

骨生物力学在防治骨质疏松药物开发中的应用基础(二)

秦岭 梁国穗

3.4 剪切试验(Shear test):一般用于厚度为5~10毫米的骨质密质即骨皮质样本的测试。为了获得准确的剪切试验数据需要制造特殊的夹具,如轨道型剪切夹具和槽型扭转夹具来减少测试误差(图8)^[16]。

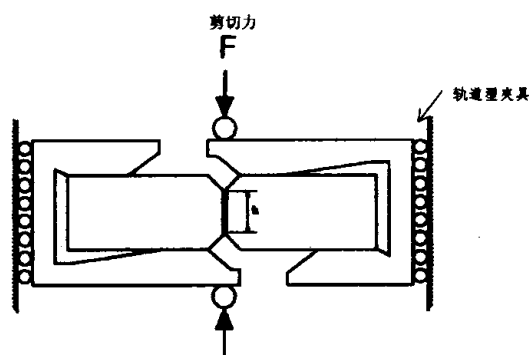


图8 轨道型剪切夹具示意图

(Turner et al, Bone 14:595,1993)

3.5 扭曲试验(Torsional test):扭曲试验主要用于测试管状长骨的抗扭转力(图9)^[21,22]。测试前要将骨的二端用塑胶脂或低熔点合金进行包埋,然后用具有扭转轴或具有双轴的,即拉压和扭转轴功能的材料力学机进行测试^[23]。

3.6 超声波试验(Ultrasonic test):声波在钢轨的传导速度快于在空气中的传导速度。这可通过监听火车钢轨预知火车到来的例子中得以证实。声波在固体内的传导速度取决于固体自身的材料的密度和弹性模量^[16,24,30]。由于超声波的频率大于2MHz,所以超声波对测量松质骨的弹性模量比密质骨更为有效^[24,25]。测试的

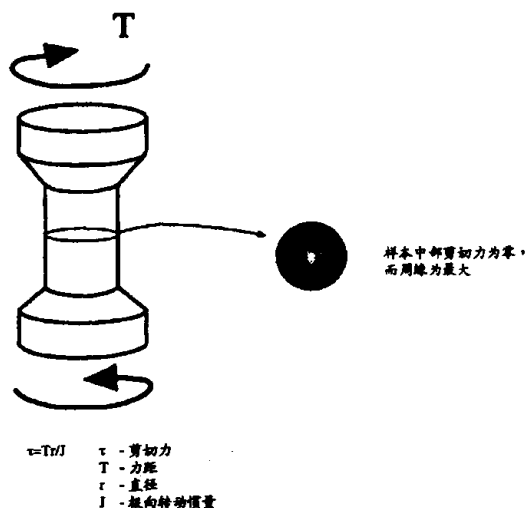


图9 骨密质的扭曲试验

(Turner et al, Bone 14:595,1993)

方法是将具有平行界面的骨样本放置于超声波发生和接收器之间,测定超声波在骨样本中传导速度和衰减(图10)。超声波试验法优于上述骨直接力学试验法在于不需价格昂贵的材料力学测试机和测试过程不损坏骨标本的组织结构。这种非破坏性测试使得超声波法能对骨样本进行多次重复测试。用重复测试的平均值来计算,能减少测量误差。从这个意义上讲,超声波法比上述力学试验法有较高的精确性,尤其对提高小样本实验结果的统计可靠性有实际意义。

3.7 声导纤维镜(Acoustic microscopy):近来在骨生物学研究中,一种借声能聚焦原理来测量骨组织对声的传导反射率,反映的是骨的材料力学特性。声导纤维镜可测量100平方微米面积内骨的局部特性,包括单一骨小梁和骨活

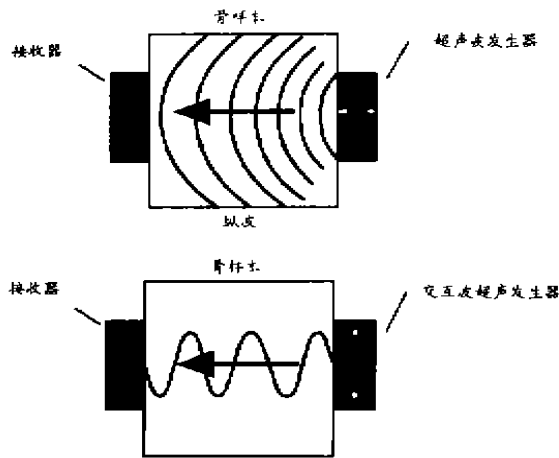


图 10 超声波实验仪测定超声波通过骨样本后的传导速度和其衰减 (Turner et al. Bone 14:595,1993)

