

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00301

硅胶包埋永磁铁犬体内植入安全性的初步观察

王剑火¹, 李美均², 雷军², 侯春林^{3*}

1. 南京军区福州总医院 476 临床部外一科, 福州 350002

2. 南京军区福州总医院 476 临床部病理科, 福州 350002

3. 第二军医大学长征医院骨科, 上海 200003

[摘要] **目的** 观察硅胶包埋永磁铁犬体内植入的生物安全性, 探讨依据指南针原理设计的排尿报警装置临床应用的安全性。**方法** 成年雄性犬, 体质量 11~12 kg, 随机分为实验组($n=8$)和对照组($n=4$); 实验组植入硅胶包埋的直径 10 mm、厚 3 mm 的钕铁硼永磁铁, 其表面磁感应强度为 0.30 T; 对照组植入同等规格的经硅胶包埋的钕铁硼合金。将植入物固定在膀胱前壁, 饲养 1 年, 观察其生存情况及局部病理变化, 对比观察术前和术后犬尿液。**结果** 实验组 8 只犬中, 1 只术后 10 h 死于手术并发症, 另 1 只术后 3 周因肠道内铁丝被永磁铁吸住而出现肠梗阻, 其他 6 只犬和对照组 4 只犬术后一般情况良好, 精神、食欲及二便无明显异常, 切口愈合良好, 无感染发生。术后 1 年处死, 在这 10 只犬中, 大网膜与膀胱壁在植入物周围发生粘连, 植入物周围的纤维囊壁薄, 其下方的膀胱壁增厚, 膀胱黏膜面正常。植入物周围组织炎症反应和纤维囊级别均为 2 级。术前和术后尿常规无明显异常。**结论** 钕铁硼永磁铁经硅胶包埋后具有良好的生物安全性, 值得进一步研究。

[关键词] 神经源性膀胱; 膀胱容量监测装置; 排尿报警装置; 磁场; 生物安全性; 脊髓损伤; 硅胶

[中图分类号] R 694.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)03-0301-05

Evaluation of biological safety of silicon membrane embedded permanent magnets implanted in canine

WANG Jian-huo¹, LI Mei-jun², LEI Jun², HOU Chun-lin^{3*}

1. The First Surgical Department, The 476th Clinical Division, Fuzhou General Hospital, PLA Nanjing Military Area Command, Fuzhou 350002, Fujian, China

2. Department of Pathology, The 476th Clinical Division, Fuzhou General Hospital, PLA Nanjing Military Area Command, Fuzhou 350002, Fujian, China

3. Department of Orthopaedics, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[Abstract] **Objective** To investigate the biological safety of silicon membrane embedded permanent magnets implanted into canine, so as to evaluate the safety of a micturition alert device designed on the principle of compass. **Methods** Twelve adult male dogs (weighing 11-12 kg) were divided into experimental group (8 dogs) and control group (4 dogs). The experimental group was implanted with a silicon membrane embedded NdFeB magnet, which was 10 mm in diameter and 3 mm in thickness and with a magnetic induction intensity of 0.3 Tesla at the center of the pole face surface. The control group was implanted with a silicon membrane embedded NdFeB alloy with the same dimensions. The grafts were sutured onto the anterior surface of the bladder wall. The dogs were then allowed to live for one year. Both the survival and local pathology around the grafts were observed after implantation. And the pre-operation urine and post-operation urine were compared between the two groups. **Results** One dog in the experimental group died from operation complications 10 hours after operation, another dog had intestinal obstruction 3 weeks after operation because iron wires in the intestinal tract was caught up by the permanent magnet. The rest 6 dogs in the experimental group and 4 dogs in the control group had no abnormalities in spirit, appetite, urine or stool, and there were no infections. The animals were sacrificed one year after operation. Adhesion was found between the epiploon and the bladder wall around permanent magnets in these 10 dogs; the fibrous capsule around the permanent magnets was thin, and the local bladder wall below permanent magnets was thickened, with normal bladder mucosa. Grade 2 inflammatory reaction and fibrous capsule of the local tissue were noted around the grafts. The findings of urine routine were normal before and after operation. **Conclusion** NdFeB permanent magnets embedded with silicon membrane are biologically safe

[收稿日期] 2009-11-03 **[接受日期]** 2010-02-26

[基金项目] 国家自然科学基金 (30772217). Supported by National Natural Science Foundation of China (30772217).

