

# 碳 - 碳复合材料羟基磷灰石涂层腰椎融合器的生物相容性研究

王文波<sup>1</sup>, 董建文<sup>1</sup>, 曹宁<sup>2</sup>, 杨振国<sup>1</sup>, 刘文斌<sup>1</sup>, 李木森<sup>3</sup>, 李春娥<sup>1</sup>

(1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 2. 中国石油大学(华东), 山东 青岛 266580; 3. 山东大学, 山东 济南 250061)

**摘要 目的:**探讨碳 - 碳复合材料羟基磷灰石涂层腰椎融合器的生物相容性和融合效果。**方法:**在 8 只成年雄性杂交波尔山羊 L<sub>4-5</sub> 或 L<sub>5-6</sub> 椎间隙模拟椎间融合手术, 在相应椎间隙置入自制的碳 - 碳复合材料羟基磷灰石涂层腰椎融合器, 并以克氏针后路固定。观察记录山羊术后生命体征及双下肢活动情况; 分别于术前和处死动物前进行腰椎 X 线检查, 观察腰椎融合器的位置、融合器与上下位椎体的融合情况及上下位椎体的椎间隙; 分别于术后 60 d 和 90 d 各处死 4 只山羊, 取融合的 2 个椎体, 分别以肉眼、光镜和电镜进行组织学观察。**结果:**X 线检查显示, 术前、术后 60 d 和术后 90 d 腰椎融合器上下位椎体间距分别为 (2.32 ± 0.31) mm、(2.41 ± 0.43) mm 和 (2.40 ± 0.44) mm; 术后 60 d 和术后 90 d, 与融合器相邻的终板位置有成骨现象和融合现象。组织学观察显示, 术后 60 d 时融合器植骨区和融合器周围有骨小梁生成; 术后 90 d 时骨小梁排列逐渐规则, 融合器周围有一层纤维结缔组织生成, 结缔组织逐渐变薄, 融合器中间有骨组织和纤维组织长入。**结论:**碳 - 碳复合材料羟基磷灰石涂层腰椎融合器具有较好的生物相容性和稳定性, 有利于植骨融合, 可作为椎间融合的内固定器材。

**关键词** 腰椎 碳 - 碳复合材料 羟基磷灰石类 腰椎融合器 动物实验

**A biocompatibility study on carbon - carbon composite lumbar cage coated with hydroxyapatites** Wang Wenbo\*, Dong Jianwen, Cao Ning, Yang Zhenguo, Liu Wenbin, Li Musen, Li Chune. \* Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shangdong, China

**ABSTRACT Objective:** To explore the biocompatibility of carbon - carbon composite lumbar cage coated with hydroxyapatites (HA) and the effectiveness of fusion. **Methods:** The simulated intervertebral fusion surgery were performed in L<sub>4</sub>/L<sub>5</sub> or L<sub>5</sub>/L<sub>6</sub> intervertebral space in 8 adult male hybrid Boer goats. The self - made carbon - carbon composite lumbar cage coated with HA were placed in the intervertebral space and fixed with Kirschner - wire in posterior access. Vital signs and both lower extremities activities of the Boer goats were observed and recorded after the surgery. Radiography were performed in the lumbar vertebrae before the surgery and before the goats were sacrificed respectively. The location of lumbar cage, fusion of lumbar cage and vertebral bodies and the intervertebral space were observed. Four goats were sacrificed at 60th days and 90th days after the surgery respectively, and the two confertus vertebral bodies were fetched, and the histological observation was carried out under naked eye, optical microscope and electron microscope. **Results:** The X - ray examination showed that the height of intervertebral space where the lumbar cage were placed were 2.32 ± 0.31, 2.41 ± 0.43 and 2.40 ± 0.44 mm respectively before the surgery, 60 days and 90 days after the surgery. Bone formation and fusion were found in the endplate adjacent to lumbar cage 60 days and 90 days after the surgery. The histological observation showed that the trabeculae of bone could be found in the bone graft area of lumbar cage and around the lumbar cage 60 days after the surgery. The trabecular bone arranged regularly at the 90 days after the surgery, a layer of fibrous connective tissue were found around the cage and it grow thin gradually, and the bone tissue and fibrous tissue grew into the cage. **Conclusion:** The carbon - carbon composite lumbar cage coated with HA has good biocompatibility and stability, and it is helpful to bone graft fusion, so it can be used as the internal fixation apparatus for intervertebral fusion.

