

Biologiczne mechanizmy procesu osteointegracji

Biological Mechanisms of Implant Osseointegration

Edyta Wróbel^(B,D,E,F), Małgorzata Witkowska-Zimny^(E,F,G), Jacek Przybylski^(E,G)

Zakład Biofizyki i Fizjologii Człowieka, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska
Department of Biophysics and Human Physiology, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

STRESZCZENIE

Osteointegracja jest procesem polegającym na wytworzeniu trwałego połączenia pomiędzy kością biorecy i powierzchnią wszczepu. Proces ten przebiega w funkcji czasu jaki jest potrzebny do zrośnięcia się implantu z kością. Istotą procesu osteointegracji jest osiągnięcie stałej stabilności wszczepu, co zapewnia prawidłowy przebieg procesu gojenia oraz „zaakceptowanie” implantu przez żywą tkankę kostną, w następstwie czego dochodzi do inicjacji osteogenezy i utworzenia na powierzchni wszczepu młodej kości. Odbudowa kości w obrębie implantu zależy od konkretnych czynników dotyczących zarówno właściwości materiału implantacyjnego, jak również stanu kośćca pacjenta. Wysoka biogodność użytego do wszczepu materiału zapewnia utrzymanie stałego, stabilnego kontaktu implantu z kością i powodzenie w prawidłowym przebiegu osteointegracji. W niniejszej pracy przedstawiono komórkowe i pozakomórkowe mechanizmy oraz czynniki wpływające na przebieg procesu osteointegracji.

Słowa kluczowe: osteointegracja, implanty, osteogeneza, regeneracja kości, tytan

SUMMARY

Osseointegration is the development of a stable connection between the recipient bone and the implant surface. This process is a function of the time it takes for the implant to become fixed in bone tissue. The essence of osseointegration is the achievement of permanent stability of the implant, which ensures the proper course of the healing process, and „acceptance” of the implant by the living bone tissue, which leads to the initiation of osteogenesis and formation of young bone on the surface of the bone graft. Bone reconstruction within the implant depends on the specific factors related both to the implant material properties and to the status of the patient's skeletal system. High biocompatibility of the implant material ensures the maintenance of permanent and stable bone-implant contact and successful normal osseointegration. This work presents the cellular and extracellular mechanisms and factors influencing the process of osseointegration.

Key words: osseointegration, implants, osteogenesis, bone regeneration, titanium

WSTĘP

W chirurgii odtwórczej kości, przeszczep własnej tkanki pacjenta wiąże się z trudnymi do pokonania ograniczeniami, z których podstawowym jest dostępność i ilość materiału do autoprzeszczepu. Spośród stosowanych metod naprawczych kości szeroko wykorzystuje się zabiegi mające na celu uzupełnienie brakujących fragmentów tkanek twardych odpowiednim biomateriałem (ceramicznym, metalowym lub polimerowym). Powodzenie takiej metody zależy w dużej mierze od prawidłowego przebiegu procesu integracji implantu z tkanką kostną biorcy.

Osteointegracja jest pojęciem biologicznym i oznacza zrost żywej tkanki kostnej z powierzchnią nośną implantu. Na powierzchni implantu umieszczonego w kości mogą zachodzić komórkowe i tkankowe reakcje prowadzące do wgojenia się wszczepu [1]. Zjawisko osteointegracji zostało opisane przez Branemark'a jako układ składający się ze zróżnicowanych tkanek tworzących „bezpośrednie strukturalne i czynnościowe połączenie pomiędzy żywą kością a implantem”. W swoich badaniach Branemark wykazał, że implanty tytanowe mogą na stałe wrastać w strukturę kości. Bezpośredni kontakt żywej tkanki kostnej zostaje osiągnięty dzięki warstwie tlenków, która pokrywa powierzchnię tytanu. Wg Branemark'a w celu osiągnięcia osteointegracji niezbędne jest zapewnienie odpowiedniego czasu gojenia [2], co można zapewnić stosując implanty o dużej biogodności. Wysoka biogodność tytanu czy hydroksyapatytu sprawia, że materiały te znalazły szerokie zastosowanie w medycynie regeneracyjnej kości i stawów. Istotą osteointegracji jest więc, osiągnięcie stałego, silnego zamocowania wszczepu (stabilności) oraz „zaakceptowanie” obcego materiału przez żywą tkankę kostną.

Mechanizmy leżące u podstaw procesu osteointegracji są bardzo podobne do tych, jakie występują podczas naprawy złamanej kości i obejmują całą kaskadę zdarzeń o podłożu komórkowym i pozakomórkowym. Odpowiedź tkanek na obecność implantu jako ciała obcego, stopniowo przeradza się w uzyskanie biologicznej stabilizacji (osteointegracja) w układzie implant – kość i skutkuje utworzeniem na powierzchni wszczepu młodej tkanki kostnej.

