论著

DOI:10.16016/j.1000-5404.201411093

碳-硅橡胶机械性能和生物安全性的初步研究

陈 兴,周 鑫,张一鸣,石小花,樊东力 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院整形美容科)

[摘要] **目的** 采用碳离子注入对硅橡胶进行表面改性,得到碳-硅橡胶,评价碳-硅橡胶的机械性能和生物安全性。**方法** 按照国家标准,采用邵氏硬度计(A型)和电子万能实验机,测量其邵氏硬度、抗拉强度、断裂伸长率以及断裂强度等机械性能参数;采用红细胞溶血实验、全身毒性实验、皮下植入实验、过敏与刺激实验、热源实验对其生物安全性进行评价。**结果** 邵氏硬度计和电子万能实验机测量结果表明碳离子注入法未改变硅橡胶机械性能;红细胞溶血实验显示材料溶血率小于国家标准,说明材料植入体内后不会引起溶血反应;全身毒性实验的结果表明材料不具有毒性;皮下植入实验结果表明有良好的体内安全性和相容性;刺激实验:刺激率为0;致敏实验:致敏率为0;热源反应中家兔平均体温升高为0.1 ℃,其不具有致热源作用,初步符合生物医用材料的要求。**结论** 碳离子注入硅橡胶表面未改变硅橡胶的机械性能,并具有良好的生物安全性。

[关键词] 碳离子注入;硅橡胶;生物安全性;机械性能

[中图法分类号] R318.08; TQ330.7; TQ333.93 [文献标志码] A

Mechanical properties and bio-safety evaluation of carbon ion implanted silicone rubber

Chen Xing, Zhou Xin, Zhang Yiming, Shi Xiaohua, Fan Dongli (Department of Plastic and Cosmetic Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the mechanical properties and bio-safety of carbon ion implanted silicone rubber (C-SR). **Methods** According to the national standard, the mechanical properties were measured with a Shore durometer (type A) and an electronic universal testing machine to obtain parameters including Shore A hardness, tensile strength, elongation at break and tear strength. The bio-safety was evaluated by erythrocyte hemolysis test, systemic toxicity test, subcutaneous implant test, allergic and dermal irritation test, and pyrogenic test. **Results** The evaluation results showed that the C-SR had the same mechanical properties as pure SR. The erythrocyte hemolysis test showed that the hemolysis rate of C-SR was lower than the national standard, which indicated that *in vivo* transplantation of C-SR could not cause the hemolytic reaction of the body. The systemic toxicity test results showed that C-SR had no toxicity. The subcutaneous implant test indicated that C-SR had good safety and compatibility in the body. The allergic and dermal irritation test result was zero, the same as the negative control, suggesting that C-SR had no allergic and dermal irritation. In the pyrogenic reaction, the body temperature of rabbits averagely increased by 0.1 ℃, indicating that C-SR had no pyrogenic effect, in accordance with the demands of medical materials. **Conclusion** The carbon ion implantation does not change the mechanical properties of SR, and C-SR has good bio-safety.

[**Key words**] carbon ion implantation; silicone rubber; bio-safety; mechanical properties

Supported by the National Nature Science Foundation of China (81372075) and the Transformation of Achievements Foundation of Third Military Medical University (2012XZH05). Corresponding author: Fan Dongli, E-mail: dlfan4612@163.com

[基金项目] 国家自然科学基金(81372075);第三军医大学科技成果转化基金(2012XZH05)

[通信作者] 樊东力,E-mail: dlfan4612@163.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20150312.1030.004.html(2015-03-12)

目前临床上应用的假体材料有聚氨基甲酸酯、聚丙烯、膨体聚四氟乙烯、硅橡胶等[1],但以上材料各有优缺点,均达不到理想材料的标准。因此,临床上迫切需要研制具有良好生物活性且并发症较轻的新型材料。相比研发新材料的困难,对现有材料进行改性成为当前生物材料研究领域一种切实有效的办法。

