

纯镁超声微弧氧化生物涂层植入体内 4 周的降解行为^{*}

苗 波^a, 吕 岩^a, 刘 苗^a, 李慕勤^b, 曲立杰^b

(佳木斯大学 a. 附属第二医院 b. 黑龙江省高校生物医学材料重点实验室, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘 要: 研究纯镁及其超声微弧氧化生物涂层种植体植入动物股骨干内的短期降解过程。利用电化学工作站测定试样在模拟体液中极化曲线。术后 4 周, 取兔股骨干的组织进行扫描电镜观察(SEM)及锥形束检测(CBCT)观察种植体降解状况。结果表明, 纯镁与超声微弧氧化生物涂层都发生了降解, 在骨组织表面及镁基体的表面几乎同时发生反应, 在金属-骨界面形成紧密相邻的降解层、新生骨层, 并可见少量的不连续的纤维结缔组织, 超声微弧氧化镁生物涂层的腐蚀降解速率及对周围骨组织的刺激明显小于纯镁基体。纯镁基体及超声微弧氧化涂层试样周围的骨组织变化符合正常骨组织的愈合过程, 超声微弧氧化生物涂层显示出更好的生物相容性及降解性。

关键词: 微弧氧化生物涂层; 超声; 纯镁; 降解性; 骨生长

中图分类号: TG174.45; R318.08 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-9289(2013)03-0045-06

Degradation Behavior of Ultrasound Micro-arc Oxidation Coating on Pure Magnesium After Implanted Four Weeks

MIAO Bo^a, LV Yan^a, LIU Miao^a, LI Mu-qin^b, QU Li-Jie^b

(a. The Second Affiliated Hospital, b. Key Laboratory of Biomedical Materials of Heilongjiang Province Colleges, Jiamusi University, Jiamusi 154007, Heilongjiang)

Abstract: The short-term degradation process of pure magnesium and ultrasonic micro-arc oxidation biocoating implants in the femoral of animals was studied. Polarization curves in SBF were tested by the electrochemical workstation. The degradation of implants in rabbit femoral tissue was observed by SEM and the tapered beam of cone beam CT (CBCT) after four weeks. The results show that both pure magnesium and ultrasound micro-arc oxidation biocoating degraded. The bone surface and the magnesium substrate reacted at the same time. Compact metal, degradation and new bone layers on interface layer of metal and bone were formed. Small amounts of discontinuous fibrous connective tissue were observed. The degradation rate and stimulation of bone tissue to the surrounding of ultrasonic micro-arc magnesium was lower than that of pure magnesium substrate. The bone tissues changes of pure magnesium and ultrasonic micro-arc oxidation magnesium implants agreed with normal bone tissue healing process. The ultrasonic micro-arc oxidation biocoating showed better biocompatibility and degradation.

Key words: micro-arc oxidation biocoating; ultrasound; pure magnesium; degradation; bone growth

0 引言

临床上用于骨移植手术和颌面部骨折复位的固定材料主要为钛合金、不锈钢材料及可吸收材料等。但是钛合金、不锈钢材料的力学性能与骨质存在较大差异,易产生应力屏蔽效应,使骨的生长发育得不到良好的刺激和强化,延迟骨愈合的时间,甚至会发生“二次骨折”^[1]。另外材料释放的一些离子使患者手术后不适、异物排斥反应明显等,往往都需要二次取出^[2],给患者带来更多的痛苦。而目前临床上应用的可吸收材料,如聚乳酸、聚乙醇酸等高分子材料也存在不足:机械强度不足、引起局部炎症反应等^[3]。镁及镁合金的密度与人体骨密度相似,弹性模量也接近天然骨组织被越来越多的学者关注^[4]。大量文献报道,局部的富镁环境具有刺激骨生成^[5],提高成骨细胞粘附率^[6],抑制破骨细胞活性^[7],调节骨缘性细胞信号传导的作用^[8]。因此可推测,可降解镁合金材料由于降解所产生的局部镁浓度,能够促进骨-材料界面的结合,不仅有利于骨固定,也可促进骨愈合,这些特点使可降解镁合金比其他骨科可降解材料更具优势。Erbel^[9]等在2007年发表了德国 Biotronik 公司开发的可吸收镁支架在临床获得成功应用,证明了可降解镁合金临床应用的可行性。Janning 等^[7]将镁合金降解的主要产物氢氧化镁制成 $\Phi 3$ mm 的圆销植入到动物体内,结果显示镁合金的降解产物可以刺激成骨。

