

Esivalmistettu biolasi metakrylaatti bulk-proteesi - Fixaatiomenetelmän vaikutus kokeellisessa putkiluun segmenttidefektissä

Mikko Hautamäki, Juha Kukkonen, Jami Rekola, Pasi Alander, Pekka Vallittu, Allan Aho
Turun Biomateriaalitutkimus, TY. Kirurgian klinikka/ Ortopedinen yksikkö, TYKS, Turku

Porous bulk implant consisting of bioactive glass S53P4 and polymethylmethacrylate, with fiber glass reinforcements, was tested in an experimental long bone segment defect model. The defect - 10mm (+/- 2mm) - was created in the shaft of rabbit tibia (N=18) where the implant was placed and fixed with intra medullary Kirchner-pins. Radiographs, histology and histometry were used for the evaluation of the contact. The implant was found to adhere quickly - within 4 weeks - to the bone and conduct new bone growth over the surface of the implant. Only small amounts of fibrous tissue formation was detected on the weight bearing interface areas during 8 weeks of incorporation, where direct bone-implant contact was measured to be 20-40% on average. On the non-weightbearing longitudinal posterior surface of the implant the growth of new bone was even greater, approximately 20-50% of the area was in direct contact with bone within 20 weeks of incorporation. Implants with bioactive glass granules on their surface evoked the most of direct contact with the bone. Long term follow up revealed the flaws of the K-pin fixation method, which allowed distension on the anterior cortex and rotation of the tibia during the normal gait of the animal. This resulted in fibrous tissue growth between bone and implant on all of the weight bearing interface areas within the the 20 weeks of incorporation.

Ortopediassa esiintyviä suuria putkiluudefektejä on perinteisesti pyritty korjaamaan autografteilla, allografteilla (pankkiluun) ja metalliproteeeseilla. Autograftia pidetään edelleenkin luurekonstruktion kultaisena standardina, mutta luusementin käyttöönotto protetiikassa (1) on laajentanut sen indikaatioita (myös) traumausten ja luutumoreiden hoitoon. Viimeisen 15 vuoden aikana on kuitenkin haettu täydentäviä vaihtoehtoja luusementin korvaamiseen uusista biomateriaaleista, kuten esim. keraamit, hydroksiapatiitti ja bioaktiivinen lasi. Vaatimukset uudelle implanttimateriaalille ovat korkeat, sillä sen tulee omata sopiva biomekaaninen lujuus ja kemiallinen koostumus mahdollistamaan luun hyvä kasvu kiinni implanttiin. (2,3,4,5,6)

Ryhmämme on jo vuosia tutkinut biolasi-poly-metakrylaatti (PMMA) komposiittien ominaisuuksia kokeellisissa putkiluudefektien rekonstruktioissa, ja havainnut luun kasvavan hyvin kiinni komposiittiin (7). Tässä tutkimuksessa on komposiitin ominaisuuksia pyritty parantamaan huokoistamalla komposiitin pintaa (increased surface porosity), jolla saavutetaan suurempi reaktio/kiinnittymispinta-ala kasvavalle luulle. Toinen parannus aiempaan koemalliin on komposiitin rungon vahvistaminen lisäämällä run-

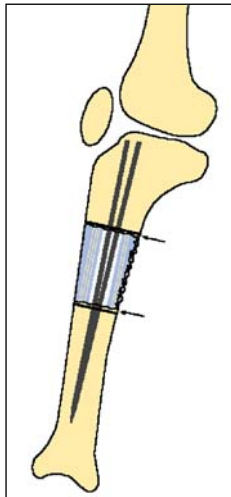
koon lasikuitua. Testasimme myös uutta fixaatiomenetelmää (K-piikki), josta on hyviä tuloksia kansainvälisissä tutkimuksissa. (2,8)

Aineisto ja menetelmät

Implantti muodostui PMMA (Palacos R) rungosta (pituus 8mm, halkaisija 6mm), johon oli valuvaiheessa lisätty lasikuitukimppuja vahvikkeeksi, ja jonka keskelle oli porattu noin 4 mm reikä ydinonteloksi. Rungon pintaan kiinnitettiin kemiallisesti huokoinen (poresize 5-300 mikrometriä - arvioitu SEM-kuvista) PMMA kerros, joka osassa implanteista sisälsi biolasia (S53P4, Abmin Technologies, Turku) jauheena tai granuloina (90-315mikrometriä). Kappaleet valmistettiin Turun Yliopiston Hammaslääketieteen laitoksella.

