

Nové materiály vhodné pro implantáty – biologická reakce na implantáty

M. ADAM¹, M. PETRTÝL², K. BALÍK³, V. PEŠÁKOVÁ¹, H. HULEJOVÁ¹, Z. KLÉZL⁴

¹Revmatologický ústav Praha, ²Stavební fakulta ČVUT Praha, ³Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR Praha,

⁴Ortopedické a traumatologické odd. ÚVN Praha

SOUHRN

Adam M., Petrtyl M., Balík K., Pešáková V., Hulejová H., Klézl Z.: **Nové materiály vhodné pro implantáty – biologická reakce na implantáty**

Pro urychlení biofixace byly testované implantáty impregnovány kopolymerem kolagenu s proteoglykanem. Z výše uvedených hledisek byl ověřován jednak polyetylen (PE) a C-C kompozit. Byla hodnocena jejich biokompatibilita na buněčných kulturách fibroblastů, dále byla sledována reakce okolních tkání na implantaci těchto materiálů do podkoží laboratorního potkana a paraoseálně na femurech prasete domácího.

Připraven byl jednak polyetylen s povrchem hydrofobním nebo hydrofilním a dále kompozit C-C. Před zavedením do pokusného zvířete byly pokryty filmem tvořeným kopolymerem kolagen-proteoglykan.

Za podmínek *in vitro* byl testován vliv těchto materiálů na proliferaci buněk a dále na expresi cytokinů. Za podmínek *in vivo* byla zjišťována biologická fixace uvedených látek na potkanech a prasatech. Pro tyto testy byla část implantátů připravených z těchto látek potažena kopolymerem kolagen-proteoglykan. Kolagen byl získán z telecí kůže (frakce ISC 40), proteoglykan byl izolován z telecí chrupavky pomocí 2M GuHCl.

Zatímco nejintenzivnější indukcí tvorby IL8 vykazoval *in vitro* hydrofilní PE, hydrofobní PE stimuloval tvorbu TNF α . V podkoží laboratorního potkana byly všechny materiály biokompatibilní, 10. den po implantaci do podkoží byly rozdíly mezi jednotlivými vzorky minimální. Potažení kompozitu C-C kopolymerem kolagen – proteoglykan snižovalo množství otěrových částic v jeho okolí. Pokud byly implantáty prasatům instalovány paraoseálně, bylo po dvou měsících přítomno středně buněčné vazivo a zevně od povrchu implantátu se nacházela pletivová kost.

Po šesti týdnech byly implantáty velmi pevně fixovány ke kosti, od níž byly pouze obtížně oddělitelné. Potažení vzorků KKP indukovalo vznik dystrofické kalcifikace.

Klíčová slova: vysokomolekulární polyetylen – C-C kompozity – biokompatibilita – biologická fixace – kopolymer kolagen-proteoglykan – fibroblasty.

SUMMARY

Adam M., Petrtyl M., Balík K., Pešáková V., Hulejová H., Klézl Z.: **New materials for implants – biological reaction to implants**

In order to accelerate biofixation, tested implants were impregnated with a copolymer of collagen with proteoglycan. Additionally, we tested polyethylene (PE) and C-C-composite. We evaluated their biocompatibility on cell cultures of fibroblasts and investigated the reactions of neighbouring tissues to the implantation of these materials into the subcutis of laboratory sewer rats and paraosseally on the femur of farmyard pigs (*Sus domesticus*).

We prepared polyethylene with either a hydrophobic or hydrophilic surface and the composite C-C. Before implantation in the experimental animal they were coated with a film of the copolymer collagen-proteoglycan.

We tested *in vitro*, how these materials affected cellular proliferation and cytokine expression. *In vivo* we investigated the biological fixation of these materials in sewer rats and pigs. In these tests a certain proportion of the implants made of these materials was coated with the copolymer collagen-proteoglycan. The collagen was obtained from calf leather (fraction ISC 40), the proteoglycan was isolated from calf cartilage with 2M GuHCl.

While *in vitro* hydrophilic PE most strongly induced IL8 formation, hydrophobic PE stimulated TNF – formation. In the subcutis of laboratory sewer rats all the materials were biocompatible; on the 10th day after implantation into the subcutis differences between individual samples were minimal. The coating of the composite C-C with copolymer collagen-proteoglycan reduced the number of smear particles in the vicinity. In cases of paraosseal implantations to pigs after two months we found centrally cellular connective tissue and on the outside of the implant woven bone.

After six weeks the implants were very firmly fixed to the bone, from which they could be separated only with great difficulty. Coating the samples with CCP stimulated the formation of dystrophic calcifications.

Keywords: high-molecular polyethylene – C-C composites – biocompatibility – biological fixation – copolymer collagen-proteoglycan – fibroblasts.

Osteologický bulletin 2004;9(2):59–66

Adresa: Prof. MUDr. Milan Adam, Dr.h.c., Revmatologický ústav, Na Slupi 4, 128 50 Praha, e-mail: adam@revma.cz

Došlo do redakce: 5. 12. 2003

Úvod

Pro přípravu implantátů nahrazujících kostní defekt se používají hlavně materiály na bázi kovů a keramiky. Tyto materiály musí splňovat nároky na ně kladené z hlediska mechanického i biologického [1]. Na druhou stranu nesmí být taková látka inertní – musí stimulovat hojivé procesy tak, aby došlo v organismu k jejímu pevnému zakotvení. Nároky na mechanické vlastnosti kostních implantátů jsou dány funkcí, kterou mají plnit, tj. požadavky na jejich pevnost, tlak i tah, přičemž jejich Youngův modul by měl mít obdobnou hodnotu jako Youngův modul kosti [2]. Při použití materiálů k náhradě nosných kloubů či k osteosyntéze kostí dolních končetin jsou vyžadovány jiné mechanické vlastnosti než při náhradě obličejových či jiných kostí, jež jsou minimálně mechanicky zatěžovány. Již dříve byl pozorován pozitivní vliv pokrytí povrchu

implantátu kolagenem pro biointegraci v pojivové tkáni [3,4]. Požadavkem úspěšnosti implantace je rychlá biofixace takového implantátu. Naše dřívější zkušenosti ukazují, že kopolymer kolagen-proteoglykan (KKP), který je svým způsobem analogem mezibuněčné hmoty, urychluje syntézu pojiva *de novo* a tím zlepšuje biofixaci implantátu [5]. Podle nomenklatury navržené IUPAC jsou tyto kopolymery označovány jako kolagen-graft-glykosaminoglykan kopolymer [6].

