

基础研究

果胶/聚乙烯醇复合水凝胶的生物力学评价

黄 曹¹, 瞿东滨¹, 赵卫东², 张忠民¹, 金大地¹

(1 南方医科大学南方医院脊柱骨病外科; 2 南方医科大学基础医学院医学生物力学实验室 510515 广州市)

【摘要】目的:评价果胶/聚乙烯醇复合(CoPP)水凝胶的生物力学性能,为研制新型人工髓核提供依据。**方法:**制备圆柱状 CoPP、聚乙烯醇(PVA)水凝胶试件,在生物力学试验机上纵向加载,实时采集力、位移,测量加载前、卸载后质量、尺寸,计算弹性模量、能量吸收率、归一化蠕变量及归一化质量、体积百分比。**结果:**CoPP 水凝胶弹性模量为 (2.76 ± 0.09) MPa,显著小于相应浓度 PVA 水凝胶的弹性模量 (4.89 ± 0.61) MPa,CoPP 水凝胶能量吸收率是 PVA 水凝胶的 1.46 倍。持续加载 30min,CoPP、PVA 水凝胶均达到蠕变平衡。卸载后即刻,CoPP 水凝胶归一化质量百分比为 $(97.67\pm 0.98)\%$,显著小于 PVA 水凝胶的 $(99.15\pm 0.18)\%$ 。卸载后 24h,CoPP、PVA 水凝胶归一化质量百分比、体积百分比与加载前无显著性差异。**结论:**CoPP 水凝胶是一种软而韧、缓冲载荷能力较强、渗透性好的粘弹性材料,可用于研制成形人工髓核假体。

【关键词】水凝胶;生物力学;果胶;聚乙烯醇;人工髓核

中图分类号:R318.01,R318.08 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2008)-01-0060-04

Biomechanical evaluation of pectin/polyvinyl alcohol composite hydrogel/HUANG Cao,QU Dongbin, ZHAO Weidong, et al/Chinese Journal of Spine and Spinal Cord,2008,18(1):60~63

【Abstract】 Objective:To evaluate biomechanical properties of pectin/polyvinyl alcohol (CoPP) hydrogel for making a new prosthetic nucleus pulposus.**Method:**Cylindrical test pieces of CoPP hydrogel and polyvinyl alcohol(PVA) hydrogel were prepared and lengthways loaded.The force and displacement were recorded at real time and mass and sizes of test pieces were measured before and after load.Based on these data the elastic modulus,the absorption ratio of power,the normalization creep and the normalization percentage of mass and volume were calculated.**Result:**There was significant difference with respect to the elastic modulus between CoPP hydrogel (2.76 ± 0.09) MPa and PVA hydrogel (4.89 ± 0.61) MPa.There was also significant difference with respect to the absorption ratio of power between CoPP hydrogel $(12.50\pm 1.47)\%$ and PVA hydrogel $(8.57\pm 1.78)\%$.At time of unload the normalization creeps of CoPP and PVA hydrogels under 30 min continuous loads were 10.40% and 7.61% respectively,without significant difference.The normalization mass percentage of CoPP hydrogel was $97.67\%\pm 0.98\%$,which was significantly inferior to that of the PVA hydrogel $(99.15\pm 0.18)\%$.At time of 24h unload,there was no significance of the normalization percentage of mass and volume between two kinds of hydrogels.**Conclusion:**CoPP hydrogel as a kind of viscoelastic material,which is softer and more tenacious,has better absorption shock of load and better permeability of substance in contrast to PVA hydrogel,which can be used in prosthetic nucleus pulposus.

