

可吸收聚对二氧六环酮线的制作 及骨折内固定的实验研究

彭 勇 陈希哲 田卫东 李声伟

【摘要】 目的 利用自行合成的可吸收聚对二氧六环酮(PDS)线固定家兔下颌骨体部骨折,观察骨折愈合及内固定线降解吸收情况。方法 以亚乙基二醇及金属钠等为原料,合成对二氧六环酮单体;在一定温度、压力及催化剂条件下将单体开环聚合而得PDS;将压出成形,拉伸成线的PDS用于实验组12只成年雄性新西兰兔的单侧下颌骨体部骨折内固定,以每2周为一个时间点处死2只动物直至12周。对照组相同骨折而不作任何内固定的6只动物仍按相同时间点处死。通过X线片和组织学观察骨折愈合及内固定线降解吸收情况。结果 实验组所有动物骨折愈合良好,骨折区域外骨痂形成明显,膜内成骨及软骨内成骨均存在;PDS在体内先发生强度的衰减,继之缓慢吸收。不作内固定的对照组动物骨折均不能愈合。结论 自行合成的PDS线是一种可吸收并具有一定强度及柔韧性的无色热塑性单丝纤维,可通过环氧乙烷薰蒸灭菌而不影响其强度,可有效地进行下颌骨骨折的内固定,有进一步研究的价值。

【关键词】 生物降解; 聚对二氧六环酮; 下颌骨; 骨折; 内固定

Chemical Synthesis of Biodegradable Poly-para-dioxanone and Its Application for Mandibular Fracture Fixation

PENG Yong*, CHEN Xizhe, TIAN Weidong, et al. (* Oral Department, Central Hospital of Longgang, Shenzhen 518116, China)

【Abstract】 Objective To observe mandibular fracture healing after synthesized bioabsorbable poly-para-dioxanone (PDS) ligature fixation. **Methods** Para-dioxanone monomer was prepared by chemical reactions of metallic sodium, ethylene glycol and other raw materials. PDS was synthesized by polymerizing the purified para-dioxanone in the presence of catalyst under the conditions of negative pressure and certain temperature. PDS ligature was obtained by processing the polymer into small granules, drying and melt-extruding through a spinnerette. Eighteen adult male New Zealand rabbits were assigned randomly into two groups. After mandibular fracture models were created, reductions of the artificial fractures were accomplished by means of transosseous PDS ligatures on each of 12 rabbits in experimental group. While the other six rabbits without any internal fixation were set as control. Schedules for killing were arranged to give postoperative samples at two-week interval till 12th week. **Results** Radiographical and histological examinations demonstrated that all fractures fixed with PDS ligatures healed without any complication. Periosteal and cartilaginous osteogenesis was observed in newly formed external callus. In contrast, bone fragment migration and the consequent nonunion occurred in the control group. PDS ligature degraded and absorbed without interference with osseous union and healing. The tensile strength reduction of PDS ligature was prior to its absorption *in vivo*. **Conclusion** The synthesized PDS is a colorless, flexible, thermoplastic and monofilament fiber, which can be sterilized by ethylene oxide embalmment without serious loss of tensile strength. It seems that the application of this macromolecular material in internal fixation is of great worth for further study.

【Key words】 biodegradable; poly-para-dioxanone; mandible; fracture; internal fixation

生物材料的发展与应用是新技术革命对医学传统观念和经典治疗方法的挑战。应用可吸收聚合物进行骨折内固定,避免了传统金属坚固内固定应力遮挡、释放有害离子及需要二次手术摘除等不利因素,是骨折治疗方法学上的一次重大革新。本研究在家

兔下颌骨体部骨折模型上,以自行合成的聚对二氧六环酮(poly-para-dioxanone, PDS)线固定家兔下颌骨体部骨折,观察骨折愈合及内固定线降解吸收情况,以期可为可吸收聚合物进行骨折内固定提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 主要原料

1,2-亚乙基二醇、金属钠、氯乙酸、无水乙醇、碳酸镁、盐酸、锌粉、硫酸铜、绝对乙醚(成都长征化学试剂公司)。

作者单位:518116 深圳市龙岗中心医院口腔科(彭 勇),四川大学华西口腔医院口腔颌面外科(陈希哲,田卫东,李声伟)

