

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Doktorský studijní program

Studijní obor: experimentální chirurgie



MUDr. David Veigl

Periprotetická osteolýza

Periprosthetic osteolysis

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce: doc. MUDr. Pavel Vavřík, CSc., MBA

Praha, 2011

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem řádně uvedl/a a citoval/a všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 5.1.2011

MUDr. David Veigl

Podpis

Identifikační záznam:

Veigl, David. *Periprotetická osteolýza. [Periprosthetic osteolysis]*. Praha 2011. 85 s.,
2 příl. Disertační práce (PhD). Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta,
Ortopedická klinika. Vedoucí práce Vavřík, Pavel.

Souhrn

Hlavní komplikací náhrady kyčelního kloubu je periprotetická osteolýza. Patří mezi nejčastější příčiny jejího selhání, které vyžadují revizní operaci. Hlavním důvodem vzniku aseptické osteolýzy je reakce organismu na otěrové částice. Nejdůležitějším cílem pro otěrové částice je makrofág, který se po fagocytóze aktivuje a produkuje prozánětlivé faktory, vedoucí v konečném důsledku ke zvýšené kostní resorpci. Patofyziologickým podkladem je pravděpodobně změna rovnováhy systému RANKL/RANK/OPG v mikroprostředí kosti, který ovlivňuje její metabolismus. Dochází ke zvýšení nabídky RANK ligandu, což vede ke zvýšené osteolýze s následkem uvolnění implantátu. V této práci jsme se pokusili ověřit hypotézu, že existuje vztah mezi velikostí osteolýzy, množstvím otěrových částic a expresí RANK ligandu v tkáních obklopujících uvolněnou cementovanou a necementovanou náhradu kyčelního kloubu. Odebrali jsme tkáň 59 pacientů s aseptickým uvolněním náhrady kyčelního kloubu, kteří podstoupili revizní výkon. U 23 pacientů jsme našli RANKL pozitivní buňky. Tyto buňky byly nalezeny převážně u pacientů se selhanými cementovanými náhradami, a to v případech přítomnosti lakunárního typu osteolýzy a u případů, kdy bylo v otěrovém granulomu přítomno enormní množství otěrových částic

Klíčová slova: periprotetická osteolýza, RANKL, otěr, otěrový granulom

Summary

Periprosthetic osteolysis remains the leading complication of total hip arthroplasty. It often results in aseptic loosening of the implant with a requirement for a revision surgery. Wear-generated particulate debris is the main cause of initiating this destructive process. The most important cellular target for wear debris is a macrophage, which responds to particle challenge by activating proinflammatory signals, which contribute to increased bone resorption. The activation of the RANKL/RANK/OPG system is considered to be a likely cause of periprosthetic osteolysis leading to implant failure. The aim of this study was to examine the possible correlation between the clinical extent of osteolysis, the number of wear particles and the expression of the osteoclastic mediator RANKL in the tissues around aseptically loosened cemented and non-cemented total hip replacements. Periprosthetic tissues were harvested from 59 patients undergoing revision hip replacement for aseptic loosening. We had observed RANKL-positive cells in 23 of our 59 patients, their presence was noted predominantly in tissues with a loosened cemented endoprosthesis. We have shown that RANKL is present only in the tissues with a large amount of wear debris and predominantly in the cases involving lacunar type of osteolysis.

Key words: periprosthetic osteolysis, RANKL, wear debris, granuloma

1. Úvod	6
1.2. Teoretický úvod	8
1.2.1 Mechanismus vzniku otěru v kloubních náhradách	8
1.2.2 Základní typy materiálů používaných pro artikulační povrchy	12
1.2.3 Polyetylenový otěr a jeho kvantifikace	13
1.2.4 Biologická reakce na otěrový materiál	20
1.2.5 Effective joint space	27
1.2.6 Periprotetická osteolýza	32
1.2.7 Mechanismus řízení remodelace kosti	39
1.2.8 RANK/RANKL/OPG receptory	43
2. Hypotézy a cíle práce	45
3. Materiál a metodika	48
4. Výsledky	51
5. Diskuse	56
6. Závěry	62
7. Použitá literatura	64

1.1. Úvod

Endoprotézy kyčelního kloubu se běžně používají již více než 40 let. Chirurgická technika i pooperační péče je nyní dokonale propracovaná a většina nemocných je řadu let po operaci s výsledkem plně spokojena. Po úspěchu náhrad kyčle se o dvacet let později obdobně rozšířily náhrady kolena a o něco pomaleji i náhrady dalších končetinových kloubů. Přesto v této oblasti stále existují dosud nevyřešené otázky. S přibývajícím počtem pacientů,

dlouhodobě užívajících některý z kloubních implantátů, se do popředí dostávají problémy spojené s jeho opotřebením a postupným uvolňováním. Závažný je tento problém zejména u mladých a aktivních pacientů s velkými pohybovými nároky, u kterých se někdy již po několika letech setkáváme s nutností výměny endoprotézy pro její uvolnění.

Za jednoho z průkopníků vědeckého přístupu k mechanismu uvolnění náhrady kyčelního kloubu lze považovat sira Johna Charnleyho. Zabýval se tribologií kloubní náhrady a experimentálně ověřil, že významným faktorem vedoucím k uvolnění acetabulární komponenty je koeficient tření, a do praxe zavedl koncept „low friction arthroplasty“ – spočívající v užití kombinace kovové hlavice a po neúspěchu s teflonem jamky z vysokomolekulárního nízkotlakého polyetyleny (dále jen PE). Tvorbu polyetylenového otěru předvídal, ale domníval se, že by neměl být velkým problémem při předpokládaném úbytku plastu 0,1 mm za rok. Tento systém byl ortopedickou veřejností celosvětově přijat a převzat i při konstrukci protéz dalších kloubů. Zpočátku se toto řešení zdálo téměř ideální a PE povrchy se staly prakticky konstatním konstrukčním prvkem většiny běžných endoprotéz.. Problém otěru vystoupil do popředí teprve po mnohaleté funkci desítek tisíc takto zkonstruovaných kloubních náhrad. Willert a Semlitsch (1) jako první popsali reakci organismu na otěrové částice, která by mohla zapříčinit uvolnění endoprotézy biologickým mechanismem. Uvolnili tak lavinu spekulací, úvah i pokusů jak situaci objasnit a změnit. Navzdory novým otěrouzistentnějším artikulačním povrchům, je otěr a periprotetická osteolýza s následným selháním náhrady stále problémem, který dosud nebyl uspokojivě vyřešen (2).

PE se stále používá v ortopedii zejména pro svou vysokou odolnost vůči otěru, spojenou s dostatečnou pevností a houževnatostí. Charakteristická struktura uděluje tomuto polymeru vlastnosti požadované pro dlouhodobou artikulaci polyetylenové jamky s kovovou či keramickou komponentou, především velmi vysokou odolnost vůči otěru a nízký koeficient

tření. PE vykazuje též velmi dobrou biokompatibilitu, přinejmenším do té doby, dokud se z něho do okolních tkání neuvolní vysoká koncentrace otěrových částic.

1.2. Teoretický úvod

1.2.1. Mechanismus vzniku otěru v kloubních náhradách

Všechny typy totálních kloubních náhrad jsou složeny ze vzájemně se pohybujících komponent, které se postupně opotřebovávají mechanismem zvaným otěr. Podstatou otěru je vytrhávání mikroskopických částic z povrchu materiálu, které jsou vzájemně v kontaktu. Materiál, který je měkčí, se postupně opotřebovává a do prostoru se uvolňují jeho částice. Ačkoliv mechanické následky otěru způsobené opotřebením polyetylenových komponent mohou limitovat životnost kloubní náhrady samy o sobě, mnohem závažnější jsou problémy vyvolané zánětlivou biologickou reakcí na uvolnění excesivního množství otěrových částic do lidského organismu. U různých typů endoprotéz se setkáváme s rozdílnými typy otěru. Je nutné rozlišit, jakým mechanismem a kde otěr vzniká. Mezi základní mechanismy otěru patří adheze, abraze, únava materiálu a otěr v důsledku přítomnosti třetího tělesa.

Adhesivní otěr se uplatňuje u dvou kluzných ploch ve velmi těsném kontaktu, kdy meziatomární síly mezi kluznými plochami převáží síly, jimiž materiál drží pohromadě. Abrasivní otěr se uplatňuje, pokud tvrdší materiál (kov či keramika) vykazuje povrchové nerovnosti, které z měkčího materiálu vyrývají otěrové částice. Únavový otěr se uplatňuje, když jsou materiály vystaveny opakovanému namáhání. Pod povrchem materiálu vzniká napětí, které vede k tomu, že se z povrchu materiálu, v tomto případě z polyetylenu, vytrhávají otěrové částice. Tento proces se nazývá delaminace. Otěr v důsledku přítomnosti

třetího tělesa, vzniká v tom případě, že se mezi dvě kluzné plochy dostane třetí těleso, které mechanicky poškozují měkčí část komponenty, v tomto případě obvykle polyetylen (3).

Podle místa vzniku otěru jsou popisovány tzv. módy otěru.

V **módu 1** vzniká otěr vzájemným kluzným pohybem dvou povrchů endoprotézy k tomu určených (např. pohyb hlavičky vůči jamce).

Mód 2 je stav při němž se některý artikulační povrch otírá o jiný povrch implantátu. Například situace, při níž hlavička penetruje polyetylénovou komponentu a dostává se do kontaktu s kovovou kotvící částí jamky (4, 5, 6).

Mód 3 je situace, kdy je mezi dvěma vzájemně se pohybujícími primárními povrchy vmezeženo třetí těleso. Hovoříme o tzv. third body wear, přičemž jako třetí těleso mohou figurovat např. uvolněné fragmenty kostního cementu, drobné částice kosti nebo částice z povrchu implantátu (7, 8, 9).

Mód 4 přichází v úvahu při vzájemném kontaktu dvou povrchů, u nichž k vzájemnému pohybu či kontaktu nemělo vůbec dojít. Může se jednat například a) o impingement krčku femorální komponenty o okraj acetabulární komponenty (10), nebo b) o pohyb uvolněné kloubní náhrady oproti kostnímu lůžku (11, 12), anebo c) o vzájemný pohyb artikulační vložky proti kotvící části- tzv. backside wear (13, 14).

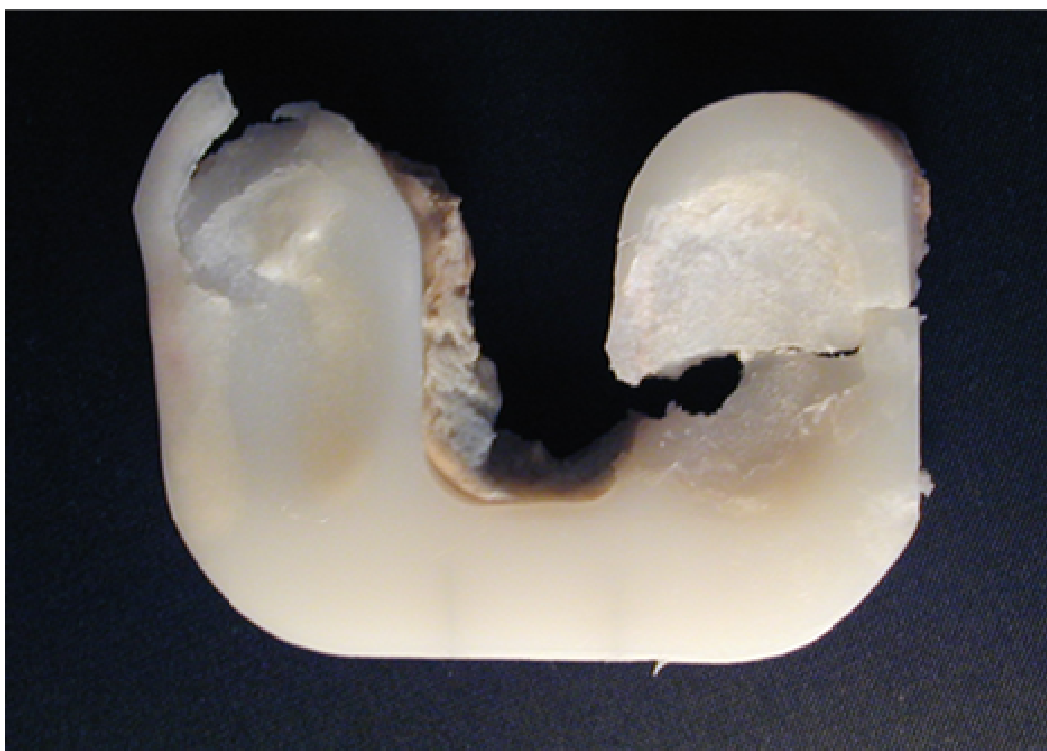
Mód 1 je přirozeně spjat s normální funkcí kloubní náhrady, ostatní módy jsou známkou dysfunkce implantátu a obvykle indikací k revizní operaci náhrady.

Z praktického hlediska je významné, jaké mechanismy otěru se uplatňují u aloplastik různých kloubů. Na základě znalosti mechanismu otěru lze totiž navrhovat nové materiály, které vykazují zvýšenou odolnost vůči převažujícím typům otěru. Tím se samozřejmě prodlužuje životnost kloubních náhrad. U náhrady kyčelního kloubu je základním mechanismem otěru adheze a abraze (15). U náhrady kolenního kloubu hraje významnou roli také únava materiálu a tedy i únavový otěr, což se projevuje podpovrchovou delaminací a

vznikem únavových trhlin (16, 17, 18). Skutečnost, že u náhrad kyčelních kloubů jsou rozhodujícími mechanismy otěru adheze a abraze, zatímco u kolenních kloubů jsou to únava, adheze a abraze dohromady, je považována za zásadní rozdíl. To je také jeden z důvodů, proč někteří výrobci kloubních náhrad používají rozdílné typy PE vložek pro kyčelní a kolenní náhrady. Různé módy a mechanismy otěru lze rozlišit analýzou selhání kloubních náhrad, morfologickou analýzou otěrových ploch nebo morfologickou analýzou otěrových částic (obr.1 a 2).



Obr.1. Deformace acetabulární polyetylenové komponenty. Decentrace středu artikulační komponenty jako následek úbytku polyetylenu v zátěžové zóně



Obr. 2. Extrahované tibiální komponenty – zřejmě jsou podélné rýhy a tzv pitting, vznikající podpovrchovou delaminací

1.2.2 Základní typy materiálů používaných pro artikulační povrchy

Za začátek éry moderní alopplastiky lze považovat zavedení PE do klinické praxe v roce 1962 sirem Johnem Charnleyem. Od té doby je PE v různých modifikacích považován za zlatý standard pro výrobu artikulačních komponent. Přestože se objevily i jiné materiály pro totální endoprotézy (TEP), kloubní náhrady založené na moderních typech PE stále převažují.

V 90. letech bylo zjištěno, že otěr je hlavní příčinou opotřebení PE a následného aseptického uvolnění kloubních náhrad. Reakcí vývojových týmů byla jednak snaha o zkvalitnění PE a jednak výzkum dalších alternativních materiálů, které by mohly PE nahradit. Od počátku 90. let je možno sledovat, díky novým technologiím, dva hlavní trendy z hlediska párování materiálů pro kloubní náhrady:

1. **hard on hard** (tedy dvou tvrdých povrchů) – nosné povrchy tvoří párování typu keramika-keramika, nebo kov-kov, v nedávné době také keramika-kov.

2. **hard on soft** (párování tvrdého a měkčího povrch) - tedy kov-PE nebo keramika-PE

Mezi v současné době používané tvrdé materiály patří kovové materiály a keramické materiály. Z kovových se nejčastěji používá slitina 66% kobaltu, 28% chromu a 6% molybdenu, označovaná jako CoCrMo nebo nerezavějící ocel. Mezi nejběžnější keramické materiály pro TEP patří tzv. alumina ceramics, chemicky Al_2O_3 - v češtině se někdy užívá termín korundová keramika a zirconia ceramics, chemicky ZrO_2 , eventuálně směs obou - Zirconia Toughened Alumina -korundová keramika vyztužená zirkonovou keramikou.

Přestože jsou do praxe zaváděny stále dokonalejší materiály, stále na světě převládá párování PE-kov a PE-keramika, tj. převažuje párování hard-on-soft. Podle současných poznatků je PE nejlepším polymerním materiálem z hlediska biokompatibility (tj. snášlivosti v organismu), mechanických vlastností (tj. pevnost, houževnatost ap.) a otěru (tj. uvolňování

mikroskopických částic z povrchu polymeru v důsledku vzájemného pohybu komponent TEP). Vzhledem ke značnému pohybovému zatížení operovaných kloubů, zůstává polyetylenový otěr jednou z hlavních příčin selhání TEP a tudíž i jedním z hlavních témat výzkumů v oblasti aloplastiky (tab. 1).

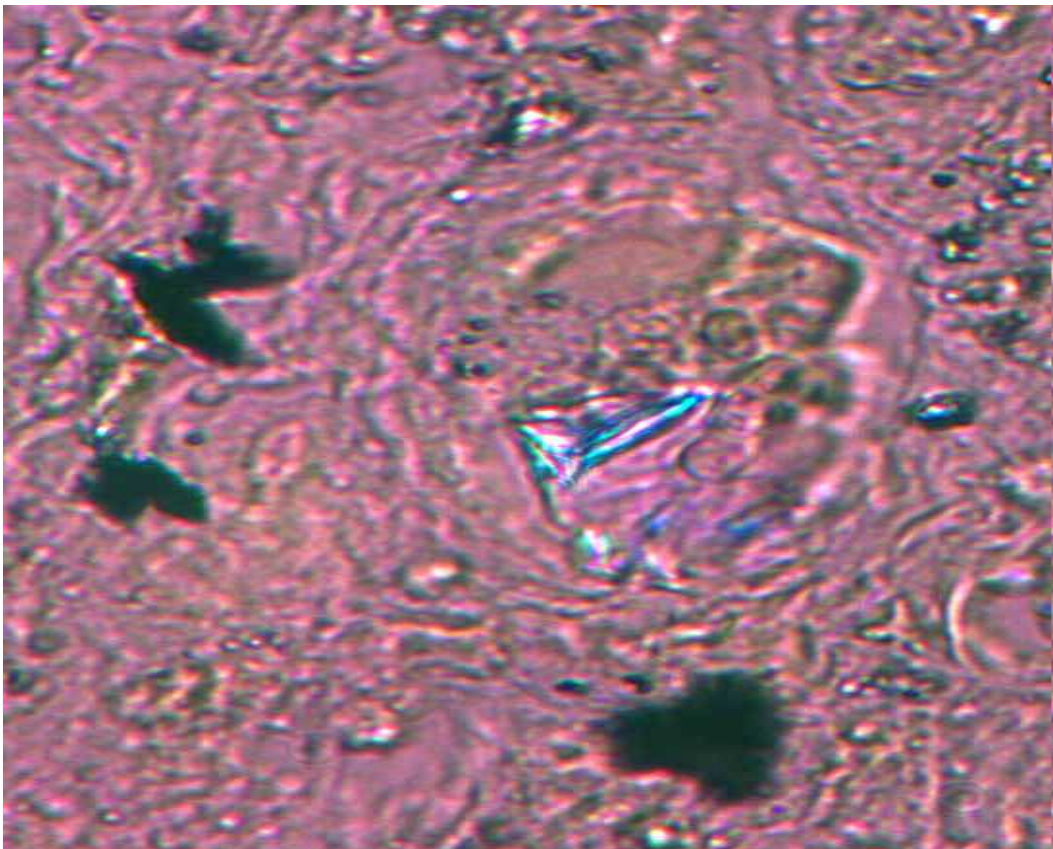
keramika	keramika	1
PE	kov	200x větší otěr
PE	Biolog Delta	100x větší otěr
XLPE	kov	10x větší otěr
XLPE	Biolog Delta	5x větší otěr
kov	kov	2x větší otěr
teflon	kov	10000x větší otěr

Tab. 1. Porovnání otěrových charakteristik kombinací artikulačních povrchů (dle Pokorného)

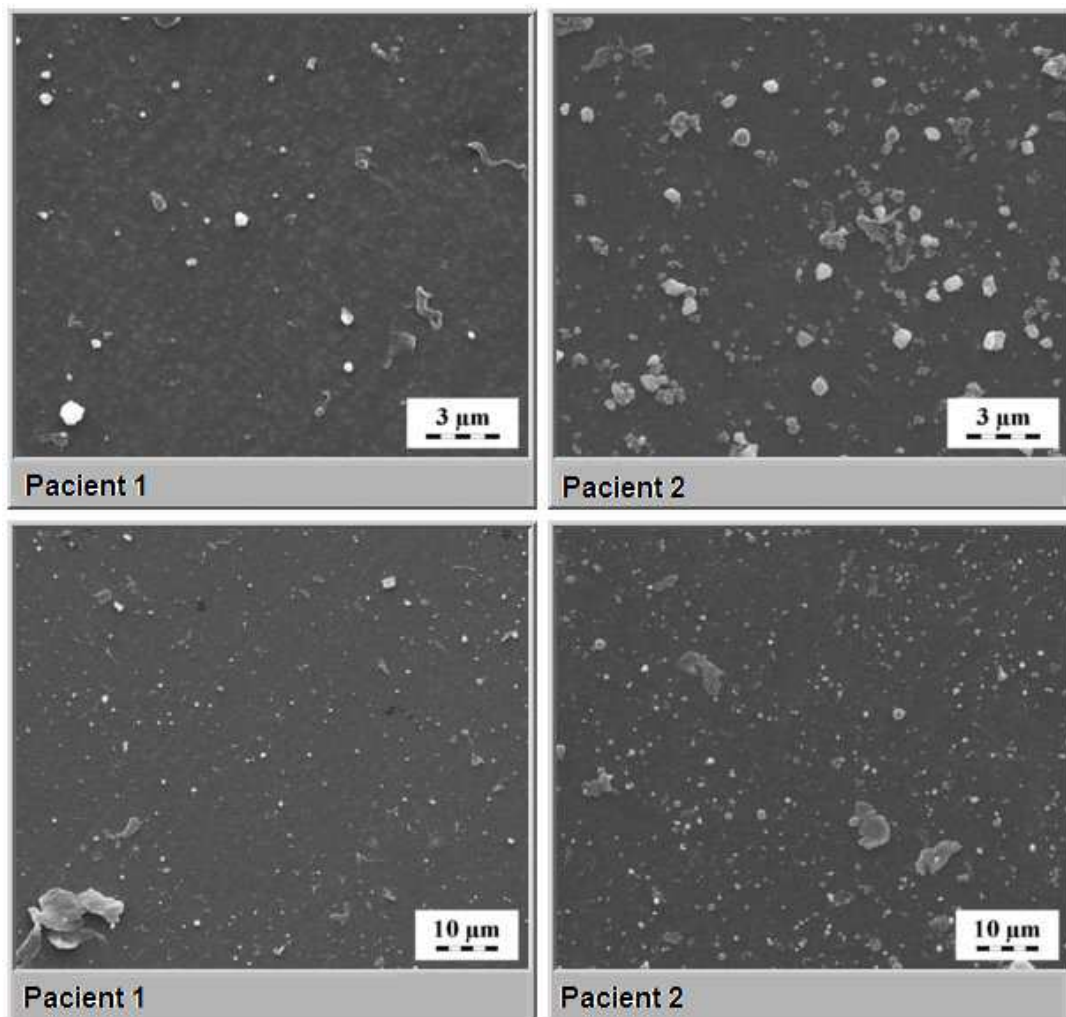
1.2.3 Polyetylenový otěr a jeho kvantifikace

Teprve počátkem devadesátých let bylo zjištěno, že většina otěrových částic polyethylenu je menší než jeden mikrometr. Těchto částic je produkováno ohromné množství, zejména u dobře fungujících kloubních náhrad. Objekty velikosti pod jeden mikrometr nemohou být ve světelném mikroskopu jasně identifikovány, protože rozlišení světelného mikroskopu je limitováno vlnovou délkou viditelného světla (0,4-0,7 mikrometru). Zejména pro tento důvod nebyly polyetylenové částice dříve považovány za možný důvod selhání kloubních náhrad. Při použití polarizovaného světla jsou submikronové částice viditelné jako

barevné difusní pozadí s dvojlomem, umístěné v cytoplazmě makrofágů a obrovských mnohojaderných buněk (19, 20) (obr. 3). Většina částic má rozměry menší než jeden mikrometr (21, 22) (Obr. 4). Postupně byly vypracovány techniky, pomocí kterých bylo možné získávat jednotlivé částice polyetylenového otěru z periprotetických tkání (15, 23, 24, 25, 26). Koncentrace PE částic může dosahovat k bilionům částic v jednom gramu tkáně (21, 22, 25, 27).