对镁合金表面进行处理提高抗腐蚀性,降低其降解速率已成为医用镁合金研究热点。微弧氧化的方法是在有色金属表面生长陶瓷层的技术,利用微区弧光放电的瞬间高温使金属表面氧化为金属氧化物陶瓷层,从而使金属的腐蚀性、耐磨性增强。经微弧氧化的镁生物涂层,提高镁及镁合金的耐腐蚀、耐磨性。文中采用超声微弧氧化技术对镁基试样进行表面生物改性,进一步研究镁基生物涂层的植入动物体内短期降解情况。

1 试验

1.1 材料与试剂

试验材料为挤压态的纯镁(纯度为 99.9%),试样规格为长 7 mm, $\Phi 2.5$ mm。制备镁基体超声微弧氧化涂层是将钙磷镀液放入超声波容器中,超声功率 60 W,频率 40 kHz,脉冲微弧氧化电压 350 V,脉冲频率为 550 Hz,占空比为 30%,

阴阳极间距离为 35 mm,氧化时间为 5 min。利用 CHI660C 电位仪测定镁合金在 37 °C 模拟体液中的腐蚀平衡电位和腐蚀电流,其电位扫描速率为 0.01 mV/s,扫描范围为 -2.5~1 V。

植入试样在丙酮、乙醇、蒸馏水超声清洗后紫外线照射消毒,备用。新西兰大白兔 8 只,雌雄不限,体重约 2.2~2.6 kg,随机分成两组。

1.2 手术过程

在兔耳缘静脉进行消毒,乌拉坦(20%)20 mL 头皮针行耳缘静脉给药,待 5 min 后,兔后腿外侧股骨干位置备皮,将兔固定于手术台上,术区消毒(碘伏反复消毒)铺孔巾,局部注射 10% 的利多卡因注射液 3 mL。伊红美蓝标记。11 号手术刀切开皮肤层,纹式钳钝性分离筋膜层,找到两条肌束之间的筋膜分层,见股骨干,剥离粘骨膜层暴露股骨干,0.9% 生理盐水冲洗,用 SNK 牙科微动低速钻在股骨干处钻孔($\Phi 2.0$ mm),0.9% 生理盐水冲洗降温,试钉,反复扩孔直到钉完全嵌塞到股骨干内,每只兔单侧植入试样,在兔股骨干内植入超声微弧氧化的镁基生物涂层材料为试验组,纯镁基体为对照组。碘伏反复消毒术区,0.9% 生理盐水反复冲洗,缝合粘骨膜层、筋膜层及皮肤层,对皮后碘伏消毒,清理术区,送兔回笼观察约 1~1.5 h 后清醒。

1.3 术后取材处理

分笼饲养,自由取食,4 周后,取出实验动物的股骨干,4% 戊二醛固定液固定过夜,将组织先行全数字化口腔 CT 扫描,然后经过脱水处理后,再进行扫描电镜观察。

2 结果与讨论

2.1 涂层形貌及相分析

通过超声辅助微弧氧化技术制备的镁基生物涂层 XRD 相分析结果见图 1。主要由 Mg 及方镁石型 MgO (Periclase) 相组成,图谱中出现了 Mg 衍射峰,是因为涂层较薄,且涂层存在微孔,X 射线可穿透基体,使基体也参与衍射。生成 MgO 是因为微弧氧化时发生微区弧光放电并释放出巨大的能量,使镁合金中的 Mg 原子在瞬间的高温下发生微区熔融,与吸附在镁表面的氧原子迅速结合,生成 MgO,在电解液的“冷淬”作用结晶,MgO 衍射峰异常尖锐,表明结晶状态良好。