【Key words】Hydrogel;Biomechanics;Pectin;Polyvinyl alcohol;Prosthetic nucleus pulposus

【Author's address】Department of Orthopedic and Spinal Surgery, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, 510515, China

人工髓核置换是治疗腰椎间盘突出退变性疾病的有效方法之一,其优点是从理论上可降低邻近节段退变、避免假关节形成^[1]。制备能替代人体髓核

组织的新型材料是人工髓核假体研发的关键技术。本研究选用具有亲水功能和胶体性质的果胶与聚乙烯醇共混,制备出一种新型的果胶/聚乙烯醇复合水凝胶 (Co-Pectin/PVA Hydrogel, CoPP),对 CoPP 水凝胶的生物力学性能进行评价,为成形人工髓核假体的研制提供依据。

第一作者简介:男(1976-),主治医师,博士研究生,研究方向:脊柱功能重建技术

电话:(020)62787195 E-mail:huangcao@people.com.cn

通讯作者:金大地

1 材料与方法

1.1 CoPP 的制备

果胶为 XPV-MC 300 药用级果胶(戴维林国际贸易有限公司);半乳糖醛酸含量大于 80%,酯化度大于 60%,聚合度 300~400。聚乙烯醇为 PVA-124 (广东省化学试剂工程技术研究开发中心),聚合度 2400~2500,醇解度大于 95%。按照适宜质量百分比在试管内配制果胶、聚乙烯醇水溶液,经过溶胀、低频振荡加热、冻融、脱水至恒重,于生理盐水、37℃、1 大气压溶胀平衡后,制成直径 25mm、高度 25mm 圆柱状 CoPP 水凝胶试件;按照同样步骤制备直径 20mm、高度 30mm 的圆柱状聚乙烯醇(PVA)水凝胶试件,每组 4 个。

1.2 性能测试

室温下用生理盐水浸泡 48h 后,记录试件质量(W_c)。于材料试验机(MTS-858 Mini Bionix)上纵向加载:预加载 5 次,最大载荷 500N,加载速率 5N/s;回零后加载至 600N,持续 30min 后快速卸载。实时采集时间、载荷、位移,采样频率 0.5Hz,600N 持续加载时为每 30 秒 1 次。卸载后 0~24h 内定期测量试件质量(W_t)、高度(H_t)、直径(D_t)。

1.3 粘弹力学性能评价指标

取第 6 次加载的力、位移数据,利用 Origin7.5 软件制出应力-应变曲线,行线性拟合,所得一次项系数即为弹性模量。将第 5 次加载-卸载数据按照横坐标为 0~55%、纵坐标为 0~2.0MPa(长度比 1.25)制出应力-应变曲线,以 TIF 格式导出 6438×5300 像素大小的曲线图像,用 Matlab 7.0 软件计算滞后环面积及上升曲线与横坐标间的面积,两者的比值即为能量吸收率。力达到 600N 为持续加载开始,其应变为 S_c ,每隔 5min 时的应变与 S_c 相比,即为归一化蠕变量^[2]。

1.4 可渗透性评价指标

采用归一化质量百分比、体积百分比评价水凝胶的可渗透性。归一化质量百分比= $(W_t/W_c) \times 100\%$,归一化体积百分比= $(V_t/V_c) \times 100\%$,其中 c 代表加载前, t 为观察时间。 V 按圆柱体体积公式计算。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 10.0 统计软件,分别描述各变量的均数±标准差,并采用独立样本 t 检验比较 CoPP 水凝胶、PVA 水凝胶的能量吸收率、归一化

蠕变量;采用单因素方差分析比较卸载后即刻和 24h 之间的归一化质量及体积百分比。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 粘弹力学特性评价

如图 1a 所示。在纵向加载试验过程中,CoPP 水凝胶、PVA 水凝胶试件均未出现破坏,其应力-应变曲线可分为相对平缓的起始段、相对陡峭的上升段,呈非线性表现。同一材料应力-应变曲线的起始段、上升段以及全段对应的弹性模量有显著性差异(表 1)。以全段弹性模量代表材料的弹性模量,CoPP 水凝胶与 PVA 水凝胶有显著性差异。CoPP 水凝胶应力-应变曲线中,上升段与起始段弹性模量比值与 PVA 水凝胶的差异有显著性。

