

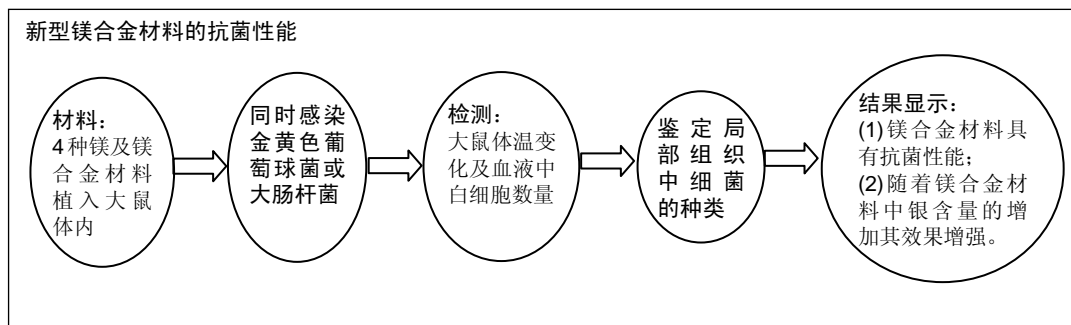
植入体内新型镁合金材料的抗菌性能

王 湛, 杨 军, 李建军(中国医科大学盛京医院创伤骨科, 辽宁省沈阳市 110004)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0785

ORCID: 0000-0002-3488-9421(杨军)

文章快速阅读:



王湛, 男, 1990年生, 辽宁省沈阳市人, 医师, 主要从事骨创伤及创伤方面的研究。

通讯作者: 杨军, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 中国医科大学盛京医院创伤骨科, 辽宁省沈阳市 110004

中图分类号:R318

文献标识码:A

稿件接受: 2018-01-29



文题释义:

骨内固定材料: 对骨折的治疗方法中固定是至关重要的, 目前采用的骨折内固定材料主要有金属材料、有机高分子材料、生物陶瓷等。其中, 金属材料以其机械强度较高、具有一定的硬度及具有耐腐蚀性和较好的生物相容性而被广泛应用。

医用镁合金材料: 镁是构成人体的常量元素, 参与体内的多种生物反应过程, 无毒无害, 镁合金材料即以一定的比例加入了镁、锌和银, 既提高了材料的机械强度、韧性又加强了促进组织修复、骨折愈合的功效, 而且由于可降解特性避免了二次手术。

摘要

背景: 新型镁合金具有良好的生物安全性、可降解性及良好的机械强度与生物相容性, 作为新一代医用金属材料受到瞩目。目前国内外对镁合金的研究主要集中于降解的过程及机制、生物安全性、生物相容性等方面, 关于其抗菌性能的研究较少。

目的: 观察新型镁合金材料(Mg3Zn、Mg3Zn1Ag、Mg3Zn3Ag)的体内抗菌性能。

方法: 取 15 只 SD 大鼠, 在其后肢胫骨内分别植入镁及镁合金材料(Mg、Mg3Zn、Mg3Zn1Ag、Mg3Zn3Ag), 每种材料 3 只, 在切口处注射金黄色葡萄球菌菌液, 设置单纯注射金黄色葡萄球菌菌液的空白对照组; 取 15 只 SD 大鼠, 在其后肢胫骨内分别植入镁(Mg)及镁合金材料(Mg3Zn、Mg3Zn1Ag、Mg3Zn3Ag), 每种材料 3 只, 在切口处注射大肠杆菌菌液, 设置单纯注射大肠杆菌菌液的空白对照组。植入后连续 14 d 监测大鼠体温; 植入后第 1, 3, 5, 10, 14 天检测血白细胞计数; 植入后第 14 天处死大鼠, 取手术部位分泌物及组织, 进行细菌种类鉴定。

结果与结论: ①经金黄色葡萄球菌或大肠杆菌感染后, 各组大鼠体温均上升, 但植入镁及镁合金组大鼠体温始终低于空白对照组; 并且随着镁合金材料中 Ag 含量增多, 动物体温升高幅度减小; ②经金黄色葡萄球菌或大肠杆菌感染后, 空白对照组大鼠白细胞数量持续升高, 植入镁及镁合金组大鼠植入后第 5 天白细胞数量最多, 此后各检测的时间点的白细胞数量均显著低于空白对照组($P < 0.05$), 并且随着镁合金材料中 Ag 含量增多, 白细胞数量升高减少; ③金黄色葡萄球菌感染模型组细菌培养呈金黄色葡萄球菌(+); 大肠杆菌感染模型组细菌培养呈大肠杆菌(+); ④结果表明, 新型镁合金材料植入体内对金黄色葡萄球菌或大肠杆菌感染具有明显抑制作用。

