

Piśmiennictwo

- [1] Khor E. Methods for treatment of collagenous tissues for bio-prostheses. *Biomaterials* 1997, 18: 95-105.
- [2] Schmidt CE, Baier JM. Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. *Biomaterials* 2000, 21: 2215-31.
- [3] Cheung DT, Perelman N, Ko EC, Nimni ME. Mechanism of cross-linking of proteins by glutaraldehyde. III: Reactions with collagen in tissues. *Connect Tissue Res* 1985, 13: 109-15.
- [4] Meade KR, Silver FH. Immunogenicity of collagenous implants. *Biomaterials* 1990, 11: 176-80.
- [5] Cwalina B, Turek A, Nożyński J, Jastrzębska M, Nawrat Z. Structural changes in pericardium tissue modified with tannic acid. *Int J Artif Organs* 2005, 28:648-53.
- [6] Gendler E, Gendler S, Nimni ME. Toxic reactions evoked by glutaraldehyde – fixed pericardium and cardiac valve tissue bio-prosthesis. *J Biomed Mater Res* 1984, 18: 727-36.
- [7] Thoma RJ, Phillips RE. The role of material surface chemistry in implant device calcification: a hypothesis. *J Heart Valve Dis* 1995, 4: 214-21.

References

- [8] Cebotari S, Mertsching H, Kallenbach K, Kostin S, Repin O, Batrinac A, Kleczka C, Ciubotaru A, Haverich A. Construction of autologous human heart valves based on an acellular allograft matrix. *Circulation* 2002, 106 (12 Suppl 1): I63-I8.
- [9] Korossis SA, Booth C, Wilcox HE, Wattersson KG, Kearney JN, Fisher J, Ingham E. Tissue engineering of cardiac valve prostheses. II: Biochemical characterisation of decellularized porcine aortic hearts valves. *J Heart Valve Dis* 2002, 11: 463-71.
- [10] Laemmler UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970, 227: 680-5.
- [11] Westermeier R. *Electrophoresis in Practice*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2001.
- [12] Beard HK, Faulk WP, Conochie LB, Glynn LE. Some immunological aspects of collagen. *Prog Allergy* 1977, 22: 45-106.
- [13] Doillon CJ, Drouin R, Côte MF, Dallaire N, Pageau JF, Laroche G. Chemical inactivators as sterilization agents for bovine collagen materials. *J Biomed Mater Res* 1997, 37: 212-21.

ODDZIAŁYWANIE ŚRODOWISKA KOSTNO-MIĘŚNIOWEGO Z UKŁADEM PODPOROWO-CIĘGNOWYM W ALLOPLASTYCE SEGMENTU KRĘGOSŁUPA/ KRĘGOMOSTU ZWIERZĘCEGO

AGNIESZKA KIERZKOWSKA^{1,3*}, JACEK STERNA²,
LECHOSŁAW F. CIUPIK³, WOJCIECH BIELECKI²

¹ UNIWERSYTET ZIELONOGÓRSKI, ZIELONA GÓRA, POLSKA

² SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO, WYDZIAŁ MEDYCZYNY WETERYNARYJNEJ, W-WA. POLSKA

³ LFC, DEPARTAMENT BADAŃ I ROZWOJU, ZIELONA GÓRA, POLSKA

* E-MAIL: LFC@LFC.COM.PL

Słowa kluczowe: stabilizacja kręgosłupa, alloplastyka, implant, badania na zwierzętach, reakcja tkanek

[Inżynieria Biomateriałów, 77-80, (2008), 113-116]

