

# REZUMATUL TEZEI

## *Aprecierea toxicității Ni din aliajele metalice utilizate în ortopedie și traumatologie*

### Cuprins

INTRODUCERE	2
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	2
<i>Istorie</i>	2
<i>Nichel și sensibilizare</i>	3
<i>Dinamica sensibilizării metalelor</i>	3
<i>Manifestări și reacții generale</i>	3
<i>Fiziopatologia hipersensibilizării la metal</i>	4
<i>Reacția de hipersensibilitate la implanturi</i>	4
<i>Testarea sensibilității la metale</i>	4
CONTRIBUȚII PERSONALE	5
<i>Metodologie general</i>	5
<i>Studiul 1</i> - Reacții imune induse de artroplastile metal-metal. Rolul hipersensibilității de tip IV întârziat și implicațiile sale clinice,	5
<i>Studiul 2</i> - Reacții imunologice la implanturile osoase și articulare	6
<i>Studiul 3</i> - Osteomielite și alte forme de osteită tratate chirurgical în perioada 2012-2019 într-un centru ortopedic din România. Există încă cazuri rare de apariție tardivă a eșecului implantului metal-metal.	8
<i>Studiul 4</i> - Descoperiri imagistice care indică modificări subclinice ce apar la juxtapunerea implanturilor ortopedice intramedulare cu osul. Rezultate care indică diferențe imunogenetice între nichel, AISI 316L, tantal și titan	8
<i>Originalitatea și contribuțiile inovatoare ale tezei</i>	9

**Cuvinte cheie:** osteoimunologie, implanturi ortopedice, imunologie, reacție imună acută, leucocit polimorfonuclear, reacție imună cronică, macrofag, Hipersensibilitate de tip întârziat, hipersensibilitate de tip IV, osteoliză aseptică, artroplastie metal-metal;

## INTRODUCERE

Biomaterialele sunt utilizate pentru fabricarea dispozitivelor medicale implantabile și sunt atent studiate cu scopul îmbunătățirii biocompatibilității lor.

Implanturile metalice permanente, sunt utilizate în principal pentru înlocuirea articulațiilor.

Metalele sunt frecvent utilizate la fabricarea implanturilor datorită proprietăților pe care le au: sunt rezistente, au maleabilitate, ceea ce le permite să fie modelate în componente ușor implantabile iar o altă proprietate cheie pe care o posedă aceste materiale este ductilitatea.

Sensibilizarea la metale este o afecțiune în care sistemul imunitar devine sensibil la anumite metale. Poate fi însoțită de diferite simptome, cum ar fi febra și durerea. Se știe că nichelul poate provoca reacții alergice care apar atunci când nichelul din diferite produse intră în contact prelungit cu un anumit tip de țesut, la exteriorul corpului sau la interior în cazul implanturilor. Proprietățile țesutului osos și modul în care interacțiunea os-metal poate afecta procesul de vindecare a atras atenția cercetătorilor și clinicienilor. În prezent, se studiază dezvoltarea de noi materiale care să favorizeze vindecarea fracturilor.

## STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

### Istorie

Acum o sută de ani, un medic pediatru a explicat că răspunsul imun nu ar trebui explicat în funcție de capacitatea sa de a suprima boala. Legătura dintre scleroza sistemică și afecțiunile alergice a fost recunoscută pe scară largă. În prezent, cuvântul alergie este folosit doar pentru a descrie afecțiunile alergice. Numărul tot mai mare de studii care leagă scleroza sistemică de afecțiunile alergice a condus la acceptarea acestui concept.

Oamenii de știință au discutat despre funcția sistemului imunitar în secolele XIX și XX. A fost conceptualizat ca un sistem care ajută corpul să se ferească de organismele patogene.

Ideea că sistemul imunitar joacă un rol principal în patogeniza bolilor a apărut în timpul cardiologului Bela Schick și al medicului Hermann von Pirquet. În raportul lor, cei doi oameni de știință au propus ca imunitatea gazdei poate fi afectată de un organism din afara corpului.

În următorii ani, oamenii de știință au lucrat la o afecțiune cunoscută sub numele de boala serului, care apărea de obicei după ce un copil primea prima doză dintr-un tratament imunologic.

Serurile anti-anticorpi au fost introduse pentru prima dată în 1891. După introducerea lor numărul complicațiilor sistemice a crescut dramatic.

În articolul său din 1906, von Pirquet a explicat cum expunerea la o substanță poate declanșa un răspuns imunologic în organism. Această reacție, cunoscută sub numele de reacție alergică, poate declanșa diferite simptome, cum ar fi febră, greață și vărsături.

În cartea sa din 1911, von Pirquet a explicat cum se pot produce schimbări în reactivitate în timp. El a clarificat, de asemenea, că reacția alergică este utilizată doar pentru a descrie reacțiile imunologice.

Alergia a devenit utilizată pe scară largă în 1913. Termenul a fost folosit în publicațiile științifice și academice. Robert Doerr a încercat să clasifice reacțiile alergice în diferite grupuri pe baza substanțelor lor antigenice.

Cuvântul alergie a devenit atât de popular în timpul anilor 1930 încât a „scăpat”, din mediul clinic și a devenit viral limbajul uzual.

Înțelegerea hipersensibilității nu a suferit modificări semnificative până în anii 1960. Schimbare adusă de către Coombs, prin introducerea unui sistem de clasificare a reacțiilor alergice.

Hipersensibilitatea la implanturi metalice a fost raportată încă din anii 1960. Această reacție este similară cu alte reacții alergice care apar la nivelul pielii.

În 2008, Societatea de Ortopedie din Germania a interzis utilizarea implanturilor metalice la persoanele cu alergii la metal. În același an, Agenția Britanică de Sănătate a avertizat cu privire la pericolele pe care le implică implanturile MoM (metal pe metal).

Termenul „reacție adversă” se referă la o varietate de condiții care pot afecta răspunsul corpului la implanturile metalice. Una dintre acestea fiind alergiile la materialul metalic implantat.