Obr. 3. Polyetylenové částice v mnohojaderné buňce (polarizované světlo)



Obr. 4. Polyetylenové částice na mikrofotografii z rastrovacího elektronového mikroskopu

Klinické hodnocení otěru polyetylenových artikulačních povrchů je tradičně založeno na radiografických studiích. Původně tuto metodu popsal Charnley a Halley (28). Na standardních rtg snímcích je měřen stupeň penetrace femorální komponenty do polyetylenu a tato hodnota je nazývána lineárním otěrem (29). K měření lineárního otěru je používána řada různých metod, ale všechny jsou založeny na stejném principu: pořízení RTG snímků vyšetřované kloubní náhrady a ze získaných snímků je vypočítán průnik kovové či keramické femorální hlavice do PE acetabulární vložky. Měření se provádí na pooperačním snímku a následně se porovnávají kontrolní rtg snímky, které se obvykle snímají v ročních

intervalech od implantace kloubní náhrady. Po provedení korekce zvětšení, je rozdíl vzdálenosti mezi prvním měřením a měřením následujících snímků uváděn jako lineární otěr. Uvádí se v milimetrech za rok. Nevýhodou této metody je měření penetrace femorální hlavice do PE vložky pouze v rovině rtg snímku a opomíjí jakýkoliv jiný otěrový vektor penetrace probíhající mimo rovinu snímku. U náhrad kolenních kloubů se postupuje v zásadě podobným způsobem jako u náhrad kyčelních. Analýzou rtg snímků vyhodnocujeme průnik kovové femorální komponenty do tibiálního plata.

Volumetrický otěr je udáván jako množství materiálu, které ubude ze zatěžovaného povrchu za časovou jednotku. Je udáván v mm³ za rok. Pomocí jednoduchého vzorce

$$V = \pi \cdot r^2 \cdot w$$

ve kterém V je změna objemu polyetylenové vložky, r je průměr hlavice a w naměřený lineární otěr lze zhruba odhadnout množství volumetrického otěru (29). Velmi přesně lze potom změřit volumetrický objem na vyjmutých implantátech – například způsobem, kdy je hlavice umístěna do vyjmuté jamky a je měřen objem tekutiny nutný k vyplnění defektního prostoru (30, 31).

Teoretické modely a analýzy vyjmutých vzorků prokázaly, že velikost volumetrického otěru polyetylenových komponent vzrůstá s průměrem femorální hlavice. To je dáno zvětšením kontaktního povrchu. Během toho samého krokového cyklu vzrůstá velikost zatěžovaného povrchu (32). S použitím vzorce pro volumetrický objem $V = \pi \cdot r^2 \cdot w$ se zdá zřejmé, že pro každé dané množství lineárního otěru volumetrický objem narůstá exponenciálně se vzrůstajícím průměrem jamky. V jedné studii je uvedeno, že pro každé zvýšení průměru hlavice o jeden milimetr je nárůst 6,3 kubického milimetru ve volumetrickém objemu za rok (33). V jiné práci se míra volumetrického objemu zvýšila o 7,5 až 10% pro každý milimetr vzrůstu hlavice (31). V dalších studiích byl lineární otěr PE u 32 mm kovové hlavice ekvivalentní k otěru u hlavice s menším průměrem (29,34), byl však

spojen s kostní resorpcí a uvolněním acetabulární komponenty (35, 36, 37). Obecně řečeno hlavice 32 mm mají 4-10x vyšší volumetrický otěr než hlavice 28 mm (33). Původní předpoklad, že dojde k většímu rozložení síly na větší plochu hlavice a následně k redukci otěru se ukázal nesprávný.

Vztah mezi volumetrickým otěrem a periprotetickou kostní resorpcí záleží na počtu polyetylenových částic, které jsou uvolněny do prostoru (takzvaný effective joint space, který zahrnuje všechny periprotetické prostory a tkáně komunikující s kloubní tekutinou) (19). Femorální hlavice o průměru 28 mm s lineárním otěrem 0.05 mm za rok (volumetricky cca 30 mm³) a s jednotlivými otěrovými částicemi velikosti velikosti 0,5 mikrometru vyprodukuje celkově 500 bilionů částic za rok. Při předpokladu, že pacient udělá přibližně jeden milion kroků za rok, tak je to cca 500 000 částic na jeden krok. Toto číslo ovšem velmi úzce souvisí s velikostí jednotlivých částic. Počet částic je při daném celkovém objemu závislý na průměru částice. Jedna sferická desetimikrometrová částice má ten samý objem jako 8 tisíc 0,5 mikrometrových částic. Při daném volumetrickém objemu 30 mm³ by se tedy jednalo o 63 milionů desetimikrometrových částic. Při jednom milionu kroků se pak teoreticky dostaneme k hodnotě 63 vyprodukovaných otěrových částic na jeden krok (15).

Práce, které se zabývaly velikostmi částic získaných z periprotetických tkání a analýzy opotřebovaných polyetylenových artikulačních vložek prokázaly, že průměrná velikost PE otěrových částic se pohybuje kolem 0,5 - 0,82 mikrometru (15, 21, 22, 25, 38). Jestliže je velikost částic konstantní, potom nárůst ve volumetrickém objemu vede k většímu množství polyetylenových otěrových částic. Je třeba si také uvědomit, že použití materiálů produkujících menší volumetrický objem nemusí být nutně výhodou, jestliže jsou produkovány částice, které jsou nejvíce biologicky aktivní (viz dále kapitola 1.2.4). Při kombinaci mechanických a biologických požadavků na vlastnosti nových materiálů je

důležité nejen se snažit o redukci objemu otěru, ale také o redukci produkce nejvíce biologicky aktivních částic (39).

Endo v roce 2002 publikoval studii, kde porovnal míru otěru a charakter otěru s ohledem na zjištěnou odezvu makrofágů u klasického vysokomolekulárního PE a XLPE ozářeného 4Mrad. XLPE je polyetylen ozářený pomocí gama paprsků (gamma irradiation) nebo urychlených elektronů (e-beam irradiation), které vede k síťování polymerních řetězců, tzv. cross-linking. Pojem síťování znamená vytvoření příčných kovalentních vazeb mezi jednotlivými makromolekulami. Použil sedm hlavic průměru 28mm z CoCr, 4 PE jamky sterilizované etylenoxidem a 3 PE jamky sterilizované 4 Mrad. Testován byl otěr na kyčelním simulátoru v průběhu 3 miliónů cyklů. Studie dále pokračovala na hlavicích, do kterých byly diamantovým hrotem udělány definované vrypy. Implantáty pak prošly testováním dalšími 2 milióny cyklů. Cílem bylo provést výpočet specifické biologické aktivity (SBA) a funkční biologické aktivity (FBA). Ta vychází z hodnoty tzv. biologické aktivity (B). Tato hodnota byla zjištěna dřívějšími pokusy, které hodnotily reakci buněčné kultury lidských makrofágů na otěrové částice konkrétní velikosti. Biologická aktivita závisí na velikosti částic, označujeme ji jako $B(r)$, kde r je rozměr částice. Druhým parametrem pro výpočet SBA je objemová koncentrace C , která je rozdílná pro různé velikosti částic, je tedy také závislá na velikosti částic a značíme ji $C(r)$. Specifická biologická aktivita SBA (biologická aktivita na jednotku objemu otěru) se vypočte podle rovnice:

$$SBA = \int C(r)B(r)$$

Funkční biologická aktivita FBA (celková biologická aktivita neboli skutečný osteolytický potenciál otěrových částic o objemu V , který se z daného materiálu uvolní za 1 rok) se vypočte podle rovnice:

$$FBA = V \times SBA$$

V praxi je význam SBA a FBA následující: SBA udává nebezpečnost jednotkového množství daných otěrových částic, zatímco prakticky důležitější hodnota FBA udává nebezpečnost všech otěrových částic uvolněných z daného materiálu za 1 rok. Získané výsledky jsou velice zajímavé: míra otěru u klasického PE byla $49 \text{ mm}^3/\text{milión cyklů}$, u XLPE 4Mrad $35 \text{ mm}^3/\text{milión cyklů}$. XLPE má tedy asi o 30% menší otěr; současně ale produkuje větší počet malých biologicky aktivních částic velikosti 0,1-1 mikrometr. Proto XLPE má výrazně vyšší hodnotu SBA a po přepočtu i mírně větší hodnotu FBA, neboť i když počet částic je menší, je větší zastoupení biologicky aktivních částic.

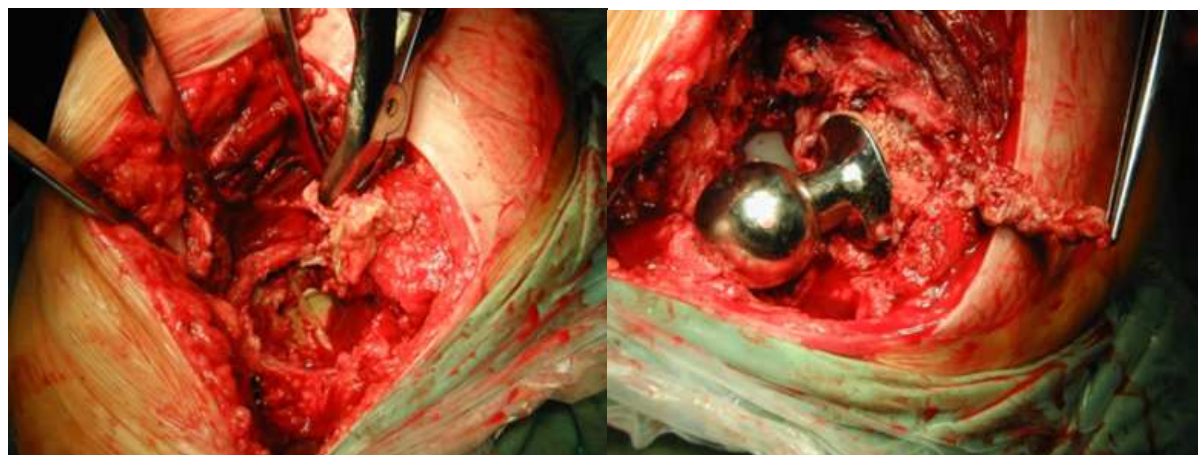
Míra otěru polyetylénu u kloubní náhrady může být značně variabilní. Záleží na mnoha proměnných, mezi které náleží charakteristiky pacienta, konstrukce kloubní náhrady a operační technika. Ohledně pacienta tyto proměnné zahrnují věk, pohlaví, váhu, zdraví a obecně aktivity spojené s používáním kloubní náhrady. Proměnné týkající se implantátu jsou ovlivněny jeho konstrukcí, jeho designem a kvalitou zpracování. Správná technika implantace zaměřená na přesnost umístění komponent a vyvážení silového působení měkkých tkání jsou zásadní, protože jen tak lze dosáhnout optimalizovaného zatěžování artikulačních povrchů.

Obecnou nepřesností klinických studií je vztažení velikosti otěru k délce funkce náhrady. Při hodnocení rychlosti otěru je tradičně dáván do jmenovatele čas a to pro jeho výhodnost, nikoliv ovšem přesnost. Daleko přesnější je používání množství cyklů, tak jak je to udáváno v in vitro studiích. Otěr kloubní náhrady je funkcí užívání nebo počtu cyklů, nikoliv však funkcí času. V klinických studiích se předpokládá, že všichni pacienti s kloubní náhradou mají tu samou úroveň aktivity, jinými slovy počty cyklů zatížení kloubní náhrady jsou přibližně stejné. Schmalzried sledoval úroveň aktivity 111 pacientů, kteří měli totální náhradu kloubu dolní končetiny (40). Spočítal průměr 0,9 milionu cyklů na každý kloub na dolní končetině za rok. Toto číslo je blízko jednomu milionu cyklů předpokládané Seedhomem na základě studie devíti starších pacientů na dovolené, kteří ale neměli kloubní

náhradu (41). Schmalzried našel velké množství rozdílů (45) v rozsahu a typu chodících cyklů mezi nejméně aktivním a nejméně aktivním. Počet kroků se pohyboval mezi 395 to 17718 denně. Nejméně aktivní jedinec měl průměr 3,2 milionu cyklů za rok, 3,6 krát více než byl průměr. Vysoká variabilita byla zjištěna v množství chůze u různých věkových kategorií. Jedinci mladší 60-ti let chodili průměrně o 30 procent více, než jedinci starší 60-ti let. Muži chodili v průměru o 28 procent více než ženy. Nejvíce nachodili muži, mladší 60-ti let. V průměru o 40 procent více než ostatní sledovaní jedinci. Vysoká míra variability v individuální aktivitě nepochybně přispívá k míře otěru a je otázkou, jakým způsobem s touto proměnnou v klinických studiích nakládat.

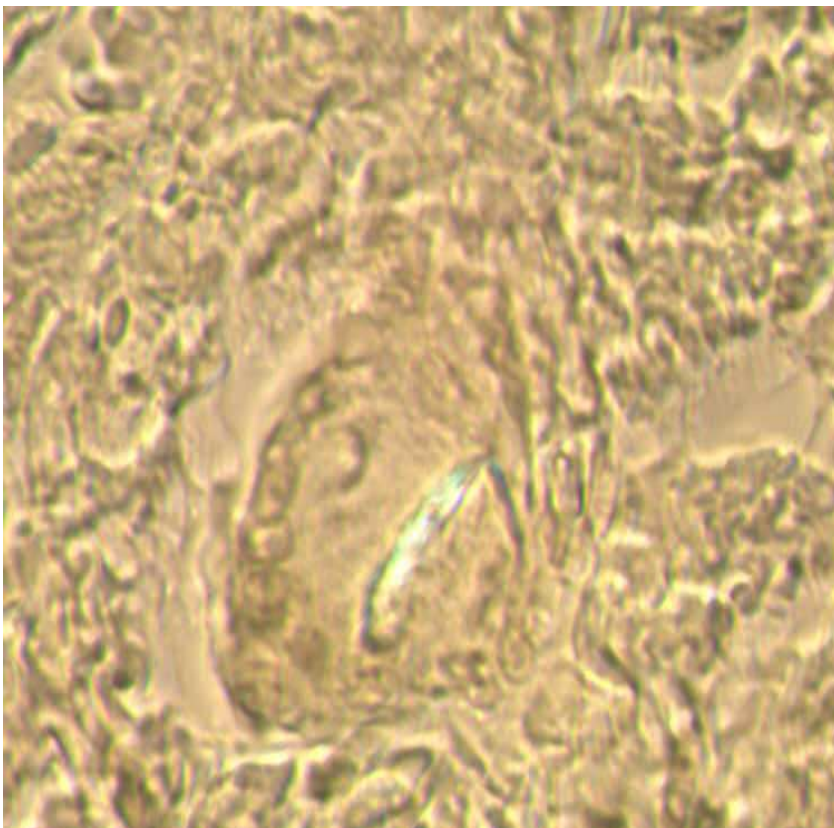
1.2.4 Biologická reakce na otěrový materiál

Po implantaci kloubní náhrady postupně dochází k vytvoření jakéhosi nového kloubního pouzdra s pseudosynoviální membránou (42, 43, 44, 45, 46) (obr. 5). Postupně dochází k vaskularizaci této tkáně. Histologicky jsou v ní obsaženy fibroblasty, histiocyty, monocyty a mnohоядерné buňky.



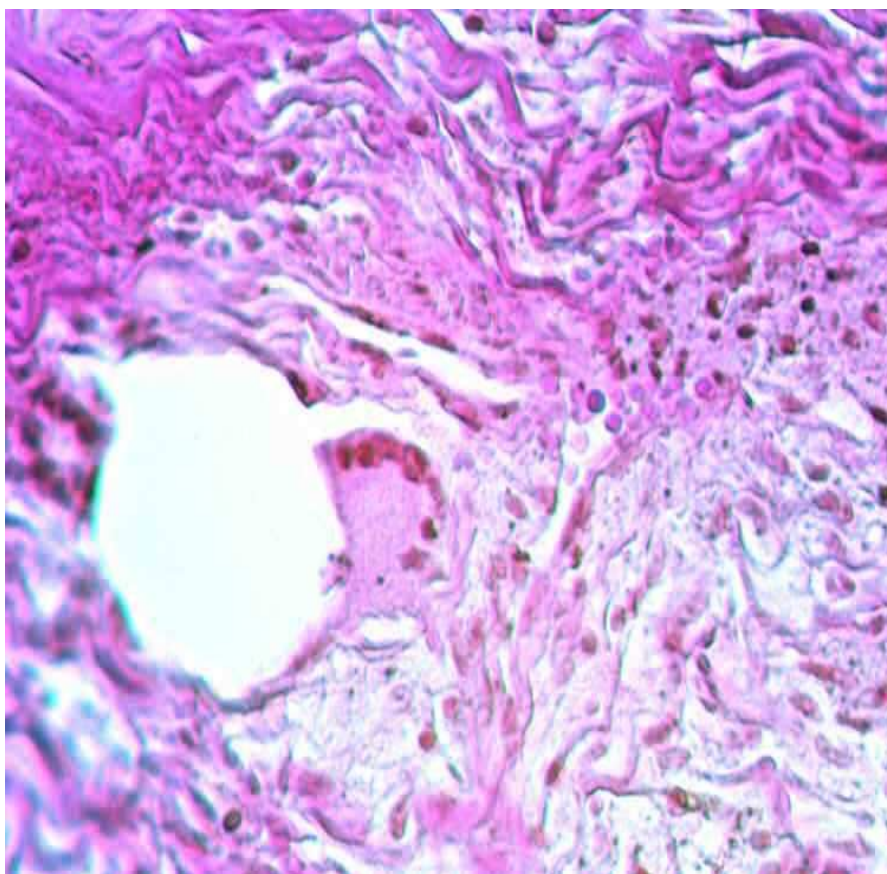
Obr. 5. Odběr granulační tkáně z oblasti acetabula (zóna III) a prox. femuru (zóna 7)

Do tohoto kloubního pouzdra se uvolňují otěrové částice polyethylenu, kovu, keramiky, cementu a dalších materiálů používaných při konstrukci kloubních náhrad. Jako hlavní viník reakce celé kaskády procesů vedoucích k osteolýze je považován otěr vysokomolekulárního polyethylenu, základního konstrukčního materiálu artikulační plochy většiny implantátů (15, 47, 48, 49). Otěrové PE částice vznikají při zatěžování a vzájemném pohybu komponent, jinak stabilního, do kosti plně integrovaného implantátu. Přítomnost větších otěrových částic lze zjistit i ve světelném mikroskopu s polarizovaným světlem. Velikost částic se pohybuje od desetiny μm do cca 10 μm . Průměrná velikost je udávána mezi 0,50 - 0,82 μm . Makrofágy jsou schopny fagocytovat částice do velikosti 2,5 μm . Velké částice vznikající např. u přetěžovaných kolenních náhrad (obr. 6), které nemohou být fagocytovány jedním makrofágem jsou obklopeny větším počtem těchto buněk, které pak splývají a vytvářejí mnohojaderné obrovské buňky kolem cizích těles.



Obr. 6. Mnohojaderná buňka s fagocytovanou částicí polyethylenu

Částice polymethylmetakrylátu (dále PMMA) vznikají fragmentací kostního cementu. V minulosti byly považovány za hlavní příčinu reakce tkáně proti cizímu materiálu a s tím související osteolýzu a uvolnění implantátu. Tato teorie vedla k intenzivnímu rozvoji necementovaných kloubních náhrad. Je obtížné hodnotit tvar a velikost otěrových částic vznikajících z cementu pozorováním ve světelném mikroskopu, protože při obvyklém histologickém zpracování tkání dochází k jejich rozpuštění a odplavení organickými rozpouštědly (obr. 7).