在加载-卸载应力-应变曲线中,CoPP 水凝胶、PVA 水凝胶均出现应变滞后于应力现象,形成滞后环(图 1b),其对应的能量吸收率,CoPP 水凝胶为 $12.50\% \pm 1.47\%$,PVA 水凝胶为 $8.57\% \pm 1.78\%$,两者差异有显著性($P = 0.015$),CoPP 水凝胶是后者的 1.46 倍。CoPP、PVA 水凝胶在持续应力(分别为 $1.16 \pm 0.06\text{MPa}$ 、 $1.78 \pm 0.07\text{MPa}$)作用下,在 30min 内均达到蠕变平衡,其归一化蠕变量分别为 1.076 ± 0.005 、 1.105 ± 0.030 (表 2)。

2.2 可渗透性评价

卸载后即刻,CoPP 水凝胶、PVA 水凝胶归一化质量、体积百分比均显著小于加载前(表 3),CoPP 水凝胶归一化质量百分比显著小于 PVA 水凝胶($P = 0.025$),但两者归一化体积百分比无显著性差异($P = 0.161$)。卸载后 24h,PVA 与 CoPP 水凝胶归一化质量与体积百分比无显著性差异;与加载前相比,CoPP 水凝胶 24h 归一化质量百分比增加 0.89%,差异有显著性($P = 0.014$)。

3 讨论

自 1996 年开展人工髓核假体置换以来^[3],随访发现患者 Oswestry 功能障碍指数、腰椎活动度

表 1 PVA 水凝胶与 CoPP 水凝胶的弹性模量 ($n=4$)

	全段	起始段	上升段	上升段/起始段
PVA ^①	4.89 ± 0.61	2.69 ± 0.71	8.21 ± 0.51	3.21 ± 0.86
CoPP ^①	2.76 ± 0.09 ^②	1.21 ± 0.04 ^②	5.96 ± 0.32 ^②	4.91 ± 0.22 ^②

注:①同种水凝胶不同区域弹性模量比较 $P < 0.05$;②与 PVA 相同区域弹性模量比较 $P < 0.05$

表 2 聚乙烯醇(PVA)水凝胶与果胶/聚乙烯醇(CoPP)水凝胶蠕变量及归一化函数值 (n=4)

		时间 (min)						
		0	5	10	15	20	25	30
PVA	应变量	42.33±4.35	44.50±3.95	45.29±3.78	45.75±3.72	46.14±3.63	46.47±3.57	46.67±3.54
	归一化蠕变量	1.0±0.0	1.053±0.015	1.072±0.021	1.083±0.024	1.092±0.027	1.100±0.029	1.105±0.030
CoPP	应变量	53.84±3.63	55.83±3.63	56.57±3.65	57.04±3.66	57.41±3.69	57.71±3.68	57.92±3.69
	归一化蠕变量	1.0±0.0	1.037±0.003	1.051±0.003	1.060±0.004	1.067±0.004	1.072±0.005	1.076±0.005