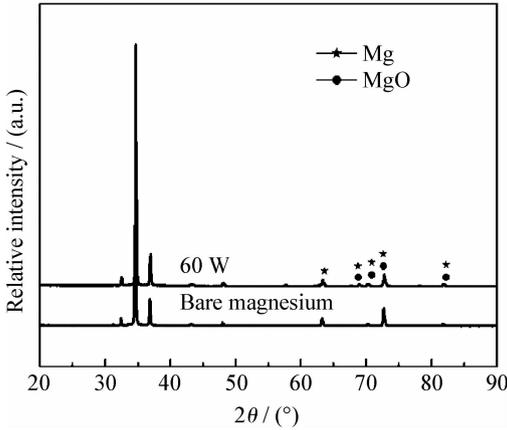


图 1 超声微弧氧化涂层与镁基体 XRD 图谱

Fig. 1 XRD patterns of ultrasound micro-arc oxidation coatings and magnesium substrate

采用 SEM 观察涂层表面形貌见图 2。涂层由大量团状熔融物堆积而成,表面分布着大小不等微米级的放电微孔,形成类似“火山锥”状的网状结构。这些微孔是溶液与基体间的反应通道,又是产生的熔融物喷出的通道,微弧氧化瞬间气隙放电喷出形成大小不一的微孔,大微孔中间残

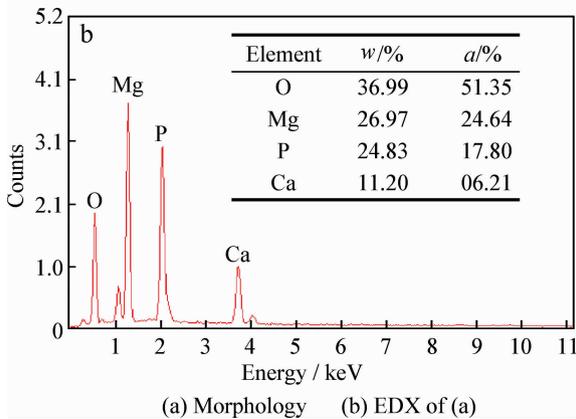
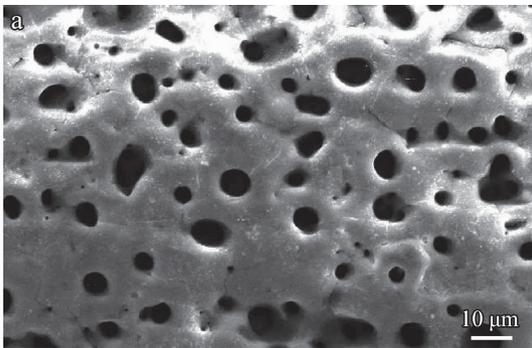


图 2 超声微弧氧化涂层的 SEM 形貌及能谱分析

Fig. 2 SEM and EDX analysis of ultrasound micro-arc oxidation coatings

留几微米的小微孔,一些微孔外周桥连处有少量的微裂纹出现,是由喷出的熔融物遇电解液急冷凝固时应力不均匀产生的。图 2(b)可知,涂层中沉积了一定量的电解液中的元素,主要是钙、磷、氧元素。

2.2 涂层极化曲线分析

对两组试样进行电化学分析,其极化曲线见图 3。纯镁在模拟体液中的腐蚀电位为 -1.583 V , 超声波微弧氧化试样的腐蚀电位为 -0.353 V ,与基体试样相比较其腐蚀电位提高了,同时腐蚀电流发生改变,超声波微弧氧化试样的腐蚀电流密度为 $1.560 \times 10^{-6}\text{ A} \cdot \text{cm}^{-2}$ 较基体的腐蚀电流密度 $2.529 \times 10^{-5}\text{ A} \cdot \text{cm}^{-2}$ 降低了一个数量级,超声波微弧氧化生物涂层使纯镁的耐蚀性能得到了很大的改善。