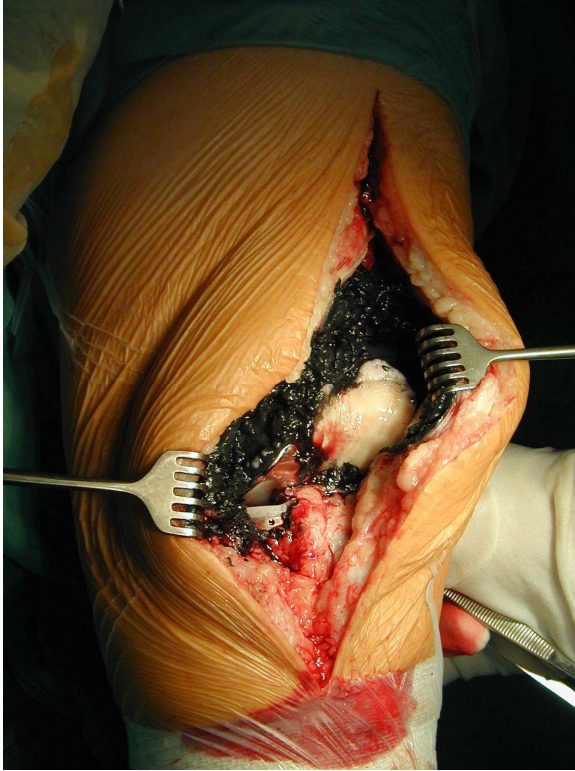
Obr. 7. Částice polymethylmetakrylátu jako defekt v tkáni, obklopená mnohojadernými buňkami

V několika pracích (50, 51) byly tkáně zpracovány s ohledem na zachování těchto částic. Plynou z nich tři hlavní závěry: přítomnost částic PMMA není obvyklým nálezem v tkáních obklopující uvolněnou endoprotézu, tyto částice jsou relativně velké a oválné. Obvykle jsou spíše obklopeny velkými buňkami z cizích těles, než aby byly umístěny intracytoplazmaticky, a jejich přítomnost není v přímém vztahu k přítomnosti makrofágů a osteoklastů resorbujících kost.

Role otěrových částic nejčastěji užívaných kovů (titan, chromkobalt, ocel) v procesu uvolnění a migrace kloubní náhrady je obdobná (52, 53). Kovové otěrové částice obvykle vznikají při módu 2 a 4 (nepočítaje v to párování artikulačních povrchů kov-kov, které není příliš rozšířené). Makroskopicky nacházíme kolemkloubní tkáň zbarvené do různých odstínů šedi (obr. 8 a 9).

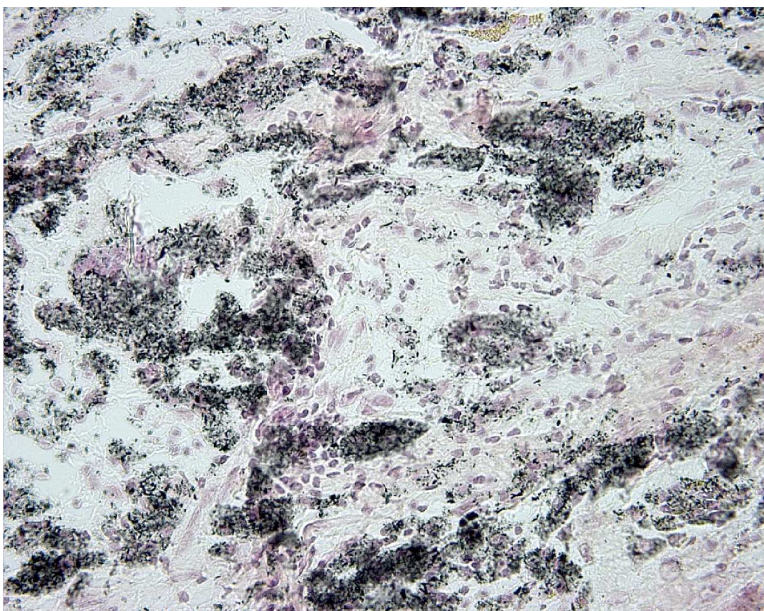


Obr. 8. Granulační tkáň obalující uvolněnou kloubní náhradu



Obr. 9. Metalóza kolemklobních tkání při selhání náhrady kolenního kloubu.

Mikroskopicky jsou drobné částičky kovového otěru snadno identifikovatelné. Nacházejí se jak intracytoplazmaticky, tak volně v mezibuněčném prostoru (obr. 10).



Obr. 10. Otěrový granulom s masivní přítomností kovových částic

Základním patofysiologickým mechanismem v procesu uvolnění je nespecifická reakce na cizí těleso (54). Klíčové buňky zodpovědné za tuto reakci, pocházejí z monocyto-makrofágové řady (monocyty, makrofágy, obrovské buňky z cizích těles a osteoklasty) a z buněk mezenchymálního původu (osteoblasty, fibroblasty a další stromální buňky). V odebraných tkáních jsou pravidelně zachyceny i T-lymfocyty, jejich přítomnost však není zcela jasná, pravděpodobně modulují reakci na cizí těleso, nicméně nejsou zcela nezbytné pro vývoj reakce na cizí těleso, jak prokázaly pokusy na myších (54, 55, 56).

Uvolněné otěrové částice přicházejí do kontaktu s okolními tkáněmi. Zde iniciují buněčnou reakci na cizorodý materiál. V literatuře se udává tzv. kritické množství částic. Bylo zjištěno, že všechny materiály používané na náhrady kloubů jsou schopné vyvolat zánětlivou reakci na cizí těleso, pokud jsou částice v jistých velikostech a pokud jich je dostatek. Biologická aktivace makrofágů a následně jejich schopnost resorpce kosti in vitro je funkcí velikosti, tvaru a složení částic a je závislá na dávce (23, 57, 58, 59). Existuje horní velikostní limit na fagocytózu částic, ale samozřejmě může existovat i limit na dolní hranici velikosti částic. Pro danou koncentraci částic, stimulační efekt polyetylenových částic in vitro klesá pokud jsou částice větší než 7 mikrometrů a menší než 0,2 mikrometru (60).

Podle studií Kobayashi a Kadoyi (61) je pro aktivaci makrofágů a nastartování procesů vedoucích k osteolýze důležité množství PE částic na gram tkáně - konkrétně asi 10^{12} , což podle některých prací přibližně odpovídá lineárnímu otěru 0,1 mm/rok (tj. u kyčelních náhrad penetrace femorální hlavice do acetabulární vložky 0,1 mm za rok).

Při vlastní reakci organismu na cizí těleso dochází v první fázi k adsorpci proteinů z krevní plazmy nebo tkáňové tekutiny (koagulační faktory, faktory komplementu apod.) na otěrové částice. V další fázi jsou adsorbované proteiny rozpoznávány specifickými povrchovými receptory monocytů, makrofágů a trombocytů. K adhezi těchto buněk dochází

v menší míře i na materiály, na které se sérové proteiny neadsorbovaly. Adherované monocyty se aktivují, exprimují některé receptory (např. membránové lektiny) a mění se v makrofágy, jež poté fagocytují otěrové částice. Makrofágy mohou posléze splývat v mnohojaderné buňky a svými produkty, zejména IL-1 a TNF, vyvolávají lokální nebo systémovou reakci. V tkáni obklopující uvolněnou kloubní náhradu byla identifikována celá řada cytokinů: Macrophage-colony stimulating factor (M-CSF), řada interleukinů (IL-1, IL-6), TNF α , prostaglandinů (E2), transformující růstové faktory (TGF β), metaloproteinasy (62, 63, 64, 65, 66, 67).

M-CSF je cytokin regulující proliferaci, diferenciaci a funkci monocyto-makrofágové řady, indukuje osteoklastogenezi regulací proliferace prekurzorů osteoklastů a ovlivňuje jejich funkci. Dle japonských autorů (68) přítomnost M-CSF ve větším množství než u pacientů s revmatoidní artritidou nebo osteoartrózou naznačuje jeho důležitou roli při procesu uvolnění kloubní náhrady. Vyvozují, že je pravděpodobné, že lokálně produkovaný M-CSF, urychluje osteoklastickou kostní resorpci jak v místě uvolněné, tak i v místě dosud pevně fixované protézy, kam penetruje podobně jako otěrové částice. IL-1 a IL-6 jsou prozánětlivé cytokiny, jež ovlivňují funkci mnoha buněčných linií zahrnujících monocyty, makrofágy, fibroblasty, osteoblasty, osteoklasty, B i T lymfocyty. IL-1 a IL-6 mají důležitou roli v modulování funkcí imunitního systému jako je růst, diferenciace a remodelace mezenchymální tkáně. Zaujímají důležitou roli v osteoklasty zprostředkované kostní resorpci, ve které stimulují diferenciaci a zrání prekurzorů osteoklastů (64, 69). Také účinek TNF α je prozánětlivý. TGF β je všeobecně protizánětlivý, imunosupresivní cytokin, důležitý při obnově a remodelaci mezenchymální tkáně (70).

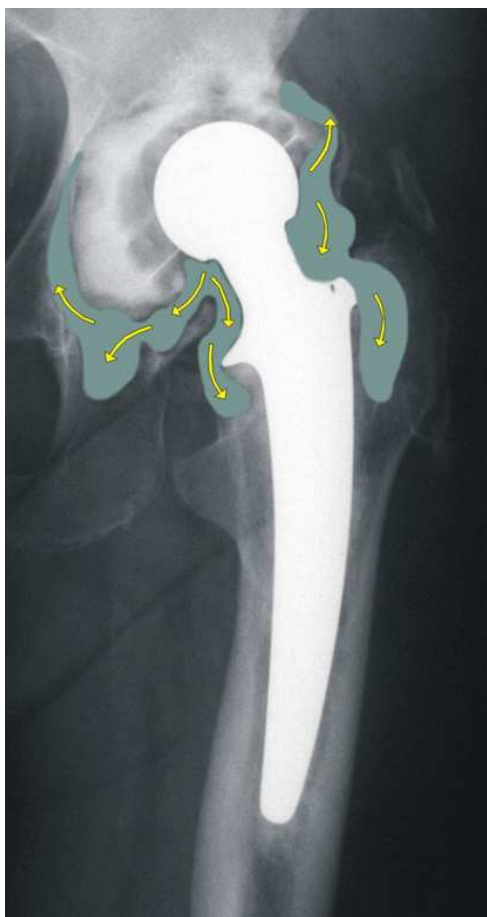
Tkáň nacházející se v mezivrstvě kost – implantát obsahuje množství typů buněk a cytokinů, jež se vzájemně ovlivňují. V kostním lůžku lze identifikovat jak pro- tak protizánětlivé mediátory, které přímo modulují kostní metabolismus. Studium imunitních reakcí a

jejich vztah k metabolismu kosti je předmětem mnoha vědeckých prací, nejen v souvislosti s implantáty (71).

1.2.5. Effective joint space

V roce 1977 Willert publikoval své poznatky získané při revizních operacích uvolněných náhrad kyčelních kloubů (72). Identifikoval fibrozní kapsulu, obalující kloubní náhradu, ze které bylo možné vysledovat transport otěrových částic cestou lymfatických cév, což vedlo k jejich jak regionální, tak i systémové distribuci. V případě překročení kapacity eliminace otěrových částic cestou lymfatických cév dochází k jejich akumulaci v periartikulárních tkáních. Toto fibrozní pouzdro je současně i primárním místem, kde dochází k fagocytóze otěrových částic. Výsledkem je tvorba granulomu z cizích těles s oblastmi nekrózy a fibrózy, jejichž rozložení je proporcionální k množství otěrových částic. Rozsahlá reakce na cizí těleso může v prostoru implantát-kost způsobit uvolnění kloubní náhrady.

Uvolňující se částice jsou při pohybu implantátu hydraulickými silami vtlačovány do štěrbinovitého prostoru, který částečně nebo úplně obklopuje implantát - effective joint space (19) (obr. 11). Effective joint space zahrnuje všechny periprotetické oblasti, které jsou přístupné kloubní tekutině a potažmo přístupné i otěrovým částicím. Jeho velikost je dána kvalitou osteointegrace implantátu. Prostor je tím větší, čím je horší spojení implantátu s kostním lůžkem. Za optimální situace a ideální osteointegrace implantátu by efektivní kloubní prostor sahal pouze k okrajům kloubní jamky a k místům kde díky vystupuje z dřevné dutiny femuru.



Obr. 11. Effective joint space - schema

Zdá se, že nejlepší výsledky osteointegrace a tím i redukce effective joint space poskytují necementované implantáty opatřené porézními povrchy, případně doplněné bioaktivní vrstvou (např. hydroxyapatit) dovolující intimní kontakt mezi kostí a povrchem implantátu (obr. 12) (73, 74, 75). U implantátů fixovaných cementem je mezi kostí a cementem prakticky vždy různě silná vazivová membrána, dovolující za jistých podmínek migraci otěrových částic kolem implantátu. Tuto situaci se nepodařilo zcela vyřešit ani různými změnami konzistence cementu a cementovacích technik.

Tekutina v tomto prostoru teče v souladu s tlakovým gradientem, následuje cesty nejmenšího odporu. Směr toku kloubní tekutiny ovlivňuje tvar a rozsah osteolýzy. Lokální koncentrace částic je jedním z faktorů lokální zánětlivé reakce a tím i stupně kostní destrukce.



Obr. 12. Femorální komponenta s kombinovaným porézním povrchem s vrstvou hydroxyapatitu, umožňující vrůst implantátu do kosti

Při resorbci kosti, dochází ke zvětšení prostoru, což usměrňuje tok kloubní tekutiny a otěrových částic do této lokalizace a následně vede k expanzi léze. V případě nízké míry produkce otěrových částic je stupeň kostní resorpce pomalejší ve formě lineární osteolýzy konturující okraje implantátu.

Vyjma otěrových částic byly v kloubní tekutině identifikovány rozpustné faktory schopné přímo či nepřímo ovlivnit kostní resorpci (IL-1 β , TNF- α , IL-6, RANKL, OPG, metaloproteinázy) (76, 77, 78, 79). Tyto faktory mohou hrát důležitou roli při osteolýze. Andersson a spol. ověřili, že výpotek z kloubu s uvolněnou TEP, resp. s periprotetickou osteolýzou, stimuluje resorpci intaktní kosti in vitro, zatímco výpotky ze zdravých kloubů tuto schopnost nemají (80). Při studiu vlivu výpotku ze selhávajících kloubních náhrad na kulturu lidských osteoblastů Anderson zjistil, že výpotek z asepticky uvolněných endoprotéz tlumil osteoblasty a měl antiproliferační efekt (81).

Změny tlaku kloubní tekutiny hrají roli při jejím transportu a transportu otěrových částic v oblasti effective joint space. Hendrix (82) udává velké změny v tlaku tekutiny uvnitř kloubního pouzdra náhrady kyčelního kloubu, které kolísají během denních aktivit, s maximálním tlakem dosahujícím více jak 750 mm rtuťového sloupce (100 kPa). Během reoperací pro selhání kloubní náhrady byl naměřen intrakapsulární tlak více jak 500 milimetrů rtuťového sloupce (67 kPa) (37). Antony naměřil tlak uvnitř osteolytické kavity v diafýze femuru 198 mm rtuťového sloupce (26 kPa) (11). K expanzi effective joint space může tedy docházet i díky vysokému intrakapsulárnímu tlaku kloubní tekutiny. Klasické expanzivní kavitární osteolytické léze mohou tedy vzniknout následkem tlaku kloubní tekutiny a ve směru jejího toku. Zjištěné hodnoty jsou dosti vysoké, aby byly schopny interferovat s normální perfusí a oxygenací kosti. Fyzikální efekt tlaku může také vysvětlit případy osteolýzy, ve kterých nebyly nalezeny otěrové částice v osteolytických lézích (83, 84).

V případě normálního synoviálního kloubu, jako je například kyčelní nebo kolenní kloub, není kost vystavena přímému tlaku kloubní tekutiny. Hranice kloubu je určena kloubním pouzdem a uvnitř kloubního pouzdra je kost kryta chrupavkou a synoviální výstelkou. Při osteoartróze a takéž po implantaci kloubní náhrady je normální anatomické oddělení jednotlivých kompartmentů porušeno. Zvýšený kloubní tlak v případě osteoartrózy může vést ke vniknutí kloubní tekutiny do spongiózní kosti skrze degenerovanou kloubní chrupavku a následně může docházet k rozvoji periartikulární kostní resorpce se vznikem cyst. Někteří autoři považují za zásadní velikost tlaku tekutiny v kloubu při zvětšování těchto cyst (85, 86). Tlak uvnitř kloubu závisí na mnoha proměnných, které zahrnují sílu kloubního pouzdra, velikost kloubu, momentální pozici kloubu a svalovou aktivitu. Tlak tekutiny se výrazně zvyšuje při pohybu a tento tlak je přenášen do periartikulárních cyst. Důležitým rozdílem mezi artrotickou cystou a osteolytickou cystou spojenou s náhradou kloubní je přítomnost aktivovaných makrofágů. Artrotické cysty sice vznikají bez této reakce na cizí

těleso, ale cytokinový profil v kloubní tekutině je podobný jako u osteolytických lézí kolem náhrad kloubů (87).

Effective joint space se může rozšiřovat jak do kosti, tak i do měkkých tkání (88, 89, 90). Zvýšený intrakapsulární tlak může být bolestivý a způsobit tvorbu synoviálních cyst, případně i rupturu kloubního pouzdra (91). Kyčelní kloub může komunikovat s bursou iliopsoatu (obr. 13) a pokud dojde k její distenzi, může se stát symptomatickou. Podobný proces může probíhat i u kolenního kloubu, kde dochází k naplnění semimembranozní burzy v poplitei. V oblasti effective joint space kloubní tekutina hledá cestu nejmenšího odporu, může pronikat do různých prostorů v závislosti na technických specifikacích kloubních náhrad a také na momentálním anatomickém uspořádání měkkých tkání a kosti.



Obr. 13. Rozsáhlá cysta iliopsoatu v souvislosti s náhradou kyčelního kloubu

1.2.6 Periprotetická osteolýza

Periprotetická osteolýza je klasicky popisována jako lineární či kavitární úbytek kostní hmoty konturující kloubní náhradu, vedoucí k jejímu uvolnění z kostního lůžka a následně k jejímu selhání. Ačkoliv je pravděpodobné, že na vzniku periprotetické osteolýzy kosti se účastní více mechanismů, většina literárních údajů, která se touto problematikou zabývá, dává za hlavní příčinu inicializace osteolýzy biologickou reakci na drobné otěrové částice vznikající při funkci kloubní náhrady. K úbytku kosti může docházet také v důsledku redukce zatížení přenášené na kost, jako takzvaný stress-shielding. Oba procesy mohou probíhat současně. K rozsáhlé kostní resorpci může docházet následkem zvýšené remodelace kosti tlakem nestabilní endoprotézy (resorpce kosti v místě přímého tlaku – Wolfův zákon) a nebo působením kloubního výpotku (viz výše).

V roce 1968 Charnley publikoval práci, kde popsal kavitární endostální erozi na femuru v souvislosti s cementovanou náhradou kyčelního kloubu. Měl podezření, že tato kostní eroze byla způsobena infektem (92). Pozoroval také cystickou erozi v diafýze femuru v souvislosti se zlomeninou dřívku a domníval se, že rozlámaný okraj cementového pláště byl způsoben únavou materiálu (93). Ve vzorcích tkáně byly nalezeny četné částice polymetylmakrylátu, ale nikoliv polyetylenové částice. V roce 1976 Harris publikoval stejný typ kavitární osteolýzy v oblasti proximální části femuru v okolí uvolněné totální náhrady kyčelního kloubu (94). Odebrané vzorky tkáně vykazovaly vysokou koncentraci makrofágů a mnohojaderných buňek z cizích těles. Četné sférické dutiny variabilních velikostí byly vyplněny částicemi PMMA. Toto byl jeden z počátků určení konceptu takzvané nemoci z cementu (95, 96, 97). Jasty popsal osteolýzu v souvislosti PMMA částicemi u dobře fixovaných náhrad kyčelních kloubů, které byly fixovány kostním cementem (34). Polyetylenové otěrové částice nebyly identifikovány do té doby, dokud nebyla nalezena

endostální osteolýza kolem uvolněných femorálních komponent fixovaných bez použití cementu. Až poté se polyetylen a ostatní materiály začaly podezírat jako příčina zánětlivé reakce a s tím spojené kostní resorpce.

V roce 1990 Antoni prokázal komunikaci mezi kloubem a endostálním povrchem femuru jednak štěrbinou mezi dříkem a cementem (popsáno Fornasierem a Cameronem) a jednak skrze defekt v cementovém plášti (11). Ve vzorcích z oblasti osteolýzy byly identifikovány částice kovů, polyetylenu a cementu umístěných intracytoplazmaticky v makrofázích. Arthrografie kyčle provedená po cvičení prokázala přesun kontrastního materiálu z oblasti kyčle do oblasti osteolýzy. Při studiích dobře fungujících náhrad kyčelních kloubů bylo zjištěno, že u mnoha náhrad se vyskytuje jistý stupeň separace femorálního dříku od cementového pláště, takzvaný debonding (98, 99, 100). V souvislosti s debondingem byly pozorovány zlomeniny cementového pláště, které začínaly na rozhraní cement-kov, obvykle v rozích cementového pláště a nebo v souvislosti s defekty v cementu. Zlomeniny cementu nejčastěji probíhají v oblastech, kde je cement tenký nebo v souvislosti s klinicky zjištěnými defekty v plášti. Obvyklý nález u pacientů s femorální endostální osteolýzou je nález defektu v cementovém plášti. Riziko výskytu osteolýzy je významně sníženo pokud při cementování implantátu nedochází k technickým chybám (101). Debonding nevede ke vzniku lokalizované osteolýzy v případě, že nedochází k poškození cementového pláště (102, 103). Tato zjištění vedla jednak ke zlepšení designu cementovaných femorálních komponent a jednak ke zlepšení technik cementování.