**Key words** Lumbar vertebrae; Carbon - carbon composites; Hydroxyapatites; Lumbar cage; Animal experimentation

碳 - 碳复合材料是由碳纤维增强石墨化的树脂碳以及化学气相渗透沉积碳所形成的复合材料<sup>[1]</sup>, 具

有良好的生物相容性、稳定的化学性质及高强质轻的机械性能, 而且其弹性模量与人体骨骼的弹性模量十分接近<sup>[2]</sup>。但是将碳 - 碳复合材料用于骨组织修复和重建仍存在一些问题, 如碳 - 碳复合材料不能与骨组织形成化学结合, 植入生物体内的碳 - 碳复合材料表面游离出来的碳颗粒会随体液流动等。为此, 我们

基金项目: 山东省医药卫生发展计划项目 (2007HZ093), 山东省济南市科技发展计划项目 (201102063)

通讯作者: 董建文 E-mail: dongjianwen2006@sina.com

设计了碳-碳复合材料腰椎融合器,并在其与上下位椎体直接接触的融合面喷涂羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)涂层,通过在山羊腰椎上进行实验,观察了该融合器的生物相容性。

### 1 实验材料

1.1 实验动物 1 岁成年雄性杂交波尔山羊 8 只, 质量 35 ~ 45 kg, 由山东省动物实验中心提供。

1.2 碳-碳复合材料腰椎融合器 采用以碳纤维三维编织工艺制作的碳-碳复合材料,按照羊腰椎解剖数据采用计算机辅助设计制成符合实验要求的腰椎融合器,并采用等离子体喷涂法在融合器上下表面制作 70 ~ 80 μm 厚的 HA 涂层(图 1)。融合器包括 11 mm × 7 mm × 2 mm、12 mm × 8 mm × 3 mm、13 mm × 9 mm × 4 mm 的 3 种规格。

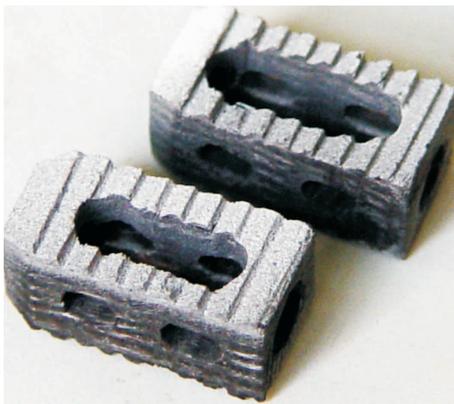


图 1 碳-碳复合材料 HA 涂层腰椎融合器外观

### 2 方法

2.1 模拟椎间融合手术 术前拍摄山羊腰椎正侧位 X 线片,定位 L<sub>4-5</sub> 或 L<sub>5-6</sub> 椎间隙,并选择合适规格的

椎间融合器。采用静脉复合麻醉将山羊麻醉后,俯卧固定于动物实验台上,用碘伏消毒手术区域皮肤,铺无菌单。经后侧入路将填充了碎骨的腰椎融合器置入 L<sub>4-5</sub> 或 L<sub>5-6</sub> 椎间隙,并以克氏针后路固定。术后静脉滴注青霉素预防感染,并静脉注射甘露醇和地塞米松预防神经根及脊髓水肿。

2.2 一般情况观察 观察记录山羊术后生命体征及双下肢活动情况。

2.3 X 线检查 分别于术前和处死前进行腰椎 X 线检查,观察腰椎融合器的位置、融合器与上下位椎体的融合情况及上下位椎体的椎间隙。

2.4 组织学观察 分别于术后 60 d 和 90 d 各处死 4 只山羊,取融合的 2 个椎体,分别以肉眼、光镜和电镜进行组织学观察。

### 3 结果

3.1 一般情况 本组 1 只动物因术中大出血死亡,其余动物均成活。1 只动物由于术中损伤神经根出现右侧后肢行走受限,1 只动物因融合器退出导致双后肢瘫痪和大小便障碍。其余 5 只动物在术后 24 ~ 72 h 逐渐站立活动,正常进食。