硅橡胶是目前整形外科临床应用最广泛的假体材料之一,因其表面呈生物惰性,植入体内后引起材料与组织间的结合度差,随着植入时间的增加可能出现一些并发症如感染、包膜挛缩、血清肿、外露、变形及移位等,从而导致二次或多次手术,增加患者的痛苦[2-6]。本课题组前期研究中采用离子注入法对硅橡胶表面进行不同剂量碳离子注入,得到碳-硅橡胶并且证实其表面形貌发生改变,亲水性增加,细胞在材料表面的黏附和生长能力得到明显提高[7],但其物理机械参数及生物安全性尚不明确。本研究对其机械性能和生物安全性进行分析和评价,以期为该材料的进一步研究及临床运用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料与仪器 采用双组分医用液体硅橡胶(成都晨光化工研究院),按模具制作100 mm×100 mm×1 mm大小的硅橡胶片,其后硅橡胶片采用多功能离子注入机(核工业西南物理研究院)注入剂量为1×10^{15}、3×10^{15}、1×10^{16} ion/cm^{2}的碳离子,分别标记为C1、C2、C3(普通未注入硅橡胶标记为C0);本研究涉及的其他仪器有:RGT-5A微机控制电子万能实验机(深圳瑞格尔公司);邵氏A型硬度计(北京卓川电子科技有限公司);电热恒温箱(上海跃进医疗器械厂)以及分光光度计722型(上海医用分析仪器厂)。

1.1.2 实验动物与试剂 6~8周龄SD大鼠52只,雌雄不限,体质量(190±10)g;成年豚鼠18只,雌雄不限,体质量(450±50)g;成年新西兰大白兔4只,雌雄不拘,体质量(2 500±500)g。以上动物均购于第三军医大学新桥医院实验动物中心。完全弗氏佐剂;甲醛;100 g/L十二烷基硫酸钠石蜡液。

1.2 方法

1.2.1 硬度测试 将试样置于75%医用酒精中浸泡3 min,去离子水超声振荡15 min,50 ℃温箱内烘干,将3张试样重叠,试样下垫置厚度为5 mm以上的光滑、平整的金属板;测试点间距>6 mm,与试样边缘距离20 mm;当硬度计底面与试样表面平稳并完全接合时起1 s内读数,每个试样的测量点不少于3点,测定值以$\bar{x}\pm s$计。

1.2.2 生物力学性能检测 将4种材料按《硫化橡胶或热塑性橡胶拉伸应力应变性能的测定》(国家标准GB/T 528-1998)[8]设计为哑铃状,固定于电子万能实验机上,开始检测前需做3次预拉伸,速度为30 mm/min,力度<2 N。测定项目包括:抗拉强度、断裂伸长率以及断裂强度。重复5次测试。

1.2.3 材料浸提液制备 碳离子注入硅橡胶用去离子水超声振荡15 min,表面用75%乙醇擦拭,75%乙醇浸泡24 h,紫外线下照射风干30 min,按碳硅橡胶表面积:生理盐水=1 cm^2:3 mL,放入消毒试管中密封管口,37 ℃恒温水浴箱中放置72 h。

1.2.4 红细胞溶血实验 采用真空抗凝管抽取健康成人志愿者新鲜全血4 mL,玻璃棒搅动,去除纤维蛋白原,加入生理盐水10 mL离心,洗涤,至上清不显红色为止。依次吸取2 mL稀释红细胞悬液分别放入30只试管中,随机分6组,每组5只,分别加入生理盐水2 mL(阴性对照组)、蒸馏水2 mL(阳性对照组)、浸提液2 mL(实验组)。混匀后,于37 ℃水浴30 min,观察有无溶血。观察3次(间隔1 h)。取上清液,在分光光度计540 nm处测定各样本光密度值[D(540)],计算溶血率。溶血率计算方法:溶血率=[样品D(540)-阴性对照D(540)]/[阳性对照D(540)-阴性对照D(540)]×100%。溶血率<5%符合国家标准。

1.2.5 全身毒性实验 取40只SD大鼠,分为4组(实验组C1、C2、C3和对照组C0),每组10只。无菌条件下按1 mL/kg剂量行腹腔内注射,实验组分别注入3种样品的浸提液,对照组注入等量的生理盐水。记录注射后0、24、48 h及72 h后体质量变化,并观察有无中毒症状或死亡。分别于术前,术后4、7 d以及14 d取鼠尾静脉血检测谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、肌酐(Cr)以及尿素(BUN)水平,评判改性材料对动物肝及肾功能代谢的影响。

