

Onderzoek

IMPLANTATEN MET PLASMASPRAY-COATINGS VAN HYDROXYLAPATIET

Eerste experimentele ervaringen in alveolair bot

SAMENVATTING

Gesinterd hydroxylapatietkeramiek kan door middel van een plasmaspray-procédé in een dunne laag op een titanium kern worden aangebracht. De biologische reacties van alveolair bot op een implantaat met een dergelijke coating zijn in een dierexperimenteel onderzoek geëvalueerd. De resultaten wijzen uit dat het corticale alveolaire bot een directe binding met de plasmaspray-coating aangaat en dat de biologische eigenschappen van een plasmaspray-coating van hydroxylapatiet overeenkomen met de eigenschappen van gesinterd bulk hydroxylapatiet.

DENISSEN HW, DE NIEUPOORT HM, MALTHA JC, KALK W, VAN DEN HOOFF A.
Implantaten met plasmaspray-coatings van hydroxylapatiet. Eerste experimentele ervaringen in alveolair bot. Ned Tijdschr Tandheelkd 1989; 96: 318-21.

H. W. Denissen, tandarts*)
H. M. de Nieuport, tandarts*)
J. C. Maltha, histoloog**)*)
W. Kalk, tandarts*)
A. van den Hooff, histoloog***)

Uit de *)vakgroep Orale Functieleer en Prothetische Tandheelkunde en het **)Laboratorium voor Orale Histologie van de Katholieke Universiteit Nijmegen en het ***)Laboratorium voor Histologie en Celbiologie van de Universiteit van Amsterdam.

Trefwoorden: **Implantologie** – Hydroxylapatiet

Datum van acceptatie: 11 april 1989.

Adres: Dr. H. W. Denissen, postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.

1. INLEIDING

Hydroxylapatiet-implantatiemateriaal in de vorm van conussen van gesinterd 'bulk



Afb. 1. Boven: Gesinterd Bulk-HA-keramiek dat vermalen wordt tot deeltjes van 5-10 micron. De deeltjes worden op de titanium kern van de implantaten aangebracht door middel van het plasmaspray-procédé.

Onder: De twee dierexperimentele PS-HA-implantaten (Dyna Dental Engineering BV). Het linker implantaat heeft een oppervlak met windingen terwijl het rechter implantaat cilindrisch is met een afgeronde bodem.

hydroxylapatiet' (Bulk-HA), werd jarenlang in dierexperimenteel en klinisch onderzoek beproefd.¹⁻⁴ De stevige hechting van alveolair bot aan Bulk-HA en de uitstekende biologische eigenschappen gaven aanleiding om implantaten te construeren die belast zouden kunnen worden. Het Bulk-HA dat op zichzelf een bros en dus gemakkelijk breekbaar materiaal is, maakt versteviging door een metalen kern noodzakelijk. Deze versteviging werd oorspronkelijk op twee manieren gezocht. De ene manier was het cementeren van een 'titanium' (TI) kern in een holle cilinder van Bulk-HA.⁵ Een andere manier was het voorspannen van een holle cilinder van Bulk-HA.⁶ Het eerstgenoemde implantaat leed aan cementbreuk. Het voorgespannen implantaat was te groot voor geatrofieerde onderkaken en had een apicale metalen schroef die door een dikke bindweefsellaag werd afgekapseld.⁷ Deze nadelen worden ondervangen door het hydroxylapatiet direct in een dunne laag op de titanium kern te sprayen.

Dit artikel beschrijft dierexperimenteel onderzoek met 'plasmaspray-hydroxylapatiet' (PS-HA)-implantaten die volgens dit principe zijn vervaardigd. Het doel van het onderzoek is de biologische eigenschappen van de PS-HA-coating en de hechting van alveolair bot aan de PS-HA-coating te vergelijken met die aan Bulk-Ha-implantaten.

