

# 酸碱调节对硫酸钙骨水泥理化性能影响的体外研究

伦登兴<sup>1</sup> 徐丽娜<sup>2</sup> 李思影<sup>1</sup> 李世龙<sup>1</sup> 张伟航<sup>1</sup> 胡永成<sup>3</sup>

**【摘要】目的** 探讨碱性碳酸钙对硫酸钙骨水泥的理化性能的影响,为制备适合酸碱度的、可注射性硫酸钙骨水泥提供理论依据。**方法** 按CaCO<sub>3</sub>在硫酸钙复合物的质量比,分为0%、5%、10%、20%、30%组共5组。充分混合不同含量与外科级硫酸钙制备骨水泥的粉剂。将浓度为3%的甲基纤维素溶液作为骨水泥的液剂。按液固比0.4:1,混合上述骨水泥的粉剂和液剂,搅拌均匀,形成浆体。根据不同的模具,测量并记录CaCO<sub>3</sub>/硫酸钙复合物的初凝时间、终凝时间、抗压强度、体外降解率及pH值变化。**结果** 单纯硫酸钙的初凝时间和终凝时间分别为(4.96±0.20)、(5.83±0.12)min。随着CaCO<sub>3</sub>的含量的增加,初凝时间和终凝时间呈先增长后降低的趋势( $F=25.428, P<0.001$ ;  $F=30.780, P<0.001$ )。当含量为10%时初凝时间和终凝时间最长[(13.17±1.87)min和(14.22±2.00)min]。单纯硫酸钙的抗压强度为(23.33±6.35)MPa。随CaCO<sub>3</sub>的含量的增加,抗压强度先增强后降低,当含量为20%,抗压强度最大(27.33±5.86)MPa;但CaCO<sub>3</sub>对硫酸钙抗压强度的影响无统计学差异( $F=1.272, P=0.344$ )。单纯硫酸钙在降解过程均呈酸性环境(pH=5.32),不同含量碳酸钙均能提高pH值;且当含量10%时,体外降解过程中酸碱度趋于平衡(pH=6.67)。**结论** 碳酸钙能改变硫酸钙骨水泥的理化性能,当含量为10%时,能够提供最佳的凝固时间,给术者操作提供足够的时间;且不影响硫酸钙凝固后的抗压强度;此外,当含量为10%时,体内降解过程中的酸碱度也有利于促进新骨的形成。但含量大于10%,其降解时间较短,仍需添加其他的改性剂。

**【关键词】** 碳酸钙; 硫酸钙; 骨水泥成形术; 抗压强度; 凝固时间

**In vitro study on the effect of acid-base regulation on the physicochemical properties of calcium sulfate bone cement** Lun Dengxing<sup>1</sup>, Xu Lina<sup>2</sup>, Li Siying<sup>1</sup>, Li Shilong<sup>1</sup>, Zhang Weihang<sup>1</sup>, Hu Yongcheng<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Department of Bone Oncology, <sup>2</sup>Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Weifang People's Hospital (the First Affiliated Hospital of Shandong Second Medical University), Weifang 261041, China; <sup>3</sup>Department of Bone and Soft Tissue Oncology, Tianjin hospital, Tianjin 300211, China  
Corresponding author: Hu Yongcheng, Email: yongchenghu@126.com

**【Abstract】Objective** To investigate the effect of basic calcium carbonate on the physical and chemical properties of medical grade calcium sulfate, and to provide a theoretical basis for the preparation of injectable calcium sulfate bone cement with suitable for pH. **Methods** According to the mass ratio of CaCO<sub>3</sub> in calcium sulfate complex, they were divided into 5 groups: 0%, 5%, 10%, 20% and 30%. The powder of bone cement was prepared by fully mixing different contents and surgical grade calcium sulfate. Methylcellulose solution with a concentration of 3% was used as the liquid agent of bone cement. According to the liquid-solid ratio of 0.4 : 1, the powder and liquid of the bone cement are mixed and stirred evenly to form a slurry. According to different molds, the initial setting time, final setting time, compressive strength, in vitro degradation rate and pH value of CaCO<sub>3</sub>/ calcium sulfate composite were measured and recorded. **Results** The initial setting time and final setting time of calcium sulfate were (4.96±0.20) min and (5.83±0.12) min, respectively. With the increase of CaCO<sub>3</sub> content, the initial setting time and final setting time increased first and then decreased ( $F=25.428, P<0.001$ ;  $F=30.780, P<0.001$ ). When the content was 10%, the initial setting

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2096-0263.2024.03.001

基金项目:2023年度山东省医务职工科技创新计划联合立项项目(SDYWZGKJHLH2023061);2023年度潍坊医学院附属医院科技发展项目(2023FYM013)

作者单位:261041 潍坊市人民医院(山东第二医科大学第一附属医院)骨肿瘤科<sup>1</sup>,呼吸与危重症医学科<sup>2</sup>;300211 天津市天津医院骨与软组织肿瘤科<sup>3</sup>