1.2.6 皮下植入实验 参照《医疗器械生物学评价》第6部分:植入后局部反应实验(GB/T 16886.10-2005/ISO 10993-10:2002)[9]。取12只SD大鼠,随机分为4组,将材料剪切成1 cm×1 cm大小消毒后,植入大鼠背部。分别于术后7、30 d完整取出材料周围组织,冰冻切片,苏木精-伊红染色。镜下观察炎症及相关细胞情况。

1.2.7 刺激实验 参照《医疗器械生物学评价》第10部分:刺激与迟发型超敏反应实验(GB/T 16886.10-2005/ISO 10993-10:2002)[9]制备试剂和实验步骤。取6只豚鼠进行实验,实验分为6组:C0对照组,C1、

C2、C3为实验组，阴性对照组（0.9%生理盐水），阳性对照组（4%甲醛溶液）。连续观察72 h后取注射部位皮肤10%甲醛固定，将固定组织石蜡包埋切片，苏木精-伊红染色。镜下观察炎症细胞情况。

1.2.8　致敏实验　参照《医疗器械生物学评价》第10部分：刺激与迟发型超敏反应实验（GB/T 16886.10-2005/ISO 10993-10:2002）[9]制备试剂和实验步骤。取12只豚鼠分为6组，每组2只，分组同1.2.7。进行24 h激发，观察激发部位皮肤的红斑和水肿情况，取腹部皮肤于4%多聚甲醛固定，将固定组织石蜡包埋切片，苏木精-伊红染色。镜下观察炎症细胞情况。

1.2.9　热源实验　经体温实验筛选合格的4只新西兰大白兔，测定其实验前体温情况即正常体温，其后耳尖静脉注射实验组浸提液，注射后每隔30 min测量体温1次，共6次；以6次测得体温中最高的1次减去正常体温，为该兔体温的升高度数；如6次体温均低于正常体温，则升温度数以“0”计。

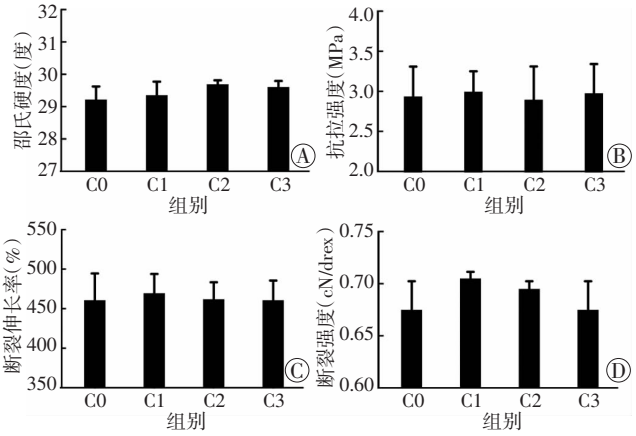
1.3　统计学分析

采用SPSS 18. 0统计软件进行单因素方差分析，组间比较采用Tukey法。

2　结果

2.1　机械性能评价

如图1所示，3种剂量碳离子注入硅橡胶表面后（C1、C2、C3）与普通硅橡胶（C0）相比，邵氏硬度、抗拉强度、断裂伸长率以及断裂强度差异均无显著性（$P>0.05$）。