2. MATERIAAL EN METHODE

2.1. Het plasmaspray-procédé

Het principe van het plasmaspray-procédé is beschreven door Bunshah en de Groot.^{8,9} Kort samengevat komt het er op neer dat een geïoni-

seerd gas, dat een plasma wordt genoemd, op een temperatuur van 30.000° C wordt gebracht en daarbij een snelheid bereikt die gelijk kan zijn aan die van het geluid. In genoemd plasma worden Bulk-HA-keramische deeltjes gebracht. Door de hoge temperatuur van het plasma barsten de Bulk-HA-deeltjes uit elkaar en vormen partikels van 1-5 micron die aan het oppervlak beginnen te smelten. De partikels worden dan op het opgeruwde oppervlak van de TI-kern van het implantaat gesprayed. Er ontstaat een chemische verbinding tussen de HA-partikels enerzijds en de titaniumoxyde (TiO₂) laag van het metalen substraat anderzijds. Een dergelijke chemische verbinding kan zijn CaTiO₃.

Voor de dierexperimentele evaluatie is het belangrijk te weten dat de coating wordt aangebracht in opeenvolgende lagen van 5-10 micron waarbij elke nieuw aangebrachte laag de oppervlakteporiën van de vorige laag dicht maakt. Derhalve ontstaat een binnenste laag, direct op het TI-oppervlak van 30-35 micron die uit dicht HA bestaat, terwijl de buitenste laag (10-15 micron) die in contact zal staan met alveolair bot in geringe mate poreus en korrelig van structuur is. Verdere belangrijke eigenschappen zijn:

1. De HA-coating bestaat voor 90% uit puur HA en voor 10% uit calciumfosfaten zonder apatietstructuur. Dit komt overeen met de samenstelling van gesinterd Bulk-HA.¹⁰
2. Vermoedheidsbreuk van de coating treedt zelfs niet op bij 10 miljoen keer belasten met 100-6000 Newton.⁹
3. De sterkte en andere eigenschappen van de HA-coating worden niet nadelig beïnvloed door sterilisatie met ethyleenoxide of gammastralen.⁹

De twee typen PS-HA-implantaten die in het dierexperimenteel onderzoek werden gebruikt, hadden een zuiver cilindrische vorm of een cilindrische vorm met daarin aangebracht windingen (afb. 1).

2.2. Het dierexperimenteel onderzoek

2.2.1. Chirurgische procedures

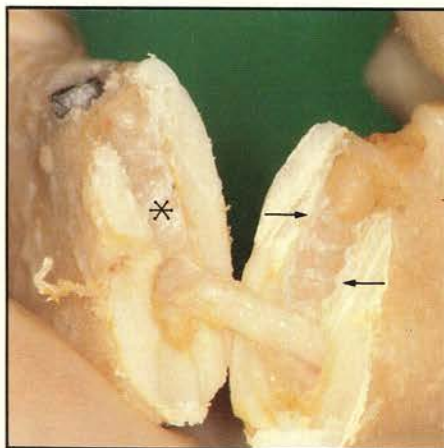
Voor het onderzoek werden twee Beagle honden gebruikt van ongeveer 10 jaar oud met een gewicht van 13 en 15 kg. De dieren werden gehuisvest onder normale laboratoriumcondities in het Centraal Dierenlaboratorium van de Katholieke Universiteit te Nijmegen.

Voor de operatie werden de dieren gepremediceerd met 0.5 mg Atropine-sulfaat en 1 ml Thalamonalim. Daarna werden ze onder narcose gebracht met 15 mg/kg Pentothal® i.v. De dieren werden geïntubeerd en de narcose werd onderhouden met een mengsel van lachgas, ethaan en zuurstof.

