



Meten van Cobalt en Chroom bij heupprothese patiënten met ICP-MS

Dr. L.C. Jellema¹, M. Ribbink², J. Weemaes² en Dr. J.D.E. van Suijlen¹

¹ Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium

² Klinisch Farmaceutisch & Toxicologisch Laboratorium

Gelre Ziekenhuizen

Postbus 9014

7300 DS Apeldoorn

contact: J.Wieferink@gelre.nl

Inleiding

In het afgelopen jaar is het aanvraagpatroon voor de bepaling van Cobalt en Chroom in bloed sterk toegenomen. Van een enkele bepaling is het aantal gegroeid tot tientallen per maand, zie figuur 1. Naast het aantal bepalingen is ook het aantal gepubliceerde artikelen de afgelopen periode sterk toegenomen. Een belangrijke reden hiervoor is de recente problematiek bij patiënten met metaal-op-metaal (MoM) heupprothesen, wat heeft geleid tot landelijke bekendheid.

Er zijn verschillende typen heupprothesen op de markt, afhankelijk van onder andere het type materiaal waarvan ze gemaakt zijn. Naast de MoM-prothesen zijn er ook metaal-op-plastic en volledig keramische prothesen. De beste prothese is stevig, slijtvast en makkelijk te implanteren. De bovenstaande typen verschillen in deze eigenschappen en elk type heeft daarin zijn voor- en nadelen. Het is echter nog niet duidelijk welke prothese nu daadwerkelijk de beste is. De laatste 10 jaar zijn er veel MoM-prothesen gebruikt bij het vervangen van heupgewrichten, omdat deze stevig zijn en er goede resultaten mee zijn geboekt op de middellange en lange termijn.

Artrose en MoM-prothesen

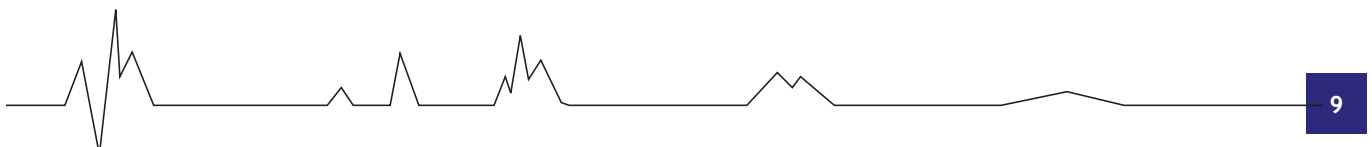
Heupprothesen worden veel gebruikt bij patiënten met artrose. Bij dit ziekteverschijnsel gaat er meer kraakbeen in de gewrichten verloren dan er wordt aangemaakt. Dit kan gepaard gaan met een vermindering van de synoviale vloeistof in de gewrichtsspleet, die nodig is om het geheel soepel te laten bewegen en schokken op te vangen, en ontstekingen in het gewicht. De patiënt zal artrose ervaren als pijn van het betrokken gewricht en ook klagen over stram of stijf gevoel, met name in de ochtend. Figuur 2 geeft een schematisch weergave van gezonde heup en een heup met artrose. Na het stellen van de diagnose artrose kan besloten

worden tot het implanteren van een prothese in de heup. In figuur 3 is een röntgenfoto van een patiënt met artrose aan de rechterheup te zien en een heupgewricht na implantatie van een MoM-prothese.

In 1980 is een van de eerste casussen beschreven, waarbij verhoogde Cobalt- en Chroom-waarden zijn gemeten rondom de MoM-prothese en in de urine van dezelfde patiënt. De verhoogde waarden zijn toentertijd toegeschreven aan verhoogde slijtage van dit type prothese.¹ Met de toename van het aantal geïmplanteerde MoM-prothesen zijn er meer casussen in de literatuur verschenen, met betrekking tot verhoogde slijtage van de MoM-prothesen.^{2,3}