V této studii je ukázán vliv tohoto analogu extracelulární matrix na biologické vlastnosti syntetických materiálů, které připadají v úvahu jako kostní implantáty. Jako zdroj glykosaminoglykanu (GAG) jsme použili chrupavkový proteoglykan (PG), který na bílkovinném řetězci obsahuje řetězce chondroitinsulfátu (CHS) a keratansulfátu (KS).

Materiály a metodika

Byly testovány implantáty připravené ze tří druhů materiálu:

- * kompositu C-C,
- * polymerního polyethylenu s hydrofobní úpravou povrchu (PE HFO),
- * polymerního polyethylenu s hydrofilní úpravou povrchu (PE HFI).

Za podmínek *in vitro* byl testován vliv těchto na proliferaci buněk a dále na expresi cytokinů. Za podmínek *in vivo* byla zjišťována biologická fixace uvedených látek na potkanech a prasatech. Pro tyto testy byla část implantátů připravených z těchto látek potažena KPP.

Vliv na proliferaci

Proliferace byla sledována na kulturách diploidních fibroblastů LEP (lidské embryonální plíce, 22.–24. pasáž, ALSEVA, Praha, Česká republika). Na dno Petriho misky s bakteriologickou úpravou byl umístěn příslušný implantát a bylo přidáno kultivační médium MEM (minimální esenciální médium, ALSEVA, Praha, Česká republika, doplněno 10 % hovězího fetálního séra – Veterinární fakulta, Brno, Česká republika, penicilinem – 100 U/ml a streptomycinem – 100 µg/ml, ALSEVA, Praha, Česká republika) s fibroblasty v množství $3 \times 10^4/\text{cm}^2$. Po třídenní kultivaci byly implantáty s buňkami vyjmuty a po rozvolnění roztokem trypsinu (0,02 % v PBS) byly spočítány. Pokus byl proveden v pěti paralelních stanoveních a ze zjištěných hodnot byl vypočítán aritmetický průměr. Hustota buněk na povrchu testovaných materiálů byla hodnocena po předchozí fixaci 0,4% paraformaldehydem, a permeabilizaci 0,2% TWEENem (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika) a následném obarvení buněčných jader 1% propidium jodidem (24 hod., 4 °C) (výrobce) pomocí fluorescenčního mikroskopu Olympus.

Vliv na expresi cytokinů

Médium po třídenní kultivaci fibroblastů na sledovaných materiálech (viz výše) bylo použito pro stanovení koncentrace cytokinů IL-8 a TNF α . Stanovení byla provedena imunoreakcí na analýzu IMMULITE (DPC, Los Angeles, CA USA). Použili jsme monoklonálními protilátkami (anti- myší IL-8 a TNF α) potažené polystyrenové kuličky jako pevnou fázi, polyklonální anti-králičí alkalickou fosfatázou značený konjugát a chemiluminiscenční enzymový substrát (IMMULITE, DPC, Los Angeles, CA USA).

Tabulka 1

Vliv různých implantátů na růst buněk po třídenní kultivaci

Druh implantátu	Počet buněk/cm ²
kontrola	84 300
C-C	30 400
PPE HFI	16 800
PPE HFO	14 200

Tabulka 2

Obsah cytokinů v kultivačním médiu

Druh implantátu	IL-8 (pg/ml)	TNF α (pg/ml)
kontrola	754	24,8
C-C	1 476	25,1
PPE HFI	5 052	25,5
PPE HFO	748	34,2

Biokompatibilita

Příprava kopolymeru kolagen-proteoglykan

KKP obsahoval nerozpustný kolagen z telecí kůže (ISC-40) solubilizovaný zahřáním na 40 °C po dobu 30 min. a PG z telecí kloubní chrupavky (extrahovaný 2M GuHCl). Lyofilizovaný 12% ISC-40 byl rozpuštěn v 0,5% kyselině octové a PG z telecí kloubní chrupavky ve vodě. Následně byly smíchány ve váhovém poměru substancí 1 : 1.

Laboratorní potkani

Ke sledování biokompatibility byly použity potkani kmene Wistar (12 samců, 150g, Anlab, Praha, ČR). Implantáty zaoblených okrajů o velikosti 3 x 10 x 2 mm buď potažené nebo nepotažené KKP filmem byly za sterilních podmínek v celkové anestézii zavedeny podkožně do interskapulární oblasti. Po 10 a 60 dnech byla zvířata utracena a implantáty spolu s okolní novotvořenou tkání byly vyjmuty. Nově tvořená tkáň byla podrobena histologickému a imunohistologickému vyšetření.

Histologie

Polovina vzorků byla nejprve fixována v Bakerově roztoku, následně dehydratována alkoholovou řadou a zalita do parafinu. Dále byly vzorky nakrájeny (5-µm), obarveny hematoxylinem a eosinem a zamontovány (Entellan, Merck, Darmstadt, Germany).

