Gel Osteoinduttivo-Antibiotico nelle artroprotesi totali d'anca: la nostra procedura

Osteoinductive-antibiotic gel in hip joint replacement: our procedure

W. Thomas
L. Lucente
L. Tafuro

RIASSUNTO

Background. Si deve ad Urist nel 1965 la scoperta delle *bone morphogenetic proteins* e soprattutto delle loro caratteristiche osteoinduttive. Da allora notevoli progressi sono stati fatti nel campo ortopedico.
Obiettivi. Abbiamo sviluppato un nuovo protocollo negli interventi di artroprotesi primaria d'anca, creando un gel osteoinduttivo-antisettico per ottenere una stimolazione della osteointegrazione in ambiente asettico.
Metodi. Dal giugno 2003 al luglio 2004, 24 pazienti sono stati operati di artroprotesi d'anca con una nuova procedura che consiste nella creazione e posizionamento sulla superficie metallo-spongiosa degli impianti di un gel osteoinduttivo-antibiotico. Il gel è costituito da cinque elementi: osso spongioso, *Platelet-Rich Plasma*, midollo osseo, colla di fibrina e antibiotici (Tobramicina, Vancomicina). Le perdite ematiche, il tempo operatorio, i valori di emoglobina e i risultati clinici sono stati confrontati con un gruppo di controllo di 127 pazienti operati con protocollo standard.
Risultati. Il tempo operatorio è risultato aumentato solo per pochi minuti rispetto al gruppo di controllo e non abbiamo riscontrato maggiori complicanze. Inoltre i risultati clinici del gruppo di studio sono risultati migliori rispetto al gruppo di controllo, a dimostrare una più rapida osteointegrazione degli impianti.
Conclusioni. Nei pazienti del gruppo di studio è stata evidenziata una rapida osteointegrazione degli impianti in assenza di complicanze infettive grazie alla supplementazione del gel con i due antibiotici, Tobramicina e Vancomicina a rilascio locale.

Parole chiave: artroprotesi anca, osteoinduzione, osteoconduzione, antibiotici

SUMMARY

Background. Since Urist in 1965 permit the analysis of the osteoinductive properties of growth factors and body cells many progress in identification, characterization and clinical use of these factors were be done in orthopaedics.
Methods. From June 2003 to July 2004, 24 consecutive cases of hip replacements were performed by the same senior surgeon with a new procedure consisting in an osteoinductive-antibiotic gel, positioned on the spongiosametal surfaces of socket and stem. The gel contains five elements: Cancellous bone chips, Platelet-Rich Plasma, Bone marrow, Fibrin glue, Vancomyc in and Tobramycin. Blood loss, operative time Hemoglobin drop values and clinical results were collected and compared with a control group of 127 hip replacements.

Reparto Ortopedia, Clinica "Quisisana", Roma

Indirizzo per la corrispondenza:
Prof. Wolfram Thomas
Clinica "Quisisana"
via G. Giacomo Porro 5
00197 Roma, Italy
Tel. +39 06 80691419
E-mail:
thomas_hip@hotmail.com

Ricevuto l'8 novemre 2006
Approvato il 14 novembre 2006

Results. The average operative time was similar in the two groups, while the blood loss was lesser in the group treated with the gel. The Harris Hip Score moved from an average of 43 in the preoperative to 83 at 40 days, 90 at 3 months, 92 at 6 months and 94 at 12 months in the study group. For the control group values were 54 in the preoperative, 74 at 40 days, 80 at 3 months, 86 at 6 months and 94 at 12 months. We never observed complications as dislocations, DVT, infection, stem subsidence or mobilization.
Conclusions. Our procedure shows a quickly osteointegration of the implants without septic complications due to the osteoinductive stimulated fixation and local delivery of antibiotics. The procedure is safe and easy because includes only autologous factors without risks of disease transmission or immune response