### **Nichel și sensibilizare**

Incidența sensibilizării la metal, în special la nichel, crom și cobalt, este în creștere. Deși este dificil de evaluat, se spune că hipersensibilitatea dermatologică la metale este între 10% și 15% în populația generală

Studiul a constatat că desi multe produse de consum conțin urme ale anumitor metale, cum ar fi cromul și nichelul, acest nivel de expunere nu este suficient de puternic pentru a declanșa sensibilizarea. Mai mult, s-a dezvoltat că cea mai importantă sursă de contact a unei persoane cu astfel de metale este de obicei prin bijuterii.

Implanturile ortopedice metalice pot fi considerate o sursă de sensibilizare. Cu toate acestea, mecanismele exacte implicate nu sunt încă cunoscute. Această afecțiune este dificil de diagnosticat din cauza varietății largi de necunoscute din cadrul lanțului fiziopatologic.

### **Dinamica sensibilizării metalelor**

Metoda de sensibilizare poate juca un rol important în dinamica imunitară a hipersensibilității de tip întârziat, motiv pentru care este important să se contureze acest stadiu imunitar. Cele mai frecvente modalități de a dezvolta hipersensibilitate la astfel de agenți sunt:

- 1) contactul cu pielea,
- 2) ingestia lor
- 3) contactul dintre un implant care conține agenții metalici implicați și mediile biologice ale pacientului, acesta din urmă fiind cel mai relevant pentru prezenta lucrare. Mijloacele de contact cu acești compuși metalici sunt de o importanță deosebită, deoarece mediul biologic al pacientului care intră în contact cu respectivul metal poate determina cantitatea de particule metalice care vor fi captate de celulele imune și vor duce în continuare la hipersensibilizare.

Majoritatea aliajelor metalice utilizate în implantologia ortopedică au trăsături toxice și și elemente potențial hipersensibilizante în compoziția lor ; acestea sunt utilizate în concentrații diferite, și sunt încorporate și în moduri diferite. De exemplu, Haudrechy și colegii au studiat diferența dintre diferite aliaje care conțin nichel și capacitatea lor de a induce dermatită de contact; au fost incluse: nichel pur (control), oțel inoxidabil nichelat și mai multe aliaje de oțel inoxidabil (AISI 303, 304, 316L, 430) care conțin diferite concentrații de nichel. În timp ce patch testul a arătat că 96% dintre pacienți erau intoleranți la probele de oțel inoxidabil nichelate și că 14% dintre aceștia au prezentat o reacție la oțel inoxidabil bogat în sulf (AISI 303). Aliaje din oțel inoxidabil cu conținut scăzut de sulf (AISI 304, 316L, 430) nu au provocat nicio reacție.

### **Manifestări și reacții generale**

Hipersensibilitatea este un cumul de reacții nedorite pe care organismul le produce datorită sistemului său imunitar normal. De obicei, aceste reacții sunt considerate o tulburare de tip cantitativ a sistemului imunitar.

Urticaria este un tip de erupție cutanată care apare pe un fundal roșiatic. Poate provoca senzații de mâncărime sau usturime și se poate răspândi în alte părți ale corpului. De obicei, această afecțiune nu pune viața în pericol.

Deși materialele utilizate în implanturi medicale au fost studiate și testate cu atenție, unele dintre efectele secundare sunt dificil de detectat într-un cadru clinic. De exemplu, apariția bruscă a reacțiilor de hipersensibilitate care poate fi observată numai la intervale neregulate.

### **Fiziopatologia hipersensibilizării la metal**

Cele mai multe reacții de sensibilizare sunt ușoare și de intensitate redusă. Cu toate acestea, există unele cazuri în care pot apărea reacții hiperagresive. Acest lucru evidențiază necesitatea studierii efectelor implantelor asupra organismului.

O reacție este declanșată de o expunere la o substanță sau grup de substanțe. Poate fi inițiată printr-o reacție la un complex imunologic sau prin activarea unui răspuns imunologic. Cele târzii sunt mediate celular.

Reacțiile de hipersensibilitate sunt clasificate ca reacții imune de tip IV sau cu debut tardiv. Cel mai frecvent tip de reacție este declanșat de eliberarea de antigeni.

Cele două faze majore ale reacțiilor de tip IV mediate de celule sunt fazele de sensibilizare și faza efectoare.

### **Reacția de hipersensibilitate la implanturi**

Interacțiunea dintre un antigen și o celulă T pre-sensibilizată declanșează debutul fazei efectoare a reacției de hipersensibilitate tip IV. Prezența unui antigen declanșează secreția de citokine, care pot declanșa diferite răspunsuri inflamatorii.

Calea este închisă prin activarea complexelor majore de histocompatibilitate de clasa II și IL-1 ale macrofagelor activate. Acest proces generează mai multe celule DTH și finalizează astfel ciclul inițiat de această cale.

In vivo, efectele reacției la nichel au fost studiate prin colorarea celulelor mononucleare imunohistochimic cu avidină-biotină. Rezultatele indică faptul că transformarea limfoblastică a fost declanșată de hipersensibilitatea la nichel.

Ca urmare a rapoartelor conflictuale despre rolul regiunii receptorului celulei T în răspunsul la implanturile metalice, această problemă a fost considerată o preocupare mai puțin cunoscută. De exemplu, unele studii sugerează că regiunea CDR3b a celulei T este critică pentru răspunsul la reactivitatea nichelului.

### **Testarea sensibilității la metale**

Persoanele sensibilizate pot fi împiedicate să experimenteze o reacție de hipersensibilitate prin eliminarea agentului cauzal, din acest motiv, necesitatea testelor devine relevantă.

Cele mai frecvent utilizate metode de testare sunt cele care implică testarea in vivo (de exemplu, testarea cu patch-uri sau testarea intradermică). Metodele in vitro sunt, de asemenea, utilizate pentru testarea hipersensibilității la diverși alergeni.

Cunoștințele privind răspunsul imunologic cauzat de implanturi sunt încă puține.