Prowadzone w tym zakresie badania *in vivo* oraz *in vitro* mają na celu dokładne zbadanie odpowiedzi komórek na kontakt z powierzchnią implantu jak i dobór określonych cech materiału, takich jak skład chemiczny, modyfikacja powierzchni oraz opracowanie procedur sterylizacji biomateriałów, co może mieć bezpośredni wpływ na krótko- i długoterminową stabilność implantu i prawidłowy przebieg osteointegracji [3,4].

BACKGROUND

The transplantation of autologous tissue in bone reconstructive surgery is associated with certain hard-to-overcome limitations, the most basic ones being the availability and amount of material used for the autograft. Current bone reconstruction methods include widely used procedures aimed at filling the defects in hard tissue by means of an appropriate biomaterial (ceramic, metal or polymer). The success of these techniques depends largely on the normal course of the process of integration between the implant and recipient bone tissue.

Osseointegration is a biological term that describes the union of living bone tissue with the load-bearing surface of an implant. Cellular and tissue-level reactions can occur on the surface of an implant placed in bone, leading to implant incorporation [1]. Osseointegration as described by Branemark is the coexistence of differentiated tissues forming a “direct structural and functional connection between living bone and the implant”. In his study, Branemark demonstrated that titanium implants can be permanently incorporated within bone structure. Direct contact with living tissue is achieved owing to an oxide layer which covers the titanium surface. According to Branemark, osseointegration requires adequate healing time [2], which can be ensured by the use of implants with high biocompatibility. Thus, due to their high biocompatibility, titanium and hydroxyapatite have found widespread use in regenerative medicine of bones and joints. The essence of osseointegration is thus the achievement of permanent, strong fixation of the implant (stability), as well as “acceptance” of the foreign material by the living bone tissue.

The mechanisms underlying the process of osseointegration are very similar to those involved in the repair of fractured bone and comprise a cascade of cellular and extracellular events. Tissue response to the implant as a foreign body gradually reaches biological stability (osseointegration) in the bone-implant system and results in the formation of young bone tissue on the implant surface.

In vivo and *in vitro* research in this field aims to study in detail the cell response to contact with the implant surface, to select specific properties of the implant material, such as chemical composition and surface modification, and to develop biomaterial sterilisation procedures, which can have a direct impact on the short- and long-term stability of the implant and on the proper time course of osseointegration [3,4].

On the basis of recent studies, the authors of this paper present the concept of biological mechanism

Autorzy niniejszej pracy w oparciu o doniesienia ostatnich lat prezentują koncepcję biologicznego mechanizmu procesu osteointegracji oraz rolę specyficznych czynników wpływających na gojenie się wszczepu i utrzymanie zdrowej tkanki kostnej w obrębie implantu.

OSTEOGENEZA NA STYKU IMPLANT – KOŚĆ

Proces osteogenezy mający miejsce na styku implantu z kością przebiega w dwóch kierunkach tj. tworzenia się kości od powierzchni implantu (osteogeneza kontaktowa) i od powierzchni kości (osteogeneza odległa). Pierwszy z mechanizmów skutkuje tworzeniem de novo beleczek kostnych w bezpośrednim kontakcie z powierzchnią implantu, drugi zaś polega na tworzeniu wokół implantu tkanki kostnej, jako wyniku procesu gojenia się kości. Osteogenezę kontaktową charakteryzuje wysoka trwałość połączenia implantu z kością, ponieważ powstająca na powierzchni implantu matryca kostna wiąże się ze strukturami retencyjnymi implantu. Natomiast osteogeneza odległa nie tworzy już tak mocnego połączenia, co sprzyja wrastaniu tkanki łącznej pomiędzy implant a kość, obniżając stabilność i pogorszenie wgajania się wszczepu [1]. Nowo powstała sieć beleczek kostnych zapewnia biologiczne utrzymanie wszczepu, a w otaczających implant obszarach szpikowych odnajdujemy między innymi komórki mezenchymalne (preosteoblasty – zróżnicują w osteoblasty produkujące macierz kostną) oraz liczne naczynia krwionośne. Bezpośrednio na powierzchni implantu odkładane są białka syntetyzowane przez osteoblasty i z czasem powstaje cienka zmineralizowana warstwa macierzy kostnej, czyli elementy wchodzące w skład osteoidu [7]. Nowa tkanka kostna powstaje zwykle na powierzchni kości wcześniej poddanej resorpcji przez zaktywowane osteoklasty [8]. Proces ten jest kluczowy i niezmiernie ważny w zapoczątkowaniu osteogenezy i decyduje o zachowaniu stabilności i utrzymaniu implantu.

Powierzchnia implantu stanowi rusztowanie, które zostaje zasiedlone komórkami osteogennymi i inicjuje proces osteogenezy w obrębie miejsca implantacji. Po zakończeniu procesu osteogenezy dochodzi zazwyczaj do przebudowy (remodeling) kości [9]. Wysoka aktywność komórkowa na powierzchni styku implantu z kością, zapoczątkowuje tworzenie beleczek kostnych, które orientują się wzdłuż włókien białek niekolagenowych, co w konsekwencji prowadzi do tworzenia nowej dojrzałej tkanki kostnej [4]. Procesy opisane powyżej służą budowie stabilnego połączenia

of implant osseointegration as well as describing the role of specific factors influencing implant incorporation and the maintenance of healthy bone tissue within the implant.