1.2 PDS合成途径及制作方法

在三颈烧瓶中加入过量的1,2-亚乙基二醇,分次缓慢投入小块金属钠,不断搅拌以充分反应,同时注意容器降温,得到的乙二醇钠中加入氯乙酸,生成乙二醇乙酸钠,通过加热180~192 蒸馏及丙酮洗涤,去除多余的乙二醇及副产物,加入盐酸使醇酸钠转变成游离醇酸,过滤后加入少量碳酸镁并缓慢加热到200~220 ,在此温度蒸馏出的淡棕色液体经反复蒸馏及重结晶,得到无色清亮液体。再经多次蒸馏、干燥,测定其纯度达到99%以上,用红外线光谱仪确定其分子空间构型及特征基团,符合对二氧六环酮结构式。将纯度大于99%的无水对二氧六环酮10.2 g加入干燥特制细颈聚合管中,在氮气保护下加入含0.138 mol 二乙基锌庚烷溶液0.36 ml。当室温下出现凝胶即表明聚合开始,再用真空泵将聚合管内压力抽至47.6 kPa,用酒精喷灯高温熔化聚合管颈部玻璃以彻底封闭聚合管并移入恒温水浴箱中,保持80 共72 h,可见聚合管内有透明固体出现,即为开环聚合的PDS。

用常规熔融纺丝技术将合成的干燥PDS从压出机的多孔口模中压出,即可获得无色单丝纤维,在43 将其拉伸5倍,拉伸后纤维直径0.279 4 mm,断裂载荷为1.58 kg,经环氧乙烷薰6 h灭菌,其强度并不受影响,备用。

1.3 家兔下颌骨骨折内固定

雄性成年封闭群新西兰兔(四川大学华西动物中心提供)18只(体重2.5~2.8 kg),随机分成PDS内固定实验组(12只)和空白对照组(6只)。所有家兔均在质量分数为3%的戊巴比妥钠(30 mg/kg)静脉麻醉及无菌条件下,用特制的断骨器¹制成相同的右侧下颌骨体部骨折模型,实验组动物在骨折复位后用牙科小球钻(直径1 mm)在骨折线两侧各打2个小孔,穿入已灭菌的PDS线并作对角线交叉打结固定,烧灼线结以防滑脱;对照组动物仅复位骨折而不作任何内固定。以2周为一个时间点各处死实验组2只、对照组1只动物直至第12周。处死动物后,完整摘取右侧下颌骨并摄X线片。实验组1只动物的内固定线剔除后用于PDS强度降解分析,其余标本均制成脱钙切片,常规苏木精-伊红染色,光学显微镜下观察骨折愈合及PDS线降解情况。

2 结 果

2.1 骨折愈合情况

除对照组1只兔发生局部感染外,所有实验动物均健康存活。X线片显示实验组兔下颌骨骨折对位对线良好,外骨痂形成明显,2周时骨折固定所钻孔洞明显(PDS线在X线片上不显影)(图1),4周时骨折线及所钻孔洞已模糊(图2),随着时间推移,术后10周时骨折线及孔洞均消失。对照组与同期实验组比较,表现为骨折线清晰,间隙增宽,牙有移位重叠,无明显骨痂形成。



图1 PDS线内固定术2周后,X线示骨折线及所钻孔洞明显
Fig 1 Two weeks after PDS ligatures fixation, X-ray photograph showed vertical fracture and bouches were obvious

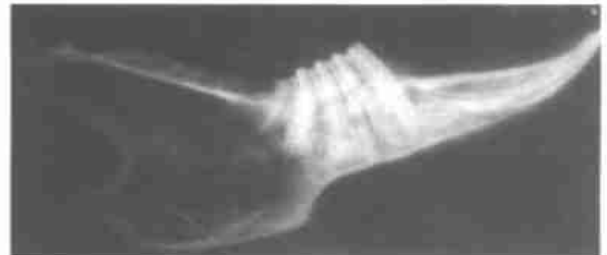


图2 PDS线内固定术4周后,X线示骨折线及所钻孔洞模糊
Fig 2 Four weeks after PDS ligatures fixation, X-ray photograph showed vertical fracture and bouches were clouding

