Histologische Untersuchungen von Bone-Morphogenetic-Protein-2-beschichteten Titanimplantaten im Mittelohr des Kaninchens

Andreas Neumann¹, Maria Chatzinikolaïdou², Claus Unkel¹, Simon Bast¹, Herbert P. Jennissen², Klaus Jahnke¹

¹ Hals-Nasen-Ohren-Klinik, Universität Duisburg-Essen

² Institut für Physiologische Chemie, Universität Duisburg-Essen

Einleitung

Knochenmorphogenetische Proteine (BMP = Bone Morphogenetic Protein) gehören zur Proteinfamilie der Tissue Growth Factors (TGF). Von den über 15 bekannten BMP's zeigen nur die Unterformen BMP-2 und -7 osteoinduktive Potenz. BMP-2, das wichtigste der knochen-morphogenetischen Proteine, führt zur Vermehrung, Differenzierung und Anlockung von Präosteoblasten und Osteoblasten. Eine grundlegende Neuerung in der Herstellung von Titanimplantaten stellt die Biologisierung der Implantatoberflächen mit rekombinantem humanen (rh)BMP-2 nach Hydrophilisierung mit Chromschwefelsäure dar. Herausragende Eigenschaften solcher Oberflächen sind die im Tierversuch belegte ausgezeichnete Biokompatibilität und die Beschleunigung des spongiösen Knochenwachstums sowie deutliche Hinweise für eine Verbesserung der Osseointegration [4,5].

Klinische Anwendungen von BMP in der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde gibt es derzeit bis auf Einzelfälle nicht. Hinweise für die Bedeutung osteoinduktiver Substanzen in der Pathologie des Cholesteatoms ergaben sich durch Arbeiten von Heumann und Schmidt [1]. Diese Pilotstudie soll überprüfen, ob BMP im allgemeinen und gebunden („immobilisiert“) auf Titanoberflächen im speziellen osteoinduktive Wirkung im Geflechtknochen des Felsenbeins zeigt.

Material und Methoden

Hantelförmige Titanimplantate (hergestellt durch Heinz Kurz GmbH, D-Dusslingen, Ti-6Al-4V, medical grade IV, Abb.1) wurden oberflächenmodifiziert (s. [2,3]). Auf 1/3 der Implantate wurde rhBMP-2 immobilisiert. 18 Kaninchen (New Zealand, CHbb:CH) wurde nach Entfernen von Hammer und Amboss in beide Bullae tympanicae je ein Titanimplantat eingesetzt. Zuvor wurde die knöcherne Begrenzung der Bulla angeraut. Dabei wurde in drei Gruppen à 6 Tieren jeweils rechts / links verglichen:

	Linkes Ohr, Implantat:	rechtes Ohr, Implantat:
Gruppe 1	ohne rhBMP-2	immobilisiertes rhBMP-2
Gruppe 2	ohne rhBMP-2	lösliches rhBMP-2
Gruppe 3	lösliches rhBMP-2	immobilisiertes rhBMP-2

Die histologische Aufarbeitung erfolgte nach 6 und 12 Wochen durch Einbettung in Technovit und Dünnschlifftechnik, Färbung mit Toluidin / Fuchsin. Vorhandensein und Ausmaß der Knochenneubildung in dem von der Hantel ausgesparten Spalt (Abb. 2) wurden anhand der histologischen Schnitte und Mikroradiographien mit Hilfe digitaler Bildanalyse evaluiert.

Abb. 1:
Hantelförmiges Titanimplantat.

Abb. 2:
Spaltüberbrückungsversuch: Das hantelförmige Implantat spart einen Spalt (orange) im knöchernen Lager aus. Zugabe von oder Beschichtungen mit Wachstumsfaktoren geben über die histologische Querschnittsbeobachtung von neu gebildetem Knochen in dem Spalt im Vergleich zu Kontrollimplantaten Information über die osteoinduktive Potenz der Stoffe.

Abb. 3:
Lage der Implantate in den Mittelohren des Kaninchens.