Wprowadzenie

Największą grupę biomateriałów stosowanych w chirurgii kostnej stanowią materiały metaliczne, w tym stale Cr-Ni-Mo, tytan i jego stopy, stopy na osnowie kobaltu, tantal, niob i ich stopy, metale szlachetne oraz stopy z pamięcią kształtu [1]. Poza nimi wykorzystuje się ceramikę, węgle, polimery i kompozyty i materiały resorbowalne, które są aktualnie przedmiotem intensywnych prac badawczych na całym świecie. Szczególny postęp obserwuje się w rozwoju materiałów niemetalicznych oraz w tendencji do łączenia biomateriałów w celu większego zbliżenia do różnorodnych własności tkanek miękkich i kości z jednoczesną pożądaną biotolerancją i wytrzymałością [2]. Innym sposobem na zwiększanie biofunkcjonalności implantów kostnych jest łączenie materiałów o różnych własnościach z uwzględnieniem ich najkorzystniejszych cech w całość konstrukcyjną sprzyjającą najpełniejszemu wspomaganie zdrowia człowieka. Można mówić wówczas o implantach wielo-komponentowych.

THE INFLUENCE OF MUSCULOSKELETAL ENVIRONMENT ON BEARING-TENSIONING SYSTEM IN ALLOPLASTY OF THE ANIMAL SPINE

AGNIESZKA KIERZKOWSKA^{1,3*}, JACEK STERNA²,
LECHOSŁAW F. CIUPIK³, WOJCIECH BIELECKI²

¹ UNIVERSITY OF ZIELONA GORA, ZIELONA GORA, POLAND

² WARSAW UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES, FACULTY OF VETERINARY MEDICINE, WARSAW, POLAND

³ LFC, LTD, ZIELONA GORA, POLAND

* E-MAIL: LFC@LFC.COM.PL

Keywords: spine stabilization, alloplastics, implant, animal research, tissue reaction

[Engineering of Biomaterials, 77-80, (2008), 113-116]

Introduction

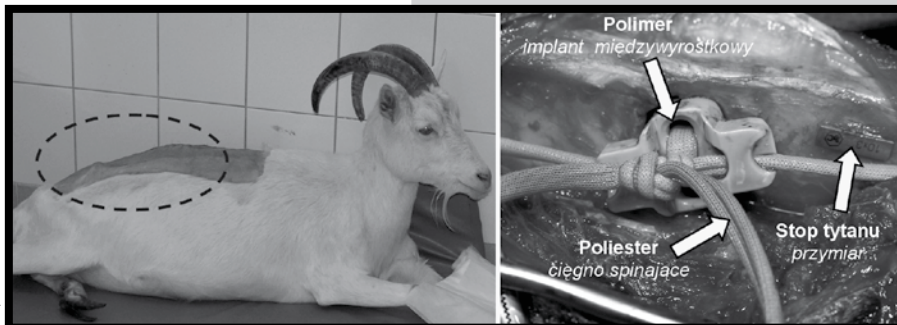
The largest group of biomaterials applied in osseous surgery are metallic materials, including Cr-Ni-Mo steel, titanium and its alloys, cobalt matrix alloys, tantalum, niobium and its alloys, noble metals and shape memory alloys [1]. Furthermore ceramics, carbon, polymers, composites and resorbable materials are used which are currently subject of intensive science studies all over the world. The special progress is observed in development of non-metallic materials as well as in connection of biomaterials in order to receive closer similarity to various properties of soft tissues and bones with simultaneous expected biotolerance and strength [2]. The other way to enlarge the bio-functionality of bone implants is to connect materials with different properties, taking under consideration its best features, into complete construction favouring the best human health support. In this case we can speak about multi-component implants.

Każde wprowadzenie do praktyki medycznej nowego wyrobu, w tym szczególnie wielomaterialowego wymaga analiz w zakresie inżynierskim, badań *in vitro* i *in vivo* na zwierzętach oraz badań klinicznych wraz z przeprowadzoną na każdym etapie badań analizą ryzyka. Zestawienie otrzymanych informacji i ich analiza daje podstawę do podjęcia decyzji o wprowadzeniu do użycia przy akceptowalnym (zminimalizowanym) poziomie zagrożenia. Szeroki zakres informacji o zachowaniu nowego wyrobu w tkankach, funkcjonalności narzędzi chirurgicznych oraz poprawności przyjętych technik operacyjnych dostarczają badania prowadzone na zwierzętach. Kozy, ze względu na ich dostępność, żywotność, cechy anatomiczne są często wykorzystywanym i opisywanym w literaturze materiałem badawczym [3,4].

