

# Nove spoznaje o kolagenim membranama u vođenoj regeneraciji kosti

---

Pavić, Mirna

Professional thesis / Završni specijalistički

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:112597>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Mirna Pavić

**NOVE SPOZNAJE O KOLAGENIM  
MEMBRANAMA U VOĐENOJ  
REGENERACIJI KOSTI**

POSLIJEDIPLOMSKI SPECIJALISTIČKI RAD

Zagreb, 2023.

Rad je ostvaren na Zavodu za parodontologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Naziv poslijediplomskog specijalističkog studija: Dentalna implantologija

Mentor rada: izv. Prof. dr. sc. Darko Božić, Zavod za parodontologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Lektor hrvatskog jezika: Andrea-Eva Magaš Pavušek, prof. hrv. jez. i knjiž. i eng. jez. i knjiž.

Lektor engleskog jezika: Andrea-Eva Magaš Pavušek, prof. hrv. jez. i knjiž. i eng. jez. i knjiž.

Sastav Povjerenstva za ocjenu poslijediplomskog specijalističkog rada:

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_

Sastav Povjerenstva za obranu poslijediplomskog specijalističkog rada:

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_
5. \_\_\_\_\_

Datum obrane rada: \_\_\_\_\_

Rad sadrži: 57 stranice

7 slika

1 CD

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora poslijediplomskog specijalističkog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihova podrijetla.

## **Zahvala**

Zahvaljujem mentoru dr. sc. Darku Božiću na nesebičnom pružanju znanja i pomoći tijekom izrade rada.

Zahvaljujem suprugu Vinku Poliću na pomoći i podršci.

Rad posvećujem svome ocu koji je svoj život posvetio meni i mojemu obrazovanju, koji mi je bio oslonac i motivacija za svaki korak u životu te svome sinu Jakovu koji je svjetlo i najveće postignuće moga života.

## Sažetak

### NOVE SPOZNAJE O KOLAGENIM MEMBRANAMA U VOĐENOJ REGENERACIJI KOSTI

Vođena koštana regeneracija u hoda je postupak augmentacije koji se može izvesti korištenjem različitih membrana. Membrana predstavlja jedan od ključnih dijelova terapije. U uporabi su resorptivne i neresorptivne membrane. Primarna funkcija membrane je bivanje barijere, tj. izdvajanje stanica mekog tkiva iz prostora u kojem će se regenerirati kost. Međutim, dokazano je da se preko membrane vrše transferi nutrijenata koji su bitni za regeneraciju. Danas se najčešće koriste kolagene membrane. Cilj novih membrana je biodegradacija i bioaktivnost membrana. Pokazalo se da kolagene membrane bolje međudjeluju s mekim tkivima, omogućujući veću izmjenu kisika, prolaz mikronutrijenata i perfuziju krvi te pogoduju staničnoj proliferaciji i diferencijaciji. Negativne osobine kolagenih membrana su loša mehanička svojstva, tj. kolaps membrane i brza biorazgradnja, stoga se preporuča korištenje autogenih ili alogenih presadaka kako bi poduprli membranu te korištenje pričvrtnih vijaka. U svrhu poboljšanja kolagenih membrana razvijaju se križno umrežavajuće tehnologije, koristi kolagen različitog porijekla, ugrađuju se biološki signali, prirodni elementi, faktori rasta, stanice, sintetički bioaktivni materijali te antibakterijski agenti u membrane. Danas se od membrane očekuje da aktivno doprinese molekularnim procesima regeneracije koštanog tkiva putem difuzije ili putem transmembranske vaskularizacije.

**Ključne riječi:** GBR; membrane; kolagene membrane; križno umrežene kolagene membrane; bioaktivna svojstva membrana

## Summary

### NEW INSIGHTS INTO COLLAGEN MEMBRANES IN GUIDED BONE REGENERATION

Guided bone regeneration is a well-established augmentation procedure, which can be performed using different membranes. The membrane is one of the key parts of the therapy. Both resorbable, as well as non-resorbable membranes are in use. The primary function of the membrane is to act as a barrier, i.e. to separate soft tissue cells from the space where the bone is going to regenerate. However, it has been proven that nutrients, which are essential for regeneration, are transferred through the membrane. Collagen membranes are most commonly used today. The purpose of new membranes is the biodegradation and bioactivity of membranes. It has been shown that collagen membranes interact better with soft tissues, enabling greater oxygen exchange, transit of micronutrients, blood perfusion, and favoring cell proliferation and differentiation. Negative features of collagen membranes are poor mechanical properties, i.e. membrane collapse and rapid biodegradation, therefore it is recommended to use autogenous or allogeneic grafts to support the membrane, as well as fixation pins. To improve collagen membranes, cross-linking technologies are developed, collagen of different origins is used, and biological signals, natural elements, growth factors, cells, synthetic bioactive materials and antibacterial agents are incorporated into the membranes. Today, the membrane is expected to actively contribute to the molecular processes of bone tissue regeneration through diffusion or transmembrane vascularization.

**Keywords:** GBR; membranes; collagen membranes; cross-linked collagen membranes; bioactive properties of membranes

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. VOĐENA REGENERACIJA KOSTI .....	4
2.1. Principi regeneracije alveolarne kosti.....	5
2.2. Dijagnoza i planiraje terapije.....	5
2.3. Razvoj vođene regeneracije kosti .....	7
2.4. Postupak.....	9
2.4.1. Dehiscijencije i fenestracije .....	10
3. MEMBRANE.....	13
3.1. Podjela i svojstva membrana .....	15
3.1.1. Sintetski polimeri .....	15
3.1.2. Metali .....	17
3.1.4. Prirodni polimeri .....	21
4. KOLAGENE MEMBRANE .....	23
4.1. Različite vrste kolagenih membrana.....	25
4.1.1. Kolagena membrana dura mater .....	26
4.1.2. Kolagena membrana perikarda .....	26
5. NOVA SAZNANJA O KOLAGENIM MEMBRANAMA.....	32
5.1. Biološki principi vođene regeneracije kosti kod resorptivnih membrana .....	33
5.2. Aktivno sudjelovanje kolagenih membrana u procesu regeneracije koštanog defekta .	34
6. RASPRAVA.....	36
7. ZAKLJUČAK .....	42
8. LITERATURA .....	46
9. ŽIVOTOPIS .....	56

## Popis skraćenica

GBR (guided bone regeneration)- vođena regeneracija kosti

GTR (guided tissue regeneration)-vođena regeneracija tkiva

PTFE (polytetrafluoroethylene)- politetrafluoroetilen

ePTFE (expanded polytetrafluoroethylene)- ekspanzirani politetrafluoretilen

d-PTFE (high-density polytetrafluoroethylene)- politetrafluoroetilen visoke gustoće

n-PTFE (high-density polytetrafluoroethylene)- politetrafluoroetilen visoke gustoće

FDBA (freeze-dried bone allograft)- liofilizirani alotransplantat

DFDBA (demineralized freeze-dried bone allograft)- demineralizirani liofilizirani alotransplantat

PLA (polylactic acid)- polilaktična kiselina

PGA (polyglutamic acid)- poliglutaminska kiselina

PCL (Poly  $\epsilon$ -caprolactone)- polikaprolakton

PLLA (poly-L-lactic acid)- poli-L-laktična kiselina

PLGA (poly(lactic-co-glycolic acid))- poli(laktična-ko-glikolna kiselina)

Ti-mesh (titanium mesh)- titanska mreža

cbfa-1 (core-binding factor subunit alpha-1)- podjedinica faktora vezanja jezgre alfa-1

Runx2 (runt-related transcription factor 2)- transkripcijski faktor 2 povezan s Runtom

ALP (alkaline phosphatase)- alkalna fosfataza

MMPs (matrix metalloproteinases)- matrične metaloproteinaze

RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand)- receptorski aktivator nuklearnog faktora kappa-B liganda

DNA (deoxyribonucleic acid)- deoksiribonukleinska kiselina

mRNA (messenger RNA)- glasnička RNK



VEGF (vascular endothelial growth factor)- faktor rasta vaskularnog endotela

nBG (nanosized bioactive glass)- bioaktivno staklo nano veličine

FGF2 (fibroblast growth factor 2)- fibroblasni faktor rasta2

CS (chitosan)- kitozan

Gp (genipin)- genipin

TPP (tripolyphosphate)- natrijev trifosfat

PDL (periodontal ligament)- parodontni ligament

ADM (acellular Dermal Matrix)- acelularni dermalni matriks

HDM (human Dermal Matrix)- ljudski dermalni matriks

FDDMA (freeze-dried dura mater)- liofilizirana dura mater

AHAM (acellular human amniotic membrane)- acelularna ljudska amnionska membrana

MSCs (mesenchymal stem cells)- mezenhimske matične stanice

ABP (acellular bovine membrane)- acelularna goveđa membrana

HP (human pericardium)- ljudski perikard

BP (bovine pericardium)- goveđi perikard

BMP-2 (bone morphogenetic protein 2)- koštani morfogenetski protein 2

rhBMP-2 (recombinant human BMP2)- rekombinantni ljudski BMP2

BMP-7 (bone morphogenetic protein 7)- koštani morfogenetski protein 7

bFGF (fibroblast growth factor-basic)- osnovni faktor rasta fibroblasta

PDGF (platelet-derived growth factor)- trombocitni faktor rasta

BFP1 (bone forming peptide-1)- peptid za formiranje kosti-1

CXCR4 (C-X-C chemokine receptor type 4)- C-X-C kemokinski receptor tipa 4

MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1)- monocitni kemoatraktantni protein 1

OP (osteopontin)- osteopontin

OC (osteocalcin)- osteokalcin

TGF- $\beta$  (transforming growth factor beta)- transformirajući čimbenik rasta beta

BMGC (biomaterial-associated Multinucleated Giant Cells)- višejezgrene divovske stanice povezane s biomaterijalom

CXP (creos xenoprotect)- creos xenoprotect kolagena membrana

BG (Bio-Gide)- bio-gide kolagena membrana

DBB (deproteinized bovine bone)- deproteinizirana goveđa kost

IL-6 (interleukin 6)- interleukin 6

TNF (tumor necrosis factor)- faktor tumorske nekroze

SDF-1 $\alpha$  (stromal derived factor 1 $\alpha$ )- faktor 1 izveden iz stromalnih stanica

## **1. UVOD**

Jedan od najvažnijih uvjeta za uspješnu osteointegraciju je dostatna visina i širina alveolarnog grebena (1). Resorpcija alveolarnog grebena ugrožava strukturalni, funkcionalni i estetski ishod implantološke terapije. Nakon gubitka zuba resorpcija u prvih 6 mjeseci nastupa u horizontalnom smjeru, a zatim i u vertikalnom (2). Otkako su se implantati počeli postavljati u protetski ispravnom položaju, porasla je potreba za koštanom augmentacijom, naročito u estetskoj zoni (3). Implantati postavljeni na mjesta gdje nedostaje bukalna kost imaju veću stopu mekotkivnih komplikacija te je kompromitirana dugoročna prognoza. Kako bi se izbjegle ove komplikacije, predlaže se da se u slučaju neadekvatnog volumena kosti, koji se smatra kontraindikacijom, lokalno augmentira tehnikom koja će regenerirati kost te se potom postavlja implantat. Predložene tehnike uključuju augmentaciju horizontalnog i vertikalnog grebena autogenim koštanim transplantatom (kod izrazito atrofične gornje i donje čeljusti), podizanje dna maksilarnog sinusa, primjenu onley autoložnih transplantata, split crest tehniku. Uz ove tehnike razvija se koncept vođene regeneracije kosti (eng. Guided bone regeneration, GBR), s korištenjem membrane kao barijere (1). Koncept vođene regeneracije kosti bazira se na hipotezi da je membrana barijera koja će održati i stabilizirati krvni ugrušak i koštani transplantat te ograničiti resorpciju istog, sprječavajući neosteogeno tkivo da remeti cijeljenje i formiranje kosti (4,5). GBR se smatra uspješnim kada su samo osteoprogenitorne stanice ponovno „naselile“ koštani defekt. Procjenjuje se da je kod 40% osteointegriranih implantata potrebna vođena regeneracija kosti. Stopa preživljavanja implantata u augmentiranim područjima je veća od 90% nakon prve godine funkcijskog opterećenja. Membrana korištena kod vođene regeneracije kosti ključna je komponenta terapije. Danas se mogu koristiti različite membrane kod vođene regeneracije kosti (resorptivne i neresorptivne) u kombinaciji s različitim materijalima za koštanu augmentaciju. Izbor materijala ovisi o veličini i konfiguraciji defekta. Koncept GBR-a je sveopće prihvaćen, ali osnovni biološki mehanizmi nisu još do kraja objašnjeni (6). Iako su prve membrane bile neresorptivne, današnji cilj novih membrana u GBR-u je biodgradacija i bioaktivnost membrana u svrhu boljih rezultata (7). Komercijalno najdostupnije resorptivne membrane su membrane od kolagena tipa 1 ili kombinacije kolagena tipa 1 i tipa 3. U literaturi su izdvojene neke prednosti ovih membrana kao što su hemostaza, kemotaksija fibroblasta periodontalnog ligamenta i gingivalnih fibroblasta, slaba imunogeničnost, jednostavna manipulacija, direktni utjecaj na stvaranje kosti i sposobnost augmentiranja debljine tkiva. Negativne osobine su loša mehanička svojstva i brza biorazgradnja kroz enzimatsku aktivnost makrofaga i polimorfonuklearnih limfocita. Kako bi se produžio efekt barijere koji stvara membrana, koristi se nekoliko križno umrežavajućih tehnologija (1). Podaci istraživanja govore da različite fizikalno-kemijske modifikacije te

mehanička svojstva membrana mogu unaprijediti regeneraciju kosti (2). Svrha ovog rada je pokazati nova istraživanja vezana za kolagene membrane i njihov doprinos aktivnom sudjelovanju kod vođene regeneracije kosti.

## **2. VOĐENA REGENERACIJA KOSTI**

## 2.1. Principi regeneracije alveolarne kosti

Nakon vađenja zuba, u prvoj godini, oko 25% koštanog volumena je izgubljeno. Gubitak kosti napreduje od 40 od 60% kroz prve tri godine. Defekti grebena su rezultat postupne horizontalne i brze vertikalne resorpcije. Uspješni protokoli augmentacije grebena uzimaju u obzir osnovne biološke i fiziološke principe kosti i tako povećavaju regenerativni potencijal. Postavljanje koštanih transplantata u koštane defekte ili augmentacija bezubog atrofičnog grebena u svrhu postavljanja implantata, postali su zlatni standard. Osteogeno okruženje koje doprinosi maksimalnom regenerativnom potencijalu tradicionalnih augmentacijskih postupaka pod utjecajem je lokalnih i sistemskih faktora koji mogu djelomično ili potpuno štetiti ugradnji koštanog presatka. Kao posljedica može doći do gubitka volumena ili da defekt cijeli fibrozim vezivnim tkivom umjesto koštanim. Zbog toga je bitno zbrinjavanje rane koje se sastoji od primarnog zatvaranja rane (zatvaranje režnja treba biti pasivno bez tenzije kako bi se izbjeglo izlaganje membrane, kontrakcija rane, stvaranje kolagena i remodelacija, reepitelizacija i nelagoda pacijenta) i povećanja proliferacije i diferencijacije stanica (osiguravaju prokrvljenost, kisik, nutrijente tkivu, ali i ponašaju se kao izvor angiogenih i osteogenih stanica). Izvor osteogenih stanica su periost, endoost i nediferencirane pluripotente mezenhimalne stanice. Koštana srž je odličan izvor mezenhimalnih stanica koje se mogu diferencirati u osteoblaste i osteoklaste. Kako bi se povećalo rano cijeljenje, preporuča se perforacija kortikalnog zida čime se olakšava migracija stanica, perfuzija krvi i faktora rasta, zaštita stabilnosti i integriteta rane, a stabilnost se dobiva postavljanjem membrane (8).

## 2.2. Dijagnoza i planiranje terapije

Ne postoje specifične kontraindikacije za augmentacije koštanog grebena kod pacijenata koji se mogu podvrgnuti oralnokiurškim zahvatima. Postoje relativne kontraindikacije koje se moraju uzeti u obzir, medicinska stanja koja bi mogla otežati normalno cijeljenje kosti. Pacijenti s dijabetesom imaju sličnu stopu uspješnosti kao i zdravi pacijenti pod uvjetom da je dijabetes reguliran. Pušenje ima negativan utjecaj na dugoročnu prognozu osteointegracije. Studije pokazuju veću stopu odbacivanja implantata (9), komplikacija oko uspješno integriраниh implantata, kao i veću incidenciju periimplantarnog mukozitisa i perimplantitisa. Količina augmentirane koštane strukture je manja u odnosu na nepušače, a upala mekog tkiva veća. Kako bi se izabrala adekvatna augmentacijska strategija, morfologija dostupnog koštanog grebena

mora se pažljivo procijeniti kliničkim pregledom i trodimenzionalnom radiografijom. Prema Sibertu (8) defekt alveolarnog grebena klasificiran je u tri kategorije:

Klasa 1 : defekt je pretežito horizontalne dimenzije

Klasa 2 : defekt je pretežito vertikalne dimenzije

Klasa 3 : defekt horizontalne i vertikalne dimenzije

Ovisno o količini dostupne kosti i tipu defekta može se izabrati postavljanje implantata i augmentacija kosti u jednom koraku kod klase 1 ili augmentacija kosti i odgođena implantacija kod klase 2 i 3. Augmentacija kosti može se također primijeniti kod imedijatne implantacije u ekstrakcijsku alveolu.