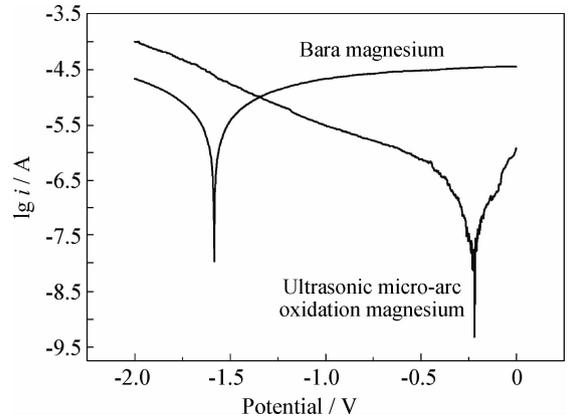


图 3 镁及超声微弧氧化涂层的极化曲线

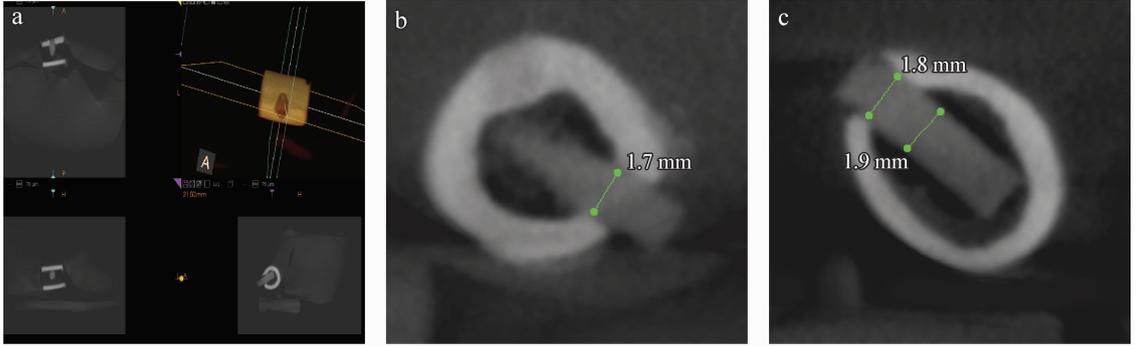
Fig. 3 Polarization curves of magnesium and ultrasonic micro-arc oxidation coating

2.3 CBCT 检测观察结果

对试样植入区进行 CBCT 扫描,由三维立体形貌进行扫描,分横断面、冠状面和矢状面三部分(见图 4)。矢状面骨缺损形貌清晰,故文中取矢状面,见图 4(a)。图 4(b)为矢状面镁基体试样,髓腔内的试样轮廓不完整,大部分已经降解,在骨界面处的试样 Φ 约为 1.7 mm ,试样在髓腔和骨结合的界面均发生降解反应,种植体在髓腔内的降解速率较骨组织的降解速率快。图 4(c)为微弧氧化涂层试样,髓腔及骨界面的降解都较缓慢,两部分的降解速率差异不大,降解慢释放的气体也少,在髓腔内的试样周围见低密度影,可能是产生的少量气体所占的空间,骨结合处有少量的降解产物刺激边缘的骨组织向试样顶部生长。从 4

周 CBCT 检测可知试验组及对照组骨组织界面处均有少量的降解,但是试验组的髓腔内降解速

度与骨界面降解速度大致相同,有利于提高内固定材料的稳定性。



(a) CBCT morphologies (b) Bare magnesium alloy (c) Ultrasound micro-arc magnesium alloy