Aineistomme käsittää 18 Uuden-Seelannin valkoista naaraskania, keskipaino noin 3,5kg. Kanin vasemman tibian yläosaan tehtiin vesijähdytyksessä pyörösaahalla 10mm (+/- 2mm) pituinen koko luun paksuuden käsittävä segmenttidefekt, johon implantti asennettiin. Fixaatiomenetelmänä käytettiin intramedullaarisia K-piikkejä (2-3kpl, halk 0,8-2,0mm), jotka asennettiin polvinivelen kautta poraamalla ja työntämällä tibian medullan distaalipäähän rotaation estämiseksi. Leik-

kaukset tapahtuivat intramuskulaarisesti induoidussa ja ylläpidetyssä anestesiassa Ketamiini-Midatsolaami - Medetomidini lääkeyhdistelmällä. Leikattavasta raajaasta poistettiin karvat ja se desinfioidiin Klorhexidin-liuoksella. Leikkauksessa noudatettiin normaalia kirurgista steriiteettiä. Operaatio suoritettiin mediaalisesta viillosta, paljastaen tibia subperiostaalisesti. Tuberositas tibiaen alapuolelta poistettiin em. segmentti, ja defektiin asennettiin esivalmistettu implantti, joka fixoitiin retrograadisesti poratuin K-piikein. Lihäs-fascian sulkua tehtiin Vicryllillä ja ihon Dafilon ompelein. Leikattu raaja pyrittiin stabiloimaan 2 viikon ajaksi kipsillä, joka ulottui reidestä nilkaan. Post-operatiivinen kipulääkitys (Temgesic 1ml s.c.) jatkui 3 vuorokauden ajan.



Kuva 1. Koemalli. Bioaktiivinen, pintahuokoistettu, kuituvahviste-tu PMMA proteesi-implantti kanin tibian segmenttidefektissä fiksoituna intramedullaarisilla Kirschner-pinneillä. Nuolet osoittavat liitos-linjoja.

Seuranta-ajat ryhmissä olivat 4, 8 ja 20 viikkoa, jonka jälkeen irroitettu tibia röntgenkuvattiin. Näytteet fixoitiin 70-prosenttiseen etanoliin ja niistä valmistettiin decal-sifioimattomat kovakudosleikkeet AP-suunnassa

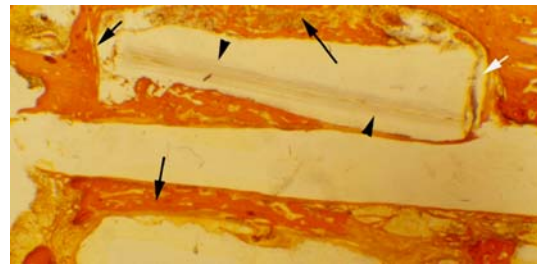
(paksuus 20 mikro-metriä) van Gieson ja Masson-Goldberg-Trichrome värjäyksiin.

Histologisesti tarkasteltiin Implantin inkorporaatiota emoluuhun arvioitiin kolmessa kohdassa: implantin takapinta, interface ja silloittuminen. Luu-implanttikontakti määritettiin tarkastamalla liitoslinjoissa proteesin ja luun sahauspintojen asettuminen vastakkain ilman diastaasia, eli miten hyvin oli teknisesti onnistuttu saamaan proteesin päät ja emoluun korteksit vastakkain proksimaalisessa ja distaalisessa liitoslinjassa. Implantin ja luun kontakti katsottiin olevan hyvä, mikäli yli 50% implantin pään poikkileikkauksesta oli samassa linjassa eli kontaktissa luun kortexin kanssa. Alle 50 % kontaktia edustavat implantit muodostivat toisen ryhmän. (Kuva 3) Histometrisesti määritettiin luun ja sidekudoksen osuus prosentteina kontaktista proteesin/luun liitoskohdista: proximaalinen ja distaalinen etuja takakortex sekä proteesin longitudinaalisesta takapinnasta säären posteriorisessa kompart-

mentissa. Mikäli luu ja implantti eivät linjautuneet yli 20% jonkin arviointikohdan osalta, se kohta hylättiin kokonaistuloksesta huonon leikkaustekniikan vuoksi.