OSTEOGENESIS AT THE BONE–IMPLANT INTERFACE

The process of osteogenesis at the interface between the implant and bone goes in two directions, one being the formation of bone from the implant surface (contact osteogenesis) and the other from the bone surface (distance osteogenesis). The former mechanism results in de novo formation of trabeculae in direct contact with the implant surface, while the latter consists in the formation of bone tissue around the implant as a result of bone healing. Contact osteogenesis is characterized by high durability of the bone–implant union as bone matrix forming on the implant surface connects to the implant's retention structures. Distance osteogenesis does not form such a strong connection, which fosters the growth of connective tissue in between the implant and bone, decreasing the stability and impairing implant incorporation [1]. The newly-formed trabecular network ensures biological sustainability of the implant, while the adjacent bone marrow areas contain, among other elements, mesenchymal cells (preosteoblasts, which will differentiate into bone matrix-producing osteoblasts) and numerous blood vessels. Proteins synthesized by osteoblasts are deposited directly on the implant surface, where a thin mineralized layer of bone matrix, i.e. the components of osteoid, develops with time [7]. The new bone tissue usually forms on the surface of bone which has previously undergone resorption by activated osteoclasts [8]. This process is essential for the initiation of osteogenesis and it determines the maintenance of stability and sustainability of the implant.

The implant surface is a scaffold which is seeded with osteogenic cells and initiates the process of osteogenesis at the implantation site. After osteogenesis is completed, bone remodelling usually begins [9]. High cellular activity at the bone–implant interface initiates the formation of bone trabeculae, which are aligned with the fibres of non-collagen proteins, which consequently leads to the formation of new, mature bone tissue [4]. These processes serve to create a stable connection between the implant and bone and ensure implant resilience to mechanical loading.

między implantem a kością oraz zapewniają wytrzymałość implantu na obciążenia mechaniczne.

Kość beleczkowa utworzona wokół wszczepu, zapewnia ścisły kontakt implantu z otaczającymi tkankami, co odpowiada „biologicznej stabilności” i utrzymaniu wszczepu. Zjawisko to ma miejsce między 10 a 14 dniem po zabiegu i różni się od tzw. „mechanicznej stabilności” uzyskiwanej w trakcie umieszczenia implantu w kości. Już trzy miesiące po implantacji wokół różnych typów implantów tytanowych obserwowano obecność nowo powstałej kości o złożonej strukturze (obecność regularnych osteonów) [1].

Liczne doniesienia wskazują, że w miejscu wszczepu pozostają małe fragmenty dojrzałej kości biorcy, które powstają podczas zabiegu chirurgicznego, prawdopodobnie w wyniku mechanicznego wprowadzenia implantu do łoża kości. Fragmenty te jako trójwymiarowe rusztowanie mogą być zaangażowane w proces osteogenezy i tworzenie kości beleczkowej, stanowiąc chociażby źródło czynników morfogenetycznych kości, takich jak: BMP-2, BMP-7 (białka morfogenetyczne kości 2 i 7) [4]. Wiedza ta może być niezmiernie użyteczna i powinna znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej, gdyż własna tkanka kostna biorcy staje się niezastąpionym źródłem czynników wzrostu i różnicowania komórek kości.

CZYNNIKI REGULUJĄCE PROCES OSTEOINTEGRACJI

Istnieje szereg czynników mających wpływ na proces osteointegracji. Bezpośrednio na poprawę osteointegracji będą miały przede wszystkim czynniki związane z właściwościami, jakie posiada implant oraz z ogólnym stanem kości pacjenta. Do pierwszej grupy czynników zaliczamy: skład chemiczny materiału, z którego zrobiony jest implant; topografię powierzchni wszczepu; rodzaj materiału; kształt, długość i średnicę implantu oraz celowo wprowadzone modyfikacje powierzchni implantu [5]. W drugiej grupie czynników należy wymienić: stan kości oraz jej osteogenny potencjał; stabilność mechaniczną, wartość tolerowanych przez dany wszczep obciążeń; leczenie uzupełniające (transplantacja fragmentów kości jako źródła czynników wzrostu dla komórek osteogennych czy np. opłaszczanie czynnikami osteoinducyjnymi powierzchni zastosowanego implantu) oraz środki farmakologiczne (statyny – simwastatyna i bisfosfoniary) [10,11,12].

Czynniki nie sprzyjające procesowi osteointegracji to nadmierna ruchomość i duży zakres mikroruchów w obrębie implantu (więcej niż 100µm), niewłaściwa chropowatość powierzchni implantu, środki farmakologiczne (cyklosporyna A, metotreksat,

The trabecular bone formed around the implant ensures a tight contact of the implant with the surrounding tissues, which corresponds to “biological stability” and sustainability of the implant. This event takes place between the tenth and fourteenth day post surgery and is different from the so-called “mechanical stability”, obtained during the placement of the implant in bone. Newly formed bone tissue with a complex structure (marked by the presence of regular Haversian systems) has been observed around different types of titanium implants at just three months after implantation [1].