Celem pracy była ocena „post mortem” różnorodności oddziaływania komponentów stabilizatora międzywyrostkowego w okresie po implantacji w kręgosłupy/kręgomosty kóz oraz ocena tkanek układu kostno-mięśniowo-więzadłowego po półrocznym funkcjonowaniu w organizmie zwierzęcym. Oceniano również istotność czynników/zjawisk, które w procesie leczenia mogą wpływać na jego niekorzystny przebieg, a nie wynikają bezpośrednio z własności zastosowanego biomateriału.

Material i metody

Przedmiotem badań był stabilizator kręgosłupowy typu „non-fusion” osadzany międzywyrostkowo (RYS. 1), złożony z trzech różnych typów biomateriałów: przezierny polimer typu PEEK Optima (międzywyrostkowy element podporowy), poliester dziany (instalacyjno-pozycjonujący element ściągający) oraz metalowy stop Ti6Al4V (markery oraz przymiar kontrolny do identyfikacji radiologicznej) różniących się postacią, składem chemicznym, własnościami (TABELA 1) oraz charakterystyką powierzchni będącej w bezpośrednim kontakcie z tkanką mięśniową i/lub kostną. Ocena zachowania *in vivo* biomateriał-środowisko tkankowe w badaniach „post mortem” prowadzono na kozach po sześciu miesiącach od momentu wszczęcia. W analizach



RYS. 1. Lokalizacja stabilizacji wykonanej metodą chirurgiczną oraz widok zainstalowanego lędźwiowego systemu międzywyrostkowego w kozie.
FIG. 1. Level of stabilization and implanted lumbar interspinous system in goat.

Every implementation of new medical devices into medical practice, especially multi-material devices, requires engineering analyses, *in vitro* and *in vivo* tests on animal and clinical researches including risk analysis performed at every stage of research. Setting-up of received information and their analysis is the base for taking decision about implementation for use with acceptable (minimized) level of hazard. The wide range of information about the new device interaction with tissues, as well as the functionality of surgical instruments and correctness of surgical techniques are provided by the tests on animals. For research purposes goats were selected. It is related to their availability, liveliness, anatomic characteristic, besides that goats are the most often used and described research material in literature [3,4].

The purpose of the research was “post mortem” evaluation of the various influence of interspinous stabilizers’ components after implantation in goats’ spines as well as the evaluation of musculoskeletal-ligament tissues after 6 months functioning in animal body. The study evaluated also the significance of the factors which can have unfavorable influence on the treatment process, however they don’t result of the biomaterial properties directly.

Material and methods

The object of the test was „non-fusion” spine stabilizer implanted interspinously (FIG. 1) consisted of three different types of biomaterials: radiolucent polymer PEEK Optima (interspinous bearing element), polyester knitted band (installation-positioning element) and Ti6Al4V alloy (markers and control sizer for radiographic identification), differently in shape, chemical composition, properties (TABLE 1) and characteristic of surface which is in direct contact with muscle or/and bone tissue.