Röntgenkuvista luu/implantti kontaktia arvioitiin vastaavista kohdista käyttäen score-luokitusta:

0 ei nähtävissä yhdistävää luukasvua, 1 vähästä huntumaista kallusta, 2 selvää yhdistävää mutta ohutta luumuodostusta, 3 yhdistävää luumuodostusta puolesta tarkasteltavaa pintaa,



Kuva 2. Histologinen kuva 20 viikon kuluttua. Proteesi hyvin inkorporoitunut; runsas uudisluukasvu kontaktissa sen huokoisiin pintoihin (pitkät nuolet). Proksimaalisessa liitoslinjassa myös luukontakti emoluuhun (lyhyt nuoli). Sen sijaan distaalisessa nuoli). Kuituvahvisteet (nuolenpäät) van Gieson värjäys. liitoslinjassa diastaasi ja sidekudosta (valkoinen)

4 luusilta 50-75 % liitoslinjasta/proteesin pinnasta ja 5 runsas luutumien liitoslinjassa. Loput näytteistä säilytettiin myöhempää scanning electron microscopic (SEM) -analyysiä varten. Lisäksi protokollaan kuuluvat erilliset biomekaaniset ja soluviljelykokeet.

Tulokset

Fiksaatio

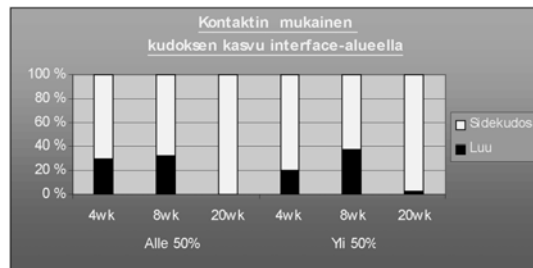
Kirschner-pin -fiksaatio osoittautui toiminnallisesti hyväksi, sillä yksikään tibia eikä implantti katkennut kokeen aikana, ja eläimet kykenivät varaamaan leikatulle raajalle välittömästi operaatio jälkeen. Sen sijaan implantin päät eivät aina asettuneet liitoslinjassa tiiviisti vastakkain tibian sahauspintojen kanssa, eikä fiksaatio ollut aina riittävän stabiili pitämään implantin ja luun päitä linjassa, sillä proteesin sijainnissa todettiin poikkisuunnassa siirtymistäipumusta. Piikit pyrkivät myös selvästi aiheuttamaan diastaasia liitoslinjassa, joka johtui piikkien toisistaan lievästi poikkeavasta kulkusuunnasta ydinkanavassa. Lisäksi implantin siirtymistäipumukseen oli todettavissa myös anatominen syy: ydinontelon suhteeton väljyys ja hohkaluun puuttuminen implanttialueella. Käyttämämme fiksaatiotekniikka tässä koemallissa edesauttoi teknisistä syistä

diastaasin syntyä ja esti tarvittavaa kompressiota liitoslinjassa.

Radiologia

Röntgenkuvissa on havaittiin voimakas luun kasvu varsinkin tibian dorsaalipinnalla. Luu ja implantti olivat valtaosin hyvässä kontaktissa, ja ainoastaan huono liitostulos - diastaasi leikkauksen jäljiltä - ja/tai proteesin asennon muutos aiheutti suoran kontaktin puuttumisen.

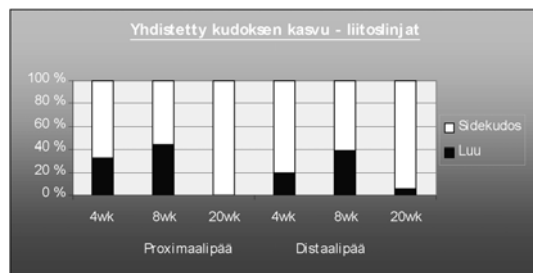
Pääosin luun kasvu interface-alueelle ja implantin pinnalle oli voimakkaimmillaan 8 viikon kohdalla, vähentyen 20 viikon kohdalla luun resorption/ uudelleenmuotoutumisen ja liikkeen vuoksi.