De derde en vierde premolaren in de mandibula, die elk een mesiale en een distale wortel bezitten, werden geëxtraheerd. Het apicale deel van de aveolen werd ruimer gemaakt met behulp van een intern gekoelde cilindrische boor met een diameter van 33 mm, hetgeen overeenkomt met de standaarddiameter van de PS-HA-implantaten. Het operatiegebied werd steeds gespoeld met fysiologisch zout. De gingiva werd gemobiliseerd en scherpe botkammen werden verwijderd. Vervolgens werden de implantaten in de alveolen geplaatst, zonder hameren of schroeven. De gingiva werd over de implantaten gesloten met Vicryl 4.0. Op deze wijze werden 16 cilindrische implantaten en tien implantaten met windingen in willekeurige volgorde in de kaak geplaatst. De eerste week na de operatie kregen de dieren zacht voedsel.

2.2.2. Röntgenologische procedures

Extra-orale röntgenopnamen werden op gestandaardiseerde wijze gemaakt met behulp van een speciale cefalostaat voor proefdieren.¹¹ Voor intra-orale röntgenopnamen werd gebruik gemaakt van een individuele spalkconstructie met een röntgenfotohouder die op een kaakhelft geplaatst kon worden.¹⁰ Hierdoor was een stabiele oriëntatie ten opzichte van de premolaarstreek van de onderkaak mogelijk. De opnamen werden direct na implanteren gemaakt en op de tijdstippen drie, zes en negen maanden na implanteren.



Afb. 2. Een zaagsnede door het midden van een gebied in de onderkaak van de hond waar een PS-HA-implantaat met windingen is geëxtraheerd. Botingroei volgt nauwkeurig de groeven van het implantaatoppervlak (pijlen). De HA-coating is achtergebleven in het implantaatbed (*). Het histologische beeld is weergegeven in afbeelding 6.

2.2.3. Morfologische procedures

Na een experimentele periode van negen maanden werden de proefdieren opgeofferd met een overdosis Nembutal®. De dieren werden geperfundeed met fysiologisch zout, gevolgd door 10% gebufferde formaline. Delen van de mandibula die de implantaten bevatten werden uitgeprepareerd en verder gefixeerd in 10% gebufferde formaline.

Een deel van de weefselblokjes die ongeveer een afmeting hadden van 5×5×5 mm werd ontkalkt in 20% mierenzuur en 5% Na-citraat. Na de ontkalking werden de implantaten verwijderd, de blokjes werden ingebed in paraffine. Seriecoupes werden gesneden van 10 micron dik. De coupes werden gekleurd met hematoxyline en eosine.

Een ander deel van de weefselblokjes werd ontkalkt ingebed in polymethylmethacrylaat. Van deze blokjes werden coupes gezaagd met een dikte van 50 micron. Deze coupes werden gekleurd volgens Van Gieson.

3. RESULTATEN

3.1. Macroscopische waarnemingen

Twee van de 16 implantaten vertoonden na twee weken een dehiscentie van de mucosa over de implantaten. Besloten werd deze twee implantaten te verwijderen.

Alle PS-HA-implantaten bleken in het alveolaire bot geïncorporeerd te zijn en zaten, macroscopisch, vast in het bot. De bevestiging in het bot deed sterk denken aan de bevestiging van Bulk-HA-implantaten in alveolair bot.^{3,12} Bij het doorzagen met een diamantschijf van implantaat/botbiopten in twee helften bleek dat alle implantaten stevig in het bot waren verankerd. Het was niet mogelijk het implantaat met de HA-coating nog intact te verwijderen. Op het grensvlak HA/TI trad breuk op, de hechtingslaag bot/HA bleef intact (afb. 2). Deze waarnemingen duiden erop dat het alveolaire bot zeer nauw en hecht bevestigd is aan de hydroxylapatietcoating.