O altă problemă cu testarea dermică este aceea că diferența de timp între momentul în care plăsturele este expus la piele și momentul în care apare expunerea in-vivo. Aceasta înseamnă că timpul de expunere nu depășește 48 de ore și nu se știe dacă provoacă reacții de hipersensibilitate.

Locația în care începe sensibilizarea este, de asemenea, o variabilă în cadrul acestei reacții. În cazul testării de contact, această reacție poate fi diferită în funcție de dinamica celulei.

Deși testele de migrare, pot detecta singure sensibilitatea întârziată a limfocitelor, este posibil să nu fie un detector adecvat pentru anumite condiții. De exemplu, la câteva luni după ce subiecții umani au fost inițiați cu BCG, testarea migrației nu a demonstrat inhibarea migrației limfocitelor.

## **CONTRIBUȚII PERSONALE**

### **Metodologie generală**

Cercetarea va fi realizată pas cu pas în conformitate cu următoarea metodologie generală:

- revizuirea literaturii de specialitate pentru actualizarea informațiilor
- obținerea acordurilor de la Comisia de Etică a UMF Iuliu Hatieganu Cluj-Napoca pentru efectuarea de studii pe model animal.
- efectuarea unei revizuii a literaturii pentru a identifica cele mai importante informații despre alergiile la materialele metalice implantate.
- efectuarea unui studiu retrospectiv pentru a evalua reacțiile adverse cauzate de implant la pacienții cu artroplastie de șold operați la Clinica de Ortopedie și Traumatologie din Cluj.
- evaluarea legăturii dintre eșecul implantului și prezența nichelului
- proiectarea unui protocol pentru evaluarea efectului diferitelor metale în procesul de osificare.
- efectuarea unui studiu științific pentru evidențierea efectelor materialelor metalice implantabile, în procesul de formare osoasă.
- efectuarea de investigații imagistice de înaltă performanță (micro CT), evaluare anatomopatologică și teste de extracție
- evaluarea rezultatelor obținute și propunerea de direcții de cercetare pentru viitor

### **Studiul 1 - Reacții imune induse de artroplastile metal-metal. Rolul hipersensibilității de tip IV întârziat și implicațiile sale clinice,**

Artroplastile totale se efectuează în mod obișnuit pentru tratarea artrozei avansate. Cu toate acestea, ele pot provoca și complicații care limitează longevitatea implantului.

#### **Mecanismul fiziopatologic al hipersensibilității de tip întârziat**

Chiar dacă articolul se concentrează în principal asupra reacției imune întârziate, este important de reținut că cea dobândită are legatură și cu cea înăscută.

Cel mai frecvent, particulele de metal cu proprietăți de autoactivare sunt nichelul, cobaltul, cromul și beriliul. Aceste particule pot influența, de asemenea, răspunsul inflamator prin producerea complexelor imunitare .

În afară de efectul sensibilizant direct, pot apărea și alte efecte. Acestea includ sensibilitate crescută la metale, sensibilizare încrucișată și chiar stări comatoase.

#### **Manifestări locale și generale legate de implant, de hipersensibilitate de tip întârziat**

Hipersensibilitatea la metal poate varia foarte mult și pot apărea și reacții sistemice.

La nivel sistemic, expunerea la particule metalice poate provoca dermatoză sistemică. De obicei, particulele de metal provoacă leziuni ale pielii, care pot varia de la ușoare la severe.

Potențialul cancerigen al implanturilor metalice este un subiect controversat. De exemplu, nu există dovezi concrete care să sugereze că artroplastia metalică de șold are efect cancerigen. De

asemenea, în ciuda prezenței ionilor metalici în sângele circulant, trecerea trans-placentară a ionilor metalici nu a fost dovedită până acum.

La nivel local, efectele particulelor de metal asupra sistemului imunitar al organismului pot declanșa diferite forme de răspuns inflamator. Acestea includ chisturi asimptomatice de dimensiuni mici sau formațiuni de dimensiuni mai mari.

Pseudotumorile inflamatorii sunt un tip de organizare a țesutului care apare ca urmare a inflamației. Poate fi caracterizat prin prezența unor mase aseptice la nivel periprotetic.

O reacție inflamatorie periprotetică poate afecta, de asemenea, vasele de sânge și poate provoca vasculită aseptică. Principalul mecanism al acestei afecțiuni este considerat a fi o hipersensibilitate de tip întârziat.

Metaloza este o afecțiune patologică care apare atunci când un dispozitiv metallic este supus la leziuni induse de uzură. Această condiție se referă de obicei la acumularea de particule metalice în jurul implantului.

### **Implicații clinice**

Cunoașterea proprietăților imunogene ale metalelor s-a îmbunătățit în ultimii ani. Cu toate acestea, o revizuire a literaturii efectuată de cercetători din Finlanda și SUA arată că multe produse utilizate în mod obișnuit în scopuri cosmetice conțin particule de cobalt, crom și nichel dar în cantitate prea mică pentru a declanșa reacții de hipersensibilitate.

Alte obiecte care pot declanșa hipersensibilitate la metale sunt articulațiile artificiale din aliaje metalice. Acestea includ titan, crom, mangan și nichel. Artroplastiile MoM ca urmare a uzurii datorate mobilizării duc la creșterea ionilor metalici la nivel local și sistemic. Factorii care afectează răspunsul local al artroplastiei MoM variază în funcție de tipul de proteză utilizată. De exemplu, dimensiunea capului poate afecta rata de revizie. În plus, diferite mărci de proteze au rate diferite la 10 ani.

Atunci când se alege un tip de implant, este important să se ia în considerare riscurile și beneficiile procedurii. Înainte de a lua o decizie, este de asemenea important să analizăm diferitele caracteristici ale implantului.

### **Concluzii**

Hipersensibilitatea la metal este un fenomen cunoscut care poate provoca complicații aseptice sistemice la implanturile din metal.

Acest articol descrie mecanismele prin care apare inflamația peri-protetică și modul în care aceasta poate fi gestionată pentru a îmbunătăți longevitatea dispozitivelor implantabile.

