

文章编号:1004-7220(2010)06-0456-04

β -TCP/ α -CSH 复合植骨材料 固化性能与力学强度

毛克亚¹, 李江涛², 杨云², 侯喜军¹, 梁茂华¹,
王继芳¹, 杜明奎¹, 王征¹, 温宁¹, 王岩¹

(1. 解放军总医院 骨科, 北京 100853; 2. 中国科学院 理化技术研究所, 北京 100190)

摘要: 目的 检测 β -磷酸三钙(β -TCP)/ α -半水硫酸钙(α -CSH)复合人工骨的固化性能与力学强度。方法 将 β -TCP/ α -CSH 复合人工骨与蒸馏水按 1 g : 0.1 mL、1 g : 0.2 mL、1 g : 0.3 mL、1 g : 0.4 mL、1 g : 0.5 mL 的比例混合, 测试其初凝时间、终凝时间、压缩强度, 并进行 X 线衍射和扫描电镜观察。结果 复合人工骨的固化时间均随着固化液比例的增加, 初凝时间和终凝时间逐渐延长, 固液比为 1 g : 0.2 mL 时初凝时间为(4.6 ± 1.3) min, 终凝时间为(13.1 ± 2.9) min。复合人工骨的平均抗压强度固化 1 d 时达到 7.86 MPa, 较近单相 β -TCP 组升高约 1 倍, XRD 检测固化后没有其他物质产生, 只是 α -CSH 在固化过程中转化为二水硫酸钙(CSD), 扫描电镜可见固化后粗大 CSD 颗粒形成短柱状结构覆盖在多孔状 β -TCP 表面。结论 通过调整 β -TCP/ α -CSH 的固液比可以调整其固化时间和压缩强度。

关键词: β -磷酸三钙; α -半水硫酸钙; 复合植骨材料; 固化; 力学强度

中图分类号: R3 文献标志码: A

Study on the setting property and compressive strength of β -TCP/ α -CSH combined bone graft

MAO Ke-ya¹, LI Jiang-tao², YANG Yun², HOU Xi-jun¹, LIANG Mao-hua¹, WANG Ji-fang¹, DU Ming-kui¹, WANG Zheng¹, WEN Ning¹, WANG Yan¹ (1. Department of Orthopedics, General Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100853, China; 2. Technical Institute of Physics and Chemistry of Chinese Academy of Science, Beijing 100091, China)

Abstract: Objective To investigate the setting property and compressive strength of β -TCP (β -tricalcium phosphate)/ α -CSH (α -calcium sulphate hemihydrate) combined bone graft. **Method** β -TCP/ α -CSH combined bone graft and distilled water were mixed with different ratio: 1 g : 0.1 mL, 1 g : 0.2 mL, 1 g : 0.3 mL, 1 g : 0.4 mL, 1 g : 0.5 mL, respectively. The initial setting time (T_i), final setting time (T_f), compressive strength were recorded, and the X-ray diffraction (XRD) and the scanning electron microscope (SEM) were examined. **Results** The initial and final setting time of combined bone graft increased along with the increase of solid/liquid ratio. The T_i and T_f were (4.6 ± 1.3) min and (13.1 ± 2.9) min respectively when the solid/liquid ratio was 1 g : 0.2 mL. The average compressive strength was 7.86 MPa in one day after setting, which was about two times higher than that of β -TCP alone. The XRD results showed that no other materials were produced except that α -CSH was transformed to CSD in the setting process. The SEM results indicated that thick CSD granules were adhered to the porous surfaces of β -TCP granules after setting. **Conclusions** The setting time and compressive strength of β -TCP/ α -CSH combined bone graft could be adjusted by the different solid/liquid ratio.