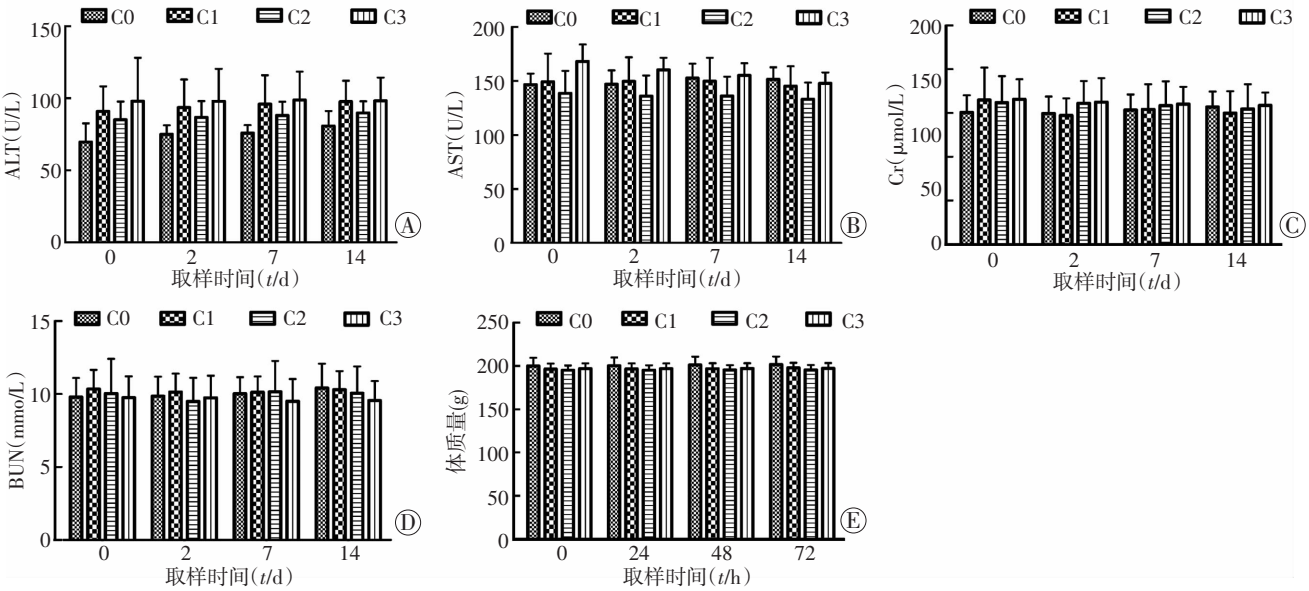
A：邵氏硬度；B：抗拉强度；C：断裂伸长率；D：断裂强度

图1　普通硅橡胶与碳-硅橡胶机械性能检测

2.2　生物安全性评价

2.2.1　红细胞溶血实验　C1、C2、C3溶血率分别为0.1%、0.3%、0.4%，3种碳-硅橡胶浸提液红细胞溶血率均<5%，符合国家标准，说明材料植入体内后不会引起机体的溶血反应。

2.2.2　全身毒性实验　腹腔注射浸提液连续72 h观察，未发现步态不稳、瘫痪、呼吸困难、惊厥、呕吐、皮肤出现淤血、瘀斑及明显的出血点、尿便排泄不良等变化。血液生化检查结果提示C1、C2、C3实验组和C0对照组的肝肾功没有明显差异（图2A～D），C1、C2、C3实验组和C0对照组体质量均呈轻微上升趋势，但组间体质量增加比较差异无统计学意义（$P>0.05$，图2E）。



A：谷丙转氨酶（ALT）；B：谷草转氨酶（AST）；C：肌酐（Cr）；D：尿素（BUN）；E：体质量

图2　大鼠腹腔注射材料浸提液全身毒性实验

2.2.3 植入实验 材料植入体内后,所有 SD 大鼠生命体征平稳,未出现死亡,术后伤口恢复良好,材料无外露等情况。镜下观察材料周围组织 HE 染色,观察 7 d 和 30 d 各组标本,C0 对照组炎性细胞数目较各实验组组多。同一实验组,7 d 时炎性细胞数目多于 30 d组。C1、C2、C3 实验组间在短期植入后未发现明显的差异(图 3)。

2.2.4 刺激实验 刺激实验后,阳性对照组皮肤出现明显的瘢痕,阴性对照组、C0 普通组以及 C1、C2、C3 实验组皮肤正常。此外 HE 染色结果表明,阳性对照组呈现出大量的炎性细胞,阴性对照组、C0 普通组以及 C1、C2、C3 实验组炎性细胞明显较少(图 4)。

