

Evaluation von formbaren, in situ aushärtenden Knochenersatzmaterialien im Tiermodell

Autor: Dr. Michael Köhli, Director Clinical Affairs, Degradable Solutions AG //

Seit mehr als 20 Jahren kommen poröse Calciumphosphate als Knochenersatzmaterialien für orthopädische und dentale Anwendungen zum Einsatz. Das Resorptionsverhalten dieser

Bei der Entwicklung der easy-graft® Materialien wurden die als Knochenersatzmaterial bereits etablierten mikroporösen Calciumphosphat-Granulate mit einem Mikrometer dünnen Film aus Poly(lactid-co-glycolid) (PLGA) beschichtet, um die Handhabung zu verbessern. Nach Anmischen mit einer flüssigen Komponente haften die Granulate aufgrund der Beschichtung aneinander und bilden eine formbare Masse. Im Knochendefekt, in Kontakt mit Blut, härtet das Material aus und bildet ein poröses Gerüst aus verbundenen Granulaten. Neben der einfachen und sauberen Anwendung hat dies den Vorteil, dass bei geeigneter Defektform keine Membran zur Fixierung des Knochenersatzmaterials benötigt wird.

Unter der Leitung von Priv.-Doz. Dr. Patrick Schmidlin an der Universität Zürich wurden die formbaren easy-graft® Knochenersatzmaterialien mit einem Hydroxylapatit bovines Ursprungs im Tiermodell verglichen. Die Resultate wurden im November 2011 in der *Clinical Oral Implants Research* veröffentlicht.

Im Versuch wurden die Knochenersatzmaterialien easy-graft®CLASSIC (ein beschichtetes β -TCP, abgekürzt „TCP“), easy-graft®CRYSTAL (ein beschichtetes biphasisches Calciumphosphat, abgekürzt „BCP“), Bio-Oss® (ein Hydroxylapatit boviner Herkunft, abgekürzt „DBBM“ [Deproteinized bovine bone matrix]) in einem Schädeldachmodell im Kaninchen eingesetzt und mit einer Leerkontrolle verglichen. Bei jedem der zwölf Tiere wur-

den je vier Defekte von 6 mm Durchmesser gesetzt. Dies ermöglichte einen direkten Vergleich der drei Materialien in jedem einzelnen Tier, wodurch die statistische Aussagekraft erhöht und die Anzahl Versuchstiere verringert werden konnte. Die Defekte wurden mit einem Trepanbohrer durchgehend bis auf die Dura mater präpariert. Die Knochenersatzmaterialien wurden bis auf Knochenniveau eingebracht und der Schädelkontur nachmodelliert. Es wurde keine Membran gelegt (Abb. 1).

Die Heilung verlief in allen Fällen komplikationsfrei. Nach vier Wochen wurde bei sechs Tieren das Gewebe an den Implantationsstellen histologisch analysiert. Alle Knochenersatzmaterialien waren biokompatibel. Es gab keine Anzeichen von Entzündungen oder Abstoßungsreaktionen, und neu gebildeter Knochen befand sich in engem Kontakt mit den Knochenersatzmaterialien ohne einen signifikanten Unterschied zwischen TCP, BCP und DBBM. Schon nach vier Wochen waren die runden easy-graft® Granulate mit Zellen durchsetzt, was auf einen weitgehenden Abbau der PLGA-Beschichtung zu diesem Zeitpunkt schließen lässt (Abb. 2). Die Knochenneubildung wurde anhand der absoluten Menge des im Bohrdefekt vorhandenen Knochens bewertet. Am meisten neu gebildeter Knochen wurde nach vier Wochen mit BCP (96 ± 23 bone points) beobachtet, gefolgt von TCP (60 ± 27 bone points, $n = 6$), DBBM (49 ± 25 bone points, $n = 6$) und der Leerkontrolle (28 ± 26 bone