Imunohistochemie

Druhá část vzorků byla vložena do Tissue-Tec (Miles Scientific, Naperville, IL USA), následně zmrazena v tekutém dusíku a nakrájena. Po fixaci 2% paraformaldehydem v PBS (pH 7,2–7,4) byly řezy opracovány polyklonální králičí protilátkou proti fibronektinu a monoklonálními myší protilátkou proti CHS (Sigma-Aldrich, Praha, ČR) s použitím prasečích konjugátů značených peroxidázou (Alseva, Praha, ČR).

Prasata

K pokusům bylo použito 6 miniprasat (minipig HA). V tomto případě byly testovány C-C kompozity a PPE HFI a to buď potažené nebo nepotažené KKP. Implantáty byly instalovány paraoseálně na femorech miniprasatům v narkóze za sterilních podmínek. Proti případné infekci bylo provedeno krytí Pendeponem. Po 2, 3 a 10 měsících byla pokusná zvířata utracena, implantáty s nově tvořenou tkání byly vyjmuty, následně odvápněny a připraveny pro histologické vyšetření.

Výsledky

Studium buněčné proliferace *in vitro* a vliv na produkci cytokinů

Žádný z testovaných materiálů nejevil známky cytotoxicity. Byly však mezi nimi rozdíly jak ve vlivu na uspořádanost buněk v kultuře, tak ve stimulaci dělení buněk. Všechny testované materiály měly větší stimulační vliv na dělení fibroblastů (LEP) než kompozit C-C. Povrchová úprava PPE neměla v tomto ohledu větší vliv, ovlivňovala však vzhled buněk. Zatímco buňky rostoucí na kompozitu C-C kopírovaly jeho povrch (*obr. 1a*), buňky na PPE HFI byly orientovány jedním směrem (*obr. 1b*), ale na PPE HFO měly neuspořádaný chaotický vzhled (*obr. 1c*).

Vliv jednotlivých materiálů na intenzitu buněčné proliferace je uveden v *tabulce 1* a z naměřených hodnot je zřejmé, že všechny materiály jsou biokompatibilní.

Rovněž obsah cytokinů v kultivačním médiu se lišil podle sledovaného materiálu. Nejintenzivnější stimulaci syntézy cytokinu IL-8, který indukce zánět, vykazoval PE HFI s 5 052 pg/ml média, o něco nižší byla v případě C-C kompozitu. PPE HFO měl v tomto ohledu prakticky stejný vliv jako materiál Petriho misky (748 vs. 754 pg/ml média) (*tabulka 2*). Na druhou stranu PPE HFO stimuloval nejvíce ze všech zkoušených materiálů tvorbu TNF α .

Experimentální zvířata

Laboratorní potkani

Reakce na implantáty po jejich zavedení do podkoží byla sledována na potkanech. Desátý den po implantaci byl rozdíl mezi jednotlivými vzorky minimální, v opouzdřující tkáni přetrvával zánět, na který mohla mít vliv i použitá chirurgická technika. Poněkud nižší celularizaci pojivového pouzdra vidíme v okolí polyethylenových materiálů pokrytých KKP (obr. 2a, 2b).

Histologické nálezy po šedesáti dnech ukazují, že tkáň v okolí obou PPE materiálů i kompozitu C-C potažených KKP obsahovala minimální zánětlivý infiltrát (obr. 3). Potažení C-C kompozitu kopolymerem KKP snížilo množství otěrových částic v okolí implantátu, jak ukazuje porovnání obr. 4a, 4b. Z obr. 4a je patrné, že v opouzdřující tkáni kolem C-C kompozitu nepokrytého KKP jsou zřetelné částice uhlíku, zatímco při pokrytí implantátu KKP je pojivová tkáň lépe diferencovaná a bez otěru (obr. 4b).

Koncentrace fibronektinu, který je syntetizován jako součást molekuly některých kolagenních typů a který je používán jako ukazatel vyžrálosti nově tvořené tkáně, byl přítomen v větší koncentraci v pouzdru v okolí implantátu C-C kompozitu než v okolí PPE materiálů (obr. 5a, b). Rovněž exprese CHS byla v okolí C-C implantátu nepatrně vyšší.

Po šedesáti dnech od operace byla pozorována vyšší hladina produkce CHS v okolí karbonových implantátů bez potažení, patrně jako odpověď na otěrové částice. Tato zvýšená produkce byla výrazně nižší u implantátů potažených KKP.

HFO a HFI polymery bez potažení indukovaly nízkou hladinu CHS exprese v pojivové tkáni pouzdra a vliv kolagenu či PG nebyl zaznamenán.

Při porovnání všech testovaných materiálů byla nejvyšší exprese fibronektinu v pouzdru obklopujícím implantát pozorována u C-C kompozitů, nezávisle na jejich pokrytí bílkovinnou vrstvou. Poněkud nižší pozitivitu fibronektinu vykazovaly polyethylenové materiály.

Prasata

Po dvou měsících v okolí implantátů tvořených C-C kompozitem s potažením KKP je vidět středně buněčné vazivo s několika drobnými cévami. Zevně od vazivového pouzdra je patrná pletivová kost s výraznou přestavbou v podobě epiteloidních osteoblastických lemů na povrchu kostních trámečků (obr. 6a). Pouzdro implantátu C-C bez potažení KKP je tvořeno úzkým proučkem středně buněčného vaziva s několika cévami a disperzní lymfoplasmocytární zánětlivou celularizací. V přilehlé kosti je patrná přestavba s osteoblastickými lemy na povrchu kostních trámečků, ojediněle v Howshipových lakunách jsou přítomny osteoblasty. V jednom místě jsou přítomny ve vazivu zbytky černě se barvícího materiálu bez okolní reakce (obr. 6b).