Hämmerle i Jung klasificirali su defekte ekstrakcijskih alveola:

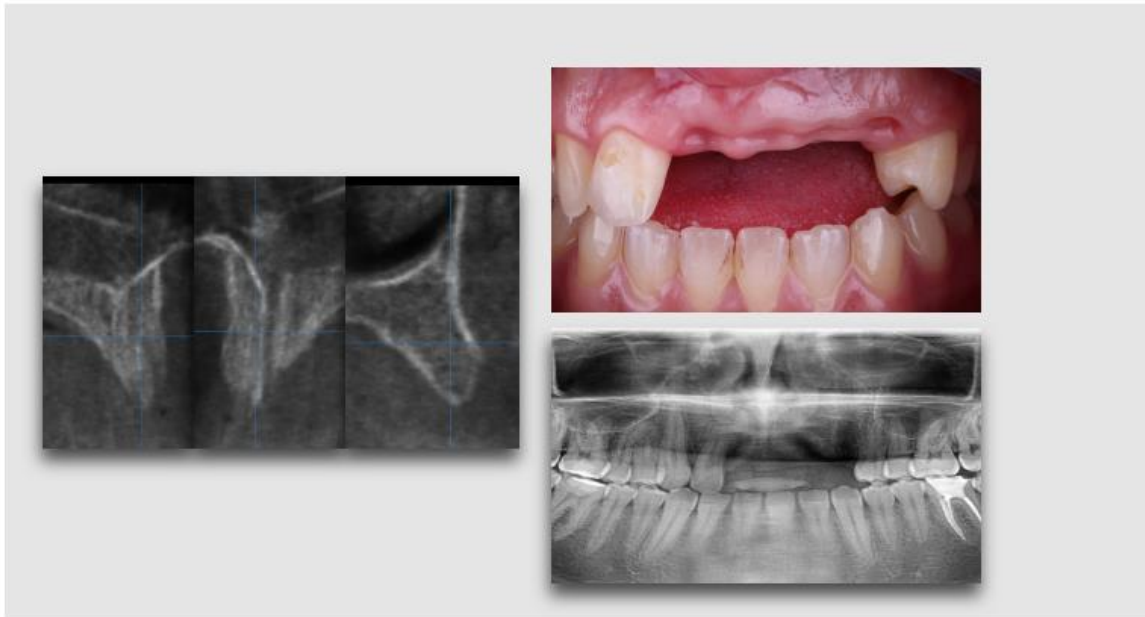
Klasa 1 : intaktan koštani zid postekstrakcijske alveole

Klasa 2 : marginalna dehiscijencija/fenestracija bukalnog zida postekstrakcijske alveole

Klasa 3 : velika dehiscijencija bukalnog zida nakon ekstrakcije zuba

GBR u jednom koraku indiciran je kod defekta klase 1 i 2, dok je kod velikih defekata klase 3 indiciran odgođeni pristup (Slika1.). Kod implantacije u ekstrakcijsku ranu vrijeme koštane augmentacije je ključno, jer se ovisno o proteklom vremenu od ekstrakcije nailazi na meka tkiva u različitim uvjetima (8).

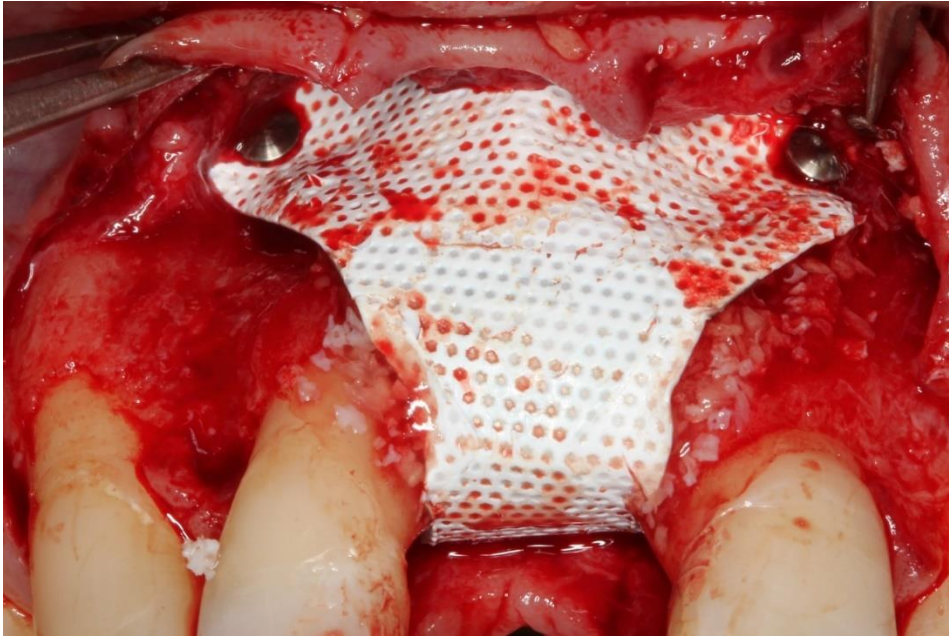




Slika 1. Indikacija za vođenu regeneraciju kosti, s dopuštenjem dr. sc. Snježane Pohl

### 2.3. Razvoj vođene regeneracije kosti

Korištenje membrana u vođenoj koštanoj regeneraciji (GBR) potaknuto je korištenjem membrana u vođenoj tkivnoj regeneraciji (eng. Guided tissue regeneration, GTR). Početne studije o membranama napravljene su s Milliporeom (celulozni acetat) (10), no potencijal ovih membrana nije prepoznat. Sljedeća studija (11) napravljena je s bioinertnim proširenim polytetrafluoroethylen (eng. Expanded polytetrafluoroethylene, ePTFE) membranama koje postaju standardne membrane za GTR i GBR u razvojnoj fazi obiju tehnika. Primjenom ePTFE membrane (Slika 2.) stvara se fizička barijera koja razdvaja tkivo od stanica koje bi mogle utjecati na zarastanje rane. Membrana stvara izoliran prostor i olakšava proliferaciju angiogenih i osteogenih stanica u defekt bez interferiranja fibroblasta. GBR tehnika počela se primjenjivati 1980-ih, jednofazno ili dvofazno. Jednofazno se pristupalo kod imedijatne implantacije u postekstrakcijsku ranu kako bi se regenerirao periimplantarni koštani defekt, a dvofazno kod nedostatne širine grebena.



Slika 2. ePTFE membrana, s dopuštanjem dr. sc. Darka Božića

Prvom operacijom povećala se širina grebena, a nakon 6-9 mjeseci drugom se operacijom postavio implantat. Jedna od često viđenih komplikacija je kolaps membrane, što uzrokuje smanjenje volumena regeneriranog tkiva ispod membrane. Druge komplikacije su nedostatan stvaranje kosti i stvaranje tkiva sličnog periostu ispod membrane. Stoga se preporuča korištenje autogenih ili alogernih presađaka, ne samo kako bi se poduprla membrana i spriječio njezin kolaps, nego kako bi se povećalo novo stvaranje kosti kroz osteogeni potencijal autograftova (1). Neresorptivne membrane PTFE i titanska mrežica pokazale su dobra mehanička svojstva kao što su rigidnost i održavanje volumena augmentiranog defekta (12). Kombinacija ePTFE/titanske membrane i autogenog koštanog transplantata pokazala je dobre rezultate, no postoje i neke slabosti ove tehnike: izlaganje membrane zbog dehiscijencije mekog tkiva uzrokuje upalu ispod membrane i tako dovodi u pitanje ishod regeneracije kosti, teško rukovanje membranom tijekom zahvata zbog hidrofobnih svojstava, potreba stabilizacije mini vijkom i potreba za drugim operativnim zahvatom zbog otklanjanja bioinertne neresorptivne membrane. Postavljaju se ciljevi za poboljšanje GBR tehnike: predvidljiviji ishod terapije i smanjene komplikacije s izlaganjem membrane i infekcijom, lakša primjena membrane i smanjenje broja operativnih zahvata. Uvode se resorptivne membrane (polimerne i kolagene) (1). Prva uspješna primjena resorptivnih membrana dogodila se ranih 1990-ih (13), s kolagenom i alifatskim poliesterima (14). Ove se membrane obično koriste u kombinaciji s autolognim ili sintetskim koštanim transplantatima sa ili bez fiksacijskih vijaka, jer zbog nedostatka rigidnosti

teško održavaju defektni prostor (15,16). Danas se kolagene membrane rutinski koriste u GBR-u. Implantati postavljeni GBR tehnikom imaju povoljnu stopu preživljavanja i GBR je dobro dokumentirana tehnika (17). Kliničari imaju mogućnost biranja kirurškog pristupa i materijala. Ipak, treba se držati primarnih i sekundarnih ciljeva GBR procedure. Primarni su ciljevi: uspješna regeneracija defekta s predvidljivim rezultatima, pružanje dugoročne estetike i funkcije te nizak rizik komplikacija. Sekundarni su ciljevi: smanjen broj kirurških intervencija, nizak morbiditet za pacijenta i smanjen period cijeljenja. Svi segmenti su bitni, međutim zadovoljiti primarne ciljeve je prioritet. Kliničar mora napraviti ispravnu procjenu kliničke situacije, pacijenta, izbora biomaterijala i izbora terapijskog pristupa kako bi osigurao predvidljiv terapijski ishod, te procjenu rizika koji može biti nizak, srednji ili visok (1).

## **2.4. Postupak**

U GBR tehnici fizička barijera ili membrana postavlja se između gingivalnog vezivnog tkiva i alveolarnog koštanog defekta. Membrana je oblikovana tako da svojim oblikom prekriva cijeli koštani defekt i proteže se barem 2mm preko njega, stvarajući prostor i sprječavajući prodiranje vezivnog tkiva u defekt. Ovim je načinom osigurano neometano cijeljenje krvnog ugruška unutar koštanog defekta. Osim stvaranja prostora gdje se stanice u izoliranoj sredini ubrzano dijele, membrana štiti krvni ugrušak od mehaničkog stresa, stoga mora biti stabilizirana. Rubovi membrane ugurani su ispod režnja ili pričvršćeni mini vijcima. Stabilizacija rane je ključna jer mikropokreti membrane preko krvnog ugruška tijekom početnog cijeljenja direktno utječu na diferencijaciju stanica. Pokreti od 10 do 20 $\mu$ m dovoljni su da se diferencijacija mezenhimalnih stanica promijeni iz osteoblasta u fibroblaste (18). Neresorptivna membrana ostavlja se na poziciji do druge kirurške faze. Osim osiguravanja prostora i stabilizacije rane, još nekoliko čimbenika utječe na predvidljivost GBR-a:

1. membrana treba biti od materijala koji ima određenu čvrstoću i prilagodljivost osiguravajući željeni volumen kosti
2. vaskularizirana koštana podloga treba biti zdrava
3. membrana mora biti zadržana u svome položaju
4. treba biti osigurana dovoljna količina vremena cijeljenja od minimalno 3 mjeseca za mandibulu, a 6 mjeseci za maksilu

Koštani se defekti mogu kategorizirati kao: postekstrakcijski defekti, dehiscijencije i fenestracije, lokalizirani defekti alveolarnog grebena, defekti vezani uz periimplantitis ili gubitak implantata (18).

#### **2.4.1. Dehiscijencije i fenestracije**

Preporučena minimalna bukolingvalna širina za ostavljanje implantata bez komplikacija je 6 mm. Postavljanje implantata u uzak alveolarni greben i u estetski prihvatljivu poziciju ima za posljedicu dehiscijenciju ili fenestraciju. Studije pokazuju da GBR omogućava stvaranje kosti oko implantata s fenestracijom i dehiscijencijskim defektom. Jedine su komplikacije kod pušača i kod ranog izlaganja membrane (18).

Na osnovu prikaza slučajeva i studija doneseni su sljedeći zaključci:

1. GBR tehnika osigurava potpuno prekrivanje površine implantata s fenestracijskim defektom
2. koštani defekti sa stvorenim prostorom mogu biti uspješno tretirani membranom sa i bez koštanog transplantata
3. za dehiscijencije i fenestracije bez stvorenog prostora potreban je koštani transplantat
4. autogene kosti, mineralizirana smrznuto-osušena alogena kost (eng. freeze-dried bone allograft, FDBA) i demineralizirani smrznuto-osušeni koštani alotransplantat (eng. demineralized freeze-dried bone allograft, DFDBA) uspješno su korištene
5. najčešće korišten materijal za transplantat je DFDBA
6. najčešće korištena membrana je e-PTFE, ali i druge membrne uspješno su korištene
7. rano izlaganje membrane kompromitira rezultat GBR-a.

#### **2.4.2. Lokalna augmentacija grebena**

Lokalni defekti grebena rezultat su gubitka kosti zbog vađenja zuba, razvojnih defekata, parodontne bolesti, vertikalne frakture zuba, periradikularne patoze, patogene koštane lezije, kirurške traume ili traumatske ozlijede. Ovi defekti rezultiraju neestetskim deformiranim grebenima nedostatnog volumena za postavljanje implantata. Postavljanje implantata u takve grebene može rezultirati protetski kompromitirajućim rezultatom nadomjeska. GBR se koristi

da bi se omogućio horizontalno i vertikalno pogodan greben za postavljane implantata estetski i funkcionalno u optimalnoj poziciji. Ovaj se odgođeni pristup pokazao pouzdaniji od imedijatne implantacije ili ne augmentiranja grebena. Vrijeme izvođenja GBR-a određuje veličina defekta oko zuba koji će se izvaditi. Regeneracija se može raditi za vrijeme vađenja, 4-6 tjedana nakon vađenja ili 3-4 mjeseca nakon što zacijeli kost.

Problemi vezani za imedijatnu implantaciju s augmentacijom su uzrokovani time što se nerijetko ne može zatvoriti rana i tako je membrana izložena, što je uzrok manjem stvaranju koštanoga tkiva. Kliničari tvrde da je to slučaj kada je membrana mobilna ili su njezini rubovi izloženi, međutim najbolje je da se membrana u cijelosti prekrije. Prednost imedijatnog pristupa je potencijal cijeljenja ekstrakcijske rane. Kako bi se izbjegla ekspozicija membrane, može se pričekati 6 tjedana od ekstrakcije kako bi se gingiva zatvorila. Problem kod ovog pristupa je što se nakon ekstrakcije formira krvni ugrušak i nastaje natjecanje između vezivnog i koštanog tkiva da ga zamijene. Nezrela kost nakon 6 tjedana ne može poduprijeti stabilan čvrst transplantat i može ga zamijeniti za meko tkivo. Još je jedan problem resorpcija vestibularne kosti koja nastupa već nakon prvog tjedna, što je naročito problematično kod prednjih zuba gornje čeljusti koji imaju prominentne korijene. Zbog svega navedenog, donesena je suglasnost da se kod velikih postekstrakcijskih defekata radi dvofazni pristup kojim se prvo primijeni koštani transplantat s membranom, a nakon cijeljenja se postavljaju implantati. Odbađanje implantacije kako bi se prvo napravila augmentacija kosti ima svoje prednosti. Moguća je dehiscijencija mekog tkiva i izlaganje membrane za vrijeme ranog cijeljenja nakon GBR-a. Zbog toga su potrebne česte kontrole pacijenta. Kod izlaganja membrane potrebno je čistiti s 1% klorheksidinom sve dok rub membrane ne bude u potpunosti izložen, tada se može izvaditi izloženi dio a da se ne remeti koštano cijeljenje. Najvažnije je pitanje može li kost nastala GBR-om poduprijeti postavljene implantate. Samo se u 0,5% slučajeva dogodio neuspjeh (18). Kod velikih deformacija grebena koje nemaju oblik defekta s rubovima koji bi mogli poduprijeti membranu, postavljaju se koštani transplantati i membrane se učvršćuju vijcima. Princip korištenja autogene kosti s membranom koja je pričvršćena minivijcima s primarnim zatvaranjem režnja i bez izlaganja membrane dalo je odlične rezultate. Preporučeni period cijeljenja je 6-10 mjeseci. Mogućnost vertikalne augmentacije grebena ispitana je na 15 pacijenata s 4-7 mm implantata od koštanog grebena. Titanski minivijci postavljeni su distalno 3-4 mm od razine kosti za procjenu osteointegracije. Implantati i minivijci prekriveni su e-PTFE membranom i režanj je zatvoren. Nakon 9 mjeseci cijeljenja ustanovljen je dobitak kosti od 3-4 mm (18).