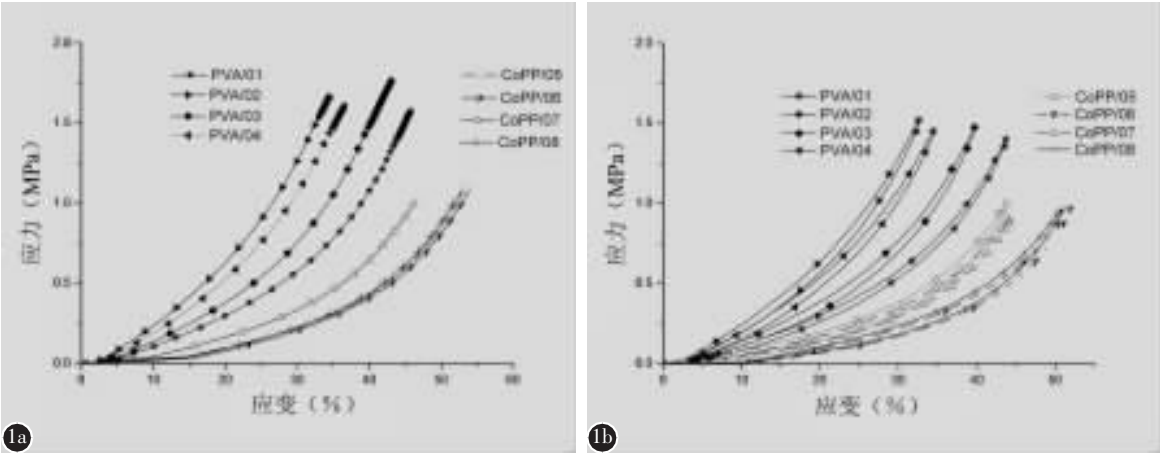


图 1 聚乙烯醇(PVA)、果胶/聚乙烯醇(CoPP)水凝胶性能比较 a 纵向加载的应力-应变曲线 b 纵向加载-卸载的滞后现象

表 3 PVA 水凝胶与 CoPP 水凝胶卸载后体积、质量占加载前的百分比 (n=4, %)

	卸载后即刻		卸载后 24h	
	体积	质量	体积	质量
PVA	94.79±1.50 ^①	99.15±0.18 ^①	98.74±1.18	100.42±0.36
CoPP	90.50±4.64 ^①	97.67±0.98 ^{①②}	99.04±1.92	100.89±0.37 ^①

注:①与加载前比较P<0.05,②与 PVA 比较P<0.05

明显优于单纯髓核摘除者,但部分患者出现假体下沉及软骨终板损伤^[4]。Wilke 等对 1 例体重 70kg 成年男子 L4/5 椎间盘内压力在体测量发现,站立、坐和无负重情况下行走,其椎间盘内压为 0.46 MPa~0.65MPa,弯腰搬 20kg 重物时为 2.3MPa^[5]。成形髓核假体所用 PVA 水凝胶在溶胀平衡时,其弹性模量为 3MPa^[6]或 4MPa 以上^[7],显著大于人体日常活动下椎间盘的载荷,是导致软骨终板相对薄弱、应力集中,继而出现软骨终板损伤、假体下沉的主要原因之一。本实验采用聚乙烯醇与果胶复合,经“冻融法”形成分子间氢键^[8],制备果胶/聚乙烯醇复合水凝胶,以降低 PVA 水凝胶弹性,为成形人工髓核假体的研制提供一种新型复合水凝胶材料。

本实验测得 PVA 水凝胶的弹性模量为 4.89±

0.61MPa,与以往研究结果接近^[6,7]。CoPP 水凝胶弹性模量显著小于 PVA 水凝胶,其应力-应变曲线上升段与起始段对应弹性模量的比值却大于 PVA 水凝胶。由此表明,相对 PVA 水凝胶而言,CoPP 水凝胶具有软而韧的特点。在加载-卸载应力-应变曲线中,CoPP 水凝胶、PVA 水凝胶均出现滞后现象,反映能量损耗,即缓冲载荷的能力。CoPP 水凝胶的能量吸收率是 PVA 水凝胶的 1.46 倍。持续加载 30min,CoPP、PVA 水凝胶均达到蠕变平衡。因此,相对 PVA 水凝胶而言,CoPP 水凝胶是一种更好的粘弹性材料,软而韧,缓冲载荷能力较强,具有蠕变特性的复合水凝胶材料。其中,由于 CoPP、PVA 水凝胶脱水率、溶胀率不同,导致两种水凝胶试件溶胀平衡时直径不同,持续加载时应力不同,归一化蠕变量难以比较是本实验的不足。

卸载后即刻,CoPP、PVA 水凝胶归一化体积百分比均显著变小,为 (94.79±1.50)%、(90.50±4.64)%,各减少了 9.50%、5.21%;卸载后 24h 体积完全恢复至加载前,这与 Malko 等对腰椎间盘体积在卸载后增加 5.4%的结果相接近^[9]。卸载后即刻,CoPP 水凝胶归一化质量百分比为 (97.67±