Pouzdro nepotaženého implantátu PE HFI po dvou měsících je tvořeno středně buněčným vazivem s několika cévami a ojedinělými zánětlivými elementy charakteru lymfocytů a plasmocytů (obr. 7a). Pouzdro implantátu PE HFI potaženého KKP filmem je rovněž tvořeno středně buněčným vazivem s několika drobnými cévami a jednak trámečky pletivové kosti s osteoblastickými lemy na povrchu těchto trámečků. Ojediněle je patrný osteoblast zanořený v resorpční lakuně (obr. 7b).

Po třech měsících vytvořené pouzdro C-C implantátu nepokrytého filmem KKP obsahuje středně buněčné vazivo bez zánětlivých elementů. Cévy nejsou přítomny. Na několika místech jsou do pouzdra vtlačeny částičky černě se barvícího cizorodého materiálu bez okolní reakce (obr. 8a). Pouzdro implantátu C-C impregnovaného KKP rovněž obsahuje černě se barvící cizorodé látky bez reakce okolí (obr. 8b). Vzorky PE HFI se od sebe liší tím, že v případě vzorku potaženého KKP jsou zastiženy jemné trámečky pletivové kosti s osteoblastickými lemy a ojedinělými oste-

oklasty v rámci přestavby (obr. 9a), zatímco u nepotaženého vzorku je vidět jen vazivo s několika cévami (obr. 9b).

Implantáty, které byly vyjmuty deset měsíců po instalaci do experimentálních zvířete, byly velmi pevně fixovány novotvořenou tkání a byly jen velmi obtížně oddělitelné od kosti. Pouzdro implantátu C-C bez impregnace je charakterizováno tenkou vrstvou vazivového periostu (obr. 10a), zatímco při potažení KKP byla zastižena ložiska dystrofické kalcifikace (obr. 10b). V pouzdru implantátu PPE HFI bez potažení jsou na preparátu zastiženy trámečky pletivové kosti s osteoblastickými lemy na povrchu a ojedinělými osteoklasty (obr. 11a). Pokud byl stejný typ implantátu potažen KKP, byla vidět povrchní vazivová vrstva periostu, pod ní pak tenká vrstva kompaktní kosti přecházející do trámečků kosti spongiózní (obr. 11b).

Diskuze

Všechny testované materiály byly biokompatibilní, i když výrazně nestimulovaly proliferaci fibroblastů v pokusech *in vitro*. Na jednu stranu to dává předpoklad dobrého přijetí organismem, na druhou stranu pak lze očekávat po zavedení do organismu jejich pomalou biofixaci. V rané fázi tvorby opouzdření implantátu nebyly mezi jednotlivými druhy podstatné rozdíly – měřeno koncentrací fibronektinu a CHS v zánětlivé tkáni. Přítomnost těchto molekul slouží jako ukazatel intenzity novotvorby pojiva, zvláště pak syntézy kolagenu. Kolagen ve své nehelikální části obsahuje fibronektin, který je v mezibuněčném prostoru uvolňován a tvoří posléze samostatnou bílkovinu [7].

KKP stimuluje novotvorbu pojiva, povlečení implantátů KKP může značně zlepšit jejich biologickou fixaci. Vlivem zvýšené koncentrace příčných vazeb ve struktuře ISC-40 je tato frakce kolagenu použita při přípravě KKP rezistentnější vůči peptidázám. V našich dřívějších pracích jsme jej našli ve tkáních ještě po několika týdnech [5]. Jeho stimulační efekt na tvorbu pojiva byl tedy značně protražovaný. Intenzita tvorby opouzdřující tkáně byla ovlivněna, jak ukázala naše pozorování, především potažením KKP. Impregnace materiálů pomocí KKP zvýšila koncentraci fibronektinu i chondroitinsulfátu v zánětlivé tkáni po deseti dnech od zavedení implantátu. To zřejmě mělo vliv na intenzivnější proliferaci, tj. na tvorbu opouzdřující pojivové tkáně, která je šedesát dní po zavedení implantátů charakterizována nižší buněčnou koncentrací a větším množstvím kolagenních struktur, jež zlepšují fixaci daného materiálu ve tkáních.

V pokusu na potkanech jsme zjistili, že desátý den po implantaci přetrvává v okolní tkáni zánět jako reakce na vložení cizí těleso. Testy *in vitro* potvrzují, že sledované materiály jsou netoxické, v místě implantace byl přítomen jen zánětlivý infiltrát snad s poněkud nižší celularizací. Více novotvořené tkáně je v okolí PPE materiálů pokrytých KKP. Rozdíly mezi jednotlivými vzorky v mikroskopickém obraze jsou v první fázi po instalaci implantátů minimální.

Také po šedesáti dnech nejsou známky cytotoxicity C-C materiálu. Potažením uhlíkového implantátu se poněkud snížil jeho otěr. Vytvořená tkáň okolo C-C je málo diferencovaná s nízkou koncentrací nově tvořeného kolagenu. V případě PPE HFO je vytvořené pouzdro silné a při jeho pokrytí KKP není patrný pozitivní vliv této bílkoviny. Na řezech byly nalezeny mnohobuněčné buňky, které indukují zánět. Nejlepší výsledky se ukázaly v případě PPE HFI implantátu pokrytého KKP, kde jsme velké buňky jako negativní markery nenalezli. PPE HFI vykazovaly ve všech případech dobrou biokompatibilitu s velmi malými vzájemnými rozdíly. Vzniklá pojivová pouzdra byla slabá, dobře diferencovaná, s kolagenními vlákny, poměrně málo buněčná. Pouzdra byla nejlépe vyvinuta při pokrytí implantátu KKP.

Závěr

Použité materiály jsou biokompatibilní a jejich biofixace byla

zvýšena potažením filmem tvořeným KKP. Nejsou vhodné pro použití v nosných kostech.