Key words: hip arthroplasty, osteoinduction, osteoconduction, antibiotics

INTRODUZIONE

Fin dai primi modelli di artroprotesi d'anca non cementate (*porus-coated*), i maggiori studi sono stati improntati sulla ricerca di una osteointegrazione il più possibile biologica. La crescita di osso all'interno della superficie porosa degli impianti garantisce una rapida e duratura stabilità della protesi, tale da permettere un carico precoce e sicuro ed una eccellente ripresa funzionale dell'arto.
La fissazione biologica è guidata e condizionata da diversi fattori dipendenti in parte dalle caratteristiche del materiale e del design dell'impianto e in parte dalle attività cellulari: le proprietà osteoconduttive sono determinate e condizionate dalle caratteristiche superficiali di porosità della protesi, mentre fattori di crescita, cellule ossee e staminali sono responsabili dell'attività osteoinduttiva.
Le proprietà osteoconduttive della porosità degli impianti è dimostrata dalla possibilità di proliferazione dei capillari e dei tessuti perivascolari e dalla migrazione delle cellule osteoprogenitrici negli spazi artificiali porosi dell'impianto. In questo modo la neoformazione ossea aumenta notevolmente la stabilità dell'impianto [1].
Condizioni similari si verificano con gli innesti autologhi di osso spongioso all'interno del quale, in maniera rapida e biologica e grazie anche alla naturale porosità, si verifica neoapposiziona ossea.
La condizione essenziale per l'osteointegrazione è il contatto stabile e diretto tra l'osso e le superfici dell'impianto come riportato da Engh [2], che ha dimostrato come tra il 60% e il 70% della superficie spongiosa metallica viene riabitata da osso neoformato se la stabilità si mantiene per molti anni.
La scoperta delle BMP (*bone morphogenetic proteins*) da parte di Urist nel 1965 [3] ha permesso l'analisi delle proprietà osteoinduttive dei fattori di crescita e di molte cellule corporee e, di conseguenza, sono stati fatti molti progressi in Ortopedia nell'identificazione, caratterizzazione ed impiego clinico di questi fattori.
I fattori di crescita trasmettono il loro segnale attraverso recettori posizionati su cellule bersaglio in modo da regolare l'espressione dei geni. Modificazioni fenotipiche della funzione cellulare si manifestano quando il segnale genico viene trascritto e tradotto.
In particolare diversi fattori di crescita sono stati identificati nelle piastrine con la funzione di aumentare la crescita di tessuto vascolare, aumentare la migrazione, moltiplicazione e differenziazione degli osteoblasti e delle cellule osteoprogenitrici [4].
La strategia per aumentare la fissazione biologica attraverso l'osteoinduzione può essere ottenuta attraverso quattro principali metodiche di ingegneria tissutale:
1. stimolando progenitori tissutali locali;
2. trapiantando cellule autologhe moltiplicate in colture;
3. sviluppando tessuto differenziato su "*scaffold*" in laboratorio;
4. trapiantando cellule autologhe come effettuato nel nostro studio.

Nonostante la protesica dell'anca rappresenti una delle chirurgie di maggior successo, il rischio infettivo non può essere eliminato del tutto. Infatti, a dispetto di tutte le misure anti-infettive esistenti (per esempio il flusso laminare e la profilassi antibiotica), le infezioni profonde (per la prima volta studiate da Charnley negli anni Sessanta) [5] si manifestano in percentuali che variano tra l'1% e il 5% dei casi, con un costo economico e psicologico notevole [6]. Negli Stati Uniti la spesa annuale per trattare queste infezioni si aggira addirittura intorno ai 200 milioni di dollari [7].
Recentemente, in aggiunta al flusso laminare, sono state suggerite diverse soluzioni per diminuire le percentuali di infezioni quali ad esempio l'impiego di una adeguata profilassi antibiotica [8], un'attenta selezione dei pazienti, l'eliminazione di pregresse infezioni (dentali, del tratto urinario, cutanee ecc.), l'impiego della luce ultravioletta [9 10] e l'eliminazione dell'eccessivo traffico in sala operatoria. Grazie a queste metodiche la percentuale in molti centri specializzati nella chirurgia protesica è scesa a valori inferiori all'1% [11].