Rezultati studija za procjenu GBR-a za lokaliziranu augmentaciju grebena pokazuju:

1. lokalizirana augmentacija grebena GBR tehnikom predvidljiva je i uspješna te osigurava dovoljnu količinu kosti za postavljanje implantata
2. kombinacija GBR-a i autotransplantata, GBR-a i alotransplantata, GBR-a i mehaničke potpore podjednako su uspješne
3. za velike augmentacije grebena potrebna je kombinacija mehaničke potpore, membrane i transplantata
4. uporaba samo membrane učinkovita je kod prirodnih defekata koji imaju prazninu, ali ne i kod velikih deformacija grebena
5. prerano izlaganje membrane komplikacija je koja ne mora uvijek rezultirati slabom augmentacijom grebena
6. veliki periradikularni defekti mogu se uspješno tretirati koštanim transplantatima i membranom (18)

### **3. MEMBRANE**

Danas postoji širok izbor membrana za GBR. Kako bismo napravili pravi izbor membrane, potrebno je poznavati njihova svojstva. Osnovna svojstva su: biokompatibilnost, sprječavanje prodora mekih stanica, integracija tkiva, stvaranje i održavanje prostora, lakoća rukovanja tijekom zahvata, mala podložnost komplikacijama (19,20). Biokompatibilnost je sposobnost funkcioniranja primijenjenog materijala uz odgovarajući odgovor živog tkiva, bez izazivanja štete za organizam. Kod membrana biokompatibilnost se očituje parametrima kao što su: citotoksičnost, histokompatibilnost, genotoksičnost, mutagenost i mikrobní efekt. Primarni je cilj membrane izdvajanje stanica mekog tkiva iz prostora u kojem će se dogoditi regeneracija kosti. Međutim, dokazano je da se preko membrane vrše transferi nutrijenata koji su bitni za regeneraciju. Druge studije pokazuju da membrane s makroporama daju predvidljivije rezultate te da su konduktivnije u odnosu na potpuno zatvorene membrane (1). Studija u kojoj su na albino mišu na temporalnoj kosti napravljeni defekti i prekriveni s tri A,B,C e-PTFE membrane različite poroznosti, pokazala je da je ukupna regenerirana kost na kraju eksperimenta ista u sva tri slučaja, iako se neogeneza kosti najsporije odvijala kod A e-PTFE membrane s najmanjom poroznošću membrane (21). Membrana koja ima idealni integracijski kapacitet mora pružiti veliku mehaničku stabilnost augmentiranom području. To potvrđuje studija u kojoj je rađena evaluacija e-PTFE membrana u supraalveolarnim parodontalnim defektima na premolarima kod pet bigl pasa. Na tri zuba kod dva psa došlo je do izlaganja membrane. Regeneracija kosti na zubima ispod membrane bila je veća nego kod kontrolne skupine (22). Važan je faktor rigidnost, a to je sposobnost membrane da ne kolabira i održi stabilnim prostor defekta. U prikazu slučaja u kojem se radio GBR na četiri slučaja sa šest eksponiranih implantata, korištena je resorptivna membrana (GUIDOR Matrix Barrier) koja je bila podržana autolognim koštanim strugotinama. Kod četiri slučaja s membranom i autotransplantatom došlo je do potpune regeneracije kosti, a u druga dva gdje je korišten samo autotransplantat došlo je do polovične regeneracije kosti. Preporuča se korištenje autolognih ili drugih transplantata ispod membrane za dodatnu stabilizaciju (13). Membrane koje moraju biti oblikovane da pristaju i prekrivaju augmentiranu zonu moraju biti lake za rukovanje. Neresorptivne membrane zbog svoje rigidnosti i hidrofobnih svojstava moraju se mikrovijcima pričvrstiti kako bi ostale na željenoj poziciji. Bioresorptivne membrane, naročito kolagene, mekše su i zbog svoje hidrofilnosti prijanjaju na okolnu kost i transplantat čim dođu u doticaj s krvlju. Neresorptivne membrane zahtijevaju drugu operaciju u kojoj će se ukloniti, međutim zbog očuvanosti integriteta membrane, lako ih je odstraniti. Izlaganje neresorptivne membrane ne predstavlja tako veliki problem kao rano izlaganje i infekcija resorptivne, koju je teško odstraniti zbog fragmentacije, te dolazi do gubitka augmentacijskog materijala. Podložnost komplikacijama kolagenih



membrana manja je od neresorptivnih, kod kojih je izlaganje češće i može dovesti do gubitka dijela augmentacijskog materijala (1) (Slika 3.).



Slika 3. Izlaganje neresorptivne titanske membrane, s dopuštenjem dr. sc. Snježane Pohl

### **3.1. Podjela i svojstva membrana**

Membrane za GBR proizvedene su od različitih materijala koji se mogu klasificirati kao sintetski polimeri, metali, anorganske komponente i prirodni polimeri (2).

#### **3.1.1. Sintetski polimeri**

Prve neresorptivne membrane su e-PTFE membrane, tj. neporozni fluorokarbonski polimer, izrazito inertne i biokompatibilne. Preveniraju urastanje mekog tkiva i ne izazivaju imuni odgovor na strano tijelo. e-PTFE (eng. Polytetrafluorethylene, PTFE) je istovjetan onome koji se koristi u vaskularnoj kirurgiji, koji kada je izložen izrazitom stresu dobiva mikropore i prelazi u e-PTFE (22). Kemijska stabilnost održava strukturalni integritet i funkciju barijere membrane. Najveći je nedostatak e-PTFE membrane rano izlaganje, te bakterijska infekcija, što utječe na ishod regeneracije. Ona zahtijeva potpuno primarno zatvaranje rane kako bi se izbjegle komplikacije kao što su urastanje vezivnoga tkiva, bakterijska kontaminacija, infekcija, migracija membrane, rana degradacija membrane te izlaganje augmentacijskog materijala.

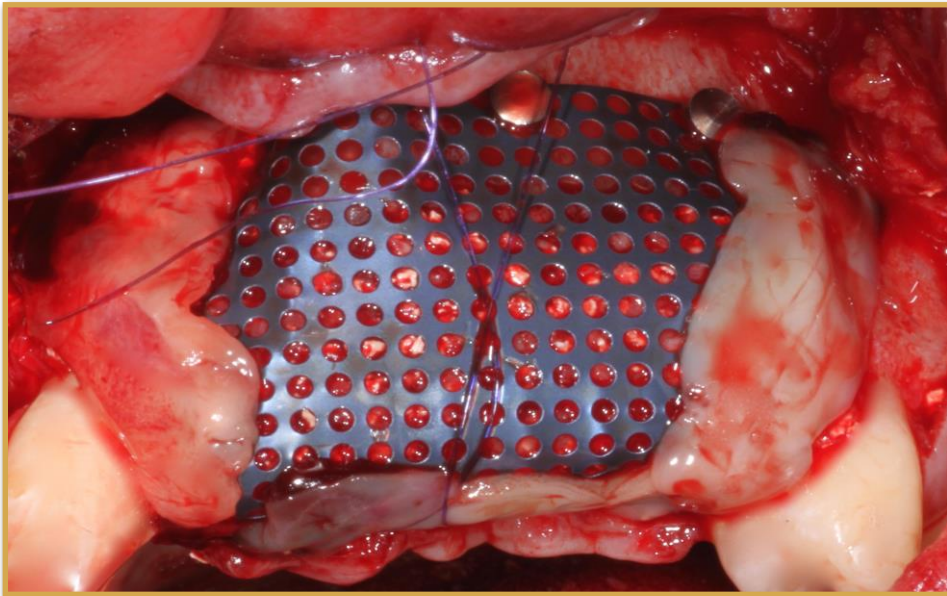
Alternativa ovim membranama je n-PTFE (eng. high-density polytetrafluorethylene, n-PTFE), visoke gustoće, bez poroziteta, nepermeabilna, neelastična. Indikacije za uporabu su iste kao i za e-PTFE, ali zbog svojih osobina ne dopušta primarno zatvaranje rane (23). Rađena je studija u kojoj su se usporedile e-PTFE i n-PTFE membrane na starijim zečevina, gdje se promatrala efikasnost n-PTFE membrana, poboljšanje urastanja kosti i usporedba nalaza dobivenih iz studija i e-PTFE. Rezultati su pokazali da se n-PTFE membrana lakše odvaja od kosti, za razliku od e-PTFE koja je priljubljena uz površinu kosti. Kost ispod e-PTFE membrane brže se i količinski više regenerirala. Zaključak je da e-PTFE membrana ima bolji utjecaj kod starije kosti (24). Alifatski poliesteri su druga kategorija sintetskih polimera koji su korišteni za stvaranje resorptivne membrane za GBR. Ti poliesteri uključuju: polilaktičnu kiselinu (eng. Polylactic acid, PLA), poliglikoličnu kiselinu (eng. Polyglutamic acid, PGA), poli- $\epsilon$ -kapolakton (eng. poly  $\epsilon$ -caprolactone, PCL), polihidroksilvaleričnu kiselinu, polihidroksilbuteričnu kiselinu i njihove kopolimere. Prednosti ovih membrana su nizak stupanj rigidnosti, procesiranja, menadžmenta, podesive biodegradacije i mogućnosti inkapsulacije lijekova. Poli L-laktična kiselina (eng. poly-L-lactic acid, PLLA) koristi se za stvaranje različitih bioresorptivnih membrana. Karakteriziraju je plastičnost, dobra mehanička svojstva i biokompatibilnost. Nedostatak PLLA je što su potrebne 4 godine za potpunu resorpciju, dok bi se idealna membrana trebala resorbirati unutar godinu dana. Kako bi se riješio ovaj problem, dodani su kopolimeri laktida, glikolida, trimetilen karbonat, itd. Guidor Matrix Barrier, bioresorptivna membrana koja se prvi put koristila u parodontologiji, sastoji se od polilaktične kiseline tretirane acetiltributrilcitatom kako bi se dobila fleksibilnost i omogućilo adaptiranje membrane koštanom defektu. Membrana ima dva različito perforirana sloja. Vanjski je sloj s većim porama kako bi se omogućila integracija vezivnog tkiva i vezanje za matriks, dok je unutarnji sloj s manjim kako bi se spriječilo prodiranje vezivnog tkiva, a dopustila difuzija nutrijenata. Resorpcija ove membrane nastupa nakon jedne godine zbog hidrolize (25). Resolute (eng. poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA) još je jedna membrana koja ima dva sloja, vanjski neperforirani i unutarnji perforirani. Histološke studije pokazale su da ima isti učinak kao i neresorptivne membrane, a resorbiraju se pet do šest mjeseci nakon primjene. Vlakna poliglaktin 910, kopolimer glikolida i L-laktida (Vicryl Periodontal Mesh), čine inertnu neantigen membranu kojoj su očuvana fiziomehanička svojstva 3-4 tjedna nakon primjene. Ima sličan učinak kao i druge GBR membrane. Atrisorb je prvi tekući proizvod prilagođen direktno operativnom polju, a sastoji se od poli-DL-laktične kiseline rastopljene u N-metil-2pirolidu. Membrana se stvori nakon ekspozicije polimera 0,9% slanoj otopini 4-6 minuta u specijalnoj posudi i može se odrezati u željeni oblik. Pozicionira se primjenom blagog pritiska. Resorbira

se nakon 6-12 mjeseci. Epi-Guide Bioresorbable Barrier Matrix je porozna membrana koja se sastoji od D-L polilaktične kiseline s jedinstvenom tehnologijom od tri sloja. Održava svoju funkciju i strukturu pet mjeseci nakon postavljanja. Sloj je u kontaktu sa zubnim mesom porozan i potiče infiltraciju fibroblasta, dok je sloj u kontaktu s kosti manje porozan, podržava difuziju hranjivih nutrijenata i inhibira kretanje fibroblasta. Proizvedene su membrane bazirane na kopolimerima mliječne kiseline i e-kaprolaktona, koje pokazuju kraće vrijeme degradacije u odnosu na čiste PLA membrane. PCL je karakteriziran većom hidrofobnošću i nižom topljivošću vode od PLA, PGA i njihovih kopolimera. Vivosorb, koji sastoji se od poli(DL-laktidekaprolaktona), je biokompaktibilan, necitotoksičan i sposoban održavati prostor (26). Pri degradaciji membrane male se čestice polimera odvoje i izazovu upalnu reakciju na strano tijelo s prisutnošću makrofaga, fibroblasta, gigantskih stanica i limfocita (25).

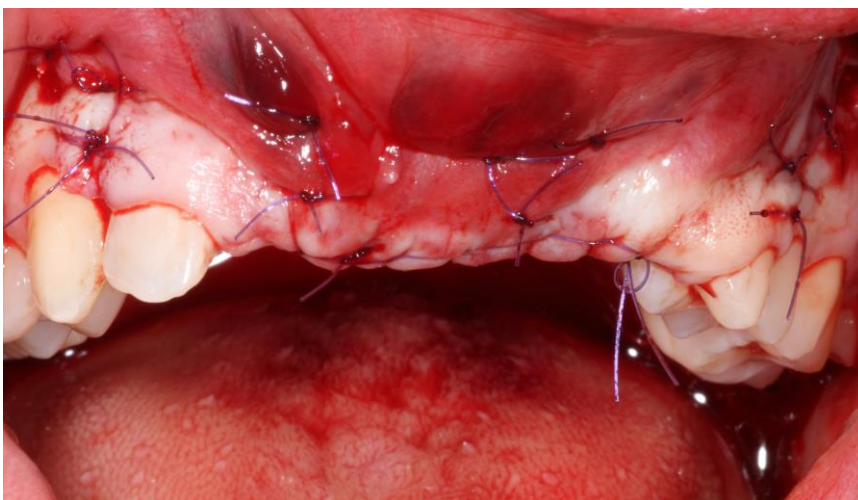
### **3.1.2. Metali**

Najčešće metalne membrane su od titana, koji je zbog svojih karakteristika kao što su rigidnost i mala gustoća, mala težina, sposobnost da se odupre visokim temperaturama i otpornost na koroziju, našao uporabu u raznim kraniomaksilofacijalnim zahvatima. Titanska mrežica (eng. titanium mesh, Ti-mesh) omogućava stabilizaciju koštanog transplantata i održavanje prostora, sprječava kolaps kontura, njezina elastičnost sprječava kompresiju mekog tkiva, plastičnost omogućuje savijanje, konturiranje i adaptiranje bilo kojem koštanom defektu (Slika 4.). Zbog svoje glatke površine, bakterije su manje prijemčljive za Ti-mesh. Zbog svoje krutosti i oštih rubova koji nastaju pri prilagodbi membrane na koštani defekt, dolazi do iritacije sluznice i izlaganja membrane te mogućeg urastanja mekog tkiva (Slika 5.). Usprkos izlaganju, nema infekcija u usporedbi s e-PTFE membranama. Makroporoznost je još jedna od karakteristika ove membrane, što omogućuje dobru opskrbu krvlju, pojačava regeneraciju integracijom tkiva i dopušta difuziju ekstracelularnih nutrijenata kroz membranu. Nedostatak je teško otklanjanje u drugoj operaciji nakon osteointegracije (27). Legure od kobalt-kroma (CoCr) također su uzete u obzir kao membrane za GBR. Iako je ova legura manje biokompatibilna od titana i titanskih legura, ima dobra mehanička svojstva. Nisu još dokumentirana klinička istraživanja, samo istraživanje na životinjama gdje je uviđeno da ova membrana osigurava dovoljno prostora i provodi regeneraciju kosti (2). Rađena je studija s četrdeset pacijenata koji su imali atrofičnu kost u predjelu stražnje mandibule. Podijeljeni su u dvije skupine. Prvoj je skupini napravljena vođena regeneracija kosti s neresorptivnom ojačanom titanskom membranom (eng. High-

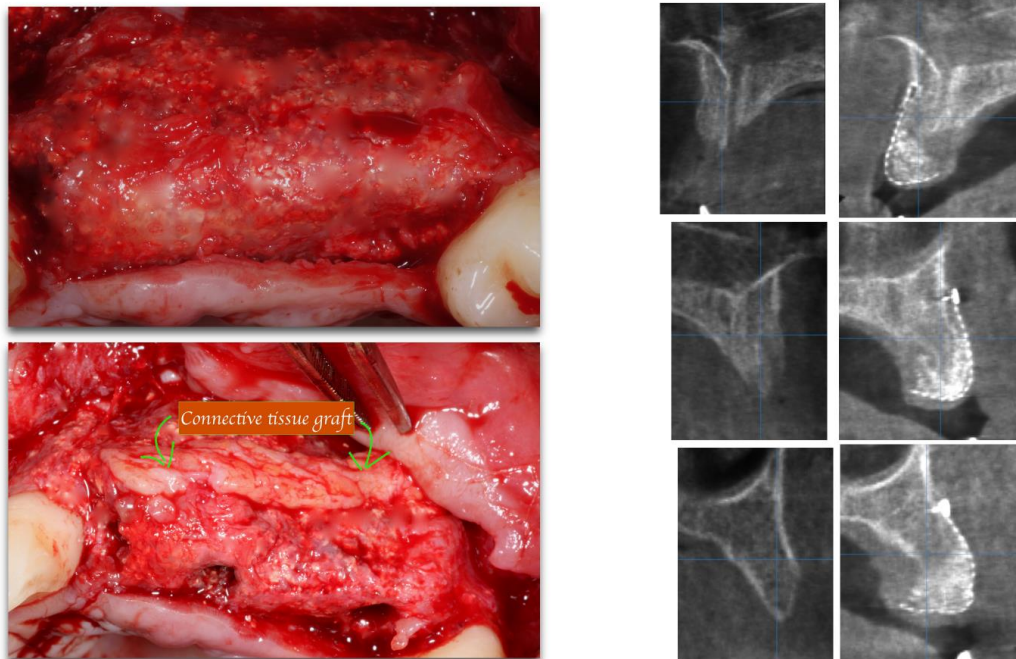
density polytetrafluoroethylene, d-PTFE), drugoj titanskom membranom prekrivenom križno umreženom kolagenom membranom. Zabilježene su sve komplikacije tijekom zahvata i cijeljenja te se procijenjivala stabilnost implantata i vertikalni dobitak kosti. Ustanovilo se da su oba GBR pristupa dala slične rezultate u pogledu komplikacija, dobitka visine vertikalne kosti i stabilnosti implantata (28).