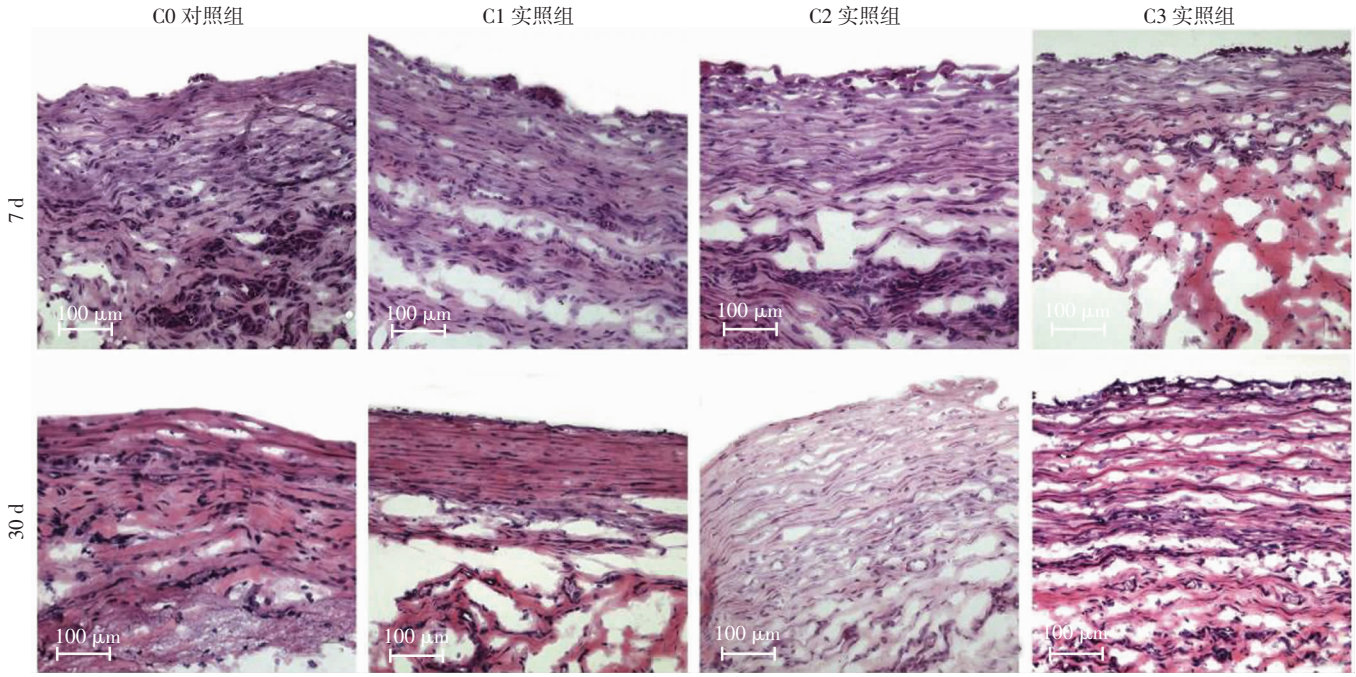