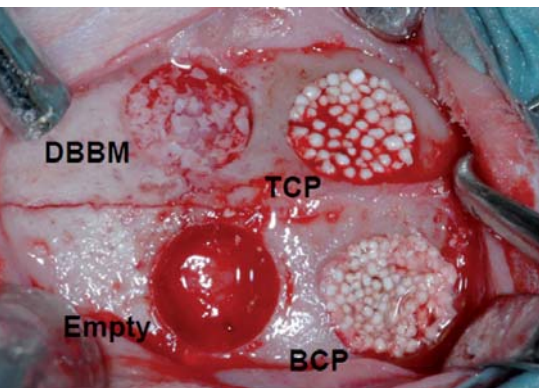


Abb. 1: Einbringen von easy-graft®CLASSIC (TCP), easy-graft®CRYSTAL (BCP) und Bio-Oss® (DBBM) in die Modelldefekte in der Schädelkalotte. „Empty“ bezeichnet den Leerdefekt.

etablierten Knochenersatzmaterialien ist im Detail erforscht und hängt vorwiegend vom Calcium/Phosphat-Verhältnis ab. β -Tricalciumphosphat (β -TCP) wird innerhalb mehrerer Monate resorbiert und durch körpereigenes Gewebe ersetzt. Durch das Zusetzen von Hydroxylapatit (HA) kann die Resorptionsrate verringert werden. Solche Calciumphosphat-Verbunde aus HA und β -TCP werden unter dem Begriff „biphasisches Calciumphosphat“ (BCP) zusammengefasst, wobei für die Mehrzahl der Produkte am Markt ein Verhältnis von 60% HA und 40% β -TCP verwendet wird.

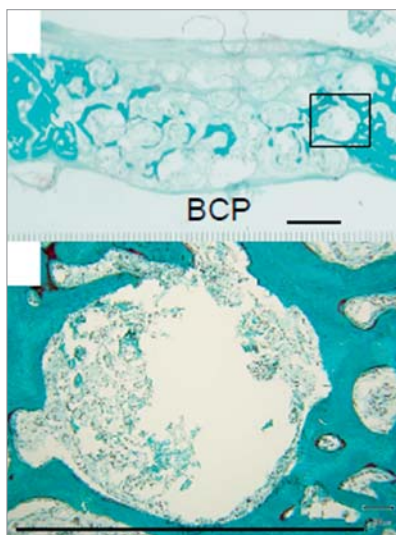


Abb. 2: Mit BCP befüllter Defekt nach vier Wochen (Dünnschnitt, Masson-Goldner-Färbung). Knochen erscheint türkisfarben. Innerhalb der runden Granulate sind Zellen und Gewebe erkennbar, was auf einen weitgehenden Abbau der PLGA-Beschichtung nach vier Wochen hinweist. Balken = 1 mm.

points, n = 6). Die Unterschiede BCP/Leerkontrolle und TCP/Leerkontrolle waren statistisch signifikant, in den ersten vier Wochen wurde in den Defekten mit den easy-graft® Knochenersatzmaterialien mehr neuer Knochen gebildet als in der Leerkontrolle. Die verbleibenden sechs Tiere wurden nach 16 Wochen analysiert. Auch zu diesem Zeitpunkt wurde in den mit BCP behandelten Defekten am meisten Knochen beobachtet (178 ± 71 bone points, n = 6), gefolgt von TCP (140 ± 79 bone points, n = 6), der Leerkontrolle (135 ± 88 bone points, n = 6) und DBBM (110 ± 28 bone points, n = 6). Die Unterschiede bezüglich Knochenneubildung zwischen den Knochenersatzmaterialien und der Leerkontrolle waren zu diesem Zeitpunkt nicht signifikant.

Wie erwartet fand die Knochenregeneration von den Defekträndern ausgehend Richtung Defektmittte statt. Der Verschlussgrad mit Knochen („Bridging“) wurde in der Studie als Maß für die Osteokonduktivität der Materialien herangezogen. Das BCP-Material zeigte die höchste Verschlussrate ($93 \pm 15\%$), gefolgt vom Leerdefekt ($91 \pm 14\%$), DBBM ($81 \pm 25\%$) und TCP ($71 \pm 16\%$). Die Unterschiede waren nicht signifikant, aber eine Tendenz einer überlegenen zentripetalen Knochenbildung mit BCP gegenüber TCP war zu erkennen. Die 6mm Bohrdefekte sind sub-

kritisch, der effiziente Defektverschluss im Leerdefekt war nicht überraschend. Bei der Leerkontrolle kam es jedoch zu einem signifikanten vertikalen Verlust, während das vertikale Hartgewebvolumen in den mit Knochenersatzmaterial befüllten Defekten dem umliegenden Schädelknochen entsprach.