苏木精-染色脱钙切片显微镜下显示实验组术后2周时,骨膜下呈现明显的成骨反应,在骨痂中可见成骨细胞、成软骨细胞集聚成群,并可见未成熟的骨样及软骨样组织(图3);4周时膜性成骨更明显,骨痂已成骨小梁,其间较大间隙被矿化骨基质充填,且有新形成的骨髓腔结构;6周已可见新骨进行改建,骨小梁和哈佛氏系统进行调整,钙化程度提高,区域内可见较大滋养血管形成;8、10、12周新骨进一步改建,骨融合后与正常骨在组织切片上已无明确分界线。对照组则表现为骨痂中大量成纤维细胞增生及炎细胞浸润,仍可见到岛状软骨样组织及膜下成骨反应,但成骨量及成骨速度均不及同期的实验组。

2.2 PDS线降解吸收

由于PDS线在骨组织脱钙切片制作中因化学及机械原因而部分溶解、碎裂,在大部分切片中表现为内衬纤维组织的圆形或卵圆形孔洞,孔的面积即相当于PDS线的占位区域。6周前其占位面积较大,包绕PDS线的纤维膜已形成,膜厚而疏松,与周围组织分界不清,因钻孔所致的坏死碎骨随时间推移而为新生骨组织取代,炎细胞浸润量也逐渐减少(图4);10周后PDS线占位面积显著减小,孔洞已位于正常骨质中央,包绕PDS的纤维包膜更致密,胶原纤维增多、成熟,成纤维细胞及周围炎细胞明显减少(图5)。

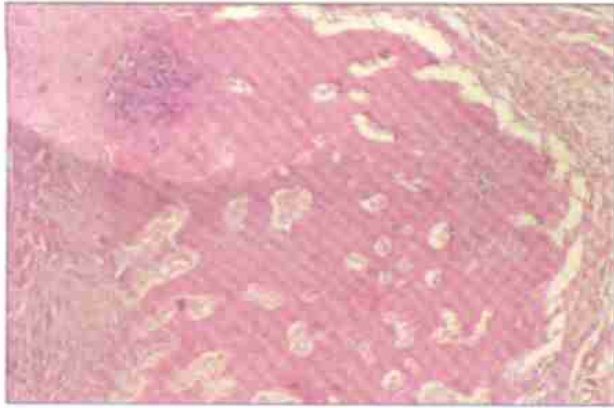


图3 PDS线内固定术2周后,可见膜性成骨和软骨内成骨 HE ×33

Fig 3 Two weeks after PDS ligatures fixation, periosteal and cartilaginous osteogenesis were observed within newly formed external callus HE ×33

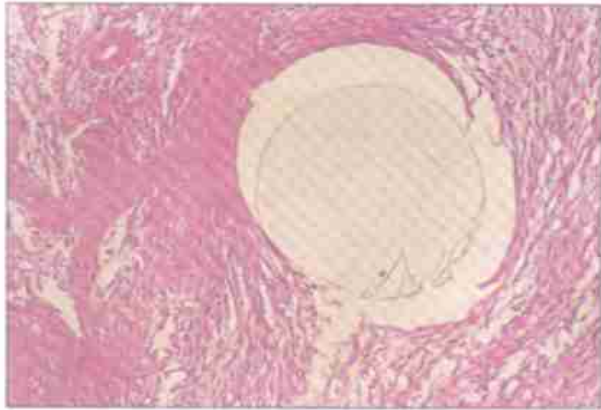


图4 PDS线内固定术4周后,PDS线占位面积较大 HE ×33

Fig 4 Four weeks after PDS ligatures fixation, the occupation area of PDS ligature showed large HE ×33