关键词:

镁合金; 骨科植入物; 在体实验; 金黄色葡萄球菌; 大肠杆菌; 生物材料; 骨科材料

主题词:

骨折; 可吸收性植入物; 葡萄球菌, 金黄色; 大肠杆菌; 组织工程

Antibacterial properties of novel magnesium alloys *in vivo*

Wang Zhan, Yang Jun, Li Jian-jun (Department of Trauma Orthopedics, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China)

Abstract

BACKGROUND: As a new biodegradable metallic biomaterial, magnesium alloys with good bio-safety, degradability, mechanical strength and biocompatibility have been noticed in clinical practice. Recent studies mainly focus on the process and mechanism of degradation, biological safety and biocompatibility of magnesium alloys. Little is reported on the antibacterial properties of magnesium alloys.

Wang Zhan, Physician, Department of Trauma Orthopedics, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Corresponding author: Yang Jun, Chief physician, Professor, Master's supervisor, Department of Trauma Orthopedics, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

OBJECTIVE: To observe the antibacterial properties of novel magnesium alloys (Mg3Zn, Mg3Zn1Ag, Mg3Zn3Ag) *in vivo*.
METHODS: The 12 of 15 Sprague-Dawley rats were implanted with different materials (Mg, Mg3Zn, Mg3Zn1Ag, Mg3Zn3Ag; three rats for each material) in the tibia of the hind limbs, respectively. Then, *Staphylococcus aureus* solution was injected at the incision of each rat. The remaining rats only given injection of *Staphylococcus aureus* solution were taken as controls. The above-mentioned treatments were repeated in another 15 Sprague-Dawley rats except injection of *Escherichia coli* rather than *Staphylococcus aureus*. The body temperature of the rats was continuously monitored within 14 rats after implantation. At post-implantation days 1, 3, 5, 10 and 14, the white blood cell count was measured. At post-implantation day 14, the rats were sacrificed and the secretions and tissues of the surgical site were taken for bacterial identification.
RESULTS AND CONCLUSION: The body temperature of all the rats increased after bacterial infection, but the temperature of the rats implanted with magnesium and magnesium alloys was always lower than that in the two control groups given pure bacterial infection. Moreover, the increment in body temperature of the rats declined with the increasing Ag content in magnesium alloys. Routine blood test results showed that the number of white blood cells increased after bacterial infection, while the number of white blood cells in the magnesium and magnesium alloy groups peaked at 5 days after implantation, and then significantly reduced as compared with the control groups ($P < 0.05$). Furthermore, the increment in the cell number was reduced with the increasing Ag content in magnesium alloys. Bacterial culture results showed that *S.aureus*(+) in the *Staphylococcus aureus* infection group and *E.coli*(+) in the *Escherichia coli* infection group. To conclude, novel magnesium alloys exert marked antibacterial effects on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.
Subject headings: Fractures, Bone; Absorbable Implants; taphylococcus aureus; Escherichia coli; Tissue Engineering

0 引言 Introduction

目前骨科用于治疗骨折及骨缺损的金属内固定材料主要有医用不锈钢、钛合金和钴合金等,其主要优点是金属材料的机械强度较高,有利于维持骨折稳定,保证骨折愈合及术后可早期功能锻炼等。此外,还具备一定的生物相容性、耐腐蚀性、耐磨性及抗疲劳性等特点。然而,上述的金属内固定材料在临床上广泛应用的过程中出现了一些问题,例如,这些金属生物材料刚性大,弹性模量与骨组织有一定的差别,进而出现应力屏蔽效应,影响新生骨组织的产生^[1]。而且多数患者需要在骨折愈合后行二次手术取出内植物,不仅给患者带来更多的痛苦,也增加了临床风险和负担。一般认为骨折的治疗基本原则为复位、固定、功能锻炼,其中固定是至关重要的,特别是在粉碎性骨折、骨折移位较大等情况下,内固定是惟一促使骨折愈合的有效措施。因此,开发临床上更适用的机体内固定材料,即具备良好的生物相容性、良好的机械强度、适当的可降解性及能够避免或减少并发症发生的内植物,这是提高创伤骨科治愈效果的关键所在。