In der Tierstudie wurde weder für BCP noch für DBBM ein Abbau der Granulate beobachtet. Beide Materialien verblieben scheinbar unverändert integriert im Knochen. BCP besteht aus einem Verbund aus 40% β -TCP und 60% HA, jedes einzelne Granulat Korn ist aus beiden Materialien zusammengesetzt. Durch den Abbau des β -TCP Anteils erhöht sich allenfalls die Mikroporosität des BCP-Knochenersatzmaterials, der Hydroxylapatit-Anteil verbleibt in der ursprünglichen, runden Granulatform und wird im sich neu bildenden Knochen integriert. Selbst im Falle eines vollständigen Abbaus des β -TCP Anteils auf der Mikroebene würde daher histologisch ein in Knochen integriertes Granulat ohne makroskopische Degradationszeichen erwartet. Basierend auf den Daten des vorliegenden Experiments und der publizierten Literatur zu biphasischem Calciumphosphat und DBBM schlagen die Autoren der Studie vor, dass sich das BCP-Material sehr langsam oder, in Analogie zu DBBM, gar nicht abbaut. Ein Abbau war eindeutig für das TCP-Material. Die vormals kugelförmigen Granulate erschienen nach 16 Wochen unregelmäßig erodiert (Abb. 3).

// Schlussfolgerung

Die Autoren der Studie folgern, dass alle drei getesteten Knochenersatzmaterialien biokompatibel sind. Die formbaren, in situ aushärtenden easy-graft® Materialien sind sicher, die Resultate sind vergleichbar zum Kontrollmaterial. Nach vier Wochen wurde mit den easy-graft® Materialien signifikant mehr Knochen beobachtet als im Leerdefekt. Die Hydroxylapatit-basierenden Materialien (DBBM und BCP) zeigten keine Anzeichen eines Abbaus, während TCP nach 16 Wochen bereits teilweise resorbiert worden ist. Der Verschlussgrad der Defekte war mit BCP (easy-graft® CRYSTAL) höher als mit TCP (easy-graft® CLASSIC), was als erhöhte Osteokonduktivität von BCP im getesteten Tiermodell interpretiert werden kann.

Die Erstveröffentlichung erfolgte in Clin Oral Implants Res 2011: Schmidlin PR, Nicholls F, Kruse A, Zwahlen RA and Weber FE. Evaluation of moldable, in situ hardening calcium phosphate bone graft substitutes. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22092691>)

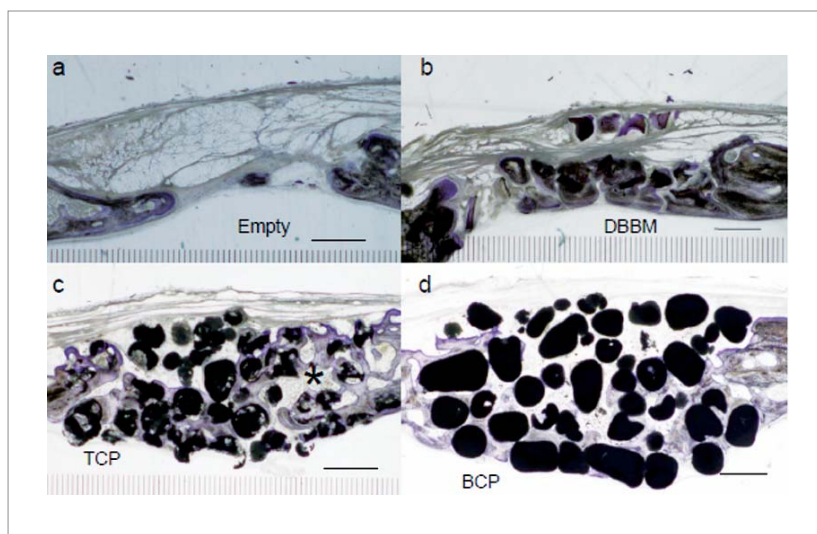


Abb. 3: Nach 16 Wochen (Dünnschliff, Toluidinblau-Färbung). Knochen erscheint gräulich bis lila. Balken = 1 mm.