Slika 4. Neresorptivna titanska membrana, s dopuštenjem dr. sc. Snježane Pohl



Slika 5. Primarno zatvaranje reznja bez napetosti, s dopuštenjem dr. sc. Snježane Pohl



Slika 6. Regenerirana kost nakon GBR-a, s dopuštanjem dr. sc. Snježane Pohl

### 3.1.2.1. Biološki principi vođene regeneracije kosti kod neresorptivnih membrana

Regeneracija znači zamjena nestale ili izgubljene komponente u tijelu elementima podjednako visoke strukturalne organizacije, tako da struktura i funkcija budu u potpunosti nadomiještene (Slika 6.). Kost ima jedinstveni potencijal za potpuni povratak izvorne arhitekture, ali uz izvjesna ograničenja. Osnovni uvjeti kao što su dostatna opskrba krvlju i mehanička stabilnost moraju biti zadovoljeni. Cijeljenje kosti ispod i bez membrane različito je u tome što se kod cijeljenja bez membrane, iako je isti obrazac reparature kosti, kost formira na rubovima defekta te na dnu. Prostor defekta zatvorio se nakon 2 mjeseca, ali stvaranje kosti nije napredovalo. Nakon 4 mjeseca kost je neznatno bila deblja (1). Kod cijeljenja ispod membrane histološka je analiza pokazala slijed događaja koji počinju stvaranjem krvnog ugruška koji ispunjava zaštićeno područje ispod membrane. Matriks vezivnog tkiva bogat novim krvnim strukturama zamjenjuje krvni ugrušak. Kasnije odlaganje nezrele kosti potiče iz okolnog koštanog zida koju zamjenjuje lamelarna kost. Ovaj obrazac intramembranoznog rasta kosti u horizontalnom i vertikalnom GBR-u opisan je također i kod cijeljenja postekstrakcijske alveole (8). Dosad se smatralo da je uloga membrane pasivna, tj. da služi kako bi spriječila urastanje vezivnog tkiva

u defekt. Nove studije pokazuju vezu između staničnih i molekularnih događanja vezanih za odgovor tkiva i stvaranja kosti, i GBR membrana. Tijekom eksperimenta u kojem je u defekt tibije štakora stavljena PTFE membrana, primijetio se raniji i pojačani nivo esencijalnog transkripcijskog faktora za diferencijaciju osteoblasta i osteogenezu (eng. Core-binding factor subunit alpha-1/cbfa-1/ Runt-related transcription factor 2, Runx2) osteoprogenitornih stanica, te jače izraženi marker za formiranje kosti, osteokalcin (2). Poznato je da su osteoblasti mezenhimalnog podrijetla i da kao progenitorske stanice luče kolagen tip 1, alkalne fosfataze i osteonektin. Juvenilni osteoblasti luče osteokalcin i koštani sijaloprotein i tako stvaraju koštano tkivo. S druge strane, cbfa-1 je potreban transkripcijski faktor za stvaranje osteoblasta od preosteoblasta. Pronađeno je da su omjeri novoformirane kosti veći nego kod kontrolne grupe gdje defekt nije prekriven membranom, iako omjer proliferativnih stanica nije bio znatno različit. Ustanovljeno je da samo u prostorima zaštićenim membranom stanice koje stvaraju kost mogu proliferirati. Rezultati studije gdje je omjer cbfa-1 veći od kontrolne grupe potvrđuju ovu studiju. Pojačano lučenje osteokalcina (eng. Messenger RNA, mRNA) znači da se stanice ubrzano diferenciraju iz preosteoblasta u osteoblaste i tako govore u prilog tome da GBR ubrzava osteogensku diferencijaciju. S druge strane, angiogeni faktor rasta (eng. Vascular endothelial growth factor, VEGF), koji je zadužen za formiranje endotelnih stanica, mikrovaskularizaciju i mikrocirkulaciju (ključan za prezervaciju strukture i formiranje kosti), bio je podjednako zastupljen u obje grupe (29). Slični su rezultati pronađeni kod GTR zahvata. U usporedbi s defektom bez membrane, nazočnost PTFE membrane u osnovnom defektu stimulira jaču izraženost različitih gena za formiranje kosti, alkalne fosfataze ALP (eng. Alkaline phosphatase, ALP), osteopontin i koštani sijaloprotein, interleukine-1,4,6, matriks metalopeptide MMPs (eng. Matrix metalloproteinases, MMPs) 2 i 9, receptor aktivacije nuklearnog faktora kappa- $\beta$  RANKL (eng. Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL), te citokine. Tijekom studije došlo je do izlaganja samo jedne membrane, što se liječilo s 1% klorheksidinom, te nadalje nije bilo komplikacija (30).

### **3.1.3. Anorganske komponente**

Kalcijum sulfat (CaS) je jedna od nekoliko anorganskih komponenti koje su se koristile da bi se napravio glavni dio GBR membrane. Ova membrana je biokompaktibilna, osteokonduktivna i bioresorptivna (2). U studiji gdje su se pratili učinci kompozitnog koštanog grafta i CaS



membrane na nefurkacijske koštane defekte pokazalo se da ova kombinacija daje dobre rezultate (31). Membrane na bazi hidroksiapatita (HA) također su predložene za GBR zbog osteokonduktivnosti, sličnosti koštanim mineralima i biokompatibilnosti. Iako se smatra lomljivim materijalom, pokazao je odgovarajuća mehanička svojstva, omogućujući membrani izdržavanje statičkog pritiska mekog tkiva i očuvanje prostora za regeneraciju kosti. Rezultati studije pokazuju da je veća proizvodnja koštanog volumena pri korištenju okluzivnog gustog HA s grubom unutarnjom površinom kao membrane koja održava prostor (32). Kompozitna membrana s asimetričnim porama nHA/PA66 izrazito je bioaktivna i osteokonduktivna, potiče aktivnost stromalnih i osteoblastičnih stanica te inducira stvaranje kosti (33). Za stvaranje čisto keramičke membrane koristi se HA puder, a za izradu drugih membrana koriste se dodaci bioaktivnih iona kao što su stroncij, srebro ili cink kako bi se poboljšala biološka svojstva membrana (2). Glavni je nedostatak vezan za njihova ograničena mehanička svojstva i nepredvidivu stopu bioapsorpcije. Staklo-keramika dijeli iste nedostatke. Usprkos dobroj interakciji između kosti i materijala, ima slaba mehanička svojstva i vrijeme degradacije je nepredvidivo (34). Drugi keramički materijali kao  $\beta$ -trikalcijfosfat inkorporirani su u resorptivne membrane i pokazali su proosteogenske rezultate. Dodavanje nanočestica bioaktivnog stakla bioresorptivnim membranama pokazalo je povećanu staničnu metaboličku aktivnost i mineralizaciju (2). Napravljena je studija u kojoj je kolagenoj membrani ugrađeno nano-bioaktivno staklo nBG (eng. Nanosized bioactive glass, nBG) te fibroblastni faktor rasta FGF2 (eng. Fibroblast growth factor 2, FGF2). Studija je provedena na tri grupe: s kolagenskom membranom, s kolagen-n-BG hibridom i s kombinacijom kolagen-n-BG hibrida s FGF2. Histomorfometrijskim analizama procijenila se regeneracija kosti u defektu. Rezultati su pokazali da je defekt prekriven membranom kolagen-n-BG hibrida s FGF2 skoro u potpunosti oporavljen, dok je kod druge dvije membrane oporavljen samo djelomično (35).

### **3.1.4. Prirodni polimeri**

#### **3.1.4.1. Kitozan**

Kitin i kitozan (eng. Chitosan, CS) su biopolimeri koji imaju velike strukturalne mogućnosti za kemijske i mehaničke modifikacije kako bi se stvorila nova svojstva, funkcije i primjene, naročito u biomedicini. Usprkos velikoj dostupnosti, korištenje kitina ograničeno je zbog interakcija i netopljivosti. Zbog svoje biokompatibilnosti, netoksičnosti, antimikrobnom

aktivnosti i niske imunogenosti, ovaj materijal ima veliki potencijal za razvoj. Napravljen je od kopolimera glukozamina (b-1, 4 linked 2-amino-2-deoksi-D-glukoze) i N-acetilglukozamina i kao produkt parcijalne deacilizacije kitina. Materijal se može naći kod ljuskaroša i ima ulogu analognu kolagenu kod viših životinja (36). Degradacije membrane ovise o načinu preparacije membrane i molekularnoj težini. Kao i kolagen, može biti križno umrežen s glutaralhidom i genipinom (eng. Genipin Gp), ali zbog citotoksičnosti glutaralhida i visoke cijene Gp-a počeo se alternativno ionski križno umrežavati s natrij tripolifosfatom (eng. Tripolyphosphate, TPP). Rađena je studija gdje se promatrala asimetrična kitozna membrana križno umrežena s TPP-om, kako bi se poboljšala vučna snaga membrane u GBR-u. Pokazalo se da nije pronađen značajan broj mrtvih stanica na membrani, ukazujući da je membrana biokompatibilna. Kod eksperimenata sa životinjama pokazalo se da ova membrana ima brže stvaranje nove kosti i da pokazuje sposobnost za poboljšanje regeneracije kosti. Ova je membrana pokazala da ima asimetričnu strukturu, vučnu jačinu te da biodegradacija i biokompatibilnost ispunjavaju zahtjeve vođene koštane regeneracije (37).

#### **3.1.4.2. Alginatne membrane**

Alginat je prirodni anionski polimer koji se ekstrahira iz smeđe morske trave i koji se zbog svoje biokompatibilnosti, niske toksičnosti i zbog toga što je relativno jeftin te blago gelatinozan dodatkom kationa kao  $\text{Ca}^{2+}$ , istražuje za biomedicinsku uporabu. Alginatni hidrogelovi mogu biti pripremljeni raznim križno umreženim metodama i njihova strukturalna sličnost ECM (eng. Extracellular matrix, ECM) živog tkiva dopušta široku uporabu (38). Iako kitozan i alginat membrane u eksperimentalnim koštanim defektima pokazuju da potiču regeneraciju kosti, još nema opisanih kliničkih studija koje to potvrđuju (36,38).



#### **4. KOLAGENE MEMBRANE**

Kolageni su porodica različitih tipova strukturalnih proteina koji se nalaze u raznim ljudskim tkivima kao što su koža, krvne žile i kost. Sintetiziraju ga specijalizirane stanice u tijelu ovisno o lokaciji. Fibroblasti su odgovorni za proizvodnju kolagena u vezivnom tkivu, a osteoblasti u kosti (39). Nakon izolacije, pročišćenja enzimatskim preparatima ili kemijskom ekstrakcijom, prerađuju se u različite oblike (22). Molekula kolagena sama nije stabilna, stoga je raspoređena u niti koje su umrežene kovalentnom umreženom vezom (39). To je najčešće korištena kemijska modifikacija, najčešće tretirana aldehidom. Rezultat ovog tretiranja smanjena je apsorpcija vode, smanjena topljivost i povećana jačina istezljivosti (25). Postoji više tipova kolagena, ali u ljudskom se tijelu mogu naći od tipa 1 do tipa 4, ovisno o lokaciji. Prva uspješno postavljena kolagena membrana u GBR-u ugrađena je 1990-ih (39). Kolagene membrane imaju puno poželjnih bioloških aktivnosti: nisku imunogenost, privlačenje i aktiviranje parodontnog ligamenta (eng. Periodontal ligament, PDL) i stanica gingivalnih fibroblasta, hemostatičnost (posjeduju sposobnost za stimuliranje trombocitnog pričvrstka kako bi poboljšale vezanje fibrina, što olakšava početno stvaranje i stabilizaciju ugruška, tako unaprjeđujući regeneraciju tkiva), mogu potencijalno povećati debljinu tkiva, laku manipulaciju te su u interakciji s različitim tipovima stanica tijekom procesa cijeljenja (40,22). Napravljena je studija na zečevima u kojoj se istraživala biokompatibilnost kolagenske membrane Bio-Gide i ustanovilo se da nema imunološke reakcije, što se i potvrdilo serološkim testovima (41). Pokazalo se da kolagene membrane stimuliraju sintezu (eng. Deoxyribonucleic acid, DNA) fibroblasta, dok osteoblasti pokazuju veću adherenciju za površinu kolagene membrane. Biodegradacija se odvija djelovanjem endogene kolagenaze gdje se kolagena membrana razlaže na ugljični dioksid i vodu, a otporna je na nespecifičnu proteolitičku degradaciju (42). Makrofazi i polimorfonuklearni leukociti, te patogeni kao što je *Porphyrromonas gingivalis* (lat.) luče ove enzime. Kolagenaza denaturira membranu na određenim mjestima, ti fragmenti postanu gelatinozni, koju gelatonaza i drugi enzimi denaturiraju u amino kiseline (22). Brzina resorpcije membrane može varirati (39). Nedostatak ove membrane je slaba rigidnost, koja ograničava sposobnost održanja prostora. Najbolje ju je koristiti za dehiscijencije i fenestracije koje ne zahtijevaju dobru fiksaciju i stabilnost. Obzirom na brzinu degradacije, moguće je da se ne zadržava toliko vremena koliko je optimalno za regeneraciju tkiva (34). Glavna komponenta kolagenih membrana je kolagen tip 1. Membrane se razlikuju po podrijetlu kolagena (goveđi ili svinjski), a degradacije membrana također ovise o podrijetlu kolagena (40).

#### 4.1. Različite vrste kolagenih membrana

Kako bi se poboljšala mehanička svojstva membrana i usporila degradacija, membrane su tretirane brojnim metodama umrežavanja (eng. cross-linking), fizikalnim ili kemijskim. Te metode uključuju ultravioletno zračenje, tretiranje kemijskim otopinama poput genipina, glutaraldehida, 1-etilen-3-(3-dimetilamniopropil) i karbodiimid hidroklorida (43). Kemijskim umrežavanjem poboljšana je stabilnost membrane, međutim rezidualne kemikalije, aldehid i amidi, izazivaju upalnu reakciju na mjestu implantacije. Križanje kolagena 1 i 3 goveđeg dermisa s glutaraldehydom u svrhu prekrivanja zuba s otvorenom furkacijom dalo je dobar rezultat, ali se pazilo da se svi aldehidi i amini odstrane kako ne bi izazvali upalnu reakciju (42). U jednoj studiji s kolagenom spužvicom tretiranom glutaraldehydom, on se doveo u vezu s citotoksičnim utjecajem na fibroblaste i prisustvom gigantskih stanica kao reakcija na strano tijelo (44). Prirodne komponente za umrežavanje kao što su Gp i D-riboza smatraju se netoksičnima, sigurnima, neimunogenima, komponentama koje će osigurati dobra mehanička svojstva i učiniti membrane otpornima na enzimatsku degradaciju (42). Kolagenske su membrane također ekstrahirane iz ljudske kože te se nakon odstranjivanja epidermisa i svih dermalnih stanica dobio acelularni dermalni matriks (eng. Acellular Dermal Matrix, ADM). Povećava se interes za ekstracelularne matriks membrane ECM, proizvedene decelularizacijom mekog tkiva. Opisan je razvoj metode kemijsko-fizikalne decelularizacije primijenjen alogenskom ljudski ekstrahiranom dermisu (eng. Human Dermal Matrix, HDM). Kako bi se ocijenila odsutnost živućih stanica i održanje ECM strukture, na HDM membrani rađene su biološke, histološke i ultrastrukturalne procjene. Rezidualni DNA, glikosaminoglikan i sadržaj kolagena, indeks vitalnosti, histologija i elektronska mikroskopija pokazali su efikasnost procesa decelularizacije i prezervacije ECM matriksa i bioaktivnosti. Među testiranim faktorima rasta najveću je koncentraciju pokazao transformirajući faktor rasta-b1. HDM ekstrakti su pokazali značajno povećanje proliferacije fibroblasta, dok su maksimalno opterećenje i krutost HDM-a značajno viši od celuliziranog dermisa. Membrana je integrirana s tkivom domaćina te nema upalne reakcije. Ovi rezultati pokazuju da metoda decelularizacije dopušta razvoj alotransplantata ljudskog dermalnog matriksa koji može biti koristan za regeneraciju mekog tkiva (45). Membrane su primijenjene kod liječenja periimplantarnih dehiscijencija tehnikom kojom se na izloženu površinu implantata stavlja autogena kost, preko nje alogena, te se prekrije kolagenom membranom (eng. sandwich bone augmentation) i dale su dobre rezultate (46). Drugi tipovi kolagenih membrana su derivati dure mater i perikarde (47).