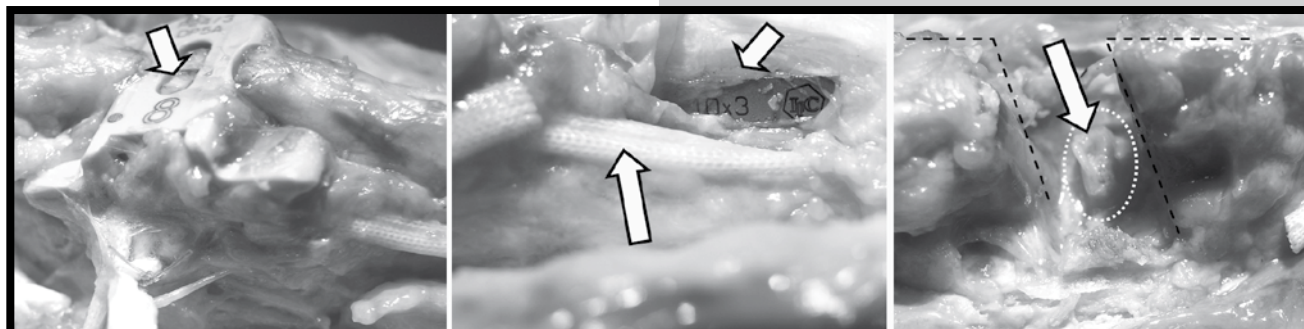
The *in vivo* biomaterial-tissue environment evaluation in “post mortem” tests was performed on goats after 6 months from surgery. X-ray was used for positioning analysis

TABELA 1. Własności kości oraz biomateriałów zastosowanych w wielofunkcyjnym implancie InterS [2,5].
TABLE 1. Properties of osseous and biomaterials used in the multifunctional implant InterS [2,5].

| Material Material | Granica plastyczności Yield strength [MPa] | Wytrzymałość na rozciąganie Tensile strength [MPa] | Moduł Younga Young module [GPa] | Wytrzymałość na zginanie Flexural strength [MPa] | Gęstość Density [g/cm ³] | Twardość Hardness [HRC] |
|--|--|---|------------------------------------|---|---|----------------------------|
| Kość gąbczasta Cancellous bone | | | ≥0,1 | | | |
| Kość kortykałna Cortical bone | | ≥90 | ≥13 | ≥160 | | |
| Ti6Al4V Titanium alloy | ≥795 | ≥860 | ≥100 | | 4,05 | 32 |
| PEEK-Optima | ≥90 | ≥100 | ≥3,8 | ≥150 | 1,3 | |
| Włókna poliestrowe Polyester fibres | charakteryzowane są głównie średnią siłą zrywającą, która dla stosowanej w systemie taśmy wynosi 25,8 [daN] oraz wydłużeniem względnym o średniej wartości do 69,9[%] characterized mainly by average breaking power, which is 25,8 [daN] for used band system and relative elongation of average value up to 69,9[%] | | | | | |

zachowania stabilizatora w tkankach użyto zdjęcia Rtg, natomiast do oceny reakcji tkanek wykorzystano badania histopatologiczne (HP). Interdyscyplinarne badania (z udziałem chirurgów kręgosłupa i weterynarii oraz biomechaników) prowadzono w klinice chirurgii zwierzęcej. Przygotowanie kóz do operacji oraz wszystkie czynności śródoperacyjne odbywały się z zachowaniem wszystkich rygorów obowiązujących w chirurgii zwierzęcej przy ciągłej opiece anestezjologicznej.

of stabilizer, and histopathological tests were used for evaluation of the reaction of tissues. Interdisciplinary tests (with participation of spine surgeons, veterinary surgeons and biomechanicians) were performed in animal surgery clinic. The preparation of goats for surgery and other intra-operative activities were performed according to surgery instruction and requirements in animal surgery and under full anesthesiology care.



RYS. 2. Strefy kontaktu: a) polimerowy implant międzywyrostkowy-tkanka, b) poliestrowe cięgno-tkanka i tytanowy przymiar-tkanka oraz c) widok przebudowanej tkanki z dopasowaniem do geometrii implantu.

FIG. 2. Contact areas: a) polymeric interspinous implant-tissue, b) polyesteric tension band-tissue, c) tissue rebuilding with adaptation to implant shape.