Numerous studies indicate that small fragments of mature recipient bone are left in the implant site. They are produced during the surgical procedure, probably as a result of mechanical insertion of the implant into the bone bed. As a three-dimensional scaffold, these fragments may be involved in the process of osteogenesis and the formation of trabecular bone, for example as a source of such morphogenetic factors as BMP-2 and BMP-7 (bone morphogenetic proteins 2 and 7) [4]. This knowledge may be extremely useful and should be employed in clinical practice, as the recipient’s own bone tissue becomes an invaluable source of bone cell differentiation and growth factors.

FACTORS REGULATING IMPLANT OSSEOINTEGRATION

A variety of factors influence the process of osseointegration. The factors that directly enhance osseointegration are, above all, those connected with implant properties and the patient’s overall skeletal health. The former include the chemical composition of implant material; implant surface topography; material type; implant shape, length and diameter; and intentional modifications of the implant surface [5]. Some of the factors belonging to the latter group comprise bone status and osteogenic potential of bone; mechanical bone stability; the amount of loading tolerated by a given implant; complementary treatment (e.g. transplantation of bone fragments as sources of growth factors for osteogenic cells or coating the implant surface with osteoinductive factors); as well as pharmacological factors (statins – simvastatin, and bisphosphonates) [10,11,12].

The factors exerting a negative effect on the process of osseointegration are excessive mobility and a high range of micromovements within the implant (>100µm), inadequate implant surface roughness, pharmacological factors (cyclosporine A; methotrexate; warfarin; non-steroidal anti-inflammatory drugs, in particular selective COX-2 inhibitors; cisplatin or

warfaryna, niesterydowe leki przeciwzapalne szczególnie selektywne inhibitory COX-2, cis-platinum, heparyny niskocząsteczkowe) oraz osteoporoza, reumatoidalne zapalenie stawów, zaawansowany wiek, niedobory żywieniowe, nadużywanie alkoholu, palenie tytoniu, niewydolność nerek [1,13].

Jednym z najważniejszych czynników mających bezpośredni wpływ na wystąpienie i przebieg procesu osteointegracji jest biogodność użytego do wszczepu materiału, co zapewnia utrzymanie stabilnego kontaktu implantu z kością. Biogodność to cecha materiału, która warunkuje jego prawidłowe funkcjonowanie w żywym organizmie.

Implanty metalowe przeznaczone do długotrwałego stosowania powinny idealnie integrować z kością, nie powinny wywoływać reakcji zapalnej i powstawania tkanki włóknistej. Powszechnie stosowanym materiałem używanym do wyrobu implantów ortopedycznych i stomatologicznych jest tytan. Implanty tytanowe charakteryzują się wysoką biogodnością, dużą odpornością na korozję, brakiem cytotoxiczności oraz wywołują znikomą reakcję ze strony układu immunologicznego. Powierzchnię implantów tytanowych pokrywa warstwa tlenków o grubości 2-5 μm , która tworzy się samoistnie w wyniku kontaktu tytanu z tlenem. Warstwa ta jest praktycznie nierozpuszczalna i jest w dużej mierze odpowiedzialna za wysoką biogodność oraz odporność tytanu na korozję [14,15]. Modyfikacja powierzchni tytanu umożliwiła zmniejszenie czasu potrzebnego do osiągnięcia prawidłowej osteointegracji i poprawy odpowiedzi tkanek na zaimplantowany materiał [16, 17]. Większa powierzchnia styku oraz właściwości mikroskopowe powierzchni implantu w istotny sposób wpływają na proces gojenia się wszczepu i zwiększają jego stabilizację, co z kolei skutkuje prawidłowym połączeniem implantu z kością. Rozwinięcie powierzchni wszczepów tytanowych zwiększa potencjał biomechaniczny kontaktu implant – kość oraz wpływa na szybkość adsorpcji białek macierzy kostnej, podczas gdy chropowatość powierzchni bezpośrednio zwiększa adhezję osteoblastów oraz ich aktywność, a co za tym idzie tempo proliferacji i różnicowania w dojrzałe komórki kości [18].

Wśród wielu proponowanych rozwiązań klinicznych, najlepszą wydaje się, powierzchnia o przeciętnej chropowatości, jak również prawidłowo dobranych wartościach napięcia powierzchniowego, mikrotopografii, ładunku jonowym, strukturze krystalograficznej, energii powierzchniowej i składzie chemicznym, co zapewnia prawidłową stymulację wzrostu tkanki kostnej [19].

Jedynym spośród czynników, które mają znaczący wpływ na powodzenie implantacji oraz na proce-

low-molecular-weight heparins), as well as osteoporosis, rheumatoid arthritis, old age, nutritional deficiency, alcohol abuse, tobacco smoking, and renal failure [1,13].

One of the most important factors which have a direct influence on the occurrence and course of osseointegration is biocompatibility of the implant material, which ensures the maintenance of stable bone-implant contact. Biocompatibility is the property of a material which determines its proper functioning in a living organism.

