

Opakovaná sterilizace artikulačních komponent kloubních náhrad etylenoxidem nemá vliv na strukturu a vlastnosti UHMWPE

Repeated Sterilization of Articular Components of Joint Replacements with Ethylene Oxide Does Not Affect the Structure and Properties of UHMWPE

P. FULÍN¹, M. ŠLOUF², V. GAJDOŠOVÁ², P. NĚMEČEK², S. KREJČÍKOVÁ², D. POKORNÝ¹

¹ I. ortopedická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

² Ústav makromolekulární chemie Akademie věd České republiky, Praha

ABSTRACT

PURPOSE OF THE STUDY

In clinical practice UHMWPE is the most commonly used material for manufacturing articular components of joint replacements. The purpose of this study is to find out whether repeated ethylene oxide sterilization results in oxidative degradation of UHMWPE or not and also whether the oxidative degradation of various types of ethylene oxide-sterilized UHMWPE depends on storage time or not.

MATERIAL AND METHODS

The set included 12 samples of UHMWPE (three samples with different modifications (virgin PE, with E vitamin and cross-linked with thermal treatment) and different number of sterilizations (0x–3x)). The set also included 8 samples of commercial components of hip or knee replacements sterilized with ethylene oxide and stored for different storage periods. The oxidative degradation was assessed by infrared microspectroscopy, based on which the oxidation index (OI), trans-vinylene index (VI), crystallinity index (CI) and E vitamin index (EI) were calculated. Mechanical properties of UHMWPE were obtained through microhardness measurements. Statistical processing of the results was performed.

RESULTS

In all the samples, very low oxidative degradation values were reported (most OI values < 0.1). All radiation crosslinked UHMWPE samples showed an increased VI index and a slightly lower crystallinity index. All unmodified samples (irrespective of whether or not and how many times or how long ago the samples were sterilized with EtO) had almost zero value of VI. Changes in crystallinity were negligible (in the range of 0.56–0.63), which required very accurate measurements of mechanical properties. Yet, linear correlation was established between microhardness and crystallinity.

DISCUSSION

All the mentioned indices changed as anticipated: OIs were very low and slightly increased with time of storage, VIs of radiation crosslinked samples grew in proportion to the total gamma radiation dose, CIs decreased in samples thermally treated by remelting, and EIs were very low due to negligible concentration of stabiliser (0.1%) in the samples of medical grade UHMWPE.

CONCLUSIONS

All samples showed zero or minimum oxidative degradation. This confirmed that neither ethylene oxide sterilization, nor multiple EtO sterilization or longer storage of polymer after ethylene oxide sterilization result in major oxidative degradation.

Key words: UHMWPE, ethylene oxide, sterilization, oxidation, infrared spectroscopy, microhardness.

Práce vznikla v rámci grantového projektu AZV – Ministerstvo zdravotnictví ČR - NU21-06-00084.

ÚVOD

Aseptické uvolnění komponent je nejčastější příčinou revizních operací náhrady kyčelního i kolenního kloubu (1). Příčinou je osteolýza v důsledku aktivace osteoklastů jako reakce na přítomnost otěrových částic artikulačních komponent kloubních náhrad. Nejčastěji používaným materiálem pro výrobu tibiálních (u náhrady kolenního kloubu) a acetabulárních (u náhrady kyčelního kloubu) artikulačních komponent je vysokomolekulární polyetylen (UHMWPE). Tento polymer je považován za „zlatý

standard“ ve výrobě artikulačních komponent pro jeho biokompatibilitu, velmi dobré mechanické vlastnosti a nadprůměrné tribologické vlastnosti (2, 8, 9).

Kvalitu UHMWPE ovlivňuje řada faktorů. Pro zlepšení odolnosti vůči otěru se polymer modifikuje pomocí ionizujícího záření, nejčastěji ozářením paprsky gama (alternativně pomocí urychlených elektronů), což při vhodně nastavených podmínkách způsobí vzájemné propojení molekul polymeru za vzniku trojrozměrné sítě (tzv. síťování neboli *crosslinking*; XL). Stojí za zmínku, že jednou z významnějších bočních reakcí při síťování

je i vznik dvojných vazeb uhlík-uhlík (C=C); množství těchto vazeb lze kvantifikovat pomocí infračervené spektroskopie a zpětně tak odhadnout použitou radiační dávku při modifikaci polymeru. Negativem standardní radiační modifikace je vznik tzv. zbytkových radikálů, které mohou vést k oxidativní degradaci a předčasnému selhání materiálu nebo progresi opotřebení (7, 9, 15). Zmíněné zbytkové radikály se dají eliminovat dvěma hlavními způsoby. Tradiční a v praxi velmi dobře osvědčené postupy spoléhají na tepelné úpravy: zahřátím polyetylenu těsně nad teplotu tání (remelting; RM) nebo těsně pod teplotu tání (annealing; AN) dochází k úplnému zániku (RM) nebo částečnému zániku (AN) radikálů a tím k podstatnému snížení rizika oxidativní degradace (9). Nově zaváděné metody využívají též biokompatibilní stabilizátory: nejčastěji se používá alfa-tokoferol (což je jedna ze složek vitamínu E). Tento přírodní stabilizátor radikály eliminuje chemickou cestou (4). Posledním, ale nepostradatelným krokem ve výrobě polyetylenové komponenty je sterilizace. V klinické praxi se používají v zásadě tři typy sterilizace. Prvním typem je sterilizace pomocí ionizujícího záření (zejména zářením gama, méně často urychlenými elektrony) (17). Problémovým bodem radiační sterilizace je vznik zbytkových radikálů (stejně jako při radiačním síťování = XL), které ovšem již nelze odstranit tepelnými úpravami (po finální sterilizaci musí být materiál zabalen a distribuován – žádné další úpravy již nejsou možné). Proto se tento způsob sterilizace nejeví jako vhodný pro klinické použití (7). Dalšími typy sterilizace je použití plynne plasmy nebo etylenoxidu (9), které negenerují volné radikály a riziko oxidativní degradace tím odpadá (7). Daný způsob sterilizace určuje i expirační dobu, ve které se musí komponenta implantovat, aby byla zaručena sterilita a eliminováno riziko infekčních komplikací. V případě překročení expirační doby může mít tento fakt i forenzní důsledky.