Kuva 3. Kudosten osuus luun ja implantin liitoslinjassa – Kontaktin mukainen jako

Histologia-histometria

Yhdessäkään tarkastelluista leikkeistä ei havaittu merkittävää tulehdussolureaktiota implantin ympärillä. Luu-implantti-interface alueella nähtiin luun suoraa kasvua implantin longitudinaaliseen pintaan (Kuva 2 ja 4). Merkittävää oli takakortekspinnan voimakas kasvu koko implantin yli jo 4viikon kohdalla, jolloin se oli paikoin jopa 4-6mm paksu. Takakortexilla havaittiin 8-20 viikoilla voimakas remodeling ilmiö, joka muodosti implantin taakse kaksoiskortexin. Etukortexin liitoslinjoissa luun suora kasvu implanttiin kiinni oli vähäisempää, johtuen kanin kävelyn mekaniikasta ja fixaatiomenetelmän mahdollistamasta lievästä instabiilitetista/ mikroliikkeestä ja diastaasista implantin ja emoluun välillä prox ja dist interfacealueella. (Kuvat 3 ja 5) Diastaasikohdilla nähtiin silloittavaa uudislukasvua korteksista liitoslinjan yli.



Kuva 4. Takapinta-kudoksen kasvu

Histometrisesti luukontaktit käsittivät 4-8 viikolla keskimäärin 20-40% pinnasta, mutta 20 viikolla kontakti oli lähes täysin kadonnut ja ohut sidekuduskapseli kasvoi usein luun ja implantin väliin (Kuva 2). Implanteissa, joiden pintakerroksessa oli bioaktiivista lasia, todettiin enemmän suoraa luukontaktia implanttiin.



Kuva 5. Yhdistetty kudoksen kasvu liitoslinjoilla (ns. interfacealueet)

Yhteenveto

Huokoisen PMMA implantin havaittiin kokeen aikana muodostavan nopeasti (jo 4 viikossa) hyvän luukontaktin emoluun kanssa ilman merkittävää sidekuduskapselin muodostusta. Suora luukontakti interface-alueella oli keskimäärin 20-40% ja takapinnalla 20-50%. Biolasin havaittiin lisäävän suoran luu-implanttikontaktin osuutta, muodostamalla bioaktiivisen pinnan, johon luu voi muodostaa suoran kemiallisen sidoksen. In situ - leikkauksolosuhteissa - tapahtuvassa polymerisaatiossa on todettu implanttiin jäävän suuri määrä metacrylaattimonomeeriä ja irtonaisia polymeeripartikkeleita, joilla on epäsuotuisat vaikutukset luun kasvuun ja implantin kiinnitysypsymiselle (9). Lisäksi polymeroituminen on exoterminen tapahtuma, jonka lämpövaikutukset ovat kudokselle haitallisia. Esivalmistetusta implantista nämä molemmat haitalliset tekijät on voitu minimoida. Implantin rungossa oleva lasikuitu vahvistaa implanttia ja mahdollistaa sen lujuusominaisuuksien säätelyn joustavasti. Fixaatiomenetelmän osalta pitkäaikaistulokset olivat erittäin huonoja. Viimeisessä tarkkailupisteessä (20 viikkoa) havaittiin sidekudoskerros implantin ja luun välissä lähes jokaisessa mitauskohdassa interface-alueella. Ainoastaan implantin longitudinaalisella takapinnalla havaittu luunkasvu lisääntyi ajan myötä. Pääasialliseksi aiheuttajaksi katsottiin instabiili fixaatiomenetelmä, joka salli diastaasin etukortexille ja rotaatioliikkeen tibiaan kanin normaalin askelluksen myötä.

Pohdinta

Koemallissa todettiin huokaisen biolasi-PMMA komponentin hyvä kiinnittyminen emoluuhun 4-8v viikon kohdalla. Tämä todettiin monin kohdin histologisista leikkeistä, joissa luu oli kasvanut syvälle huokoiseen pintaan. Voimakkain kasvu oli kappaleissa, joiden pinnalla oli biolasigranuloita, joita ei peittänyt PMMA skini-kerros. Tulokset olivat huonompia kappaleissa, joissa ei ollut käytetty biolasia lainkaan vastaten aikaisempia tutkimuksiamme (7).