[作者简介] 王剑火, 博士, 主治医师. E-mail: xianyou2004@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 021-81885627, E-mail: chunlin_hou@yahoo.com.cn

for clinical application, which warrants further investigation.

[Key words] neurogenic bladder; bladder volume monitors; micturition alert device; magnetic field; biological safety; spinal cord injuries; silica gel

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(3): 301-305]

排尿报警装置是一类能够对患者的膀胱容量或压力进行实时监测并适时报警从而提醒患者排尿的设备,有望成为治疗尿意缺失的一种方法^[1-4]。根据指南针原理设计的排尿报警装置由永磁铁和报警仪组成,永磁铁以硅胶包埋后固定在膀胱前壁,需要在体内长期植入^[5],其生物安全性是该装置临床应用可行性的重要影响因素。前期的体外试验^[6]表明,硅胶包埋的永磁铁具有轻微的细胞毒性,但其体内效果尚不清楚。因此,本研究将钕铁硼永磁铁以硅胶包埋后直接固定于犬膀胱前壁,在体初步观察其生物安全性,为后续研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 主要材料 直径10 mm、厚3 mm的圆柱状N45牌钕铁硼永磁铁(其表面磁感应强度0.29~0.31 T)、未磁化的同等规格的钕铁硼磁材均购于宁波宁港永磁材料有限公司。医用生物硅胶膜(规格1:厚1 mm;规格2:厚0.1 mm)和医用胶浆均由上海橡胶制品研究所提供。

1.2 植入材料的制备 在规格1的硅胶膜上放置实验组或对照组材料,在材料周围的硅胶膜上涂一薄层胶浆,再用规格2的硅胶膜包住材料,使两层硅胶膜通过胶浆黏在一起,放置72 h,胶浆完全固化后距材料边缘2 mm裁剪成纵断面呈“凸”字形的圆柱状,可分为上下2层,底层为1 mm厚的硅胶膜,其直径为14 mm,上层为0.1 mm厚硅胶膜包裹的材料层,其直径为10.2 mm。植入材料经环氧乙烷灭菌。

1.3 动物分组及植入手术 成年普通雄性杂交犬12只,体质量11~12 kg,由第二军医大学实验动物中心提供。随机选取其中8只作为实验组(编为1~8号),其余4只作为对照组(编为9~12号)。将犬仰卧位固定于手术台上,若犬在固定过程中出现排尿,则留取中段尿液行尿常规检查,如果不排尿,则麻醉后插入导尿管留取中段尿液行尿常规检查。以3%戊巴比妥钠溶液(25 mg/kg)麻醉后,剃除腹部体毛,常规消毒手术野、铺巾,取下腹壁正中切口,逐层切开进入腹腔。插入导尿管,使膀胱内残余尿液流出,以20 ml/min的速度向膀胱内注入无菌生理盐水50 ml使膀胱轻度充盈,以便将硅胶薄膜包埋的实验组或对照组植入材料缝在膀胱前壁的正中线上(图1A),逐层关闭腹部切口。

1.4 标本的获取及观察 术后自由笼养1年,给予青霉素钠注射液80万单位,肌注,每日3次,共5 d。观察犬术后的一般状态、饮食、二便以及腹部切口愈合情况。动物中途死亡或观察期满后,将犬仰卧位固定于手术台上,若犬在固定过程中出现排尿,则留取中段尿液行尿常规检查,如果不排尿,则以气栓法处死后插入导尿管留取中段尿液行尿常规检查。剃除腹部体毛,取原下腹壁正中切口,逐层切开进入腹腔,观察腹腔、膀胱及植入材料周围的情况,切取整个膀胱及植入材料周围的粘连组织,切开膀胱后壁,观察膀胱的黏膜面。切开植入材料的包囊,显露并取出植入材料,观察包囊及植入材料情况,切取植入材料中央正下方的包囊及膀胱前壁全层组织及远离植入材料的全层膀胱后壁组织标本,以甲醛溶液固定,常规石蜡包埋、切片、H-E染色,光镜下观察。