Key words: β -TCP; α -CSH; Combined bone grafts; Setting; Compressive strength

收稿日期:2010-08-10; 修回日期:2010-09-09

基金资助:国家自然科学基金资助项目(50772132), 全军“十一五”科研基金(2005jd0003), 国家 863 计划资助项目(2009AA02Z405)。

作者简介:毛克亚(1970-), 男, 博士研究生, 研究方向:脊柱外科和生物材料研究。

通讯作者:毛克亚, 副主任医师, Tel:(010)66938302, E-mail:maokeya@sina.com。

具有自固化性能的植骨材料可以修复任意形状的骨缺损,在临床上应用广泛,其中固化性能和力学强度是影响其临床应用的重要性能^[1-3]。松质骨经二次煅烧制备的近单相 β -磷酸三钙(β -TCP)颗粒虽然有效地保留松质骨的天然孔隙结构,但缺乏力学强度和自固化性能^[4]。 α -半水硫酸钙(α -CSH)具有自固化性能和较高力学强度,但在体内降解速度过快并且缺乏孔隙结构^[5]。本研究将两者复合在一起制备 β -TCP/ α -CSH 复合植骨材料,发挥各自优点并相互弥补缺点,检测 β -TCP/ α -CSH 人工骨的固化性能和力学强度。

1 材料和方法

1.1 实验材料和仪器

α -CSH 粉末:采用高温高压法制备 α -CSH,将 20 mL 蒸馏水与 200 g 二水硫酸钙充分混和,搅拌均匀后置于蒸汽压力为 0.13 MPa 的密闭 GSHA-2 型高压反应釜中,升温速度 5 °C/min,加热至 123 °C,保持压力恒温加热 7 h,然后取出所制备材料放置在 120 °C 的电热通风干燥箱中干燥 4 h,然后自然冷却至室温,放入玻璃研钵中充分研磨后过 180 目筛备用。

近单相 β -TCP:参照文献[5]方法,采用内径为 8 mm 的环钻钻取健康牛股骨头 8 mm × 12 mm 圆柱形松质骨,脱细胞、脱脂处理后在高温下经二次煅烧后,中间采用 1 mol/L 的 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 溶液处理 24 h,从而制备近单相 β -TCP。将所制得材料分成两部分,一部分煅烧骨保持圆柱状形态直接用于生物力学检测,另外一部分手工粉碎成颗粒状,过 24 目($d = 0.85$ mm)和 10 目($d = 2$ mm)筛,筛选直径为 0.85 ~ 2 mm 的近单相 β -TCP 颗粒用于制备 β -TCP/ α -CSH 复合人工骨。

β -TCP/ α -CSH 复合人工骨(CO):分析天平精确称量相同质量的近单相 β -TCP 颗粒和 α -CSH 粉末,将 α -CSH 粉末按照固液比为 1 g : 2 mL 的比例放入无水乙醇中充分搅拌,将近单相 β -TCP 颗粒倒入 α -CSH-无水乙醇混悬液中再次充分搅拌 30 min,使两种成分充分混合, α -CSH 晶体颗粒黏附在磷酸三钙颗粒表面和孔隙中。将上述混悬液放入 37 °C 电热通风干燥箱中,使无水乙醇自然挥发至恒重,得到直径为 0.85 ~ 2 mm 的颗粒状 β -TCP/ α -CSH 复合人工骨颗粒。

1.2 实验仪器

生物力学实验机(MTS 858 Mini Bionix II, 美国);扫描电镜(日立公司 S-3500N 型,日本);X 线衍射仪(D/max 2500V PC,意大利)。

1.3 实验方法

1.3.1 固化时间测试

复合人工骨颗粒与蒸馏水分别按照 1 g : 0.1 mL、1 g : 0.2 mL、1 g : 0.3 mL、1 g : 0.4 mL、1 g : 0.5 mL 的固液比例混合,参照 ISO 3107 磷酸锌水门汀的测试方法测试其固化时间,采用 400 g 锥形维卡测试针(Vicat Needle),针尖直径为 1 mm,初凝时间(initial setting time, T_i)为测试针不能穿透 2 mm 厚的标本时间,终凝时间(final setting time, T_f)为测试针不能在标本表面形成明显压痕时间。每组检测 6 个标本,37 °C、100%湿度环境中进行。