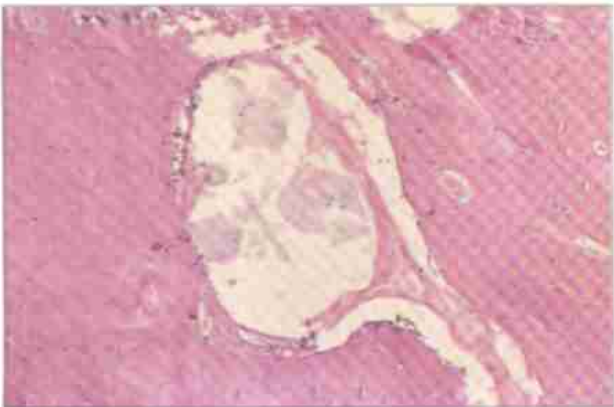


图5 PDS线内固定术8周后,PDS线占位面积较小 HE ×33

Fig 5 Eight weeks after PDS ligatures fixation, the occupation area of PDS ligature showed small HE ×33

检测和计算表明,PDS线骨折内固定后,随着时间的延长,其拉伸强度及占位面积值呈逐渐下降趋势(图6)。

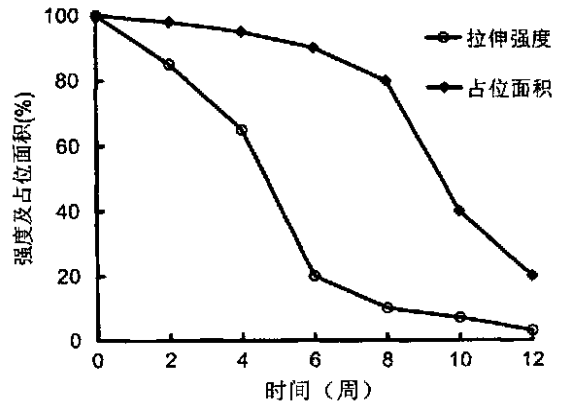


图6 PDS内固定术后PDS的拉伸强度及占位面积变化

Fig 6 The changes of PDS tensile strength and occupied area after PDS ligatures fixation

3 讨论

3.1 PDS骨折内固定的优越性

PDS也称为聚对二氧杂环己酮,俗名聚二恶烷酮。PDS与聚乳酸、聚乙醇酸同属-聚酯类高分子,也有人将其归为环状共聚酯醚,其合成工艺于1979年获得美国专利并已制成可吸收缝线应用于外科手术²。PDS由于其刚性为1.0 GPa,与面骨中的扁骨或不规则骨的固有刚性(0.01~1.7 GPa)相匹配,作为骨折内固定物能有效地避免应力遮挡,其强度也能支持受肌肉牵拉力不大的面骨骨折的内固定,其在体内的降解并不需要特殊酶的参与,代谢产物经三羧酸循环后由呼吸道、尿液及粪便排出体外。正是因其具有独特的理化及生物学性能,对PDS的应用研究更受颌面外科医生青睐³。本实验以1,2-亚乙基二醇及金属钠等为原料,经过一系列化学反应,首先制备对二氧六环酮单体,然后将高纯度的单体在一定温度、压力及催化剂条件下实现开环聚合而合成透明的热塑性高分子PDS;将其压出成形,拉伸成线并以环氧乙烷薰蒸灭菌的PDS用于实验组12只成年雄性新西兰兔的单侧下颌骨体部骨折内固定,无论X线片及组织学片均显示骨折愈合过程中外骨痂的形成非常明显,膜性成骨及软骨内成骨均有表现,说明PDS线这种非坚固内固定,既有效防止了骨折两断端受剪切力、扭曲力、弯曲力影响而移位,又因PDS的降解和强度衰减,可使骨折断端在肌肉的作用下产生微小活动,满足了外骨痂形成的微动、血运及应力传导3个基本条件,有利于刺激外骨痂持续增殖。

Sarmiento等⁴的学说认为,外骨痂的形成是临床骨折愈合的标志,是骨断端间内骨痂形成并获得真性

(下转第431页)