Bij verhoogde slijtage van MoM-prothesen komt er metaal van de prothese vrij in het lichaam. Hierdoor kunnen er zowel lokale als systemische effecten optreden door verhoogde concentraties van deze metalen. Lokaal moet men denken aan ontstekingsreacties van het weefsel rondom de prothese als ook verlagings van de botdichtheid, waardoor het bot zijn stevigheid verliest. Deze ontstekingsreacties zijn vaak beschreven als pseudotumoren omdat ze op de MRI beelden niet goed te beoordelen zijn.^{4,5} Bij systemische klachten veroorzaakt door Chroom zijn vooral de carcinogene en mutagene effecten bekend. Bij Cobalt staan voornamelijk allergische reacties, neurotoxiciteit en cardiomyopathie op de voorgrond. Er is echter weinig bekend over het optreden van deze toxische effecten in relatie tot de concentratie van de beide metalen.^{3,6} Op basis van de casussen die zich recent hebben voor gedaan is er eerst in Engeland een 'Medical Device Alert' rondgestuurd door de autoriteiten, waarna ook de Nederlandse Orthopedische Vereniging (NOV) en "Dutch Hip society" (DHS) een melding hebben uitgedaan naar de specialisten. Zij adviseren het volgende: 'patiënten met pijnklachten na een MoM-heupprothese dienen nauwkeurig te worden onderzocht, zeker als die klachten gepaard gaan aan een steil geïmplanteerde cup, hoge serum Cobalt- en Chroom waarden en weke delen reacties rondom het nieuwe heupgewricht'.⁷ Daarnaast wordt ook geadviseerd om Cobalt- en Chroom-waarden te gebruiken voor de screening op slijtage. Voor Cobalt geldt dat een concentratie minder dan 100 nmol/L acceptabel is en voor Chroom wordt minder dan 70 nmol/L gehanteerd. De vraag blijft echter welke Cobalt en Chroom-waarden in een gezonde populatie worden gevonden en welke rol Cobalt en Chroom spelen in het menselijk lichaam.

Chroom is een cofactor voor de insuline-receptor en speelt



dus een rol in de glucose huishouding van het lichaam. Cobalt is het centrale ion in vitamine B12. Vitamine B12 is essentieel bij de opbouw van DNA en cel synthese. Cobalt en Chroom komen echter voor als sporelementen, met als referentiewaarde < 5 nmol/L en 1,9-7,6 nmol/L respectievelijk.^{6,8}

Experimenteel

Cobalt en Chroom worden binnen de laboratoria van de Gelre ziekenhuizen gemeten met behulp van een Inductivity Coupled Plasma Massaspectrometer, een ICP-MS 7500 van Agilent. Voor het meten wordt het serummonster 1:10 verdund met een ammonium-hydroxide oplossing, zoals beschreven door Case.⁹ Door middel van een peristaltische pomp wordt het monster van de autosampler naar de spraychamber gepompt. Hier wordt de aërosol gevormd met behulp van het carriergas argon, alvorens het monster in het plasma wordt gespoten. Het plasma ontstaat door energie overdracht van een elektrisch veld naar het carriergas. In het plasma worden de elementen in geïoniseerde vorm gebracht, waarna ze in de quadropole van de ICP-MS worden gescheiden op massa/lading verhouding (m/z) en elk type ion gekwantificeerd kan worden middels de detector. Door de MS te laten scannen langs verschillende m/z-verhoudingen kan met een monsternamen meerdere elementen worden gemeten. Voor dit onderzoek worden ⁵⁹Co - en ⁵³Cr -ionen gemeten.

In de methode voor het bepalen van cobalt en chroom wordt gewerkt met een alkalisch milieu en worden de ⁵⁹Co+- en ⁵³Cr+- ionen gemeten. Het is van belang om de juiste isotoop van de metalen te meten in verband met spectrale interferentie. Het carriergas argon, maar ook andere elementen, kunnen namelijk ionen vormen met dezelfde m/z als het te bepalen ion. Tabel 1 geeft voor de beide metaal ionen weer welke mogelijke ionen gevormd kunnen worden die spectrale interferentie kunnen veroorzaken.⁹

Bij het opzetten van de methode zijn meerdere aspecten onderzocht. Naast het bepalen van de limit of detection (LOD, gemiddelde van de blanco meting plus 3 maal de standaard deviatie van de meting) en limit of quantitation (LOQ, de laagste meetbare concentratie met een 10% variatie coëfficiënt) is ook de carry-over onderzocht door afwisselend blanco en hoge concentraties monsters te meten. Voor het bepalen van Cobalt en Chroom wordt dagelijks een ijklijn opgezet, bereid uit een stock-oplossing met bekende concentraties van de metalen (Multi-element calibration standard 2A, Agilent). Als interne standaard wordt Scandium gebruikt. De lineariteit van de methode is onderzocht middels een CLSI EP6-protocol, waarbij de data van de ijklijnen van 5 dagen is geanalyseerd. Tevens zijn er als onderdelen van de validatie en het opzetten van de methode precisie studies met controle-, en patiëntmateriaal en een methode vergelijk van patiënten monsters

uitgevoerd. Het patiënten vergelijk heeft plaatsgevonden met een Atomaire absorptie spectrometer grafiet oven bij een extern laboratorium (AAS grafiet oven).