1.5 植入物周围炎症反应的评定 植入物周围炎症反应的评定包括炎症细胞的数目及类型(淋巴细胞、中性粒细胞、吞噬细胞)、纤维囊的厚度及有无异物颗粒。植入物周围炎症反应的等级分为:I级;未见或仅见极少量淋巴细胞;II级,可见少量淋巴细胞;III级,有少量中性粒细胞、淋巴细胞浸润和巨噬细胞反应;IV级,可见以中性粒细胞为主的炎症反应,可见吞噬细胞。纤维囊形成分级:I级,囊壁厚度稳定且 ≤ 0.03 mm,无继续增生现象;II级,纤维化囊壁致密,壁的厚度比形成初期要薄;III级,试样周围可见成纤维细胞与胶原纤维,并已形成纤维囊腔结构;IV级,试样周围可见小血管与成纤维细胞增生,开始形成疏松的囊壁。

2 结果

2.1 一般情况 1号犬于术后10 h死亡,其他11只犬术后24 h精神状态、食欲明显较术前差,不愿活动,嗜睡;至术后72 h,精神状态、食欲及活动基本恢复到术前状态。腹壁切口于术后7~10 d愈合、拆线。6号犬术后咬食拴笼子的铁丝线,术后2周开始出现尿频,1~3 h排尿1次,每次尿量少,术后3周左右开始出现纳差、不愿进食、精神差,无发热,术后23 d处死。其余10只犬饲养1年,处死前一般状况良好,精神状态、活动、饮食及二便均与术前一样。在观察期内均未出现呕吐、腹泻、发热等异常情况。

2.2 大体病理检查 1号犬死后尸检见:右心室内

有一条长约 15 cm、直径约 0.5 cm 的白色纤维血栓堵住右心室出口,膀胱未见异常,考虑血栓脱落致急性右心衰死亡。6 号犬处死后尸检见:腹部切口一期愈合,肠管与膀胱前壁粘连在一起,将永磁铁包在里面,剖开肠管,见肠管内有多条铁丝被永磁铁吸住,食物残渣受阻于此,近永磁铁面肠壁被铁丝刺穿,肠壁溃烂,被大网膜包裹,与腹腔不相通,永磁铁周围组织坏死,有少量分泌物,膀胱呈挛缩状,膀胱内无结石、肿瘤、溃疡。其他 10 只犬的腹部切口愈合良好,无瘢痕增生、切口疝形成等异常,腹壁与膀胱前

壁、大网膜、肠管无粘连,膀胱与肠管间无粘连,腹腔内均未发现积液、积脓或脓肿形成。实验组及对照组植入材料被大网膜包裹并形成包囊(图 1B),包囊壁薄,光滑,有光泽,包囊与植入材料间无粘连,易分离,无积液、积脓、积血等异常,包囊外大网膜及膀胱浆膜色泽均正常,未见明显充血和水肿,植入材料外观无明显改变。膀胱黏膜面未发现出血点、溃疡、肿瘤、结石等异常(图 1C)。植入材料下方的膀胱壁明显较后壁厚,为后者的 1.5~2.0 倍。



图 1 植入材料缝合固定在犬的膀胱前壁(A)、植入材料被大网膜包裹在膀胱前壁上(B)、植入材料及其包囊的大体病理(C)
Fig 1 Graft was sutured onto ventral surface of canine bladder(A); graft was embedded by greater omentum onto bladder ventral surface (B); and macroscopical pathology of graft and its encapsulation(C)