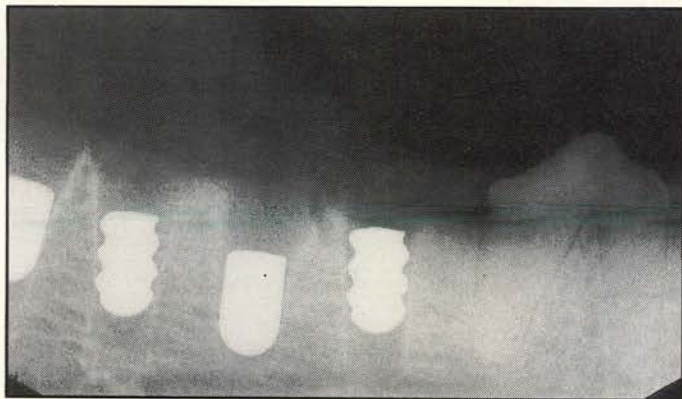
3.2. Röntgenologische bevindingen

Uit röntgenfoto's die zijn genomen direct na implanteren, blijkt dat de implantaten omgeven zijn door grote radioluenties (afb. 3). De röntgenfoto's genomen vlak voor het opofferen van de dieren geven een heel ander beeld (afb. 4). Alle radioluenties zijn verdwenen en de implantaten zijn onafhankelijk van de vorm volledig omgeven door bot.

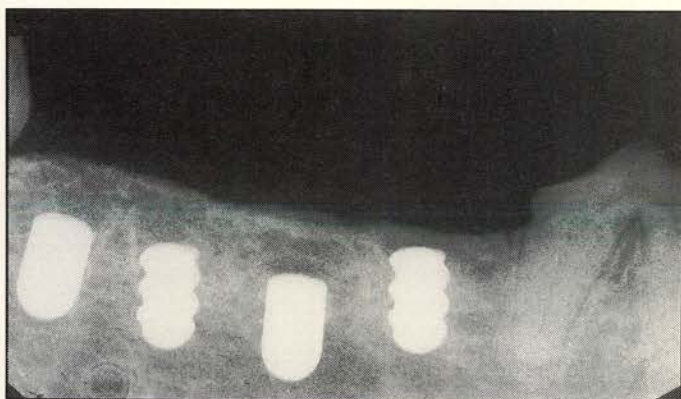
Afhankelijk van de implantatieplaats in relatie tot de kam van de processus alveolaris zijn de implantaatbovenvlakken, geheel, gedeeltelijk of helemaal niet bedekt door bot.

3.3. Microscopische waarnemingen

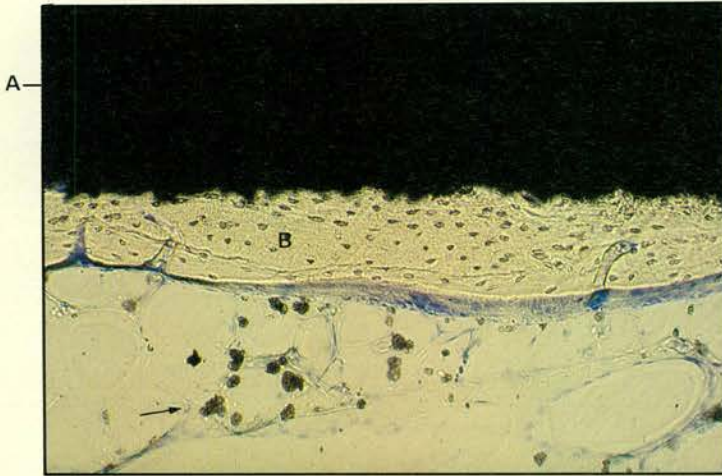
De weefsels rond de beide typen implantaten vertoonden grote mate van overeenkomst. In de experimentele periode was bot afgezet in de extractie-alveole. Een groot deel van het HA-gecoate oppervlak van het implantaat was in direct contact gekomen met dit bot. Het bot was