Možností opakované sterilizace (resterilizace) UHMWPE komponent však doposud nebyly zkoumány. Z logiky i historických zkušeností vyplývá, že resterilizace ionizujícím zářením bude generovat stále více a více volných radikálů, které výrazně sníží kvalitu polyetylenu (6). Sterilizace etylenoxidem (EtO) by však neměla mít podle dostupných zdrojů žádný vliv na strukturu polymeru (9). Z toho vyplývá, že ani resterilizace EtO by neměla strukturu a vlastnosti UHMWPE ovlivnit. Cílem této studie je ověřit, zda opakovaná sterilizace pomocí EtO vede k oxidačnímu poškození UHMWPE a současně zda nevykazují oxidační poškození různé typy UHMWPE sterilizované pomocí EtO a skladované delší dobu.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky UHMWPE

Soubor obsahoval celkem 20 vzorků UHMWPE, které byly rozděleny do dvou skupin. První skupinu tvořilo celkem 12 modelových vzorků rozdělených do tří podskupin. První podskupinu tvořily 4 vzorky panenského UHMWPE sterilizované 0×, 1×, 2× a 3× pomocí

EtO. Do druhé podskupiny byly zahrnuty vzorky UHMWPE s 0,1% α -tokoferolu sterilizované stejným způsobem jako vzorky předešlé. Třetí podskupina zahrnovala vzorky UHMWPE zesíťované (crosslinkované) gama zářením (75 kGy) a modifikované tepelnou úpravou pomocí remeltingu (zahřátím nad teplotu tání = na 150 °C). Všechny vzorky byly sterilizovány stejným způsobem pomocí EtO jako v předchozích dvou podskupinách. Druhá velká skupina vzorků obsahovala originální UHMWPE implantáty firmy Beznoska (Česká republika) (kyčelní jamky a tibiální plató), které byly sterilizovány pomocí EtO s různou dobou skladování. Přehled všech testovaných vzorků uvádí tabulka 1.

Změny struktury UHMWPE

Změny struktury různých typů UHMWPE v důsledku sterilizace EtO byly charakterizovány pomocí infračervené mikrospektroskopie (IR). Detaily metody jsou popsány v našich předchozích publikacích (13). Ve stručnosti lze shrnout, že vzorky pro IR se zpravidla připravují ve dvou krocích. V prvním kroku je nutno z kusového