Diafyzární endostální osteolýzu nacházíme i u necementovaných femorálních komponent a to v případě takového typu povrchové úpravy proximálního konce komponenty, která nezaujímá celý obvod implantátu (104, 105). Toto je zřejmě zapříčiněno faktem, že kloubní tekutina společně s otěrovými částicemi může pronikat štěrbinou mezi kostí a implantátem do diafýzy femuru. Tento typ osteolýzy není přítomen u implantátů

s extenzivním porosním nástřikem kolem celého obvodu femuru, dokonce ani v přítomnosti stress-shielding fenoménu (106, 107, 108, 109).

V případě cementovaných acetabulárních komponent je typický lem v oblasti linie cement-kost, někdy také nazývaný tzv. měkký lem. Začíná se objevovat v oblasti distálního pólu a šíří se směrem proximálním (110, 111) (obr. 14). Vysoce signifikantní souvislost (p menší jak 0,01) byla prokázána mezi hodnotou lineárního otěru a uvolněním acetabulární komponenty. Lineární otěr 0,2 mm/rok je spojen se 100% selháním náhrady kyčelního kloubu, lineární otěr 0,15 mm/rok je spojen se zvýšeným rizikem selhání náhrady (112, 113, 114). Obecně lze říct, že dlouhotrvající funkce kloubní náhrady je nepravděpodobná při vysoké hodnotě lineárního otěru polyetylenu.



Obr. 14. Osteolytický lem v oblasti distálního pólu cementované acetabulární komponenty

Podobně může osteolýza probíhat i u necementovaných acetabulárních komponent (115, 116). Přítomnost lemu kolem kloubní náhrady v určité míře závisí na typu fixace jamky. Pravděpodobněji se progresivní radiolucenční linie rozvine v případě komponent s přítomnou štěrbinou mezi implantátem a kostí, než u jamek bez této štěrbinou (117). Implantace acetabulární komponenty s těsným periferním press-fit kontaktem vede k redukci možnosti vzniku iniciální štěrbinou mezi implantátem a kostí, k redukci pravděpodobnosti vzniku progresivní periferní radiolucence a vyšší prevalenci kyčelní náhrady bez jakékoliv radiolucence. Acetabulární komponenty implantované bezcementově mají obecně nižší prevalenci výskytu radiolucenční linie, než komponenty cementované (118, 119). Průběh osteolýzy kolem acetabulární komponenty implantované bez cementu je odlišný než ten, který je běžný u cementovaných komponent. Osteolýza spojená s cementovými acetabulárními komponentami probíhá typicky podél mezivrstvy cement-kost a sleduje konturu cementového pláště. Osteolýza spojená s acetabulárními komponentami implantovanými bezcementově proniká typicky mimo mezivrstvu do spongiozní kosti pánve, s výsledkem lokalizované kostní resorpce, s rozvojem lakunárního typu osteolýzy (obr. 15.) (83, 111, 118).

Ačkoliv je to méně obvyklé, tato forma pelvické osteolýzy může také probíhat v souvislosti s cementovanými acetabulárními komponentami (120, 121) (obr. 16). Osteolýza je častěji spojena s mladším věkem (111), vertikálním uložením jamky a vysokým volumetrickým otěrem polyetyleny (6). Pokročilá kostní resorpce kolem dobře fixovaných komponent může být asymptomatická až do zlomení pánve. To je i jeden z důvodů, proč má být pacientům v pravidelných intervalech zhotovován rtg snímek (118, 122).

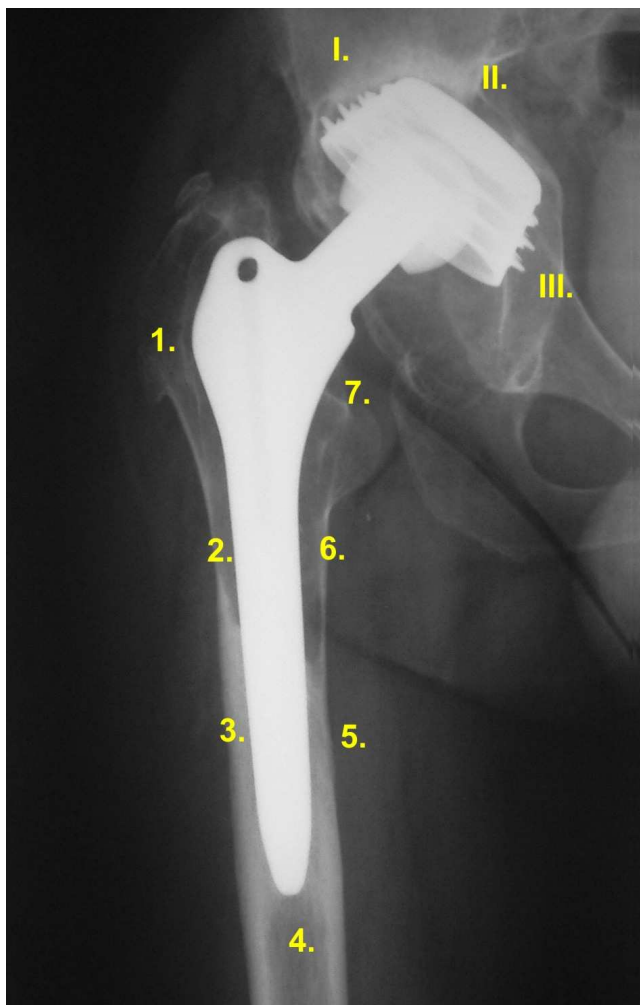


Obr. 15. Lakunární typ osteolýzy v zóně I necementované acetabulární komponenty



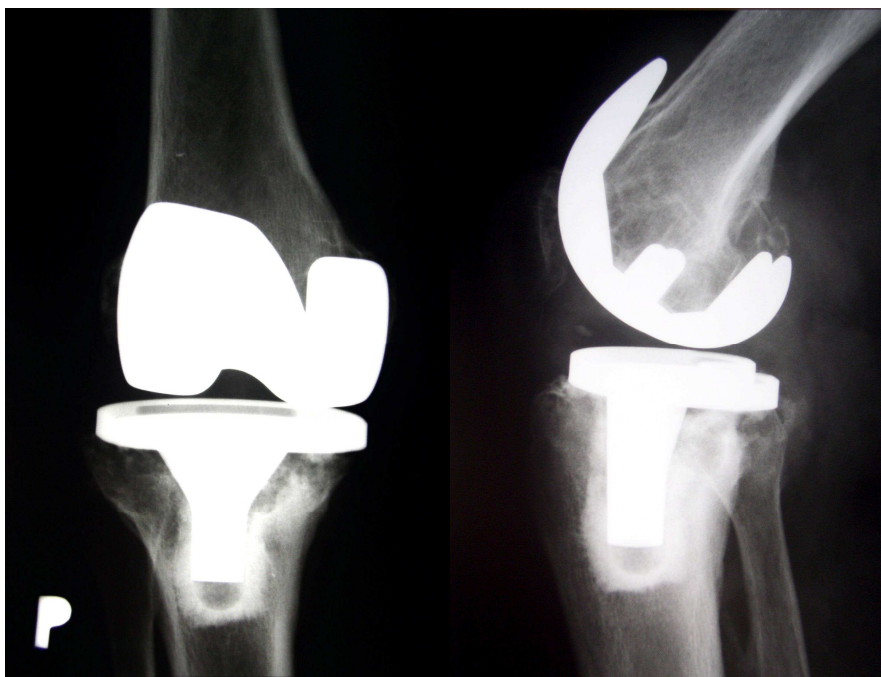
Obr. 16. Rozsáhlá lakunární osteolýza v zóně II a III cementované acetabulární komponenty

V roce 1979 Gruen ve své práci rozdělil jednotlivé oblasti periprotetické osteolýzy do jednotlivých zón a toto rozdělení je používáno dodnes (123) (obr.17).

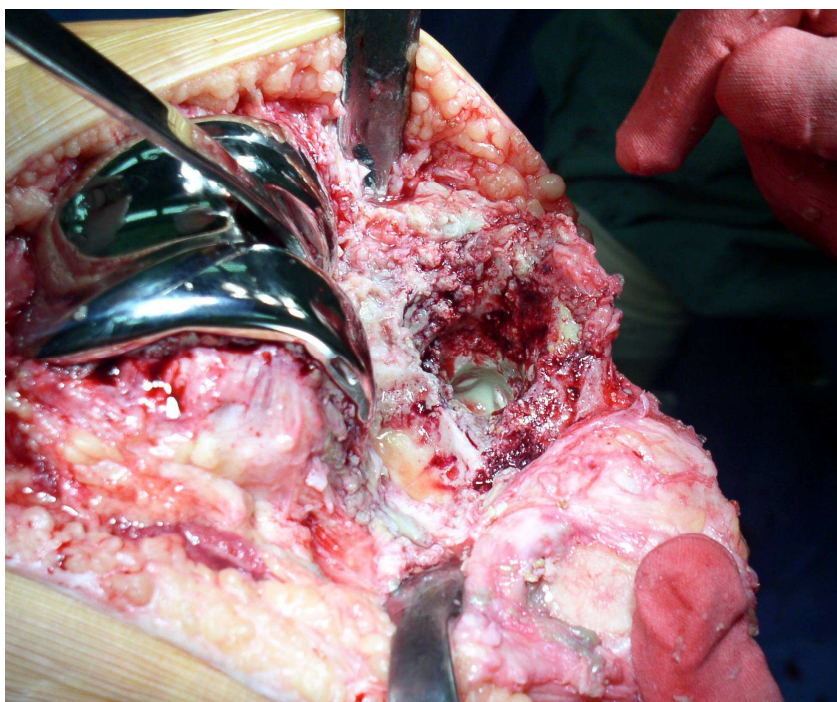


Obr.17. Gruenovy zóny periprotetické osteolýzy

Počet náhrad kolena, které selhávají pro polyetylenový otěr stále roste, i když je zatím téměř o řád nižší, než u náhrad kyčle. To je samozřejmě dáno zatím nižším počtem implantací a kratší celkovou dobou, po kterou se náhrady kolena užívají. Na druhou stranu se u náhrad kolena setkáváme s velmi rozsáhlými osteolýzami, neboť otěrové změny bývají na rtg snímku zpočátku často zastíněny femorální komponentou a tedy podceněny (obr. 18 a 19) (124).



Obr. 18. Osteolýza náhrady kolenního kloubu

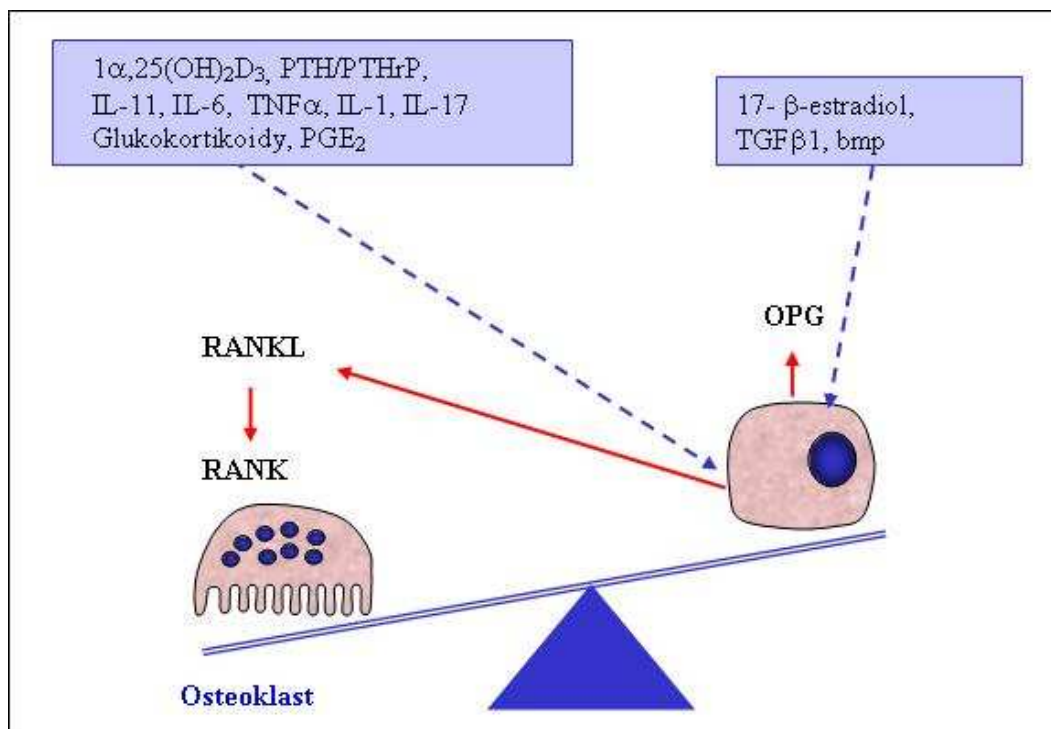


Obr. 19. Rozsáhlá osteolýza prox. tibie po odstranění polyetylenové komponenty

1.2.7. Mechanismus řízení remodelace kosti

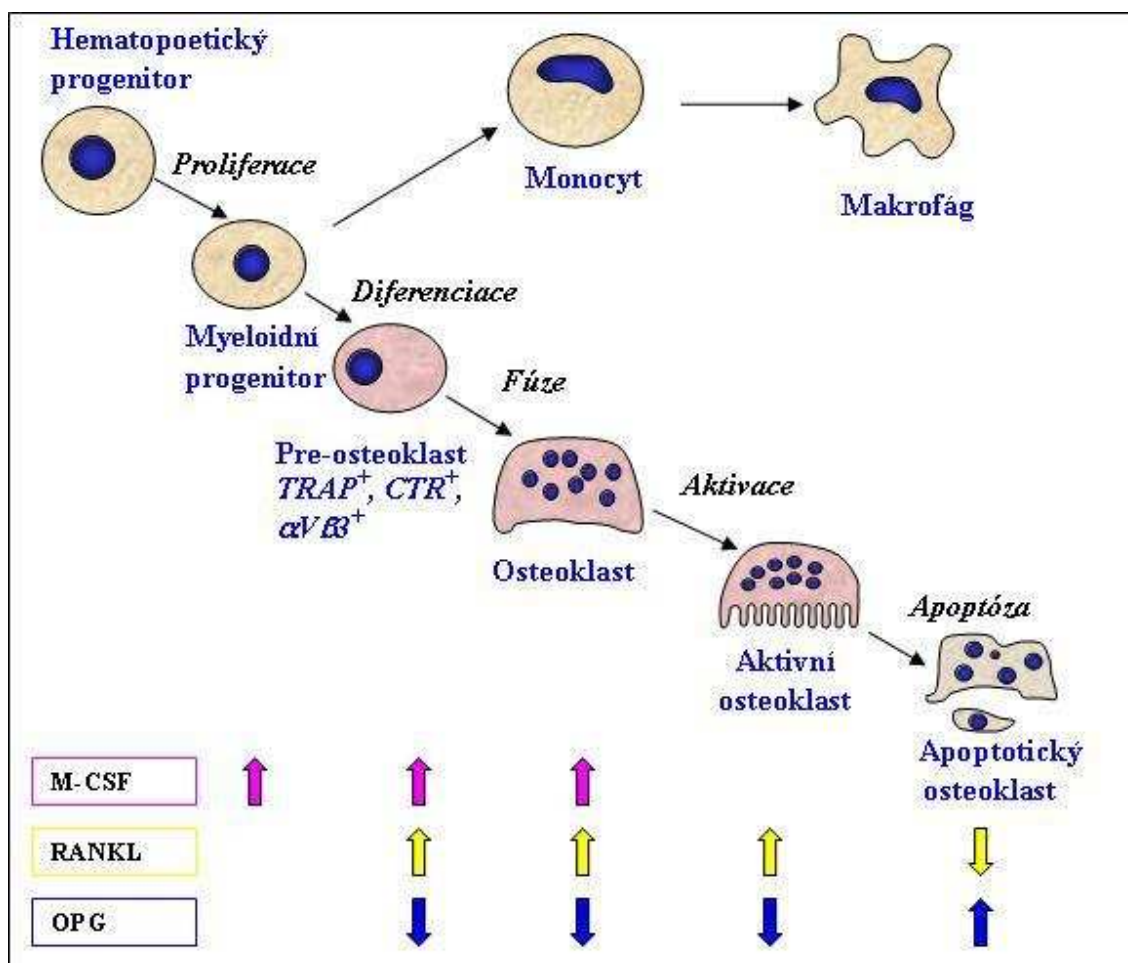
Novotvorba a remodelace kosti zahrnuje syntézu kostní matrix osteoblasty, která je v rovnováze s resorpcí kosti osteoklasty. Jde o fyziologický proces, který se uplatňuje v průběhu růstu, reparace mikrotraumat a při udržování homeostázy vápníku.

Za patologických podmínek, při osteoporóze a vývoji kostních erozí, převáží osteoresorpce nad novotvorbou. Osteoresorpce je indukována kalcitropními hormony (parathormon, kalcitriol, kalcitonin), prozánětlivými cytokiny (IL-11, IL-6, TNF α , IL-1, IL-17), prostaglandiny a glukokortikoidy (125). Tyto faktory (s výjimkou kalcitoninu) nepůsobí na diferenciaci a aktivaci osteoklastů přímo, ale prostřednictvím aktivace osteoblastů, které tvoří molekuly regulující osteoklastogenezi: RANKL (ligand pro receptor aktivující nukleární faktor kappa B) a osteoprotegerin (OPG). Rovnováha mezi osteoresorpcí a novotvorbou kosti je bezprostředně řízena poměrnou koncentrací těchto molekul v mikroprostředí kosti (obr. 20).



Obr. 20. Vliv osteotropních faktorů na remodelaci kosti

Osteoklast je obrovská mnohояaderná buňka (má v průměru 4-20 jader), která vzniká v mikroprostředí kosti fúzí myeloidních prekurzorů, ze kterých je odvozena jak linie monocyto-makrofágová, tak linie osteoklastů (obr. 21). Je možné navodit diferenciaci osteoklastů i z cirkulujících monocytů, splenocytů a některých tkáňových makrofágů. Osteoklast má dobře vyvinutý Golgiho komplex kolem každého jádra, četné lysozomální vesikuly, charakteristické polarizované uspořádání intracelulárních organel a zónu prstovitých výběžků, které tvoří hrubý kartáčový lem, orientovaný směrem k resorbované kosti. Vyzrálé osteoklasty lze identifikovat průkazem tartarát rezistentní kyselé fosfatázy (TRAP), kalcitoninového receptoru (CTR), vitronektinového receptoru (integrin $\alpha v\beta 3$, CD51/CD61), p60c-src, cathepsinu K a na základě jejich schopnosti vytvářet resorpční jamky na kostních a dentinových površích.



Obr. 21. Diferenční schéma osteoklastogeneze

Osteoklasty vylučují kyselou fosfatázu, kolagenázu a další proteolytické enzymy, které natráví kostní matrix a uvolňují zvápenatělou kostní hmotu. Diferenciace a aktivace osteoklastu je indukována vazbou molekuly RANK (receptor aktivující nukleární faktor kappa B) exprimované na povrchu prekursorové buňky a jejího ligandu RANKL. K této vazbě dochází buď mezibuněčným kontaktem s aktivovaným osteoblastem případně jinou buňkou nesoucí na povrchu tento ligand nebo vazbou rozpustné formy RANKL (sRANKL). K proliferaci, diferenciaci a vývoji do plně aktivní osteoklastové buňky je zapotřebí přítomnosti růstového faktoru M-CSF (faktor stimulující kolonie makrofágů), který je v kosti tvořen osteoblastovými/stromálními buňkami (126). Další osud osteoklastu je určen poměrem RANKL a OPG. Pokud převáží v prostředí OPG, vyváže molekuly RANKL a osteoklast zanikne apoptózou, díky absenci aktivačních a protiapoptotických signálů (127).

Osteoblasty se diferencují ze společných mezenchymálních progenitorů (tzv. pluripotentních mezenchymových kmenových buněk). Během maturace získává charakteristické fenotypové znaky. Patří mezi ně vysoká aktivita intracelulární alkalické fosfatázy. Hlavní funkcí osteoblastu je tvorba mineralizované kostní hmoty. Mají životnost 1-10 týdnů. Po skončení formativní fáze přestavby kosti se některé osteoblasty mění v buňky lemující kost, některé z nich mizí apoptózou a řada z nich ze změny v osteocyty obklopené osteoidem (128).