2.3 组织学观察 6 号犬膀胱壁各层均有不同程度的充血和水肿,从浆膜层到黏膜层明显减轻。在浆膜层内可见大量的急慢性炎症细胞浸润,血管充血明显,未见血栓。肌层明显增厚,肌间可见较多的炎症细胞浸润,血管轻度充血。黏膜层基本正常,个别地方也可见到炎症细胞和血管充血。术后 1 年处死的其他 10 只犬情况:实验组与对照组植入材料周围无明显差异,均未见炎症反应,在包囊的外层与膀胱肌层交界处可见轻度的充血、出血、炎症细胞浸润,炎症细胞主要为淋巴细胞,少量为中性粒细胞,炎症反应级别为 2 级。植入材料周围包囊完整,壁较厚,主要由胶原纤维和少量纤维细胞构成,胶原纤维和纤维细胞排列规则,纤维囊与肌层之间充填一层厚薄不一的疏松结缔组织,可见小血管、少量纤维细胞,无炎症细胞,纤维囊级别为 2 级(图 2)。

2.4 尿常规 1 号犬及 6 号犬术后未取得尿标本,其他 10 只犬均获得术前和术后的尿标本并行尿常规检查。2 号、4 号、10 号犬术前是通过导尿获得尿标本,2 号、7 号及 9 号犬术后通过导尿获取尿标本,通过导尿获取的尿液尿常规检查镜下红细胞均达到 ++~+++ ,4 号犬术前尿常规白细胞酯酶为 ++,10 号犬术前尿常规白细胞酯酶为 +,其他术前均为阴性;术

后 8 号犬尿常规白细胞酯酶为 ++,12 号为 +,其他均为阴性。具体结果见表 1。

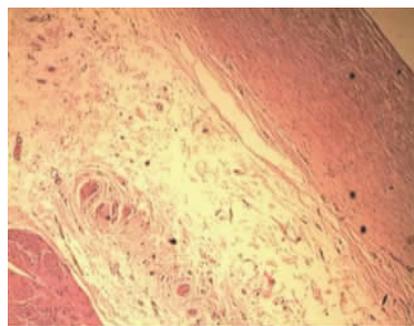


图 2 植入材料下方包囊壁的组织学观察
Fig 2 Histological observation of encapsulation wall under the graft (H-E)
Original magnification: ×40

3 讨论

硅胶是医用硅橡胶的简称,是由硅、氧及有机根组成的单体经聚合而成,其物理性状由聚合物内的单体数目决定,单体数越多,聚合物黏度越高,硬度越大。它具有以下优点:(1)可制成液态油状、乳状、胶冻状、网状、膜状、泡沫或海绵状弹性固体等形态;(2)具有良好的化学稳定性,经反复高压灭菌也不会

变质,也不因放置时间长而蒸发、变软、变脆、变质,是一种相当稳定的惰性物质;(3)可在体内长期埋植,不被机体代谢、吸收、降解和排出,具有较好的血液和组织相容性,已经广泛应用于临床^[7]。未经特殊处理的金属植入体内后,直接与宿主组织长期接触,必然会发生腐蚀等反应,这种反应不仅会使金属

的性能发生改变,更重要的是金属会释放出一些物质对宿主产生有害作用^[7-8]。在我们的预实验中也观察到这种情况^[6]。永磁铁经硅胶包埋后,使金属与宿主组织不能直接接触,从而避免这种不良反应。因此,硅胶包埋的永磁铁能否作为体内植入物的关键在于永磁铁所产生的磁场将对生物体产生何种影响。

表 1 犬手术前后的尿常规结果

Tab 1 Findings of routine urinalysis before and after operation in 12 dogs

(N)

| Dogs No. | Before operation | | | After operation | | |
|----------|------------------|--------------|---------|-----------------|--------------|---------|
| | Leukocytes | Erythrocytes | Protein | Leukocytes | Erythrocytes | Protein |
| 1 | 0 | 0 | 0 | | | |
| 2 | 0 | +++* | 0 | 0 | ++* | + |
| 3 | 0 | 0 | ++ | 0 | 0 | + |
| 4 | ++ | ++* | + | 0 | + | ++ |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | + | + | | | |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | +++* | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | +++ | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | +++* | + |
| 10 | + | +++* | + | 0 | 0 | 0 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 |