Uno dei problemi principali è la difficoltà di poter disporre di un prodotto antibiotico da rilasciare nel tempo all'interno del sito chirurgico e per questo motivo diverse soluzioni alternative sono state proposte: superfici in Titanio con marcata attività antinfettiva [12], cemento antibiotato con Tobramicina e Vancomicina, cemento supplementato con particelle di Argento [13], materiale spugnoso di collagene-gentamicina, idrossiapatite, polimeri del polilattato ecc.
Lo scopo di questo studio è l'eleborazione di un gel osteoinduttivo-antibiotico da apporre sulla superficie spongiosa delle protesi così da unire le due proprietà in un unico prodotto.

MATERIALI E METODI

Il gruppo di studio è formato da 24 pazienti operati consecutivamente di artroprotesi totale d'anca presso il Reparto di Ortopedia della Clinica "Quisisana" in Roma (*Arthro Surgery Group*) dal giugno 2003 al luglio 2004 con la metodica ASG (*Arthro Surgery Group*) con almeno 6 mesi di follow-up. All'interno del gruppo 13 erano femmine e 11 maschi; l'età media era di 52 anni (range 18-72) per le femmine e 51 (range 26-83) per i maschi. La diagnosi di partenza era per tutti artrosi primaria dell'anca. Sono sempre state impiantante le protesi non cementate a superficie spongiosa metallica (Eska Implants®, Lübeck, Germania).
La procedura ASG consiste nell'elaborazione di un gel osteoinduttivo-antibiotico formato da cinque elementi (Fig. 1):

- osso spongioso prelevato durante l'intervento che contiene BMP's, osteoblasti ed osteociti, circa 10 g;
- *Platelet-Rich Plasma* (PRP) gel (Osteokin®, Arthrex Bio System, Frechen, Germany), circa 6 cc;
- midollo osseo prelevato dal canale femorale; circa 10 cc;
- colla di fibrina (Tissucol®), circa 5 cc;
- antibiotici: Vancomicina (Vanco®) 500 mg, Tobramicina (Nebicina®) 150 mg.

Fig. 1. Il gel osteoinduttivo-antisettico è costituito da cinque elementi: osso spongioso, PRP (*Platelet-Rich Plasma*), midollo osseo, colla di fibrinae antibiotici (Tobramicina, Vancomicina).

Il gel così ottenuto viene mescolato per cinque minuti e successivamente posizionato sulla superficie metallo-spongiosa della protesi, sia della componente acetabolare che della componente femorale, che risulta essere un eccellente supporto per il materiale osteoinduttivo-antibiotico (Figg. 2, 3). Le perdite ematiche, il tempo operatorio e le differenze nei valori dell'emoglobina sono stati calcolati e confrontati con i valori di un gruppo di controllo di 127 pazienti operati di artroprotesi d'anca dal febbraio 2000 al luglio 2004 dallo stesso chirurgo senza impiegare la procedura osteoinduttiva con il gel. I risultati clinici sono stati analizzati con l'Harris Hip Score, comparando i risultati dei due gruppi a 40 giorni, 3, 6, 12 mesi (Fig. 4).

RISULTATI

Il tempo operatorio medio è stato di 55 minuti (range 40-80 min). Nel gruppo di studio e di 50 minuti (range 30-80) nel gruppo di controllo.
La perdita ematica media è stata di 270 cc (range 120-580 cc) per il gruppo di studio e 490 cc (range 350-760 cc) per il gruppo di controllo. I valori dell'emoglobina sono scesi di circa il 20% (circa 3,0 g/dl) nel gruppo di studio e di circa il 30% (circa 4,0 g/dl) nel gruppo di controllo. Non è mai stato necessario effettuare emotrasfusioni nei pazienti trattati con il gel ostoinduttivo-antisettivo. I risultati clinici, stando all'Harris Hip Score sono cresciuti da una media di 43 nel pre-operatorio, a 83 a 40 giorni, 90 a 3 mesi, 92 a sei mesi e 94 a 12 mesi nel gruppo di studio. Nel gruppo di controllo i valori sono cresciuti da 54 nel pre-operatorio a 74 a 40 giorni, 80 a 3 mesi, 86 a 6 mesi e 94 a 12 mesi.
Complicanze quali lussazione degli impianti, trombosi venosa profonda, mobilizzazioni settiche o asettiche ed ossificazioni eterotopiche non sono mai state osservate nei pazienti trattati con la nostra procedura osteinduttiva-antinfettiva.

