Rekonstruktion knöcherner Defekte durch Applikation von Bioglass mit BMP-4

Amm S, Schön I, Markwart R, Berghaus A*, Bloching MB

Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
* Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie, Ludwig-Maximilians-Universität München

Einleitung

Bone Morphogenetic Proteins (BMP) haben die einzigartige Fähigkeit, die Differenzierung mesenchymaler Zellen in chondrogene und osteogene Zelllinien zu verändern. BMP führt so in vivo zu ektopter Knochenbildung (Lacroix 1945, Urist 1965). Diese Eigenschaft kann man sich bei der Rekonstruktion größerer knöcherner Defekte zu Nutze machen. BMP wird experimentell in der Traumatologie, Neurochirurgie und Maxillofazialen Chirurgie erprobt und zeigt zum Teil sehr gute osteoregenerative Eigenschaften. Das Problem der optimalen Applikationsform für das Zytokin in den Defekt konnte jedoch noch nicht gelöst werden. Da nicht selten in der Kopf-Hals-Chirurgie zur Defektrekonstruktion der Einsatz alloplastischer Materialien erforderlich ist, bietet sich zunächst die Kombination von BMP mit einem Knochenersatzstoff als Carrier an. Ein bereits etabliertes Knochenersatzmaterial ist Bioglass, mit dem knöcherne Defekte primär gedeckt werden können und dem selbst osteokonduktive Eigenschaften zugeschrieben werden.

Ziel

Ziel dieser tierexperimentellen Studie ist es, den Einsatz des Bioglasses NovaBone-C/M® als Carrier für Bone Morphogenetic Protein-4 (BMP-4) zu testen - kann durch den einfachen Zusatz von BMP zum Bioglass-Feingranulat eine bessere Stimulierung der Osteoregeneration erreicht werden?

Material und Methode

Das von uns verwendete Bioglass NovaBone-C/M® besteht aus 45% SiO₂, 24,5% Na₂O, 24,5% CaO und 6% P₂O₅ und ist ein Granulat mit einer Partikelgröße zwischen 90 und 710 µm. Es wurden an 24 Meerschweinchen (8 Meerschweinchen in je 3 Zeitgruppen) Defekte in verschiedenen Lokalisationen im Bereich der Kalotte und der Bulla mit NovaBone-C/M® auf der einen Seite und NovaBone-C/M® mit Zusatz von 100µg BMP-4 rekonstruiert. Die Defekte wurden in Form von Bohrlöchern von 5 mm Durchmesser gesetzt. (Abb.1)

Nach Ablauf von 4, 8 und 12 Wochen erfolgte nach Tötung der Tiere und Explantation der betreffenden Areale die histologische Beurteilung der Knochenneubildung in der HE- und Goldner-Färbung (Abb.2). Die Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch mit Hilfe des Programmes ANALYSIS.

Abb.1a: Bioglass-Feingranulat

Abb.1b: Meerschweinchenschädel mit Defektlokalisation

HE-Färbung

Goldner-Färbung

Abb.2a: Kalotte, Bioglass allein, 4-Wochen-Tier: neue Knochenformation (roter Pfeil) nur im Randbereich (blauer Pfeil)

HE-Färbung

Goldner-Färbung

Abb.2b: Kalotte, Bioglass plus BMP-4, 4-Wochen-Tier: neue Knochenformation (roter Pfeil) mitten im Defektareal

Ergebnisse

Kalotte:

Im Bereich der Kalottendefekte zeigte sich nach 4 Wochen bei Rekonstruktion mit Bioglass und BMP-Zusatz eine durchschnittliche verknöcherte Fläche je Defektareal von 21,09 % versus einer durchschnittlichen Knochenneubildung von 12,65% bei Defektaufüllung nur mit Bioglass ohne BMP (p=0,057). Nach 8 Wochen konnte mit BMP-Zusatz im Durchschnitt eine Verknöcherung von 32,93% histologisch dargestellt werden, während ohne BMP nur eine Ossifikation von 17,71% erzielt wurde (p=0,077). So kann man, wenn auch nicht statistisch signifikant, so doch tendenziell von einer gesteigerten Knochenneubildung durch die bloße Zugabe von BMP zum Bioglass-Feingranulat in den beiden ersten Zeitgruppen ausgehen. Nach 12 Wochen jedoch gleichen sich die beiden Studienarme einander an. Es verknöcherte mit BMP eine Fläche von durchschnittlich 68,11% und ohne BMP eine Fläche von durchschnittlich 68,67% (p=0,962). (Abb.3)

Bulla:

Die Ossifikation der Bulla als primär pneumatisiertem Raum fiel insgesamt über alle Zeitgruppen und beide Studienarme erwartungsgemäß schlechter aus als im Bereich der Kalotte.

