20: 411-417

100. Chen C, Shih S, Fu T, Wang J, Wang C:  
*Hyperbaric oxygen therapy in the treatment of chronic refractory osteomyelitis: a preliminary report*  
Chang Gung Med J 2003; 26: 114-121
101. Lepawsky M:  
*Necrotizing soft tissue infections*  
Hyperbaric Oxygen: Indications and Results; The Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report 2003  
Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc. Kensington, MD
102. MacFarlane C, Cronje F, Benn C:  
*Hyperbaric oxygen in trauma and surgical emergencies*  
J R Army Med Corps 2000; 146: 185-190
103. Van Meter K:  
*Exceptional Anemia*  
Hyperbaric Oxygen: Indications and Results; The Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report 2003  
Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc. Kensington, MD
104. Moon R:  
*Decompression Sickness*  
Hyperbaric Oxygen: Indications and Results; The Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report 2003  
Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc. Kensington, MD
105. Balldin U, Pilmanis A, Webb J:  
*Central nervous system decompression sickness and venous gas emboli in hypobaric conditions*  
Aviat Space Environ Med 2004; 75: 969-972

106. Clark J:  
*Side Effects and Complications*  
Hyperbaric Oxygen: Indications and Results; The Hyperbaric Oxygen  
Therapy Committee Report 2003  
Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc. Kensington, MD
107. Bateman N, Leach R:  
*ABC of oxygen. Acute oxygen therapy*  
Bmj 1998; 317: 798-801
108. Schmitz J P, Schwartz Z, Hollinger J O, Boyan B D:  
*Characterization of rat calvarial nonunion defects*  
Acta Anat (Basel) 1990; 138: 185-192
109. Wang J, Glimcher M J:  
*Characterization of matrix-induced osteogenesis in rat calvarial bone  
defects: I. Differences in the cellular response to demineralized bone  
matrix implanted in calvarial defects and in subcutaneous sites*  
Calcif Tissue Int 1999; 65: 156-165
110. Wang J, Glimcher M J:  
*Characterization of matrix-induced osteogenesis in rat calvarial bone  
defects: II. Origins of bone-forming cells*  
Calcif Tissue Int 1999; 65: 486-493
111. Lexer E:  
*Free Transplantation*  
Ann Surg 1914; 60: 166-194
112. Wikesjo U, Xiropaidis A, Thomson R, Cook A, Selvig K, Hardwick W:  
*Periodontal repair in dogs: space-providing ePTFE devices increase  
rhBMP-2/ACS-induced bone formation*  
J Clin Periodontol 2003; 30: 715-725

113. Niinikoski J, Penttinen R, Kulonen E:

*Effect of hyperbaric oxygenation on fracture healing in the rat: a biochemical study*

Calcif Tissue Res 1970; Suppl: 115-116

114. Rothfuss A, Dennog C, Speit G:

*Adaptive protection against the induction of oxidative DNA damage after hyperbaric oxygen treatment*

Carcinogenesis 1998; 19: 1913-1917