

Verbessert eine Heparinbeschichtung die Biokompatibilität von Poly(D,L)Laktid?

Heidemann W.¹, Gerlach K.L.¹, Fischer J.H.², Jeschkeit S.², Ruffieux K.³, Wagner M.⁴, Jung H.⁴, Wintermantel E.³, Krüger, G.⁴

¹Universitätsklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie Hs.19, Leipziger Str.44, 39120 Magdeburg(Deutschland)

²Institut für Experimentelle Medizin, Universität zu Köln (Deutschland)

³Professur für Biokompatible Werkstoffe und Bauweisen der ETH Zürich (Schweiz)

⁴Institut für Pathologie, Universität zu Köln (Deutschland)

EINLEITUNG

Polylaktide werden seit mehr als 2 Jahrzehnten allein oder in Verbindung mit anderen Polymeren, insbesondere Polyglykoliden, zur Entwicklung resorbierbarer Osteosynthesematerialien in Tierversuchsreihen und klinischen Studien getestet [1,2,3,4,5,6]. Bisher wurde aber noch kein Material gefunden, das die Anforderungen der initial ausreichenden Stabilität bis zur Belastbarkeit im Frakturbereich und der anschließenden Resorption ohne Fremdkörperreaktionen erfüllt [7].

Die vollständige Resorption von Implantaten aus amorphem, spritzgegossenem Poly(D,L)Laktid (PDLLA) nach 56 Wochen mit Beibehaltung von 80% der Ausgangsfestigkeit über 8 Wochen konnte in einer in-vivo Studie nachgewiesen werden [8]. Auffällig war aber die bindegewebige Einscheidung der Implantate, die eine verzögerte Resorption und damit möglicherweise entzündliche Spätreaktionen verursachen könnte. In dieser Studie wurde untersucht, ob eine Beschichtung der Oberfläche des PDLLA mit Heparin zu einer Verminderung der Kapselbildung um die Implantate und somit zu einer Verbesserung der Biokompatibilität beitragen kann.

MATERIAL UND METHODEN

50 spritzgegossene Stäbchen (20 x 3 x 2mm) und 50 Würfel (2 x 3 x 3mm) aus reinem Poly(D,L)laktid (PDLLA, R207) mit einem mittleren Molekulargewicht von 95.000 g/mol wurden nach der von Seifert et. al.[9] angegebenen Methode bei Raumtemperatur zwei Stunden in einer 1:1 Mischung (pH 5,2) aus 12 prozentiger Heparinlösung und 6 prozentiger Glutaraldehydlösung aufbewahrt. Pro Implantat wurden 40mg Heparin verbraucht, die Anlagerung des Heparins an der Oberfläche wurde mit einer Toluidin-Blaufärbung nachgewiesen. Die Sterilisation der Proben erfolgte durch γ -Bestrahlung mit einer Dosis von 20kGY. In Äther/O₂-Narkose wurden unter sterilen Bedingungen je ein Stäbchen und ein Würfel aus heparinbeschichtetem PDLLA und als Kontrollgruppe je ein Stäbchen und ein Würfel aus spritzgegossenem PDLLA ohne Beschichtung in Längsrichtung in die paraspinale Rückenmuskulatur von 50 männlichen Wistar-Ratten implantiert.

2,4,6,8,12,16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44 und 52 Wochen nach Implantation wurden von je 3 nach Zufallskriterien ausgewählten Ratten die Stäbchen für werkstoffkundliche Tests und die Würfel mit dem umgebenden Gewebe für histologische Untersuchungen entnommen. Bei der Auswertung der histologischen Schnitte wurde halbquantitativ (0 = keine; 1 = geringe; 2 = mäßige; 3 = deutliche; 4 = starke zelluläre Reaktion) die Zahl der Makrophagen, Fremdkörperriesenzellen und Lymphozyten und die Ausprägung der periimplantären Bindegewebsbildung ermittelt.