通信作者:胡永成,Email: yongchenghu@126.com

time and final setting time were the longest ( $13.17 \pm 1.87$  and  $14.22 \pm 2.00$ ). The compressive strength of pure calcium sulfate is ( $23.33 \pm 6.35$ ) MPa. With the increase of  $\text{CaCO}_3$  content, the compressive strength first increases and then decreases. When the content is 20%, the maximum compressive strength is ( $27.33 \pm 5.86$ ) MPa; However, there was no significant difference in the effect of  $\text{CaCO}_3$  on the compressive strength of calcium sulfate ( $F=1.272$ ,  $P=0.344$ ). The degradation process of pure calcium sulfate was in acidic environment ( $\text{pH}=5.32$ ), and different content of calcium carbonate could increase the pH value; When the content was 10%, the pH tended to balance ( $\text{pH}=6.67$ ). **Conclusion** Calcium carbonate can change the physical and chemical properties of calcium sulfate bone cement. When the concentration is 10%, it can provide the best setting time and enough time for the operator; And does not affect the compressive strength of calcium sulfate after solidification; In addition, when the concentration is 10%, the pH in the process of degradation in vivo is also conducive to promote the formation of new bone. However, when the concentration is more than 10%, the degradation time is short, and other modifiers still need to be added.

**【Key words】** Calcium carbonate; Calcium sulfate; Cementoplasty; Compressive strength; Setting time

硫酸钙基复合材料具有良好的生物相容性及可吸收性能,已被应用于脊柱、关节、创伤、肿瘤、骨不连及炎症等骨科疾病的重建手术中。然而,术后2周内出现3~51%的切口渗液或及继发性的深部组织感染是硫酸钙基复合物的常见并发症之一,限制其在临床中的广泛应用<sup>[1-5]</sup>。Friesenbichler等<sup>[1]</sup>采用前瞻性研究,观察硫酸钙基骨移植材料重建31例良性骨缺损的临床疗效,发现16%出现切口相关并发症,因此不推荐继续使用该类材料在骨缺损重建中的应用。

切口相关并发症的可能原因与硫酸钙的降解产物引起的植骨材料周围的酸性环境有关<sup>[2]</sup>。Chen等<sup>[3]</sup>报道硫酸根离子能够降低组织液的pH值,而较低的酸性环境引起局部炎性反应。当过多的炎性渗液聚集在植骨材料周围时,将会从切口中流出,从而出现切口排液、延迟愈合及继发性感染等并发症。然而,组织液的酸性环境能够刺激成骨细胞的活性<sup>[4]</sup>,促进成骨细胞的代谢和增生,加速新骨组织的形成,有利于骨愈合。Walsh<sup>[5]</sup>等认为较低的pH值使宿主骨的植骨面脱钙,暴露骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs),转化生长因子(transforming growth factor- $\beta$ , TGF)等诱导成骨细胞代谢的生长因子,从而促进成骨细胞的活性,加速骨愈合或融合。由此可见,硫酸钙降解产物引起的低pH环境具有双重效应——即较高的酸碱度阻碍新骨的形成,而过低的环境能够引起切口并发症。

因此,维持硫酸钙降解过程中合适的酸性环境具有重要的意义。如何使“降低切口相关并发症”与“促进新骨组织形成”两种机制达到平衡,是硫酸钙复合材料研发中亟待解决问题之一。目前常用的方

法是:在外科级医用硫酸钙中加入适量的添加剂,如碳酸钙、硅酸钙、金属镁粉等。其中碳酸钙制备工艺简单,无毒性,易获取,如德国的Herafill系列产品,已经应用于临床。碳酸钙能够维持硫酸钙的稳定酸性环境可能原因是:①碳酸钙为碱性物质,能够缓冲硫酸钙引起的低pH环境。当硫酸钙在体内降解的过程中,碳酸钙也随之缓慢释放,在材料降解和新骨形成的整个过程中发生酸碱中和反应,使局部始终达到平稳状态<sup>[6,7]</sup>。②碳酸钙能够降低硫酸钙的降解速率<sup>[8]</sup>,从而避免了植骨区在短期内出现硫酸根离子的大量聚集;相反,会使其缓慢释放,达到长期稳定的酸性环境。

然而,上述碳酸钙影响硫酸钙的酸碱度两种机制是基于假设提出的。尽管文献已报道碳酸钙/硫酸钙复合物在动物体内和临床研究的试验结果;但并无相关文献报道关于碳酸钙的含量对硫酸钙基植骨材料周围的酸碱度影响以及作用机制。因此本文研究的目的是①观察不同含量的碳酸钙在不同的降解时间内,对硫酸钙基复合物的酸碱度影响;②观察不同含量的碳酸钙对硫酸钙复合物体外降解速率的影响;③因任何添加物均能影响到硫酸钙的理化性能。因此本文同时观察碳酸钙对外科级硫酸钙抗压强度和凝固时间的影响。