#### **4.1.1. Kolagena membrana dura mater**

Za prekrivanje dehiscijencija, fenestracija oko implantata, kod postekstrakcijskih implantata, vertikalne izgradnje grebena i kod podizanja maksilarnog sinusa, korištena je smrzavanjem osušena dura mater (eng. Freeze-dried dura mater, FDDMA). Nakon šest, devet i dvanaest mjeseci na analizu je uzet mali uzorak membrane. Nije pronađen upalni infiltrat u tkivu koje okružuje membranu, niti su pronađene stanice u membrani, samo su na najperifernijem dijelu membrane pronađene stanice pozitivne na kiselu fosfatazu. FDDMA membrane se resorbiraju sporo, ne izazivaju upalni odgovor i nakon dvanaest mjeseci i dalje igraju ulogu u okluziji stanica (47). Jedna od novijih membrana koja se razvila napravljena je od liofilizirane mnogoslojne acelularne ljudske amnion membrane (eng. Acellular human amniotic membrane, AHAM). Nakon decelularizacije AHAM je sačuvao svoj strukturalni, biomehanički integritet od amnionskog ekstracelularnog matriksa (eng. extracellular matrix, ECM). AHAM također pokazuje minimalni toksični učinak kada je kokultiviran s mezenhimalnim matičnim stanicama (eng. Mesenchymal stem cells, MSCs), što je dokaz visoke stanične gustoće, dobrog preživljavanja stanica i učinkovite osteogene diferencijacije nakon dvadeset i jedan dan kultiviranja. Učinkovitost višeslojnog AHAM-a i vođene regeneracije kosti procijenjena je koristeći in vivo tibiju miša kao model defekta. Nakon šest mjeseci višeslojni AHAM pokazao je visoku učinkovitost u ulozi barijere, kako bi spriječio urastanje fibroznog tkiva, stabiliziranje koštanog grafta i indukciju opsežnog rasta kosti. Prednosti liofilizirane višeslojne AHAM membrane su očuvanje strukturalnih i mehaničkih osobina amnionskog ECM-a, lakoća preparacije i rukovanja, fleksibilnost u adaptaciji gustoće i mehaničkih svojstava i djelotvornost u induciranju rasta kosti i sprječavanju urastanja fibroznog tkiva (48).

#### **4.1.2. Kolagena membrana perikarda**

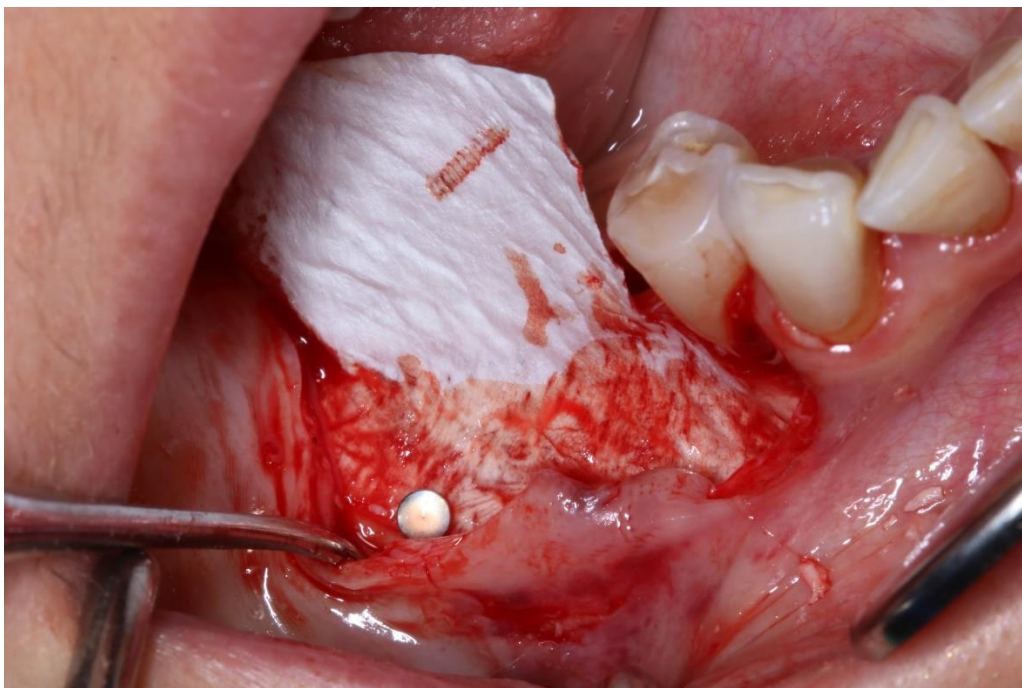
Tkivo perikarda ima iznimne osobine rukovanja i jednoliko zadržavanje šava. Netrombogen je i prirodno se odupire infekciji. Ksenogeni je perikard najčešće goveđi, svinjski i rijetko konjski. Tkiva iz ovih izvora dostupna su u velikim slojevima, omogućujući prilagođenu konfiguraciju za razne kardiovaskularne aplikacije. U velikom dijelu sastoji se od kolagenih vlakana i imaju elastična svojstva koja omogućuju sklad sa složenom anatomijom. Izvorna struktura goveđeg

perikarda ima tri sloja: serosu, unutarnji tanki sloj koji se sastoji od mezotelnih stanica; fibrozu, deblji sloj formiran raznovrsno orijentiranim, valovitim snopovima kolagena i elastina; i treći sloj vezivnog tkiva, epipikardiju, vanjski sloj koji je djelomično kontinuiran s perikardiosternalnim ligamentima. Različita povoljna svojstva kao što su acelularnost, pouzdana konzistencija, sposobnost izrade i obrade do konstantne debljine 0,5 mm, pružajući pouzdano zadržavanje šava i idealne operativne karakteristike rukovanja, potiču korištenje goveđe perikard membrane u regeneraciji tkiva. Ova svojstva pružaju prirodni mikrookoliš za migraciju i proliferaciju stanica domaćina, ubrzavajući endotelizaciju i regeneraciju tkiva (49). Da bi se održao sadržaj i struktura ECM-a i ojačalo biološko tkivo bez izazivanja kalcifikacije in vivo, pristupi su uključivali tretiranje perikardija obrađenog glutaraldehydom, glutaminskom kiselinom, modificirajućim postupkom decelularizacije te nano premazivanje perikardijalnih transplantata titanom kako bi se spriječile imune reakcije, a time i kalcifikacija (50,51). Puros® Pericard i Copios perikard dizajnirani su za vođenu regeneraciju tkiva i vođenu regeneraciju kosti. Sadržavaju prirodnu matricu kolagena i mehanička svojstva urođenog perikardija zahvaljujući vlastitom Tutoplast® postupku. Karakterizira ga višesmjerna čvrstoća, brza hidratacija, petogodišnji rok trajanja i skladištenje na sobnoj temperaturi. Profil resorpcije je 4-6 mjeseci. Vremenski okvir za remodelaciju ovisi o mjestu defekta, dobi pacijenta, zdravstvenom stanju i metaboličkom i prehrambenom statusu te biomehaničkom opterećenju transplantata (49). Rađena je studija u kojoj se zaključilo da bestanična goveđa membrana (eng. Acellular bovine membrane, ABP) tretirana s 1-etil-3 (3-diaminopropil)-karbodiimidom (EDAC), može biti zamijenjena okolnim tkivom i da je biokompatibilna. Postoje dokazi o regeneraciji tkiva unutar poroznog goveđeg perikarda postupkom koji uključuje regrutiranje stanica i specifičnu diferencijaciju tkiva. Zbog svojih je svojstava perikard goveda prihvaćen u području stomatologije i koristi su u sljedećim područjima: augmentaciji alveolarnog grebena, vođenoj regeneraciji tkiva, prekrivanju korijena te kod dehiscencija (50).

#### **4.1.2.1. Svinjski perikard**

Između svinjskog i goveđeg perikarda postoje male razlike. Perikard goveda ima veći sadržaj kolagena od onog svinjskog porijekla, ali oni ne pokazuju značajnu razliku u stupnju kalcifikacije u različitim tretmanima glutaraldehydom. Zalisci proizvedeni iz goveđeg perikarda pokazali su manju opstrukciju nego zalisci načinjeni od perikardnog tkiva svinje (Slika 7.), mada oba zaliska pokazuju slične hemodinamičke rezultate (50). Napravljena je studija kako bi

se istražilo povećava li svinjska bioresorbirajuća perikardna membrana oseintegraciju oko implantata smještenih u svježe ekstrakcijske rane tako da su dvadeset i četiri komercijalno dostupna implantata postavljena u svježe postekstrakcijske rane. Jedna je strana imala implantate i mjesta osteotomije prekrivena svinjskim bioresorptivnim perikardnim membranama, dok s druge strane nisu korištene membrane. Nakon šest tjedana, uzeti su uzorci i napravila se histomorfometrijska analiza. Pokazalo se da su gubitak kosti i migracija mekog tkiva u koronarnoj regiji implantata vidljivi kod kontrolne skupine, dok je oko vrata implantata bila vidljiva obilna kost za skupinu prekrivenu membranom. Kontakt kost-implantata bio je značajno veći za skupinu prekrivenu membranom, 75%, u odnosu na kontrolnu skupinu, 45%. Strukturne karakteristike svinjske membrane potekle iz perikarda možda su bile odgovorne za učinke rasta kosti jer histološki odsječci nisu pokazali da se membrana urušava u prostor između stijenke alveole i implantata (52). Imajući na umu mehanička svojstva, uočeno je da ove membrane imaju bolju vlačnu čvrstoću od ostalih kolagenih membrana dobivenih iz submukoze tankog crijeva, peritoneuma ili acelularnog dermalnog matriksa. S obzirom na strukturu membrane, ne križno umreženi matriks izveden iz svinjskog perikarda ima bioničnu značajku za koju se pretpostavlja da je ključni faktor za staničnu migraciju i morfogenezu (49).



Slika 7. Kolagena membrana od svinjskog perikarda, s dopuštenjem dr. sc. Darka Božića

#### 4.1.2.2. Ljudski perikard

Prednosti perikardnih membrana mnogostruke su, pa su osim goveđeg i svinjskog perikarda razvijene i ljudske membrane perikarda (eng. Human pericardium, HP). Goveđe i HP membrane procijenjene su u studiji u kojoj je korišteno pedeset odraslih novozelandskih bijelih zečeva. Korišteno je pet grupa od po 10 životinja: ljudska membrana fascia lata, HP, ljudski fascia temporalis, goveđi perikard (eng. bovine pericardium, BP) i ekspanzirani politetrafluoroetilen (e-PTFE). Prema rezultatima, fascia lata, HP, BP i e-PTFE potiču regeneraciju kosti i mogu se uspješno koristiti kao GBR membrane za koštane nedostatke izvan kritične veličine. Defekt u HP grupi bio je ispunjen zrelom, uglavnom novoformiranom kosti, u najvećem dijelu lamelarnom, s izrazitim koštanim trabekulama i koštanom srži (53). Biokemijska i biomehanička procjena nove kosti formirane u oštećenju kosti procijenjena je testovima biomehaničke tvrdoće i aktivnosti alkalne fosfataze nakon razdoblja od 60 dana. Eksperiment je izveden stvaranjem oštećenja promjera 8 mm u ljudskom kalvariju uporabom demineraliziranog koštanog matriksa kao kontrole. Rezultati su pokazali da ljudski perikard ima veću biomehaničku tvrdoću (54). Testirano je ima li ljudska membrana perikarda mogućnost augmentirati lokalizirane defekte alveolarnog grebena za naknadno postavljanje zubnih implantata u nepotpuno zacijeljene ekstrakcijske rane. Horizontalna i vertikalna mjerenja tvrdog tkiva CBCT-om zabilježena su na dan augmentacije grebena te su praćena nakon četiri i sedam mjeseci. Volumen kosti postignut vođenom regeneracijom kosti pokazao je dobitak od 4,8 mm horizontalno i 6,8 mm vertikalno u defektnom grebenu u razdoblju od sedam mjeseci nakon postupka. Rezultati su sugerirali da HP membrana može biti prikladna komponenta za augmentaciju lokaliziranih oštećenja alveolarnog grebena. Za GBR defekta u maksilarnom grebenu korišteni su dekalificirani koštani alotransplantat i resorptivni ljudski perikard (HP) kako bi se poboljšao estetski rezultat. Postoperativnim se pregledom ustanovilo poboljšanje kontura alveolarnog grebena. Perikard je prirodna membrana konstruirana za GTR i GBR. Sadrži prirodni kolageni matriks i mehanička svojstva autohtonog perikarda (55).

#### **4.1.2.3. Uključivanje bioloških signala, prirodnih elemenata i sintetičkih bioaktivnih materijala u membranu**

Kao pristup koji osigurava membrani antibakterijska svojstva i povećava regeneraciju kosti, predložena je ugradnja čimbenika rasta ili stanica te antibakterijskih agenata u membrane. Kako bi se unaprijedio proces stvaranja kosti, upotrijebili su se različiti čimbenici rasta. Većina in vitro studija koristila je MSC stanice osteoblasti i endotelne stanice kako bi se odredio utjecaj peptida-1, osnovnog faktora rasta fibroblasta (eng. Fibroblast Growth Factor-Basic, bFGF)/FGF-2 i proizvod stromalnih stanica faktor-1 $\alpha$  imobiliziranih na membrani. Ove in vitro studije pokazale su povećano širenje, proliferaciju, migraciju i osteogenu diferencijaciju ovisno o imobiliziranoj molekuli. In vivo eksperimenti na životinjama upoređivali su regenerativne učinke native membrane i membrane imobilizirane ili oplemenjene rekombinantnim ljudskim koštanim morfogenetskim proteinom (eng. Bone morphogenetic protein 2, BMP-2), rekombinantni ljudski koštani morfogenetski protein (eng. Recombinant human bone morphogenetic protein BMP2, rhBMP-2), rhBMP-2 s domenom koja veže kolagen, koštani morfogenetski protein 7 (eng. Bone morphogenetic protein 7, BMP-7), kombinacijom BMP-2 i BMP-7, (eng. Fibroblast Growth Factor-Basic, bFGF)/FGF-2, trombocitni faktor rasta (eng. Platelet-derived growth factor, PDGF) i peptidom koji formira kost (eng. Bone forming peptide-1, BFP1). Membrane imobilizirane ili oplemenjene ovim različitim faktorima rasta ili peptidima pokazuju povećanu in vivo regeneraciju kostiju. Pokazalo se da kada se deksametazon pričvrsti na kolagenu membranu, on inducira regeneraciju kosti. Ugradnja antimikrobnih sredstava i antibiotika u membrane pokazala je da antibiotici i srebro mogu promijeniti odgovor tkiva, kao i sklonost bakterija da koloniziraju membranu. Ugradnja antimikrobnih sredstava, na primjer tetraciklina, metronidazola i iona srebra u membranu, može inhibirati bakterijsku infekciju, vezano za izloženost membrane. Otvara se pitanje o stvaranju rezistencije na antibiotike, naročito kod korištenja antibiotika širokog spektra. Istraživači su nedavno u kolagene membrane ugradili metronidazol kao antibiotik koji se često koristi u parodontnoj terapiji (56). Ugradnja bioloških signala, prirodnih elemenata i sintetičkih bioaktivnih materijala u oštećenje u kombinaciji s kolagenom membranom također poboljšava regenerativni ishod kod GBR-a (57). Kombinacija membrana s čimbenicima rasta pokazala je brojne prednosti. Jedan od ključnih čimbenika koji utječu na cijeljenje rane jest sposobnost regrutiranja mezenhimalnih progenitorskih stanica na mjesto defekta. Lokalna isporuka širokog spektra faktora rasta kao



što su trombocitni faktori rasta PDGF i koštani morfogogenetski proteini kao osteoinduktivni čimbenici rasta koriste se u stomatologiji i posjeduju sposobnost daljnjeg stimuliranja regrutiranja stanica, proliferacije i diferencijacije (58).

## **5. NOVA SAZNANJA O KOLAGENIM MEMBRANAMA**

Nova istraživanja govore o tome da kolagene membrane nemaju samo funkciju barijere tijekom vođene koštane regeneracije, nego i aktivno sudjeluju u procesu aktivirajući stanice i potičući difuziju hranjivih tvari. Štoviše, istraživanja pokazuju da različite membrane imaju različit potencijal aktivacije stanica i na taj način različito pridonose cijeljenju defekta (56).

### **5.1. Biološki principi vođene regeneracije kosti kod resorptivnih membrana**

Kao i u istraživanjima neresorptivne membrane, pokazalo se da nazočnost kolagene membrane dovodi do porasta formiranja kosti i gena za remodelaciju kosti (osteokalcin, kalcitoninski receptor, katepsin K i RANKL) u defektu tibije štakora u usporedbi s defektom bez membrane. Bitnije, moguće je povezati stvaranje kosti i aktivnost remodelacije inducirane membranom. U defektu se vide veće količine zrele remodelirane kosti u gornjem području blizu membrane (2,6). Prisutnost membrane potakla je rani ulaz dva velika stanično regrutirajuća faktora u defektu: kemokinski receptor 4 (eng. C-X-C chemokine receptor type 4, CXCR4) i monocitni kemotaksijski protein-1 (eng. Monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1). CXCR4 igra važnu ulogu u regrutaciji mezenhimalnih matičnih stanica, koje diferenciraju u osteoblaste, dok je MCP-1 (eng. Monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) opisan kao glavni kemokin za regrutaciju prekursora osteoklasta, ključni tip stanica za remodeliranje. Ovi nalazi govore da membrana unaprjeđuje okolinu za brzu regrutaciju različitih tipova stanica u defektu kao što su osteoblastični i osteoklastični fenotipovi, i još bitnije, unaprjeđuje konduktivnu okolinu za molekularnu kaskadu koštanog formiranja i remodeliranja (2). U jednoj od studija pokušale su se ustanoviti histološke promjene kod novostvorene kosti inducirane GBR-om s resorptivnom kolagenom membranom i provjeriti mogu li kolagena vlakna membrane utjecati na biološku funkciju osteogenih stanica. Studija je rađena na miševima i korištena je Bio-gide membrana. Primijećeno je sljedeće: kolagena membrana je omogućila da se visina alveolarnog grebena vrati na razinu prije defekta; ALP pozitivne stanice (eng. Osteopontin, OP i eng. Osteocalcin, OC) i imunopozitivne matrice su se stvorile rano, u drugom tjednu, u poroznom sloju membrane, ukazujući na indukciju osteoblastične diferencijacije; kolagena vlakna membrane ugrađena su u novonastalu kost u blizini membrane; kost udružena s membranom ugrađena je u kost koja se pruža iz kaviteta. To su dokazi da kolagena membrana sudjeluje u osteogenezi i pruža dobru augmentaciju grebena (59). Druga je studija rađena in vivo gdje je korištena druga vrsta kolagene membrane koja se sastoji najviše od izvanstaničnog matriksa ECM kolagena s fibroblastnim faktorom rasta-2 FGF-2. Pokazalo se da je membrana domaćin različitim

staničnim fenotipovima tijekom GBR-a i da te stanice unutar membrane postupno luče i izražavaju bitne koštane faktore rasta. Zaključno, membrana direktno i aktivno provodi proces cijeljenja u defektu aktivirajući domaće stanice koje postaju prijemčljive za membranu, dopuštajući komunikaciju svojim signalima s različitim populacijama stanica u defektu i time membrana postaje više od samo pasivne barijere (2).