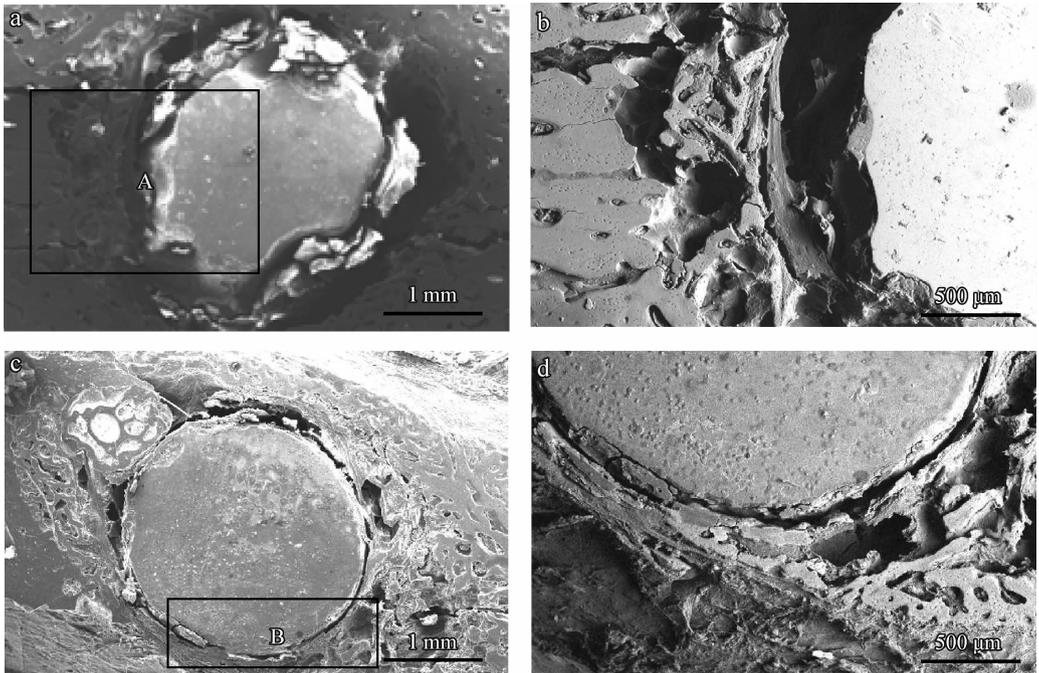
图 4 植入体的 4 周 CBCT 扫描形貌

Fig. 4 CBCT morphologies of implants for 4 weeks

2.4 4 周后试样形貌

图 5 为扫描电镜观察植入 4 周试样形貌。观察发现微弧氧化生物涂层与纯镁基体都发生了降解过程,在骨组织表面及镁基体的表面几乎同时发生反应,在金属-骨界面形成紧密相邻的金属区、降解层、新生骨层,并可见少量的不连续的纤维结缔组织。纯镁基体降解层,周边降解速率较

快,可见大量的孔洞和缝隙(见图 5(a))。进一步放大,利用背散观察,可见清晰白色纯镁溶解后形貌(金属区),降解层为深色孔洞,降解释放大量的气体使得基体和骨组织面分离较大,并有新生骨形成(见图 5(b))。超声微弧氧化镁生物涂层腐蚀降解速率明显小于纯镁基体,显示试样与骨组织几乎由降解产物相连接,见图 5(b)与图 5(d)。



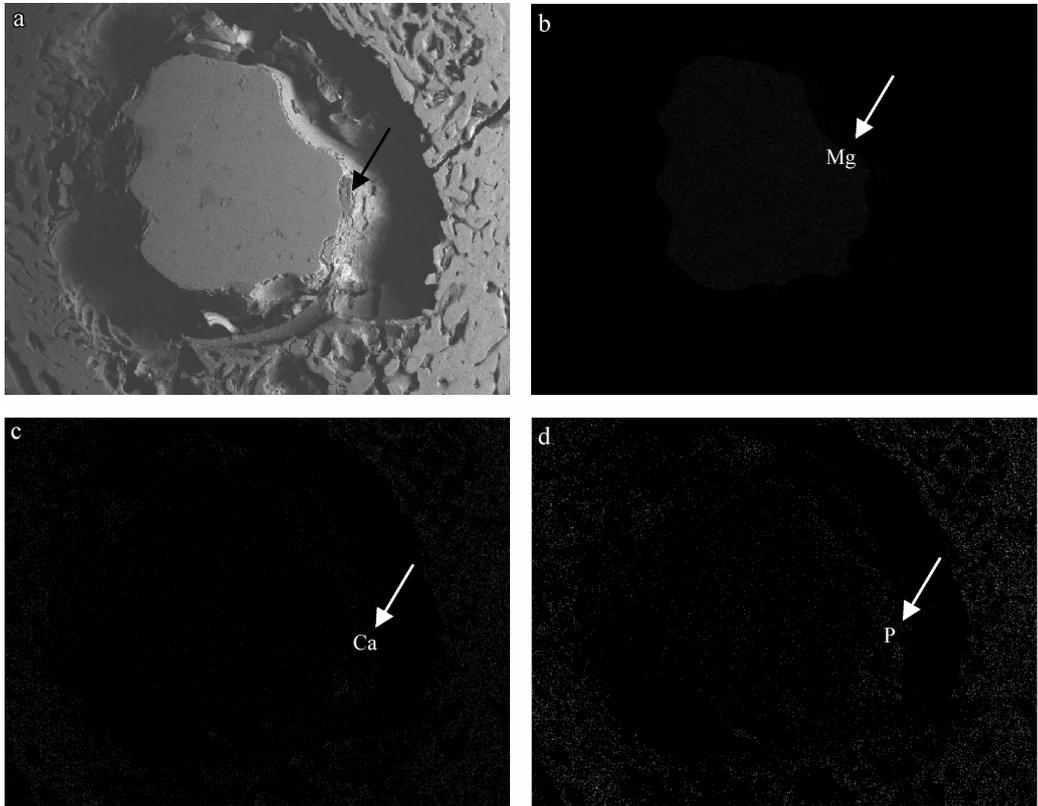
(a) Pure magnesium implant (b) Enlargement of point A in (a) (c) Ultrasonic micro-arc magnesium implant (d) Enlargement of point B in (c)