3.2 X 线观察 1 只动物术后腰椎融合器退出。术前、术后 60 d 和术后 90 d 腰椎融合器上下位椎体间距分别为(2.32 ± 0.31)mm、(2.41 ± 0.43)mm 和(2.40 ± 0.44)mm。术后 60 d 时与融合器相邻的终板位置有成骨现象,相邻终板处透亮带模糊,骨密度增加;术后 90 d 时终板部位有较多高密度骨形成,植骨界面模糊,透亮带逐渐减少,部分动物可见透亮带消失(图 2)。



(1)术前



(2)术后 60 d



(3)术后 90 d

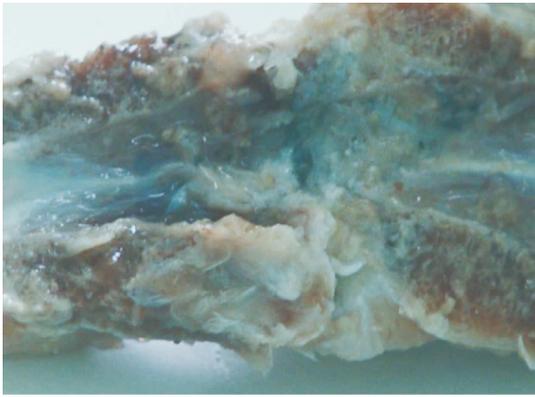
图 2 腰椎融合手术前后山羊腰椎 X 线片

### 3.3 组织学观察

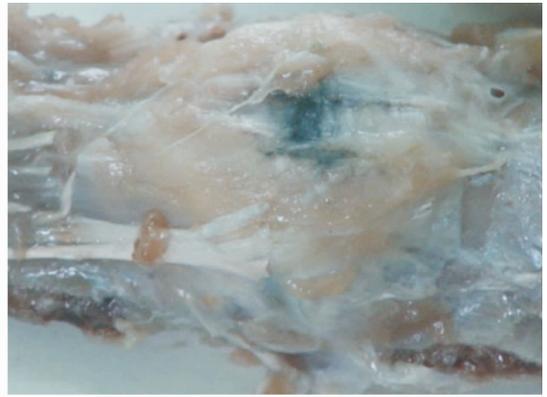
3.3.1 大体观察 术后 60 d,融合器与上下位椎体紧密结合,在融合器周围有纤维组织及骨组织长入,

剥离困难,融合器周围软组织略黑染[图 3(1)];术后 90 d,融合器与上下位椎体结合紧密,骨痂明显变小,融合器周围有大量骨组织及软组织长入,软组织黑染

仅限融合器周围无 HA 涂层的部位[图 3(2)]。



(1)术后 60 d

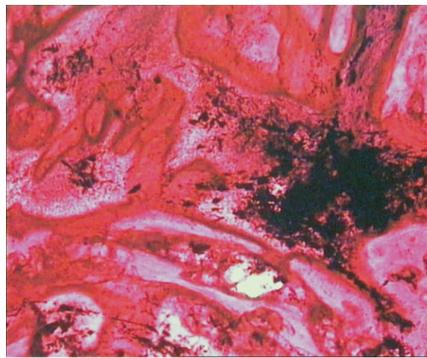


(2)术后 90 d

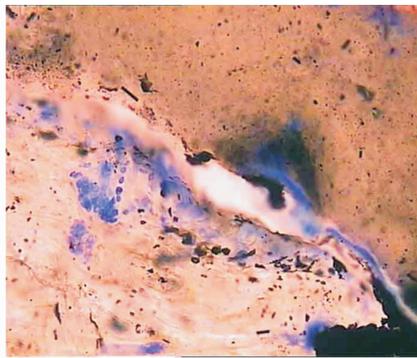
图 3 腰椎融合手术后融合椎体外观

**3.3.2 光镜观察** 术后 60 d,融合器内部植骨的骨小梁部分被吸收,并伴有广泛新生骨组织,新生骨的骨小梁排列不规则,与椎体终板骨小梁相延续[图 4(1)],终板附近有软骨组织生成,含有软骨细胞[图 4(1),图 4(2)]。在融合器中间的植骨部位存在游离的碳颗粒,碳颗粒周围未见明显结缔组织包绕和炎性细胞浸润。融合器被纤维组织及骨组织包绕,纤维组织内有明显的成纤维细胞,内层主要是纤维组织,纤维组织较厚,外层为软骨和新形成的骨小梁。在融合器与椎体交界处,未见结缔组织包绕融合器,新骨生