## **5.2. Aktivno sudjelovanje kolagenih membrana u procesu regeneracije koštanog defekta**

Pozitivnom imunološkom reakcijom koštanih proteina (ALP, OP i OC) na unutarnjoj strani membrane koja gleda na koštani defekt, dokazalo se da kolagena membrana sudjeluje u regenerativnom procesu. Imunohistokemijski, histološki i elektronskim mikroskopom dokazano je da se kost formirala i mineralizirala na donjem poroznom dijelu kolagene membrane, prekrivajući defekt nakon četiri tjedna cijeljenja. Utvrđena je veza između ekspresije faktora rasta BMP-2, FGF-2 i transformirajućeg faktora rasta -beta (eng. Transforming growth factor beta, TGF- $\beta$ ) u membrani i u molekularnoj aktivnosti stvaranja kosti i remodeliranja u defektu ispod membrane. Znanstveni dokazi upućuju na to da GBR membrane aktivno sudjeluju u cijeljenju i regenerativnom procesu u defektu stimulirajući i regrutirajući stanice koje migriraju i/ili ostaju povezane s membranom. Popratno, membrane omogućuju da signali iz stanica udruženih s membranom dođu do stanica u defektu, stvarajući tako lokalnu sredinu koja je konduktivna za stvaranje i remodeliranje kosti. Stanice vezane za membranu tijekom GBR-a mogu ispoljavati drugačije osobine od onih koje su u defektu. Dvije različite studije pokazale su da se te stanice mogu razlikovati po svom fenotipu i sekretornom ponašanju (6, 60). Jedna druga studija otkrila je imunohistokemijskom procjenom specifičnom za mjesto usporedivu imunoreaktivnost za koštane proteine (osteokalcin, koštani sijaloprotein) u kolagenskoj membrani i defektu, međutim stanice u kolagenoj membrani imale su veću aktivnost kolagenaze nego stanice u defektu. Remodelacija kolagena potvrđena je imunodetekcijom matriks metaloproteinazom (MMP-1 i MMP-8), što je intersticijalna i fibrozna kolagenaza. Remodelacija je potrebna za proces cijeljenja rane. Leukociti, naročito makrofazi i neutrofilni su glavni izvor MMP (57). Angiogeneza je važan čimbenik koji utječe na ishod cijeljenja kosti (61). GBR membrane bi trebale osigurati takozvanu „transmembranoznu vaskularizaciju“, tj. dopuštati stvaranje krvnih žila kako bi se povećalo stvaranje nove kosti. Međutim, pokazalo se da je najčešće potrebno urastanje vezivnog tkiva kako bi se omogućilo istovremeno urastanje krvnih žila (62). Pokazalo se da je ovo urastanje tkiva povezano s

preuranjenim raspadom ili fragmentacijom i posljedičnim gubitkom funkcionalnosti barijere kolagene membrane (63). Poravnavanje upalne kaskade uzrokovano biomaterijalom može utjecati na čimbenike kao što je odgovor anaboličkih stanica tkiva, npr. osteoblasta (64). Postoje različita međudjelovanja imunoloških stanica izazvanih materijalom makrofaga i/ili (eng. Biomaterial-associated Multinucleated Giant Cells, BMGC-a) i stanica tkiva (osteoblasta ili endotelnih stanica) koje mogu podržati proces regeneracije tkiva na molekularnoj razini (65). Tijekom cijeljenja kosti, na važnosti su dobila međudjelovanja stanica upalnog odgovora i stanica pregradnje kosti (66). Kaskada upalne reakcije tkiva na biomaterijale razjašnjena je posljednjih desetljeća, a posebno su makrofazi identificirani kao ključni čimbenici za vođenje procesa regeneracije tkiva (67). U širem smislu, postoje dva glavna podoblika makrofaga, proupalni M1 i protuupalni M2 (68). Različite vrste (oralnih) mezenhimalnih matičnih stanica, kao što su mezenhimalne matične stanice zubnog porijekla, uključene su u cijeljenje koštanog tkiva (69,70). MSC iz oralnog tkiva diferenciraju osteoblaste i prekursore koštanog tkiva te pružaju imunomodulatornu aktivnost (71). Glavna je zadaća kolagene membrane biti barijera dovoljno dugo kako bi osigurala regeneraciju koštanog tkiva. Poznato je da se kolagene membrane svinjskog dermisa često prerano resorbiraju u 4-8 tjedana. Optimalno se razgrađuju fiziološkim procesima i imaju dobru biokompatibilnost, ali ne podvrgavaju se transmembranoj vaskularizaciji, što za njih i nije neophodno budući da zbog male debljine dopuštaju transport nutrijenata difuzijom (62). U svrhu produljenja trajanja membrana korištene su membrane iz drugih tkiva, kao što je perikard, i one se također nisu podvrgle vaskularizaciji zbog male debljine. Izbor ovoga izvora tkiva temelji se na poznavanju različitog prirodnog križnog umrežavanja kolagena, što čini se produljuje vrijeme trajanja membrane (72). Kemijsko križno umrežavanje pokazalo je da smanjuje biokompatibilnost, vodi do pretjeranog upalnog odgovora i preuranjenog raspada materijala (73). Transmembranska vaskularizacija uključuje stvaranje krvnih žila unutar membrane za premošćivanje posebno većih udaljenosti, kao u slučaju debljih barijernih membrana, i temelji se na urastanju složenog tkiva u tijelo materijala. Kako bi se potaknulo urastanje tkiva, membrana mora biti djelomično fagocitirana ili resorbirana, što zahtjeva uplitanje makrofaga ili multinuklearnih gigantskih stanica (72). Te su stanice također uključene u angiogene procese zbog njihove ekspresije odgovarajućih molekula, kao što je faktor rasta vaskularnog endotela VEGF (72). Bilo bi potrebno stvoriti membrane s višim "upalnim potencijalom" kako bi se stvorio gore spomenuti mikromilje (74).

## **6. RASPRAVA**

Tradicionalno se membrana u GBR-u smatrala samo pasivnom barijerom, koja je odvajala meko tkivo od defekta. Uloga membrane nije se gledala kao potencijalno bioaktivni modulator za regenerativni proces. Današnje promjene i adaptacije membrane većinom su namijenjene lakšem rukovanju tijekom kirurškog zahvata ili produljenju degradacije membrane. Takve promjene na membranama mogu utjecati na staničnu i molekularnu kaskadu cijeljenja kosti, rezultirajući različitim stupnjem stvaranja kosti i restitucije defekta. Postoje studije koje uspoređuju različite kolagene membrane. Radila se studija kako bi se usporedila resorptivna nekrižno umrežena kolagena membrana (eng. creos xenoprotect, CXP) i referentna membrana Bio-Gide (BG) u GBR-u na dehiscientnom implantatu. Koštani augmentat stavljen na površinu implantata imobiliziran je CXP ili BG membranom. Defektno je mjesto mjereno nakon šest mjeseci te se ustanovilo da se defekt kod CXP membrane smanjio za 81%, a kod BG membrane 62%, te da su obje membrane dale dobre rezultate, ali se trebaju još istražiti (75). Nadalje se radilo slično istraživanje gdje se istraživao molekularni i strukturalni obrazac cijeljenja tijekom GBR-a, uspoređujući CXP i BG. Istraživalo se imaju li različite vrste kolagenih membrana različit stanični i molekularni obrazac i kako on utječe na regeneraciju kosti. Radilo se o koštanom defektu femura miša koji je ispunjen deproteiniziranom goveđom kosti (eng. Deproteinized bovine bone, DBB) i prekriven s BG ili CXP membranom, koja sadrži elastin. Uzorci su analizirani treći i dvadeset i prvi dan od zahvata. Vršila se analiza membrane treći dan i analiza iz defekta trećeg i dvadeset i prvog dana. Uzorak iz defekta nakon tri dana pokazao je da nema razlika kod ekspresije pro-inflamatornih citokina, interleukina 6 (eng. Interleukin 6, IL6) i tumorskog faktora nekroze (eng. Tumor necrosis factor, TNF) između defekata koji prekrivaju membrane. Od trećeg do dvadeset i prvog dana TNF se smanjio. BMP-2 bio je znatno viši i rastao je tijekom cijelog perioda kod CXP membrane, dok je kod osteogeničkog diferencijacijskog faktora rast bio isti kod obje membrane. Osteoklastični i markeri remodelacije kosti su bili prisutni kod CXP membrane. Genska ekspresija na membranama nakon trećeg dana pokazala je da obje membrane pokazuju obilnu ekspresiju citokina, faktora rasta. BMP-2 i FGF-2 korelirani su ekspresijom BMP-2 i inflamatornih citokina iz defekta, međutim iako je BG membrana treći dan imala višu razinu BMP-2, na stanicama membrane u konačnici bila manja količina kosti u centralnoj regiji defekta. U analizi međusobne povezanosti ekspresije gena pronađena je pozitivna međusobna povezanost između BMP-2 defekta i BMP-2 membrane, FGF-2 membrane i TNF-a defekta i IL6 defekta. Nakon dvadeset i jednog dana histomorfometrički se moglo uočiti da se u srednjem dijelu defekta u grupi CXP membrane regeneriralo 34,9% kosti, dok se u BG grupi regeneriralo 15,5%. Razlog većoj regeneraciji CXP membrane može biti zbog veće stabilnosti i mehaničke čvrstoće membrane. Ovom je studijom

otkriven osnovni mehanizam kojim stanice u defektu, koji je tretiran CXP membranom, reguliraju ekspresiju BMP-2 prema membrani kroz cijelu studiju. BMP-2 naj snažniji je pro-osteogenični faktor rasta koji stimulira diferencijaciju MSC-a u osteoblaste. Osteoinduktivna uloga BMP-2 objašnjava veliki rast kosti u središtu defekta, što je ujedno i najteža regija za regeneraciju. Remodelacija kosti povećavala se tijekom vremena za obje membrane, iako je veće aktivnosti remodelacije imala CXP membrana. To potvrđuju ranija istraživanja koja su pokazala da membrana u GBR-u, kao i materijali koji provode vođenu regeneraciju kosti, poboljšavaju remodelaciju kosti. Membrane nisu izazvale upalnu reakciju te su pokazale da su biokompatibilne. Zašto je u početku ekspresija BMP-2 bila veća kod BG membrane, ne zna se. Ograničavajuća je stavka to što se membrana nije mogla analizirati dvadeset i prvi dan zbog stupnja degradacije. Kvalitativna histološka procjena pokazuje veliki stupanj degradacije kao i stanične i tkivne integracije obje membrane tijekom evaluacijskog perioda od dvadeset i jedan dan. Važan je segment studije to što se utvrdio infiltrat stanica na membranama već treći dan. Stanice koje su infiltrirale membrane lučile su faktore bitne za početnu upalu, stvaranje kosti i vaskularizaciju. Sve ovo dokazuje da membrane nisu samo pasivne barijere, nego da se ponašaju kao bioaktivni modulatori za signale koji komuniciraju s defektom ispod njih (5). Najnovija studija rađena na temu ovih membrana imala je za cilj usporediti kliničku izvedbu nove (CXP) membrane s referentnom membranom (BG) kod istodobnog postavljanja implantata i vođene regeneracije kosti na dehisciranim pojedinačnim mjestima. Prva su se mjerenja radila šest mjeseci od GBR-a. Godinu dana nakon implantacije pratila se stopa preživljavanja implantata, promjena razine kosti, rezultat ružičaste estetike, zadovoljstvo pacijenta od konačne isporuke nadomjeska, kvaliteta života pacijenta od prethodne obrade i jednogodišnji indeks krvarenja. Korištenje CXP i BG membrane za istovremeno stavljanje implantata i GBR-a na dehiscirana područja i potom smanjenje defekta, dalo je zadovoljavajuće rezultate s obje membrane (76).

Mikroarhitektura, mehanička svojstva, citotoksičnost i svojstva stanične kemotaksije acelularnog BP-a procjenjivani su *in vitro*, i *in vivo*. Učinkovitost acelularnog BP-a ispitivana je i na mandibularnom modelu kunića. Rezultati su sugerirali da acelularna membrana BP posjeduje međusobno povezanu vlaknastu strukturu. Tretman glutaraldehydom (GA) bio je učinkovit za poboljšanje mehaničkih svojstava acelularnog BP-a i rezultirao je zanemarivom citotoksičnošću. Nakon 16 tjedana standardizirani koštani defekti, stvoreni u mandibuli kunića i prekriveni acelularnim BP-om, povezani su s pojačanim taloženjem mineraliziranog tkiva u usporedbi s defektima koji su ostavljeni spontanom cijeljenju. U usporedbi s grupom bez



membrane, primijećen je blagi upalni odgovor upotrebom glutaraldehida u pripremljenim defektima u mandibulama pasa, međutim ustanovljeno je da je cijeljenje nakon 4 tjedna usporedivo. Goveđi perikard potiče stvaranje nove kosti inhibirajući invaziju novog vezivnog tkiva (49). Proveden je pokus na životinjama radi usporedbe učinkovitosti goveđeg perikarda u stvaranju kosti u defektima kritične veličine u usporedbi s kolagenom membranom. Histološki, rezultati su pokazali da je površina koštanih oštećenja bila ujednačena sa susjednom normalnom kosti u grupi s BP križno umreženim EDAC-om, dok je koštani defekt kod kolagene membrane bio neujednačen u 16. i 24. tjednu. Najveća tvorba kosti dogodila se u skupini s koštanim transplantatom i BP-om. Nakon 6 tjedana grupa s BP-om pokazala je infiltraciju upalnih stanica, a upalne su stanice zabilježene i nakon 12 tjedana. Membrana je ostala čak i nakon 12 tjedana, a olakšala je regeneraciju kosti blokirajući vezivno tkivo. Rezultati ove studije pokazali su da kada se resorptivna membrana (perikard) i alogena kost (Tutoplast) koriste u kombinaciji tijekom GBR-a, dolazi do boljeg formiranja kosti nego u slučajevima u kojima su korišteni samo koštani transplantati (77). Druga je studija analizirala upalne reakcije tkiva na dvije kolagene membrane svinjskog i goveđeg podrijetla. Kolagena membrana goveđe kože i kolagena membrana svinjskog perikarda ugrađene su u štakore na 60 dana. Primijenjene su histopatološke i histomorfometrijske metode, uključujući histokemijske i imunohistokemijske postupke bojenja, kako bi se otkrili M1 i M2 makrofazi i krvne žile. Histopatološki rezultati analize odgovora tkiva prema membrani i njihovoj integraciji pokazali su da je goveđa kolagena membrana intaktna bez pokazatelja razgradnje ili fragmentacije 10 dana od ugradnje. Prvi znakovi infiltracije tkiva pronađeni su 30. dan od ugradnje i na kraju je 60. dan goveđa membrana fragmentirana. Međutim, fragmenti membrane preklapali su se s potkožnim vezivnim tkivom. Ovaj je tip membrane izazvao reakciju tkiva, uključujući makrofage i multinuklearne divovske stanice, koje su proizvele proces fragmentacije. Reaktivno je tkivo infiltriralo međuprostor fragmenata membrane i veliki je broj krvnih žila pronađen u tkivu koje je infiltriralo membranu. Zaključak je da ovaj tip membrane može spriječiti invaziju tkiva iz "jednog odjeljka u drugi", zadržavajući time svoju funkciju barijere. Ovaj poseban uzorak integracije i razgradnje još nije opisan za druge membrane i može se definirati kao "sekundarna poroznost", što analiziranu goveđu membranu čini prvom od nove generacije. Svinjska kolagena membrana ostala je cjelovita do 60. dana poslije ugradnje, uzrokujući manje intenzivnu reakciju tkiva i samo jednostaničnu infiltraciju mononuklearnih stanica. Transmembranozna infiltracija nije detektirana, ali unutar membrane pronađene su neke pojedinačne male žile (78). Uspoređivane su kolagene membrane s križno umreženim kolagenim membranama. Nedostatak kolagene membrane jest brža resorpcija i nemogućnost