Resultaten en discussie

Validatie ICP-MS Cobalt/Chroom

De LOD en LOQ voor zowel Chroom als Cobalt gemeten met de ICP-MS zijn vastgesteld tijdens de validatie en weergegeven in tabel 2. Figuur 4 geeft de bijbehorende plot van het vaststellen van de LOQ bij een 10% CV weer. Bij het opzetten van de methode zijn geen problemen met carry-over geconstateerd en de methode laat goede lineariteit zien. Tabel 3 geeft de resultaten van de juistheid en precisie experimenten waarin 20 maal een monster 'intra-dag' bepaald is. Er is te zien dat ook bij de lage concentraties goede CV's worden gevonden die binnen de gestelde eis van 10% vallen. Bij 'inter-dag' experimenten worden vergelijkbare CV's gevonden (resultaten niet getoond).

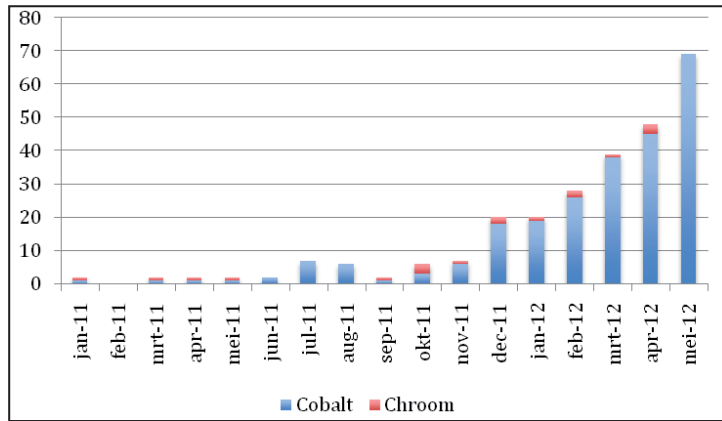
ICP-MS versus AAS

In het methode vergelijk voor Cobalt tussen de AAS-grafiet oven en de ICP-MS wordt een goede correlatie gevonden ($R^2 = 0,994$). In het klinisch belangrijke gebied (Cobalt < 70 nmol/L en Chroom <100 nmol/L) zijn geen significante verschillen tussen beide methodes gevonden middels Passing-Bablok regressie, zoals weergegeven in Figuur 5. De hier opgezette methode is geschikt voor het screening van patiënten op verhoogde Cobalt- en Chroom-waarden. Tevens is de methode geschikt voor het monitoren van patiënten na revisie van de prothese. Het is namelijk bekend dat na revisie de Cobalt en Chroom concentraties in serum normaliseren. In de literatuur is beschreven dat Cobalt sneller normaliseert dan Chroom, de verklaring hiervoor is echter nog niet volledig duidelijk.³