Metal implants intended for long-term use should become ideally integrated with bone and should not induce an inflammatory response or the trigger the development of fibrous tissue. Titanium is a material commonly used in the manufacture of orthopaedic and dental implants. Titanium implants are characterized by high biocompatibility alongside high corrosion resistance and the lack of cytotoxicity. They also evoke only a minor immune response. The surface of a titanium implant is covered by a 2-5 μm thick oxide layer which forms spontaneously as a result of contact between titanium and oxygen. This layer is practically insoluble and, to a large degree, responsible for the high biocompatibility and corrosion resistance of titanium [14,15]. Modification of the surface of a titanium implant reduces the time needed for normal osseointegration and improves tissue response to the implanted material [16,17]. A larger interface area and microscopic properties of the implant surface significantly influence implant incorporation and increase its stability, which, in turn, results in a normal bone-implant connection. Enlarged titanium implant surface increases the biomechanical potential of bone-implant contact and influences the rate of bone matrix protein adsorption, while a rough surface directly enhances the adhesion ability and activity of osteoblasts, and, in consequence, the rate of proliferation and differentiation into mature bone cells [18].

Among the numerous clinical solutions proposed, the best choice seems to be a surface of average roughness and an appropriate selection of the values of surface tension, microtopography, ion charge, crystallographic structure, surface energy, and chemical composition, which ensures proper stimulation of the growth of bone tissue [19].

One of the factors that considerably influence the success of an implantation procedure and also have an impact on the processes occurring during implant osseointegration is a healthy bone bed that is subject to minimal damage during surgery. The site of implantation, bone quality and bone vascularity influence not only the success of implant osseointegration

sy zachodzące podczas osteointegracji implantu jest zdrowe łożo kości, ulegające minimalnemu uszkodzeniu podczas zabiegu chirurgicznego. Miejsce implantacji, jakość kości oraz jej unaczynienie wpływają nie tylko na powodzenie procesu osteointegracji, ale również na wczesne osiągnięcie stabilności implantu [20]. Wstępna stabilność implantu polega na sztywnym umocowaniu implantu w kości, przy braku ruchomości ze strony implantu oraz minimalnym obciążeniu. Nadmierna ruchliwość czy słaba stabilność protezy stymuluje powstawanie tkanki włóknistej oraz pojawienie się osteolizy i zmniejszenie gęstości kości [21]. Powoduje to przemieszczanie się implantu oraz zahamowanie osteointegracji. W konsekwencji może prowadzić do aseptycznego obluzowania konstrukcji protetycznych czy uszkodzenia implantu. Badania w tym kierunku prowadzone są głównie na pacjentach, u których występują niepowodzenia po wszczepieniu protezy stawu biodrowego [22,23]. Z drugiej strony, wczesna (początkowa) stabilność implantu zależy w dużej mierze od użytej techniki operacyjnej, długości implantu oraz miejsca implantacji [24]. W kości korowej uzyskuje się wyższy stopień mechanicznego zamocowania wszczepu, niż w kości gąbczastej. Ważna jest również odpowiednia grubość warstwy korowej kości oraz wzajemny stosunek kości korowej do gąbczastej. Osiągnięcie wczesnej stabilności implantu uzależnione jest również od ograniczenia zakresu mikroruchów implantu, co we wczesnych fazach gojenia się i regeneracji kości znacząco wpływa na poprawę procesu osteointegracji [25]. Ponieważ proces osteointegracji jest jedną z form przebudowy kości, nie ma wątpliwości, że różnego rodzaju obciążenia, jak również bodźce mechaniczne odgrywają rolę w regulacji metabolizmu tkanki kostnej, przez co stymulują tworzenie nowej kości i skracają czas gojenia [26]. Badania na zwierzętach wskazują, że niewielkie obciążenie mechaniczne stosowane na odpowiednim etapie po zabiegu mogą odgrywać pozytywną rolę w inicjacji regeneracji kości i skracać okres osteointegracji [27].

W celu wypełnienia ubytków kości, bądź też przyspieszenia regeneracji tkanki kostnej w kostnym łożu implantu, obok przeszczepów auto- i allogenicznych stosuje się szeroko hydroksyapatyty, które wykazują dobre własności osteokondukcyjne (zdolność do zapewnienia odpowiedniego łoża sprzyjającego odkładaniu nowej kości), a w badaniach nadal pozostają np. poliuretany [28]. Materiały te z osadzonymi komórkami osteogennymi, tworzą „konstrukty” lub „kompozyty”, które w warunkach hodowli *in vitro* wykazują różne biochemiczne i morfologiczne parametry osteogenezy, a przeszczepione *in vivo* stają się miejscem odtworzenia kości [6,28].