održavanja strukturalne cjelovitosti potrebne za regeneraciju kosti (79). Prednost križno umreženih kolagenih membrana je što predstavljaju barijeru povećanje površine i debljine u usporedbi s jednim slojem kolagene membrane. Mogu smanjiti resorpciju koštanog transplantata. Predloženo je jednomjesečno vrijeme barijere za svaki milimetar regeneracije kosti (80). Jedno izvješće govori kako nema značajne razlike u očuvanju obujma mekih i tvrdih tkiva između križno umreženih i nekrižno umreženih kolagenih membrana (81). Ipak, one daju bolje rezultate ako nisu izložene u usnoj šupljini. Što se tiče biokompatibilnosti, integracije tkiva i postoperativnih komplikacija, križno umrežene kolagene membrane daju bolje rezultate (79). Istraživalo se hoće li dvostruka kolagena membrana dati bolje rezultate u vođenoj regeneraciji kosti od jednstuke. U studiji na miševima promatrala se histološki i histomorfometrijski regeneracija kosti u defektu sa samim deproteiniziranim mineralom goveđe kosti, deproteiniziranim mineralom goveđe kosti prekrivenim jednim slojem kolagene membrane i prekrivenim s dva sloja. Jedan je sloj membrane dovoljan da isključi stanice mekog i mišićnog tkiva. Dodavanjem druge membrane nije se uočilo povećanje količine stvorene nove kosti. Međutim, iako nema značajnog poboljšanja učinkovitosti, dvostruki sloj membrane ima neospornu prednost kod stabilizacije koštanog transplantata (82). Korištenje pričvrtnih vijaka u kombinaciji s nadomjeskom kosti u obliku čestica i kolagene membrane, te koštanog bloka s kolagenom membranom, pokazalo se boljim u kontekstu dimenzionalne stabilnosti u odnosu na GBR s koštanim nadomjeskom u obliku čestica i kolagenom membranom. Zatvaranje rane izaziva značajan pomak DBBM-a, što uzrokuje djelomični kolaps kolagene membrane. Dodatno korištenje pričvrtnih vijaka ili bloka kosti umjesto čestica kosti smanjuje količinu kolapsa membrane. Čak i područja s DBBM blokom i kolagenom membranom bez vijaka pokazuju prosječan gubitak debljine od 20% zbog pomicanja bloka tijekom zatvaranja rane. Područja nadograđena s DBBM blokom, kolagenom membranom i pričvrtnim vijcima uspjela su očuvati svoj prostor tijekom šivanja režnja (83,84). Nedostatak pojačanja membrane titanijem može se nadvladati preciznim pričvrtnim titanskim vijcima s lingvalne/palatalne i vestibularne strane. Takvim pričvršćivanjem membrane imobilizira se transplantat do potpune resorpcije membrane i dopušta se stvaranje željene količine kosti (85). Pretraživanjem literature dobiveno je ukupno 25 studija, od čega 16 randomiziranih i 9 nerandomiziranih usporednih studija koje su uključivale najmanje 553 bolesnika i najmanje 761 zubnih implantata koji su postavljeni nakon vremena zacjeljivanja od 3,0 do 8,1 mjeseci nakon primarne horizontalne augmentacije. Važno je znati koja je količina materijala za augmentiranje potrebna ovisno o protetskom planiranju. Unutar ovog pregleda većina je autora ciljala na pravilno postavljanje promjera implantata u rasponu od 3,5 do 4,1 mm, što može značiti da se 6 do 7 mm širine

grebena može smatrati dovoljnim za implantaciju (17). Povećanje širine kosti mjereno je u uključenim studijama bilo klinički ili radiografski, dok je samo jedna studija transparentno dala rezultate i kliničkih i radiografskih mjerenja (86). Ukupni dobitak kosti lateralnom augmentacijom uz mala je odstupanja između ukupnog kliničkog i radiografskog dobitka ( $3,45 \pm 1,18$  mm u odnosu na  $2,90 \pm 0,83$  mm). Kod lateralne augmentacije koštanim blokom pokazalo se da korištenje ili ne korištenje membrane nema utjecaja na konačni rezultat dobivene kosti (17).

## **7. ZAKLJUČAK**

Kolagen je bio i još je uvijek osnovni materijal od kojeg se rade membrane za GBR. Uvriježeno je uvjerenje da je kolagen iz svih izvora i nakon većine tehnika obrade usporediv u svojim fizikalno-kemijskim svojstvima i uvijek biokompatibilan zbog svog prirodnog podrijetla (87). Donorski organizam (npr. alogeni ili ksenogeni izvori) i uglavnom izvor tkiva (npr. dermis, perikard ili tkivo tetive) imaju utjecaj na integracijsko ponašanje biomaterijala i čimbenika kao što je vrijeme trajanja membrane ili vaskularizacija. Pretpostavlja se da su uz tehnike decelularizacije i sterilizacije donorski organizmi i izvori tkiva glavni čimbenici koji utječu na fizikalno-kemijska svojstva dobivenog biomaterijala (78). Pokazalo se da inducirana membrana može imati osteoinduktivna, osteogena i angiogena svojstva (88). Posebice je vaskularizacija ležišta implantata putem angiogeneze prepoznata kao osnovni čimbenik za uspješnu regeneraciju koštanog tkiva (89). Danas se različitim strategijama usredotočilo na razvoj materijala koji mogu pospješiti vaskularizaciju. Drugi je cilj za budući razvoj raznih biomaterijala izazivanje specifičnog imunskog odgovora koji može dodatno stimulirati cijeljenje koštanog tkiva (66). Membrana se može različito preinaciti prema funkcionalnim zahtjevima i biološkom mehanizmu. Te preinake uključuju sljedeće: (a) optimiziranje fizikalno-kemijskih i mehaničkih svojstava (npr. poroznosti, strukture, debljine, krutosti i plastičnosti); (b) uključivanje bioloških čimbenika (npr. bFGF, BMP-2, BMP-7, PDGF, BFP1 i SDF-1 $\alpha$  (eng. Stromal derived factor 1 $\alpha$ , SDF-1 $\alpha$ )) i sintetskih bioaktivnih materijala (npr. HA,  $\beta$ -TCP i bioaktivno staklo); (c) uključivanje antibakterijskih sredstava (npr. srebra) i antibiotika (npr. tetraciklina i metronidazola); i nadalje, kako bi se stimuliralo okruženje za promicanje kosti tijekom GBR-a, ciljanje defekta kosti s (d) osteokonduktivnim i osteoinduktivnim materijalima, sa ili bez prirodnih elemenata (npr. stroncija i cinka) uvedenih u defekt kosti ili (e) isporukom bioloških znakova (npr. čimbenika rasta i progenitorske stanice) u defekt kosti (60). Predviđeno je da je moguće kombinirati nekoliko gore navedenih strategija. Relativna važnost barijere i bioaktivne membrane u usporedbi s egzogeno primijenjenim presadcima i bioaktivnim spojevima u defektu kosti tek se treba utvrditi (60). Učinjena su mnoga poboljšanja i preinake membrana tehnikama križnog povezivanja kako bi se poboljšala mehanička svojstva, razdoblja razgradnje i biokompatibilnost. Razvijaju se membrane koje imaju antibakterijska svojstva, a koje se koriste za sprječavanje bakterijske kontaminacije i brže stope razgradnje membrane u kontaktu s epitelom i oralnom sluznicom. Nadalje, raspravlja se o razvoju u proizvodnji membrana, površinskim preinakama i kombinaciji s čimbenicima rasta i bioaktivnim molekulama, te fibrinskim membranama, što će usmjeriti sljedeću generaciju vođene regeneracije kosti (58). Membrane na bazi kolagena također mogu poslužiti u procesima vođene regeneracije tkiva kao smjernica za pričvršćivanje stanica, proliferaciju i migraciju ili za

ustupavljanje transmembranskog transporta hranjivih tvari i krvi, kao i urastanje krvnih žila, što dovodi do "transmembranske vaskularizacije" (60). Kolagene membrane za GBR trebale bi se optimalno integrirati u tkivo domaćina aktiviranjem fibroblasta, makrofaga i eozinofilnih granulocita, što bi trebalo potaknuti kolagenski preokret (eng. "turn-over") i rezultirati zamjenom implantiranih membrana vitalnim mekim tkivom (90). Nasuprot tome, membrane koje dovode do reakcije stranog tijela, uključujući biomaterijalom inducirane divovske stanice s više jezgara (BMGC), opisane su kao "biokompatibilni" biomaterijali (68). Imunološki mehanizmi degradacije membrana temeljeni na kolagenu uključuju uglavnom aktivaciju fagocitnih stanica kao što su makrofagi. Aktivirani makrofagi u procesima razgradnje biomaterijala klasificiraju se u dva fenotipa: proupalni M1 makrofagi (klasično aktivirani makrofagi) ili protuupalni M2 makrofagi (alternativno aktivirani makrofagi), i to na temelju njihova profila ekspresije (91). Fenotip M1 pretežno je prisutan u ranoj fazi, obično 3-4 dana nakon ozljede, i sudjeluje u degradaciji materijala, a zatim mijenja svoju polarizaciju u fenotip M2, što dovodi do cijeljenja tkiva (62,92). Nizak kapacitet stanične membrane makrofaga dovodi do njihove fuzije u BMGC koji omogućuju organizmu fagocitozu većih stranih tijela ili biomaterijala/čestica biomaterijala. Njihova pojava unutar implantacijskog sloja biomaterijala dugo se smatrala pokazateljem bioinkompatibilnosti materijala. Međutim, nedavni rezultati potvrđuju da te stanice izražavaju i proupalne i protuupalne molekule unutar implantacijskog sloja različitih biomaterijala. Štoviše, pokazalo se da prisutnost BMGC-a može dovesti do fragmentacije membrane i dezintegracije povezane s preranim urastanjem okolnoga tkiva domaćina, dok je indukcija BMGC-a povezana s povećanom transmembranskom vaskularizacijom (72,93). Pokazalo se da su čak i upalne stanice, kao što su BMGC i makrofagi, moćni izvori angiogenih molekula, kao što je faktor rasta vaskularnog endotela (VEGF), pa bi moglo biti od posebnog interesa stvoriti membrane s višim "upalnim potencijalom" u svrhu stvaranja takvog mikromiljea (74). Jedna je od najvažnijih karakteristika resorptivne barijerne membrane njezina mehanička cjelovitost koja je potrebna za održavanje prostora i njezina integracija u tkivo koje ima ključnu ulogu u zacjeljivanju rana i augmentaciji kosti. U istraživanjima se pokazalo da sve izvorne kolagene membrane imaju svojstva cijeljenja rane osim one križno umrežene šećerom. Ona nije imala staničnu infiltraciju i transmembransku vaskularizaciju, pružajući isključivu funkciju barijere u GBR-u (93). Od velike je važnosti razviti sljedeću generaciju resorptivnih membrana s prilagođenim integracijskim ponašanjem koje posjeduju funkciju barijere, transmembranoznu opskrbu krvlju, kao i integrirati imunološki sustav u regenerativne strategije (64,94). Danas se očekuje od barijerne membrane da da aktivni doprinos molekularnim procesima regeneracije koštanog tkiva, kao što su

diferencijacija matičnih stanica i urastanje osteoblasta, ili temeljnim procesima kao što je prehrana mjesta oštećenja, tj. prehrana temeljnog defekta koštanog tkiva. Postoje samo dva načina da se osigura ova funkcionalnost: ili putem difuzije ili putem transmembranske vaskularizacije (69,78,89). Zajedno s ovom funkcionalnošću, ova vrsta materijala mora ispuniti svoju glavnu svrhu, odnosno djelovati kao barijera (78).

## **8. LITERATURA**



1. Buser D, editor. 20 years of guided bone regeneration in implant dentistry. 2nd ed. Singapore: Quintessence Co Inc; 2009. 272 p.
2. Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur J Oral Sci.* 2017; 125(5):315-337.
3. Urban I. A, Wessing B, Alándež N, Meloni S, González-Martin O, Polizzi G, et al. A multicenter randomized controlled trial using a novel collagen membrane for guided bone regeneration at dehiscenced single implant sites: Outcome at prosthetic delivery and at 1-year follow-up. *Clin Oral Implants Res.* 2019; 30(6):487-497.
4. Sheikh Z, Qureshi J, Alshahrani A M, Nassar H, Ikeda Y, Glogauer M. Collagen based barrier membranes for periodontal guided bone regeneration applications. *Odontology.* 2017;105(1):1-12.
5. Omar O, Dahlin A, Gasser A, Dahlin C. Tissue dynamics and regenerative outcome in two resorbable non-cross-linked collagen membranes for guided bone regeneration: A preclinical molecular and histological study in vivo. *Clin Oral Implants Res.* 2018; 29(1):7-19.
6. Turri A, Elgali I, Vazirisani F, Johansson A, Emanuelsson L, Dahlin C, et al. Guided bone regeneration is promoted by the molecular events in the membrane compartment. *Biomaterials.* 2016;84:167-83.
7. Sulzer L, Ghayor C, Siegenthaler B, Gjoksi B, Pohjonen T H, Weber F E. Comparative study of NMP-preloaded and diploaded membranes for guided bone regeneration of rabbit cranial. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine.* 2014; 11(2): 425–433.
8. Lang N.P, Lindhe J, *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, Sixth edition, West Sussex:Wiley-Blackwell, 2015.1366p.
9. Carlsson G.E, Bergman B. Hedegard B. Changes in contour of the maxillary alveolar process under immediate dentures. A longitudinal clinical and x-ray cephalometric study covering 5 years. *Acta Odontologica Scandinavica.* 1967; 25, 45-75.
10. Boyne PJ. Regeneration of alveolar bone beneath cellulose acetate filter implants (abstract). *J Dent Res* 1964;43:827.
11. Becker W, Dahlin C, Lekholm U, et al. Five-year evaluation of implants placed at extraction and with dehiscences and fenestration defects augmented with eFTFE membranes: Results from a prospective multicenter study. *Clin Implant Dent Relat Res* 1999; 1(1):27-32.

12. Her S, Kang T, Fien M.J. Titanium mesh as an alternative to a membrane for ridge augmentation, *J Oral Maxillofac Surg.* 2012;70(4):803-10.
13. Lundgren D, Sennerby L, Falk H, Friberg B, Nyman S. The use of a new bioresorbable barrier for guided bone regeneration in connection with implant installation. Case reports. *Clin Oral Implants Res.* 1994;5(3):177–84.
14. Ratner BD, Hoffman A S, Schoen F J, Lemons J E. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. An Introduction to Materials in Medicine, 2nd edition.* Edited by society of biomaterials. Amsterdam, Elsevier Academic Press; 2004. 831p.
15. Parodi R, Santarelli G, Carusi G. Application of slow-resorbing collagen membrane to periodontal and peri-implant guided tissue regeneration. *Int J Periodontics Restor Dent.* 1996;16(2):174–85.
16. Parodi R, Santarelli G, Carusi G. Application of slow-resorbing collagen membrane to periodontal and peri-implant guided tissue regeneration. *Int J Periodontics Restor Dent.* 1996;16(2):174–85.
17. Pontoriero R, Nyman S, Lindhe J, Rosenberg E, Snavi F. Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in man. *J Clin Periodontol.* 1987; 14:618-620.
18. Nevins M, Mellonig J T. *Implant therapy: Clinical approaches and evidence of success, volume 2.* 1st Edition, USA: Quintessence publishing; 1998. p 257.
19. Rakhmatia Y D, Ayukawa Y, Furuhashi A, Koyano K. Current barrier membranes: Titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications, *J Prosthodont Res.* 2013;57(1):3-14.
20. Zellin G, Linde A. Effects of different osteopromotive membrane porosities on experimental bone neogenesis in rats. *Biomaterials Elsevier Science Limited.* 1996; 17(7):695-702.
21. Haney Marc, Nilvéus Rolf E, McMillan Paul J, Wikesjö. Periodontal Repair in Dogs: Expanded Polytetrafluoroethylene Barrier Membranes Support Wound Stabilization and Enhance Bone Regeneration *Journal of Periodontology.* 1993; 64(9), 883–890.
22. Sheikh Z, Abdallah M N, Hamdan N, Javaid M A, Khurshidd Z. Barrier Membranes for Periodontal Guided Tissue Regeneration Applications. In: Jukka P. Matinlinna editor. *Handbook of Oral Biomaterials.* 1 st edition. USA. Jenny Stanford Publishing. 2014. p 605-636.
23. Matinlinna J.P, *Handbook of Oral Biomaterials, 1st edition.* Singapore: Pan Stanford Publishing Pte. Ltd; 2014. 674p.