α -CSH 粉末与蒸馏水同样按照 1 g : 0.1 mL、1 g : 0.2 mL、1 g : 0.3 mL、1 g : 0.4 mL、1 g : 0.5 mL 固液比混合,采用相同方法测试其固化时间。

1.3.2 压缩强度测试

参照 ISO 3107 磷酸锌水门汀的测试方法测试其压缩强度,将复合人工骨颗粒与蒸馏水按照上述实验测得合适固液比例混合,1 min 后填入不锈钢模具中(8 mm × 12 mm),上下覆盖不锈钢片后使用“C”型夹固定,在 37 °C、100%湿度中保养 0.5 h,再于 37 °C 烤箱中干燥至恒重,两端磨平,分别于制样后 1、3、7 d 测试压缩强度,在 MTS858 Mini Bionix II 生物力学实验机上轴向加压,每个时间点测试 5 个试件,加载速度 0.5 mm/min。

α -CSH 与蒸馏水按照同样固液比例混合,同样方法制作试件并测试压缩强度。将上述实验制备的圆柱形近单相 β -TCP 试件进行压缩强度测试。

1.3.3 XRD 分析

将复合人工骨、 α -CSH 和近单相 β -TCP 颗粒试件进行力学强度测试后的材料粉碎成粉末,然后进行 XRD 分析,并与材料固化前的 XRD 结果对比,分析固化前后成分的差异。

1.3.4 扫描电镜观察

部分压碎的试件采用真空干燥后喷金,采用扫描电镜观察材料的断裂面。

1.3.5 统计学分析

实验数据采用 SPSS 软件包(11.0 版)进行处理,采用单因素方差分析统计。

2 结果

2.1 固化时间

复合人工骨和 α -CSH 的固化时间均随着固化液量的增加而增加,初凝时间和终凝时间均逐渐延长(见图 1~2),复合人工骨在固液比为 1 g : 0.2 mL 时初凝时间为(4.6 \pm 1.3) min,终凝时间为(13.1 \pm 2.9) min。而 α -CSH 在固液比为 1 g : 0.3 mL 时初凝时间为(4.4 \pm 1.1) min,终凝时间为(11.5 \pm 3.4) min。

2.2 固化强度

复合人工骨和 α -CSH 在养护 1、3、7 d 的压缩强度如表 1 所示,在 1 d 时复合人工骨的平均抗压强度即可达到 7.86 MPa,较近单相 β -TCP 组升高约 1 倍,而 α -CSH 的强度达到 14.22 MPa,7 d 后两者的

强度均有所提高。

表 1 3 种实验材料养护后的固化强度 (MPa, $\bar{x} \pm sd, N=6$)

Tab.1 The compressive strength of three samples in different setting time

	1d	3d	7d
CO/MPa	7.86 \pm 1.11	8.56 \pm 1.52	8.95 \pm 1.43
CSH/MPa	14.22 \pm 1.02	17.30 \pm 0.96	18.12 \pm 1.13
TCP/MPa	4.47 \pm 0.63	4.47 \pm 0.63	4.47 \pm 0.63

注:各时间点各组间固化强度比较均为 $P < 0.01$

2.3 XRD 分析结果

XRD 图谱与 JCPDS 标准卡片对照,复合人工骨固化后的衍射图谱与固化前的图谱相对比(见图 3),固化后的图谱出现二水硫酸钙(CSD)衍射峰值,而 α -CSH 衍射峰基本消失,说明固化后 α -CSH 转化为 CSD,而固化后因 β -TCP 含量较单纯材料相比 TCP 衍射峰值有所降低,没有新的衍射峰出现,说明固化后没有其他物质产生,只是 α -CSH 转化为 CSD。

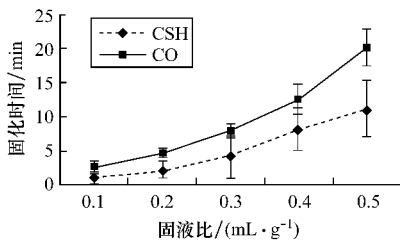


图 1 复合人工骨和 α -CSH 不同固液比的初凝时间变化
Fig.1 The initial setting time of combined bone graft and α -CSH with different solid/liquid ratio