Autoři děkují prof. MUDr. K. Smetanovi a MUDr. R. Vajtrové za vyhodnocení histologických preparátů.

Tato práce byla vypracována v rámci grantu GAČR č. 106/99/0419.

Použité zkratky:

GAG	glykosaminoglykan
CHS	chondroitinsulfát
ISC 40	nerozpustný kolagen z telecí kůže
KKP	kolagen-proteoglykan
KS	keratansulfát
LEP	lidské embryonální plíce
MEM	minimální esenciální médium
PG	proteoglykan

PE HFI	polymerní polyethylen s hydrofilní úpravou povrchu
PE HFO	polymerní polyethylen s hydrofobní úpravou povrchu

LITERATURA:

1. Petrtyl M. Remodelling of femoral cortical bone due to the dominant principal stresses. Proc.: Biochemical Modelling and Numerical Simulation, Institute of Thermomechanics, Prague, AV ČR, 1997:74–84.
2. Evans SL, Gregson PL. Composite technology in load-bearing orthopaedic implants. Biomaterials 1998;19:1329–1342.
3. Adam M, Pohunková H. Collagen – a natural biomaterial for bone replacement. Proc Conf Biomech Prague 1992;1–6.
4. Pohunková H, Adam M. Reactivity on the fate of some composite bioimplants based on collagen in connective tissue, Biomaterials 1995;14:67–71.
5. Pohunková H, Stehlík J, Váchal J, et al. Morphological features of bone healing under the effect of collagen-graft-glycosaminoglycan copolymer supplemented with the tripeptide gly-his-lys. Biomaterials 1996;17:1567–1574.
6. Yannas IV. Biologically active analogs of the extracellular matrix. Angewandte Chemie 1990;29:20–35.
7. Adam M. Syntéza kolagenu. Postgrad Med 2002;4:831–834.

Obrazovou přílohu k článku „Nové materiály vhodné pro implantáty – biologická reakce na implantáty” uvádíme na následujících stránkách.

Obr. 1

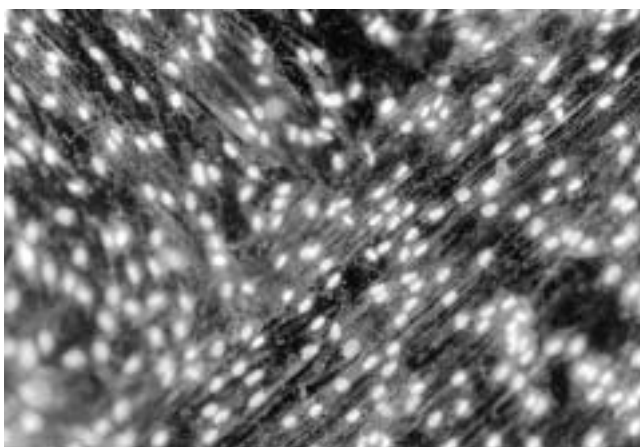
Fibroblasty LEP po třídenní kultivaci na: a) C-C kompozitním materiálu, b) Polyethylenovém hydrofilním materiálu
c) Polyethylenovém hydrofobním materiálu. Barveno propidium jodidem, zvětšeno 160x

Obr. 2

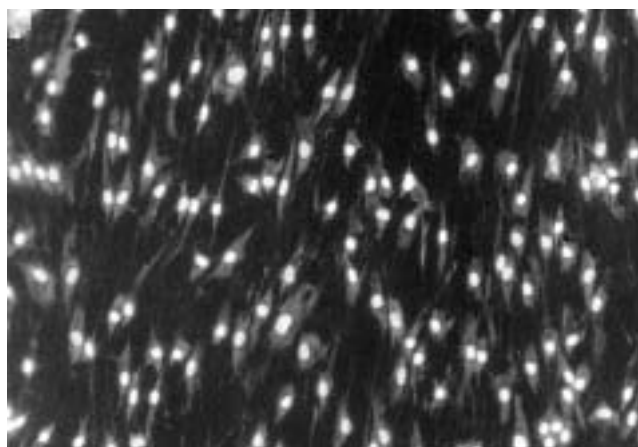
Po deseti dnech je menší celularizace s převládajícími lymfocyty v obou druhích vzorků
a) C-C kompozit potažený KKP, b) PPE HFO potažený KKP, *značí zbytky KKP, zvětšeno 180x

Obr. 3

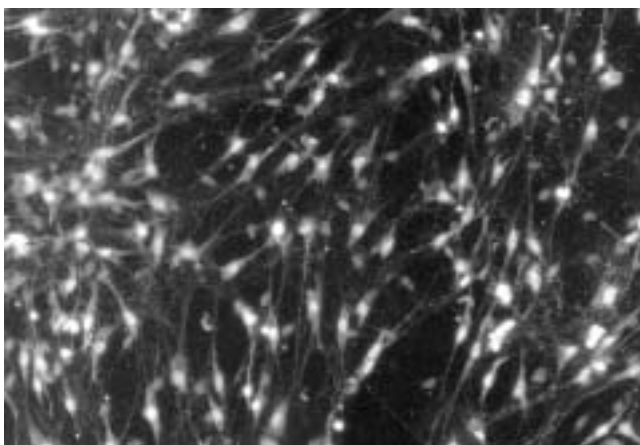
Opouzdření PPE HFO potaženého KKP, 60 dnů po implantaci, zvětšeno 160x