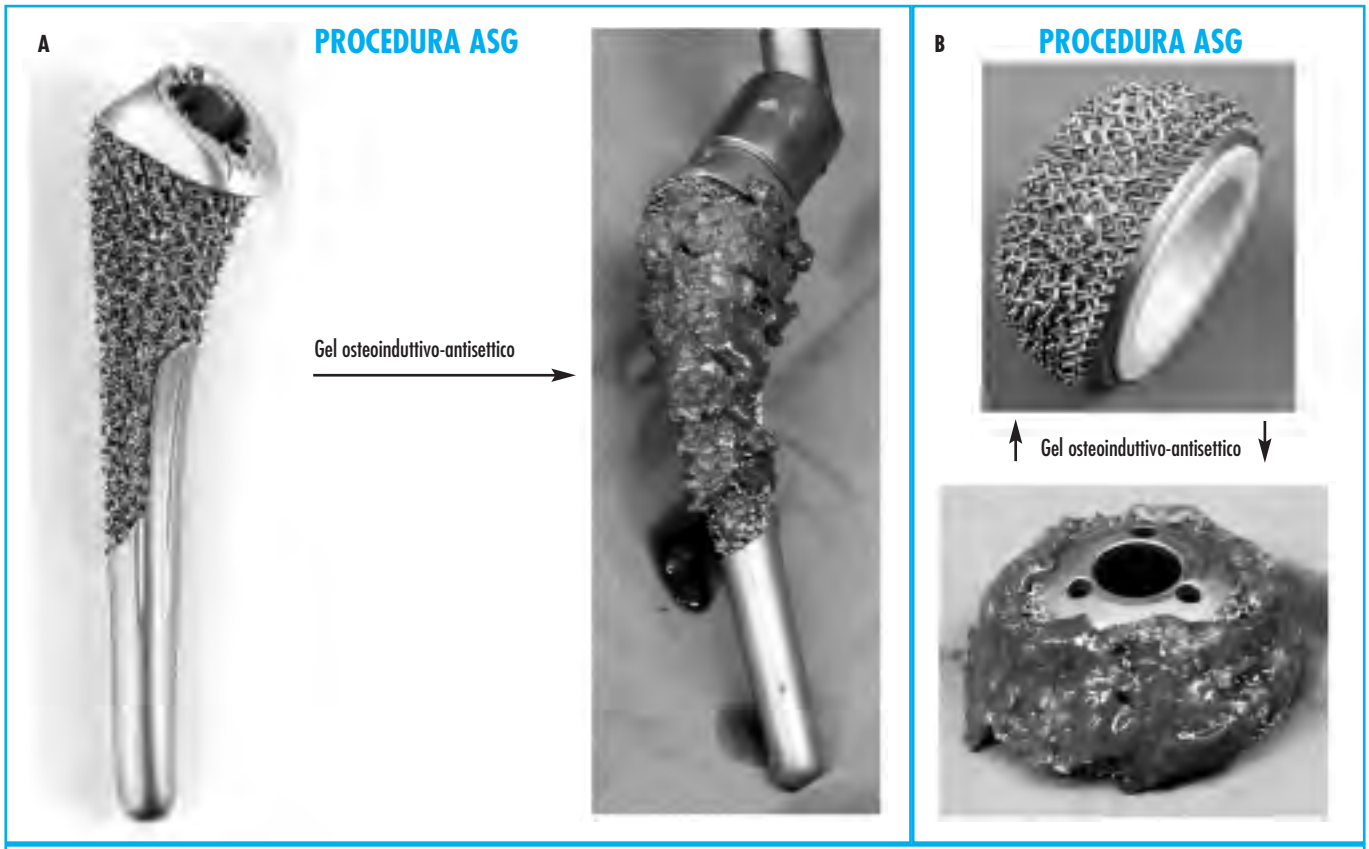

Fig. 2a, b. La superficie metallo-spongiosa della componente femorale ed acetabolare della protesi viene ricoperta e riempita dal gel osteoinduttivo-antisettico prima dell'impianto *press-fit* non cementato.