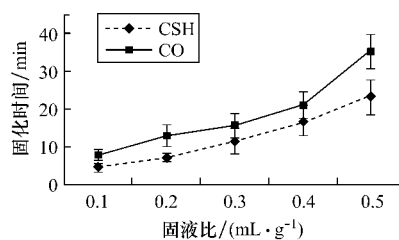


图 2 复合人工骨和 α -CSH 不同固液比的终凝时间变化
Fig.2 The final setting time of combined bone graft and α -CSH with different solid/liquid ratio

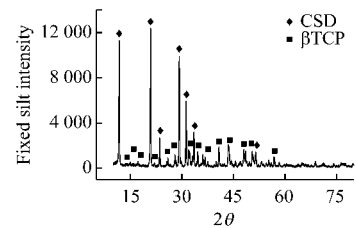


图 3 复合人工骨固化后 XRD 图谱
Fig.3 The XRD of combined bone graft after setting

2.4 扫描电镜观察结果

复合人工骨固化后扫描电镜(见图 4)检查结果可见固化后粗大 CSD 颗粒形成短柱状结构覆盖在多孔状近单相 β -TCP 颗粒表面, β -TCP 原有的多孔状结构已经消失,晶体之间互相黏附,固化物表面可见散在的微小孔隙存在。

3 讨论

3.1 自固化特性及固化时间的要求

具有自固化特性的骨修复材料能够修复任意形状的骨缺损,并且固化后具有一定的力学强度,快速恢复骨骼的连续性和力学强度,是植骨材料的一个重要特点^[1,6-7]。牛松质骨经二次煅烧后可以制

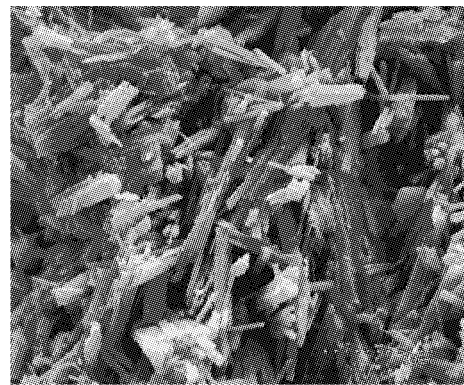


图 4 SEM 显示复合人工骨固化后近单相 β -TCP 颗粒表面被短柱状 CSD 晶体

Fig.4 Short columnar CSD crystal adhesion on the surface of β -TCP granule showed by SEM results

备近单相 β -TCP 颗粒,虽然保留松质骨天然的孔隙结构,但由于本身不具备自固化特性,力学强度较差,限制其临床应用^[4-5]。 α -CSH 本身具有自固化特性和一定力学强度,但在体内降解速度过快,同样限制其临床应用。本研究利用单相 β -TCP 颗粒的天然多孔结构和合理的降解速度,将其与 α -CSH 复合,赋予复合材料自固化的特点,并改善其力学强度,从而使其能够修复任意形状的骨缺损,提高其临床应用的可行性和修复效果。

合理的固化时间是自固化骨修复材料在使用过程中一个重要的因素,根据临床使用的操作特点分为 T_1 和 T_F 两个阶段。 T_1 即水泥从开始混合到不破坏其结构就无法将其塑形的时间, T_F 为水泥从混合到已经固化不再发生变形的时间, T_C (cohesion time) 为黏合时间,即水泥从开始混合到与液体或体液接触不发生稀散之间的时间。Khairoun 等^[7] 认为固化时间应该复合以下几个条件:

$$3 \text{ min} \leq T_1 < 8 \text{ min}$$

$$T_1 - T_C \geq 1 \text{ min}$$

$$T_F \leq 15 \text{ min}$$

其中固化时间的变化与固化过程中固液比有关,当固化液增加时,固化时间随之延长。从本研究结果可以看出,固液比为 1 g : 0.2 mL 时复合人工骨的 T_1 为 (4.6 ± 1.3) min, T_F 为 (13.1 ± 2.9) min, 其固化时间可以初步满足临床使用该材料修复骨缺损的操作要求。