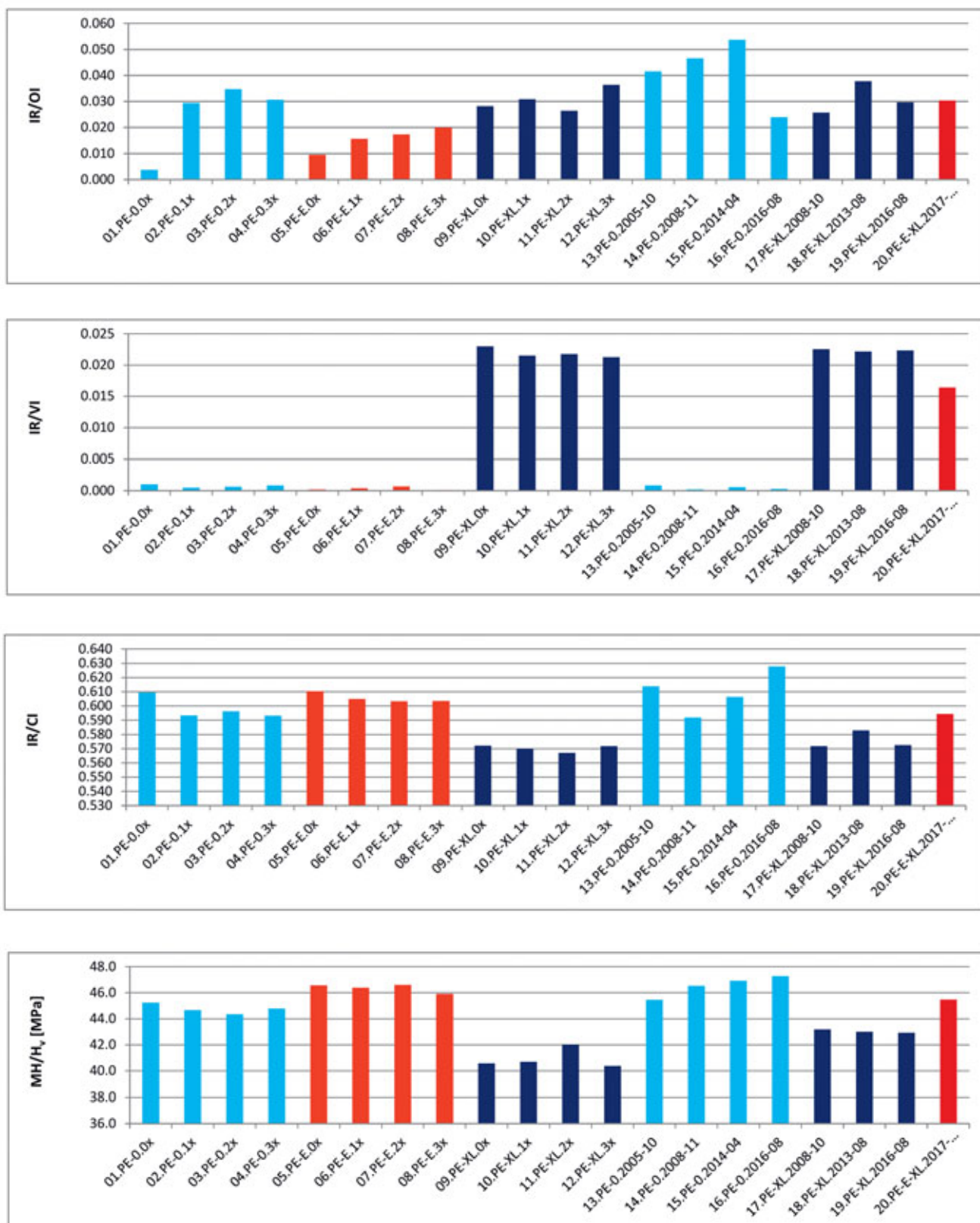
Tab. 1. Přehled testovaných vzorků

Table 1. Overview of tested samples

Vzorek	Gama (kGy)	TT	Vit. E	EtO
01.PE-0.0x	–	–	–	0x
02.PE-0.1x	–	–	–	1x
03.PE-0.2x	–	–	–	2x
04.PE-0.3x	–	–	–	3x
05.PE-E.0x	50	RM	ano	0x
06.PE-E.1x	50	RM	ano	1x
07.PE-E.2x	50	RM	ano	2x
08.PE-E.3x	50	RM	ano	3x
09.PE-XL.0x	75	RM	–	0x
10.PE-XL.1x	75	RM	–	1x
11.PE-XL.2x	75	RM	–	2x
12.PE-XL.3x	75	RM	–	3x
13.PE-0.2005-10	–	–	–	2x(10/2005,1/2011)
14.PE-0.2008-11	–	–	–	1x(11/2008)
15.PE-0.2014-04	–	–	–	1x(4/2014)
16.PE-0.2016-08	–	–	–	1x(8/2016)
17.PE-XL.2008-10	75	RM	–	1x(10/2008)
18.PE-XL.2013-08	75	RM	–	1x(8/2013)
19.PE-XL.2016-08	75	RM	–	1x(8/2016)
20.PE-E-XL.2017-02	50	RM	ano	1x(2/2017)

PE = polyetylen (zde míněn přímo ultravysokomolekulární polyetylen UHMWPE; XL = crosslinking = síťování; Gama – dávka gama záření použitá pro sesíťování; TT = thermal treatment = tepelná úprava; RM = remelting = zahřátí UHMWPE nad teplotu tání, EtO = sterilizace etylenoxidem).

PE = polyethylene (here it refers directly to ultra-high molecular weight polyethylene UHMWPE; XL = crosslinking; Gamma - dose of gamma radiation used for crosslinking; TT = thermal treatment = heat treatment; RM = remelting = heating UHMWPE above melting point, EtO = ethylene oxide sterilization).



Obr. 1. Výsledky IR mikrospektroskopie a MH měření dodaných vzorků UHMWPE: oxidační indexy (OI), transvinylenové indexy (VI), indexy krystalinity (CI) a mikrotvrdosti (H_v). Barvy sloupců: světle modrá = UHMWPE bez dalších úprav, červená = UHMWPE s vitaminem E, tmavě modrá = UHMWPE upravený pomocí síťování a remeltingu, tmavě červená = UHMWPE s vitaminem E upravený pomocí síťování a remeltingu.

Fig. 1. Results of IR microspectroscopy and MH measurements of delivered UHMWPE samples: oxidation indices (OI), transvinylene indices (VI), crystallinity indices (CI) and microhardness (H_v). Column colours: light blue = UHMWPE without further treatment, red = UHMWPE with vitamin E, dark blue = UHMWPE treated by cross-linking and remelting, dark red = UHMWPE with vitamin E treated by cross-linking and remelting.

UHMWPE připravit 2mm plátky pomocí vhodného makroskopického řezacího zařízení, ve kterém nedochází k přehřátí vzorku (rotační pila s intenzivním chlazením, řezání pomocí vodního paprsku nebo pomalé řezání upnutého vzorku velmi ostrým ocelovým nožem). Ve druhém kroku se z připravených 2mm plátek připraví tenké příčné řezy o tloušťce 200 μm pomocí speciálního laboratorního řezacího stroje – sáňkového či rotačního mikrotomu. Vhodnou orientací plátek a řezů můžeme zkoumat libovolné místo vzorku. Vlastní měření IR pak probíhá formou tzv. lineárních skenů, kdy měříme v transmisním modu sérii spekter z 200 μm plátku, přičemž zpravidla měříme řadu spekter z celého průřezu s krokem 100 μm .

K vyhodnocení získaných řad spekter používáme náš vlastní program MINT, který slouží k automatické integraci pásů v IR spektrech UHMWPE a stanovuje řadu veličin, které nazýváme IR indexy. Oxidační index (OI) je úměrný množství C=O vazeb ve vzorku a je všeobecně přijímán jako míra oxidačního poškození UHMWPE (6, 9). Transvinylenový index (VI) je úměrný množství C=C vazeb. Literatura i naše předchozí práce ukazují, že množství dvojných vazeb v UHMWPE je úměrné absorbované radiační dávce, která slouží k modifikaci crosslinkováním (15). Index krystalinity (CI) je úměrný objemovému zlomku krystalické fáze polymeru. Bylo prokázáno, že CI velmi dobře koreluje s krystalinitou určenou z DSC (differential scanning calorimetry) (12, 13, 18). Index vitamínu E (EI) je úměrný množství vitamínu E ve vzorku. Nicméně pro nízké koncentrace vitamínu E používané v kloubních náhradách (TJR) (typicky 0,1 %) a pro běžné podmínky měření, je zpravidla hodnota EI nulová nebo velmi blízká nule (9).