## 资料与方法

### 一、实验试剂和设备

外科级半水硫酸钙(自制)、碳酸钙、去离子水(自制)、维卡仪(北京赛睿美科生物材料有限公司)、电子万能试验机(济南川佰仪器设备有限公司)

司)、烘干箱、电子天平等

## 二、试验方法

称取 3.5 g 半水硫酸钙, 分别加入质量比 0%、5%、10%、20%、30% 的  $\text{CaCO}_3$ , 球磨混合半小时, 使其混合均匀, 密封保存备用。理化性能检测前, 按液固比 0.4 加入甲基纤维素的溶液, 并搅拌均匀; 并制作不同标本。

## 三、评价指标

### (一)凝固时间

采用维卡仪测定硫酸钙的初凝时间和终凝时间。

初凝时间的测定: 初步塑型后, 放入改良的  $20 \times 30 \text{ mm}$  的圆柱体模具中进行加压定型, 取出试模放到试针下, 降低试针, 并与样本表面接触。拧紧螺丝 1~2 s 后, 突然放松, 试针垂直自由地沉入样本内。观察试针停止下沉或释放试针 30 s 时指针的读数。当试针沉至距底板  $(4 \pm 1) \text{ mm}$  时, 为水泥达到初凝状态。每组重复 10 次。

终凝时间的测定: 为准确观测试针沉入的状况, 在终凝针上安装环形附件。完成初凝时间测定后, 立即将试模连同样本以平移的方式从玻璃板取下, 翻转  $180^\circ$ 。临近终凝时间时每隔 0.5 min 测定一次, 当试针沉入样本 0.5 mm 时, 即环形附件开始不能在样本上留下痕迹时, 为终凝状态。每组重复 10 次。

### (二)抗压强度

将每组混合物倒入  $12 \times 15 \text{ mm}$  的圆柱体模型中, 并振动使其模型内部更加紧实, 1 h 取出圆柱体模型, 并将制备的圆柱体模型至于  $37^\circ\text{C}$  的烘干箱内, 干燥 24 h。圆柱体模型的上、下表面打磨光滑, 采用万能力学试验机对圆柱形试件进行轴向加压, 加载速度  $0.5 \text{ mm/min}$ , 每组重复 10 个。

### (三)体外降解

将各组复合物倒入直径为 6 mm 的半球模具中, 待混合物固化后取出半球, 放置于  $37^\circ\text{C}$  的烘干箱内, 干燥 24 h。每组各取 3 粒, 称重并记录  $m_0$ ; 分别浸泡于 10 mL PBS 溶液中, 密闭后置于生化培养箱中  $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。每隔 5 d 取样, 并置于  $50^\circ\text{C}$  恒温的鼓风烘箱中, 恒重至两次测量结果低于  $0.0001 \text{ g}$  后, 记为  $m_1$ 。更换模拟液, 继续体外降解。重复以上操作, 每隔 5 d 测量一次, 重量分别记为  $m_2$ 、 $m_3$ 、 $m_4$ ……。

### (四)pH的测试

将各组复合物倒入直径为 6 mm 的半球模具中, 等待混合物固化后取出半球, 放置于  $37^\circ\text{C}$  的烘干箱内, 干燥 24 h。每组各取 3 粒, 分别浸泡于 10 mL

PBS 溶液中, 密闭后置于生化培养箱中  $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。前 7 天, 每隔 1 d 测试 PBS 溶液的 pH, 分别记为 pH1、pH2、pH3……。之后每隔 2 d 测试一次。

## 四、统计分析

本试验使用统计软件 SPSS 25.0 (IBM, 美国) 完成。计量资料行正态性检验后, 呈正态分布的变量 (包括固化时间、抗压强度、pH 值和降解速率) 以  $\bar{x} \pm s$  的形式表示; 对抗压强度、固化时间、降解速率和 pH 值 4 个项目的不同  $\text{CaCO}_3$  含量 0%、5%、10%、20%、30% 组的组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 对固化时间和抗压强度的结果组间两两比较使用独立样本  $t$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、凝固时间

不同含量的  $\text{CaCO}_3$  对硫酸钙的凝固时间的结果见表 1 和图 1。由图 1 可知, 随着硫酸钙中  $\text{CaCO}_3$  的含量的增加, 无论是初凝时间还是终凝时间都呈现先增加后减少的趋势。当含量为 10%  $\text{CaCO}_3$  时, 初凝时间可达到  $(13.17 \pm 1.87) \text{ min}$ , 终凝时间可达到  $(14.22 \pm 2.00) \text{ min}$ 。

表1 不同含量的 $\text{CaCO}_3$ 对硫酸钙的固化时间的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