## **Studiul 2. - Reacții imunologice la implanturile osoase și articulare**

Numărul dispozitivelor utilizate în chirurgia ortopedică a crescut semnificativ în ultimii ani. Ca urmare, nevoia de reglementare a acestora a crescut. Numărul tot mai mare de studii asupra micromediului care înconjoară un implant a contribuit la identificarea diferitelor elemente care contribuie la efectele locale și sistemice ale implantului. Implicațiile imunologice ale implantării chirurgicale a unui corp străin într-un organism viu sunt numeroase.

Răspunsul imunologic inițiat de prezența unui material metallic implantat poate fi clasificat ca neinfecțios sau infecțios. Răspunsul poate fi menținut și prin activarea continuă a celulelor polimorfonucleare.

### **Șoc anafilactic**

În timp ce reacțiile hiperacute la implanturile osoase sunt rare, au fost raportate cazuri care au suferit astfel de evenimente în timpul procedurilor de implantare. Răspunsul imunologic al pacienților supuși procedurilor nu este pe deplin înțeles. Poate fi inițiat printr-o activare directă a mastocitelor sau printr-o reacție imunologică. Alte simptome care pot declanșa apariția unei complicații includ eritem difuz, pupile dilatate, edem și anxietate. Unul dintre primele semne ale unei potențiale complicații este hipotensiunea. Un alt factor de luat în considerare atunci când se discută despre reacțiile hiperacute este mastocitoza de bază. Această afecțiune se poate manifesta sub diferite forme de reacții anafilactice.

### **Reacții acute la implanturile osoase și articulare**

La câteva secunde după introducerea implantului, biomaterialul este acoperit treptat de proteine din fluxul sanguin și / sau lichidul interstițial. Această interacțiune declanșează cascada de coagulare și formarea matricei provizorii.

Cascada de coagulare este inițiată de interacțiunea dintre biomaterial și țesutul deteriorat din jurul implantului osos.

S-a demonstrat că biomaterialul poate activa direct complementul. Acest proces poate declanșa diverse căi inflamatorii, inclusiv căile clasice și alternative.

Leucocitul polimorfonuclear este un tip de celulă care migrează din fluxul sanguin către locul implantării. Acesta joacă un rol crucial în răspunsul inflamator acut.

După introducerea în întregime, PMN produc un răspuns fagocitar. Apoi începe procesul de degranulare.

### **Trecerea de la o reacție imună acută la o reacție imună cronică**

PMN-urile care au fost observate aderând la biomaterial au o funcție autocrină persistentă și atrag alte PMN prin producția de IL-8.

După ce PMN-urile își finalizează sarcina, mecanismul natural de apărare al organismului este declanșat de eliberarea macrofagelor. Aceste celule pot persista la câteva ore până la câteva zile.

### **Răspunsul imunitar cronic la implanturile osoase și articulare**

Celulele care sunt atrase de către PMN vor deveni apoi parte a răspunsului imunitar cronic. Apoi vor funcționa ca macrofage și vor produce substanțe pro-inflamatorii care vor crește numărul de celule imune. De asemenea, pot fi clasificate în două subclase: M1 și M2. Primele pot fi clasificate în două grupe: macrofage reglatoare și macrofage vindecătoare.

Macrofagele pot prezenta plasticitate fenotipică, ceea ce sugerează că funcția lor este modificată de schimbările progresive din mediul lor. În acest proces, macrofagele pro-inflamatorii sunt înlocuite de celulele reglatoare și de vindecare a rănilor.

Răspunsul imun înnăscut este un sistem complex care interacționează cu reacțiile imune adaptive inițiate de diferite celule. Principalii actori ai acestui răspuns sunt celulele plasmatice și limfocitele.

O a doua fază, care are loc după primul contact cu antigenul, declanșează celulele presensibilizate pentru a produce un răspuns imun. Acest răspuns poate fi declanșat de prezența unui al doilea contact cu antigenul. Monocitele, macrofagele și limfocitele sunt „semnele,” distinctive ale inflamației cronice și pot ajuta patologii să facă diferența dintre reacția la ”corp strain” și răspunsul inflamator local.

### **Concluzie**

Pentru a îmbunătăți calitatea vieții pacienților, în special a celor cu osteoimunologie, sunt luate diferite măsuri pentru a dezvolta noi materiale care să înlocuiască implanturile problematice.

### **Studiul 3 - Osteomielita și alte forme de osteită tratate chirurgical în perioada 2012-2019 într-un centru ortopedic din România. Există încă cazuri rare de apariție tardivă a eșecului implantului metal-metal.**

Majoritatea implanturilor metalice sunt bine tolerate. Cu toate acestea, implanturile metal-pe-metal (MoM) și artroplastia totală sunt predispuse la eșec din cauza complicațiilor lor pe termen lung. Aceste tipuri de implanturi necesită de obicei o supraveghere activă pentru a monitoriza evoluția acestora.

Am analizat peste 180 de persoane cu osteomielită care au fost supuse unei intervenții chirurgicale de revizie din 2012 până în 2019. Studiul s-a concentrat pe numărul de implanturi MoM asociate cu osteomielita.

#### **Comorbidități**

Principalele categorii de comorbidități prezente în ambele grupuri au fost cardiovasculare, diabet, boli de piele. Alte comorbidități prezente au fost: gastroenterologice, urologice (de exemplu, hiperplazie benignă de prostată), psihiatrice (de exemplu, spectrul tulburărilor de anxietate: 1, alcoolism: 3, tulburare depresivă persistentă: 1), neurologice (de exemplu, paraplegie spastică: 1, unu-pierderea auzului lateral: 1, polineuropatie nespecificată: 1, hemiplegie spastică: 1, epilepsie cu convulsii „grand mal”: 1) și comorbidități oftalmologice.