Wyniki

Badania sekcyjne na próbce 1 (RYS. 2) ujawniły ważność doboru rozmiaru implantu do rozmiarów (szerokości i wysokości) przestrzeni międzywyrostkowej. Dogrzebietowe przesunięcie wszczechu widocznego w powięzi podskórnej spowodowało niemal całkowity zanik uciskanego więzadła nadkoleczystego, które w czasie implantacji pozostawiono nienaruszone (RYS. 2a). W miejscu zaniku więzadła nastąpiło wytworzenie mostka kostnego (kostniny) okrywającego częściowo implant. Dobrzuszną część wszczechu była obrosnięta kostniną proliferującą z wyrostków stawowych, które zostały naruszone chirurgicznie w czasie implantacji. W okolicy międzyłukowej wyrosła kostna wrastala również w kanały/otwory znajdujące się w wszczechu. W części górnej implantu kanały/otwory były wypełnione przez miękką bliznę.

Polimerowy wszczech i mocujące go poliestrowe cięgno oraz tytanowy przymiar (RYS. 2a i 2b) są ściśle obrosnięte tkanką łączną. Tkankę tą daje się łatwo oddzielić od powierzchni implantu podporowego. Zaobserwowane luźne przyleganie tkanek miękkich do tworzywa typu PEEK (bez przestrzeni wypełnionych płynem) jest korzystne ze względu na przeznaczone biomechaniczne funkcje nośne bez zrostu – stabilizator „non-fusion”. Śródoperacyjne napięcie oraz ruch poliestrowego cięgna wpłynęły na wystąpienie lizy napięciowo-ruchowej na wyrostkach kolczystych i wniknięcie taśmy w kość. Działa budowa protezy więzadłowej (cięgna) z wolnymi przestrzeniami w skali „dziesiątych milimetra” spowodowały wrastanie w nie tkanek miękkich i ograniczenie jej ruchomości. Powierzchnie metalowe przymiarów szczelnie okryły się tkanką miękką o dużej adhezji („przyrośnięciem”) z dokładnym wypełnieniem mikronierówności warstwy wierzchniej tego materiału. Znaczniki ze stopu tytanu umieszczone w wyrostkach obrosły kością, bez śladu wczesnej osteolizy widocznej w Rtg w okresie 2 tygodni po implantacji.

Po wyjęciu wszczechu z tkanek między jego ścianami doogonową i dogłowową a powierzchniami odpowiednich wyrostków kolczystych ujawniła się miękka tkanka; doogonowo - o zabarwieniu krwistym, a dogłowowo – bezbarwna, półprzezroczysta. Przestrzeń międzywyrostkowa w okolicy mechanicznie naruszonych powierzchni stawowych, charak-

Results

Section evaluations of specimen 1 (FIG. 2) showed the importance of matching the proper size of implant (width and height) to intraspinal space. The dorsal displacement of implant, visible in subcutaneous fascia caused almost total atrophy of pressed supraspinous ligament, which during the implantation was intact (FIG. 2A). In the place of ligament atrophy bone bridge (callus) was produced and it partially covered the implant. The ventral part of implant was covered by proliferating callus from articular processes, which were surgically infringed during implantation. Implants' holes were also overgrown near vertebral arch. In superior part of the implant the holes were filled by soft scar.

Polymeric implant, polyester tension band and titanium sizer (FIG. 2a and 2b) are closely overgrown by connective tissue. This connective tissue is easily separated from implant surface. There was observed loose adhesion of soft tissue to material of PEEK type (without space filled with liquid) which is useful because of intended biomechanical bearing function without fusion – “non-fusion” stabilizer. Intra-operative tension and movement of polyester band influenced on lysis occurrence of spinous processes and penetration of band in to the bone. The knitted form of ligament prosthesis (tension band) caused growth of the soft tissue into the free spaces (decimal of millimeter) and limitation of band mobility. Metallic surfaces of sizers were tight covered by soft tissue with exact fulfillment of micro-unevenness of material upper layer. Titanium alloy markers placed in processes overgrown with bone without early osteolysis visible in X-ray after 2 weeks from implantation.

After removal of implant from tissue, between its walls (cranial and caudal) and spinous processes soft tissue was appeared. Caudal – the tissue has sanguineous color, cranial – the tissue was colorless, semi-transparent. Interspinous space adjacent to mechanically violated joint surfaces was characterized with increase of bone growth giving projection of the implant shape with channels/openings (FIG. 2c).