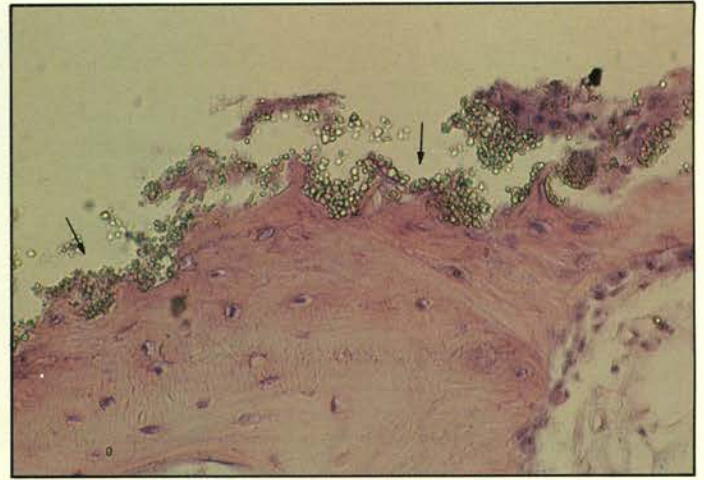
Afb. 3. Röntgenfoto direct na plaatsen van PS-HA-implantaten van beide typen in de alveolen van de derde en vierde premolaar. Radioluenties zijn aanwezig rond de implantaten ten gevolge van de slechte pasvorm in de extractie-alveolen.



Afb. 4. Röntgenfoto negen maanden na implanteren. De implantaten worden, ongeacht hun vorm, geheel door bot omgeven en worden goed geaccepteerd.



Afb. 5. Langs een cilindervormig HA-gecoat implantaat (A) dat negen maanden geïmplanteerd is geweest, ziet men een uitstekende aansluiting bot (B) en implantaat. Er is een directe verbinding tussen het lamellaire bot en de HA-coating. Clusters HA-partikels (pijlen) zijn aanwezig in het beenmerg. (Zaagcoupe, van Gieson kleuring; 200×)



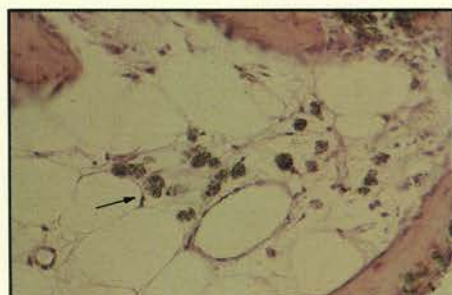
Afb. 6. Na verwijdering van het implantaat blijven restanten van de HA-coating (pijlen) gehecht aan het alveolaire bot. (Paraffinecoupe, H. en E. kleuring; 500×)

lamelleus afgezet, voornamelijk in de vorm van secundaire osteonen, maar ook vlakke afzettingen tegen het HA kwamen voor (afb. 5 en 6).

Op de plaatsen waar geen direct contact was tussen het bot en de coating van het implantaat bevond zich vetrijk beenmerg. Dit vertoonde geen tekenen van ontsteking. Aan de 'apicale' zijde van het implantaat was geen of slechts een zeer dun laagje lamelleus bot aanwezig. Meestal stak de 'apex' vrij uit het vetrijke beenmerg.

Aan de oclusale, ongecoate, kant was in de onderzochte implantaten geen bot afgezet; het implantaat werd daar afgekapseld door fibreus bindweefsel.

Er waren vrij grote gebieden waar, door de microscopische preparatietechnieken, de HA-coating van het implantaat los was komen te liggen van de TI-kern. Soms liep ook de breuk door de HA-coating heen. De buitenste laag van de HA-coating bleek onder de gegeven omstandigheden niet stabiel te zijn. Groepjes van kleine HA-korreltjes kwamen veelvuldig voor in het beenmerg. Meestal lag zo'n groepje tegen een celkern aan. Dit suggereert dat ze wellicht zijn gefagocyteerd door macrofagen. Door het maskerend effect van de korreltjes is dit echter niet



Afb. 7. Clusters HA-partikels (pijlen) zijn geassocieerd met celkernen, hetgeen een indicatie lijkt te zijn voor fagocytose van deze partikels. (Paraffinecoupe, H. en E. kleuring; 500×)

met zekerheid vast te stellen (afb. 7). De vrijgekomen HA-partikeltjes lagen hier en daar ook tegen botoppervlakken, maar nergens werden ze geïncorporeerd in de botmatrix aangetroffen.