#### **Evenimente infecțioase versus neinfecțioase**

Din cei 52 de pacienți studiați, 34 au prezentat evenimente care nu au legătură cu implanturile. Mulți dintre ei au avut antecedente de traume sau fracturi, iar mulți dintre ei erau, de asemenea, cunoscuți că au alte comorbidități severe. La acești pacienți au fost identificați cei mai comuni agenți patogeni bacterieni.

#### **Concluzii**

În ultimii ani, a existat un număr redus de complicații aseptice printre dispozitivele de implant ortopedic. Acest tip de eveniment este foarte rar și poate fi ușor detectat.

### **Studiul 4 - Descoperiri imagistice care indică modificări subclinice ce apar la juxtapunerea implanturilor ortopedice intramedulare cu osul. Rezultate care indică diferențe imunogenetice între nichel, AISI 316L, tantal și titan.**

Implanturile medicale sunt utilizate în diferite scenarii, cum ar fi chirurgia ortopedică, chirurgia estetică și ginecologia. Au câștigat o acceptare pe scară largă datorită diferitelor lor avantaje. Acest tip de implanturi este utilizat pentru pacienții care suferă de artroză sau alte patologii osteoarticulare.

Studiul a inclus 40 de subiecți sănătoși cu trăsăturile enumerate în secțiunea de materiale și metode. Caracteristicile indivizilor au fost alese pentru a reduce variabilitatea fondului imun al subiecților incluși în studiu. Subiecții au fost împărțiți ulterior în 4 grupuri experimentale: grupul cu tije de nichel, grupul AISI 316L, grupul cu tantal și grupul cu tije de titan.



Acest studiu își propune să analizeze efectele nichelului asupra procesului de vindecare și timpul necesar pentru găsierea unui os trabecular. De asemenea, evidențiază profilul imunogen ridicat al AISI 316L.

### **Concluzii**

Implanturile ortopedice metalice pot declanșa un răspuns imunologic care poate scădea rata vindecării țesutului din jur.

Implanturile de nichel pur au prezentat un grad ridicat de coroziune. Metaloză a fost apoi observată în jurul tijei la subiecții la care a fost implantat nichelul. S-a confirmat că particulele eliberate de aceste implanturi au un impact semnificativ asupra sistemului imunitar al organismului.

Datele privind procentul de os din fiecare grup arată că grupul cu titan a avut cea mai mare cantitate de os. Această concluzie a fost făcută după analizarea rezultatelor obținute la microCT.

### **Originalitatea și contribuțiile inovatoare ale tezei**

Acest studiu a dezvoltat un algoritm de diagnostic care poate fi utilizat în evaluarea pacienților ce poartă un dispozitiv ortopedic MoM. Acest algoritm are potențialul de a fi utilizat ca protocol de screening pentru astfel de pacienți în viitor.

Studiu clinic care demonstrează că încă apar complicații legate de implanturile MoM, chiar și în centrul nostru ortopedic din Cluj Napoca.

Studiul 1 evidențiază legătura dintre reacția imună înăscută și răspunsul imun dobândit într-o măsură cuprinzătoare și schematică

O altă premieră este reprezentată de evaluarea microarhitecturii osului situat în imediata apropiere a implantului osos ortopedic. Utilizarea „procentului osos„ și a „factorului trabecular„ pentru măsurarea vindecării osoase și a nivelului inflamației locale. Aprecierea indirectă a imunogenității diferitelor implanturi metalice.

# SUMMARY

## *Assessment of Ni toxicity from metal alloys used in orthopedics and traumatology*

### Cuprins

INTRODUCTION	2
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	2
<i>History</i>	2
<i>Nickel and sensitization</i>	3
<i>Dynamics of metal sensitization</i>	3
<i>General manifestations and reactions</i>	3
<i>Pathophysiology of metal hypersensitivity</i>	4
<i>Reacția de hipersensibilitate la implanturi</i>	4
<i>The Testing for sensitivity to metals</i>	4
PERSONAL CONTRIBUTIONS	5
<i>General methodology</i>	5
<i>Study 1</i> - Immune reactions induced by metal-on-metal arthroplasties. The role of type IV delayed hypersensitivity and its clinical implications	5
<i>Study 2</i> . - Immunologic reactions to bone and articular implants	6
<i>Study 3</i> - Osteomyelitis and other forms of osteitis in need of surgery between 2012-2019 in an Orthopedic Center in Romania. Scarce cases of late onset metal-on-metal implant failure still emerging.	8
<i>Study 4</i> - Imagistic findings indicative of subclinical changes that occur at the juxtaposition of intramedullary orthopedic implants with the bone. Findings indicative of immunogenetic differences between nickel, AISI 316L, tantalum and titanium.	8
<i>Originality and innovative contributions of the thesis</i>	9

**Keywords:** osteoimmunology, orthopedic implants, immunology, acute immune reaction, polymorphonuclear leukocyte, chronic immune reaction, macrophage, aseptic loosening Delayed type hypersensitivity, type IV hypersensitivity, aseptic osteolysis, metal-on-metal arthroplasty ;

## INTRODUCTION

Biomaterials are various materials that are used in various applications. They are studied to improve their biocompatibility. Metal implants are mainly used for joint replacement. Their various properties make them suitable for various conditions. Due to their properties, metals can be used to make implants. They have malleability, which allows them to be molded into components for the body. Another key property that these materials possess is ductility. Metal sensitization is a condition where the body's immune system becomes sensitive to certain metals. It can trigger various symptoms, such as fever and soreness. It is known that nickel can cause allergic reactions. This condition occurs when the body comes in contact with nickel in various products. The properties of bone tissue and how these can affect the healing process have attracted the attention of researchers and clinicians. Currently, the development of new materials for wound healing is being studied.

## CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

### History

A hundred years ago, a pediatrician, explained that the function of the immune response should not be rationalized in terms of its ability to suppress disease. The link between systemic sclerosis and allergic conditions has been widely acknowledged. Currently, the word allergy is only used to describe allergic conditions. The increasing number of studies linking systemic sclerosis and allergic conditions has led to the acceptance of this concept.

Scientists discussed the function of the immune system during the 19th and 20th centuries. It was conceptualized as a system that helps the body fend off harmful microbes.