Funkční osteoblasty a jejich prekuzory jsou nezbytné pro diferenciaci osteoklastů z progenitorových buněk. Z experimentů in vitro byla odvozena existence hypotetického membránového faktoru, který indukuje diferenciaci osteoklastů (ODF, SOFA) (129, 130). Později bylo prokázáno (viz níže), že osteoblasty jsou pod vlivem osteotropních faktorů, zdrojem růstového faktoru M-CSF, RANKL a osteoprotegerinu (OPG). Poměr exprese RANKL a OPG byl experimentálně modulován $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, PGE2 a PTH (131). Tvorba

OPG je snižována glukokortikoidy. Porucha diferenciacie osteoblastů vede k útlumu osteoklastogeneze snížením exprese RANKL.

stimulace produkce OPG	stimulace produkce RANKL
17- β -estradiol	PTH/PTHrP
1 α ,25(OH)2D3	1 α ,25(OH)2D3
TNF α , IL-1	TNF α , IL-1, IL-6, IL-11, IL-17
TGF β 1	bmp glukokortikoidy, PGE2
inhibice produkce OPG	inhibice produkce RANKL
PTH/PTHrP	TGF β 1
glukokortikoidy, PGE2	

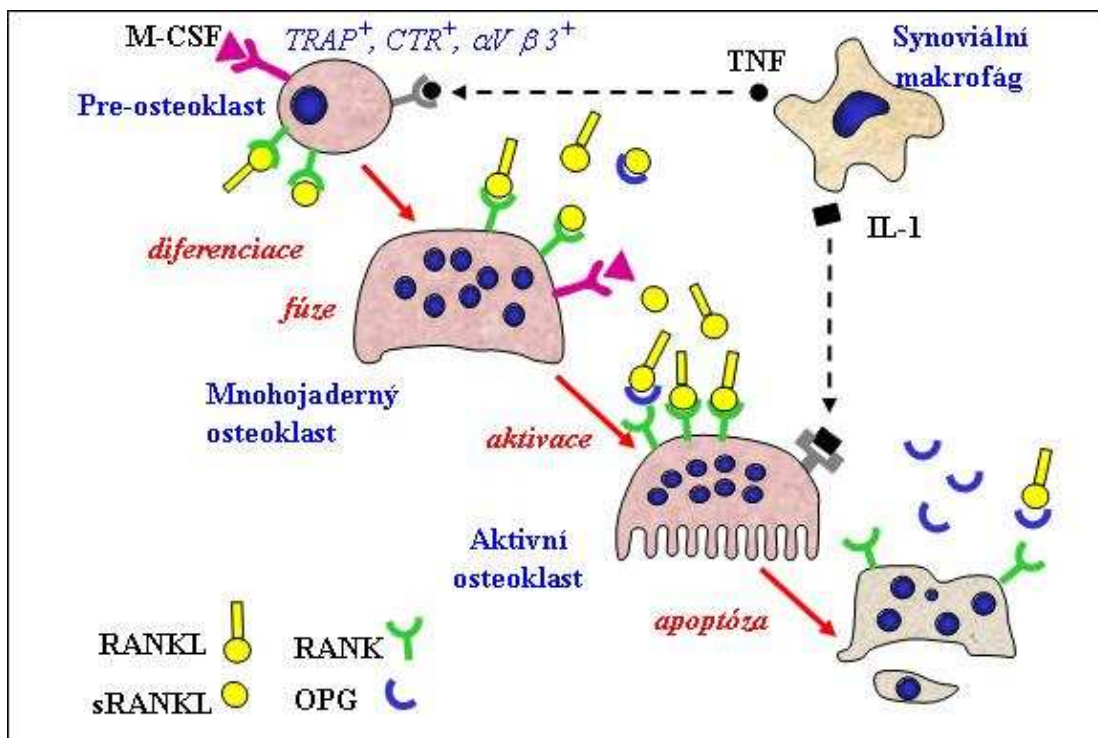
Tab. 2. Přehled účinku osteotropních faktorů na tvorbu RANKL a OPG v experimentálních podmínkách (132)

Účinek těchto faktorů na osteoklastogenezi je duální, některé stimulují, jiné inhibují RANKL či OPG a výsledný poměr osteoresorpce a novotvorby závisí na výsledném poměru RANKL/OPG (tab. 2).

1.2.8 RANK/RANKL/OPG

RANKL (RANK ligand)

V kostní tkáni se vyskytuje jako transmembránový protein, který je tvořen trimolekulárním komplexem exprimovaným stromálními buňkami kostní dřeně a osteoblastovými buňkami. Rozpustná forma vzniká enzymatickým odštěpením homotrimeru od transmembránové části metaloproteináza-disintegrinem TACE (TNF α konvertující enzym), nebo přímou sekrecí. Má zachovanou kapacitu vázat RANK (obr. 22) a je biologicky funkční z hlediska potenciace osteoklastogeneze (133). Aktivované, fibroblastům podobné synoviocyty, jsou významným zdrojem RANKL u revmatoidní artritidy (134). RANKL je také významně exprimován chondrocyty a primitivními mezenchymálními buňkami. V imunitních orgánech byl zjištěn v lymfatických uzlinách, thymu a v lymfatických střevních placích.



Obr. 22. RANKL, RANK a OPG a jejich vliv na diferenciaci a aktivaci osteoklastů

Expres RANKL na CD4+ a CD8+ T lymfocytech je indukována vazbou TCR. Byl prokázán v extraskeletální tkáni ledvin, srdce, mozku, svalů a kůže (132) a na nezralých CD4-/CD8- lymfocytech.

Indukuje diferenciaci a aktivaci osteoklastů a prodlužuje jejich přežití. Jeho tvorba je pozitivně řízena tzv. osteoresorpčními faktory: $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, PTH/PTHrP, IL-11, IL-6, TNF α , IL-1, IL-17, glukokortikoidy a PGE2.

RANK (receptor aktivující nukleární faktor kappa B)

Je exprimován myeloidními progenitorovými buňkami, preosteoklasty i vyzrálými osteoklasty, chondrocyty, dendritickými buňkami T a B buněčnými liniemi, epiteliálními buňkami prsní žlázy a buňkami trofoblastu jako membránový heterotrimér.

Po jeho vazbě s ligandem RANKL dochází v kosti k diferenciaci, aktivaci preosteoklastových buněk v plně funkční osteoklasty a k prodloužení jejich přežití (135, 136). V dendritických buňkách (DC) přenáší signál RANKL T lymfocytů indukující aktivaci, produkci cytokinu IL-12, který též indukci antiapoptotických faktorů prodlužuje přežití DC.

OPG (osteoprotegerin)

Jde o rozpustný, inhibující vazebný „decoy“ receptor pro RANKL. V prostředí kosti je stvořen především stromálními buňkami kostní dřeně a osteoblasty ve formě homodiméru (137, 138). Poprvé byl izolován ze supernatantů linie embryonálních plicních fibroblastů stimulovaných $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, PTH nebo IL-11 (139), poté byla prokázána současná produkce RANKL i OPG synoviálními fibroblasty po stimulaci $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (140).

OPG byl zjištěn v dalších, extraskeletálních tkáních (aorta a velké tepny, plíce, srdce, střevo, ledviny, thymus, slezina). Osteoprotegerin se účastní modulace osteoklatogeneze

kompetitivní inhibicí vazby RANKL na RANK, což vede k inhibici aktivace osteoklastů a zkrátí jejich přežití. Mimo skelet je předpokládána kompetitivní inhibice vazby TRAIL na receptory exprimované T lymfocyty a dendritickými buňkami a inhibice apoptózy těchto buněk indukované TRAIL (141, 142, 143). OPG zřejmě také působí proti rozvoji kalcifikací velkých tepen. Jeho tvorba je stimulována estrogény, $1\alpha 25(\text{OH})_2\text{D}_3$, $\text{TNF}\alpha$, IL-1 a $\text{TGF}\beta 1$.

2. Hypotézy a cíle práce

Předpokládané mechanismy vzniku periprotetické osteolýzy

Faktory vedoucí k periprotetické osteolýze po náhradě nosného kloubu dolní končetiny, které vedou k jejímu selhání mohou být teoreticky čtyři:

1. Biologická reakce na otěrové částice. Otěrové částice se uvolní do kloubní tekutiny a jsou distribuovány v effective joint space. Dle nejčastěji citovaných prací (45, 69, 144, 145, 146) dochází k rozvoji reakce organismu na cizí těleso následovně: nejprve makrofágy fagocytují otěrové částice, poté se aktivují a produkují zánětlivé mediátory vyvolávající celou kaskádu procesů, jejímž výsledkem je změna poměru novotvorba – resorpce kosti směrem k převaze jejího odbourávání. Klinickým projevem tohoto procesu je tvorba otěrového granulomu a periprotetická osteolýza vedoucí k uvolnění a selhání kloubní náhrady.

2. Vyjma otěrových částic byly v kloubní tekutině identifikovány rozpustné faktory schopné přímo či nepřímo ovlivnit kostní resorpci (IL- 1β , $\text{TNF}\alpha$, IL-6, RANKL, OPG). Tyto faktory mohou hrát důležitou roli při osteolýze.

3. Při zánětlivé reakci se v prostoru kolem implantátu vytváří nitrokloubní tekutina uvnitř značně tuhé a nepodajného pouzdra. Při běžných denních aktivitách dochází k toku nitrokloubní tekutiny a k velmi výraznému zvýšení nitrokloubních tlaků. Nitrokloubní tlak

může přispívat k progresivní expanzi celého prostoru. Tlak tekutiny může zapříčinit tvorbu kostních erozí čistě fyzikálním mechanismem, a nebo z důvodu postižení cirkulace kosti.

4. K rozsáhlé kostní resorpci může docházet následkem zvýšené remodelace kosti tlakem nestabilní endoprotézy (resorpce kosti v místě přímého tlaku – Wolfův zákon). Tato varianta sice vede k resorpci kosti, ale pravděpodobně až sekundárně po jejím uvolnění z kostního lůžka.

Ačkoliv je pravděpodobné, že na osteolýze kosti se účastní více mechanismů, většina literárních údajů, která se touto problematikou zabývá, dává za hlavní příčinu inicializace osteolýzy biologickou reakci na otěr s následným ovlivněním metabolismu kosti. Ačkoliv na toto téma lze v literatuře nalézt mnoho prací, přesný mechanismus osteolýzy je stále nejasný.

Během posledních 10 let došlo k několika významným objevům v oblasti membránových receptorů a ligandů buněk účastnících se kostní přeměny, prostřednictvím kterých byly objasněny některé fyziologické a patologické stavy související s odbouráváním a novotvorbou kosti. Patologická osteolýza je považována za následek narušení rovnováhy remodelace kosti na podkladě komunikace mezi osteoklasty a osteoblasty. Za patologických podmínek převáží osteoresorpce nad novotvorbou. Klíčový mechanismus koordinující osteoblastogenezi a osteoklastogenezi je založen na interakci tří recentně objevených molekul z rodiny TNF ligandů a receptorů, jejichž doporučené názvosloví je receptor aktivující nukleární faktor kapa B (RANK), RANK ligand (RANKL) a osteoprotegerin (OPG).

Osteoklasty, které jsou přítomny v kosti, jsou mnohobuněčné velké buňky se schopností resorbovat mineralizované tkáně. Vznikají z prekurzorových buněk (pre-fusion osteoclasts), které jsou produkovány při krvetvorbě z kmenových buněk v kostní dřeni. K transformaci prekurzorové buňky ve zralý osteoklast je zapotřebí dvou základních faktorů – M-CSF (makrophage-colony stimulating factor) a RANKL (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand) (67, 70). M-CSF nejen reguluje proliferaci, diferenciaci a funkci

monocytů/makrofágů, ale také diferenciaci osteoklastů. RANKL (synonyma ODF–osteoclast differentiation factor, OPG-osteoprotegerin ligand, TRANCE–TNF related activation induced cytokine) je ligand, který mají za fyziologických stavů na svém povrchu osteoblasty a buňky stromatu. Za patologických stavů je na svém povrchu mohou mít i jiné buňky. Ve tkáních pacientů s revmatoidní artritidou byly identifikovány na povrchu T lymfocytů. Po kontaktu prekursoru osteoklastu, majícím na svém povrchu RANK (receptor) a buňky prezentující RANKL (ligand) dochází k diferenciaci prekursoru v zralý osteoklast. Za patologických stavů dochází k potenciaci celého procesu přítomností IL-1.

Aktivace systému RANKL/RANK/OPG je považována za pravděpodobnou příčinu periprotetické osteolýzy kosti vedoucí k selhání kloubní protézy. Přesný patofyziologický mechanismus včetně spouštěcího momentu, kdy převáží osteoresorpce nad novotvorbou kosti, je dosud nejasný. Cílem naší práce bylo přispět k objasnění tohoto problému.

Cíl práce:

Na klinicky definovaném souboru nemocných s asepticky uvolněnými kloubními náhradami kyčelního kloubu jsme chtěli zjistit možnou korelaci mezi klinickým rozsahem osteolytických změn, typem zjištěných otěrových částic a expresí osteoklastického mediátoru RANKL v otěrovém granulomu. Za předpokladu, že systém RANK/RANKL/OPG hraje klíčovou roli v osteoklastogenezi a potažmo i patogenezi uvolnění kloubní náhrady, jsme očekávali zvýšený výskyt RANKL pozitivních buněk u případů rozsáhlých periprotetických osteolýz.

3.Materiál a metoda

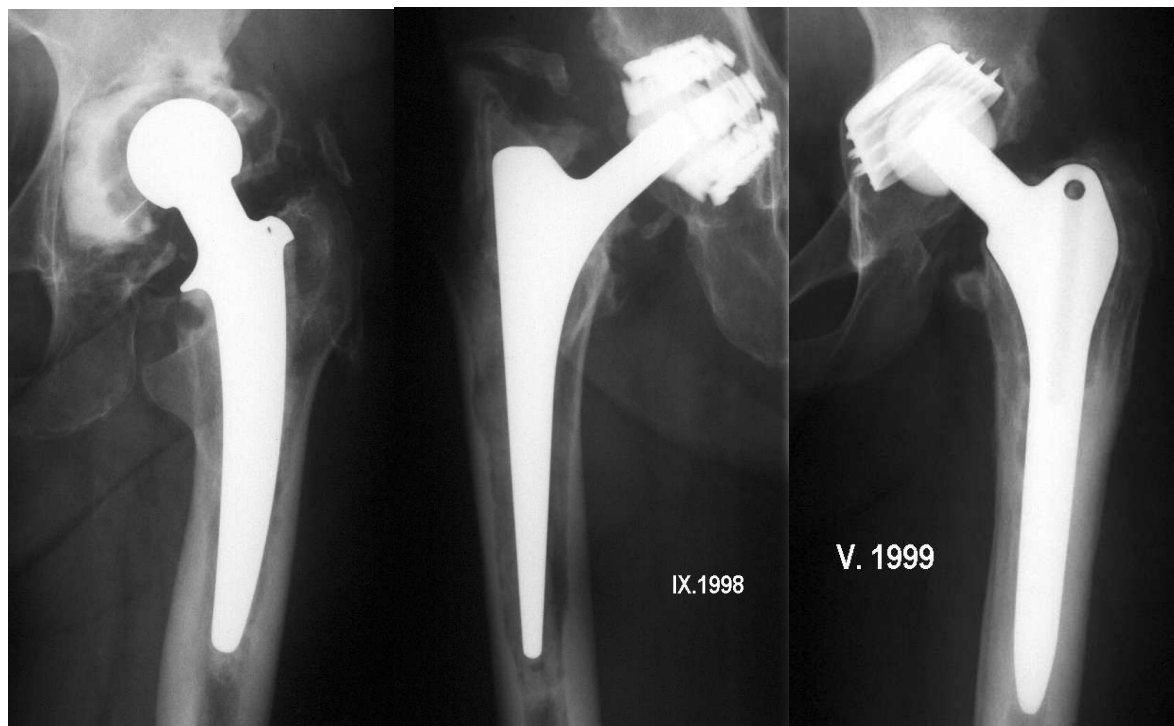
Nemocní

Periprotetická tkáň byla získána od 59 pacientů, kteří podstoupili revizní operaci náhrady kyčelního kloubu pro uvolnění implantátu. Ve všech případech, klinické a radiologické nálezy svědčily pro aseptické uvolnění s periprotetickou osteolýzou. Případný infekt kloubní náhrady byl ve všech případech dle současných kritérií vyloučen klinickým vyšetřením, laboratorním vyšetřením (FW, CRP) a negativním výsledkem peroperačně odebrané aerobní a anaerobní kultivace z rány. Ve všech případech byly endoprotézy radiograficky uvolněné v souladu s kritérii Charnleye, Harrise a McGanna a ve všech případech byly i klinicky uvolněné v kostním lůžku. Před revizním operačním výkonem byly vždy zhotoveny rtg snímky kyčelního kloubu a hodnocen rozsah osteolýzy dle Gruena a DeLee (123). Průměrný věk pacientů v době revize byl 71 let (rozsah 52 – 84 let) a průměrná doba od primoimplantace byla 87 měsíců (rozsah 35-260 měsíců). V 51 případech byla původní diagnosou k náhradě kyčle osteoartróza a v 8 případech revmatoidní artritida.

V celkovém souboru 59 operovaných kyčelních kloubů se ve 14 případech jednalo o uvolnění obou komponent, ve 27 případech uvolnění acetabulární komponenty a 18 případech uvolnění femorální komponenty. V celkovém počtu 41 uvolněných acetabulárních komponent se ve 23 případech jednalo u uvolnění polyetylenové cementované jamky Poldi a v 18 případech o uvolnění necementované jamky Walter. Z celkového počtu 32 uvolněných femorálních komponent se v 11 případech jednalo u uvolnění cementovaného dřívku Poldi, ve 14 případech o uvolnění cementovaného dřívku CF-30 a v 7 případech o uvolnění necementovaného dřívku Walter (bez nástřiku hydroxyapatitem) (tab.3) (Obr. 23).

komponenta	výrobce	počet	doba od impl.
acetabulární cementovaná	Poldi	23	140 měsíců
acetabulární necementovaná	Walter	18	70 měsíců
femorální cementovaná	Poldi	11	140 měsíců
	CF30	14	58 měsíců
femorální necementovaná	Walter	7	70

Tab. 3. Soubor uvolněných náhrad kyčelního kloubu



Obr. 23. Uvolnění cementované acetabulární komponenty Poldi, cementované femorální komponenty CF30 a obou komponent necementované náhrady Walter

Materiál

Tkáně byly odebírány při revizních operacích z oblasti kost-cement s použitím kyrety. V případě osteolytických změn, byly vzorky získány z oblasti kostní destrukce. U každého vzorku byla vyznačena orientace ke kosti. Vzorky otěrového granulomu byly standartně odebírány v oblastech, které odpovídají zónám na rtg snímku dle Gruena a DeLee I, II, III, 2., 4. a 7.

Imunohistochemie

Z každého operovaného kloubu byly odebrány reprezentativní vzorky z oblasti osteolytických změn velikosti přibližně 5 mm. Ihned po odebrání byly vloženy do media Tissue Tek (O.C.T. Compounds, Sakura, Tokio, Japonsko) a zmrazeny v tekutém dusíku. Kryostatové řezy (5 μ m) byly fixovány předchlazeným (-20°C) acetonem (10 min), usušeny, fixovány ve 4% paraformaldehydu (2 min) a opláchnuty H_2O_2 . Endogenní peroxidázy byly inaktivovány 0,3% H_2O_2 a 0,1 % $NaNO_3$ (10 min). Řezy byly promyty TBS (0,05 M TRIS/HCl, 0,15 M NaCl, pH 7,6) a nespecifická vazba byla blokována 5% fetálním bovinním nebo kozím sérem v TBS (5 min). K barvení (30 min, při 37°C) jsme použili panel následujících myších MoAb namířených proti lidským antigenům: RANKL (MAB626, R&D Systems, Abingdon, UK), CD3, CD45, CD31, CD68 (DakoCytomation), CD14 (Biosource), CD55 (BD Pharmingen). Jako kontroly jsme použili protilátky izotypu IgG1 (Serotec, Kidlington, Oxford, UK) a IgG2b (Sigma-Aldrich, St. Louise, USA). Po promytí v TBS byla vazba MoAb vybarvena soupravou DAKO EnVision+ (DakoCytomation) a 3,3-diaminobenzidinem (DAB, Sigma) podle doporučeného postupu. Všechny preparáty byly dobarveny Harrisovým hematoxylinem, promyty, odvodněny v 96% etanolu, acetonu a xylenu a zabudovány do bezvodého média Solakryl (BMX, Penta, ČR).

Pro ověření specifity barvení zánětlivého infiltrátu monoklonálními protilátkami byl zhodnocen pozitivní kontrolní bioptický materiál získaný z osteolytických změn od pacientů s RA a negativní kontrolní vzorky z fibrózní tkáně získané z neuvolněných implantátů.

Při zpracování výsledků jsme s pomocí softwaru Statistica Statsoft, Inc. 1984-2009. Srovnání pozitivity výskytu RANKL buněk mezi jednotlivými zónami osteolýzy jsme provedli pomocí 2x2 tabulkového testu.

4. Výsledky

Hodnocení rtg nálezů ukazuje tabulka 4 a 5. Byl hodnocen rozsah osteolýzy dle Gruena a DeLee. Tabulka zobrazuje počet jednotlivých rtg nálezů rozdělených do jednotlivých zón u cementovaných a necementovaných uvolněných náhrad kyčelních kloubů.