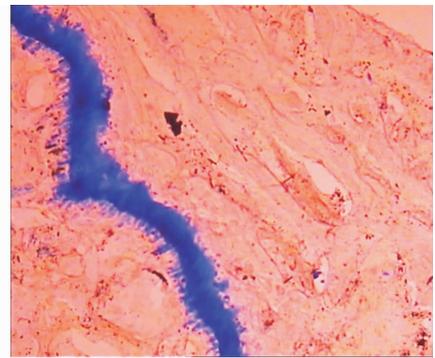
成明显,新生骨小梁与终板相延续,新骨的骨小梁结构不规则[图 4(1),图 4(2),图 4(3)]。术后 90 d,植骨部位骨小梁明显增多,仍存在新生骨组织及种植骨的吸收,骨小梁排列逐渐规则,植骨处脱落的碳颗粒周围未见结缔组织包绕。融合器周围有纤维样组织及骨组织生成,内层主要是纤维组织,厚度明显减少;外层为软骨和新形成的骨小梁,骨小梁明显增多[图 4(4),图 4(5)];未见明显的炎性细胞浸润。融合器和终板界面的新生骨小梁逐渐塑形,可见哈弗管生成[图 4(4),图 4(5),图 4(6)]。



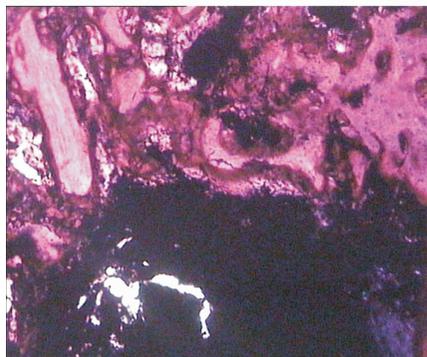
(1)术后 60 d未脱钙HE染色 (×40)



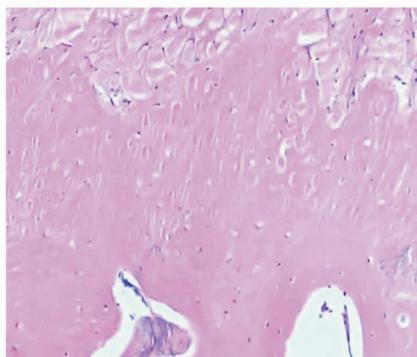
(2)术后 60 d甲苯胺蓝染色 (×100)



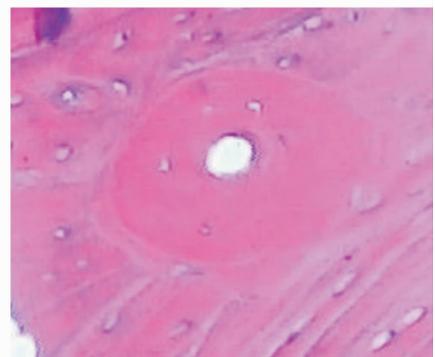
(3)术后 60 d甲苯胺蓝染色 (×40)



(4)术后 90 d未脱钙HE染色 (×40)



(5)术后 90 d脱钙HE染色 (×40)



(6)术后 90 d脱钙HE染色 (×100)

图 4 腰椎融合手术后融合椎体光镜下组织观察结果

**3.4 电镜观察** 术后 60 d, 植骨融合部位骨小梁排列欠整齐, 少量软骨和纤维组织钙化, 融合器周围有纤维和软骨组织以及新生骨组织, 排列欠规则 [图 5(1)]。融合器中间有纤维组织和骨组织长入, 骨组织和纤维组织不易区别, 未见明显碳纤维断裂, 融合器和椎体之间有非常小的间隙 [图 5(2)]; 融合

器周围包裹的软组织较厚。术后 90 d, 植骨融合部位骨小梁逐渐排列整齐, 融合器中间的碳纤维材料之间的纤维组织和骨组织进一步增多 [图 5(3)], 碳纤维未见明显断裂, 融合器和椎体之间的间隙基本消失 [图 5(4)], 融合器外周形成新的骨组织。