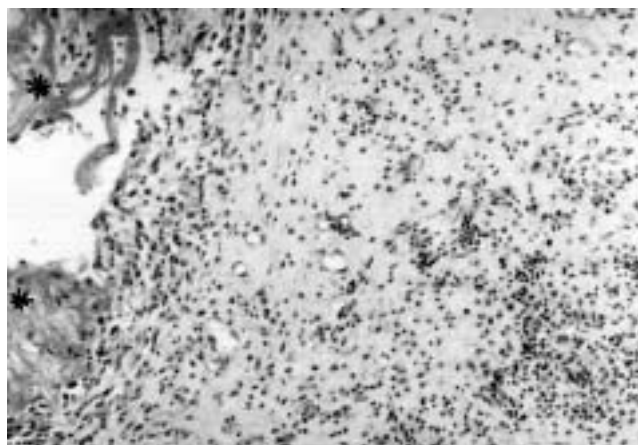
Obr. 1 a



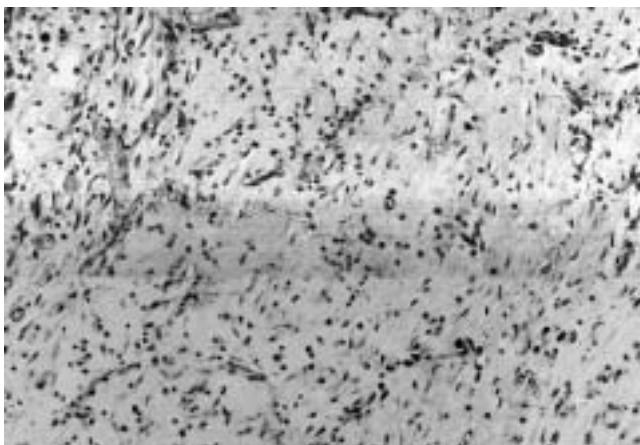
Obr. 1 b



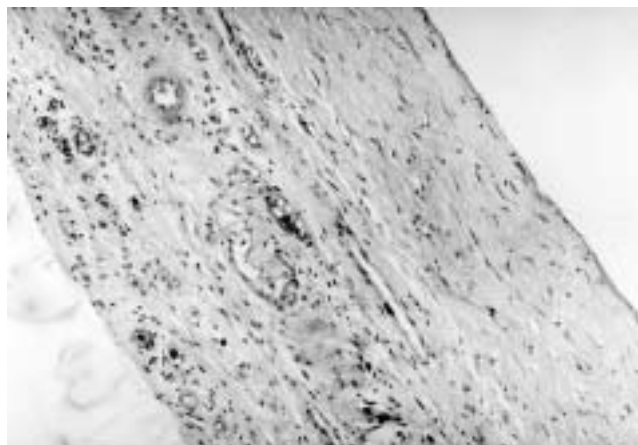
Obr. 1 c



Obr. 2 a



Obr. 2 b



Obr. 3

Obr. 4

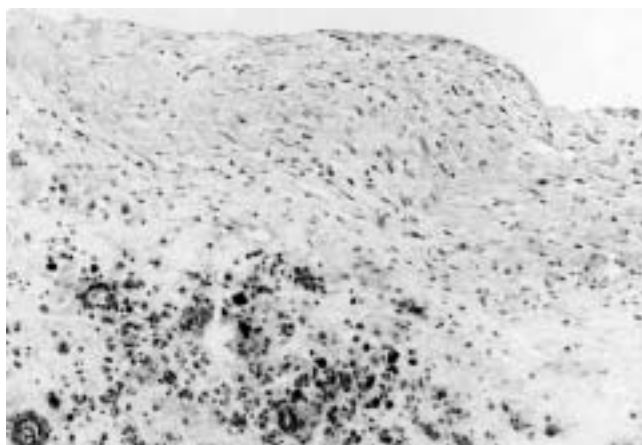
- a) v okolí nepotaženého C-C implantátu 60 dní po zavedení je vidět málo diferencované pouzdro se zřetelnými černými částicemi vzniklé zřejmě otěrem materiálu, b) ve tkáni kolem C-C kompozitu potaženého KKP otěr není přítomen Hematoxylin-eosin, zvětšeno 160x

Obr. 5

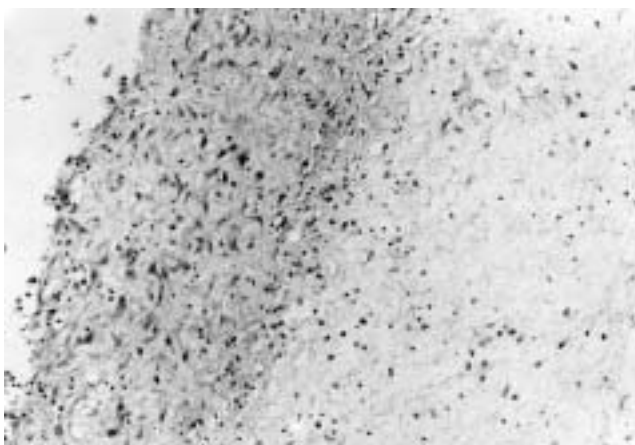
- a) tkáň obklopující C-C implantát potažený KKP 60 dní po operaci obsahuje fibronectin ve větší koncentraci než sub b
b) PPE HFO potažený KKP, zvětšeno 240x