ERGEBNISSE

Alle Implantate heilten reizlos ein; lediglich bei einem Tier mit multiplen entzündlichen Gelenkveränderungen traten Abszesse an den Implantationsorten der PDLLA- und heparinbeschichteten PDLLA-Proben auf. Die Länge der PDLLA-Stäbchen blieb unabhängig von der Oberflächenbeschichtung bis zur 12. Woche konstant und nahm dann kontinuierlich ab; die Degradation verlief von der 20. bis zur 32. Woche bei den heparinbeschichteten Proben schneller, in der Folgezeit langsamer als der Abbau der unbeschichteten PDLLA-Proben (Abb.1).

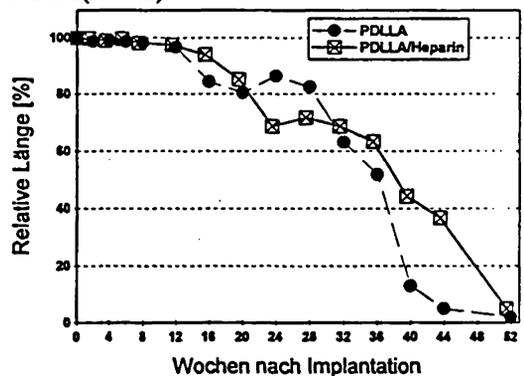


Abb.1 Längenabnahme der implantierten Stäbchen (Mittelwert der Messungen von jeweils 3 Proben)

Die Messungen des Implantatgewichts bestätigen diese Beobachtung, auch hier waren bis zur 12. Woche nach Implantation keine Veränderungen feststellbar; danach stieg das Gewicht der unbeschichteten PDLLA-Proben durch Wasseraufnahme bis zur 20. Woche auf 158,1% des Ausgangsgewichts an und nahm anschließend bis zum Ende der Beobachtungszeit ab. Bei den

heparinbeschichteten Implantaten war durch eine geringere Wasseraufnahme eine langsame Gewichtszunahme bis auf 123,6% des Ausgangsgewichts in der 28. Woche meßbar, anschließend nahm das Gewicht kontinuierlich ab (Abb. 2).

Die Biegefestigkeit betrug nach 8 Wochen noch etwa 80% der Ausgangsfestigkeit und fiel danach schnell ab.

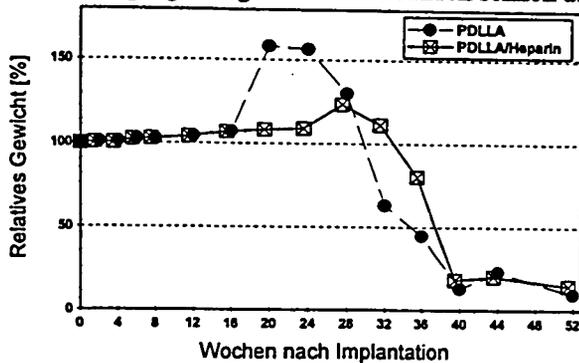


Abb. 2 Änderung des Implantatgewichts (Mittelwert der Messungen von jeweils 3 Proben)

Ein signifikanter Unterschied in der periimplantären Bindegewebsbildung bestand zwischen den unbeschichteten und heparinbeschichteten Implantaten nicht; insgesamt war eine geringe bis mittlere Bindegewebsbildung in beiden Gruppen erkennbar (Abb. 3).