* Specimens of urine collected by catheterization

关于磁场的生物学效应及其生物安全性的研究报道很多,但由于研究的目的和设定的条件不同,研究的结果也不一致^[9-12]。磁场不仅具有加速切口的愈合作用,而且具有提高切口愈合的质量、抑制瘢痕组织的增生、减轻局部组织粘连的作用^[13-15]。体外细胞毒性试验也表明,磁场对小鼠成纤维细胞具有轻微的毒性作用,这可能与磁场对成纤维细胞的抑制作用有关^[6,15]。根据指南针原理设计的排尿报警装置所采用的永磁铁,其表面磁感应强度为 0.29~0.31 T,而且永磁铁在其周围所产生的磁场是个梯度磁场,离永磁铁越远,磁场强度就越弱。因此,作用在永磁铁周围组织的磁场强度远小于许多研究人员关于磁场的生物学效应研究中所采用的磁场强度。如 High 等^[16]报道经磁感应强度为 9.4 T 的恒定磁场连续照射 10 周的 Fisher 大鼠及其子代,没有发现不良的生物学反应;张宇等^[17]报道经磁感应强度为 4 T 的恒定磁场连续照射 72 h 后的大鼠,没有发生急性毒性作用;Wiskirchen 等^[18]报道将人胎肺纤维细胞连续 3 周,每周 3 次,每次 1 h 置于磁感应强度为 1.5 T 的恒定磁场中,结果显示细胞活性、DNA 合成、细胞周期和增殖都不受影响。

根据指南针原理设计的排尿报警装置是由永磁

铁和报警仪组成,永磁铁以硅胶包埋后固定在膀胱前壁。因此,本研究所采用的生物学评价试验与临床应用条件最为接近。本研究中实验组的 8 只犬还完成了膀胱前壁移动度与膀胱容量的相关性试验^[6]。1 号犬于术后 10 h 死亡,为了查明死亡原因,我们对 1 号犬进行尸检,发现其右心室内有一条长约 15 cm、直径约 0.5 cm 的白色纤维血栓堵住右心室出口,膀胱未见异常,考虑血栓脱落致急性右心衰死亡。我们认为术后血栓形成及脱落的原因可能是麻醉时间较长,未待犬完全苏醒即将之放回犬舍,加上犬舍气温较低,术后犬活动过少而导致静脉血栓形成,麻醉清醒后犬因不适而剧烈活动导致血栓脱落。此后,我们采取了加快手术速度、减少麻醉药用量、加强监测并在苏醒之前放在手术室里保暖直到能自主活动后才送回犬舍等措施后,未出现类似并发症。因此,我们认为 1 号犬是死于手术并发症,通过加强护理等措施是可以避免的。6 号犬术后出现吞咬铁丝,进而出现肠梗阻等情况。犬吞咬铁丝在日常生活中屡见不鲜,但多数情况下可顺利排出体外而不造成严重后果。该犬由于膀胱前壁有永磁铁存在,铁丝在肠管内下行到膀胱前壁时被永磁铁吸住而不能继续下行排出,从而造成梗阻,而且铁丝在

永磁铁的强力吸引下和肠管的蠕动作用下,肠壁被刺穿继而出现局部感染。对于成人来说,这种现象应注意避免。

植入材料固定在膀胱前壁后将大网膜包裹,膀胱交替性的收缩舒张以及大网膜的牵拉作用,植入材料周围的包囊厚且致密,个别地方在纤维性包囊与膀胱肌层表面的界面内还出现出血和炎症细胞浸润的现象,这可能与牵拉损伤有关。植入材料下方的膀胱前壁出现增厚现象,可能也与大网膜的牵拉作用相关。不管是实验组还是对照组,植入材料下方的膀胱壁均出现增厚现象,在镜下主要表现为肌层的增厚,膀胱外膜及黏膜层增厚较轻,各层组织中并无水肿、变性、坏死等病理性改变,这表明局部组织增厚是机体为对抗大网膜的牵拉作用而出现的代偿性结果。另外,实验组植入材料植入体内1年,膀胱内无肿瘤、溃疡、结石发生,尿常规检查未发现术前和术后有明显的差异,而且对照组和实验组也未见明显的差异。因此,我们认为并不是磁场的作用才使膀胱前壁增厚。换言之,磁场对膀胱的局部组织及尿液并无明显的不良影响。人的膀胱与犬的膀胱在解剖上具有明显的不同。前者膀胱位于腹膜外,仅膀胱顶部被覆腹膜,膀胱前壁无腹膜覆盖,直接与耻骨后隙内的疏松组织相接触;而后者属于腹膜内器官,全部被覆腹膜,膀胱前壁与下腹壁间是腹膜腔。因此,硅胶包埋的永磁铁固定在犬的膀胱前壁,就会发生被大网膜包裹及被牵位的作用,而固定在人的膀胱前壁,则不可能出现上述现象。