V případě zkoumané série vzorků bylo oxidační poškození povrchů minimální. Jinak řečeno, všechny shora popsané IR indexy (OI, VI, CI a EI) byly v celém průřezu vzorku víceméně stejné. To nám umožnilo každý vzorek charakterizovat jen průměrnými hodnotami (a směrodatnými odchylkami) všech indexů.

Změny mechanických vlastností UHMWPE

Mechanické vlastnosti UHMWPE byly charakterizovány pomocí měření mikrotvrdosti (MH). Pro měření byl zvolen neinstrumentovaný mikroindenter VMHT AUTO man (UHL; Německo). Výhodou mikroindentace je skutečnost, že metodu lze aplikovat i na poměrně malé vzorky (typický rozměr testovacích tělísek je zhruba 10 x 10 x 2 mm); velká testovací tělíska pro standardní tahové zkoušky totiž nelze z poměrně malých UHMWPE vložek vy-

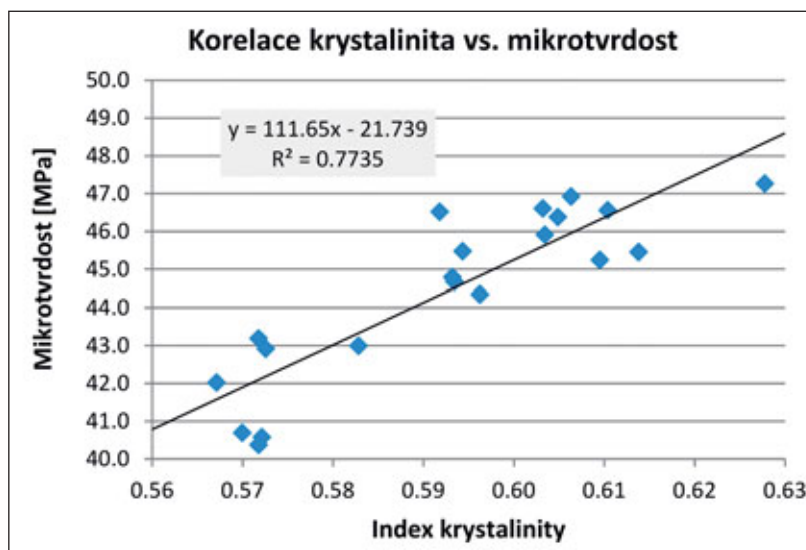
robit (14). Hlavními cíli MH měření bylo prověřit dopad případných strukturních změn polymeru na mechanické vlastnosti a potvrdit výsledky IR mikrospektroskopie pomocí nezávislé metody (souvislost mezi změnami struktury a změnami mikromechanických vlastností je nastíněna v naší předchozí práci (6) a také podrobněji diskutována níže).

Statistické zpracování výsledků

Ke statistickému vyhodnocení výsledků jsme kromě standardních programů (tabulkový procesor MS Excel) použili též programovací jazyk Python s jeho volně šiřitelnými moduly pro zpracování statistických dat (20). V Pythonu byly vypočteny korelační grafy (tzv. *scatter-plot matrix graphs*) a korelačních koeficienty (Pearsonovy korelační koeficienty r a p -hodnoty), které byly využity při popisu korelací mezi výsledky z IR spektroskopie (oxidační index a index krystalinity) a výsledky měření mikromechanických vlastností (mikrotvrdost). Podrobnosti k výpočtům lze dohledat v naší předchozí práci (13), popřípadě v učebnicích statistiky (19).

VÝSLEDKY

Souhrn výsledků IR mikrospektroskopie (průměrné hodnoty indexů OI, VI, CI a EI) a mikromechanických vlastností (průměrná hodnota mikrotvrdosti, H_V) je uve-



Obr. 2. Korelace mezi indexem krystalinity (CI) a mikrotvrdostí (H_V). Index krystalinity byl určen z infračervené mikrospektroskopie a mikrotvrdost z mikroindentačních měření. Koeficient determinace (R^2) nabývá hodnot v intervalu $\langle 0; 1 \rangle$, přičemž 0 značí, že model (zde lineární regrese) nepřináší žádnou informaci o závislé proměnné a hodnota 1 značí, že model dokonale predikuje hodnoty závislé proměnné. Zde vypočtená hodnota $R^2 = 0.77$ potvrzuje dostatečně silnou závislost.

Fig. 2. Correlation between the crystallinity index (CI) and microhardness (H_V). The crystallinity index was determined from infrared microspectroscopy and microhardness from microindentation measurements. The coefficient of determination (R^2) takes values in the interval $\langle 0; 1 \rangle$, where 0 indicates that the model (here linear regression) does not provide any information about the dependent variable, and the value of 1 indicates that the model perfectly predicts the values of the dependent variable. The value of $R^2 = 0.77$ calculated here confirms a sufficiently strong dependence.