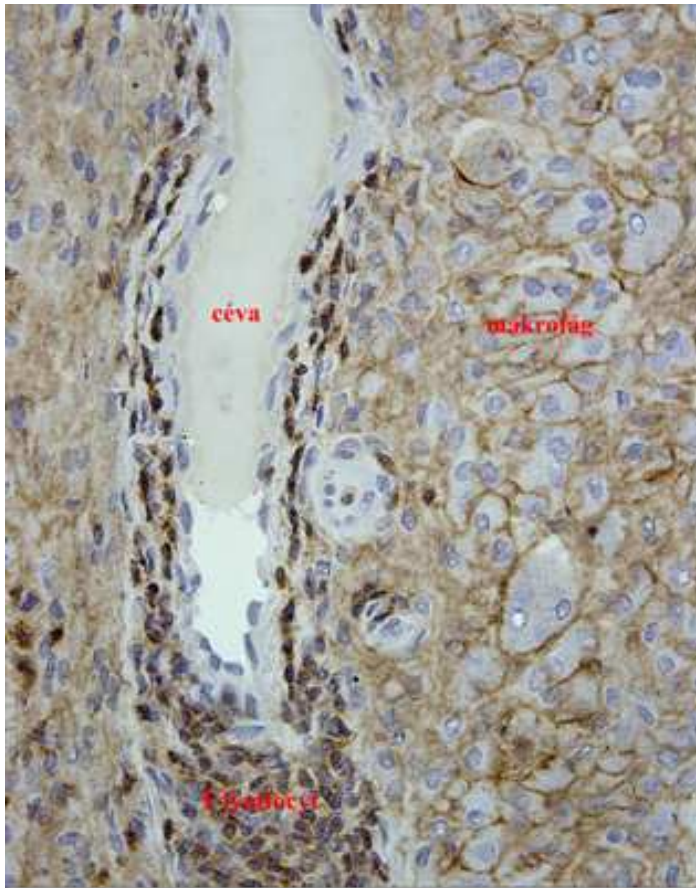
zóna	Lakunární osteolýza	Radiolucenční linie větší jak 2 mm	Radiolucenční linie 1-2 mm	Radiolucenční linie do 1mm	Žádná radiolucenční linie
I	5	8	6	4	0
II	0	7	7	9	0
III	7	9	7	0	0
1	0	0	3	7	15
2	0	0	4	9	12
3	0	3	5	7	10
4	0	7	9	6	3
5	0	4	12	9	0
6	0	6	10	9	0
7	9	5	11	0	0

Tab. 4. Zastoupení rtg nálezů u cementovaných implantátů

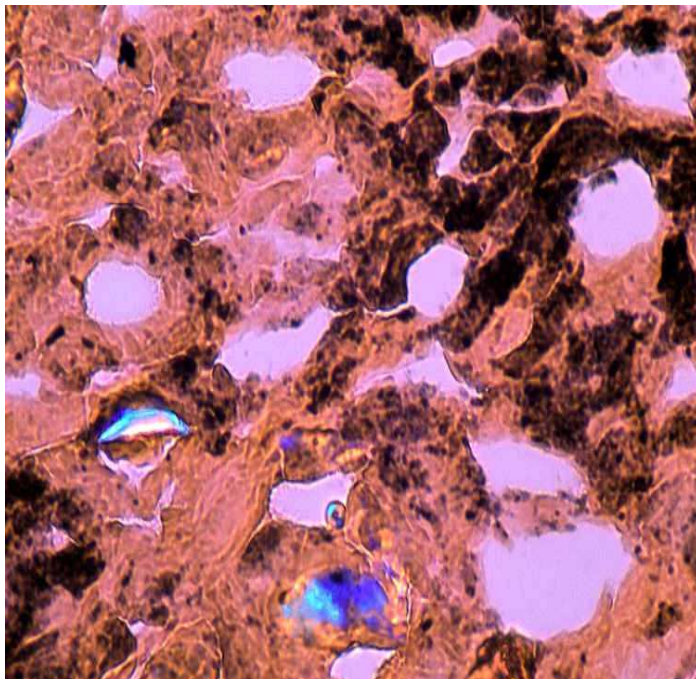
zóna	Lakunární osteolýza	Radiolucentní linie větší jak 2 mm	Radiolucentní linie 1-2 mm	Radiolucentní linie do 1mm	Žádná radiolucentní linie
I	0	4	8	6	0
II	0	2	8	8	0
III	4	9	5	0	0
1	0	0	4	3	0
2	0	0	4	3	0
3	0	0	4	3	0
4	0	0	5	2	0
5	0	0	5	2	0
6	0	0	5	2	0
7	0	0	5	2	0

Tab. 5. Zastoupení rtg nálezů u necementovaných implantátů

Histologické vyšetření prokázalo, že fibrózní membrána ve všech případech obsahuje množství vazivové tkáně s variabilním počtem makrofágů, otěrových částic, T-lymfocytů a velkých mnohjaderných buněk (obr. 24). Typ otěrových částic v periprotetické membráně závisel na použitém materiálu jednotlivých komponent náhrady kyčelního kloubu. V zásadě všechny vzorky obsahovaly identifikovatelné množství polyethylenu a otěrových kovových částic (obr. 25) nebo částice polymethylmetakrylátu v případě cementovaných implantátů. Byly zaznamenány rozdíly v rozsahu deposit otěrových částic a reaktivního makrofágového infiltrátu mezi jednotlivými odebranými tkáněmi, ale také mezi různými částmi téhož vzorku.



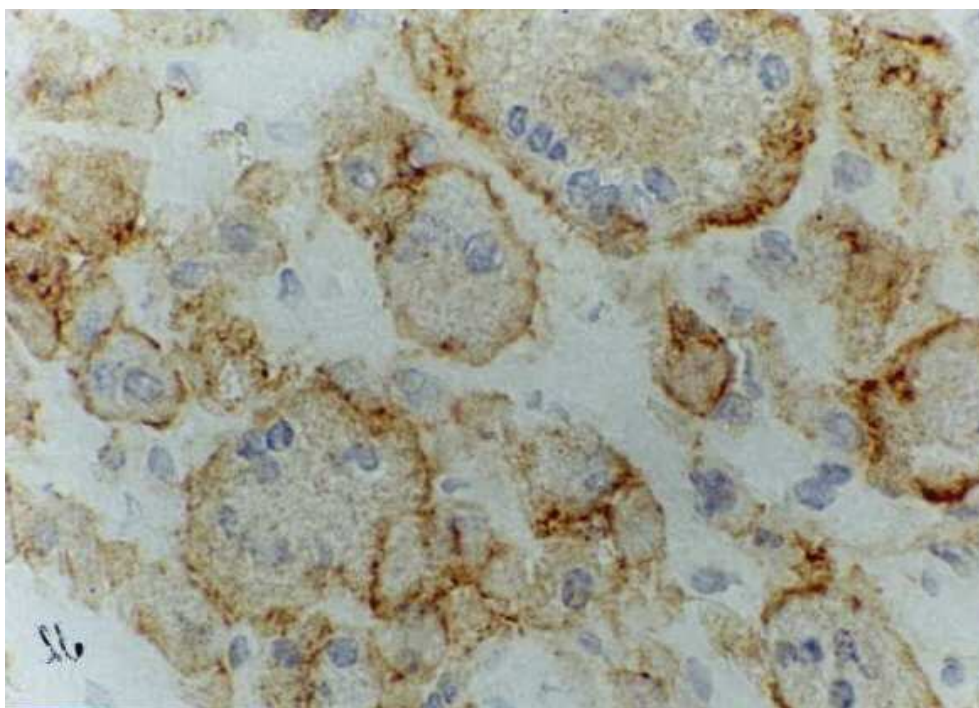
Obr. 24. Otěrový granulom v mikroskopickém obraze



Obr. 25. Otěrové částice polyethylenu i kovu v polarizovaném světle

V celkovém počtu 41 uvolněných acetabulárních komponent a 32 uvolněných femorálních komponent nebyly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání histologického hodnocení vzorků získaných z oblasti acetabula a femuru.

V souboru 73 uvolněných komponent bylo nalezeno celkem 30 vzorků s RANKL pozitivními buňkami u 23 pacientů z celkového počtu 59 (obr. 26). Z tohoto počtu se jednalo v 15 případech o uvolněnou jamku Poldi, v 8 případech o uvolněnou cementovanou femorální komponentu CF 30, v 5 případech o uvolněnou cementovanou femorální komponentu Poldi a ve dvou případech o uvolněnou jamku Walter. Přítomnost RANKL buněk v jednotlivých zónách ukazuje tabulka č. 6 a č. 7, přičemž mezi jednotlivými zónami byl statistický rozdíl v jejich výskytu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$ (u cementovaných implantátů byl rozdíl v přítomnosti RANKL buněk první a druhé skupiny na hladině významnosti $p = 0,0001$, druhé a třetí skupiny $p = 0,01$, v případě necementovaných implantátů byl rozdíl mezi první a druhou skupinou $p = 0,038$).



Obr. 26. RANKL pozitivní buňky

V našem souboru byla výrazná převaha přítomnosti RANKL pozitivních buněk v tkáních pacientů s uvolněnou cementovanou endoprotézou. Při hodnocení korelace doby od primoimplantace do revizní operace kyčelního kloubu byly identifikovány dvě skupiny pacientů s RANKL pozitivními buňkami. První s uvolněným cementovaným femorálním implantátem CF30 měla průměrnou dobu do uvolnění 58 měsíců. Pro tyto tkáně byla charakteristická výrazná buněčnost s enormním množstvím kovového otěrového materiálu (obr. 24). Druhou skupinou pacientů s RANKL buňkami byli pacienti s uvolněnými cementovanými implantáty Poldi a ve dvou případech s uvolněnou necementovanou jamkou, kdy průměrná doba od primoimplantace byla 140 měsíců. Naopak pro tyto tkáně byla dominující přítomnost polyetylenových otěrových částic. Korelace mezi radiologickou přítomností osteolýzy a histologickým nálezem ve tkáni byla zřejmá. V případě cementovaných implantátů byly prakticky všechny nálezy s RANKL buňkami u pacientů s lakunární osteolýzou a osteolýzou na rtg snímku o šíři více než 2 mm (tab. 6). V případě necementovaných implantátů byly tyto buňky zachyceny pouze u dvou pacientů s lakunární osteolýzou v oblasti acetabula. V oblasti dřívku nebyla u těchto pacientů zachycena osteolýza větší než 2 mm a ani RANKL pozitivní buňky (tab. 7).

Rtg obraz osteolýzy	Lakunární	Více jak 2 mm	1-2 mm	Do 1 mm	Žádná linie
Počet vzorků	21	36	44	28	15
RANKL pozit.	17	10	1	0	0
%RANKL pozit. z celku	80%	36%	1%	0%	0%

Tab. 6. Cementované implantáty – počet RANKL pozitivních vzorků

Rtg obraz osteolýzy	Lakunární	Více jak 2 mm	1-2 mm	Do 1 mm	Žádná linie
Počet vzorků	4	15	35	21	0
RANKL pozit.	2	0	0	0	0
%RANKL pozit. z celku	50%	0%	0%	0%	0%

Tab.7. Necementované implantáty – počet RANKL pozitivních vzorků

5. Diskuse

V tkáních kolem uvolněných náhrad byly pravidelně nalezeny četné makrofágy, fibroblasty, otěrové částice a T-lymfocyty, což je v souladu s literaturou (147, 148, 149, 150).

Důležitou vlastností makrofágů, z pohledu jejich role při mechanismu uvolnění kloubní náhrady, je jejich schopnost přeměny v mnohojaderné buňky, které vykazují všechny fenotypové vlastnosti osteoklastů. Pandey a spol. při použití myších modelů prokázal, že monocyty a makrofágy, kultivované společně s osteoblasty nebo stromálními buňkami kostní dřene v přítomnosti 1,25 dihydroxyvitamin D₃, se mohou diferencovat ve zralé osteoklasty schopné lakunární kostní resorpce. Současně jsou tyto makrofágy schopny fagocytózy otěrových částic a je možná i jejich následná transformace ve funkční osteoklasty (151, 152, 153).

Při použití podobného in vitro systému bylo zjištěno, že může být připraveno velké množství lidských osteoklastů z lidských krevních monocytů a tkáňových makrofágů. Monocyty periferní krve a tkáňové makrofágy za přítomnosti M-CSF vytváří množství mnohojaderných buněk, které exprimují všechny cytochemické a funkční fenotypové známky

charakterické pro osteoklasty. Tyto buňky jsou pozitivní na tartarát rezistentní kyselou fosfatázu, exprimují receptory pro kalcitonin a vitronektin, a mohou vykonávat lakunární kostní resorpci. Protože tkáňové makrofágy vznikají z krevních monocytů, a migrace monocytů je stimulována přítomností částic, není překvapující zjištění, že makrofágy izolované přímo z pseudomembrány a pseudokapsuly kolem uvolněné endoprotézy jsou schopné diferenciace v osteoklasty (152, 154). Také Itonaga v práci z roku 2000 uvádí, že lidské makrofágy v přítomnosti otěrových částic, izolovaných přímo z periprotetických tkání se mohou diferencovat v mnohojaderné buňky, vykazující všechny funkční a cytochemické charakteristiky typické pro osteoklasty (155).

Na rozdíl od monocytů získaných z jiných tkání, k dosažení diferenciace makrofágů získaných z periprotetických tkání v osteoklasty není potřeba přidávat exogenní M-CSF. Tento růstový faktor je patrně produkován v dostatečném množství v periprotetických tkáních endogenně. V synoviální tekutině u kloubních náhrad byla opakovaně nalezena vysoká koncentrace M-CSF (68).

Některé studie prokazují, že samotný TNF α je schopný indukovat přeměnu makrofágů získaných z periprotetických tkání na osteoklasty nezávisle na RANK signálové cestě (156). Na druhou stranu myši s defektním genem pro RANKL vykazují typickou osteopetrosu s totální okluzí dřeňové dutiny díky absenci osteoklastů (157). Lam v roce 2000 ukázal, že TNF α indukce osteoklastogenese probíhá jako výsledek přímé stimulace makrofágů vystavených prostředí s dostatečnou hladinou RANKL (158). Z tohoto závěru vyvodil, že samotný TNF α neindukuje diferenciaci osteoklastů.

Haynes v roce 2001 prokázal, že částice z titanových slitin (TiAlV), kobalt-chromu (CoCr) a nerezové slitiny (SS) působí na produkci RANKL, RANK a OPG mRNA (52). Polyetylenové částice, které mají největší klinický význam, v této práci nevyšetřil. Prováděl mRNA analýzu buněk získaných z periprotetických tkání obsahujících otěrové částice.

Osteoklasty vznikaly z této tkáně jak v přítomnosti, tak i v nepřítomnosti osteoblastů. V případě, že osteoblasty nebyly přítomny, RANKL mRNA byla vytvářena ve vyšším množství nežli OPG mRNA. Ze svých pozorování usoudil, že otěrový materiál stimuluje k diferenciaci v osteoklasty prostřednictvím RANKL mRNA. Baumann v roce 2004 publikoval práci, ve které měřil hladinu TNF α a zjišťoval přítomnost RANK mRNA a OPG mRNA v buněčné kultuře lidské leukemické monocytické linie (THP-1) po vystavení otěrovým částicím TiAlV a polyetylenu (53). Rozšířil tak poznatek Haynese, že ne pouze TiAlV, SS a CrCo částice, ale také polyetylenové částice mohou indukovat osteoklastogenezi prostřednictvím OPG/RANKL/RANK mechanismu. Tato in vitro studie ukázala podobný efekt polyetylenových i TiAlV částic na expresi OPG/RANKL/RANK mRNA. Sledoval významnou upregulaci RANK mRNA po expozici jak TiAlV tak i polyetylenovým částicím. Dochází tedy k upregulaci RANK receptorů na povrchu makrofágů, takže tyto buňky mohou přijmout signál RANKL. Tento nálezní doplňuje zjištění Itonagy (155) a ukazuje, že v prostředí náhrady diferenciaci makrofágů v osteoklasty probíhá v přítomnosti samotného solubilního RANKLu a že tento proces může být inhibován OPG. Bauman ve své studii zaznamenal pouze přechodné zvýšení OPG mRNA po expozici TiAlV a polyetylenovým částicím. Lokální dysbalance přítomnosti RANKL/OPG tedy pravděpodobně vede k nastartování periprotetické osteoklastogeneze. Poměrem hladiny RANKL/OPG se u pacientů se selhávající kloubní náhradou v naší literatuře zabýval Gallo. V souboru 36 selhávajících kloubních náhrad kolenního a kyčelního kloubu hodnotil RANKL/OPG index. Nejvyšší zaznamenal u selhávajících endoprotéz se závěrem, že poměr RANKL/OPG v kloubním punktátu je možné považovat za biochemický korelát pokročilé fáze aseptického uvolnění (159).

Expresí RANKL osteoblastovými a kostními stromálními buňkami a přítomnost M-CSF jsou dva hlavní faktory nezbytné pro diferenciaci osteoklastů. Byla prokázáno, že lidské makrofágy mají schopnost diferenciaci v osteoklasty v přítomnosti samotného solubilního

RANKL. Tento proces je možné potlačit přidáním OPG (155). Jiní autoři (160) prokázali, že kovový, polyetylenový a PMMA otěr stimuluje expresi RANKL a M-CSF stejně dobře jako jiné humorální faktory, které ovlivňují zránění osteoklastů. Někteří autoři (161, 162) poukazují závislost typu těchto částic na ovlivnění apoptózy osteoklastů. Titanové a kobalt chromové částice indukují apoptózu osteoklastů, zatímco polyetylenové a PMMA částice nikoliv.

Horiki našel v otěrovém granulomu u 5 pacientů tři typy RANKL pozitivních buněk. Jednalo se o buňky fibroblastové řady, CD68 pozitivní buňky a TRAP pozitivní (tartarát rezistentní kyselá fosfátaza) mononukleární a multinukleární buňky monocytomakrofágové řady (163). Sabokbar izoloval fibroblasty z granulomu, získaného od pacientů s uvolněnou náhradou kyčelního kloubu, a tyto fibroblasty byly schopny vyvolat tvorbu osteoklastů z buněk lidských monocytů (164). Vzhledem k tomu, že fibroblasty jsou ve tkáních obalujících kloubní náhrady všudypřítomné, je možné, že jsou hlavním zdrojem RANKLu nezbytného pro osteoklastogenezi.

Expresi RANKL a OPG ovlivňuje množství buněčných a humorálních faktorů. Vyžívání osteoklastů je velmi citlivé na poměr těchto dvou faktorů. Různé cytokiny a růstové faktory (kromě M-CSF), přítomné v periprotetických tkáních v případě aseptického uvolnění, jako je IL-1, TNF-alfa, zvyšují expresi OPG mRNA osteoblasty, působí tedy současně stimulačně na osteoklastickou kostní resorpci, ale i opačně podporou produkce OPG osteoblasty (165, 166). Prostaglandiny, jako např. PGE2 zvyšují produkci RANKL a snižují tvorbu OPG, a takto stimulují formaci osteoklastů a kostní resorpci. Zánětlivé buňky, jako například T-lymfocyty, jsou také přítomné v zánětlivé membráně a mohou ovlivnit diferenciaci osteoklastů a periprotetickou osteolýzu modulací exprese RANKL a produkce OPG. V literatuře byla popsána exprese RANKL i samotnými T lymfocyty (167). Role T-lymfocytů ale není zcela jasná, jejich přítomnost při aktivaci osteolýzy pravděpodobně není nezbytná (55).

In vitro studie na myších předpokládají, že OPG může být efektivní při léčbě otěrem indukované periprotetické osteolýzy. Kim prokázal ve tkáňových kulturách zvýšení tvorby osteoklastů v prostředí tekutiny, získané z uvolněných kloubních náhrad. Míru osteoklastogeneze porovnával s diferenciací makrofágů v prostředí tekutiny z osteoartrotického kloubu. Současně našel v tekutině u endoprotéz nižší hladinu OPG. Zvýšenou osteoklastogenesi blokoval přidáním exogenního OPG (168).

Childs a spol. studoval na myších působení RANK.Fc na osteolýzu indukovanou částicemi titanu (169). RANK.Fc je rekombinantní solubilní forma RANK receptoru, napojená na lidský IgG. In vitro studie prokázaly, že RANK.Fc působí jako antagonist k přenosu signálů přes RANK receptor. Transgenní myši, které vytvářejí RANK.Fc, stejně tak myši s hyperprodukcí OPG vykazují známky osteopetrosy. Ve své práci se mu podařilo zablokovat osteoklastogenezi a kostní resorpci intraperitoneální aplikací RANK.Fc v dávce 1mg/kg na 48 hodin. Při dávce 10mg/kg kompletně inhiboval činnost osteoklastů. Při podávání RANK.Fc po dobu 5 dnů se mu podařilo zablokovat přítomnost osteoklastů na 16 dní. K obnově osteoklastogeneze došlo až za 21 dnů. Inhibicí RANK receptorů je tedy možné zablokovat otěrem indukovanou osteolýzu. RANK.Fc na lidech dosud nebyl testován.

Při průkazu funkce systému RANKL – OPG v patogenezi uvolnění kloubní náhrady, lze v literatuře najít poměrně značné množství prací. Převážná většina z nich se pohybuje na úrovni in vitro pokusů, a ty které se zabývají klinickými soubory hodnotí malé soubory pacientů (52, 53, 163, 170, 171, 172). Koncept chronicky probíhající reakce na cizí těleso se současnou osteoklastickou kostní resorpcí považuje většina autorů za průkazný. Naše zjištění odpovídá i práci Pokorného (173), který sledoval množství otěrových částic v jednotlivých zónách kolem uvolněných náhrad kyčelních kloubů. Jednoznačně prokázal, že nejvíce částic velikosti 0,1-10 μm se zpravidla hromadí v acetabulární zóně III a femorální zóně 7, což je v souladu s přítomností akcentované osteolýzy v našem souboru pacientů. V oblasti III a 7

byla nejčastěji zastižena lakunární periprotetická osteolýza a také přítomnost RANKL pozitivních buněk u dvou již zmíněných skupin pacientů, u kterých bylo značné množství otěrových částic v tkáni. První skupinou byli pacienti s uvolněnou cementovanou acetabulární komponentou a dobou od implantace v průměru 140 měsíců. Druhou skupinou byli pacienti s uvolněnou femorální komponentou, dobou od implantace v průměru 58 měsíců a s enormně velkým množstvím chrom kobaltového otěru ve tkáni. Tento nález je v souladu s teorií částicemi vyvolané osteolýzy.

Naopak v případě selhaných necementovaných acetabulárních komponent (v našem případě 18 konických závitořezných jamek Walter) byly pouze ve dvou případech nalezeny RANKL pozitivní buňky. Nepřítomnost těchto buněk u pacientů s minimálními osteolytickými změnami je suspektní z eventuální jiné možné příčiny iniciace procesu uvolnění kloubní náhrady. V úvahu přichází například reakce na otěrový materiál v kombinaci s jeho mechanickým působením (nevhodná konstrukce závitu jamky Walter, vedoucí ke kumulaci lokálního napětí a resorpci kosti v důsledku jejího mechanického přetížení). To, že se v tomto případě jednalo o relativně kratší dobu přežití (průměrně 70 měsíců), by spíše napovídalo o mechanickém selhání acetabulárních komponent s následnou osteolýzou způsobenou tlakem nestabilní acetabulární komponenty. Jiným vysvětlením může být i empiricky vysledovaný fakt, kdy periprotetická kostní resorpce může probíhat různými rychlostmi u pacientů se stejným typem endoprotézy. Různorodost odpovědi pacienta k otěrovému materiálu je tedy zřejmě multifaktoriální, na čemž se pravděpodobně podílí geneticky daná buněčná reaktivita (174).

6. Závěry

Osteolýza indukovaná otěrovými částicemi z implantovaných materiálů je v současné době považována za hlavní příčinu uvolňování kloubních náhrad v dlouhodobém časovém horizontu. Pravděpodobným mechanismem vzniku nežádoucí periprotetické osteolýzy je ovlivnění poměru RANKL/OPG v mikroprostředí kosti, s následnou převahou osteoresorpce nad osteoprodukcí, která vede k uvolnění kloubní náhrady.