综上所述,根据指南针原理设计的排尿报警装置所采用的永磁铁经硅胶包埋后是安全的,符合体内植入物的使用标准。

[参考文献]

- [1] Dreher R D, Timm G W, Bradley W E. Bladder volume sensing by local distension measurement[J]. IEEE Trans Biomed Eng, 1972, 19: 247-248.
- [2] Takayama K, Takei M, Soejima T, Kumazawa J. Continuous monitoring of bladder pressure in dogs in a completely physiological state[J]. Br J Urol, 1987, 60: 428-432.
- [3] Provost B, Sawan M. Proposed new bladder volume monitoring device based on impedance measurement[J]. Med Biol Eng Comput, 1997, 35: 691-694.
- [4] Kristiansen N K, Nygaard H, Djurhuus J C. Clinical evaluation of a novel ultrasound-based bladder volume monitor[J]. Scand J Urol Nephrol, 2005, 39: 321-328.
- [5] 王剑火,侯春林,张伟,郑宪友,徐镇,王万宏,等.一种神经源性膀胱排尿报警装置的设计[J].中国修复重建外科杂志, 2008, 22: 597-601.
- [6] 王剑火,侯春林,王万宏,郑宪友,徐镇.神经源性膀胱排尿报警装置的生物相容性研究[J].中国修复重建外科杂志, 2008: 1108-1112.
- [7] 顾其胜,侯春林,徐政.实用生物医用材料学[M].上海:上海科学技术出版社, 2005: 319-360.
- [8] 过邦辅.矫形外科学[M].2版.北京:科学技术文献出版社, 2004: 99-113.
- [9] 漆启华,戴闽.恒定磁场的生物学影响及防护[J].生物骨科材料与临床研究, 2007, 4: 30-32.
- [10] 杨贞,沃兴德.磁疗法的临床研究进展[J].现代中西医结合杂志, 2007, 16: 3608-3612.
- [11] 沈云鹤.电磁场与人体健康[J].国外医学:生物医学工程分册, 2000, 23: 54-58.
- [12] 朱杰.磁场的生物学效应及其机理的研究[J].生物磁学, 2005, 5: 26-29.
- [13] 王军学,罗二平,申广浩,谢康宁,吴小明.恒磁场对临床术后伤口愈合的影响[J].第四军医大学学报, 2006, 27: 754-756.
- [14] 王明华,孔祥鸣,张小云,王永华,俞金娣.强磁场对小鼠创伤修复和瘢痕粘连的影响[J].中华物理医学和康复杂志, 2000, 22: 359-361.
- [15] 常汉英,于国,李晖,金淑珍,郭云琴,郭秀英.磁场对瘢痕组织的影响[J].中华理疗杂志, 1997, 20: 19-22.
- [16] High W B, Sikora J, Ugurbil K, Garwood M. Subchronic *in vivo* effects of a high static magnetic field (9.4 T) in rats[J]. J Magn Reson Imaging, 2000, 12: 122-139.
- [17] 张宇,张小云.4 T 超导恒定强磁场对大鼠的急性毒性作用[J].中国临床康复, 2006, 10: 112-115.
- [18] Wiskirchen J, Groenewaeler E F, Kehlbach R, Heinzlmann F, Wittau M, Rodemann H P, et al. Long-term effects of repetitive exposure to a static magnetic field (1.5 T) on proliferation of human fetal lung fibroblasts[J]. Magn Reson Med, 1999, 41: 464-468.

[本文编辑] 贾泽军