镁是构成人体的常量元素,在体内参与多种生物反应过程,并可降解为无毒化合物从肠道排出体外^[2],因此,近年来以新型镁合金为主要代表的具有生物可降解特性的新一代医用金属材料被人们所认识。由于镁合金的密度及弹性模量均与人体相接近,可有效缓解出现应力屏蔽效应对骨组织生长的不良影响^[3],因此,可降解镁合金成为了一种潜力巨大的机体新型植入材料,被誉为“革命性的金属生物材料”。

在骨折治疗过程中,感染是其严重的并发症,有研究显示金黄色葡萄球菌与大肠杆菌是骨折内固定后出现感染与发生骨髓炎最常见的致病菌^[4],细菌感染将直接影响骨折的治疗效果。目前对镁合金材料作为新型治疗用内植物的研究主要集中在生物相容性及其在体内的降解等方面,关于其抗菌性能的研究甚少。为促进镁合金材料在骨折等疾病治疗中的有效利用,此次研究通过在大鼠体内植入4种镁及新型镁合金材料,同时分别感染金黄色葡萄球菌或

大肠杆菌,检测动物机体反应,探讨植入体内的新型镁合金材料的抗菌性能。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物观察实验。

1.2 时间及地点 实验于2014年1月至2015年3月在中国医科大学盛京医院实验中心完成。

1.3 材料

实验动物及饲养: 健康清洁SD大鼠,雌雄不拘,体质量为250-280 g,基础体温37.5-38.5 °C之间,由中国医科大学附属盛京医院实验动物中心提供,许可证号:SYXK(辽)2017-0004,饲养室室温(20±2) °C,相对湿度40%-60%,昼夜光照节律12 h:12 h,自由饮食水。对动物的处理符合3R规则。

镁及镁合金材料: 植入体内的镁及镁合金材料是由东北大学材料各向异性与织构教育部重点实验室提供,分别为Mg(纯镁)、Mg3Zn(每摩尔合金中含1/4镁、3/4锌)、Mg3Zn1Ag(每摩尔合金中含1/5镁、3/5锌、1/5银)、Mg3Zn3Ag(每摩尔合金中含1/7镁、3/7锌、3/7银)。

细菌菌株: 感染动物所用细菌是由中国医科大学病原生物教研室提供的金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)和大肠杆菌(*E.coli*)。

1.4 实验方法

1.4.1 镁及镁合金材料的处理 将镁及镁合金块用砂纸打磨光滑,去除表面氧化层。在无水乙醇中超声波震荡清洗15 min,然后在蒸馏水中超声波震荡清洗15 min,分装后,以0.1 MPa、121 °C高压蒸汽灭菌15 min。

1.4.2 实验分组及动物模型制作

金黄色葡萄球菌感染模型: 将15只SD大鼠随机分5组,每组3只,分别为空白对照组、Mg组、Mg3Zn组、Mg3Zn1Ag组、Mg3Zn3Ag组,将实验动物用10%水合氯醛溶液以5 mL/kg剂量进行腹腔注射麻醉,左后肢胫骨近端周围备皮,常规消毒,无菌操作下从胫骨平台外侧切开皮肤,逐层剥离至骨面,用克氏针钻透皮质至髓腔,Mg组、Mg3Zn

组、Mg3Zn1Ag组、Mg3Zn3Ag组分别植入直径2 mm、高5 mm、质量约为0.03 g的圆柱体镁及镁合金棒，反复冲洗消毒后，向各组动物胫骨髓腔内注射金黄色葡萄球菌菌液0.5 mL(1×10^{11} L⁻¹)，菌液剂量按照植入物表面积 $\times 1.25$ mL/cm²计算得出。逐层缝合切口。空白对照组实验动物进行相同手术操作，仅省略植入合金棒的步骤。术后将动物实施单笼饲养。