but also the early attainment of implant stability [20]. Initial implant stability is the result of rigid fixation of the implant in bone, together with the lack of implant mobility and minimum loading. Excessive mobility or poor stability of the prosthesis stimulates the development of fibrous tissue and osteolysis, as well as the reduction of bone density [21]. This causes implant dislocation and inhibits osseointegration, and may thus lead to aseptic loosening of implant systems or damage to the implant. Studies in this matter are carried out mainly on patients with post-operative failure of hip joint implants [22,23]. On the other hand, the early (initial) implant stability depends to a great extent on the operative technique used, the length of the implant and the site of implantation [24]. The degree of mechanical fixation of the implant is higher in cortical bone than in trabecular bone. Also of importance is adequate thickness of cortical bone as well as the ratio of cortical to trabecular bone. The achievement of early implant stability depends also on the limitation of the range of implant micromotion, which significantly enhances osseointegration in the initial phases of bone healing and regeneration [25]. Since osseointegration is a form of bone remodelling, different types of loading, as well as mechanical stimuli, doubtless play a role in the regulation of bone tissue metabolism, thus stimulating the formation of new bone and reducing healing time [26]. Animal studies show that low-level mechanical loading applied at an appropriate post-operative stage may positively influence the initiation of bone regeneration and shorten the period of osseointegration [27].

Not only auto- and allografts are used to fill bone defects or to accelerate bone tissue regeneration in the bone implant bed; hydroxyapatites are also widely used, as they exhibit good osteoconductive properties (the ability to provide an adequate bed which promotes the deposition of new bone), while the value of e.g. polyurethanes is still being examined [28]. Such materials with deposited osteogenic cells form “constructs” or “composites”, which demonstrate various biochemical and morphological parameters of osteogenesis in *in vitro* cultures and which, when transplanted, become the sites of bone reconstruction *in vivo* [6,28].

Improved quality of osseointegration of porous implants (including hydroxyapatite) is achieved through the use of so called demineralized bone matrix (DMB), which is a source of growth factors and bone morphogenetic proteins (BMP) and thus exhibits osteoinductive properties [29, 30]. A synergistic effect of recombinant human FGF-2 (fibroblast growth factor) and melatonin in the initiation of *in vivo* bone for-

Do polepszenia procesu osteointegracji porowatych implantów (w tym hydroksyapatytu) wykorzystuje się tzw. zdeminielizowaną matrycę kostną (ang. Demineralized Bone Matrix – DBM), stanowiącą źródło czynników wzrostu oraz białek morfogenetycznych kości (BMP) i przez to wykazującą właściwości osteoindukcyjne [29, 30]. Wykazano synergistyczne działanie rekombinowanego ludzkiego FGF-2 (czynnik wzrostu fibroblastów) i melatoniny w procesie inicjacji tworzenia kości *in vivo*, poprzez zwiększanie tempa zarówno proliferacji, jak i różnicowania się komórek osteogennych [31].

Częstym zabiegiem wykorzystywanym w celowym sterowaniu i kontroli rozwoju tkanki kostnej oraz służącym osiągnięciu jak najlepszej osteointegracji jest modyfikacja powierzchni materiałów implantacyjnych, polegająca na opłaszczaniu powierzchni wszczepów różnego typu białkami lub minerałami. Przykładem może być technologia polegająca na pokrywaniu metalowej powierzchni implantu warstwą hydroksyapatytu, co stwarza możliwość połączenia własności trwałości metalu z bioaktywnością materiału ceramicznego [32]. Wykazano, że obecność fosforanu wapnia na powierzchni implantu w znacznym stopniu zwiększa adsorpcję białek, co wpływa na wzrost adhezji i aktywację płytek krwi oraz wiązanie fibryny [33]. Całokształt zdarzeń skutkuje w tym przypadku przyspieszeniem procesu gojenia oraz zwiększeniem czynnej powierzchni implantu dla nowo tworzącej się tkanki kostnej.

Niezmiernie istotna wydaje się także możliwość wykorzystania terapii genowej w medycynie regeneracyjnej kości. Ostatnie doniesienia wskazują, że bezpośrednie użycie genów kodujących np. czynniki wzrostu poprawia już we wczesnym stadium kontakt implantu z tkanką kostną, a z definicji przyspiesza proces osteointegracji [34].

PODSUMOWANIE

Wyzwaniem współczesnej medycyny regeneracyjnej jest skuteczna naprawa uszkodzeń różnych typów tkanek. W odbudowie ubytków tkanki kostnej szeroko wykorzystuje się różnego rodzaju implanty, które wchodząc w bezpośredni kontakt z kością biorcy, integrują z żywą tkanką kostną, stając się jej strukturalną i funkcjonalną częścią. Proces osteointegracji to nie tylko odpowiedź komórkowa na zaimplantowany materiał, ale również przejaw endogenego potencjału regeneracyjnego kości biorcy. Mechanizmy leżące u podstaw zjawiska osteointegracji obejmują kaskadę zdarzeń o podłożu komórkowym oraz pozakomórkowym i zależne są od różnorodnych czynników pochodzenia ustrojowego i poza-

matation has been demonstrated. It consists in an increased rate of both proliferation and differentiation of osteogenic cells [31].