Abb. 4 a
Kontrolle ohne rhBMP-2 (li. Ohr):
Detritus im Spalt.

Abb. 4 b
rhBMP-2 beschichtetes Implantat (re. Ohr):
Knochenneubildung im Spalt.

Abb. 4 c
Kontrolle ohne rhBMP-2 (li. Ohr):
Keine Knochenbildung im Spalt.

Abb. 4 d
Zusatz von löslichem rhBMP-2 (re. Ohr):
Knochenneubildung im Spalt.

Abb. 4 e
Zusatz von löslichem rhBMP-2 (li. Ohr):
Knochenneubildung im Spalt.

Abb. 4 f
rhBMP-2 beschichtetes Implantat (re. Ohr):
Knochenneubildung im Spalt.

Abb. 5
Mikroradiographien der Präparate:
a) Kontrolle ohne BMP (li. Ohr), keine Knochenneubildung.
b) rhBMP-2 beschichtetes Implantat (re. Ohr): Knochenneubildung im Spalt.

Ergebnisse

Der Versuch wurde von allen Tieren toleriert. Die richtige Lage der Implantate wurde röntgenologisch verifiziert (Abb. 3). Bei Entnahme zeigten sich keine entzündlichen Lokalreaktionen. Im Gegensatz zu den Kontrollimplantaten ohne rhBMP-2 fand sich in dem von der Titanhantel ausgesparten Spalt neu gebildeter Knochen sowohl bei immobilisiertem als auch bei Zugabe von löslichem rhBMP-2 (Abb. 4). Das Ausmaß der Knochenneubildung zum Vergleich immobilisiertes versus lösliches rhBMP-2 ist Gegenstand derzeitiger morphometrischer Untersuchungen unter Berücksichtigung der Mikroradiographien (Abb. 5). Eine vollständige knöcherne Obliteration der Pauke nach Zugabe von löslichem rhBMP-2 war nicht zu beobachten.

Diskussion

Die vorliegende Untersuchung zeigt erstmals im Spaltüberbrückungsversuch, dass rhBMP-2 die Knochenneubildung auch im Geflechtknochen des Felsenbeins anregt. Dank der kovalenten Bindung des rhBMP-2 an die Implantatoberfläche kann die osteoinduktive Wirkung lokal begrenzt und ektopische Knochenbildung vermieden werden. Solche Beschichtungen auf Mittelohr-Implantaten können möglicherweise dazu beitragen, eine Knochenneubildung in Implantatnähe anzuregen und somit zu einer festeren Verbindung zwischen Titanimplantat und knöchernem Lager zu führen.

Literatur

- Heumann H, Schmidt KH. Osteoinductive substances in middle ear surgery. *Am J Otol* 1995;16:226-30.
- Jennissen HP, Zumbink T, Chatzinikolaïdou M, et al. Biocoating of implants with mediator molecules. Surface enhancement of metals by treatment with chromosulfonic acid. *Materialwiss Werkstofftech* 1999;30:838-45.
- Jennissen HP, Chatzinikolaïdou M, Rumpf HM, et al. Modification of metal surfaces and biocoating of implants with bone morphogenetic protein 2 (BMP-2). *DVM-Bericht* 2000;313,127-140 (DVM, Berlin ISSN 1615-2298).
- Lichtinger TK, Müller RT, Schürmann N, et al. Osseointegration of titanium implants by addition of recombinant bone morphogenetic protein 2 (rhBMP-2). *Materialwiss Werkstofftech* 2001;32:937-41.
- Voggenreiter R, Hartl K, Assenmacher S, et al. Assessment of the biological activity of chemically immobilized rhBMP-2 on titanium surfaces in vivo. *Materialwiss Werkstofftech* 2001;32:942-8.

Dr. Andreas Neumann
Universitäts-Hals-Nasen-Ohrenklinik
Hufelandstr. 55
D-45122 Essen
Tel.: +49 2017232481 Fax: +49 2017235903
e-mail: andreas.neumann@uni-essen.de