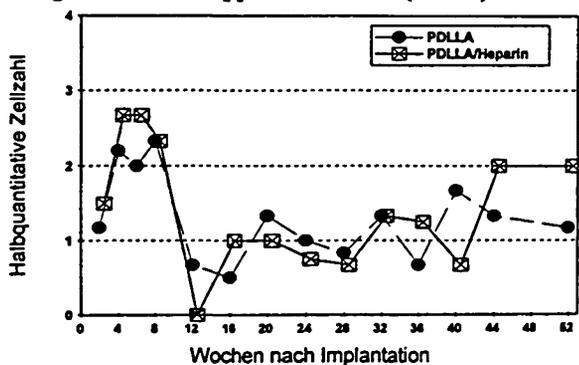


Abb. 3 Bindegewebsbildung in der Umgebung der Implantate

Makroskopisch waren keine Entzündungsreaktionen in der Umgebung der unbeschichteten und beschichteten Implantaten sichtbar. Bei den histologischen Untersuchungen lag die Zahl der Makrophagen in beiden Gruppen zwischen den Graden 1 und 4 (geringe bis starke zelluläre Reaktion), die Zahl der Fremdkörperriesenzellen und Lymphozyten zwischen den Graden 0 und 3 (keine bis deutliche zelluläre Reaktion). Die Zahl der Lymphozyten war zwischen der 16. und 40. Woche nach Implantation in der Umgebung der heparinbeschichteten PDLLA-Proben im Vergleich zu den unbeschichteten PDLLA-Proben verringert (Abb. 4).

DISKUSSION

Die Implantate heilten komplikationslos ein und wurden innerhalb eines Jahres bis auf kleine, nicht kristalline Reste vollständig abgebaut. Der Abbau der heparinbeschichteten Implantate verlief im Endstadium

der Degradation langsamer als der Abbau der unbeschichteten PDLLA-Proben, wie die Messungen der Längen- und Gewichtsänderung der Stäbchen zeigten.

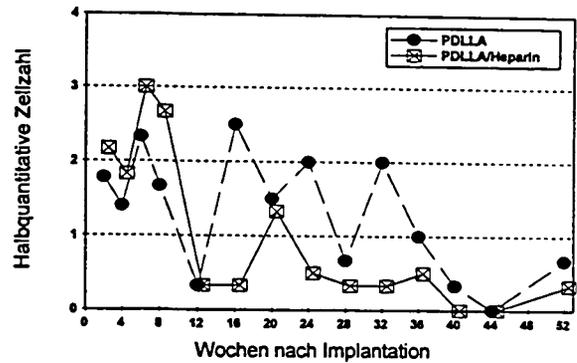


Abb. 4 Halbquantitative Lymphozytenzahl im periimplantären Gewebe

Die entzündliche Gewebereaktion unterschied sich in beiden Gruppen nicht signifikant, bei den heparinbeschichteten Proben fiel eine geringere Lymphozytenansammlung zwischen der 16. und 40. Woche im periimplantären Gewebe auf. Eine Verringerung der bindegewebigen Einscheidung der PDLLA-Proben durch die Heparinbeschichtung war nicht erkennbar.

Während Seifert et al. (1995) eine Verbesserung der Hämokompatibilität von PDLLA-Katheterspitzen durch eine Heparinbeschichtung sahen, konnte in dieser Studie ein günstiger Einfluß der Heparinbeschichtung auf die Histokompatibilität von PDLLA-Implantaten nicht nachgewiesen werden.

LITERATUR

- [1] Getter, L.; Cutright, D.E.; Bhaskar, S.N.; Augsburg, J.K. *J Oral Surgery* 30: 344-348 (1972)
- [2] Bos, R.R.M.: Poly(L-lactide) Osteosynthesis - development of bioresorbable bone plates and screws. Thesis, Groningen 1989
- [3] Suuronen, R.; Pohjonen, T.; Vasenius, J.; Vainionpää, S. *J Oral Maxillofac Surg* 50: 255-262 (1992)
- [4] Gerlach, K.L.; *Clinical Materials* 13: 21-8 (1993)
- [5] Bessho, K.; Iizuka, T.; Murakami, K. *J Oral Maxillofac Surg* 55(9): 941-5 (1997)
- [6] Eppley, B.L.; Sadove, A.M.; Havlik, R.J.: *Plast Reconstr Surg* 100: 1-7 (1997)
- [7] Bergsma, J.E.; de Bruijn, W.C.; Rozema, F.R.; Bos, R.R.M.; Boering, G.; *Biomaterials* 16: 25-31 (1995)
- [8] Heidemann, W.; Gerlach, K.L.; Fischer, J.H.; Ruffieux, K.; Wintermantel, E.; Jeschkeit, S.: *Biomedizinische Technik Band 41, Ergänzungsband 1*: 408-9 (1996)
- [9] Seifert, B.; Groth, TH.; Herrmann, K.; Romaniuk, P.: *J Biomater Sci Polymer Edn Vol.7 No.3* 277-287 (1995)