含量	初凝时间(min)	终凝时间(min)	抗压强度(MPa)
0% $\text{CaCO}_3$	$4.96 \pm 0.20$	$5.83 \pm 0.12$	$23.33 \pm 6.35$
5% $\text{CaCO}_3$	$12.29 \pm 0.36$	$14.11 \pm 0.38$	$23.33 \pm 4.16$
10% $\text{CaCO}_3$	$13.17 \pm 1.87$	$14.22 \pm 2.00$	$26.67 \pm 3.79$
20% $\text{CaCO}_3$	$11.04 \pm 1.41$	$11.99 \pm 1.35$	$27.33 \pm 5.86$
30% $\text{CaCO}_3$	$7.99 \pm 1.04$	$9.28 \pm 0.41$	$19.67 \pm 2.31$

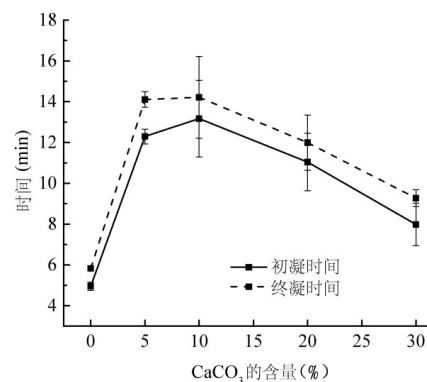


图1 碳酸钙-初凝时间和终凝时间曲线图: 随着  $\text{CaCO}_3$  含量的增加, 初凝时间和终凝时间呈先增加后减少的趋势



表2 不同含量的CaCO<sub>3</sub>对硫酸钙的固化时间的结果统计学

显著性	0VS1	0VS2	0VS3	0VS4	1VS2	1VS3	1VS4	2VS3	2VS4	3VS4
初凝时间	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.010	0.430	0.270	0.004	0.079	0.001	0.020
终凝时间	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.003	0.916	0.071	0.001	0.060	0.001	0.028
抗压强度	1.000	0.408	0.324	0.364	0.362	0.279	0.319	0.852	0.077	0.057

注: 0、0% CaCO<sub>3</sub>; 1、5% CaCO<sub>3</sub>; 2、10% CaCO<sub>3</sub>; 3、20% CaCO<sub>3</sub>; 4、30% CaCO<sub>3</sub>

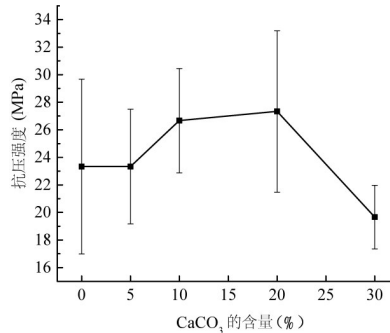


图2 碳酸钙含量-抗压强度曲线图: 随CaCO<sub>3</sub>含量的增加, 抗压强度先增高后降低, 浓度为20%时抗压强度达到最高值, 30%时最低

不同含量的CaCO<sub>3</sub>对硫酸钙凝固时间的结果进行方差分析, 其差异存在统计学意义: 初凝时间:  $F=25.428, P<0.001$ , 终凝时间:  $F=30.780, P<0.001$ 。

各组两两比较见表2。单纯硫酸钙与CaCO<sub>3</sub>含量为5%、10%、20%和30%间初凝时间和凝固时间的差异存在统计学意义( $P<0.05$ )。在所有含有碳酸钙的复合物中, 含量为30%组的初、终凝固时间最低, 但仍高于单纯硫酸钙组。而5%与10%、20%组凝固时间的差异并不明显。

## 二、抗压强度

不同含量的CaCO<sub>3</sub>对硫酸钙的抗压强度的影响结果列于表2和图2。由图2可知, 随着硫酸钙中CaCO<sub>3</sub>的含量的增加, 抗压强度呈现先增加后减少的趋势。当含量为10% CaCO<sub>3</sub>与20% CaCO<sub>3</sub>时, 其抗压强度几乎相同, 而且达到最大值。

材料中不同含量的CaCO<sub>3</sub>对抗压强度的结果进行方差分析, 差异无显著性,  $F=1.272, P=0.344$ 。进一步进行组内两两统计学, 列于表2, 材料中含量为“0% CaCO<sub>3</sub>”、“5% CaCO<sub>3</sub>”、“10% CaCO<sub>3</sub>”、“20% CaCO<sub>3</sub>”、“30% CaCO<sub>3</sub>”之间没有明显的变化, 它们之间无统计学意义( $P>0.05$ )。

## 三、pH值变化

材料在PBS液中37℃恒温保存过程中的pH-时间曲线如图3~6和表3所示, 结果显示当加入不

同含量的CaCO<sub>3</sub>均改变PBS液的pH值, 降解最终的pH值随着CaCO<sub>3</sub>含量的增加而增加, 其中当CaCO<sub>3</sub>含量小于20%时, 溶液呈现偏酸的环境, 而当CaCO<sub>3</sub>含量大于20%时, 溶液呈现微碱的环境。