Pitkäaikaistuloksissa eli 20 viikon kohdalla luukontakti liitoslinjoissa todettiin huonoksi, minkä oletamme johtuneen fixaatiomenetelmän aiheuttamasta diastaasitendenssista liitoslinjoissa, koe-eläimen luuanatomiasta ja mikroliikkeestä luuinkorporaation aikana. Tällaista ilmiötä ei ole aiemmissa koemalleissa raportoitu (2,8). On lisäksi huomioitava että kanin kuormittaessa tibiaansa muodostuu etukorteksille voimakas veto vaikutus vääntäen liitoslinjoja antekurvatumiin interfacealueelle edesauttaen osaltaan diastaasin, gapin muodostumista. Tuumorien resektiokirurgiassa käytettävien isojen allograftien kohdalla tiedetään kompression, tiukan kontaktin grafti/host bone liitoslinjassa olevan erittäin tärkeä graftin luutumisessa vastaanottajaan (10). Tiiviin kontaktin aikaansaaminen PMMA/lasi-proteesimme liitoslinjoihin ei siis onnistunut odotuksiemme mukaan, mutta siihen on olemassa ilmeiset tässä esitetyt sekä tekniset että anatomis-fysiologiset syyt. Proteesin pitkälle takapinnalle jo neljän viikon jälkeen muodostunut vahva luusilta on myös omiaan lujittamaan proteesin takapinnan posterioriseen korteksiin aiheuttaen kantamisefektin, mikä vielä estää toivotun kompression aikaansaamista varsinkin etukorteksin ja implantin välille. Liitoslinjojen luutumiskontaktin myöhäishäiriö tässä fiksaatiomallissamme ei kuitenkaan yhtään härinnyt eläinten vapaata liikumista, ja nähtäväksi jää olisivatko ne silloittuneet externillä luumuodostuksella myöhemmin - vuoden-kahden päästä.

Viimeisimmässä koemallissa olemme siirtyneet käyttämään DCP-levyä tibian etumediaalipinnalle kiinnitettynä, millä kontaktin ja kompression aikaansaaminen liitoslinjaan näyttää paremmalta.

Kirjallisuutta

1. Charnley J: Anchorage of femoral head prosthesis to the shaft of the femur. *J Bone Joint Surg* 42B:28-30, 1960.
2. Okada Y, Kawanabe K, Hiroshi F, Nishio K, Nakamura, T: Repair of segmental bone defects using bioactive bone cement: Comparison with PMMA bone cement. *J Biomed Mater Res* 4: 353-359, 1999
3. An YH, Woolf SK, Friedman RJ: Pre-clinical in vivo evaluation of orthopaedic bioabsorbable devices. *Biomaterials* 21: 2635-52, 2000
4. Shinzanto S, Kobayashi M, Mousa WF, Kamimura M, Neo M, Kitamura Y, Kokubo T, Nakamura T: Bioactive polymethyl methacrylate-based bone cement: comparison of glass beads, apatite- and wollastonite-containing glass-ceramic and hydroxyapatite fillers on mechanical and biological properties. *J Biomed Mater Res* 51: 258-72, 2000
5. Okada Y, Kawanabe K, Fujita H, Nishio K, Nakamura T: Repair of segmental bone defects using bioactive bone cement: Comparison with PMMA bone cement. *J Biomed Mater Res*, 47, 359, 359, 1999.
6. Kokubo T, Morita Y, Miyaji Y, Nakanishi K, Soga N, Nakamura T: Bioactivity of bioactive filler-resin cement. In Wilson, J, Hench, LL, Greenspan D, ed. *Bioceramics* vol 8: 213-217, 1995.
7. Strandberg N, Aho AJ, Tirri T, Seppala J: Bioaktiivinen lasi metakrylaatti komposiitti kokellisessa putkiluun segmenttidefektissä. *Suomen Ortopedia ja Traumatologia* 5: 613-615, 2001
8. Nakamura T, Kato H, Okada Y, Shinzato S, Kawanabe K, Tamura J, Kokubo T: Bone cement made of high molecular weight PMMA resin with bioactive ceramic filler showed higher bone-bonding strength than that of Bis-GMA resin and bioactive ceramic fillers. *Bioceramics* vol 13: 661-664, 2001
9. Ingham E, Green TR, Stone MH, Kowalski R, Watkins N, Fisher J: Production of TNF-alpha and bone resorbing activity by macrophages in response to different types of bone cement particles. *Biomater* 10: 1005-1013, 2000
10. Aho AJ, Ekfors T, Dean PB, Aro HT, Ahonen A, Nikkanen V: Incorporation and Clinical Results of Large Allografts of the Extremities and Pelvis. *Clin Orthopaedics and Related Res.* 307: 200-213, 1994