

PRIMERJAVA OBRABNIH DELCEV POLIETILENA IN POLIACETALA, IZOLIRANIH IZ TKIVA OB IZOELASTIČNIH KOLČNIH PROTEZAH

COMPARISON OF POLYACETAL AND POLYETHYLENE WEAR PARTICLES ISOLATED FROM PERIPROSTHETIC TISSUES OF ISOELASTIC PROSTHESES

Aleksandra Minovič, Ingrid Milošev

Institut "J. Stefan", Jamova 39, 1000 Ljubljana, Slovenija
aleksandra.minovic@ijs.si

Prejem rokopisa - received: 2000-10-05; sprejem za objavo - accepted for publication: 2000-11-08

Izoelastične kolčne proteze so posebna vrsta protez, ki so sestavljene iz dveh polimernih materialov: poliacetalnega debela in polietilenske čašice. Zaradi relativno slabih kliničnih rezultatov se v zadnjem desetletju tovrstne proteze ne uporabljajo več. Da bi ugotovili razlog za njihovo neuspešnost, smo preiskovali odstranjene komponente protez ter tkivo okrog le-teh. Za izolacijo delcev smo uporabili metodo bazičnega razkroja tkiva in s centrifugiranjem ločili polietilenske in poliacetalne delce. S spektroskopijo energijske porazdelitve rentgenskih žarkov (EDS) smo identificirali delce poliacetala in z infrardečo spektroskopijo s Fourierjevo transformacijo (FTIR) delce polietilena. Morfologijo delcev smo določili z vrstično elektronsko spektroskopijo (SEM).

Ključne besede: polietilen, poliacetal, obrabni delci, ortopedske proteze

Isoelastic prostheses are a special type of total hip replacement consisting of two polymer materials: polyacetal stem and polyethylene acetabulum cup. Due to relatively poor clinical results their implantation has been restricted during the last decade. In order to reveal the reasons for their unsuccessful clinical performance, we examined the prosthetic components and periprosthetic tissue of failed prostheses. A method of tissue digestion using sodium hydroxide followed by centrifugation of the digested tissues was used to separate polyacetal and polyethylene particles. Polyacetal particles were verified by energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) and polyethylene particles were identified by fourier-transform IR (FTIR) spectroscopy. Scanning electron microscopy (SEM) confirmed that the majority of particles were micrometer in size and their morphology was fibril-like or shred-like.

Key words: polyethylene, polyacetal, wear particles, orthopaedic implants

1 UVOD

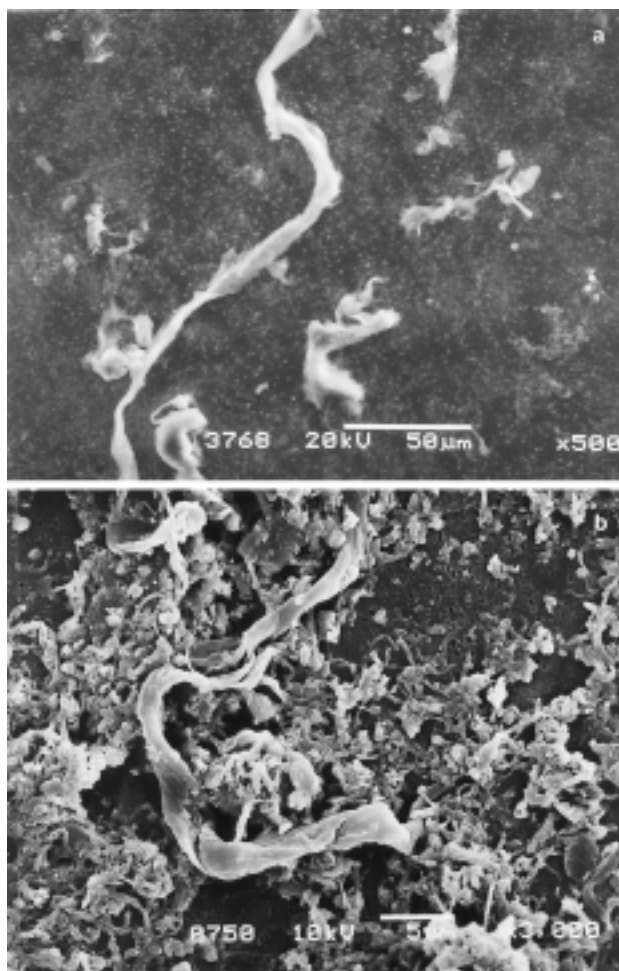
V začetku sedemdesetih let je Robert Mathys uvedel nov tip brez cementnih kolčnih protez, ki so bile sestavljene iz poliacetalnega (polioksimetilen, POMC) debela s kovinskim jedrom in čašice iz visokomolekularnega polietilena (UHMWPE). Pri klasičnih protezah, ki imajo kovinsko deblo, prihaja zaradi zelo različnih elastičnih modulov kovine in kosti do efekta zaščite pred obremenitvijo ("stress shielding"). Le-ta slabi strukturo kosti ob implantu in negativno vpliva na stabilnost proteze. Polimer poliacetal pa ima elastični modul zelo podoben elastičnemu modulu kosti. Tovrstne proteze so zato imenovali izoelastične in so jih konstruirali z namenom, da bi se izognili problemu zaščite pred obremenitvijo.¹ Začetni klinični rezultati so bili zelo spodbudni², vendar se je po nekajletnih izkušnjah pokazalo, da je incidenca omajanja oz. potreba za zamenjavo proteze zaradi nestabilnosti in bolečin visoka.³ Zaradi teh razlogov tovrstne proteze v večini ortopedskih ustanov ne uporabljajo več.