在第5天, 所有的材料在PBS液中都呈现微酸的环境, 而且随着材料中CaCO<sub>3</sub>含量的增加pH值而增加; 在第15天, 所有的材料在PBS液中都呈现微酸的环境, 而且随着材料中CaCO<sub>3</sub>含量的增加pH值逐渐增加, 此外当材料中CaCO<sub>3</sub>含量为30%, 溶液接近中性。

## 四、降解速率

在PBS液中37℃恒温保存过程中的硫酸钙的降解质量的变化和降解率列于表4及降解率曲线如图7所示, 结果表明随着CaCO<sub>3</sub>含量的增加, 降解速率逐渐增加。由于碳酸钙晶体分散或者硫酸钙晶体形成团块使硫酸钙晶体与PBS液接触的表面积减少, 因此在复合材料中的降解有明显下降。

## 讨 论

### 一、pH值

单纯硫酸钙的pH值随着时间的延长而逐渐降低; 不同含量的碳酸钙加入后, 均会使pH值升高。在任意时间点上, 随着碳酸钙含量的增高, pH值逐渐升高; 而随着酸碱度的改变, 局部的炎性渗出减少, 可能降低了切口相关的并发症。但是在降解30天时, 高含量的碳酸钙会使植骨材料周围呈碱性, 可能抑制新骨形成。因此碳酸钙的含量不宜太高。

作为酸性缓冲剂, 碳酸钙和硅酸钙均能改变硫酸钙的pH环境<sup>[8,15]</sup>。Ding等<sup>[16]</sup>观察不同硅酸钙含量对于硫酸钙复合物pH的影响, 研究发现在不同的时间点内, 随着硅酸钙含量增加, pH值增高。对于含有20%和40%硅酸钙的复合物pH下降曲线平稳, 14天时分别为7.22和7.26, 84天为7.34。这与本研究应用碳酸钙的结果有所差异: 含有不同碳酸钙各组pH急性下降期在培养后3-5天, 可能与内植物表面松散的颗粒短期内进入培养液有关。而随着培养时间的增加, 紧密连接的内植物暴露也培养液, 其抗降解

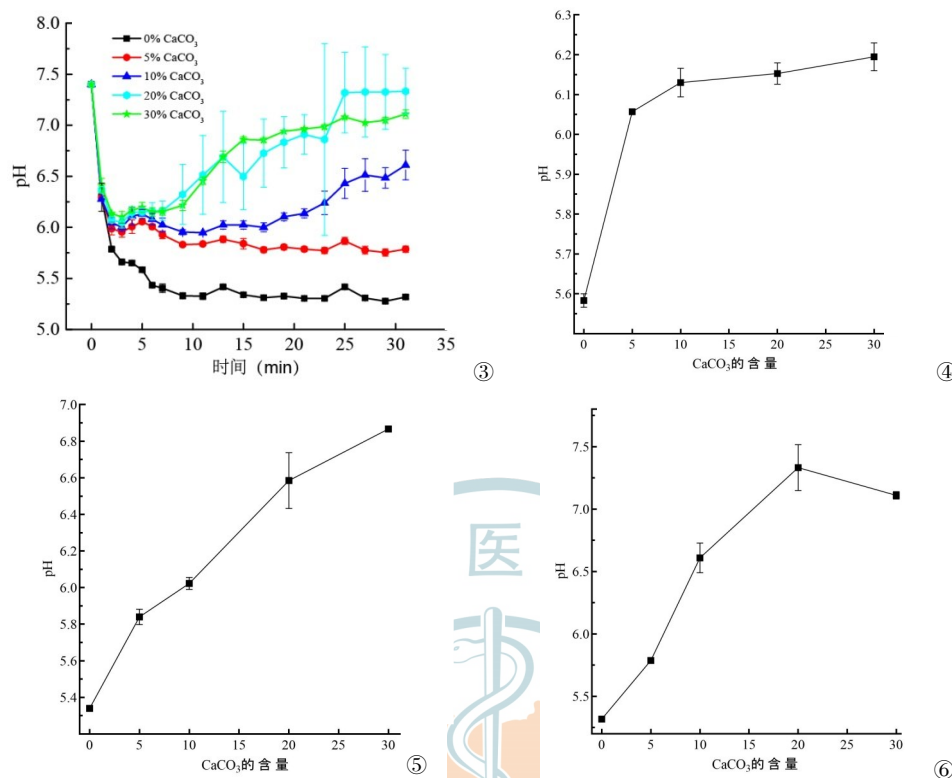


图3~6 硫酸钙降解过程中pH变化。图3 0~31天;图4 第5天;图5 第15天;图6 第31天

表3 硫酸钙降解过程中pH值变化( $\bar{x} \pm s$ )