Innerhalb der 4- und 8-Wochen-Gruppen zeigte sich kein Unterschied hinsichtlich der Ossifikation mit und ohne BMP-Zugabe. Nach 4 Wochen verknöcherten durchschnittlich 6,42% des Areals ohne BMP und 9,61% der Fläche mit Zugabe von BMP (p=0,214). Nach 8 Wochen waren ohne BMP 25,55% der Bulla ossifiziert und mit BMP-Zusatz 29,35% (p=0,765).

Bei der 12-Wochen-Gruppe jedoch ergab sich eine signifikant bessere Ossifikation auf den mit BMP gefüllten Seiten (52,84% ohne BMP vs. 75,38% mit BMP). (Abb.4)

Abb.3: Verknöcherung der Kalotte ohne BMP-Zusatz (blau) und mit BMP-Zusatz (rot)

Abb.4: Verknöcherung der Bulla ohne BMP-Zusatz (blau) und mit BMP-Zusatz (rot)

Diskussion

Wenn auch nicht signifikant, so doch mit einer deutlichen Tendenz verbessert in unseren Untersuchungen der Zusatz von BMP-4 zum Bioglass-Granulat, welches hier als Knochenersatz und Carrier dient, die Re-Ossifikation von Defekten im Bereich der Kalotte vor allem in den frühen Phasen der Knochenheilung. Nach einer längeren Sitzzeit der Tiere hat sich die Knochenneubildung mit und ohne BMP einander angeglichen. Bei der Verknöcherung der Bulla zeigt sich ein gegenteiliges Phänomen – nach initial gleicher Knochenbildung in den ersten 8 Wochen zeigt sich nach längerer Versuchsdauer von 12 Wochen bei den Tieren eine signifikant bessere Ossifikation unter BMP-Zugabe. Bei der Bulla, einem schleimhautausgekleideten pneumatisierten Raum des Meerschweinchen-Felsenbeines, handelt es sich um ein häufig bereits im Vorfeld chronisch entzündlich verändertes Implantatlager. So ist die initial deutlich schlechtere Verknöcherung gegenüber den Kalottendefekten zum einen mit der anfänglichen Entzündungsreaktion erklärbar, zum anderen handelt es sich hier im weiteren Sinne um die Induktion ektopter Knochenbildung.

Die von uns verwendete BMP-4-Konzentration ist im Vergleich zur Literatur als eher niedrig anzusehen. Es ist daher zu überlegen, ob nicht mit höheren BMP-Konzentrationen eine signifikante Verbesserung der Ossifikation erreicht werden könnte.

Die ebenfalls im Tierexperiment erfolgreich getestete Gentherapie mit z.B. adenoviralen BMP-Vektoren halten wir nicht für zwangsläufig erforderlich, wenn bereits wie hier mit wenig Aufwand im klinisch-praktischen Alltag und bei großer Sicherheit für den Patienten eine einfache Applikation an den Wirkort, wie z.B. durch die bloße Zugabe zu einem Bioglassgranulat, möglich ist.

Literatur

- Wozney JM. Overview of Bone Morphogenetic Proteins. Spine 2002;27:52-58
Bo-Han, Perelman NJ, Tang B. Collagen-targeted BMP-3 fusion proteins arrayed on collagen matrices or porous ceramics impregnated with Type I collagen enhance osteogenesis in a rat cranial defect model. J Orthop Research 2002;20:747-755
Urist MR. Bone: Formation by autoinduction. Science 1965;150:893-899
Schliephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. Int J Oral Maxillofac Surg 2002;31(5):469-484