Naše zjištění této hypotézy odpovídají. Podařilo se nám prokázat:

1. RANKL pozitivní buňky v otěrovém granulomu u případů rozsáhlé periprotetické osteolýzy
2. RANKL pozitivní buňky v otěrovém granulomu, kde bylo přítomno excesivní množství otěrového materiálu
3. nepřítomnost RANKL pozitivních buněk v případech minimální osteolýzy (osteolýza menší jak 1 mm)

Naše závěry ověřují hypotézu, že přítomnost otěrového materiálu vyvolává zvýšenou expresi RANKL pozitivních buněk, a že mechanismus RANK/RANKL/OPG hraje důležitou roli při vzniku periprotetické osteolýzy.

Cesty jak zabránit vzniku otěrové reakce na otěrové částice a následnému selhání endoprotézy lze u náhrad shrnout do několika hlavních směrů:

1. **Omezit produkci biologicky aktivních částic.** Jednou možností je zlepšit kvalitu současných PE artikulačních povrchů, tak aby při otěru bylo produkováno méně otěru. Dosavadní snahy o odolnější varianty PE však splnily očekávání pouze částečně. Jinou možností je PE nahradit. V současnosti se setkáváme s kombinacemi keramika – keramika, eventuálně kov – kov, nicméně i tyto kombinace materiálů skrývají závažné nedostatky (175, 176). Je důležité, aby

preklinické testy užívaných materiálů zahrnovaly analýzu charakteristik produkovaných otěrových částic (jako je velikost, tvar, množství apod.) Navíc i nové materiály a jejich kombinace produkují určitý otěr, jehož dlouhodobý vliv na lidský organismus není dostatečně prozkoumán. Při použití kombinace artikulačních povrchů kov-kov byly zjištěny zvýšené hladiny iontů kovů v séru, které mohou vést k závažným nežádoucím účinkům (kancerogenita).

2. **Zvýšit integritu spojení kost-implantát** k zabránění migrace otěru. Implantáty se proto potahují porézními povrchy, neřídka doplněnými o bioaktivní vrstvu např. hydroxyapatitu, dovolující přímé vrůstání kosti do bezprostřední blízkosti implantátu. Implantáty s takto redukováným efektivním kloubním prostorem budou na vliv otěru odolnější a současné klinické zkušenosti tento předpoklad potvrzují.
3. **Farmakologická řešení** dovolující zastavit nebo alespoň tlumit zánětlivou reakci (antagonisté TNF – etanercept , pentoxyphyllin, COX2 inhibitory) jsou testovány v rámci ojedinělých klinických studií. Blokátory osteoklastů (bifosfonáty) neprokázaly příznivý efekt ohledně utlumení periprotetické osteolýzy (177). Poslední vývoj představuje snaha ovlivnit destrukci kostní hmoty selektivní inhibicí osteoklastogeneze protilátkou proti RANKL denosumabem. Studie probíhají v současnosti u revmatoidní artritidy (178).

Lze vyjít z předpokladu, že kostní ztráta u aseptického uvolnění není nevratný proces a v budoucnu některé formy zásahu, ať již mechanické nebo farmakologické, nám umožní naklonit rovnováhu spíše k novotvorbě kosti nežli k její resorpci. Pochopení kostního metabolismu zahrnující jak fyziologické, tak patologické stavy, je proto rozhodující pro vývoj

preventivních opatření, které by mohly minimalizovat nepříznivý klinický dopad periprotetické osteolýzy.

7. Použitá literatura

1. Willert H.G., Buchhorn G., Semlitsch M.: Tissue reaction to abrasion of upper extremity joint endoprostheses, *Orthopade*, 9(2): 94-107, 1980.
2. Tsao A.K., Jones L.C., Lewallen D.G.: What patient and surgical factors contribute to implant wear and osteolysis in total joint arthroplasty?, *J Am Acad Orthop Surg*, 16 Suppl 1:S7-13, 2008.
3. Davidson J.A., Poggie R.A., Mishra A.K., Abrasive wear of ceramic, metal, and UHMWPE bearing surfaces from third-body bone, PMMA bone cement, and titanium debris, *Biomed Mater Eng*, 4(3):213-29, 1994.
4. Engh G.A., Dwyer K.A. and Hanes C. K.: Polyethylene wear of metal-backed tibial components in total and unicompartmental knee prostheses, *J Bone and Joint Surg*, 74-B(1): 9-17, 1992.
5. Bono J.V., Sanford L. and Toussaint J.T.: Severe polyethylene wear in total hip arthroplasty. Observations from retrieved AML PLUS hip implants with an ACS polyethylene liner, *J Arthroplasty*, 9: 119-125, 1994.
6. Astion D. J.; Saluan P., Stulberg B.N., Rimnac C.M. and Li S.: The porous-coated anatomic total hip prosthesis: failure of the metal-backed acetabular komponent, *J. Bone and Joint Surg*, 78-A: 755-766, 1996.
7. Nasser S., Campbell P. A., Kilgus D., Kossovsky N. and Amstutz H. C.: Cementless total joint arthroplasty prostheses with titaniumalloy articular surfaces A human retrieval analysis, *Clin Orthop*, 261: 171-185, 1990.

8. Urban R. M., Jacobs J. J., Gilbert J. L. and Galante J. O.: Migration of corrosion products from modular hip prostheses. Particle microanalysis and histopathological findings, *J Bone and Joint Surg*, 76-A: 1345-1359, 1994.
9. Hop J. D., Callaghan J. J., Olejniczak J. P., Pedersen D. R., Brown T. D. and Johnston R. C.: Contribution of cable debris generation to accelerated polyethylene wear, *Clin. Orthop*, 344: 20-32, 1997.
10. Wroblewski B. M.: Direction and rate of socket wear in Charnley low-friction arthroplasty, *J Bone and Joint Surg*, 67-B(5): 757- 761, 1985.
11. Anthony P. P., Gie G.A., Howie C.R. and Ling R. S. M.: Localised endosteal bone lysis in relation to the femoral components of cemented total hip arthroplasties, *J Bone and Joint Surg*, 72-B(6): 971-979, 1990.
12. Burke D. W., O'Connor D. O., Zalenski E. B., Jasty M. and Harris, W. H.: Micromotion of cemented and uncemented femoral components, *J Bone and Joint Surg*, 73-B(1): 33-37, 1991.
13. Huk O. L.; Bansal M., Betts F., Rimnac C. M., Lieberman J. R., Huo M. H. and Salvati E. A.: Polyethylene and metal debris generated by non-articulating surfaces of modular acetabular components, *J Bone and Joint Surg*, 76-B(4): 568-574, 1994.
14. Lewis P. L., Rorabeck C. H. and Bourne R. B.: Screw osteolysis after cementless total knee replacement, *Clin. Orthop*, 321: 173-177, 1995.
15. McKellop H.A., Campbell P., Park S.H., Schmalzried T.P., Frigorie P., Amstutz H.C. and Sarmiento A.: The origin of submicron polyethylene wear debris in total hip arthroplasty, *Clin Orthop*, 311: 3-20, 1995.
16. Landy M.M., Walker P.S.: Wear of ultra-high-molecular-weight polyethylene components of 90 retrieved knee prostheses, *J Arthroplasty*, 3 Suppl.: 73-85, 1988.

17. Collier J.P., Mayor M.B., McNamara J.L., Surprenant V.A. and Jensen R.E.: Analysis of the failure of 122 polyethylene inserts from uncemented tibial knee components, *Clin Orthop*, 273: 232-242, 1991.
18. Wright T.M., Rinnac C.M., Stulberg S.D., Mintz L., Tsao A.K., Klein R.W. and McCrae C.: Wear of polyethylene in total joint replacements. Observations from retrieved PCA knee implants, *Clin Orthop*, 276: 126-134, 1992.
19. Schmalzried T.P., Jasty M. and Harris W.H.: Periprosthetic bone loss in total hip arthroplasty. Polyethylene wear debris and the concept of the effective joint space, *J Bone and Joint Surg*, 74-A: 849-863, 1992.
20. Guttmann D., Schmalzried T. P., Jasty M. and Harris W. H.: Light microscopic identification of submicron polyethylene wear debris. *J Appl Biomater*, 4: 303-307, 1993.
21. Maloney W.J., Smith R.L., Schmalzried T.P., Chiba J., Huene D. and Rubash H.: Isolation and characterization of wear particles generated in patients who have had failure of a hip arthroplasty without cement, *J Bone and Joint Surg*, 77-A: 1301-1310, 1995.
22. Tipper J.L., Ingham E., Hailey J.L., Besong A.A., Stone M., Wroblewski B.M. and Fisher J.: Quantitative comparison of polyethylene wear debris, wear rate and head damage in retrieved hip prostheses, *Trans Orthop Res Soc*, 22: 355, 1997.
23. Shanbhag A.S., Jacobs J.J., Glant T.T., Gilbert J.L., Black J. and Galante J.O.: Composition and morphology of wear debris in failed uncemented total hip replacement, *J Bone and Joint Surg*, 76-B(1): 60-67, 1994.
24. Margevicius K. J., Bauer T.W., McMahon J.T., Brown S.A. and Merritt K.: Isolation and characterization of debris in membranes around total joint prostheses, *J Bone and Joint Surg*, 76-A: 1664-1675, 1994.

25. Hirakawa K., Bauer T. W., Stulberg B. N. and Wilde A. H.: Comparison and quantitation of wear debris of failed total hip and total knee arthroplasty, *J Biomed Mater Res*, 31: 257-263, 1996.
26. Fulín P., Pokorný D., Šlouf M., Lapčíková M., Pavlová E., Zolotarevová E.: Metoda MORF pro sledování velikostí a tvarů otěrových mikro- a nanočástic UHMWPE v periprotetických tkáních, *Acta Chir orthop Traum čech*, 77 , 2010.
27. Šlouf M., Pokorný D., Entlicher G., Dybal J., Synková H., Lapčíková M., Fejfarová Z., Špundová M., Veselý F., Sosna A.: Quantification of UHMWPE wear debris in periprosthetic tissues of hip arthroplasty: description of a new method based on IR and comparison with radiographic appearance, *Wear*, 265: 674-684, 2008.
28. Charnley J., and Halley D.K.: Rate of wear in total hip replacement, *Clin Orthop*, 112: 170-179, 1975.
29. Livermore J., Ilstrup D. and Morfeu B.: Effect of femoral head size on wear of the polyethylene acetabular komponent, *J Bone and Joint Surg*, 72-A: 518-528, 1990.
30. Sychterz C.J., Moon K.H., Hashimoto Y., Terefenko K.M., Engh C.A. and Bauer T.W.: Wear of polyethylene cups in total hip arthroplasty. A study of specimens retrieved post mortem, *J Bone and Joint Surg*, 78-A: 1193-1200, 1996.
31. Jasty M., Goetz D.D., Bragdon C.R., Lee K.R., Hanson A.E., Elder J.R. and Harris W.H.: Wear of polyethylene acetabular components in total hip arthroplasty. An analysis of one hundred and twenty-eight components retrieved at autopsy or revision operations, *J Bone and Joint Surg*, 79-A: 349-358, 1997.
32. Maxian T.A., Brown T.D., Pedersen D. R. and Callaghan J. J.: 3-dimensional sliding/contact computational simulation of total hip wear, *Clin Orthop*, 333: 41-50, 1996.

33. Kabo J.M., Gebhard J.S., Loren G. and Amstutz H.C.: In vivo wear of polyethylene acetabular components, *J Bone and Joint Surg*, 75-B(2): 254-258, 1993.
34. Jasty M.J., Floyd W.E., Schiller A.L., Goldring S.R. and Harris W. H.: Localized osteolysis in stable, non-septic total hip replacement, *J Bone and Joint Surg*, 68-A: 912-919, 1986.
35. Morrey B.F. and Ilstrup D.: Size of the femoral head and acetabular revision in total hip-replacement arthroplasty. *J Bone and Joint Surg*, 71-A: 50-55, 1989.
36. Schmalzried T.P., Kwong L.M., Jasty M., Sedlacek R.C., Haire T.C., O'Connor D.O., Bragdon C.R., Kabo J.M., Malcolm A.J. and Harris W.H.: The mechanism of loosening of cemented acetabular components in total hip arthroplasty. Analysis of specimen retrieved at autopsy, *Clin Orthop*, 274: 60-78, 1992.
37. Schmalzried T.P., Guttman D., Grecula M. and Amstutz H.C.: The relationship between the design, position, and articular wear of acetabular components inserted without cement and the development of pelvic osteolysis, *J Bone and Joint Surg*, 76-A: 677-688, 1994.
38. Campbell P., Ma S., Yeom B., McKellop H., Schmalzried T.P. and Amstutz H. C.: Isolation of predominantly submicron-sized UHMWPE wear particles from periprosthetic tissues, *J Biomed Mater Res*, 29: 127-131, 1995.
39. Endo M., Tipper J.L., Barton D.C., Stone M.H., Ingham E., Fisher J.: Comparison of wear, wear debris and functional biological activity of moderately crosslinked and non-crosslinked polyethylenes in hip prostheses, *Proc Inst Mech Eng H*, 216(2):111-22, 2002.
40. Schmalzried T.P., Szuszczewicz E.S., Northfield M.R., Akizuki K.H., Frankel R.E., Belcher G. and Amstutz H.C.: Quantitative assessment of walking activity after total hip or knee replacement, *J Bone and Joint Surg*, 80-A: 54-59, 1998.

41. Seedhom B., Dowson D. and Wright V.: Wear of solid phase formed high density polyethylene in relation to the life of artificial hips and knees, *Wear*, 24: 35-51, 1973.
42. Lennox D.W., Schofield B.H., McDonald D.F., Riley L.H.: A histologic comparison of aseptic loosening of cemented, press-fit and biologic ingrowth prostheses, *Clin Orthop*, 225: 171-191, 1987.
43. Murray D.V., Rushton N.: Macrophages stimulate bone resorption when they phagocytose particles, *J Bone Joint Surg.*, 72B:988-992, 1990.
44. Kim K.J., Rubash H.E., Wilson S.C., Dantonio J.A., McClain E.J.: A histologic and biochemical comparison of the interface tissues in cementless and cemented hip prostheses, *Clin Orthop*, 287:142-152, 1993.
45. Kadoya Y., Revell P.A., Al-Saffar N., Kobayashi A., Scott G., Freeman M.A.R.: Bone formation and bone resorption in failed total joint replacements arthroplasties: histomorphometric analysis with histochemical and immunohistochemical technique, *J Ortho Res*, 14:473-482, 1997.
46. Purdue P.E., Koulouvaris P., Nestor B.J., Sculco T.P.: The central role of wear debris in periprosthetic osteolysis, *HSS J*, 2(2):102-13, 2006.
47. Horowitz S.M., Gonzales J.B.: Effects of polyethylene on macrophages, *J Orthop Res*, 15(1):50-6, 1997.
48. Harris W.H.: Wear and periprosthetic osteolysis: the problem, *Clin Orthop*, 12(393):66-70, 2001.
49. Howling G.I., Barnett P.I., Tipper JL, Stone M.H., Fisher J., Ingham E.: Quantitative characterization of polyethylene debris isolated from periprosthetic tissue in early failure knee implants and early and late failure Charnley hip implants, *J Biomed Mater Res*, 58(4):415-20, 2001.

50. Lennox D.W., Schofield B.H., McDonald D.F., Riley L.H.: A histologic comparison of aseptic loosening of cemented, press-fit and biologic ingrowth prostheses, *Clin Ortop*, 225:171-191, 1987.
51. Holowitz S.M., Doty S.B., Lane J.M., Burstein A.H.: Studies of the mechanism by which the mechanical failure of polymethylmethacrylate leads to bone resorption, *J Bone Joint Surg (Am)*, 75A: 802-813, 1993.
52. Haynes D.R., Crotti T.N., Potter A.E., Loric M., Atkins G.J., Howie D.W., Findlay D.M.: The osteoclastogenic molecules RANKL and RANK are associated with periprosthetic osteolysis, *J Bone Joint Surg Br*, 83(6):902-11, 2001.
53. Baumann B., Rader C.P., Seufert J., Nöth U., Rolf O., Eulert J., Jakob F.: Effects of polyethylene and TiAlV wear particles on expression of RANK, RANKL and OPG mRNA, *Acta Orthop Scand*, 75(3):295-302, 2004.
54. Goodman S.B.: Wear particles, periprosthetic osteolysis and the immune system, *Biomaterials*, 28(34):5044-8, 2007.
55. Taki N., Tatro J.M., Nalepka J.L., Togawa D., Goldberg V.M., Rimnac C.M., Greenfield E.M.: Polyethylene and titanium particles induce osteolysis by similar, lymphocyte-independent, mechanisms, *J Orthop Res*, 23(2):376-83, 2005.
56. Revell P.A.: The combined role of wear particles, macrophages and lymphocytes in the loosening of total joint prostheses, *J R Soc Interface*, 5(28):1263-78, 2008.
57. Green T.R., Fisher J., Stone M., Wroblewski B.M., Ingham E.: Polyethylene particles of a 'critical size' are necessary for the induction of cytokines by macrophages in vitro, *Biomaterials*, 19(24):2297-302, 1998.
58. Green T.R., Fisher J., Matthews J.B., Stone M.H., Ingham E.: Effect of size and dose on bone resorption activity of macrophages by in vitro clinically relevant ultra

- high molecular weight polyethylene particles, *J Biomed Mater Res*, 53(5):490-7, 2000.
59. Benz E.B., Federman M., Godleski J.J., Bierbaum B.E., Thornhill T.S., Spector M.: Transmission electron microscopy of intracellular particles of polyethylene from joint replacement prostheses: size distribution and cellular response, *Biomaterials*, 22(21):2835-42, 2001.
 60. Green T., Fisher J. and Ingham E.: Polyethylene particles of a “critical” size are necessary for the induction of IL-6 by macrophages in vitro, *Trans Orthop Res Soc*, 22: 733, 1997.
 61. Kadoya Y., Kobayashi A., Ohashi H.: Wear and osteolysis in total joint replacements, *Acta Orthopaedica Scandinavica*, Suppl. 278, Vol 69, 1998.
 62. Goldring M.B., Goldring S.R., Skeletal tissue response to cytokine, *Clin Orthop*, 258, 245-278, 1990.
 63. Jiranek W.A., Machado M., Jasty M., Jevsevar D., M.D., Wolfe H., Goldring S.R., Goldberg M., Harris W.H.: Production of Cytokines around Loosened Cemented Acetabular Components, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 6: 863-879, 1993.
 64. Xu J.W., Konttinen Y.T., Waris V. et al.: Macrophage-colony stimulating factor is increased in the synovial-like membrane of the periprosthetic tissues in the aseptic loosening of total hip replacement, *Clin. Rheumatol.*, 16:243-8, 1997.
 65. Goodman S.B., Huie P., Song Y., Schurman D., Maloney W., Woolson S., Sibley R.: Cellular profile and cytokine production at prosthetic interfaces, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 3: 531-539, 1998.
 66. Neale S.D., Sabokbar A., Howie D.W., Murray D.W., Athanasou N.A.: Macrophage Colony-Stimulating Factor and Interleukin-6 Release by Periprosthetic Cells

- Stimulates Osteoclast Formation and Bone Resorption, *Journal of Orthopaedic Research*, 17:686-694, 1999.
67. Hirashima Y., Ishiguro N., Kondo S., Iwata H.: Osteoclast induction from bone marrow cells is due to pro-inflammatory mediators from macrophages exposed to polyethylene particles: a possible mechanism of osteolysis in failed THA, *J Biomed Mater Res*, 56(2):177-83, 2001.
 68. Takei I., Takagi M., Ida H., Ogino T., Santavirta S., Kontinen Y.T.: High macrophage-colony stimulating factor levels in synovial fluid of loose artificial hip joints, *J Rheumatol*, 27:894-899, 2000.
 69. Athanasou N.A., Path F.R.C.: Current Concepts Review Cellular Biology of Bone-Resorbing Cells, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 1096-1112, 1996.
 70. Quinn J.M., Itoh K., Udagawa N., Hausler K., Yasuda H., Shima N., Mizuno A., Higashio K., Takahashi N., Suda T., Martin T.J., Gillespie M.T.: Transforming growth factor beta affects osteoclast differentiation via direct and indirect actions, *J Bone Miner Res*, Oct 16(10):1787-94, 2001.
 71. Kryštůfková O., Růžičková Š., Niederlová J., Venkovský J.: Základní buněčné a molekulární principy remodelace kosti u revmatoidní artritidy, *Čes Revmatol*, 12, s. 3–13, 2004.
 72. Willert H.G.: Reactions of the articular capsule to wear products of artificial joint prostheses, *J Biomed Mater Res*, 11: 157-164, 1977.
 73. Kirschenbaum I.H.: Basic principles of hydroxyapatite in joint replacement surgery, *Semin Arthroplasty*, 2(4):252-9, 1991.
 74. Overgaard S., Lind M., Glerup H., Grundvig S., Bunger C., Soballe K.: Hydroxyapatite and fluorapatite coatings for fixation of weight loaded implants, *Clin Orthop*, Mar (336): 286-96, 1997.

75. Landor I., Vavřík P., Jahoda D., Pokorný D., Ballay R., Sosna A.: Long-term experience with the combined ARBOND hydroxyapatite coating in implant osteointegration, *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*, 76(3):172-8, 2009.
76. Komiya S., Inoue A., Sasaguri Y., Minamitani K. and Morimatsu M.: Rapidly destructive arthropathy of the hip. Studies on bone resorptive factors in joint fluid with a theory of pathogenesis, *Clin Orthop*, 284: 273-282, 1992.
77. Takagi M., Kontinen Y. T., Lindy O., Sorsa T., Kurvinen H., Suda A. and Santavirta S.: Gelatinase/type IV collagenases in the loosening of total hip replacement endoprostheses, *Clin Orthop*, 306: 136-144, 1994.
78. Beraudi A., Stea S., Cremonini S., Visentin M., Toni A.: Assessment of five interleukins in human synovial fluid as possible markers for aseptic loosening of hip arthroplasty, *Artif Organs*, 33(7):538-43, 2009.
79. Wang C.T., Lin Y.T., Chiang B.L., Lee S.S., Hou S.M.: Over-expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL), inflammatory cytokines, and chemokines in periprosthetic osteolysis of loosened total hip arthroplasty, *Biomaterials*, 31(1):77-82, 2010.
80. Andersson M.K., Lundberg P., Ohlin A., Perry M.J., Lie A., Stark A., Lerner U.H.: Effects on osteoclast and osteoblast activities in cultured mouse calvarial bones by synovial fluids from patients with a loose joint prosthesis and from osteoarthritis patients, *Arthritis Res Ther*, 9: R18, 2007.
81. Andersson M.K., Anissian L., Stark A., Bucht E., Fellander-Tsai L., Tsai J.A.: Synovial fluid from loose hip arthroplasties inhibits human osteoblasts, *Clin Orthop*, 378: 148-154, 2000.