Tab. 2. Přehled výsledků IR mikrospektroskopie a MH měření
Table 2. Overview of IR microspectroscopy and MH measurement results

Vzorek	OI		VI		CI		EI		HV	
	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD	Avg	SD
01.PE-0.0x	0,003	0,004	0,001	0,000	0,609	0,616	0,000	0,000	45,2	3,11
02.PE-0.1x	0,019	0,024	0,001	0,001	0,601	0,602	0,000	0,000	44,7	2,28
03.PE-0.2x	0,033	0,042	0,002	0,001	0,595	0,596	0,000	0,000	44,3	1,54
04.PE-0.3x	0,026	0,039	0,001	0,000	0,588	0,591	0,000	0,000	44,8	0,68
05.PE-E.0x	0,016	0,019	0,000	0,000	0,607	0,608	0,003	0,003	46,6	2,69
06.PE-E.1x	0,008	0,019	0,000	0,000	0,610	0,605	0,002	0,003	46,4	1,42
07.PE-E.2x	0,001	0,007	0,000	0,000	0,603	0,613	0,003	0,002	46,6	1,22
08.PE-E.3x	0,012	0,024	0,001	0,000	0,611	0,610	0,002	0,002	45,9	1,12
09.PE-XL.0x	0,024	0,028	0,027	0,024	0,571	0,562	0,000	0,000	40,6	2,95
10.PE-XL.1x	0,032	0,031	0,023	0,023	0,574	0,560	0,000	0,000	40,7	2,33
11.PE-XL.2x	0,019	0,026	0,020	0,021	0,570	0,570	0,000	0,000	42,0	2,53
12.PE-XL.3x	0,031	0,026	0,020	0,022	0,569	0,573	0,000	0,000	40,4	1,15
13.PE-0.2005-10	0,044	0,040	0,002	0,001	0,619	0,615	0,000	0,000	45,5	0,81
14.PE-0.2008-11	0,047	0,045	0,000	0,000	0,587	0,591	0,000	0,000	46,5	1,84
15.PE-0.2014-04	0,053	0,054	0,000	0,000	0,619	0,609	0,000	0,000	46,9	0,70
16.PE-0.2016-08	0,022	0,019	0,000	0,000	0,632	0,630	0,000	0,000	47,3	1,35
17.PE-XL.2008-10	0,030	0,030	0,022	0,021	0,572	0,578	0,000	0,000	43,2	0,62
18.PE-XL.2013-08	0,040	0,048	0,024	0,022	0,579	0,584	0,001	0,000	43,0	0,71
19.PE-XL.2016-08	0,025	0,029	0,022	0,021	0,567	0,579	0,000	0,000	42,9	0,39
20.PE-E-XL.2017-02	0,032	0,027	0,015	0,017	0,596	0,590	0,000	0,000	45,5	0,87

OI = oxidační index, VI = transvinylenový index, CI = index krystalinity, EI = index vitamínu E, HV = mikrotvrlost měřená Vickersovou metodou; Avg = průměr, SD = směrodatná odchylka.

OI = oxidation index, VI = trans-vinylene index, CI = crystallinity index, EI = vitamin E index, HV = microhardness measured by the Vickers method; Avg = mean, SD = standard deviation.

den v tabulce 2. Grafické znázornění naměřených hodnot demonstruje obr. 1. Správnost a spolehlivost měření potvrzuje korelace mezi indexem krystalinity a mikrotvrdostí (obr. 2).

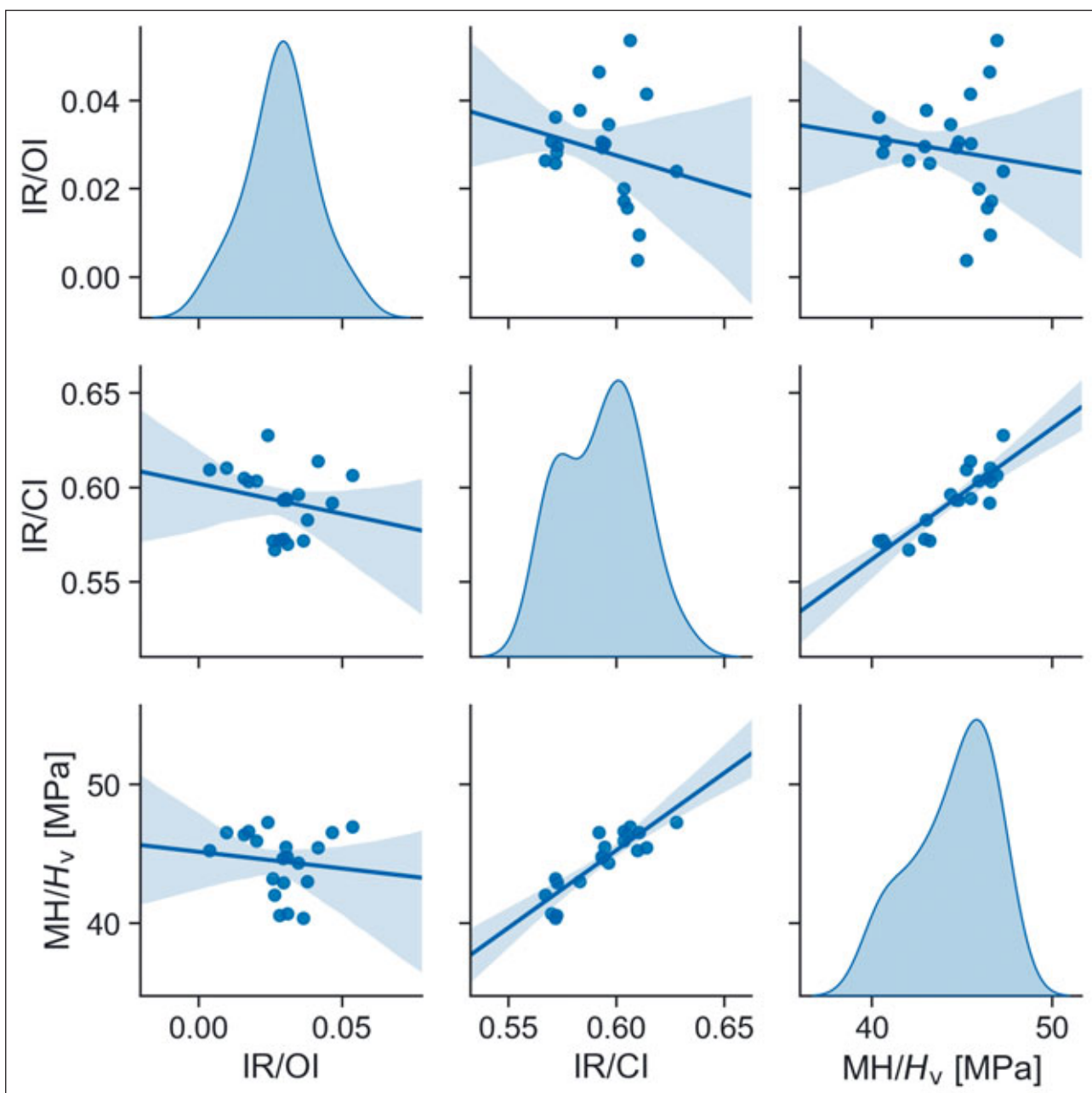
IR mikrospektroskopie: oxidace a změny struktury UHMWPE