Vzroki za neuspešnost izoelastičnih protez niso povsem jasni. Domnevno je omajanje povezano z biomehanskimi faktorji, kot sta nezadostna obremenitev

proksimalnega dela femurja ter veliki stresi na meji proteza/kost⁴, in biološkimi faktorji, ki so povezani s tvorbo obrabnih delcev. Znano je, da se pri delovanju klasičnih protez (kovinsko deblo/polietilenska čašica) sproščajo v tkivo ob protezi obrabni kovinski oz. polietilenski delci.⁵ Le-ti so potem vključeni v različne biološke procese, ki v končni stopnji privedejo do omajanja proteze. Možnost tvorbe in sproščanja poliacetalnih obrabnih delcev pri izoelastičnih protezah doslej ni bila raziskana. V tem delu smo se posvetili zahtevnemu problemu, ki vključuje izolacijo, ločevanje in identifikacijo dveh vrst obrabnih polimernih delcev (poliacetalnih in polietilenskih) iz tkiva ob protezah.

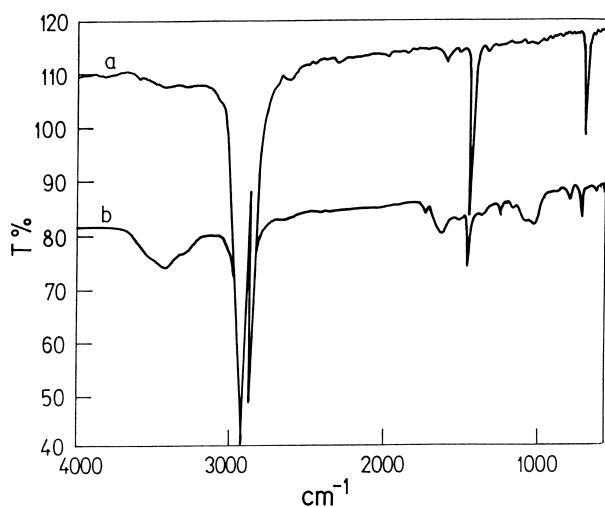
2 EKSPERIMENTALNI DEL

Tkiva, odstranjena ob zamenjavi izoelastičnih kolčnih protez, smo zmleli in čez noč pustili v raztopini kloroforma in metanola v razmerju 2:1, s tem smo preprečili kontaminacijo vzorcev z lipidi. Nato smo vzorce sprali z destilirano vodo, dodali 12 ml 5 M NaOH in postavili v vodno kopel s temperaturo 65 °C za eno uro. Razkrojeno tkivo smo ohladili na sobno temperaturo in 10 minut pustili v ultrazvočni kopeli. Vsak vzorec