4. DISCUSSIE

De extracties waren, gezien de leeftijd van de dieren zeer moeilijk. Veel rondomliggend bot moest worden verwijderd om de wortels of gedeelten daarvan te extraheren. Van enige pasvorm van de implantaten, behalve in het apicale gedeelte van de alveole kon geen sprake zijn. Daarom was het meest opmerkelijke bij de PS-HA-implantaten de röntgenologische en macroscopische bevinding dat de implantaten volledig door nieuwgevormd bot waren omgeven en niet meer verwijderd konden worden zonder dat de HA-coating van de TI-kern afbrak. De betrouwbaarheid van extractieproeven of push-out tests zijn echter discutabel omdat de uitkomsten afhankelijk zijn van verschillende factoren zoals de experimentele opstelling, de aanwezigheid van hetzij corticaal, hetzij spongieus bot etc. Toch vormen de bevindingen een indicatie over de hechting van het alveolaire bot aan de PS-HA-coating.

Uit het feit dat na pogingen tot extractie het bot en HA afbreekt van het TI, blijkt dat de hechting bot - HA groter is dan de

hechting HA/TI. De bevinding dat bij verwijdering van de door midden gezaagde metalen kern uit het alveolaire bot, de HA-coating in het bot blijft vastzitten, komt overeen met in de literatuur beschreven resultaten met PS-HA-implantaten in het femur van honden.¹³⁻¹⁶ De oorzaak van de sterke hechting van bot aan de HA-coating moet onder andere worden gezocht in factoren als de leeftijd, en de moeilijkheidsgraad van de extracties (in fragmenten) bij deze specifieke proefdieren.

Het lijkt niet noodzakelijk dat er direct na implanteren een nauw contact is tussen HA-coating en bot. Dit brengt met zich mee dat de implantatietechniek eenvoudig is omdat er geen schroefdraad behoeft te worden aangebracht in de implantaatholte.

Bij experimenteren met PS-HA-implantaten in het femur is door sommige onderzoekers geen vermindering van de dikte van de HA-coating gevonden.¹³ Andere onderzoekers constateerden dat na twee jaar de coating op femur implantaten weliswaar nog aanwezig was, maar sloten niet uit dat er wat van de coating verdwenen kan zijn.¹⁴ De resultaten van het huidige onderzoek tonen aan dat inderdaad HA-partikels vrij in het vetrijk beenmerg voorkomen. Bovendien lijkt het er op dat deze partikels kunnen worden gefagocyteerd door macrofagen. Het is echter niet vast te stellen of dit een continu proces is, waardoor eventueel

SUMMARY

IMPLANTS WITH PLASMA SPRAY COATINGS OF HYDROXYAPATITE: AN EXPERIMENTAL STUDY IN ALVEOLAR BONE

Key words: Dental Implants - Hydroxyapatite

Sintered hydroxyapatite ceramic can be coated to a titanium core by means of a high temperature plasma spray procedure. The biological response of alveolar bone to an implant with such a coating of hydroxyapatite was evaluated in an animal experimental study. The results indicated that the plasma

op langere termijn de gehele coating zal verdwijnen, of dat het beperkt is tot de oorspronkelijke buitenste laag van de coating. De binding van het bot aan de coating lijkt niet afhankelijk van de oppervlakte-structuur en zal mogelijk ook aan de meer compacte, diepere lagen van de coating tot stand komen.

5. CONCLUSIES

Uit het dieronderzoek kan worden geconcludeerd dat PS-HA-implantaten in extrac-tie-alveolen zeer stevig worden verankerd door aangroei van alveolair bot.

Een initiële nauwkeurige adaptatie van HA-coating aan de wanden van de implantaatholte is niet nodig. Het principe van chemische hechting van alveolair bot aan een PS-coating van HA is een groot voordeel ten opzichte van andere implantaat-systemen die van mechanisch houvast door osseo-integratie afhankelijk zijn.