时间点	0%CaCO <sub>3</sub>	5% CaCO <sub>3</sub>	10% CaCO <sub>3</sub>	20% CaCO <sub>3</sub>	30% CaCO <sub>3</sub>
pH <sub>0</sub>	7.4	7.4	7.4	7.4	7.4
pH <sub>1</sub>	6.290±0.116	6.290±0.014	6.277±0.004	6.367±0.026	6.410±0.050
pH <sub>2</sub>	5.787±0.012	5.987±0.049	6.043±0.048	6.073±0.025	6.135±0.005
pH <sub>3</sub>	5.660±0.008	5.953±0.040	6.003±0.031	6.043±0.040	6.100±0.040
pH <sub>4</sub>	5.650±0.014	6.007±0.054	6.110±0.071	6.147±0.045	6.170±0.020
pH <sub>5</sub>	5.583±0.017	6.057±0.005	6.130±0.036	6.153±0.027	6.195±0.035
pH <sub>6</sub>	5.433±0.012	6.007±0.020	6.080±0.045	6.157±0.068	6.150±0.030
pH <sub>7</sub>	5.403±0.034	5.927±0.031	6.023±0.054	6.163±0.076	6.155±0.025
pH <sub>9</sub>	5.330±0.024	5.830±0.014	5.953±0.021	6.323±0.240	6.215±0.035
pH <sub>11</sub>	5.327±0.026	5.837±0.009	5.947±0.005	6.513±0.315	6.455±0.025
pH <sub>13</sub>	5.417±0.012	5.883±0.025	6.023±0.033	6.690±0.365	6.690±0.040
pH <sub>15</sub>	5.340±0.016	5.840±0.042	6.023±0.033	6.497±0.265	6.860±0.020
pH <sub>17</sub>	5.310±0.022	5.780±0.022	6.000±0.036	6.727±0.272	6.855±0.015
pH <sub>19</sub>	5.327±0.017	5.807±0.021	6.103±0.031	6.833±0.205	6.940±0.009
pH <sub>21</sub>	5.303±0.009	5.787±0.021	6.137±0.037	6.910±0.158	6.965±0.005
pH <sub>23</sub>	5.303±0.012	5.773±0.025	6.240±0.094	6.860±0.768	6.985±0.015
pH <sub>25</sub>	5.417±0.012	5.867±0.029	6.43±0.120	7.320±0.323	7.080±0.010
pH <sub>27</sub>	5.307±0.019	5.777±0.031	6.513±0.130	7.327±0.360	7.025±0.005
pH <sub>29</sub>	5.277±0.017	5.753±0.029	6.483±0.082	7.326±0.299	7.050±0.020
pH <sub>31</sub>	5.317±0.012	5.787±0.025	6.610±0.119	7.333±0.184	7.110±0.030
平均	5.462±0.242	5.892±0.131	6.165±0.198	6.672±0.452	6.608±0.386

表4 硫酸钙复合材料的降解率(%,  $\bar{x} \pm s$ )

降解率	0%CaCO <sub>3</sub>	5% CaCO <sub>3</sub>	10% CaCO <sub>3</sub>	20% CaCO <sub>3</sub>	30% CaCO <sub>3</sub>
m <sub>0</sub>	0	0	0	0	0
m <sub>5</sub>	11.35±0.05	12.19±0.26	11.24±0.07	11.57±0.18	12.32±0.37
m <sub>10</sub>	25.13±1.70	25.03±0.07	23.64±0.62	25.58±0.03	26.48±0.17
m <sub>15</sub>	36.64±2.00	37.59±0.13	35.43±0.56	38.51±0.21	40.69±0.15
m <sub>20</sub>	47.80±1.93	47.80±1.93	47.80±1.93	51.06±0.20	54.11±0.31
m <sub>25</sub>	59.01±1.79	62.11±0.07	58.07±0.71	63.37±0.16	67.45±0.16
m <sub>30</sub>	69.62±1.78	73.44±0.16	69.44±0.79	75.27±0.28	79.43±0.21
m <sub>35</sub>	80.86±1.36	85.45±0.05	80.80±0.96	87.22±0.44	92.11±0.14
m <sub>40</sub>	90.87±1.45	88.15±0.20	92.68±1.30	97.38±0.58	99.23±0.54

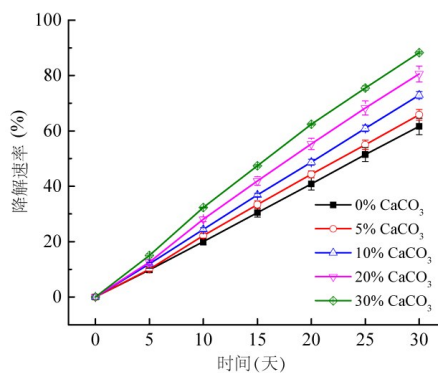


图7 硫酸钙复合材料的降解率

能力增强,此时少量的碳酸钙与硫酸钙的降解产物发生部分中和反应,从而使pH逐渐的、平稳的下降。

此外,碳酸钙/硫酸钙复合物体外培养15天时,10%组、20%和30%三组pH值分别维持在 $6.023 \pm 0.033$ 、 $6.497 \pm 0.26$ 、 $6.860 \pm 0.020$ ,有利于新骨形成;而文献报道硅酸钙/硫酸钙复合物14天时,pH在7.20左右<sup>[10]</sup>,甚至高达7.9<sup>[9]</sup>,此时过早出现如此高的碱性环境可能阻碍新骨组织的长入<sup>[5,9]</sup>。因此,与硅酸钙相比,碳酸钙是一种更好的酸碱度缓冲剂。