IR mikrospektroskopie (výsledky v tabulce 1 a na obr. 1) dokáže popsat klíčové změny molekulární a nadmolekulární struktury UHMWPE v důsledku jeho modifikací jako je ozařování, tepelné úpravy či sterilizace. V následujících odstavcích podrobněji vysvětlíme souvislost mezi změnami struktury a pozorovanými hodnotami klíčových indexů z IR (OI, VI, CI a EI).

Oxidační indexy (OI; obr. 1a) souvisejí s množstvím karbonylových vazeb C=O a jsou obecně uznávány jako míra oxidačního poškození UHMWPE. Na základě dostupné literatury (9) i našich vlastních zkušeností lze konstatovat, že hodnoty $OI \leq 0,1$ lze považovat za nízké, hodnoty $OI \leq 1$ za přijatelné, a hodnoty $OI > 3$ za kritické oxidační poškození. Oxidační index je klíčovou hodnotou v predikci přežití implantátů a jeho zvýšená hodnota daného materiálu může být rizikovým faktorem v otázce životnosti kloubní náhrady. Všechny dodané UHMWPE vzorky vykazovaly velmi nízké oxidační poškození (hod-

noty OI vesměs $< 0,1$). Výsledky tudíž prokazují, že ani opakovaná sterilizace pomocí EtO, ani dlouhá doba skladování po EtO sterilizaci polymeru UHMWPE neškodí. Vše samozřejmě platí pouze při dodržení správných podmínek skladování, jako je dostatečně nízká teplota (do 30 °C) a zamezení přístupu světla. Nízký nárůst OI se rostoucím počtem sterilizací i rostoucí dobou od sterilizace lze přičíst postupné mírné oxidaci při skladování.

Transvinylenové indexy (VI; obr. 1b) souvisejí s množstvím dvojných vazeb uhlíku (C=C). V případě medicínálních typů UHMWPE pro kloubní náhrady vznikají vazby C=C jako vedlejší produkt při radiační modifikaci polymeru, které se používá při síťování nebo sterilizaci. Síťování materiálu je klíčové pro nárůst odolnosti vůči otěru a výrazně tak navyšuje životnost implantátu zejména u náhrady kyčelního kloubu. Měřený index VI je pro daný UHMWPE a dané podmínky experimentu úměrný celkové absorbované dávce záření. Všechny radiačně síťované UHMWPE vzorky (vzorky 09–12 a vzorky 17–20) vykazovaly zvýšenou hodnotu VI indexu. Přitom vzorky 09–12 a 17–19, síťované pomocí stejné radiační dávky 75 kG, měly hodnoty přibližně stejné ($\sim 0,022$), zatímco vzorek 20, síťovaný pomocí radiační dávky 50 kGy, měl hodnotu o něco nižší ($\sim 0,016$). Všechny radiačně nemodifikované vzorky



Obr. 3. Maticový korelační graf (scatterplot matrix graph) shrnující všechny vzájemné korelace mezi oxidačním indexem (IR/OI), indexem krystalinity (IR/CI) a mikrotvrdostí (MH/H_v). Grafy na hlavní diagonále ukazují distribuce jednotlivých veličin. Grafy mimo hlavní diagonálu ukazují korelace mezi všemi páry veličin s experimentálními body (tmavě modrá kolečka), lineárními regresními přímkami (tmavě modré čáry) a 95% intervaly spolehlivosti regresního odhadu (světle modré oblasti).
Fig. 3. Scatterplot matrix graph summarizing all mutual correlations between the oxidation index (IR/OI), the crystallinity index (IR/CI) and microhardness (MH/H_v). The graphs on the main diagonal show the distribution of individual quantities. Graphs outside the main diagonal show correlation between all pairs of quantities with experimental points (dark blue circles), linear regression lines (dark blue lines), and 95% confidence intervals of the regression estimate (light blue areas).

(bez ohledu na to jestli, kolikrát, či před jak dlouhou dobou byly sterilizovány pomocí EtO) vykazovaly téměř nulovou hodnotu VI (jedná se o vzorky 01–08 v tabulce 2; jejich hodnoty VI nepřesahují 0,001). Vyhodnocené výsledky jsou tudíž zcela v souladu s naší zkušeností, předchozími pracemi a výše uvedeným tvrzením, že VI index je úměrný absorbované radiační dávce.

Indexy krystalinity (CI; obr. 1c) jsou odhadem objemového podílu krystalické fáze v UHMWPE. Index CI

velmi dobře koreluje s krystalinitou polymeru, která se zpravidla určuje pomocí diferenční skenovací kalorimetrie (DSC; (13, 18). Obecně platí, že pro daný typ UHMWPE se CI zvyšují po *annealingu* (zahřátí těsně pod teplotu tání, které u dodaných vzorků nebylo použito) a snižují po *remeltingu* (zahřátí těsně nad teplotu tání, které bylo použito u síťovaných vzorků). Všechny radiačně síťované UHMWPE vzorky vykazovaly mírně nižší hodnoty indexu krystalinity, CI. To souhlasí se sku-

tečností, že všechny radiačně modifikované vzorky byly následně tepelně upravené pomocí remeltingu v inertní atmosféře, což vede ke snížení krystalinity.