A procedure which is often used in order to deliberately regulate and control bone tissue development and which serves to obtain the best possible osseointegration outcomes is implant material surface modification, consisting in the coating of implant surface with various types of proteins or minerals. One example can be the technology of covering surfaces of metal implants with a layer of hydroxyapatite, which makes it possible to combine the durability of the metal with the bioactivity of the ceramic material [32]. It has been demonstrated that the presence of calcium phosphate on the implant surface considerably increases protein adsorption, which improves adhesion, platelet activation, and fibrin binding [33]. All these events collectively accelerate bone healing and increase the active implant surface for the newly-forming bone tissue.

Another key issue seems to be the possibility of applying gene therapies in bone regenerative medicine. Recent studies have indicated that the direct use of genes that code for, e.g., growth factors, improves the contact between bone tissue and the implant already at an early stage and, by definition, accelerates the process of osseointegration [34].

CONCLUSION

The effective repair of damage to various tissue types is a challenge to modern regenerative medicine. The reconstruction of bone tissue defects involves a wide use of various kinds of implants, which, by making a direct contact with recipient bone, integrate with live bone tissue to become its structural and functional part. The process of osseointegration represents more than a cellular response to the implanted material. It is also a manifestation of the endogenous regenerative potential of recipient bone. The mechanisms underlying the phenomenon of osseointegration encompass a cascade of cellular and extracellular events and depend on a variety of systemic and extracorporeal factors. The

ustrojowego. Ostatecznym celem w rozwoju technik implantacji jest uzyskanie w pełni kontrolowanego, szybkiego procesu gojenia się kości w obrębie implantu, co wiąże się bezpośrednio z prawidłowym przebiegiem osteointegracji. Wiedza i lepsze zrozumienie często bardzo złożonych komórkowych procesów biologicznych mających miejsce na styku implant – kość z pewnością przyczyni się do udoskonalenia strategii dla technik implantacji śródkostnych i rozwoju medycyny regeneracyjnej kości.

Źródło finansowania: Grant Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (N N302 157037) oraz Warszawski Uniwersytet Medyczny

ultimate goal of the development of implantation techniques is to obtain a fully controlled and quick process of bone healing within the implant, which is directly linked to the proper course of osseointegration. A knowledge and better understanding of the cellular biological processes, frequently of considerable complexity, which take place at the bone-implant interface will certainly contribute to the improvement of strategies of intraosseous implantation techniques and the development of bone regenerative medicine.

Source of funding: Ministry of Science and Higher Education Grant (N N302 157037) and by the Medical University of Warsaw

PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

1. Mavrogenis AF, Dimitriou R, Parvizi J, Babis GC. Biology of implant osseointegration. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2009; 9 (2): 61-71.
2. Branemark R, Branemark PI, Rydevik B, Myers RR. Osseointegration in skeletal reconstruction and rehabilitation: a review. *J Rehabil Res Dev.* 2001; 38 (2): 175-81.
3. Cooper LF. Biologic determinants of bone formation for osseointegration: clues for future clinical improvements. *J Prosthet Dent.* 1998; 80 (4): 439-49.
4. Franchi M, Fini M, Giavaresi G, Ottani V. Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis. *Micron.* 2005; 36 (7-8): 630-44.
5. Olate S, Lyrio MC, de Moraes M, Mazzonetto R, Moreira RW. Influence of diameter and length of implant on early dental implant failure. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010; 68 (2): 414-9.
6. Włodarski KH, Włodarski PK, Galus R. Bioactive composites for bone regeneration. Review. *Ortop Traumatol Rehabil.* 2008; 10 (3): 201-10.
7. Franchi M, Fini M, Martini D, Orsini E, Leonardi L, Ruggeri A, et al. Biological fixation of endosseous implants. *Micron.* 2005; 36 (7-8): 665-71.
8. Schilling AF, Filke S, Brink S, Korbmacher H, Amling M, Rueger JM. Osteoclast and Biomaterials. *Euro J Trauma.* 2006; 2: 107-13.
9. Fazzalari NL. Bone remodeling: A review of the bone microenvironment perspective for fragility fracture (osteoporosis) of the hip. *Semin Cell Dev Biol.* 2008; 19 (5): 467-72.
10. Khan SN, Fraser JF, Sandhu HS, Cammisa FP, Jr., Girardi FP, Lane JM. Use of osteopromotive growth factors, demineralized bone matrix, and ceramics to enhance spinal fusion. *J Am Acad Orthop Surg.* 2005; 13 (2): 129-37.
11. Basarir K, Erdemli B, Can A, Erdemli E, Zeyrek T. Osseointegration in arthroplasty: can simvastatin promote bone response to implants? *Int Orthop.* 2009; 33 (3): 855-9.
12. Ma B, Clarke SA, Brooks RA, Rushton N. The effect of simvastatin on bone formation and ceramic resorption in a peri-implant defect model. *Acta Biomater.* 2008; 4 (1): 149-55.
13. Torricelli P, Fini M, Giavaresi G, Rimondini L, Tschon M, Rimondini R, et al. Chronic alcohol abuse and endosseous implants: linkage of in vitro osteoblast dysfunction to titanium osseointegration rate. *Toxicology.* 2008; 243 (1-2): 138-44.
14. De Riu G, De Riu N, Spano G, Pizzigallo A, Petrone G, Tullio A. Histology and stability study of cortical bone graft influence on titanium implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 103 (4): e1-7.
15. Sul YT, Johansson C, Byon E, Albrektsson T. The bone response of oxidized bioactive and non-bioactive titanium implants. *Biomaterials.* 2005; 26 (33): 6720-30.
16. Freeman CO, Brook IM. Bone response to a titanium aluminium nitride coating on metallic implants. *J Mater Sci Mater Med.* 2006; 17 (5): 465-70.
17. Cooper LF, Zhou Y, Takebe J, Guo J, Abron A, Holmen A, et al. Fluoride modification effects on osteoblast behavior and bone formation at TiO₂ grit-blasted c. p. titanium endosseous implants. *Biomaterials.* 2006; 27 (6): 926-36.
18. Hao LL, Xue J. Multiresidue analysis of organochlorine pesticides and the application to Chinese herbal medicine. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2005; 30 (6): 405-9.
19. Shalabi MM, Gortemaker A, Van't Hof MA, Jansen JA, Creugers NH. Implant surface roughness and bone healing: a systematic review. *J Dent Res.* 2006; 85 (6): 496-500.
20. Traini T, Assenza B, San Roman F, Thams U, Caputi S, Piattelli A. Bone microvascular pattern around loaded dental implants in a canine model. *Clin Oral Investig.* 2006; 10 (2): 151-6.
21. Dragan S, Wall A. [Periprosthetic bone remodeling after cementless hip endoprosthesis stem implantation]. *Wiad Lek.* 2006; 59 (3-4): 170-6.
22. Streich NA, Gotterbarm T, Jung M, Schneider U, Heisel C. Biochemical markers of bone turnover in aseptic loosening in hip arthroplasty. *Int Orthop.* 2009; 33 (1): 77-82.
23. Zoccali C, Teori G, Salducca N. The role of FDG-PET in distinguishing between septic and aseptic loosening in hip prosthesis: a review of literature. *Int Orthop.* 2009; 33 (1): 1-5.