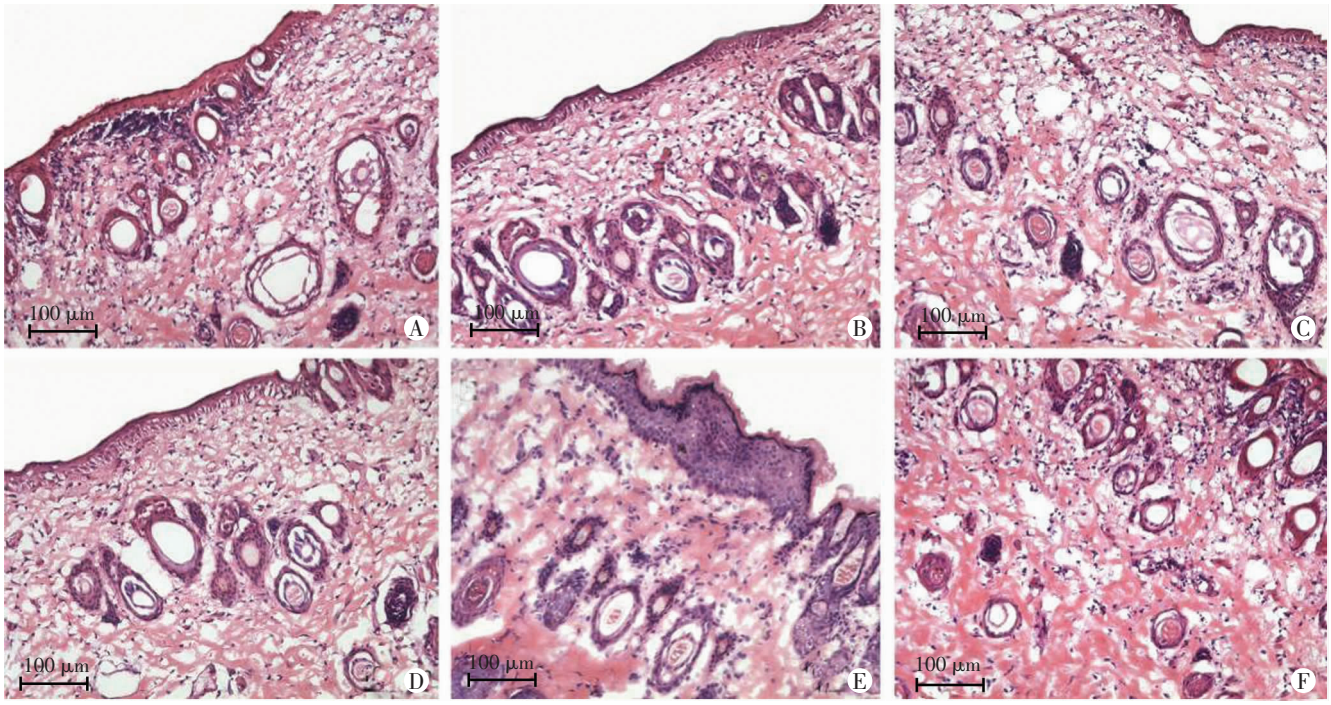