Verder dierexperimenteel onderzoek in alveolair bot is noodzakelijk om de stabiliteit van de HA-coating op de langere termijn te evalueren. Aangezien de HA-laag slechts 50 micron dik is, zou bij verdere desintegratie van de coating contact kunnen ontstaan tussen bot en TI, waardoor alle voordelen zouden komen te vervallen.

spray coating gave a very strong and direct bonding to cortical alveolar bone. The shear strength between bone and ceramic was greater than the shear strength between ceramic and titanium.

From a radiological, macroscopic and microscopic point of view the conclusion could be drawn that the biological properties of a plasma spray coating of hydroxyapatite are the same as the properties of bulk hydroxyapatite ceramic. The outermost layer of the hydroxyapatite coating appeared to be unstable under the experimental conditions.

LITERATUUR

- ¹JARCHO M, KAY JF, GUMAER KI, DOREMUS RH, DROBECK HP. Tissue, cellular and subcellular events at a bone ceramic hydroxylapatite interface. *J Bioeng* 1977; 1: 79.
- ²DENISSEN HW, DE GROOT K, MAKES PCH, VAN DEN HOOFF A, KLOPPER PJ. Tissue response to dense apatite implants in rats. *J Biomedical Mat Res* 1980; 14: 713.
- ³DENISSEN HW, DE GROOT K. Immediate dental root implants from synthetic dense calcium hydroxylapatite. *J Prosthet Dent* 1979; 42: 551.
- ⁴DENISSEN HW, JANSEN HWB, VELDHUIS AAH, VAN DEN HOOFF A. The interface of permucosal dense apatite implants in humans. *J Biomedical Mat Res* 1984; 18: 147-54.
- ⁵DENISSEN HW, KALK W, VELDHUIS AAH, VAN DEN HOOFF A. An 11-year study of hydroxyapatite implants. *J Prosthet Dent*. Geaccepteerd voor publicatie.
- ⁶DE PUTTER C, DE GROOT K, SILLEVIS SMITT PAE. Transmucosal implants of dense hydroxylapatite. *J Prosthet Dent* 1983; 49: 87-95.
- ⁷DE PUTTER C. Perimucosal dental implants of dense hydroxylapatite. Amsterdam: Vrije Universiteit 1984. Academisch proefschrift.
- ⁸BUNSHAH RF, editor. *Deposition Technologies for Films and coatings*. Noyes Publications 1987, Park Ridge, NY USA.
- ⁹DE GROOT K, GEESINK RGT, KLEIN CPAT, SEREKIAN P. Plasma sprayed coatings of hydroxylapatite. *J Biomedical Mat Res* 1987; 21: 1375-81.
- ¹⁰DENISSEN HW. Dental root implants of apatite ceramics. Amsterdam: Vrije Universiteit, 1979. Academisch proefschrift.
- ¹¹MALTHA JC. The process of tooth eruption in beagle dogs. Nijmegen: Katholieke Universiteit Nijmegen, 1982. Academisch proefschrift.
- ¹²JARCHO M. Calcium Phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin Orthop Rel Res* 1981; 157: 259.
- ¹³COOK SD, KAY JF, THOMAS KA, JARCHO M. Interface mechanics and histology of titanium and hydroxylapatite coated titanium for implant applications. *J Biomed Mat Research*, accepted for publication.
- ¹⁴GEESINK RGT, DE GROOT K, KLEIN CPAT. Bone bonding to apatite coated implants. *J of Bone and Joint Surgery* 1988; 70B: 17-22.
- ¹⁵CARTER DR, SPEUGLER DM. Mechanical properties and composition of cortical bone. *Clin Orthop Rel Res* 1978; 135: 192-217.
- ¹⁶ALBRIGHT JA. Bone, physical properties. In: Albright JA, Brand RA (eds.) *The scientific basis of orthopaedics*. New York: Appleton 1979: 135-84.