DISCUSSIONE

Il cemento è stato per molti anni il materiale di scelta per la fissazione protesica finché diversi studi sperimentali non hanno dimostrato la capacità dell'osso di crescere all'interno delle superfici porose degli impianti.
Condizione essenziale per la fissazione non cementata è il micromovimento presente all'interfaccia osso-protesi che deve essere inferiore a 150 µm pena l'interposizione di tessuto fibroso all'interfaccia che causa l'instabilità e di conseguenza il fallimento dell'impianto [14] [15]. L'osteoconduttività delle superfici in metallo-spongiosa è aumentata dalla maglia metallica tridimensionale delle protesi responsabile delle proprietà osteofiliche del materiale [16]. Queste caratteristiche sono state evidenziate grazie a studi macroscopici e microscopici (microscopio elettronico) [17] su più di 360.000 protesi a superficie metallo-spongiosa (240.000 anche e 120.000 ginocchia) a partire dal 1982. Condizione essenziale per la fissazione biologica è il diametro dei pori della maglia metallica che deve essere maggiore di 100 µm per permettere la mineralizzazione dell'osso e la formazione di osteoni, maggiore di 500 µm per ottenere una sufficiente vascolarizzazione delle trabecole ossee neoformate. Misure inferiori ai 100 µm permettono la crescita di osso da una parte, ma ne impediscono la mineralizzazione dall'altra, inferiori a 75 µm permettono la crescita solo di tessuto fibroso che porta inevitabilmente al fallimento dell'impianto [18]. Altri studi sperimentali hanno dimostrato come un diametro medio dei pori ≥ 200 µm e una porosità ≥ 40% sono condizioni ottimali per l'osteointegrazione così come il carico, in particolar modo quando si è ottenuto un ottimo *preess-fit* dell'impianto [15].
Si deve ad Urist nel 1965 la scoperta delle "BMP's" e soprattutto delle loro caratteristiche osteoinduttive. Da allora notevoli progressi sono stati fatti nel campo ortopedico. In particolare studi sperimentali hanno dimostrato la possibilità da parte di queste proteine di promuovere l'osteogenesi in colture di cellule staminali mesenchimali multipotetenti isolate dal midollo osseo dei ratti [19].

PROCEDURA ASG

Fig. 3. Le radiografie pre-operatorie e il controllo post-operatorio di questo caso, mostrano un'eccellente osteointegrazione stimolata dalle proprietà del gel.

Le cellule autologhe sono un'importante alternativa alle terapie osteoinduttive con BMP's. In effetti il midollo osseo contiene una grande quantità di cellule progenitrici e fattori di crescita; in particolare le piastrine contengono molti fattori di crescita come PDGF, TGF, FGF, IGF, EGF, VEGF, che hanno un ruolo attivo nella formazione e rimodellamento osseo.
In seguito a queste considerazioni la tecnica PRP risulta essere una procedura importante per stimolare la fissazione delle protesi grazie alla capacità dei fattori di crescita di stimolare l'angiogenesi e la migrazione di cellule osteoprogenitrici influenzando e guidando la differenziazione verso la linea cellulare osteoblastica.
Le cellule staminali e le cellule osteoprogenitrici rivestono un ruolo fondamentale nella fissazione protesica stimolata dall'osteoinduzione. Sono presenti in tutti i tessuti e la loro attività risulta critica nella crescita e nel rimodellamento dei nuovi tessuti. Esse sono controllate da diversi segnali durante la differenziazione, proliferazione e attività. In particolare le cellule staminali hanno la capacità di rinnovarsi attraverso un processo di divisione asimmetrica così da creare una cellula con caratteristiche identiche alla cellula madre e una cellula nuova con funzioni biologiche differenti.