Obr. 6

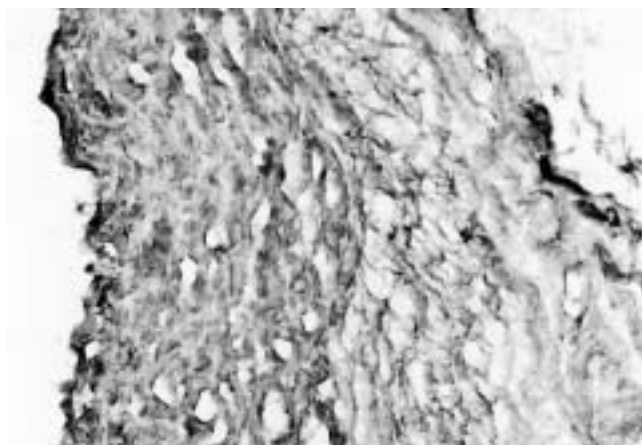
- a) 2 měsíce po implantaci je vidět v okolí C-C kompozitu s KKP středně buněčné vazivo s několika drobnými cévami. Zevně od zbytku pouzdra je patrná pletivová kost s výraznou přestavbou, zvětšeno 200x
b) C-C kompozit nepotažený, pouzdro tvořeno středně buněčným vazivem s několika cévami. V přilehlé kosti je patrná přestavba s osteoblastickými lemy na povrchu kostních trámečků, zvětšeno 160x



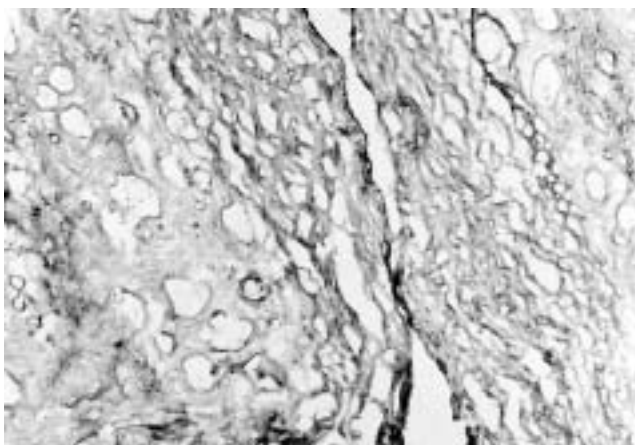
Obr. 4 a



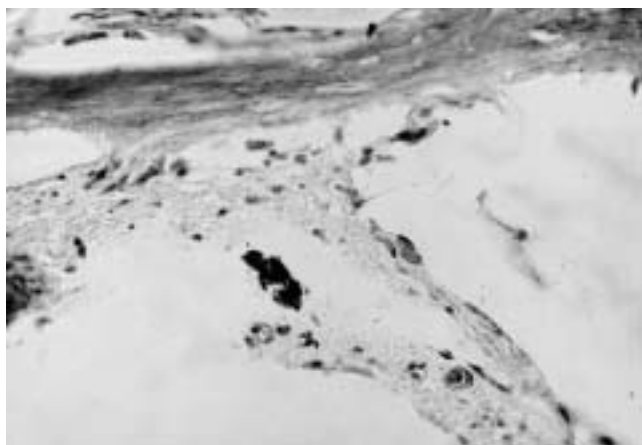
Obr. 4 b



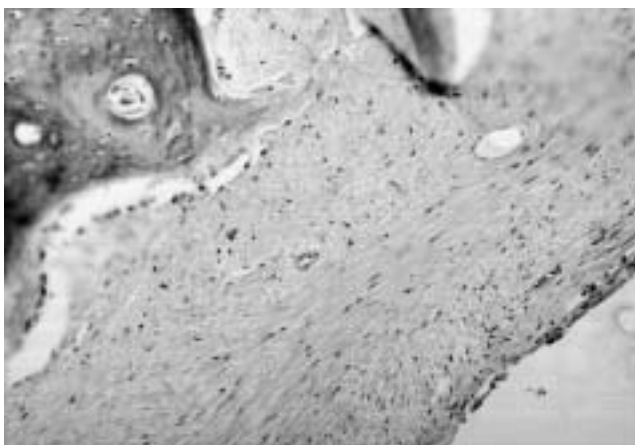
Obr. 5 a



Obr. 5 b



Obr. 6 a



Obr. 6 b

Obr. 7

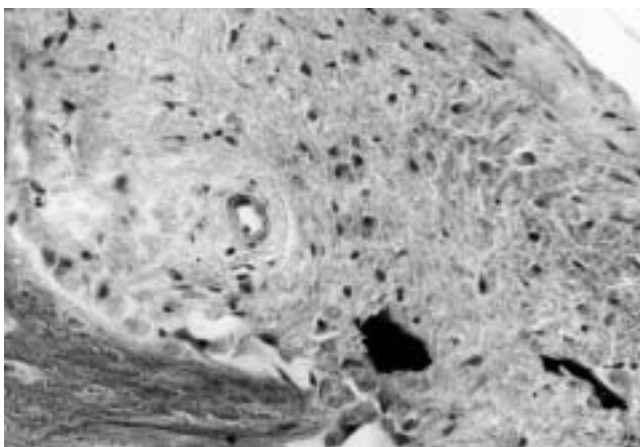
a) PPE HFI implantát bez potažení: pouzdro tvořeno středně buněčným vazivem s cévou, b) PPE HFI s potažením: v části pouzdra implantátu, jež je tvořeno středně buněčným vazivem s několika drobnými cévami jsou vidět trámečky pletivové kosti s osteoblastickými lemy na povrchu těchto trámeček, zvětšeno 100x

Obr. 8

a) C-C implantát bez potažení po třech měsících: pouzdro implantátu je tvořeno středně buněčným vazivem bez cév a zánětlivých buněk, na několika místech černě se barvící cizorodý materiál bez zánětlivé reakce, b) detail obr. 8a, zvětšeno 200x

Obr. 9

a) implantát PPE HFI s potažením: trámečky pletivové kosti s osteoblastickými lemy, zvětšeno 200x, b) PPE HFI bez potažení: zastížena část dutiny překryté vazivou s několika cévami, na povrchu kosti zastížena proužek buněčnějšího vaziva, zvětšeno 40x