Slika 1: SEM-posnetek delcev: (a) izoliranih iz tkiva ob izoelastični protezi s polietilensko čašico, (b) izoliranih iz tkiva ob kovinski protezi s polietilensko čašico

Figure 1: SEM micrograph of particles: (a) isolated from tissues around isoelastic prosthesis with polyethylene cup, (b) isolated from tissues around metal prosthesis polyethylene cup



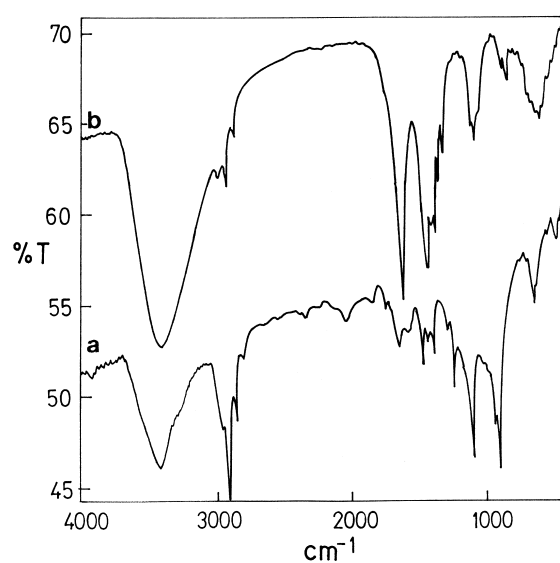
Slika 2: FTIR-spekter: (a) referenčnega vzorca polietilena, (b) polietilenskih delcev, izoliranih iz tkiva ob kolčni protezi

Figure 2: FTIR spectrum of: (a) reference polyethylene, (b) polyethylene particles isolated from periprosthetic tissues

smo razdelili v dve čisti epruveti in dodali 5 ml 50 % sukroze. Raztopine smo centrifugirali 1 uro pri 6000 vrtljajih na minuto. Tvorili sta se dve plasti, in sicer na vrhu in na dnu epruvete. Ti dve plasti smo previdno odpipetirali v čiste epruvete, sprali z destilirano vodo in 5 minut pustili v ultrazvočni kopeli, nato pa segrevali 1 uro pri 80 °C. Raztopine smo prekrili s 3 ml izopropanola in centrifugirali 1 uro pri 6000 vrtljajih na minuto. Polietilenski in poliacetalni delci so tvorili plast, ki smo jo zbrali v čisto epruveto. Nato smo raztopine filtrirali skozi polikarbonatni filter papir, posušili, prekrili z grafitom in pregledali z vrstično elektronsko spektroskopijo-SEM (JEOL JSM 5800). Sestavo polietilena smo določili z infrardečo spektroskopijo s Fourierjevo transformacijo-FTIR (Perkin Elmer 1725X), poliacetala pa s spektroskopijo energijske porazdelitve rentgenskih žarkov-EDS (LINK ISIS).

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

Obrabni delci, ki se pri delovanju kolčne proteze sproščajo v tkivo so izredno majhni, reda velikosti mikrometra. Izolacija takih delcev iz tkiva obsega vrsto kompleksnih korakov. Iz tkiva jih moramo izolirati tako, da pri tem ne spremenimo njihove sestave ali morfologije. Ker so to mikrometrski delci, s prostim očesom ne moremo oceniti, ali je bila izolacija uspešna ali ne. O tem se lahko prepričamo šele po pregledu s SEM. Problem postane še zahtevnejši, kadar imamo dve vrsti polimernih delcev, ki jih moramo med seboj ločiti in identificirati. Njihovo morfologijo lahko opazujemo s SEM, istočasna EDS-analiza pa v primeru polimerov ni smiselna, saj imamo opravka z materiali, ki vsebujejo H, C in O. Torej moramo za kemijsko analizo uporabiti FTIR, ki je sicer primerna tehnika za tovrstne materiale