Indexy vitaminu E (EI) udávají přibližnou koncentraci vitaminu E ve vzorku. Pro nízké koncentrace vitaminu E, které se využívají v UHMWPE pro kloubní náhrady, jsou většinou hodnoty EI velmi nízké. Při vyšší koncentraci vitaminu E by docházelo ke změně struktury polymeru a zhoršení mechanických vlastností. Pokud navíc polymer podrobíme radiačnímu síťování, při kterém se část vitaminu E spotřebuje, bývají hodnoty EI indexu při standardním způsobu měření a vyhodnocení nepatrné až nulové, což naše výsledky potvrdily.

Mikromechanické vlastnosti: mikrotvrдость a její korelace se změnami struktury

Měření mikromechanických vlastností UHMWPE vzorků zde bylo provedeno jako doplňkový experiment, který měl jednak potvrdit správnost a přesnost IR mikrospektroskopie, jedna ověřit souvislost mezi strukturálními změnami (pozorovanými pomocí IR) a reálnými změnami mechanických vlastností (získaných pomocí mikroindentačních měření – MH).

Pro semikrystalické polymery měřené vysoko nad jejich teplotou skelného přechodu (což je případ UHMWPE) je mikrotvrдость přímo úměrná krystalinitě (3,5,13). V našem případě by měla být mikrotvrдость úměrná indexu krystalinity, který je taktéž lineárně úměrný skutečné krystalinitě polymeru (13, 18). V našem případě byly změny krystalinity velmi malé (viz tabulka 1 – změny CI v rozmezí 0.56–0.63), což kladlo na přesnost měření mikromechanických vlastností vysoké nároky. Přesto se očekávanou lineární korelací podařilo prokázat (obr. 2), takže správnost přesnost všech měření lze považovat za velmi dobrou.

DISKUSE

Správnost a spolehlivost měření potvrzuje korelace mezi indexem krystalinity a mikrotvrđostí (obr. 2), která by měla být lineární, jak podle teoretických předpokladů (3, 5, 10), tak i podle experimentálních výsledků z našich předchozích prací zabývajících se semikrystalickými polymery včetně UHMWPE (13, 14, 16). Skutečnost, že dvě zcela nezávislá měření (IR mikroskopie a MH experimenty) poskytly očekávaný lineární nárůst mikrotvrđosti s rostoucí krystalinitou, doložila spolehlivost obou metod – nepřesné výsledky by podobnou závislost neposkytly.

Souvislost mezi změnami struktury a mechanickými vlastnostmi UHMWPE je ukázána na obr. 3. Jedná se o tzv. maticový korelační graf (*scatterplot matrix graph*), který ukazuje korelace mezi větším množstvím sledovaných veličin. V našem případě je hlavní sledovanou strukturální změnou oxidace, charakterizovaná oxidačním indexem (OI). Druhým důležitým parametrem struktury je výše zmíněná krystalinita (neboli podíl krystalické fáze v polymeru), reprezentovaná zde indexem krystalinity (CI). Mechanické vlastnosti jsou v naší studii zastoupeny jedinou veličinou – mikrotvrđostí (H_V), která

je ovšem v případě UHMWPE velmi citlivá a vhodná pro charakterizaci případných změn vlastností materiálu, jak je doloženo v literatuře (3, 5, 6, 12, 13). Graf jednoznačně ukazuje, že v našem případě neexistuje korelace mezi oxidací (IR/OI) a krystalinitou (IR/CI). Tento výsledek se může na první pohled jevit jako překvapivý, protože naše předchozí práce (6, 17) i práce dalších autorů (4, 11) prokázaly jednoznačný vztah mezi oxidačním poškozením a nárůstem krystalinity. Ovšem je třeba si uvědomit, že zmíněné práce se zabývaly polymerem UHMWPE, který byl oxidačně poškozen vlivem různých modifikací, případně v důsledku umělého či *in vivo* stárnutí. V našem příspěvku se zabýváme materiály novými (nikoli explantovanými či uměle stárnutými), s moderními způsoby úpravy a sterilizace, takže jejich oxidační poškození bylo natolik nepatrné (oxidační indexy $< 0,1$), že nemělo šanci jakkoli ovlivnit krystalinitu a následně vlastnosti. Tím se též vysvětluje neexistence korelace mezi oxidačním poškozením (IR/OI) a mikrotvrđostí (MH/H_V). Na druhou stranu graf jednoznačně potvrdil silnou korelaci mezi krystalinitou (IR/CI) a mikrotvrđostí (MH/H_V): body blízko regresní přímky a úzký interval spolehlivosti regresního odhadu. Doplňující statistické výpočty navíc poskytly Pearsonův korelační koeficient blízký jedné ($r = 0,88$) potvrzující silnou pozitivní korelaci a velmi nízkou p -hodnotu ($p < 10^{-6}$) ukazující na extrémně nízkou pravděpodobnost, že bychom takto silnou korelaci dostali jen díky náhodné shodě okolností. Závěrem lze tedy konstatovat, že: (a) oxidační poškození vzorků v důsledku EtO sterilizace bylo natolik nepatrné, že neovlivnilo strukturu ani vlastnosti polymeru a (b) silná korelace mezi krystalinitou a mikrotvrđostí zde nebyla důsledkem oxidačního poškození (jako v mnohých jiných případech popsanych v literatuře), ale výhradně důsledkem odlišného zpracování testovaných materiálů (tj. síťování a tepelných úprav).