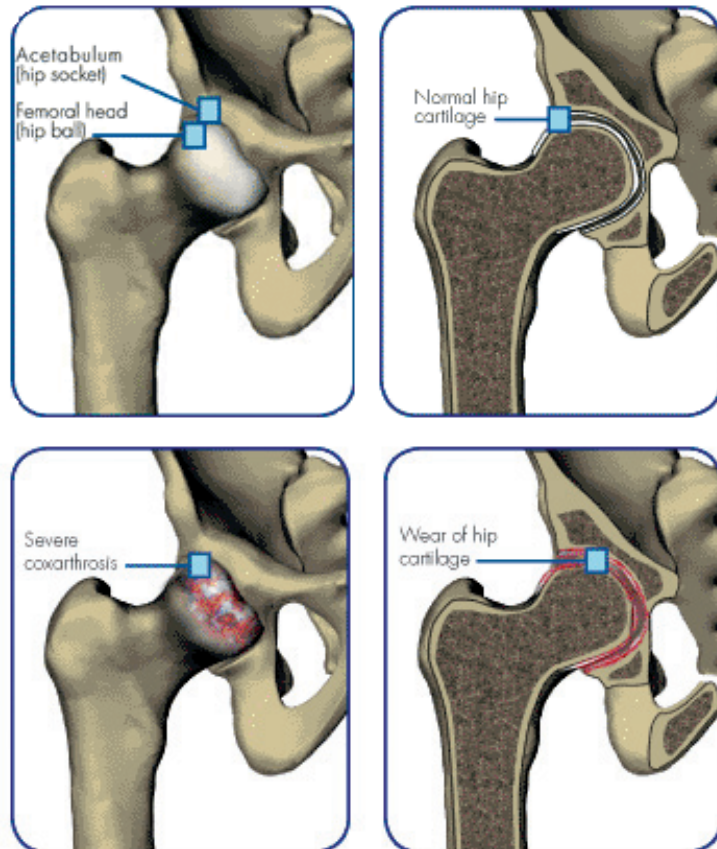
Conclusie

Vanuit de kliniek zullen patiënten met een MoM-prothese en lokale klachten worden ingestuurd naar het laboratorium voor bloedafname en het meten van Cobalt en/of Chroom. In verband met de verhoogde slijtage van MoM-prothesen zijn vanuit de NOV en DHS grenzen gesteld van <100 nmol/L voor Cobalt en <70 nmol/L voor Chroom, die als acceptabel worden beschouwd. Er is binnen de laboratoria van de Gelre ziekenhuizen een methode opgezet voor het analyseren van Cobalt en Chroom met behulp van ICP-MS die gebruikt kan worden voor het analyseren van monsters van deze patiënten.

Figuren:



▲ **Figuur 1.** Aantal aanvragen van Cobalt en Chroom binnen Gelre Ziekenhuizen vanaf januari 2011 tot en met mei 2012.



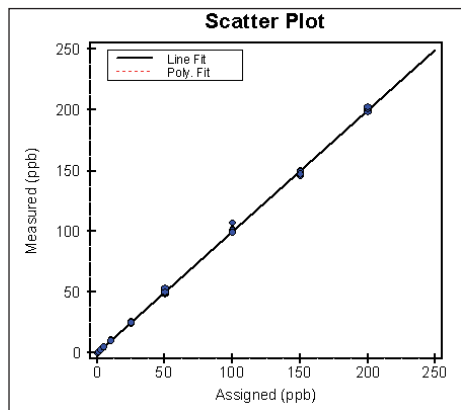
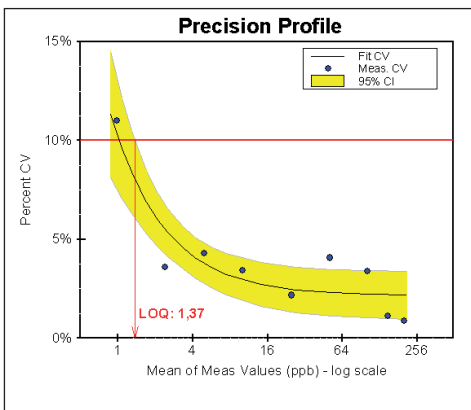
◀ **Figuur 2.** Boven: Schematische weergave van een normaal heupgewricht. Onder: Weergave van een heupgewricht met artrose.



▲ **Figuur 3** Röntgenfoto van een heup, waarbij het linker gewricht gezond is en het rechter gewrichtslijtage laat zien als gevolg van artrose. Opvallend is de verminderde ruimte tussen kop en kom van de heup aan de rechterkant.