The idea that the immune system plays a leading role in the pathogenesis of diseases emerged during the time of cardiologist Bela Schick and pediatric resident Hermann von Pirquet. In their report, the two scientists proposed that the host's immunity could be harmed by an organism from outside the body.

For the next years, the scientists worked on a condition known as serum sickness, which usually appeared after a child had received a first dose of an immunological drug. Anti-antibody sera were first introduced in 1891. The development of systemic complications increased dramatically. Aside from humans, animals also exhibited anti-antigen traits. They were injected with certain toxins.

In his 1906 article, von Pirquet explained how exposure to a substance can trigger an immunological response in the body. This reaction, which is known as allergic reaction, can trigger various symptoms such as fever, nausea, and vomiting.

In his 1911 book, von Pirquet explained how changes in the reactivity can happen over time. He also clarified that allergic reaction is only used to describe the immunological reactions.

Allergy became widely used in 1913. The term was also used in scientific and academic publications. Robert Doerr tried to classify allergic reactions into various groups based on their antigenic substances.

The word allergy became so popular during the 1930s that it escaped from the clinical setting and went viral on the street.

The understanding of hypersensitivity was not changed significantly until the 1960s. Another significant change was the introduction of a classification system by Coombs.

Metal implant hypersensitivity has been reported since the 1960s. This reaction is similar to other allergic skin reactions.

In 2008, the German Orthopedic Society for Allergy and Surgery advised against metal implants for people with metal allergy. The same year, the British Health Agency warned about the dangers of MoM bearing implants.

The "adverse reaction" term refers to a variety of conditions that can affect the response of the body to metal implants. One of these includes the metal implant allergy.

### **Nickel and sensitization**

The incidence of metal sensitivity, especially nickel, chromium and cobalt, is on the rise. Although difficult to assess, dermatological hypersensitivity to metals is said to be between 10% and 15% within the general population.

The study found that although many consumer products contain traces of certain metals, such as chromium and nickel, this level of exposure is not powerful enough to trigger sensitization. Further, it has been revealed that a person's most significant source of contact with such metals is usually through jewellery.

Metallic orthopedic implants can be considered a source of sensitization. However, the exact mechanisms involved are still not known. This condition is difficult to diagnose due to the wide variety of unknowns within the pathophysiology chain.

### **Dynamics of metal sensitization**

The sensitization method may play an important role in the immune dynamics of delayed-type hypersensitivity, which is why it is important to outline this immune stage. The most common ways to develop hypersensitivity to such agents are:

- 1) skin contact,
- 2) their ingestion, and
- 3) the contact between an implant containing the metallic agents involved and the patient's biological environments, the latter being of most relevance to the present paper. The means of contact with these metallic compounds is of particular importance, as the patient's biological environment that comes into contact with the respective metal can determine the amount of metallic particles that will be captured by immune cells and will further lead to hypersensitization.

A variety of metal alloys containing toxic and potentially hypersensitizing traits in their composition are used within orthopedic implantology; these are not only used in different concentrations, but also incorporated in different ways. For example, Haudrechy and colleagues<sup>[28]</sup> studied the difference between different alloys containing nickel and their ability to induce contact dermatitis; pure nickel (control), nickel-plated stainless steel and several stainless steel alloys (AISI 303, 304, 316L, 430) containing various nickel concentrations have been included. While the patch test showed that 96% of patients were intolerant to nickel-plated stainless steel samples and that 14% of them showed a reaction to sulfur-rich stainless steel (AISI 303), stainless steel low-sulfur alloys (AISI 304, 316L, 430) did not cause any reaction.

### **General manifestations and reactions**

The hypersensitivity reaction is a series of undesirable reactions that the body produces due to its normal immune system. Usually, these reactions are considered a quantitative disorder of the system.

Urticaria is a type of skin rash that appears on a reddish background. It can cause itching or stinging sensation and can spread to other parts of the body. This condition is usually not life-threatening.

Although the materials for use in medical implants have been thoroughly studied and tested, some of the side effects are difficult to detect in a clinical setting. For instance, the sudden onset of hypersensitivity reactions can be observed only at irregular intervals.

### **Pathophysiology of metal hypersensitivity**

Most sensitization reactions are mild and low intensity. However, there are some cases where hyperaggressive reactions can occur. This highlights the need to study the effects of implants on the body.

A hypersensitive reaction is triggered by an exposure to a substance or group of substances. It can be initiated by a reaction to an immunological complex or by the activation of an immunological response. Late ones are cell mediated.

Hypersensitivity reactions are categorized as type IV or late-onset immune reactions. The most common type of reaction is triggered by the release of antigens.

The two major phases of cell-mediated type IV reactions are the Sensitization and Effector phases. During the latter, the antigen is presented to the cells, which will then transform into sensitized T lymphocytes.

### **The hypersensitivity reaction to implants**

The interaction between an antigen and a pre-sensitized T cell triggers the onset of the effector phase of the IV hypersensitivity reaction. The presence of an antigen triggers the secretion of various cytokines, which can trigger various inflammatory responses.

The pathway is closed by the activation of the major class II and IL-1 histocompatibility complexes of activated macrophages. This process generates more DTH cells and thus completes the cycle initiated by this pathway.

In vivo, the effects of the nickel reaction were studied by staining mononuclear cells with avidin-biotin immunohistochemistry. The results indicate that the lymphoblastic transformation was triggered by the nickel hypersensitivity.

As a result of the conflicting reports about the role of the T cell's receptor region in the response to metallic implants, this issue has been considered a lesser known concern. For instance, some studies suggest that the CDR3b region of the T cell is critical for the nickel reactivity response.

### **The Testing for sensitivity to metals**

Since sensitized individuals can be prevented from experiencing a hypersensitivity reaction by taking off the causative agent, the need for tests becomes more relevant.

Most commonly used test methods are those involving in vivo testing (e.g., patch testing or intradermal testing). In vitro methods are also used for testing hypersensitivity to various allergens.