实验中还发现,在 2 周时,B 组种植体髓腔侧界面外的骨组织内可见一些散在分布的黄色荧光标记,表明 bBMP 为骨髓细胞分化为成骨细胞提供了良好的环境,促进了早期成骨。骨髓的基质细胞中存在着两种类型的成骨前体细胞:定向性成骨前体细胞(determined osteoprogenitor cells, DOPC)和诱导性成骨前体细胞(induced osteoprogenitor cells, IOPC),前者存在于骨髓基质表面,其行为类似于干细胞,不需要诱导因子,自身具有定向分化为骨组织的能力,而后者广泛存在于骨外器官组织中,只有在诱导因子作用下才能分化成骨,故一般认为 IOPC 实际上是具有分化能力的间充质细胞⁴。分析认为,bBMP 通过对 IOPC 的诱导作用,使其早期分化为成骨细胞,进而形成骨组织。这也可以解释光镜下所观察到的种植体底部早期即形成紧密的骨性结合,一方面是由于种植体植

入时此部位本身间隙较小,另一方面就是 bBMP 对骨髓中 IOPC 的诱导成骨作用。

参考文献

- 1 Mendes M, Pritzker KP. Optimizing multiple fluorochrome bone histodynamic markers. *Bone*, 1993, 14(3):537-543
- 2 Boyde A, Wolfe LA, Maly M, et al. Vital confocal microscopy in bone. *Scanning*, 1995, 17(2):72-85
- 3 Iyama S, Takeshita F, Ayukawa Y, et al. A study of the regional distribution of bone formed around hydroxyapatite implants in the tibiae of streptozotocin-induced diabetic rats using multiple fluorescent labeling and confocal laser scanning microscopy. *J Periodontol*, 1997, 68(12):1169-1175
- 4 Wlodarski KH. Properties and origin of osteoblasts. *Clin Orthop*, 1990, 252:276-293

(2002-01-31 收稿,2003-06-16 修回)

(本文编辑 王 晴)

(上接第 427 页)

骨愈合的先决条件。当然,大量外骨痂的形成和骨折愈合过程中的膜性成骨和软骨内成骨方式,也说明 PDS 线内固定不具备骨折断端间轴向加压的能力及压电效应,属于继发性骨折愈合方式⁵。此可吸收骨折内固定线系初期研究,将来可利用压模成型制成 PDS 接骨板以进一步研究其作为内固定物的可行性。

3.2 PDS 的体内降解

PDS 的生物降解是指该聚合物在生物体内因水解发生分子链断裂,由高分子量的大分子转变成低分子量的小分子的过程,而其吸收是指该材料从植入部位消失的程度。本实验根据高聚物机械强度与其分子量正相关的原理,通过对 PDS 线拉伸强度的丧失来间接反映其相对分子质量的衰减,通过 PDS 线占位面积的变化来反映其吸收程度。由图 5 所示的结果可以看出,PDS 线拉伸强度丧失量最快是在术后 4~6 周,而此时正是骨愈合过程中需要加强功能锻炼及应力刺激的时候,由于 PDS 体内降解的同步性,该材料作为骨折内固定物将有利于传导新生骨,从而刺激新骨生长。实验结果还表明,PDS 占位面积在 8 周前变化不大,8 周后不但表现占位孔明显减小,还

表现为孔壁的塌陷,说明此时 PDS 线不但有强度的明显丧失,更有降解碎片的大量吸收,这种现象与同类聚合物聚乳酸、聚乙醇酸的降解吸收过程有相似之处,是由于大分子中非晶态部分先水解,而晶体部分分子链后断裂的原因。实验观察 12 周,PDS 尚未完全吸收,其吸收的具体时间的测定,尚需用¹⁴C 或³H 标记进行骨内埋植实验才能得出准确结论。

参考文献

- 1 陈希哲,杨连甲.下颌骨骨折动物模型制作改进方法. *华西口腔医学杂志*, 2001, 19(6):404-405
- 2 陈希哲,斯方杰.可吸收手术缝线研究进展. *国外医学创伤与外科基本问题分册*, 1995, 16(4):204-206
- 3 陈希哲,王永海.可吸收骨折内固定物及其在颌面外科的应用. *国外医学口腔医学分册*, 1995, 22(2):65-69
- 4 Sarmiento A, Schaeffer JF, Beckerman L, et al. Fracture healing in rat femora as affected by functional weight-bearing. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1977, 59(2):369-375
- 5 张 益. *下颌骨骨折治疗*. 北京:北京医科大学协和医科大学联合出版社, 1993:27-37

(2002-09-27 收稿,2003-06-18 修回)

(本文编辑 王 晴)