大肠杆菌感染模型: 将15只SD大鼠随机分5组，每组3只，分别为空白对照组、Mg组、Mg3Zn组、Mg3Zn1Ag组、Mg3Zn3Ag组，将实验动物用10%水合氯醛溶液以5 mL/kg剂量进行腹腔注射麻醉，左后肢胫骨近端周围备皮，常规消毒，无菌操作下从胫骨平台外侧切开皮肤，逐层剥离至骨面，用克氏针钻透皮质至髓腔，Mg组、Mg3Zn组、Mg3Zn1Ag组、Mg3Zn3Ag组分别植入直径2 mm、高5 mm、质量约为0.03 g的圆柱体镁及镁合金棒，反复冲洗消毒后，向各组动物胫骨髓腔内注射大肠杆菌菌液0.5 mL(1×10^{11} L⁻¹)，菌液剂量按照植入物表面积 $\times 1.25$ mL/cm²计算得出。逐层缝合切口。空白对照组实验动物进行相同手术操作，仅省略植入合金棒的步骤。术后将动物实施单笼饲养。

1.5 主要观察指标

体温变化: 植入前及植入后连续14 d监测体温变化，即在每日上午9时利用红外线测温仪测量大鼠体温值。

白细胞计数: 在植入后第1, 3, 5, 10, 14天经大鼠眼眶取血，检测血中白细胞数量。

细菌鉴定: 植入后第14天处死大鼠，取手术部位分泌物及组织，进行细菌培养，经梅里埃VITEK 2 Compact全自动细菌鉴定及药敏分析系统鉴定细菌种类。

1.6 统计学分析 采用SPSS 13.0统计软件进行统计学分析，所有实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示，各组均数间差异的比较应用t检验， $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 30只SD大鼠均进入结果分析。

2.2 各组大鼠体温变化 利用红外线测温仪测量各种实验条件下的大鼠体温。图1显示了经金黄色葡萄球菌感染后的大鼠体温变化，可见各组动物均出现了体温升高现象，其中，空白对照组体温上升尤为明显，术后第3天体温明显高于Mg组、Mg3Zn组、Mg3Zn1Ag组、Mg3Zn3Ag组($P < 0.05$)，此后体温波动水平较小，从第7天开始体温又逐渐升高，最高值达(40.56 \pm 0.21) °C。Mg组、Mg3Zn组、Mg3Zn1Ag组、Mg3Zn3Ag组动物体温在术后第5天达到高峰，各组最高值在(39.26 \pm 0.11) °C至(39.68 \pm 0.18) °C之间，此后逐渐下降，4组在第10, 14天的体温值均明显低于空白对照组($P < 0.05$)。此外，还可见镁合金材料中含银(Ag)量越多，动物体温升高幅度越小的变化趋势。

植入了镁及镁合金材料的大鼠经大肠杆菌感染后体温

变化，见图2。各组动物体温变化的总体趋势与上述感染金黄色葡萄球菌的实验结果相似。空白对照组在观察的10 d内体温呈现缓慢的持续上升，最高值达(40.58 \pm 0.18) °C，此后趋于平稳。Mg组、Mg3Zn组、Mg3Zn1Ag组、Mg3Zn3Ag组动物体温在感染后第5天达到最高峰，各组最高值在(39.20 \pm 0.26) °C至(39.76 \pm 0.19) °C之间，此后逐渐下降，4组第7, 10, 14天的体温值均明显低于空白对照组($P < 0.05$)。此外，实验结果也显示出镁合金材料中含银(Ag)量越多，动物体温升高的幅度越小的变化趋势。

2.3 各组大鼠血常规检测 分别于植入后第1, 3, 5, 10, 14天在大鼠眼眶取血，进行血白细胞计数检测，如表1, 2所示，结果显示经单纯金黄色葡萄球菌感染后，空白对照组白细胞数量持续升高，在所观察期间内最高值为54.17 $\times 10^9$ L⁻¹，Mg组、Mg3Zn组、Mg3Zn1Ag组、Mg3Zn3Ag组植入后第5天白细胞数量最多，最高值在39.50 $\times 10^9$ L⁻¹至40.73 $\times 10^9$ L⁻¹之间，此后，在各检测的时间点均显著低于空白对照组($P < 0.05$)，同时可见在镁合金材料中银含量越多，白细胞数量升高的越少。

经大肠杆菌感染导致的机体白细胞数增加变化趋势与金黄色葡萄球菌结果相似，空白对照组白细胞最高值为54.67 $\times 10^9$ L⁻¹，Mg组、Mg3Zn组、Mg3Zn1Ag组、Mg3Zn3Ag组白细胞数量最高值在38.87 $\times 10^9$ L⁻¹至40.83 $\times 10^9$ L⁻¹之间。