24. Carbonell J. M, Sanz Martín I, Santos A, Pujol A, Sanz-Moliner J.D, J. Nart. High-density polytetrafluoroethylene membranes in guided bone and tissue regeneration procedures: a literature review, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2014; 43(1):75-84.
25. Marouf H A, El-Guindi H M. Efficacy of high-density versus semipermeable PTFE membranes in an elderly experimental model *Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 2000; 89(2): 164–170.
26. A. Piattelli, A. Scarano, F. Coraggio, S. Matarasso, Early tissue reactions to polylactic acid resorbable membranes: a histological and histochemical study in rabbit. *Biomaterials.* 1998; 19(10): 889–896.
27. Piergiorgio Gentile, Valeria Chiono, Chiara Tonda-Turo, Ana M. Ferreira and Gianluca Ciardelli Polymeric membranes for guided bone regeneration. *Biotechnology Journal.* 2011; 6(10):1187-1197.
28. Rakhmatia Y. D, Ayukawa Y, Furuhashi A, Koyano K. Current barrier membranes: Titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications. *Journal of Prosthodontic Research.* 2013; 57(1): 3–14.
29. Cucchi A, Vignudelli E, Napolitano, A., Marchetti, C., & Corinaldesi, G. Evaluation of complication rates and vertical bone gain after guided bone regeneration with non-resorbable membranes versus titanium meshes and resorbable membranes. A randomized clinical trial. *Clinical Implant Dentistry and Related Research,* (2017). 19(5), 821–832.
30. Tanaka S, Matsuzaka K, Sato D, Inoue T. Characteristics of Newly Formed Bone During Guided Bone Regeneration: Analysis of cbfa-1, Osteocalcin, and VEGF Expression. *Journal of Oral Implantology.* 2007; 33(6): 321–326.
31. Lima LL, Gonçalves PF, Sallum EA, Casati MZ, Nociti Jr FH. Guided tissue regeneration may modulate gene expression in periodontal intrabony defects: a human study. *J Periodont Res* 2008; 43(4):459-64.
32. Harris R. J. Clinical Evaluation of a Composite Bone Graft With a Calcium Sulfate Barrier. *Journal of Periodontology.* 2004; 75(5): 685–692.
33. Anderud J, Jimbo R, Abrahamsson P, Isaksson S. G, Adolfsson E, Malmström J, et al. Guided bone augmentation using a ceramic space-maintaining device. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology.* 2014; 118(5): 532–538.
34. Li J, Man Y, Zuo Y, Zhang L, Huang C, Liu M, et al. In Vitro and In Vivo Evaluation of a nHA/PA66 Composite Membrane for Guided Bone Regeneration. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition.* 2011; 22(1-3): 263–275.

35. Sanz M, Dahlin C, Apatzidou D, Artzi Z, Bozic D, Calciolari E, et al. Biomaterials and regenerative technologies used in bone regeneration in the craniomaxillofacial region: Consensus report of group 2 of the 15th European Workshop on Periodontology on Bone Regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*. 2019; 46: 82–91.
36. Hong K. S, Kim E.-C, Bang S.-H, Chung C.-H, Lee Y. I, Hyun J. K, et al. Bone regeneration by bioactive hybrid membrane containing FGF2 within rat calvarium. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2010; 94(4):1187-94.
37. Pillai C. K. S, Paul W, Sharma C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science* 2009; 34(7): 641–678.
38. Ma S, Chen Z, Qiao F, Sun Y, Yang X, Deng X, et al. Guided bone regeneration with tripolyphosphate cross-linked asymmetric chitosan membrane. *Journal of Dentistry*. 2014; 42(12): 1603–1612.
39. Lee K. Y, Mooney, D. J. Alginate. Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*. 2012; 37(1): 106–126.
40. Sbricoli L, Guazzo R, Annunziata M, Gobbato L, Bressan E, Nastri L. Selection of Collagen Membranes for Bone Regeneration: A Literature Review. *Materials*. 2020; 13(3): 786.
41. Bunyaratevej P, Wang H-L. Collagen Membranes: A Review *J Periodontol* 2001; 72:215-229.
42. Schlegel A. K, Möhler H, Busch F, Mehl A. Preclinical and clinical studies of a collagen membrane (Bio-Gide®). *Biomaterials*. 1997; 18(7): 535–538.
43. Tal H, Moses O, Kozlovsky A, Nemcovsky C. Bioresorbable collagen membranes for guided bone regeneration. *Bone regeneration*. 1 ed. Rijeka: InTech; 2012. p. 111-139.
44. Sam, G. Evolution of Barrier Membranes in Periodontal Regeneration-“Are the third Generation Membranes really here?”. *J Clin Diagn Res*. 2014;8(12):ZE14-7.
45. Speer, D. P., Chvapil, M., Eskelson, C. D., & Ulreich, J. Biological effects of residual glutaraldehyde in glutaraldehyde-tanned collagen biomaterials. *Journal of Biomedical Materials Research*, (1980). 14(6), 753–764.
46. Bondioli, E., Fini, M., Veronesi, F., Giavaresi, G., Tschon, M., Cenacchi, G., Melandri, D. Development and evaluation of a decellularized membrane from human dermis. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, (2012). 8(4), 325–336.
47. Park, S.-H., Lee, K., Oh, T.-J., Misch, C. E., Shotwell, J., & Wang, H.-L. Effect of absorbable membranes on sandwich bone augmentation. *Clin Oral Implants Res*. 2008 Jan;19(1):32-41.

48. Piattelli M, Scarano A, Piattelli A. Histological evaluation of freeze-dried dura mater (FDDMA) used in guided bone regeneration (GBR): a time course study in man. *Biomaterials*. 1996; 17(24): 2319–2323.
49. Li W, Ma G, Brazile B, Li N, Dai W, Butler J. R, et al. Investigating the Potential of Amnion-Based Scaffolds as a Barrier Membrane for Guided Bone Regeneration. *Langmuir*. 2015; 31(31): 8642–8653.
50. Gupta S, Gupta R. Guided bone regeneration with Pericardium membranes. *Journal of Dental and Medical Sciences*. 2014; 13(11): 61-65.
51. Goissis G, de Fátima Giglioti A, Braile D. M. Preparation and Characterization of an Acellular Bovine Pericardium Intended for Manufacture of Valve Bioprostheses. *Artificial Organs*. 2011; 35(5): 484–489.
52. Guldner N. W, Bastian F, Weigel G, Zimmermann H, Maleika M, Scharfschwerdt M, et al. Nanocoating with titanium reduces iC3b- and granulocyte-activating immune response against glutaraldehyde-fixed bovine pericardium: A new technique to improve biologic heart valve prosthesis durability?. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2012; 143(5): 1152–1159.
53. Jimbo R, Marin C, Witek L, Suzuki M, Tovar N, Chesnoiu-Matei I, et al. Bone Morphometric Evaluation around Immediately Placed Implants Covered with Porcine-Derived Pericardium Membrane: An Experimental Study in Dogs. *International Journal of Biomaterials*. 2012; 2012:279167.
54. Thomaidis V1, Kazakos K, Lyras DN, Dimitrakopoulos I, Lazaridis N, Karakasis D, et al. Comparative study of 5 different membranes for guided bone regeneration of rabbit mandibular defects beyond critical size. *Med Sci Monit*. 2008; 14(4):BR67-73.
55. Nasoori A, Mohitmafi S, Khoshzaban A, Tavakoli S. A. H, Shahabi Z. Biochemical and biomechanical evaluation of human pericardial membrane and demineralized bone matrix in rabbit calvarial defects. *Comparative Clinical Pathology*. 2012; 22(2): 253–259.
56. Vidyadharan A.K, Ravindran A. Localized ridge defect augmentation using human pericardium membrane and demineralized bone matrix. *Indian J Dent Res*. 2014; 25(4):445-8.
57. Bottino M. C, Thomas V. Membranes for Periodontal Regeneration - A Materials Perspective. *Frontiers of Oral Biology*. 2015; 17:90-100.

58. Calciolari E, Ravanetti F, Strange A, Mardas N, Bozec L, Cacchioli A, et al. Degradation pattern of a porcine collagen membrane in an in vivo model of guided bone regeneration. *Journal of Periodontal Research*. 2018; 53(3): 430–439.
59. Zhang Y, Zhang X, Shi B, Miron RJ. Membranes for guided tissue and bone regeneration. *Oral and Maxillofacial Surgery* February 2013; 1(1):1-10.
60. Taguchi Y, Amizuka N, Nakadate M, Ohnishi H, Fujii N, Oda K, et al. A histological evaluation for guided bone regeneration induced by a collagenous membrane. *Biomaterials*, 2005; 26(31): 6158–6166.
61. Omar O, Elgali I, Dahlin C, Thomsen P. Barrier membranes: More than the barrier effect?. *J Clin Periodontol*. 2019;46, 21(21):103-123.
62. Schenk R.K, Buser D, Hardwick W.R, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: A histologic study in the canine mandible. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant*. 1994; 9(1):13-29.
63. Barbeck M, Lorenz J, Kubesch A, Bohm N, Booms P, Choukroun J, et al. Porcine dermis-derived collagen membranes induce implantation bed vascularization via multinucleated giant cells: A physiological reaction?. *J. Oral Implantol*. 2015; 41(6):e238-51.
64. Ghanaati S. In vivo Implantation of a Bovine-Derived Collagen Membrane Leads to Changes in the Physiological Cellular Pattern of Wound Healing by the Induction of Multinucleated Giant Cells: An Adverse Reaction? *Front. Bioeng. Biotechnol*. 2018; 6:104.
65. Trindade R, Albrektsson T, Tengvall P, Wennerberg A. Foreign Body Reaction to Biomaterials: On Mechanisms for Buildup and Breakdown of Osseointegration. *Clin. Implant Dent. Relat. Res*. 2016; 18(1):192-203.
66. Trindade R, Albrektsson T, Wennerberg A. Current concepts for the biological basis of dental implants: Foreign body equilibrium and osseointegration dynamics. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. N. Am*. 2015; 27(2):175-83.
67. Maruyama M, Rhee C, Utsunomiya T, Zhang N, Ueno M, Yao Z, Modulation of the Inflammatory Response and Bone Healing. *Front. Endocrinol*. 2020; 11:386.
68. Perić Kačarević Ž, Rider P, Alkildani S, Retnasingh S, Pejakić M, Schnettler R, et al. An introduction to bone tissue engineering. *Int. J. Artif. Organs* 2020; 43(2):69-86.
69. Miron R.J, Bosshardt D.D. Multinucleated Giant Cells: Good Guys or Bad Guys? *Tissue Eng. Part B Rev*. 2018; 24(1):53-65.

70. Ballini A, Boccaccio A, Saini R, Van Pham P, Tatullo M. Dental-Derived Stem Cells and Their Secretome and Interactions with Bioscaffolds/Biomaterials in Regenerative Medicine: From the In Vitro Research to Translational Applications. *Stem Cells Int.* 2017; 2017:6975251.
71. Spagnuolo G, Codispoti B, Marrelli M, Rengo C, Rengo S, Tatullo M. Commitment of Oral-Derived Stem Cells in Dental and Maxillofacial Applications. *Dent. J.* 2018; 6(4): 72.
72. Yamaza T, Kentaro A, Chen C, Liu Y, Shi Y, Gronthos S, et al. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Stem Cell Res Ther.* 2010;15;1(1):5.
73. Barbeck M, Booms P, Unger R, Hoffmann V, Sader R, Kirkpatrick C.J, et al. Multinucleated giant cells in the implant bed of bone substitutes are foreign body giant cells—New insights into the material-mediated healing process. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 2017; 105(4):1105-1111.
74. Delgado L.M, Bayon Y, Pandit A, Zeuglogi D. To cross-link or not to cross-link? Cross-linking associated foreign body response of collagen-based devices. *Tissue Eng Part B Rev.* 2015; 21(3):298-313.
75. Ghanaati S, Kirkpatrick C, Kubesch A, Lorenz J, Sader R, Udeabor S, et al. Induction of multinucleated giant cells in response to small sized bovine bone substitute (Bio-Oss TM) results in an enhanced early implantation bed vascularization. *Ann. Maxillofac. Surg.* 2014; 4(2): 150–157.
76. Wessing B, Urban I, Montero E, Zechner W, Hof M, Alánde Chamorro J, et al. A multicenter randomized controlled clinical trial using a new resorbable non-cross-linked collagen membrane for guided bone regeneration at dehiscenced single implant sites: interim results of a bone augmentation procedure. *Clinical Oral Implants Research.* 2016; 28(11):e218–e226.
77. Urban I, Wessing B, Alánde N, Meloni S, González-Martin O, Polizzi G, et al. A multicenter randomized controlled trial using a novel collagen membrane for guided bone regeneration at dehiscenced single implant sites: Outcome at prosthetic delivery and at 1-year follow-up. *Clin Oral Implants Res.* 2019;30(6):487-497.
78. Ahn Y.-S, Kim S.-G, Kim C.-S, Oh J.-S, Lim S.-C. Effect of guided bone regeneration with or without pericardium bioabsorbable membrane on bone formation. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology.* 2012;114(5): S126–S131.

79. Kapogianni E, Alkildani S, Radenkovic M, Xiong X, Krastev R, Stöwe I, et al. The Early Fragmentation of a Bovine Dermis-Derived Collagen Barrier Membrane Contributes to Transmembraneous Vascularization—A Possible Paradigm Shift for Guided Bone Regeneration. *Membranes* 2021; 11(3):185.
80. Meyer M. Processing of Collagen Based Biomaterials and the Resulting Materials Properties. *Biomed. Eng. Online* 2019; 18, 24.
81. Guarnieri R, DeVilliers P, Belleggia F. GBR Using Cross-Linked Collagen Membrane and a New Highly Purified Bovine Xenograft (Laddec) in Horizontal Ridge Augmentation: Case Report of Clinical and Histomorphometric Analysis. *Quintessence Int.* 2015; 46(8):717-24.
82. Moses O, Vitrial D, Aboodi G, Sculean A, Tal H, Kozlovsky A, et al. Biodegradation of Three Different Collagen Membranes in the Rat Calvarium: A Comparative Study. *J. Periodontol.* 2008; 79(5):905-11.
83. Abou Fadel R, Samarani R, Chakar C. Guided Bone Regeneration in Calvarial Critical Size Bony Defect Using a Double-Layer Resorbable Collagen Membrane Covering a Xenograft: A Histological and Histomorphometric Study in Rats. *Oral Maxillofac. Surg.* 2018; 22(2):203-213.
84. Mir-Mari J, Wui H, Jung R.E, Hammerle C.H.F, Benic G.I. Influence of Blinded Wound Closure on the Volume Stability of Different GBR Materials: An in Vitro Cone-Beam Computed Tomographic Examination. *Clin. Oral Implant. Res.* 2016, 27(2):258-65.
85. Mir-Mari J, Benic G.I, Valmaseda-Castellon E, Hammerle C.H.F, Jung R.E, Valmaseda-Castellón E, et al. Influence of Wound Closure on the Volume Stability of Particulate and Non-Particulate GBR Materials: An In Vitro Cone-Beam Computed Tomographic Examination. Part II. *Clin. Oral Implant Res.* 2017; 28(6):631-639.
86. Meloni S.M, Jovanovic S.A, Urban I, Canullo L, Pisano M, Tallarico. M. Horizontal Ridge Augmentation Using GBR with a Native Collagen Membrane and 1:1 Ratio of Particulated Xenograft and Autologous Bone: A 1-Year Prospective Clinical Study. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* 2017; 19(1):38-45.
87. De Freitas R. M, Susin C, Spin-Neto R, Marcantonio C, Wikesjo U. M, Pereira L. A, et al. Horizontal ridge augmentation of the atrophic anterior maxilla using rhBMP-2/ACS or autogenous bone grafts: A proof-of-concept randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology.* 2013; 40(10):968-75.
88. Lee S.-W, Kim S.-G. Membranes for the Guided Bone Regeneration. *Maxillofac. Plast. Reconstr. Surg.* 2014; 36(6): 239–246.



89. Masquelet A.C, Begue T. The Concept of Induced Membrane for Reconstruction of Long Bone Defects. *Orthop. Clin. N. Am.* 2010; 41(1):27-37.
90. 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 Implant. Res.* 2006; 17(4):403-9.
91. Ghanaati S, Schlee M, Webber M, Willershausen I, Barbeck M, Balic E, et al. Evaluation of the tissue reaction to a new bilayered collagen matrix in vivo and its translation to the clinic. *Biomed. Mater.* 2011; 6(1):015010.
92. Lee J, Byun H, Perikamana S.K.M, Lee S, Shin H. Current Advances in Immunomodulatory Biomaterials for Bone Regeneration. *Adv. Heal. Mater.* 2019; 8(4):e1801106.
93. Chia-Lai P-J, Orłowska, A, Al-Maawi S, Dias A, Zhang Y, Wang X, et al. Sugar-based collagen membrane cross-linking increases barrier capacity of membranes. *Clin. Oral Investig.* 2017; 22(4):1851–1863.
94. Radenković M, Alkildani S, Stoewe I, Bielenstein J, Sundag B. Comparative In Vivo Analysis of the Integration Behavior and Immune Response of Collagen-Based Dental Barrier Membranes for Guided Bone Regeneration (GBR). *Membranes (Basel)*. 2021; 11(9): 712.
95. Julier Z, Park A.J, Briquez P.S, Martino M.M. Promoting tissue regeneration by modulating the immune system. *Acta Biomater.* 2017; 53:13-28.

## **9. ŽIVOTOPIS**

Mirna Pavić rođena je 14.11.1990. u Tuzli, BiH. Završava opću gimnaziju Sveti Franjo i 2009. godine upisuje studij Dentalna medicina na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci. Diplomirala je 2014. godine s diplomskim radom „Kirurški postupak-Dentalna implantologija“. Godine 2017. upisuje poslijediplomski specijalistički studij Dentalna implantologija na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Bavi se polivalentnom stomatologijom, a od 2019. radi u privatnoj poliklinici Rident na odjelu za oralnu kirurgiju.