The knowledge regarding the immunological response caused by implants is still scarce. This gap is evidenced by the lack of knowledge about the various metallic agents that can be used for this purpose.

Another issue with dermal testing is that the time difference between the time when the patch is exposed to the skin and the time when the in-vivo exposure occurs. This means that exposure time is not over 48 hours, and it is not known if it causes hypersensitivity reactions.

The location where sensitization begins is also a variable within this reaction. In the case of contact testing, this reaction may be different depending on the dynamics of the cell.

Although migration testing alone can detect delayed lymphocyte sensitivity, it may not be an adequate detector for certain conditions. For instance, several months after human subjects were initiated with BCG, migration testing did not demonstrate the inhibition of lymphocyte migration. In vitro tests for the detection of anti-hypersensitivity antigens can detect humoral responses under certain conditions.

## PERSONAL CONTRIBUTIONS

### General methodology

The research will be conducted step by step according to the following general methodology:

- review of the specialized literature for updating the information
- obtaining agreements from the Ethics Commission of UMF Iuliu Hatieganu Cluj-Napoca to conduct studies on animal model.
- conducting a literature review to identify the most important information about allergies to implanted metallic materials.
- conducting a retrospective study to evaluate the rate of implant failure in patients with hip arthroplasty, operated at the Orthopedics and Traumatology Clinic in Cluj.
- evaluation of the link between implant failure and nickel
- design a protocol for evaluating of the effect of different metals in the ossification process.
- conducting a scientific study to highlight the effects of implantable metallic materials, in the process of bone formation.
- performing high performance imaging investigations (micro CT), anatomopathological evaluation and extraction tests
- evaluating the results obtained and proposing research directions for the future

### Study 1 - Immune reactions induced by metal-on-metal arthroplasties. The role of type IV delayed hypersensitivity and its clinical implications

Total joint arthroplasties are commonly performed for treating advanced arthrosis. However, they can also cause complications that limit the longevity of the implant.

#### The pathophysiology mechanism of delayed-type hypersensitivity

Even though the article mainly focuses on the delayed immune reaction, it is important to note that the acquired one is also linked to the innate one.

Most commonly, metal particles with self-activating properties are nickel, cobalt, chromium, and beryllium. These particles can also influence the inflammatory response by producing complex immunity complexes.

Aside from the direct sensitizing effect, various other effects may also occur. These include increased sensitivity to metals, cross-sensitization, and even comatose states.

#### Local and general implant-related manifestations of delayed-type hypersensitivity

Metal hypersensitivity can vary widely and systemic reactions can also occur.

On a systemic level, exposure to metallic particles can cause systemic dermatosis. Usually, the metal particles cause severe skin damage that can range from mild to severe.

The carcinogenic potential of metal-based implants is a controversial topic. For instance, there is no concrete evidence suggesting that metal-on-metal hip resurfacing arthroplasties can lead to an increase in cancer risk. Also, despite the presence of metal ions, the trans-placental pass of metal ions has not been proven so far.

On a local level, the effects of metal particles on the body's immune system can trigger various forms of inflammatory response. These include asymptomatic small-sized cysts or large formations.

Inflammation pseudotumor is a type of tissue organization that occurs as a result of inflammation. It can be characterized by the presence of aseptic masses at the periprosthetic levels.

A periprosthetic inflammatory reaction can also affect blood vessels and cause aseptic lymphocyte-dominant vasculitis. The main mechanism of this condition is believed to be a delayed-type hypersensitivity.

Metallosis is a pathological condition that occurs when a metallic device is subjected to wear-induced lesions. This condition usually refers to the accumulation of metallic particles in the body.

### **Clinical Implications**

Awareness about the immunogenic properties of metals has improved in recent years. However, a literature review conducted by researchers from Finland and the US shows that many products commonly used for cosmetic purposes contain too little cobalt, chromium, and nickel particles to trigger hypersensitivity reactions.

Other objects that can trigger hypersensitivity to metals are artificial joints made of metal alloys. These include titanium, chromium, manganese, and nickel. MoM arthroplasties due to wear and tear due to mobilization lead to increased metal ions locally and systemically.

Factors that affect the local response of MoM arthroplasty vary depending on the type of prosthesis used. For instance, the size of the head can affect the revision rate. In addition, different prosthesis brands have different rates at 10 years.

When choosing an implant type, it is important to consider the risks and benefits of the procedure. Before making a decision, it is also important to analyze the various features of the implant, such as its longevity and physical activity level.

### **Conclusions**

Metal hypersensitivity is a known phenomenon that can cause systemic aseptic complications in implants made of metal.

This article describes the mechanisms by which peri-prothorptic inflammation occurs and how this can be managed to improve the longevity of implantable devices.

## **Study 2. - Immunologic reactions to bone and articular implants**

Number of devices that are used in orthopedic surgery has increased significantly in recent years. As a result, the need for regulating them has increased. The increasing number of studies on the microenvironment surrounding an implant has helped to identify various elements that contribute to the implant's local and systemic effects. The immunological implications of surgically implanting a foreign body into a living organism are numerous. The immunological response initiated by the presence of an infectious pathogen can be classified as non-infectious or infectious. The response can also be maintained through the continuous activation of polymorphonuclear cells. The goal of preventing bacterial pathogens from causing infectious osteomyelitis is to prevent the onset of such diseases. The increasing interest in the study of both the bacterial growth dynamics and the immunological response during a disease has been observed in the last few years.

### **Anaphylactic shock**

While hyperacute reactions to bone implants are scarce, there have been reports of patients that have suffered such events during implantation procedures. The immunologic response of patients undergoing procedures is not fully understood. It can be initiated through a direct mast cell activation or an immunological reaction. Other symptoms that can trigger the onset of a complication include diffuse erythema, dilated pupils, edema, and anxiety. One of the earliest signs of a potential complication is hypotension. Another factor to consider when discussing hyperacute reactions is the underlying mastocytosis. This condition can manifest itself in various forms of anaphylactic reactions.