2.4 细菌种类鉴定 植入后第14天采用颈椎脱臼法处死大鼠，在无菌操作下取手术部位分泌物及组织行细菌培养，经细菌鉴定分析系统检测结果显示，金黄色葡萄球菌感染模型组细菌培养结果为金黄色葡萄球菌(+)，大肠杆菌感染模型组细菌培养结果为大肠杆菌(+)，证明各组动物模型感染的细菌均为制作模型时导入的细菌，无其他细菌引起的感染。

3 讨论 Discussion

骨折患者的治疗中固定是非常重要的环节，开发性能优良、生物相容性更好的机体内固定材料将会有利于组织修复，进一步提高治疗效果。一直以来医用金属材料被广泛应用于骨折内固定的治疗中，然而，人们逐渐发现了传统应用的钛合金、钴合金、不锈钢材料等植入体内时使机体产生的一些不良反应，例如：钴合金中的钴、镍元素具有较强的致敏性^[5]；钛合金中过量的钒导入体内可能会影响机体血压变化^[6]；不锈钢材料中析出的镍离子可致机体出现过敏性皮炎、呕吐、腹泻，以及肺和呼吸道的损害，甚至造成白血病等^[7]。加之一些内固定材料需要在损伤愈合后进行二次手术取出，增加了医疗风险、患者的痛苦和治疗费用。镁合金作为医用生物材料已受到了广泛关注。镁是构成人体的常量元素，参与机体的物质代谢和能量代谢过程，具有调节细胞生长、扩张血管、加速胆固醇代谢等多种生理功能^[8-9]，从镁合金中降解释放的镁离子还具有

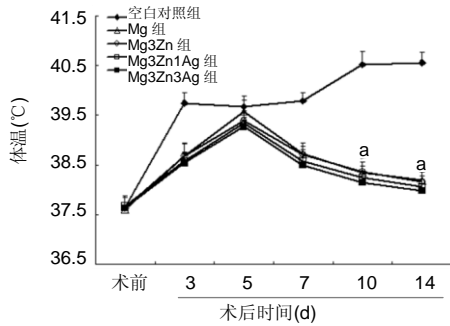


图1 经金黄色葡萄球菌感染后各组大鼠体温变化曲线
Figure 1 Body temperature curve of rats after *Staphylococcus aureus* infection

图注: 与空白对照组比较, ^a*P* < 0.05。

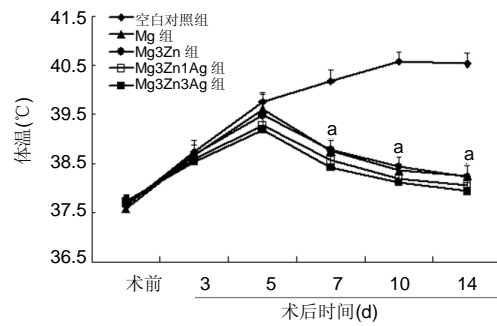


图2 经大肠杆菌感染后各组大鼠体温变化曲线
Figure 2 Body temperature curve of rats after *Escherichia coli* infection

图注: 与空白对照组比较, ^a*P* < 0.05。

表1 经金黄色葡萄球菌感染后各组大鼠的白细胞计数变化

($\bar{x} \pm s, n=3, \times 10^9 L^{-1}$)

Table 1 Changes of white blood cell count in rats infected with *Staphylococcus aureus*

组别	第1天	第3天	第5天	第10天	第14天
空白对照组	25.67±1.27	30.77±0.85	40.97±1.65	53.30±2.21	54.17±1.38
Mg组	23.00±0.53	30.43±1.00	40.73±0.57	40.17±0.86 ^a	38.30±0.89 ^a
Mg3Zn组	23.37±1.50	30.50±0.98	40.50±0.60	40.13±1.25 ^a	39.63±1.46 ^a
Mg3Zn1Ag组	21.80±0.36	30.50±0.79	40.13±0.40	39.63±1.07 ^a	39.10±0.79 ^a
Mg3Zn3Ag组	21.87±0.96	30.70±1.04	39.50±0.78	39.33±0.51 ^a	38.73±0.23 ^a

表注: 与空白对照组比较, ^a*P* < 0.05。

表2 经大肠杆菌感染后各组大鼠的白细胞计数变化

($\bar{x} \pm s, n=3, \times 10^9 L^{-1}$)

Table 2 Changes of white blood cell count in rats infected with *Escherichia coli*