3.2 固化强度的要求

植骨材料的力学强度是评价其临床应用的重要指标之一^[8]。本实验经两步煅烧制备的近单相 β -TCP 颗粒孔隙率较高,可保留天然松质骨的孔隙结构,但其力学强度明显降低,尤其在湿性环境下断裂韧性很低,为一种典型的脆性材料,不能用于负重部位骨缺损的修复,使其临床应用受到限制,因而采用适当的方法加强其力学强度尤为必要^[9]。

α -CSH 又称高强石膏,其固化后压缩强度可达到 30 MPa 以上,明显高于松质骨的强度^[10]。本研究采用 α -CSH 作为粘结剂复合到脆性的 β -TCP 颗粒中,使 α -CSH 粒分散在 β -TCP 颗粒的孔隙内,利用两种材料的优点并相互弥补缺点,制备复合人工骨,在与蒸馏水混合后 α -CSH 与水发生水化反应,吸收 $3/2$ 个水分子形成 CSD,即 $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O} +$

$3/2\text{H}_2\text{O} = \text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CSD 逐渐固化形成固态,在固化过程中 CSD 作为一种黏结剂将 β -TCP 颗粒粘结在一起, β -TCP 颗粒通过二水硫酸钙连接在一起,连接过程中既不发生反应也无化学结合。从而保证复合骨修复材料在固化过程中无新的物质产生,在本实验中复合材料固化后的 XRD 结果获得证实。

复合植骨材料的降解过程中可以根据两种材料降解速度的差异,利用 α -CSH 降解速度较快的特点,能够在降解过程中有效的恢复 β -TCP 的多孔状结构。Yang 等^[11] 在实验中采用与本实验类似的方法使用 HA 与无水硫酸钙 (CSA) 混合并在 1000℃ 煅烧形成复合陶瓷材料,利用 CSA 在水中逐渐形成 CSD 并逐渐降解的过程,形成多孔材料,既增加多孔材料的力学强度又加快其降解速度。而 Prokop 等^[12] 根据复合材料组成成分比例的不同可以调节其固化强度,使用 PDLA 与 β -TCP 复合物制备形成内固定针,在动物实验中证实,当 β -TCP 比例为 30% 时,固定针强度偏低,极易断裂(4 枚中 3 枚发生断裂),而将 β -TCP 比例降为 10% 时力学强度明显增强,所有固定针中无一例发生断裂。本研究同样利用 α -CSH 和 β -TCP 两种材料降解速度的差异来调节其降解速度,但是其固化性能和降解速度是否能够符合临床需要尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] Mao KY, Yang Y, Li JT, et al. Investigation of the histology and interfacial bonding between carbonated hydroxyapatite cement and bone [J]. Biomed Mater, 2009, 4(4): 045003.
- [2] 毛克亚,郝立波,唐佩服,等. 碳酸化羟基磷灰石-骨界面的生物力学和组织学研究[J]. 医用生物力学, 2004, 19(4): 205-208.
- [3] Habibovic P, Kruyt MC, Juhl MV, et al. Comparative in vivo study of six hydroxyapatite-based bone graft substitutes [J]. J Orthop Res, 2008, 26(10): 1363-1370.
- [4] 王征,毛克亚,侯喜君,等. 多孔 β -磷酸三钙修复骨缺损的实验研究[J]. 解放军医学杂志, 2008, 9(33): 1136-1138.
- [5] 毛克亚,王岩,侯喜军,等. β -磷酸三钙/ α -半水硫酸钙复合人工骨修复骨缺损的影像学评价[J]. 中华创伤骨科杂志, 2007, 8(9): 714-716.

(下转第 478 页)