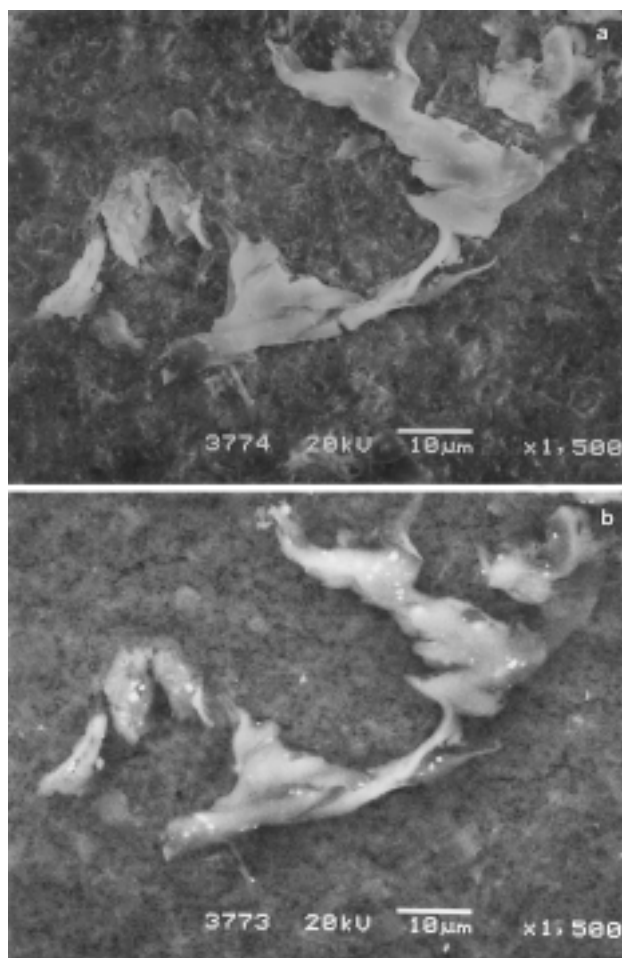
Slika 3: FTIR-spekter: (a) referenčnega vzorca poliacetala, (b) delcev, izoliranih iz tkiva ob kolčni protezi

Figure 3: FTIR spectrum of: (a) reference polyacetal, (b) particles isolated from periprosthetic tissues

in jo že rutinsko uporabljamo za identifikacijo polietilenskih delcev.⁶ To tehniko lahko uporabljamo tudi za identifikacijo poliacetalnih delcev, vendar se je v naših primerih izkazala kot neprimerna, saj iz primerjave FTIR-spektrov referenčnega prahu poliacetala in realnih izoliranih delcev ni bilo mogoče potrditi prisotnosti le-teh v vzorcu.

SEM-posnetka na **sliki 1** prikazujeta morfologijo delcev, izoliranih iz tkiva ob izoelastični protezi s polietilensko čašico (**slika 1a**) in klasični kovinski protezi s polietilensko čašico (**slika 1b**). Morfologija obeh vrst delcev je podobna, v obeh primerih se pojavljajo podolgovati delci, pri polietilenu pa tudi okrogli. Razlika je le v velikosti delcev, ki so v primeru klasične kombinacije večinoma veliki od 0,5 do 5 μm , le redko se pojavljajo delci, večji od 5 mm. Pri izoelastičnih protezah so delci večinoma večji in merijo od 5 do 150 μm , teh delcev je tudi precej manj kot polietilenskih, kar je razvidno tudi na **sliki 1**.

FTIR-spektri so primerni za identifikacijo izoliranih polietilenskih delcev. Delce smo kvalitativno analizirali



Slika 4: SEM-posnetek poliacetalnih delcev: (a) posneto s sekundarnimi elektroni, (b) posneto s povratno sipanimi elektroni iz primarnega curka