组别	第1天	第3天	第5天	第10天	第14天
空白对照组	24.03±1.72	28.90±3.82	41.13±1.20	53.40±2.98	54.67±2.58
Mg组	23.27±1.04	29.87±2.44	40.83±0.90	39.17±0.80 ^a	37.23±1.31 ^a
Mg3Zn组	24.27±1.33	30.63±1.81	40.60±1.67	40.30±1.11 ^a	39.10±1.35 ^a
Mg3Zn1Ag组	23.13±1.30	30.13±1.78	40.33±1.07	39.53±0.99 ^a	38.47±0.93 ^a
Mg3Zn3Ag组	22.60±0.90	29.53±1.21	39.43±0.75	38.87±0.45 ^a	37.30±0.70 ^a

表注: 与空白对照组比较, ^a*P* < 0.05。

促进成骨反应, 加速骨折愈合的作用^[10], 研究表明镁合金作为医用生物材料具有较好的生物安全性。镁合金与人骨组织的生物相容性也较高, 其弹性模量和机械性能与骨组织极为接近。因此, 镁合金材料具有成为医用生物材料的巨大可能性。关于镁合金材料植入体内对机体的影响, 特别是其抗菌性能如何还研究甚少, 对相关内容的系统的、深入的研究将有利于推动其临床应用。

通常情况下易于细菌生长的环境pH值为7.4-7.6^[11]。由于金属镁在溶液中能够通过电化学反应生成氢氧化镁, 而产生的氢氧化镁一方面覆盖在金属材料表面, 可减缓其降解速度^[12]。另一方面, 产生的大量OH⁻使局部pH值升高, 随着镁的降解, pH值可高达11.5, 这种强碱性环境是极不利于细菌生长的, 由此表明其具有较强的抗菌性能。在前期工作中通过将此次实验中所选用的新型镁合金材料与金黄色葡萄球菌或大肠杆菌进行体外共培养实验, 检测了新型镁合金材料的抗菌性能, 结果显示在共培养8 h后, 与传统应用的钛合金比较, 新型镁合金材料出现了明显的抗菌效果^[13]。为了进一步探讨镁合金材料在临床应用的安全性,

此次实验通过在体内植入不同组成成分的镁合金材料, 当感染金黄色葡萄球菌或大肠杆菌时, 在观察机体体温变化的基础上, 检测了作为机体抗炎反应的重要生理指标之一的白细胞数量, 结果可见在所观察期间内植入各种镁合金材料的实验组体温升高的最高值明显低于单纯金黄色葡萄球菌或大肠杆菌感染组, 血液中白细胞数量的变化也呈现出相似的变化趋势。

关于镁抑菌作用的机制可能与高浓度的镁离子在细菌胞膜外积聚, 使膜内外极化状态发生改变, 影响膜的物质转运功能, 进而抑制细菌的生长。有研究报道, 正价金属离子与巯基结合, 可置换出参与生物代谢反应的一些酶分子中的离子, 使其正常结构遭到破坏而失活^[14]。在此次实验中, 镁合金材料中主要的构成成分是镁、锌、银, 这些元素与镁结合能够有效地提高材料的机械强度、韧性及影响在体内的降解过程。其中加入锌元素能够加快镁合金材料的降解速率, 增加合金的延展性和耐腐蚀性^[15]。此外, 还因为锌离子是人体的微量元素, 是体内多种金属酶的组成成分, 具有促进机体的生长发育和组织再生等功能, 在

维持内环境稳态中也起着重要作用。而加入了银元素,除了可以更好地提高镁合金的机械性能以外,银离子还具有较强的抗菌性能,通过直接与细菌接触,抑制及杀死多种细菌^[16]。银离子还有很强的结合蛋白酶巯基的能力,进而破坏细胞内的蛋白酶功能,抑制细菌的正常生长繁殖^[17]。由此推断,加入银可以增强镁合金的抑菌效果,同时还有消炎和促进伤口愈合的功能。在此次实验中也观察到在镁合金材料中银含量越多,动物在感染金黄色葡萄球菌或大肠杆菌时体温升高的幅度越小,白细胞数增加的越少。