„Post mortem” tests of interaction between the polymer-tissue, polyester-tissue, and titanium alloy-tissue showed high biotolerance of these materials. There was no rejection reaction of organism and reaction around the implants.

teryzowała się zwiększonym przyrostem kości stanowiącej odwzorowanie kształtu implantu z kanałami/otworami (RYS. 2c).

Analizy „post mortem” kontaktu polimer-tkanka, poliester-tkanka oraz stop tytanu-tkanka wykazały wysoką biotolerancję tych biomateriałów. Nie zanotowano jakichkolwiek reakcji obronnych organizmu i odczynów wokół implantów. Do badania histopatologicznego pobrano wycinki: bliźny przylegającej do wszczepu z materiału PEEK, wycinki tkanki miękkiej pochodzącej z obszarów pomiędzy wszczepem a wyrostkami kolczystymi, wycinki tkanki oderwanej od cięgna mocującego. Badanie to sklasyfikowało wycinki jako utkanie łącznotkankowe o regularnym układzie włókien kolagenowych. Ogniskowo stwierdzono obecność włókien mięśniowych poprzecznie prążkowanych z cechami zwyrodnienia szklatego oraz martwicy, ogniskowo z cechami zaniku. Tym włóknom towarzyszył skąpokomórkowy naciek komórek jednojądrzastych. W ocenie PH tkanki kontaktujące się z polimerem PEEK nie różnią się istotnie od tkanek sąsiadujących z protezą więzadłową.

Podsumowanie i wnioski

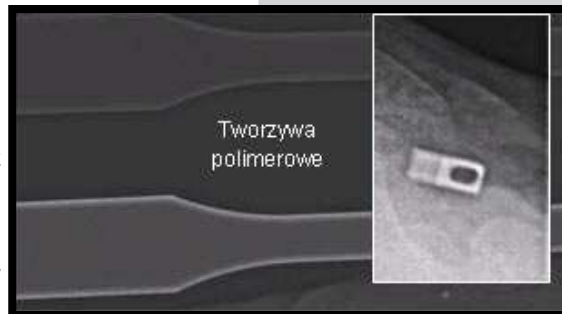
Wyniki badań ujawniają konieczność uwzględniania bioaktywnego zachowania określonego typu biomateriału w środowisku kostno-mięśniowym człowieka oraz wprowadzania ograniczeń lub wskazań do techniki operacyjnej w celu osiągnięcia zamierzonych skutków wzajemnej współpracy układu implant-tkanka i przebiegu procesu leczenia.

Podczas badań przeprowadzonych na zwierzętach zaobserwowano, że wpływ na wzajemne oddziaływanie biomateriałów z tkankami i prawidłowe pełnienie przypisanych implantowi funkcji jest uzależnione od:

- rodzaju użytego materiału, głównie jednak od własności warstwy powierzchniowej będącej w bezpośrednim kontakcie z tkanką miękką i kością,
- jakości techniki operacyjnej, która może niekorzystnie stymulować narastanie kości i usztywniać lub eliminować oczekiwaną ruchomość w stabilizatorach „non-fusion”,
- jakości utworzonego przez współpracujący biomateriał z tkankami układu biomechanicznego (np. rozległość strefy kontaktu, wielkość szczeliny, rozkład odkształceń i naprężeń).

W związku z powyższym projektowanie wyrobu z doбором biomateriału/współpracujących biomateriałów obok własności mechanicznych i dobrej biotolerancji oraz możliwości technologicznych wymaga ścisłego ukierunkowania na zastosowanie kliniczne i spodziewane zachowanie podczas funkcjonowania w organizmie. W przypadku nieodzownej kontroli radiologicznej istotnym elementem jest dobór biomateriału, który ujawnia się w obrazach Rtg i pozwala na pooperacyjną kontrolę przebiegu procesu leczenia (RYS.3).