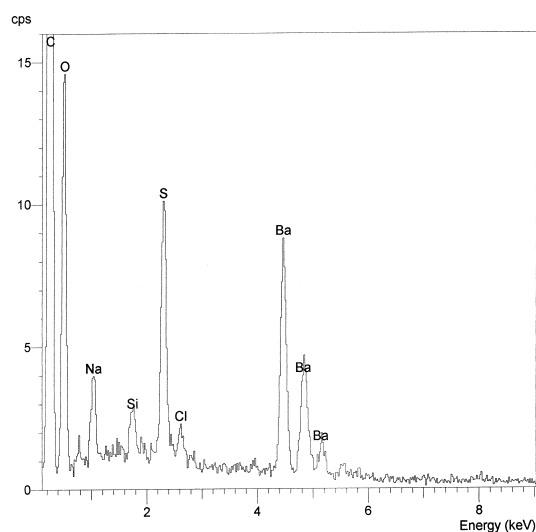
Figure 4: SEM micrograph of polyacetal particles: (a) recorded using secondary electrons, (b) recorded using back-scattered electrons

s primerjavo FTIR-spektrov za referenčni vzorec polietilenskega prahu in za izolirane delce (**slika 2**). Značilni vrhovi se pojavljajo pri 2917, 2850, 1470 in 721 cm^{-1} in ustrezajo polietilenu.

S FTIR-analizo smo analizirali tudi poliacetalni prah in dobili značilne vrhove pri 2930, 2860, 1490, 1450, 1390, 1250, 1100, 902, 630 in 450 cm^{-1} (**slika 3**). Referenčni poliacetalni prah smo nato dodali piščančjemu mesu, razkrojili in ponovno izolirali poliacetalne delce. FTIR-spekter je potrdil prisotnost poliacetala. S tem smo dokazali, da pri postopku izolacije dejansko izoliramo poliacetalne delce. Analiza realnih delcev, izoliranih iz tkiva ob izoelastični protezi, pa prisotnosti teh delcev ni nedvoumno dokazala. Sklepali smo, da je množina poliacetalnih delcev premajhna, možne pa so tudi kemijske interference.

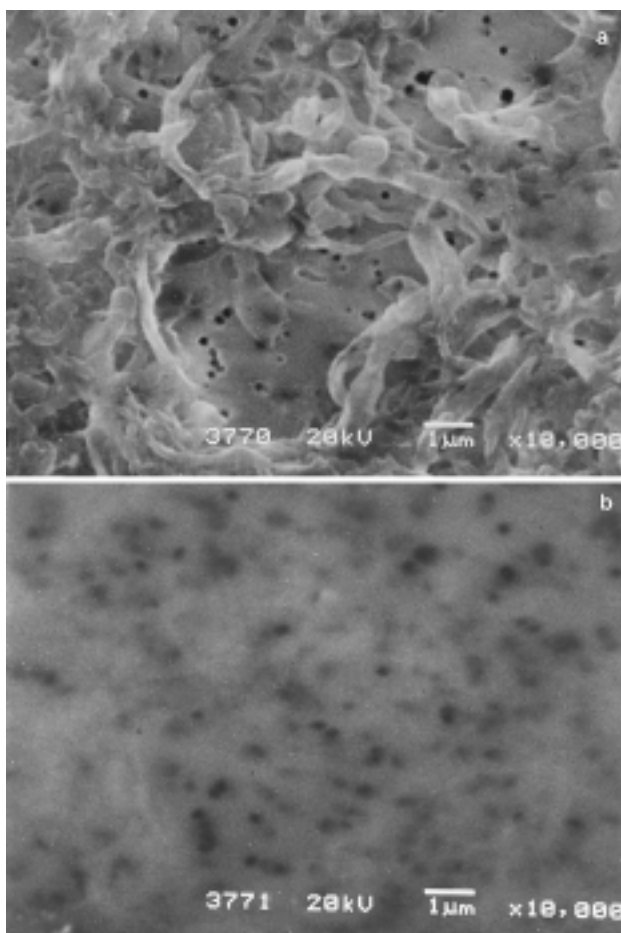
Ker nobena od uporabljenih tehnik ni omogočila ločevanja med posameznimi delci, smo se ponovno posvetili iskanju možnih rešitev. V objavljeni literaturi ni bilo podobnih raziskav, našli pa smo podatek, da proizvajalci izoelastičnih protez poliacetalu dodajajo barijev sulfat.⁷ Le-ta ima vlogo kontrastnega aditiva, ki na rentgenskih posnetkih poveča kontrast med kostjo in protezo. Ta podatek nam je pomagal pri reševanju problema ločevanja poliacetalnih in polietilenskih delcev, saj BaSO_4 lahko identificiramo z EDS-analizo in, kot se je izkazalo, tudi s SEM z uporabo povratno sipanih elektronov iz primarnega curka (fazni kontrast). SEM-posnetek z uporabo sekundarnih elektronov je prikazan na **sliki 4a**. Vidimo nekaj večjih delcev v obliki krp, dolžine nekaj deset μm . Z uporabo povratno sipanih elektronov iz primarnega curka pa so vidne drobne svetleče pike (**slika 4b**). Njihovo sestavo smo potrdili z EDS-analizo in je ustrezala BaSO_4 (**slika 5**). Velikost dodanih delcev BaSO_4 je okrog 1 μm .