图 3 各组大鼠植入实验 HE 染色观察



A:C0 对照组;B:C1 实验组;C:C2 实验组;D:C3 实验组;E:阳性对照组;F:阴性对照组

图 4 各组大鼠刺激实验 HE 染色观察

2.2.5 致敏实验 致敏实验结果表明致敏率为0，与阴性对照组没有差异，HE染色结果显示，阳性对照组呈现出大量炎性细胞，而C1、C2、C3实验组，C0对照组以及阴性对照组均相似，无明显炎性细胞(图5)。

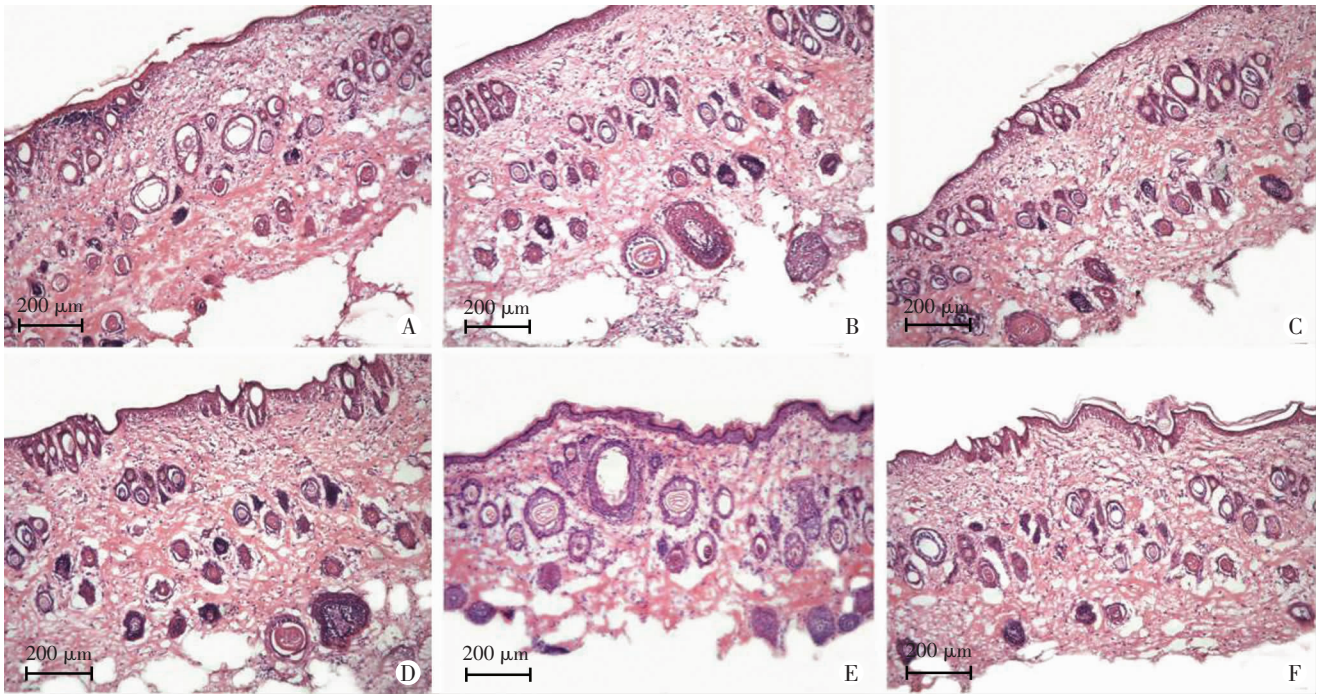
2.2.6 热源实验 热源实验结果显示，4只新西兰大白兔体温升高均为0.1 ℃，符合<0.6 ℃的国家标准。

3 讨论

理想的软组织填充材料应具备优异的生物相容性，良好的生物力学特性，稳定的化学性能，非磁性，易于加工、消毒等[10-11]。硅橡胶假体材料因其优良的理化性能，是当前整形外科最为常用的软组织填充材料；但其表面疏水性能导致材料的生物相容性降低，组织与材料表面结合度差，并且细菌易黏附在材料表面进入体内，从而造成硅橡胶假体植入体内易发生移位、包膜挛缩、感染等并发症[12-13]。为了增加硅橡胶表面的亲水性达到减少并发症的目的，使硅橡胶能成为理想软组织填充材料，本课题组前期对其表面进行碳离子注入改性从而得到了碳-硅橡胶[7]。离子注入会使材料表面聚合物化学配比和结构的变化，引起表面力学性能的改变[14-15]，但是否会影响材料的机械性能和生物安全性，尚不得知。因此，本研究对碳-硅橡胶进行机械性及生物安全性进行评价。

硅橡胶具备良好的机械性能，使其能成为良好的软组织填充材料；但表面改性后的碳-硅橡胶是否还具有良好的理化稳定性呢？本研究对碳-硅橡胶材料进行了邵氏硬度、抗拉强度、断裂伸长率、断裂强度等实验。理想的软组织填充材料的邵氏硬度范围为25～35邵氏硬度[16]，本实验发现碳-硅橡胶邵氏硬度为29～30邵氏硬度，符合理想生物材料标准。其次，从抗拉强度、断裂伸长率以及断裂强度等各值来看，均符合国家标准。由此得出碳-硅橡胶拥有良好的机械性能，达到了软组织填充材料的标准，也说明碳离子注入没有对其机械性能造成显著影响。

碳离子注入硅橡胶后，会引起表面性能的变化，这是否改变了碳-硅橡胶的生物安全性？本研究参照《医疗器械生物学评价》[9]，进行了溶血实验、全身毒性、皮下植入、刺激性、致敏性及热源性实验。3种碳-硅橡胶的浸提液，均无溶血反应；全身毒性实验结果提示实验材料浸提液不会引起机体中毒；植入实验结果提示实验材料拥有良好的体内安全性和相容性；刺激性和致敏性结果提示实验材料浸提液无刺激性和致敏性；热源性实验结果提示实验材料浸提液无致热源作用；以上实验结果均达到生物材料国家检验标准，说明碳-硅橡胶拥有良好的生物安全性，