82. Hendrix R.W., Wixon R.L., Rana N.A. and Rogers L.F.: Arthrography after total hip arthroplasty: a modified technique used in the diagnosis of pain, *Radiology*, 148: 647-652, 1983.
83. Maloney W.J., Peters P., Engh C.A. and Chandler H.: Severe osteolysis of the pelvis in association with acetabular replacement without cement, *J Bone and Joint Surg*, 75-A: 1627-1635, 1993.
84. Van Der Vis H.M., Aspenberg P., Marti R.K., Tigchelaar W. and Van Noorden C.J.F.: Fluid pressure causes bone resorption in a rabbit model of prosthetic loosening, *Clin Orthop*, 350: 201-208, 1998.
85. Resnick D., Niwayama G. and Coultts R.D.: Subchondral cysts (geodes) in arthritic disorders: pathologic and radiographic appearance of the hip joint, *Am. J. Roentgenol.*, 128: 799-806, 1977.
86. Schmalzried T.P., Akizuki K.H., Fedenko A.N., Mirra J.: The Role of Access of Joint Fluid to Bone in Periarticular Osteolysis: A Report of Four Cases, *J Bone and Joint Surg*, 79:447-52, 1997.
87. Jiranek W.A., Dalury D.F., Qui J.Y. and Cardea J.: Bone resorption in osteoarthritic cysts demonstrates a similar cytokine profile as osteolytic lesions around joint implants, *Trans Orthop Res Soc*, 22: 159, 1997.
88. Hatstrup S.J., Bryan R.S., Gaffey T.A. and Stanhope C.R.: Pelvic mass causing vesical compression after total hip arthroplasty. Case report, *Clin Orthop*, 227: 184-189, 1988.
89. Howie D.W., Cain C.M.J. and Cornish B.L.: Pseudo-abscess of the psoas bursa in failed double-cup arthroplasty of the hip, *J Bone and Joint Surg*, 73-B(1): 29-32, 1991.

90. Matsumoto K., Hukuda S., Nishioka J. and Fujita T.: Iliopsoas bursal distension caused by acetabular loosening after total hip arthroplasty. A rare complication of total hip arthroplasty, *Clin Orthop*, 279: 144-148, 1992.
91. Goddard N.J. and Gosling P.T.: Intra-articular fluid pressure and pain in osteoarthritis of the hip, *J Bone and Joint Surg*, 70-B(1): 52-55, 1988.
92. Charnley J., Follacci F.M. and Hammond B.T.: The long-term reaction of bone to self-curing acrylic cement. *J Bone and Joint Surg*, 50-B(4): 822-829, 1968.
93. Charnley J.: Fracture of femoral prostheses in total hip replacement. A clinical study. *Clin Orthop*, 111: 105-120, 1975.
94. Harris W.H., Schiller A.L., Scholler J.M., Freiberg R.A. and Scott R.: Extensive localized bone resorption in the femur following total hip replacement, *J Bone and Joint Surg*, 58-A: 612-618, 1976.
95. Jones L.C. and Hungerford D.S.: Cement disease, *Clin Orthop*, 225: 192-206, 1987.
96. Herman J.H., Sowder W.G., Anderson D., Appel, A. M. and Hopson C.N.: Polymethylmethacrylate-induced release of boneresorbing factors, *J Bone and Joint Surg*, 71-A: 1530-1541, 1989.
97. Horowitz S.M., Doty S.B., Lane J.M. and Burstein A.H.: Studies of the mechanism by which the mechanical failure of poly-methylmethacrylate leads to bone resorption, *J Bone and Joint Surg*, 75-A: 802-813, 1993.
98. Maloney W.J., Jasty M., Burke D.W., O'Connor D.O., Zalenski E.B., Bragdon C. and Harris W.H.: Biomechanical and histologic investigation of cemented total hip arthroplasties. A study of autopsy-retrieved femurs after in vivo cycling, *Clin Orthop*, 249: 129-140, 1989.

99. Jasty M., Maloney W.J., Bragdon C.R., Haire T. and Harris W.H.: Histomorphological studies of the long-term skeletal response to well fixed cemented femoral components, *J Bone and Joint Surg*, 72-A: 1220-1229, 1990.
100. Jasty M., Maloney W.J., Bragdon C.R., O'Connor D.O., Haire T. and Harris W.H.: The initiation of failure in cemented femoral components of hip arthroplasties, *J Bone and Joint Surg*, 73-B(4): 551-558, 1991.
101. Mulroy W.F., Estok D.M. and Harris W.H.: Total hip arthroplasty with use of so-called second-generation cementing techniques. A fifteen-year-average follow-up study, *J Bone and Joint Surg*, 77-A: 1845-1852, 1995.
102. Gie G.A., Fowler J.L., Lee A.J.C. and Ling R.S.M.: The long-term behaviour of a totally collarless polished femoral component in cemented total hip arthroplasty. In Proceedings of the British Orthopaedic Association, *J Bone and Joint Surg*, 72-B(5): 935, 1990.
103. Schulte K.R., Callaghan J.J., Kelley S.S. and Johnston R.C.: The outcome of Charnley total hip arthroplasty with cement after a minimum twenty-year follow-up. The results of one surgeon, *J Bone and Joint Surg*, 75-A: 961-975, 1993.
104. Maloney W.J., Jasty M., Harris W.H., Galante J.O. and Callaghan J.J.: Endosteal erosion in association with stable uncemented femoral components, *J Bone and Joint Surg*, 72-A: 1025-1034, 1990.
105. Tanzer M., Maloney W.J., Jasty M. and Harris W.H.: The progression of femoral cortical osteolysis in association with total hip arthroplasty without cement, *J Bone and Joint Surg*, 74-A: 404-410, 1992.
106. Bugbee W.D., Culpepper W.J., Engh C.A. and Engh C.A.: Long-term clinical consequences of stress-shielding after total hip arthroplasty without cement, *J Bone and Joint Surg*, 79-A: 1007-1012, 1997.

107. Engh C.A.Jr., Culpepper W.J. and Engh C.A.: Long-term results of use of the anatomic medullary locking prosthesis in total hip arthroplasty, *J Bone and Joint Surg*, 79-A: 177-184, 1997.
108. Froimson M.I., Garino J., Machenaud A., Vidalain J.P.: Minimum 10-year results of a tapered, titanium, hydroxyapatite-coated hip stem: an independent review, *J Arthroplasty*, 22(1):1-7, 2007.
109. Landor I., Vavrik P., Sosna A., Jahoda D., Hahn H., Daniel M.: Hydroxyapatite porous coating and the osteointegration of the total hip replacement, *Arch Orthop Trauma Surg*, 127:81-89, 2007.
110. Hodgkinson J.P., Shelley P. and Wroblewski B.M.: The correlation between the roentgenographic appearance and operating findings at the bone-cement junction of the socket in Charnley low friction arthroplasties, *Clin Orthop*, 228: 105-109, 1988.
111. Zicat B., Engh C.A. and Gokcen E.: Patterns of osteolysis around total hip components inserted with and without cement, *J Bone and Joint Surg*, 77-A: 432-439, 1995.
112. García-Cimbrelo E., Diez-Vazquez V., Madero R. and Munuera L.: Progression of radiolucent lines adjacent to the acetabular component and factors influencing migration after Charnley low-friction total hip arthroplasty, *J Bone and Joint Surg*, 79-A: 1373-1380, 1997.
113. Kobayashi S., Takaoka K., Saito N. and Hisa K.: Factors affecting aseptic failure of fixation after primary Charnley total hip arthroplasty. Multivariate survival analysis, *J Bone and Joint Surg*, 79-A: 1618-1627, 1997.
114. Sochart D.H.: Relationship of acetabular wear to osteolysis and loosening in total hip arthroplasty, *Clin Orthop Relat Res*, 6(363):135-50, 1999.

115. Pidhorz L.E., Urban R.M., Jacobs J.J., Sumner D.R. and Galante J.O.: A quantitative study of bone and soft tissues in cementless porous-coated acetabular components retrieved at autopsy, *J Arthroplasty*, 8: 213-225, 1993.
116. Schmalzried T.P. and Harris W.H.: Hybrid total hip replacement. A 6.5-year follow-up study, *J Bone and Joint Surg*, 75-B(4): 608-615, 1993.
117. Schmalzried T.P. and Harris W.H.: The Harris-Galante porous-coated acetabular component with screw fixation. Radiographic analysis of eighty-three primary hip replacements at a minimum of five years, *J Bone and Joint Surg*, 74-A: 1130-1139, 1992.
118. Schmalzried T.P., Wessinger S.J., Hill G.E. and Harris W.H.: The Harris-Galante porous acetabular component press-fit without screw fixation. Five-year radiographic analysis of primary cases, *J Arthroplasty*, 9: 235-242, 1994.
119. Wixson R.L., Stulberg S.D. and Mehlhoff M.: Total hip replacement with cemented, uncemented, and hybrid prostheses. A comparison of clinical and radiographic results at two to four years, *J Bone and Joint Surg*, 73-A: 257-270, 1991.
120. Charnley J.: *Low Friction Arthroplasty of the Hip. Theory and Practice*, New York, Springer, 1979.
121. Pierson J.L. and Hartus W.H.: Extensive osteolysis behind an acetabular component that was well fixed with cement. A case report, *J Bone and Joint Surg*, 75-A: 268-271, 1993.
122. Maloney W.J., Herzworm P., Paprosky W., Rubash H.E. and Engh C.A.: Treatment of pelvic osteolysis associated with a stable acetabular component inserted without cement as part of a total hip replacement, *J Bone and Joint Surg*, 79-A: 1628-1634, 1997.

123. Gruen T.A., Mcneice G.M., Amstutz H.C.: Modes of failure of cemented stem-type femoral components: a radiographic analysis of loosening, *Clin Orthop*, 141:17-24, 1979.
124. Vavřík P., Popelka S., Vírava J.: Ojedinělý případ oboustranného výskytu rozsáhlého polyetylénového granulomu po náhradě kolena, *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*, 68(5):320-323, 2001.
125. Boyce B.F., Yoneda T., Lowe C. et al.: Requirement of pp60 c-src expression for osteoclasts to form ruffled borders and resorb bone in mice, *J Clin Invest.*, 90: 1622-1627, 1992.
126. Yasuda H., Shima N., Nakagawa N. et al.: Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin /osteoclastogenesis inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL, *PNAS*, 7: 3597-3602, 1998.
127. Lacey D.L., Tan H.L., Lu J. et al.: Osteoprotegerin ligand modulates murine osteoclast survival in vitro and in vivo, *Am J Pathol*, 157: 435-448, 2000.
128. Broulík P.: Osteoporóza. Maxdorf Praha, 14-21,1999.
129. Suda T., Udagawa N., Nakamura I. et al.: Modulation of osteoclast differentiation by local factors, *Bone*, 17: 87S-91S, 1995.
130. Chambers T.J., Owens J.M., Hattersley G. et al.: Generation of osteoclast-inductive and osteoclastogenic cell lines from the H-2KbtsA58 transgenic mouse, *PNAS*, 90: 5578-5582, 1992.
131. Marie P., Debiasis F., Cohen-Solal M. et al.: New factors controlling bone remodelling. *Joint Bone Spine*, 67: 150-156, 2000.
132. Kong Y.Y., Boyle W.J., Penninger J.M.: Osteoprotegerin ligand: a regulator of immune responses and bone physiology, *Immunology Today*, 10: 495-502, 2000.

133. Lum L., Wong B.R., Josien R. et al.: Evidence of a role of a tumor necrosis factor- α (TNF- α)-converting enzyme-like protease shedding of TRANCE, a TNF-family member involved in osteoclastogenesis and dendritic cell survival, *J Biol Chem*, 274: 13613-13618, 1999.
134. Shingeyama Y., Pap T., Kunzler P. et al.: Expression of osteoclast differentiation factor in rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum*, 11: 2523-2530, 2000.
135. Fata J.E., Kong Y.Y., Li J et al.: The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development, *Cell*, 103: 41-50, 2000.
136. Itonaga I., Fujikawa A., Sabokar A. et al.: Rheumatoid arthritis synovial macrophage-osteoclast differentiation is osteoprotegerin ligand-dependent, *J Pathol*, 192: 97-104, 2000.
137. Simonet W.S., Lacey D.L., Dunstan C.R. et al.: Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density, *Cell*, 89: 309-319, 1997.
138. Jones D.H., Kong Y-Y., Penninger J.M.: Role of RANKL and RANK in bone loss and arthritis, *Ann Rheum Dis*, 61 (Suppl II): 1132-1139, 2002.
139. Tsuda E., Goto M., Mochizuki S. et al.: Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specially inhibits osteoclastogenesis, *Biochem Biophys Res Commun*, 234: 137-142, 1997.
140. Takayanagi H., Izuka H., Juji T. et al.: Involvement of receptor activator of nuclear factor κ B/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synoviocytes in rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum*, 43: 259-269, 2000.
141. Wong B.R., Rho J., Arron J. et al.: TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells, *J Biol Chem*, 272: 25190-25194, 1997.

142. Anderson D.M., Maraskovsky E., Billingsley W.L. et al.: A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function, *Nature*, 390: 175-179, 1997.
143. Emery J.G., McDonnell P., Burke M.B., Deen K.C. et al.: Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL, *J Biol Chem*, 273: 14363-14367, 1998.
144. Harris W.H.: Conquest of a worldwide human disease: particle-induced periprosthetic osteolysis, *Clin Orthop Relat Res*, (429):39-42, 2004.
145. Chiu R., Ma T., Smith R.L., Goodman S.B.: Ultrahigh molecular weight polyethylene wear debris inhibits osteoprogenitor proliferation and differentiation in vitro, *J Biomed Mater Res*, 89(1):242-7, 2009.
146. Goodman S.B., Gómez Barrena E., Takagi M., Kontinen Y.T.: Biocompatibility of total joint replacements: A review, *J Biomed Mater Res A*, 90(2):603-18, 2009.
147. Ito S., Matsumoto T., Enomoto H., Shindo H.: Histological analysis and biological effects of granulation tissue around loosened hip prostheses in the development of osteolysis, *J Orthop Sci*, 9(5):478-87, 2004.
148. Holt G., Murnaghan C., Reilly J., Meek R.M.: The biology of aseptic osteolysis, *Clin Orthop Relat Res*, 460:240-52, 2007.
149. Gravius S., Mumme T., Delank K.S., Eckardt A., Maus U., Andereya S., Hansen T.: Immunohistochemical analysis of periprosthetic osteolysis in aseptic loosening of hip arthroplasty, *Z Orthop Unfall*, 145(2):169-75, 2007.
150. Purdue P.E., Koulouvaris P., Potter H.G., Nestor B.J., Sculco T.P.: The cellular and molecular biology of periprosthetic osteolysis, *Clin Orthop Relat Res*, 454:251-61. 2007.

151. Pandey R., Quinn J., Joyner C., Triffitt J.T., Athanasou N.A.: Arthroplasty implant biomaterial particle-associated macrophages differentiate into osteoclastic bone-resorbing cells, *Ann Rheum Dis*, 55:388-395, 1996.
152. Tamaki Y., Sasaki K., Sasaki A., Takakubo Y., Hasegawa H., Ogino T., Kontinen Y.T., Salo J., Takagi M.: Enhanced osteolytic potential of monocytes/macrophages derived from bone marrow after particle stimulation, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 84(1):191-204, 2008.
153. Ren P.G., Irani A., Huang Z., Ma T., Biswal S., Goodman S.B.: Continuous Infusion of UHMWPE Particles Induces Increased Bone Macrophages and Osteolysis, *Clin Orthop Relat Res*, 469(1):113-22, 2010.
154. Sabokbar A.S., Fujikawa Y., Neale S., Murray D., Athanasou N.A.: Human arthroplasty derived macrophages differentiate into osteoclastic bone-resorbing cells, *Ann Rheum Dis*, 56:414-420, 1997.
155. Itonaga I., Sabokbar A., Murray D.W., Athanasou N.A.: Effect of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand on osteoclast formation by arthroplasty membrane derived macrophages, *Ann Rheum Dis*, 59(1):26-31, 2000.
156. Sabokbar A., Kudo O., Athanasou N.A.: Two distinct cellular mechanisms of osteoclast formation and bone resorption in periprosthetic osteolysis, *J Orthop Res*, 21(1):73-80, 2003.
157. Kong Y.Y., Yoshida H., Sarosi I., Tan H.L., Timms E., Capparelli C., Morony S., Oliveira-dos-Santos A.J., Van G., Itie A., Khoo W., Wakeham A., Dunstan C.R., Lacey D.L., Mak T.W., Boyle W.J., Penninger J.M.: OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis, *Nature*, 28-397(6717):315-23, 1999.

158. Lam J., Takeshita S., Barker J.E., Kanagawa O., Ross F.P., Teitelbaum S.L.: TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand, *J Clin Invest*, 106(12):1481-8, 2000.
159. Gallo J., Zdařilová A., Rajnochová Svobodová A., Ulrichová J., Radová L., Smižanský M.: Výpotky asepticky selhávajících TEP kyčlí a kolen nejsou toxické pro osteoblasty, *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*, 77: 416-424, 2010.
160. Ren W.P., Markel D.C., Zhang R., Peng X., Wu B., Monica H., Wooley P.H.: Association between UHMWPE particle-induced inflammatory osteoclastogenesis and expression of RANKL, VEGF, and Flt-1 in vivo, *Biomaterials*, 27(30):5161-9, 2006.
161. MacQuarrie R.A., Fang Chen Y., Coles C., Anderson G.I.: Wear-particle-induced osteoclast osteolysis: the role of particulates and mechanical strain: *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 69(1):104-12, 2004.
162. Okafor C.C., Haleem-Smith H., Laqueriere P., Manner P.A., Tuan R.S.: Particulate endocytosis mediates biological responses of human mesenchymal stem cells to titanium wear debris, *J Orthop Res*, 24(3):461-73, 2006.
163. Horiki M., Nakase T., Myoui A., Sugano N., Nishii T., Tomita T., Miyaji T., Yoshikawa H.: Localisation of RANKL in osteolytic tissue around a loosened joint prosthesis, *J Bone Miner Metab* 22:346-351, 2004.
164. Sabokbar A., Itonaga I., Sun S.G., Kudo O., Athanasou N.A.: Arthroplasty membrane-derived fibroblasts directly induce osteoclast formation and osteolysis in aseptic loosening, *J Orthop Res*, 23(3):511-9, 2005.
165. Hofbauer L.C., Khosla S., Dunstan C.R., Lacey D.L., Boyle W.J., Riggs B.L.: The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption, *J Bone Miner Res*, 15:2-12, 2000.

166. Mandelin J., Li T.F., Liljestrom M., Kroon M.E., Hanemaaijer R., Santavirta S., Konttinen Y.T.: Imbalance of RANKL/RANK/OPG system in interface tissue in loosening of total hip replacement, *J Bone Joint Surg Br*, 85:1196-1201, 2003.
167. Epstein N.J., Warne B.A., Spanogle J., Ma T., Bragg B., Smith R.L., Goodman S.B.: Interleukin-1 modulates periprosthetic tissue formation in an intramedullary model of particle-induced inflammation, *J Orthop Res*, 23:501-510, 2005.
168. Kim K.J., Kotake S., Udagawa N., Ida H., Ishii M., Takei I., Kubo T., Takagi M.: Osteoprotegerin inhibits in vitro mouse osteoclast formation induced by joint fluid from failed total hip arthroplasty, *J Biomed Mater Res*, 58(4):393-400, 2001
169. Childs L.M., Goater J.J., O'Keefe R.J., Schwarz E.M.: Effect of anti-tumor necrosis factor-alpha gene therapy on wear debris-induced osteolysis, *J Bone Joint Surg Am*, 83-A(12):1789-97, 2001.
170. Clohisy J.C., Frazier E., Hirayama T., Abu-Amer Y.: RANKL is essential cytokine mediator of polymethylmethacrylate particle-induced osteoclastogenesis, *J Orthop Res* 21:202-212, 2003.
171. Masui T., Sakano S., Hasegawa Y., Warashina H., Ishiguro N.: Expression of inflammatory cytokines, RANKL and OPG induced by titanium, cobalt-chromium and polyethylene particles, *Biomaterials* 26:1695-1702, 2005.
172. Ramage S.C., Urban N.H., Jiranek W.A., Maiti A., Beckman M.J.: Expression of RANKL in osteolytic membranes: association with fibroblastic cell markers, *J Bone Joint Surg Am*, 89(4):841-8, 2007.
173. Pokorný D., Šlouf M., Veselý F., Fulín P., Jahoda D., Landor I., Popelka S., Běláček J., Zolotarerová E., Sosna A.: Distribuce oterovych castic UHMWPE v periprotetických tkáních u TEP kyčelního kloubu, *Acta Chir. Ortop. Traumat. Čech.*, 77: 87-92, 2010.

174. Gallo J, Mrázek F, Petrek M.: Involvement of immunogenetic factors in the development of periprosthetic osteolysis, *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*, 74(4):247-52, 2007.
175. Carr A.M., DeSteiger R.: Osteolysis in patients with a metal-on-metal hip arthroplasty, *ANZ J Surg*, 78(3):144-7, 2008.
176. Cohn R.M., González Della Valle A., Peterson M., Cornell C.N.: Similar wear in total hip arthroplasties with metallic or zirconia femoral heads, *HSS J*, 4(2):107-11, 2008.
177. Eberhardt C., Habermann B., Kurth A.A.: The use of bisphosphonates in arthroplasty, *Orthopade*, 36(2):141-5, 2007.
178. Lewiecki E.M.: Denosumab for joints and bones, *Curr Rheumatol Rep*, 11(3):196-201, 2009.