Na SEM-posnetkih polietilenskih delcev, z uporabo povratno sipanih elektronov iz primarnega curka,



Slika 5: EDS spekter BaSO_4

Figure 5: EDS spectrum of BaSO_4



Slika 6: SEM-posnetek polietilenskih delcev: (a) posneto s sekundarnimi elektroni, (b) posneto s povratno sipanimi elektroni iz primarnega curka

Figure 6: SEM micrograph of polyethylene particles: (a) recorded using secondary electrons, (b) recorded using back-scattered electrons

svetlečih pik, ki bi označevale prisotnost BaSO_4 , nismo opazili (**slika 6**).

Splošno znano je, da se BaSO_4 in ZrO_2 dodajata kot kontrastna aditiva v kostni cement (polimetilmetakrilat), ki pri cementnih protezah fiksira protezo v kost. Dodatek teh aditivov v brezementne izoelastične proteze pa ni

splošno znan in ima lahko pomembno vlogo pri razlagi omajanja teh protez. Ti aditivi so namreč trdi in pri obrabi proteze lahko delujejo kot abrazivni delci pri troplastni abraziji. Očitno proizvajalci polietilenu ne dodajajo kontrastnih reagentov in sicer zato, ker sta BaSO_4 in ZrO_2 zelo trda materiala in bi pri premikanju glave proteze ob polietilensko čašico prihajalo do večjih poškodb na površini čašice in s tem tudi do obrabe.

4 SKLEP

Z bazičnim razkrojem tkiva, odstranjenega ob izoelastičnih kolčnih protezah, smo uspešno izolirali polietilenske in poliacetalne delce. Ločevanje in identifikacija obeh vrst delcev sta se pokazala kot bolj zahtevna problema, kot pa smo na začetku pričakovali. FTIR-spektroskopija je sicer primerna tehnika za analizo polimernih materialov, vendar v primeru poliacetalnih delcev ni dala zadovoljivih rezultatov. V tem delu smo pokazali, kako podrobno zbiranje podatkov o preiskovanem materialu lahko pripomore k lažji identifikaciji snovi. Le na osnovi FTIR-spektrov bi lahko sklepali, da poliacetalni delci v tkivu ob izoelastični protezi sploh niso prisotni, kar se je pri nadaljnjih raziskavah pokazalo kot neresnično. Med polietilenskimi in poliacetalnimi delci smo ločili na podlagi SEM z uporabo povratno sipanih elektronov iz primarnega curka, kjer smo opazili prisotnost BaSO_4 v poliacetalnih delcih in ga identificirali z EDS.

5 LITERATURA

- ¹ E. Morscher, R. Mathys, *Acta Orthop. Belg.*, 40 (1974) 639-647
- ² T. A. Andrew, J. P. Flanagan, R. Bombeli, *Clin. Orthop.*, 206 (1986) 127-138
- ³ R. J. Izquierdo, M. D. Northmore-Ball, *J. Bone Joint Surg.*, 76B (1994) 34-39
- ⁴ T. Niinimäki, J. Puramen, P. Jalovaara, *J. Bone Joint Surg.*, 76B (1994) 413-418
- ⁵ P. Cambell, P. Doorn, F. Dorey, H. Amstutz, *Proc. Instn. Mech. Engrs.*, 210 (1996) 167-174
- ⁶ A. Minovič, I. Milošev, V. Antolič, S. Herman, *Kovine tehnologije*, 32 (1998) 67-68
- ⁷ I. Milošev, V. Pišot, private correspondence