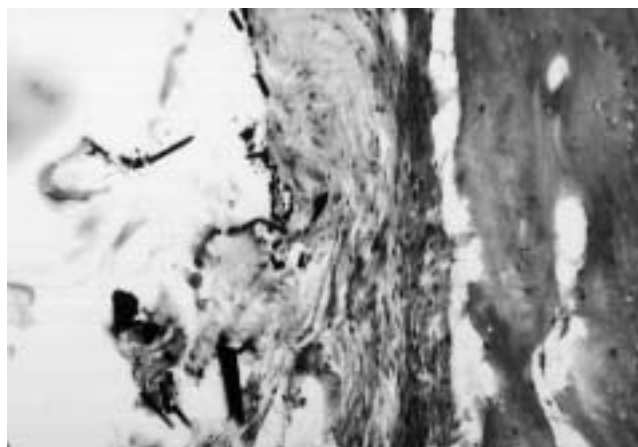
Obr. 7 a



Obr. 7 b



Obr. 8 a



Obr. 8 b



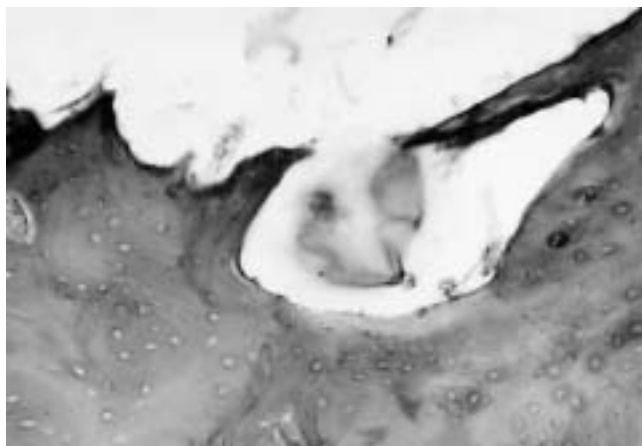
Obr. 9 a



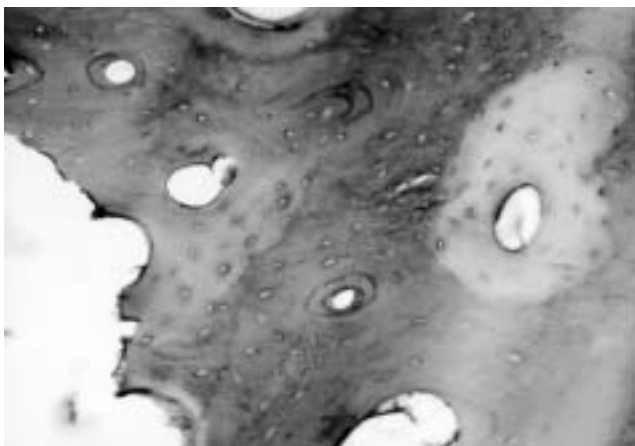
Obr. 9 b

Obr. 10

- a) C-C bez potažení 6 měsíců po implantaci: na okraji vzorku je laminární kompaktní kost bez známek přestavby povrchu kosti, tenká vrstva vazivového periostu dystrofické kalcifikace, známky přestavby pod úponem šlachy, zvětšeno 200x
b) C-C s potažením: lamelární kost bez známek přestavby, zvětšeno 200x



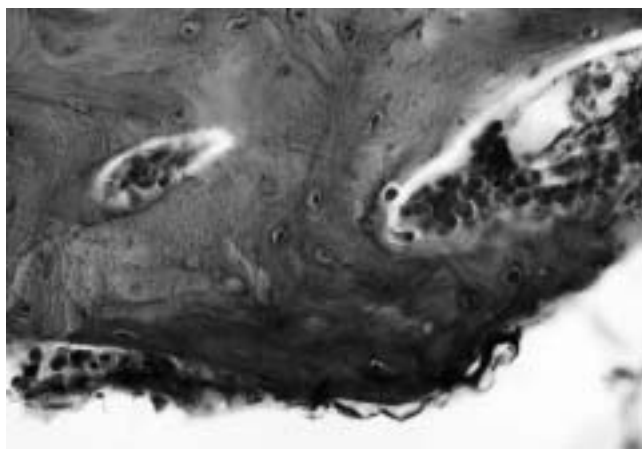
Obr. 10 a



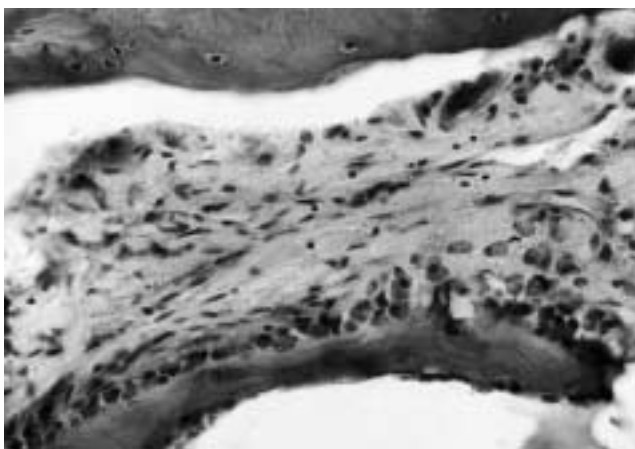
Obr. 10 b

Obr. 11

- a) implantát PPE HFI po 6 měsících bez potažení: trámeček pletivové kosti se známkami výrazné přestavby v podobě několika osteoklastů a epiteloidně uspořádaných osteoblastů na povrchu kostěného trámečku, zvětšeno 400x
b) PPE HFI s potažením: lamelární kost tvořena pod periostem tenkou vrstvou kompaktní kosti, která přechází do trámečků kosti spongiosní, lamelární kost krytá na povrchu vazivovou vrstvou periostu, zvětšeno 400x



Obr. 11 a



Obr. 11 b