24. Tutak M, Sporniak-Tutak K, Frączak B. Immediate post-extractive implant placement and loading. *Prot Stom.* 2006;(2): 105-111.
25. Miyamoto I, Tsuboi Y, Wada E, Suwa H, Iizuka T. Influence of cortical bone thickness and implant length on implant stability at the time of surgery--clinical, prospective, biomechanical, and imaging study. *Bone.* 2005; 37 (6): 776-80.
26. Zhao L, Wu Z, Zhang Y. Low-magnitude mechanical vibration may be applied clinically to promote dental implant osseointegration. *Med Hypotheses.* 2009; 72 (4): 451-2.
27. Fan Y, Xiu K, Dong X, Zhang M. The influence of mechanical loading on osseointegration: an animal study. *Sci China C Life Sci.* 2009; 52 (6): 579-86.
28. Wozniak P, Bil M, Ryszkowska J, Wychowanski P, Wrobel E, Ratajska A, et al. Candidate bone-tissue-engineered product based on human-bone-derived cells and polyurethane scaffold. *Acta Biomater.* 2010; 6 (7): 2484-93.
29. Cook SD, Salkeld SL, Patron LP, Barrack RL. The effect of demineralized bone matrix gel on bone ingrowth and fixation of porous implants. *J Arthroplasty.* 2002; 17 (4): 402-8.
30. Kim YK, Kim SG, Lim SC, Lee HJ, Yun PY. A clinical study on bone formation using a demineralized bone matrix and resorbable membrane. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 109 (6): e6-11.
31. Takechi M, Tatehara S, Satomura K, Fujisawa K, Nagayama M. Effect of FGF-2 and melatonin on implant bone healing: a histomorphometric study. *J Mater Sci Mater Med.* 2008; 19 (8): 2949-52.
32. Kokubo T, Kim HM, Kawashita M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials.* 2003; 24 (13): 2161-75.
33. Rigo ECS, Boschi AO, Yoshimoto M, Allegrini S Jr, Konig B Jr, Carbonari MJ. Evaluation in vitro and in vivo of biomimetic hydroxyapatite coated on titanium dental implants. *Mater Sci Eng C.* 2004; 24: 647-51
34. Heliotis M, Ripamonti U, Ferretti C, Kerawala C, Mantalaris A, Tsiridis E. The basic science of bone induction. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 47 (7): 511-4.

Liczba słów/Word count: 5506

Tabele/Tables: 0

Ryciny/Figures: 0

Piśmiennictwo/References: 34

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Dr Edyta Wróbel, e-mail: edyta.wrobel@wum.edu.pl

Zakład Biofizyki i Fizjologii Człowieka, Warszawski Uniwersytet Medyczny
02-004 Warszawa, ul. Chałubińskiego 5, tel./fax: (22) 628-63-34

Otrzymano / Received

11.06.2010 r.

Zaakceptowano / Accepted

01.10.2010 r.