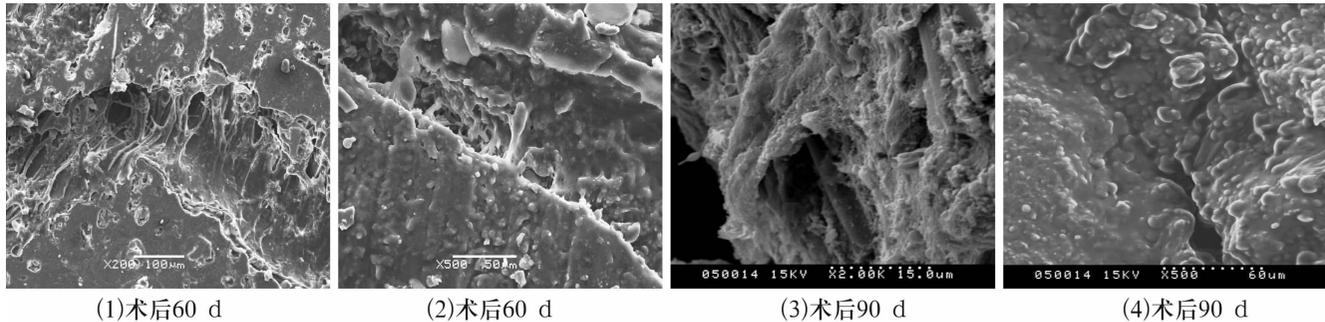


图 5 腰椎融合手术后融合椎体电镜下组织观察结果

## 4 讨论

碳-碳复合材料具有优异的生物相容性, 而且其弹性模量和硬度与人体骨骼极为接近<sup>[3]</sup>。同时, 它还具有稳定的物理、化学和电化学性能, 使其长期植入人体后不会出现老化和变质。但是未经处理的碳-碳复合材料假体表面具有疏水性, 在碳-碳复合材料假体植入生物体内初期, 材料表面会有少量碳颗粒脱落。其中的小颗粒会被巨噬细胞吸收, 大颗粒则会随体液流动, 部分沉积于体表, 出现“黑肤效应”。

我们在本实验中观察到, 在融合器没有 HA 涂层的区域, 碳-碳复合材料被一层纤维结缔组织膜包裹。这层纤维结缔组织膜是因融合器与机体发生的以纤维蛋白原渗出为主的渗出性组织反应而形成的, 其厚度在很大程度上取决于假体的表面性质<sup>[4-5]</sup>。HA 的组成、结构与骨骼中的无机盐接近, 具有引导和诱导骨再生及骨性结合的功能, 而且在非骨环境中, 仍可诱导骨形成, 从而促进假体与骨组织化学键合及新骨生长, 减少假体表面摩擦碎片的产生和对周围组织的污染。在本研究中, 我们只在融合器与骨骼直接接触的部位喷涂了 HA 涂层。从术后的组织切片中可明显看出, 在有 HA 涂层的部位未见明显的纤维组织囊, 周围组织的黑染也较轻, 新骨生成也较明显; 在没有 HA 涂层的部位, 融合器周围有明显的纤维组织囊, 在纤维结缔组织中间有新骨生成。

我们所采用的碳-碳复合材料 HA 涂层腰椎融

合器为空心长方体结构, 这种设计增大了融合器与终板的接触面积, 空心结构便于大量填充松质骨, 有利于植骨融合。同时, X 线能透过碳-碳复合材料, 融合器植入机体后可常规进行 X 线和 CT 检查, 及时了解植骨融合情况。但由于实验条件的限制, 本研究没有设置对照组进行大样本的观察, 同时也未观察后路手术内固定器械对融合器治疗效果的影响, 今后我们将对此进行进一步的研究。

本研究的结果提示, 碳-碳复合材料 HA 涂层腰椎融合器具有较好的生物相容性和稳定性, 有利于植骨融合, 可作为椎间融合的内固定器材。

## 5 参考文献

- [1] Virgil'ev YS, Kalyagina IP. Carbon-carbon composite materials[J]. *Inorganic Materials*, 2004, 40 (Suppl 1): 33-49.
- [2] 李翠云, 李辅安. 碳/碳复合材料的应用研究进展[J]. *化工新型材料*, 2006, 34(3): 18-20.
- [3] 曹宁. 等离子喷涂法制备碳/碳复合材料表面 HA 涂层技术的应用研究[D]. 济南: 山东大学, 2007.
- [4] Delfosse C, Monchau F, Lefevre A, et al. Biological characterization of experimental carbon samples[J]. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol*, 2002, 44(3): 73-82.
- [5] 俞扭庭, 张兴栋. 生物医用材料[M]. 天津: 天津大学出版社, 2000: 138.