Dall'altra parte, le cellule progenitrici stimolate proliferano e si espandono per differenti funzioni e, dopo un periodo di migrazione e di differenziazione, vanno incontro a processi di rimodellamento e di apoptosi. Nel tessuto osseo il turnover cellulare è sempre caratterizzato dall'attivazione di una cellula staminale seguita dalla differenziazione in cellula osteoprogenitrice che diviene quindi pre-osteoblasta ed infine osteoblasta. Questo processo avviene solo in presenza di una sufficiente circolazione ematica neoformata o preesistente. Infine gli osteoblasti possono differenziarsi in osteociti, "*lining cells*" di osso maturo, o andare incontro a morte programmata (apoptosi) [16].
La fonte principale delle cellule staminali è il midollo osseo, infatti 1 ml di midollo contiene circa quaranta milioni di cellule nucleate e, tra loro, circa duemila cellule progenitrici, situazione biologica minimamente condizionata dall'età e dal sesso [20].
In Chirurgia Ortopedica è proprio l'osso spongioso che risulta essere un ottimo *carrier* per queste cellule costituendo un sistema con caratteristiche sia di osteoconduttività che di osteoinduttività [21].
Per tutti questi motivi abbiamo sviluppato un nuovo protocollo negli interventi di artroprotesi primaria d'anca, creando un gel osteoconduttivo-antisettico ricco di ingredienti per ottenere una stimolazione della osteointegrazione in ambiente asettico.
Il tempo operatorio è risultato aumentato solo per pochi minuti rispetto al gruppo di controllo e non abbiamo riscontrato maggiori complicanze. Inoltre i risultati clinici del gruppo di studio durante il follow-up sono risultati migliori rispetto al gruppo di controllo, condizione che dimostra una più rapida osteointegrazione degli impianti.
La procedura risulta essere di facile applicazione e soprattutto sicura in quanto il gel è costituito da fattori autologhi azzerando quindi ogni rischio di reazione immunitaria o trasmissione di malattie infettive e le cellule coinvolte, essendo fresche, hanno un'eccellente attività. L'importanza della prevenzione delle infezioni periprotesiche è sottolineata dai tanti studi e dagli innumerevoli miglioramenti evidenziati negli ultimi anni nella chirurgia ortopedica. L'effetto antisettico del gel è assicurato da due antibiotici, Tobramicina e Vancomicina, la cui presenza contemporanea, nella stessa soluzione, ne aumenta l'efficacia. La presenza della Tobramicina ha un effetto sinergico all'attività battericida della Vancomicina, specialmente nelle infezioni ortopediche causate dai germi gram-positivi [22]. In effetti la Vancomicina e un amminoglicoside sono spesso associati per il loro potenziale effetto nel trattamento delle gravi infezioni causate da *Staphylococcus aureus* meticillino-resistenti [23]. Il rilascio locale di fattori antisettici può diminuire la percentuale di infezioni da valori che variano in Letteratura attualmente tra l'1% e il 5%, specialmente nei pazienti affetti da diabete, artropatie infiammatorie o con anamnesi positiva per infezioni pregresse.
Attualmente stiamo conducendo uno studio con le tecniche DEXA (*Dual-Energy X-Ray Absorptiometry*) e RSA (*Roentgen Stereophotogrammetric Analysis*) per confermare gli ottimi risultati ottenuti con la nostra procedura nell'osteointegrazione delle artroprotesi non cementate d'anca.

CONCLUSIONI

La procedura ASG seguita in questo studio risulta essere sicura e di facile applicazione visto il tempo operatorio impiegato nel gruppo di studio praticamente sovrapponibile a quello del gruppo di controllo trattato con la procedura standard. La protesi così ottenuta può in un certo modo essere considerata "biologica", in quanto l'associazione del gel all'impianto crea una condizione di osteoinduttività grazie a fattori autologhi e quindi assolutamente biocompatibili senza rischi di trasmissione di malattie infettive. I risultati del nostro gruppo di studio mostrano una rapida osteointegrazione degli impianti in assenza di complicanze infettive grazie alla supplementazione del gel con i due antibiotici, Tobramicina e Vancomicina a rilascio locale.

BIBLIOGRAFIA

1 Cornell CN, Lane JM. *Current understanding of osteoconduction in bone regeneration*. Clin Orthop 1998;(Suppl):S267-73.