图 5 植入体 4 周后的扫描电镜与背散射形貌

Fig. 5 SEM and BES morphologies after implanted 4 weeks

将4周纯镁试样的骨组织进行EDAX面扫描检测,见图6。图6(a)试样的横截面已经不完整,局部区域降解明显,在材料的周围形成较宽的气腔区域,箭头所指的区域为基体与材料之间发生反应区域即新骨发生层。图6(b)能谱分析镁基体并不是一个完整圆周,有凹陷的痕迹并在边缘可见降解扩散少量的镁元素。图6(c)和图6(d)

箭头指示的部位降解层钙、磷元素的覆盖密度明显增加。由于纯镁的降解产生的气体形成了气腔区域,在图中体现为黑色的条带。说明纯镁基体与骨组织界面的降解行为与骨生成同时发生,其降解物与钙磷等形成一个降解层,对骨组织的生长形成一个过渡,又由于产生气体过快形成气腔,造成骨组织与试样的不连续。



(a) Morphology of the control group implant (b) Mg (c) Ca (d) P

图6 对照组 SEM 形貌与 EDAX 能谱分析

Fig. 6 SEM and EDAX of the control group implant

将4周超声辅助微弧氧化镁基生物涂层试样的骨组织进行扫描电镜及能谱分析,见图7。图7(a)可见试样降解产生的气体未形成明显的气腔带,骨与涂层结合紧密。图7(b)为镁元素面扫描,试样的横截面为较完整的弧形,有凹陷的痕迹,并在边缘可见少量的镁元素扩散。图7(c)和图7(d)箭头指示的部位钙、磷元素含量明显增加,而且与骨组织中的钙磷相连续,试样降解产生的气体几乎被机体所代谢,有利于骨组织生长。

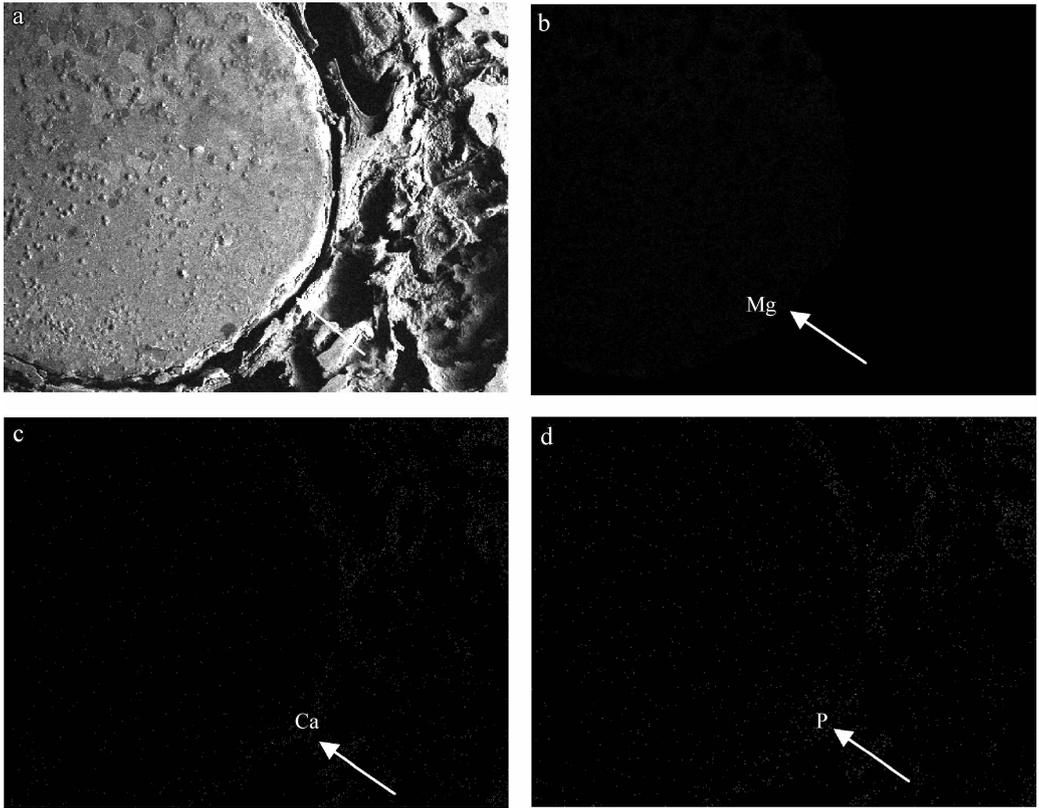
纯镁试样降解速度较快,降解过程释放了较多的气体,对周围的骨组织产生了刺激,形成了一个不规则的环形气腔带,不利于骨组织的生长。超声辅助微弧氧化技术制备的镁基生物涂层试