0.98)%, 减少 2.33%, 显著大于 PVA 水凝胶的 0.85%; 卸载 24h 后, 其归一化质量百分比为 $(100.89 \pm 0.37)\%$, 完全恢复。表明水分子及其水溶性物质可渗出、渗入 CoPP 水凝胶, 其体积也可完全恢复。因此, 以 CoPP 水凝胶研制髓核假体, 相对 PVA 水凝胶而言, 将利于椎间隙内物质弥散转运。CoPP 水凝胶归一化质量百分比加载前增加 0.89%, 考虑为卸载 24h 后测试时的室温相对偏低所致^[10]。

综上所述, CoPP 水凝胶相对于 PVA 水凝胶而言, 具有软而韧、缓冲载荷能力较强、蠕变特性等特点, 与人体椎间盘组织的粘弹力学特性接近; 具有较好的渗透性, 利于椎间隙内物质转运, 适宜替代腰椎间盘髓核组织的生理功能。当然除了选取与人体髓核组织更接近的材料之外, 还应合理设计、制造髓核假体的形状、面积, 使得人工髓核假体应力分布均匀, 减少髓核置换术后中远期假体下沉、软骨终板塌陷等并发症, 保留脊柱运动单元的功能。

4 参考文献

1. Huang RC, Wright TM, Panjabi MM, et al. Biomechanics of nonfusion implants[J]. Orthop Clin North Am, 2005, 36(3): 271-

280.

2. 张远鹰, 王雪晖, 应洪亮, 等. 前交叉韧带粘弹性特性的实验研究[J]. 中国生物医学工程学报, 2007, 26(2): 260-264.
3. Ray CD. The PDN prosthetic disc-nucleus devise[J]. Eur Spine J, 2002, 11(Suppl 2): 137-142.
4. 赵亮, 瞿东滨, 陈建庭, 等. 腰椎间盘突出人工髓核置换术后手术节段活动度和椎间高度变化的观察[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2007, 17(3): 169-172.
5. Wilke HJ, Neef P, Caimi M, et al. New in vivo measurements of pressures in the intervertebral disc in daily life[J]. Spine, 1999, 24(8): 755-762.
6. 吴靖平, 陈统一, 陈中伟, 等. 聚乙烯醇水凝胶髓核的生物力学特性[J]. 复旦学报(医学版), 2004, 31(1): 55-58.
7. Stryker Technologies Corporation. Hydrogel intervertebral disc nucleus implantation method[P]. USP 6280475.08/28/2001.
8. 杨荣杰, 乔丽坤, 李雪春, 等. 物理交联聚乙烯醇凝胶中氢键作用研究 [J]. 北京理工大学学报, 2004, 24(11): 1005-1008.
9. Malko JA, Hutton WC, Fajman WA. An in vivo magnetic resonance imaging study of changes in the volume (and fluid content) of the lumbar intervertebral discs during a simulated diurnal load cycle [J]. Spine, 1999, 24(10): 1015-1022.
10. 李永, 高瑾, 刘国权, 等. 人工髓核材料——聚乙烯醇水凝胶的溶胀性能研究[J]. 生物医学工程学报, 2005, 25(5): 995-998.

(收稿日期: 2007-09-21)

(英文编审 蒋欣)

(本文编辑 卢庆霞)

更正

由于作者的粗心和编辑人员的疏忽, 本刊 2007 年第 11 期第 825 页中的两张影像学图片与文中内容和图题不相符, 特更正如下。并向广大读者深表歉意! 在以后的工作一定加倍努力, 杜绝类似事情发生。



图 1 术前 MRI 示 L5/S1 椎间盘明显突出 图 2 经臭氧注射治疗 3 个月后 MRI 示椎间盘回缩