2 Engh CA, Hooten JP Jr, Zettl-Schaffer KF, Ghaffarpour M, mcgovern TF, Bobyn JD. *Evaluation of bone ingrowth in proximally and extensively porous-coated anatomic medullary locking prostheses retrieved at autopsy*. J Bone Joint Surg Am 1995;77:903-10.

3 Urist MR. *Bone: formation by autoinduction*. Science 1965;150:893-9.

4 Arm DM, Ponticiello M, Shors EC. *Autologous growth factors: characterisation and clinical use*. J Bone Joint Surg Am 2001;83b(Suppl III):366.

5 Charnley J. *A clean-air operating enclosure*. Br J Surg 1964;51:202-5.

[6] Paprosky WG, Greidanus NV, Antoniou J. *Minimum 10-year-results of extensively porous-coated stems in revision hip arthroplasty*. Clin Orthop 1999;369:230-42.

[7] Schutzer SF, Harris WH. *Deep-wound infection after total hip replacement under contemporary aseptic conditions*. J Bone Joint Surg Am 1988;70:724-7.

[8] Mauerhan DR, Nelson CL, Smith DL, Fitzgerald RH Jr, Slama TG, Petty RW, et al. *Prophylaxis against infection in total joint arthroplasty. One day of cefuroxime compared with three days of cefazolin*. J Bone Joint Surg 1994;76-A:39-45.

[9] Hanssen AD, Osman DR. *Prevention of deep wound infection after total hip arthroplasty: the role of prophylactic antibiotics and clean air technology*. Sem Arthroplasty 1994;5:114-21.

[10] Berg M, Bergman BR, Hoborn J. *Ultraviolet radiation compared to an ultra-clean air enclosure. Comparison of air bacteria counts in operating rooms*. J Bone Joint Surg 1991;73-B:811-5.

[11] Garvin KL, Hanssen AD. *Infection after total hip arthroplasty. Past, present, and future*. J Bone Joint Surg Am 1995;77:1576-88.

[12] Parvizi J, Wickstrom E, Zeiger AR, Adams CS, Shapiro IM, Purtill JJ, et al. *Titanium surface with biologic activity against infection*. Clin Orthop 2004;429:33-8.

[13] Alt V, Bechert T, Steinrucke P, Wagener M, Seidel P, Dingeldein E, et al. *An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement*. Biomaterials 2004;25:4383-91.

[14] Cameron HU, Pilliar RM, MacNab I. *The effect of movement on the bonding of porous metal to bone*. J Biomed Mater Res 1973;7:301-11.

[15] Bragdon CR, Jasty M, Greene M, Rubasi HE, Harris WH. *Biologic fixation of total hip implants.* J Bone Joint Surg Am 2004;86a:105-17.

[16] Muschler GF, Nakamoto C, Griffith LG. *Engineering principles of clinical cell-based tissue engineering*. J Bone Joint Surg Am 2004;86-A:1541-58.

[17] Sprick O, Dufek P. *Biological fixation and clinical results of the cement-free Lubecker total endoprosthesis made from spongiosa metal*. Z Orthop Ihre Grenzgeb 1993;131:524-31.

[18] Hulbert SF, Young FA, Mathews RS, Klawitter JJ, Talbert CD, Stelling FH. *Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses*. J Biomed Mater Res 1970;4:433-56.

[19] Diefenderfer DL, Osyczka AM, Reilly GC, Leboy PS. *BMP responsiveness in human mesenchymal stem cells*. Connect Tissue Res 2003;44(Suppl 1):305-11.

[20] Majors AK, Boehm CA, Nitto H, Midura RJ, Muschler GF. *Characterization of human bone marrow stromal cells with respect to osteoblastic differentiation*. J Orthop Res 1997;15:546-57.

[21] Gonzalez Della Valle A, Bostrom M, Brause B, Harney C, Salvati EA. *Effective bactericidal activity of tobramycin and vancomycin eluted from acrylic bone cement*. Acta Orthop Scand 2001;72:237-40.

[22] Klekamp J, Dawson JM, Haas DW, Deboer D, Christie M. *The use of vancomycin and tobramycin in acrylic bone cement: biomechanical effects and elution kinetics for use in joint arthroplasty*. J Arthroplasty 1999;14:339-46.