Obserwacje w czasie potwierdziły przydatność i bezpieczeństwo stosowania komponentowego (polimerowo-poliestrowego z tytanem) implantu międzywzrostkowego w tkankach mięśniowych i kości zwierząt. Wykazano także dużą przydatność badań na zwierzętach w ocenie biotolerancji, wszczepialności oraz zachowania elementów implantu/stabilizatora po wszczępieniu. Wyniki oddziaływania z implantem w prosty sposób mogą być przeniesione na zjawiska występujące u leczonych ludzi ze wspomaganiami biomechanicznym implantem.



RYS. 3. Materiały polimerowe o różnej przezierności z przykładem implantu PEEK-owego ujawniającego się w obrazie Rtg.
FIG. 3. Polymeric materials with different radiolucent.

For histopathologic investigation following segments were taken: the scar which adhered to PEEK implant, soft tissue from area between implant and spinous processes, the tissue which was separated from tension band. The test classified the segments as connective tissue with regular configuration of collagen fibers. The striated muscular fibers were local observed. There were also locally observed the striated muscular fibers with degeneration and necrosis signs. The small cellular infiltration was present near the muscle fibers. In pH evaluation the tissues, which contacted with PEEK polymer are not essentially different from tissues adjacent to ligament prosthesis.

For histopathologic investigation following segments were taken: the scar which adhered to PEEK implant, soft tissue from area between implant and spinous processes, the tissue which was separated from tension band. The test classified the segments as connective tissue with regular configuration of collagen fibers. The striated muscular fibers were local observed. There were also locally observed the striated muscular fibers with degeneration and necrosis signs. The small cellular infiltration was present near the muscle fibers. In pH evaluation the tissues, which contacted with PEEK polymer are not essentially different from tissues adjacent to ligament prosthesis.

Discussion and conclusions

The test results has indicated the necessity of consideration of bio-active interaction of definite biomaterial's type in musculoskeletal environment. The test has showed the need of implementation of limitations in order to achieve intentional results of mutual cooperation implant-tissue system and treatment process.

During research performed on animals it was observed, that the influence on biomaterial-tissue interaction and correct realization of implant functions is depended on:

- the type of used material, mainly on properties of upper layer which is in direct contact with soft tissue and bone,
- quality of surgical technique, which can unfavorable stimulate bone growth and stiffen or eliminate needed mobility of “non-fusion” stabilizers,
- quality of biomechanical system created by cooperating biomaterial and tissues (e.g. range of contact area, size of slot, strain and stress distribution).

Following the above indicates that the designing of product with selection of biomaterial/cooperating biomaterials, besides mechanical properties, biotolerance and technological possibilities requires precise direct on clinical application and expected behavior during functioning in the body. In the case of indispensable radiological control selection of visible in X-ray biomaterial, is fundamental element and allows the postoperative control of treatment process (FIG.3). The observations confirmed usefulness and safety of using component interspinous implant (polymeric-polyester-titanium) in animals' muscle and bone tissue. Significant usefulness of tests on animals in evaluation of biotolerancy, implantation and reaction of implant/stabilizer elements after implantation was confirmed. The results can be compared with the effects occurred in the treatment of human patients with biomechanical support.

Piśmiennictwo

References

- [1] J. Marciniak, Biomateriały. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej Gliwice 2002r.
- [2] L. Ciupik, A. Kierzkowska, Ł. Jędrych, Spondyloimplantologia zaawansow. Leczenia kręgosłupa systemem DERO. Z. Góra, 2005, 37-46.
- [3] J. Sterna, J. Chłopek, et al., Małoinwazyjne techniki w chirurgii kręgosłupa, XII Konferencja Sekcji Neuroort. Pol. Tow. Neuroch., Łódź 2006.
- [4] J.T. Braun, J.W. Ogilvie, et al., Spine 31 (13), 1410-1414, 2006.
- [5] J. Sterna, L. Ciupik, A. Dobkiewicz, A. Kierzkowska, J. Pieniżek, Inżynieria Biomateriałów 8-60 (2006), 28-31.