## 二、体外降解

单纯硫酸钙和包含不同含量碳酸钙的复合材料早期出现降解过快,而过快降解速率是外科级硫酸钙的主要缺陷之一,研究发现单纯硫酸钙的体内降解速率为4~6周<sup>[11-14]</sup>。Petruskevicius等<sup>[15]</sup>认为6周的降解时间不足以达到骨愈合,这将限制其在临床中的应用;若要减缓硫酸钙的降解速率,应该复合其他添加剂。碳酸钙能够形成碳酸根离子键,能够抵抗溶解作用,从而延迟硫酸钙复合材料的降解时间。Pförringer等<sup>[8]</sup>在兔胫骨干骺端骨缺损模型中,对比单纯硫酸钙、硫酸钙/碳酸钙联合不同抗生素的

体内降解时间,研究发现:平片、Micro-CT及组织学检查均显示单纯硫酸钙4周内出现快速降解,术后6周几乎被完全吸收;而含有不同抗生素的硫酸钙/碳酸钙复合材料在术后12周时可见清晰的植骨材料轮廓,术后24周植骨材料的轮廓仍然可见;且其成骨性能明显优于单纯硫酸钙组。Handrini等<sup>[16]</sup>采用体外、体外降解试验均发现碳酸钙不仅能够减缓硫酸钙的降解率,而且能够加速血管的长入、新骨的形成。

在本文研究中,仅有2%碳酸钙组的降解速率有所降低;5%组的降解速率与空白组类似;而其他各组的降解速率有所增加。这与其他文献报道的17.9%有所不同,可能与该类复合材料的其他添加剂有关。

## 三、抗压强度

既往研究表明:碳酸钙的添加,会引起硫酸钙骨水泥复合物的抗压强度减弱;可能原因是:①碳酸钙阻断硫酸钙颗粒间的粘合力,从而降低抗压强度<sup>[9]</sup>;②碳酸钙的加入增加硫酸钙复合材料的孔隙性,从而降低了抗压强度<sup>[16]</sup>。Handrini等<sup>[16]</sup>研究不同含量的碳酸钙对硫酸钙的抗压强度及生物学性能的影响,发现碳酸钙浓度25%时,硫酸钙复合物的抗压强度从13.6 Mpa降至2.4 Mpa。

这与本研究的结果不同:随着CaCO<sub>3</sub>的含量的增加,抗压强度呈先增加后减少的趋势。当含量为10%CaCO<sub>3</sub>与20%CaCO<sub>3</sub>时,抗压强度达到最大值,此后随着含量的增加而逐渐减少。可能是因为作为加速剂的钙离子,随着CaCO<sub>3</sub>含量的增加,使钙离子含量增多,分子间力增加,从而增强抗压强度;而如果含量继续增大,碳酸钙离子破坏分子间的粘合力大于钙离子间的粘合力,从而降低抗压强度。

## 四、凝固时间

任何添加剂都会阻碍硫酸钙分子之间的反应,



从而延长硫酸钙复合物的凝固时间。伦登兴等<sup>[17]</sup>研究发现硫酸钙骨水泥的凝固时间因脱钙骨基质(decalcified bone matrix, DBM)的加入而延长:当DBM含量增加5%时,硫酸钙骨水泥的凝固时间增加6倍,当增加至10%,凝固时间延长10倍。

这与本研究结果不同,随着碳酸钙含量的添加,硫酸钙骨水泥的凝固时间先延长后缩短,可能原因是:碳酸钙晶体分布在硫酸钙晶体周围,阻碍硫酸钙之间的反应;而当含量在10%时,碳酸钙晶体能均匀的分散在复合体的表面,使碳酸钙晶体与硫酸钙晶体形成团块状,导致复合物体内部结构变得疏松,故而凝固时间延长;而随着含量进一步增加,碳酸钙释放大量 $\text{Ca}^{2+}$ ,而钙离子是半水硫酸钙向二水硫酸钙转化的加速剂,从而加快凝固。

### 五、局限性

本文通过PBS模拟体液测量pH值和降解速率,与体内试验可能存在一定的差距;需要动物实验进一步验证;本文仅仅测量复合物的初始抗压强度;而降解过程中的抗压强度变化规律同样重要,需要进一步的研究<sup>[18]</sup>。不同的塑性剂能够影响复合材料的理化性能,这可能是本文结果与文献报道结果不一致的原因。但本文侧重点是研究碳酸钙在硫酸钙复合材料中的作用,而其他添加剂需进一步验证。