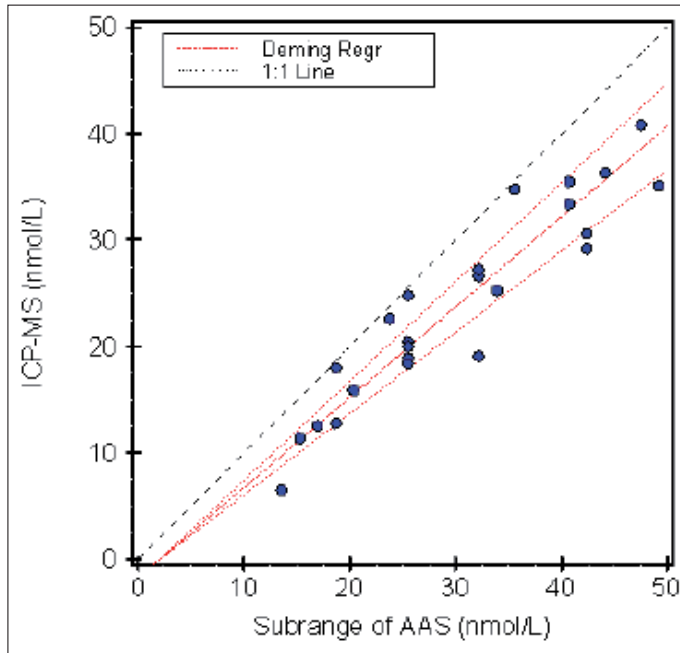


▲ Röntgenfoto van een MoM-prothese na implantatie.



◀ **Figuur 4.** Links: precisie profiel voor het vaststellen van de LOQ bij een 10% CV.

Rechts: plot voor het bepalen van de lineariteit van de Cobalt bepaling.



Isotoop	m/z	Interferentie ion
⁵⁰ Cr	50	³⁶ Ar ¹⁴ N*, ³⁶ S ¹⁴ N*
⁵² Cr	52	⁴⁰ Ar ¹² C*, ³⁶ Ar ¹⁶ O*, ³⁶ S ¹⁶ O#, ³⁵ Cl ¹⁶ OH^
⁵³ Cr	53	³⁷ Cl ¹⁶ O^
⁵⁴ Cr	54	⁴⁰ Ar ¹⁴ N*, ³⁷ Cl ¹⁶ OH^
⁵⁹ Co	59	⁴³ Ca ¹⁶ O, ⁴⁰ Ar ¹⁹ F

▲ Tabel 1.
Ionen die spectrale interferentie kunnen veroorzaken bij de meting van Cobalt en Chroom. Ionen kunnen ontstaan bij gebruik van * HNO₃, # H₂SO₄ en ^ HClO₄

◀ Figuur 5. Methode vergelijk van AAS-grafiet oven met ICP-MS voor Cobalt.

	Cobalt (ppb)	Chroom (ppb)
LOD	0,1	0,2
LOQ	1,4	1,7

◀ Tabel 2.
Vastgestelde waarden voor de LOD en LOQ van Cobalt en Chroom op de ICP-MS.

Analiet	Sample	N	Gemiddelde (ppb)	SD	Intra-dag CV (%)
Cobalt	QC1	20	11.9	0.37	3.1
Cobalt	QC2	20	16.6	0.31	1.8
Cobalt	QC3	20	32.1	0.85	2.7
Cobalt	Patiënt 1	20	6.3	0.13	2.1
Cobalt	Patiënt 2	20	0.9	0.02	2.5
Chroom	QC1	20	2.1	0.11	5.3
Chroom	QC2	20	19.3	0.96	5.0
Chroom	QC3	20	35.8	1.01	2.8
Chroom	Patiënt 1	20	5.8	0.20	3.4
Chroom	Patiënt 2	20	1.3	0.09	6.9

◀ Tabel 3.
Juistheid en precisie waarden voor Cobalt en Chroom met controle materiaal van Biorad en patiënten monsters.

SD = standaard deviatie; CV = variatie coëfficiënt; ppb = parts per billion; QC = Quality Control; N = aantal monsters

Literatuur

1. Dobbs HS, Minski MJ, *Biomaterials*, 1980, 1, p193-198.
2. Bosker BH, EttemaHb, Verheyen CPM, NTvG, 2011, 155, A3394
3. Sampson B, Hart A, *Ann. Clin. Biochem.*, 2012, 49, 118-131.
4. Pandit H, Glyn-Jones S, McLardy-Smith P, *J. Bone Joint Surg Br.*, 2008, 90-B, 847-851
5. Jacobs JJ, Hallab NJ, Utban RM, Wimmer MA, *J Bone Joint Surg Am.*, 2006, 88-A (suppl 2), 99-102.
6. Tietz, *Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*, 4th Ed. 2006
7. Van Mourik JBA en Bom LPA, *DHS en NOV augustus 2010*.
8. Vincent JB, *J. Nutr.*, 2000, 130, 715-718.
9. Case CP, Ellis L, Turner JC, Fairman B, *Clin. Chem.*, 2001, 47, 275-280.