### **Acute reactions to bone and joint implants**

Within a few seconds after the implant is placed, the biomaterial is gradually covered by proteins from the blood stream and/or the interstitial fluid. This interaction triggers the coagulation cascade and the formation of the provisional matrix.

The coagulation cascade is initiated by the interaction between the biomaterial and the damaged tissue surrounding the bone implant. The two factors, which are known as factor XII and tissue factor TF, are known to generate various physiological functions within the biomaterial.

It has been demonstrated that the biomaterial can directly activate the complement. This process can trigger various inflammatory pathways, including the classical and alternative pathways. The goal is to activate the complement's C3 convertase pathway and release C3a and c5a.

The polymorphonuclear leukocyte is a type of cell that migrates from the bloodstream to the site of implantation. It plays a crucial role in the acute inflammation response.

After being introduced to the integrins, PMNs produce a phagocytic response. The degranulation process then begins.

### **Transitioning from an acute immune reaction to a chronic immune reaction**

PMNs that have been observed adhering to the biomaterial exercise have a persistent autocrine function. They are attracted to other PMNs through the production of IL-8.

After the PMN job is over, the body's natural defense mechanism is triggered by the release of macrophages. These cells can last for a few hours or a few days.

### **Chronic immune response to bone and joint implants**

The cells that are attracted to the site by the PMNs will then become part of the chronic immune response. They will then function as macrophages and produce pro-inflammatory substances that will increase the number of immune cells. The function of macrophages is not limited to anti-inflammatory. They can also be classified into two subclasses: M1 and M2. The former can be classified into two groups: regulatory and wound healing macrophages.

Macrophages can exhibit phenotype plasticity, which suggests that their function is altered by the progressive changes in their environment. In this process, the pro-inflammatory macrophages are replaced by the regulatory and wound-healing cells.

The innate immune response is a complex system that interacts with the adaptive immune reactions initiated by different cells. The main actors of this response are plasma cells and lymphocytes.

A second phase, which occurs after the first contact with the antigen, triggers the pre-sensitized cells to produce an immune response. This response can be triggered by the presence of a second contact with the antigen. Monocytes, macrophages, and lymphocytes are the hallmarks of chronic inflammation and can help pathologists differentiate between the foreign body reaction and the local inflammatory response.

### **Conclusion**

In order to improve the quality of life for patients, especially those with osteoimmunology, various steps are being taken in order to develop new solutions for problematic implants.



### **Study 3 - Osteomyelitis and other forms of osteitis in need of surgery between 2012-2019 in an Orthopedic Center in Romania. Scarce cases of late onset metal-on-metal implant failure still emerging.**

Most metal implants are well tolerated. However, metal-on-metal (MoM) and total replacement implants are prone to failure due to their long-term complications. These types of implants usually require active surveillance to monitor their usage.

We analyzed over 180 individuals with osteomyelitis who underwent revision surgery from 2012 to 2019. The study focused on the number of MoM implants associated with osteomyelitis.

#### **Comorbidities**

The main categories of comorbidities present in both groups were cardiovascular, diabetes, skin diseases. Other comorbidities that were present were: gastroenterological, urological (e.g., benign prostatic hyperplasia), psychiatric (e.g., anxiety disorder spectrum: 1, alcoholism: 3, persistent depressive disorder:1), neurological (e.g., spastic paraplegia: 1, one-sided hearing loss: 1, unspecified polineuropathy:1, spastic hemiplegia:1, epilepsy with “grand mal” seizures: 1) and ophthalmologic comorbidities.

#### **Infectious versus non-infectious events**

Out of the 52 patients studied, 34 experienced events that were unrelated to implants. Many of them had a history of trauma or fractures, and many of them were also known to have other severe comorbidities. The most common bacterial pathogens were identified in these patients.

#### **Conclusions**

During the past few years, there has been a low number of aseptic implant failures among orthopedic implant devices. This type of event is very rare and can be easily detected by regular examinations of the metal surfaces of the implant.

### **Study 4 - Imagistic findings indicative of subclinical changes that occur at the juxtaposition of intramedullary orthopedic implants with the bone. Findings indicative of immunogenetic differences between nickel, AISI 316L, tantalum and titanium.**

Medical implants are used in various scenarios, such as orthopedic surgery, cosmetic surgery, and gynecology. They have gained widespread acceptance due to their various advantages.

This type of implant is used for patients suffering from advanced stages of arthrosis or osteoarticular pathologies. It can significantly reduce pain and improve mobility in the long run.

The study included 40 healthy subjects with the traits listed in the materials and methods section. The characteristics of the individuals were chosen as to reduce the variability of the immune background of the subjects included in the study. The subjects were later divided into 4 experimental groups: nickel rod group, AISI 316L group, tantalum group and the titanium rod group.

This study aims to analyze the effects of nickel on the healing process and the time it takes for a trabecular bone to be found. It also highlights high immunogenic profile of AISI 316L.

The pure nickel implants exhibited a high degree of corrosion. Metallosis was then observed in the picture 2. It was confirmed that the particles released by these implants have a significant impact on the body's immune system.

The data regarding the percentage of bone in each group shows that the titanium group had the highest amount of bone. This conclusion was made after analyzing the data.

## **Conclusions**

Metal orthopedic implants can trigger an immunological response that can prevent the healing of the surrounding tissue. This impairs the mobility of the bone and can cause long term device failure.

## **Originality and innovative contributions of the thesis**

This study developed a diagnostic algorithm that is used in the assessment of patients that carry a MoM orthopedic device. This algorithm has the potential to be used as a screening protocol for such patients in the future.

Clinical study demonstrating that complications related to MoM implants still occur, even in our orthopedic center in Cluj Napoca.

Highlights the link between the innate immune reaction and the acquired immune response in a comprehensive and schematically measure

Assessing the microarchitecture of the bone located in close proximity to the orthopedic bone implant. Using bone percentage and the trabecular pattern factor as a measurement of bone healing and local inflammation. Indirect appreciation of the immunogenicity of different metal implants.