结论:作为碱性添加物的碳酸钙,不仅能够直接缓冲硫酸钙降解后的酸性环境;而且通过影响复合材料的降解速率,间接影响到培养液的pH值变化。但是,碳酸钙的加入影响了硫酸钙复合材料的抗压强度和凝固时间;可能影响到硫酸钙的可注射性能及在负重部位的应用。

### 参 考 文 献

- 1 Friesenbichler J, Maurer-Ertl W, Sadoghi P, et al. Adverse reactions of artificial bone graft substitutes: lessons learned from using tricalcium phosphate cement [J]. Clin Orthop Relat Res, 2014, 472(3): 976-982.
- 2 Coetzee AS. Regeneration of bone in the presence of Calcium sulfate [J]. Arch Otolaryngol, 1980, 106(7): 405-409.
- 3 Chen WL, Chen CK, Lee JW, et al. Structure, properties and animal study of a Calcium phosphate/Calcium sulfate composite cement [J]. Materials Science and Engineering C, 2014, 37: 60-67.
- 4 Sidqui M, Collin P, Vitte C, et al. Osteoblast adherence and resorption activity of isolated osteoclasts on Calcium sulphate hemihydrate

[J]. Biomaterials, 1995, 16(17): 1327-1332.

- 5 Walsh WR, Morberg P, Yu Y, et al. Response of a Calcium sulfate bone graft substitute in a confined cancellous defect [J]. Clin Orthop Relat Res, 2003 (406): 228-236.
- 6 Toyoda S, Oota M, Ishikawa H, et al. Calcium sulfate and Calcium carbonate as root-knot-nematode attractants and possible trap materials to protect crop plants [J]. Plant Biotechnol (Tokyo), 2021, 38(1): 157-159.
- 7 Coraça-Huber D, Hausdorfer J, Fille M, et al. Calcium carbonate powder containing gentamicin for mixing with bone grafts [J]. Orthopedics, 2014, 37(8): e669-e672.
- 8 Pförringer D, Harrasser N, Mühlhofer H, et al. Osteoinduction and -conduction through absorbable bone substitute materials based on Calcium sulfate: in vivo biological behavior in a rabbit model [J]. J Mater Sci Mater Med, 2018, 29(2): 17.
- 9 Wang JC, Zhang L, Sun XL, et al. Preparation and in vitro evaluation of strontium-doped Calcium silicate/gypsum bioactive bone cement [J]. Biomed Mater, 2014, 9(4): 045002.
- 10 Ding YT, Tang SC, Yu BQ, et al. In vitro degradability, bioactivity and primary cell responses to bone cements containing mesoporous magnesium-calcium silicate and Calcium sulfate for bone regeneration [J]. J R Soc Interface, 2015, 12(111): 20150779.
- 11 Gitelis S, Piasecki P, Turner T, et al. Use of a Calcium sulfate-based bone graft substitute for benign bone lesions [J]. Orthopedics, 2001, 24(2): 162-166.
- 12 Gitelis S, Virkus W, Anderson D, et al. Functional outcomes of bone graft substitutes for benign bone tumors [J]. Orthop, 2004, 27(1 Suppl): s141-s144.
- 13 Turner TM, Urban RM, Gitelis S, et al. Radiographic and histologic assessment of Calcium sulfate in experimental animal models and clinical use as a resorbable bone-graft substitute, a bone-graft expander, and a method for local antibiotic delivery. One institution's experience [J]. J Bone Joint Surg Am, 2001, 83-A Suppl 2(Pt 1): 8-18.
- 14 Moed BR, Willson CS, Craig JG, et al. Calcium sulfate used as bone graft substitute in acetabular fracture fixation [J]. Clin Orthop Relat Res, 2003 (410): 303-309.
- 15 Petruskevicius J, Nielsen S, Kaalund S, et al. No effect of Osteoset, a bone graft substitute, on bone healing in humans: a prospective randomized double-blind study [J]. Acta Orthop Scand, 2002, 73(5): 575-578.
- 16 Dewi AH, Ana ID, Wolke J, et al. Behavior of POP-calcium carbonate hydrogel as bone substitute with controlled release capability: a study in rat [J]. J Biomed Mater Res A, 2015, 103(10): 3273-3283.
- 17 伦登兴, 厉锋, 李国雨, 等. 富含生物活性的可注射硫酸钙骨水泥的研究 [J]. 中华骨科杂志, 2021, 41(16): 0310-00233.
- 18 Lin M, Zhang L, Wang JC, et al. Novel highly bioactive and biodegradable gypsum/Calcium silicate composite bone cements: from physicochemical characteristics to in vivo aspects [J]. J Mater Chem B, 2014, 2 (14): 2030-2038.

(收稿日期: 2023-10-25)

(本文编辑: 吕红芝)

伦登兴, 徐丽娜, 李思影, 等. 酸碱调节对硫酸钙骨水泥理化性能影响的体外研究 [J/CD]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2024, 10(3): 125-131.