目前的研究显示,与骨科常用具有抗菌素涂层的钛合金植入物相比,镁合金具有更好的机械性能、生物相容性及生物安全性。加之镁合金具有的可降解特性,可免去骨折愈合后的二次植入物取出手术,因此是一种非常有潜在应用价值的新型医用金属植入材料。在此次研究中通过动物体内实验进一步证明了选用的新型镁合金材料具有明显的抗菌功能,提示这些新型镁合金材料能够起到防止或减轻骨折术后引发的感染及骨髓炎发生的作用,为保证临床应用的生物安全性提供了重要的实验依据。今后还将需要对镁合金材料的非细胞毒性及体内组织的生物学反应进行深入系统地研究,使之能够安全有效地应用于临床治疗中。

综上所述,新型镁合金材料Mg3Zn、Mg3Zn1Ag、Mg3Zn3Ag植入体内对于金黄色葡萄球菌或大肠杆菌感染显示明显的抗菌作用,镁合金中加入银可增强其抗菌能力,提示上述新型镁合金材料植入机体内不易引起感染等并发症。

作者贡献: 王湛进行实验设计、实施,数据统计处理、论文撰写,李建军进行实验指导,杨军总体指导,论文校审。

经费支持: 该文章没有接受任何经费支持。

利益冲突: 所有作者声明在课题研究和文章撰写过程,不存在利益冲突。

伦理问题: 实验方案经中国医科大学动物实验伦理委员会批准。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在麻醉下进行所有的手术,并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《动物实验体内实验研究报告规范指南》(ARRIVE指南)。

文章查重: 文章出版前已经过CNKI反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审,符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者王湛对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Nagels J,Stokdijk M,Rozing PM.Stress shielding and bone resorption in shoulder arthroplasty. *J Shoulder Elbow Surg*. 2003;12:35-39.
- [2] Zreiqat H,Howlett CR,Zannettino A,et al.Mechanisms of magnesium-stimulated adhesion of osteoblastic cells to commonly used orthopaedic implants.*Biomed Mater Res*. 2002;62(2):175-184.
- [3] Witte F,Kaese V,Haferkamp H,et al.In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials*.2005;26(17):3557-3563.
- [4] Murray C1,Obremskey WT,Hsu JR,et al.Prevention of infections associated with combat-related extremity injuries.*J Trauma*. 2011;71(2 Suppl 2):S235-257.
- [5] Lee SH,Brennan FR,Jacob JJ,et al.Human monocyte/macrophage response to cobalt-chromium products and titanium particulates in patients with total joint replacement.*J Orthop Res*.1997;15(1):40-49.
- [6] 任伊宾,杨柯,梁勇.新型生物医用金属材料的研究和进展[J].材料导报,2002,16(2):12.
- [7] Beddoes J,Bucci K.The influence of surface condition on the localized corrosion of 316L stainless steel orthopaedic implants. *J Mater Sci:Mater Med*.1999;10(7):389.
- [8] 余琨,陈良建,雷路,等.镁合金作为生物医用植入材料的研究进展[J].金属功能材料,2009,16(4):61-67.
- [9] 张忠诚,徐祇云,张素洁.镁与人体健康[J].微量元素与健康研究,2006,23(4):67-69.
- [10] 谢兴文,黄晋,李宁,等.镁及镁合金植入体在骨科临床中的应用与进展[J].中国组织工程研究,2012,16(39):7317-7321.
- [11] Mukherjee S,Barman S,Mandal NC,et al.Anti-bacterial activity of Achatina CRP and its mechanism of action.*Indian J Exp Biol*.2014;52(7):692-704.
- [12] Mistry D,Powles N.The relative hydrolytic reactivities of pyrophosphites and pyrophosphates.*Org Biomol Chem*. 2013;11(34):5727-5733.
- [13] 王湛,杨军,李建军.新型骨科植入物镁合金材料抗菌性能的体外实验研究[J].中国医科大学学报,2014,43(12):1142-1144.
- [14] Mwaanga P,Caraway ER,van den Hurk P.The induction of biochemical changes in *Daphnia magna* by CuO and ZnO nanoparticles.*Aquat Toxicol*.2014;150:201-209.
- [15] Witte F,Fischer J,Nellesen J,et al.In vitro and in vivo corrosion measurements of magnesium alloys.*Biomaterials*. 2006;27(7):1013-1018.
- [16] Bondarenko O,Ivask A,Käkinen A,et al.Particle-cell contact enhances antibacterial activity of silver nanoparticles.*PLoS One*.2013;8(5):e64060.
- [17] 张文征,张羽天.载银抗菌材料的研究与开发[J].化工新型材料,1997,25(7):20-22.