ZÁVĚR

Všechny dodané UHMWPE vzorky vykázaly nulové či minimální oxidační poškození. Tím se potvrdilo, že samotná sterilizace pomocí etylenoxidu (EtO), ani vícenásobná sterilizace pomocí EtO, ani delší doba skladování polymeru po sterilizaci EtO, nevedou k výraznému oxidačnímu poškození (za předpokladu, že podmínky skladování jsou správné – tj. nízká teplota nepřesahující 30 °C, tma).

K vyhodnocení oxidačního poškození byla využita IR mikrospektroskopie, ze které byly vyhodnoceny oxidační index (OI), transvinylenový index (VI), index krystalinity (CI) a index vitaminu E (EI). Všechny zmíněné indexy se měnily podle předpokladů: OI byly velmi nízké a mírně narůstaly s dobou skladování, VI vzrostly pro radiačně síťované vzorky úměrně celkové dávce při gama ozáření, CI poklesly pro vzorky tepelně upravené pomocí remeltingu a EI vykazovaly velmi nízké hodnoty kvůli nepatrné koncentraci stabilizátoru (0.1 %) ve vzorcích medicínálního UHMWPE.

Spolehlivost výsledků IR mikrospektroskopie byla navíc potvrzena pomocí nezávislé metody, měření mi-

kromechanických vlastností. V souladu s teoretickými předpoklady byla pozorována lineární korelace mezi spektroskopicky určeným indexem krystalinity (IR/CI) a hodnotou mikrotvrdosti z mikromechanických měření (MH/H_V).

Literatura

1. AOANJRR 2018. Australian Orthopaedic Association National Joint Replacement Registry 2018. Annual report, dostupné z <https://aoanjrr.sahmri.com/documents/10180/576950/Hip%2C%20Knee%20%26%20Shoulder%20Arthroplasty>.
2. Alhassan S, Goswami T. Wear rate model for UHMWPE in total joint application. *Wear*. 2008;265:8–13.
3. Baltá Calleja FJ, Fakirov S. Microhardness of polymers. Cambridge University Press, Cambridge, 2000.
4. Bracco P, Bellare A, Bistolfi A, Affafato S. Ultra-high molecular-weight polyethylene: influence of the chemical, physical and mechanical properties on the wear behavior. A review. *Materials*. 2017;10:791, doi:10.3390/ma10070791
5. Flores A, Ania F, Balta-Calleja FJ. From the glassy state to ordered polymer structures: a microhardness study. *Polymer*. 2009;50:729–746.
6. Fulín P, Pokorný D, Šlouf M, Nevoralová M, Vacková T, Dybal J, Kaspříková N, Landor I. Analýza oxidačního poškození explantovaných komponent náhrady kyčelního kloubu Beznoska/Poldi. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*. 2016;83:155–162.
7. Fulín P, Pokorný D, Šlouf M, Nevoralová M, Vacková T, Dybal J, Sosna A. Effect of sterilisation with formaldehyde, gamma irradiation and ethylene oxide on the properties of polyethylene joint replacement components. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*. 2014;81:33–39.
8. Charnley J, Halley DK. Rate of wear in total hip replacement. *Clin Orthop*. 1975;112: 170–179.
9. Kurtz SM. UHMWPE biomaterials handbook, 3rd ed. Elsevier Inc., New York, 2016.
10. Lednický F, Šlouf M, Kratochvíl J, Baldrian J, Novotná D. Crystalline character and microhardness of gamma-irradiated and thermally treated UHMWPE. *J Macromol Sci Phys B*. 2007;46:521–531.
11. Medel FJ, Rimnac CM, Kurtz SM. On the assessment of oxidative and microstructural changes after in vivo degradation of historical UHMWPE knee components by means of vibrational spectroscopies and nanoindentation. *J Biomed Mater Res A*. 2009;9:530–538.
12. Nevoralová M, Šlouf M, Dybal J, Kredatusová J, Fulín P, Pokorný D. Mikroskopická analýza oxidativní degradace polyethylenových komponent kloubních náhrad. *Chem Listy*. 2015;109:395–400.
13. Šlouf M, Arevalo S, Vlková H, Gajdosová V, Kralík V, Pruitt L. Comparison of macro-, micro- and nanomechanical properties of clinically-relevant UHMWPE formulations. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2021;120:104205. doi: j.jmbbm.2020.104205
14. Šlouf M, Krejčíková S, Hromádková J. Relationship among molecular structure, supermolecular structure and micromechanical properties of semicrystalline polymers. *Chem Listy*. 2017;111:239–245.
15. Šlouf M, Mikesová J, Fencel J, Synková H, Baldrian J, Horák Z. Impact of dose-rate on rheology, structure and wear of irradiated UHMWPE. *J Macromol Sci Phys B*. 2009;48:587–603.
16. Šlouf M, Pavlova E, Krejčíková S, Ostafinska A, Zhigunov A, Krzyzanek V, Sowinski P, Piorkowska E. Relationship between morphology and micromechanical properties of alpha, beta and gamma phases of iPP. *Polym Test*. 2018;67:522–532.
17. Šlouf M, Synková H, Baldrian J, Marek A, Kovarova J, Schmidt P, Dorschner H, Stephan M, Gohs U. Structural changes of UHMWPE after e-beam irradiation and thermal treatment. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008;85:240–251.
18. Šlouf M, Vacková T, Nevoralová M, Pokorný D. Micromechanical properties of one-step and sequentially crosslinked UHMWPEs for total joint replacements. *Polym Test*. 2015;41:191–197.
19. Urdan TC. Statistics in plain English. 4th ed. Taylor & Francis, New York, 2017.
20. VanderPlas J. Python data science handbook. O'Reilly, Boston, 2017.

Korespondující autor:

Doc. MUDr. Petr Fulín, Ph.D.

1. ortopedická klinika 1. LF UK a FN Motol

V Úvalu 84

150 06 Praha 5

E-mail: petrfulin@gmail.com