A：C0对照组；B：C1实验组；C：C2实验组；D：C3实验组；E：阳性对照组；F：阴性对照组

图5 各组大鼠致敏实验HE染色观察

符合生物材料的应用标准,使其具有应用于临床的可能性,对其进行进一步在体植入研究提供了理论依据。

综上所述,碳-硅橡胶的机械性能稳定、无溶血性、无毒性、无刺激性、无致敏性及无致热源性,基本满足整形外科软组织填充材料的机械性能及生物安全性的要求,对实验材料的下一步研究提供了理论依据,也为离子注入改性硅橡胶的临床应用奠定基础,但本实验缺乏相关机制研究,下一步实验将会对碳-硅橡胶优于普通硅橡胶的具体机制进行研究。

参考文献:

[1] Abd-El-Fattah M Y, Rashad H M, Kashef N A, *et al*. Evaluation of two different reinforcing materials used with silicone auricular prostheses [J]. Tanta Dental Journal, 2013, 10(2): 31-38.

[2] Pittet B, Montandon D, Pittet D. Infection in breast implants [J]. Lancet Infect Dis, 2005, 5(2): 94-106.

[3] Luo S K, Chen G P, Sun Z S, *et al*. Our strategy in complication management of augmentation mammaplasty with polyacrylamide hydrogel injection in 235 patients [J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2011, 64(6): 731-737.

[4] Roth F S, Gould D J, Chike-Obi C J, *et al*. Late seroma during pregnancy, a rare complication in prosthetic breast augmentation: case report [J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2012, 65(7): 973-976.

[5] Berry M G, Davies D M. Breast augmentation: Part I: A review of the silicone prosthesis [J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2010, 63(11): 1761-1768.

[6] Franca D C, de-Castro A L, Soubhia A M, *et al*. Biocompatibility evaluation of 3 facial silicone elastomers [J]. J Craniofac Surg, 2011, 22(3): 837-840.

[7] Wang SL, Shi XH, Yang Z, *et al*. Osteopontin (OPN) is an important protein to mediate improvements in the biocompatibility of C ion-implanted silicone rubber [J]. PLoS One, 2014, 9(6): e98320.

[8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局、中国国家标准化管理委员会. GB/T528-1998 硫化橡胶或热塑性橡胶拉伸应力应变性能的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 1998.

[9] 由少华. 解读 GB/T 16886《医疗器械生物学评价》系列标准[J]. 中国疗器械信息, 2005, 11(1): 15-19.

[10] Xue L, Zhang Y, Zuo Y, *et al*. Preparation and characterization of novel UV-curing silicone rubber *via* thiol-ene reaction [J]. Mater Lett, 2013, 106: 425-427.

[11] Aziz T, Waters M, Jagger R. Analysis of the properties of silicone rubber maxillofacial prosthetic materials [J]. J Dent, 2003, 31(1): 67-74.

[12] Jung D H, Kim B R, Choi J Y, *et al*. Gross and pathologic analysis of long-term silicone implants inserted into the human body for augmentation rhinoplasty: 221 revision cases [J]. Plast Reconstr Surg, 2007, 120(7): 1997-2003.

[13] Seyhan H, Kopp J, Beier J P, *et al*. Smooth and textured silicone surfaces of modified gel mammary prostheses cause a different impact on fibroproliferative properties of dermal fibroblasts [J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2011, 64(3): e60-e66.

[14] Savkin K P, Bugaev A S, Nikolaev A G, *et al*. Sheet resistance of alumina ceramic after high energy implantation of tantalum ions [J]. Appl Surf Sci, 2014, 310: 321-324.

[15] Ochsner R, Kluge A, Zechel-Malonn S, *et al*. Improvement of surface properties of polymers by ion implantation [J]. Nucl Instrum Methods Phys Res B, 1993, 80/81(Pt 2): 1050-1054.

[16] Goiato M C, Pesqueira A A, Santos D M, *et al*. Evaluation of hardness and surface roughness of two maxillofacial silicones following disinfection [J]. Braz Oral Res, 2009, 23(1): 49-53.

(**收稿**:2014-11-10;**修回**:2014-12-15)

(编辑 王小宴)