样,降解速度缓慢,释放的大部分气体也可以被机体代谢,使试样与骨组织由降解层相连接在一起,使降解与骨生长协调统一,一方面有利于骨生长,另一方面可以保证骨折修复区的硬度。

3 结 论

(1) 超声辅助微弧氧化镁生物涂层与纯镁基体都发生了降解过程。

(2) 在骨组织表面及镁基体的表面几乎同时发生反应,在金属-骨界面形成紧密相邻的降解层、新生骨层,并可见少量的不连续的纤维结缔组织,对周围骨组织的刺激明显小于纯镁基体,显示出更好生物相容性及涂层降解可控性。



(a) Morphology of the experimental group implant (b) Mg (c) Ca (d) P

图7 试验组 SEM 形貌与 EDAX 能谱分析

Fig. 7 SEM and EDAX of the experimental group implant

参考文献

- [1] Alkan A, Metin M, Ozden B, et al. Biomechanical comparison of plating techniques for fractures of the mandibular condyle [J]. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2007, 45(2): 145-149.
- [2] Kinraide T B, Yermiyahu U. A scale of metal ion bonding strengths correlating with ionic charge, pauling electronegativity, toxicity, and other physiological [J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2007, 10(3): 1201-17.
- [3] Yamaslnki Y, Okazaki M, Yoshida Y, et al. Action of FG-MgCO₃ apcollagen compsoite in promoting bone formation [J]. *Biomaterials*, 2003, 24(27): 4913-20.
- [4] 尹自飞, 韩培, 王勇平. FHA/Mg-Zn 合金体内降解及生物相容性的评价 [J]. *生物骨科材料与临床研究*, 2011, 8(6): 1-3.
- [5] Yamaslnki Y, Okazaki M, Yoshida Y, et al. Synthesis of functionally graded MgCO₃ apatite accelerating osteoblast adhesion [J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002, 62(1): 99-105.
- [6] Howleat C R, Zreiqat H, Zannettino A, et al. Mechanisms

of magnesium-stimulated adhesion of osteoblastic cells to commonly used orthopaedic implants [J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002, 62(2): 175-184.

- [7] Janning C, Vogt C, Willbold E, et al. Magnesium hydroxide temporarily enhancing osteoblast activity and decreasing the osteoclast number in peri-implant bone remodeling [J]. *Acta Biomater*, 2010, 6(5): 1861-8.
- [8] Zreiqat H, Nissan B B, Valenzuela S M, et al. The effect of surface chemistry modification of titanium alloy on signalling pathways in human osteoblasts [J]. *Biomaterials*, 2005, 26(36): 7579-86.
- [9] Erbel R, Bartundk J, Di Mario C, et al. Temporary scaffold of coronary arteries with bioadsorbable magnesium stents: a prospective, non-randomised multicentre trial [J]. *Lancet*, 2007, 369(9576): 1869-75.

作者地址: 黑龙江省佳木斯市学府街 148 号 154007
佳木斯大学材料与工程学院
Tel: (0454) 8618 701 (李慕勤)
E-mail: jmsdxlimuqin@163.com