检组织;同时也能测量包埋在塑胶脂内骨样本的生物力学特性。高频导纤维镜(400 到 1000MHz)具有使骨样本微细结构清晰成像的功能(图 11A,B)^[26]。

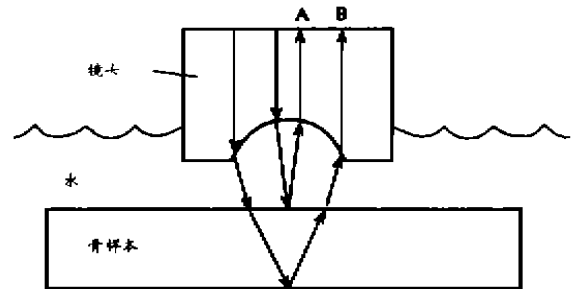


图 11A 声导纤维镜聚焦镜头和骨样本图示测试声波射入波和反射波之间的时间差 (Katz et al. BRB,P123 1997)
A:骨样本表面反射波
B:骨样本透射反射波

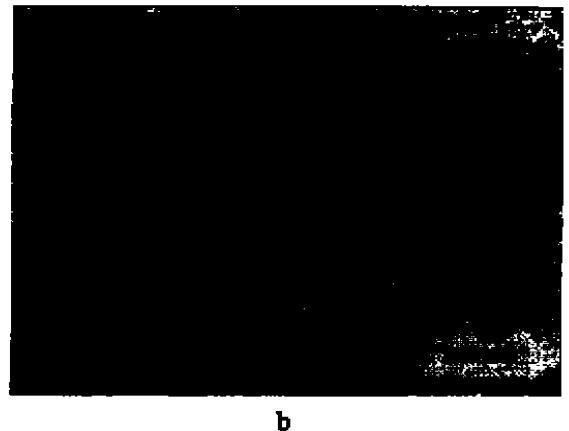
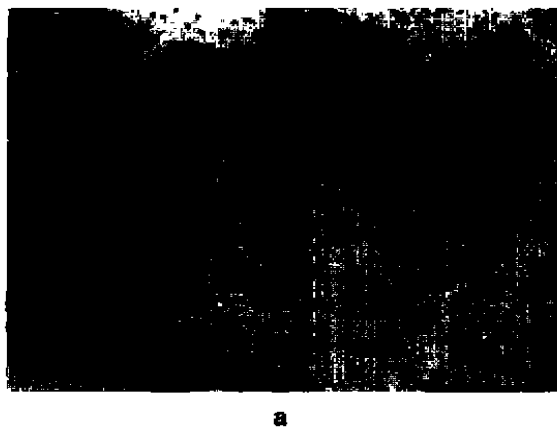


图 11B (Katz et al. BRB,P123 1998)
a:600MHz 声导纤维镜成像的不同灰度级的骨单位;b:同 a 图同一区域的扫描电镜图像灰度越大(深),表明骨钙化度越低,声反射率越低

3.8 疲劳试验(Fatigue test):压力、拉伸、弯曲和扭曲试验都可用来对骨材料进行疲劳测试,但所需材料力学测试机需具有可调周期性负荷的功能。负荷强度越大,导致疲劳性骨折的所需频次则越少^[26]。与一般破坏性骨力学测试不同,骨的疲劳特性与测试时的温度有密切关系(图 12)。抗疲劳能力是骨的力学质量的一个重要标志。但由于疲劳试验对实验仪器有特殊

要求,试验时间长,在实际应用中有局限性。目前大多数骨材料力学实验室仍采用简易的拉伸、压力和弯曲试验,然后再用疲劳试验来区分用简易力学测试方法不易区分的潜在的和不易区分的药物对骨力学性质的影响。

3.9 拔出试验(Pull-out test)和阻力矩试验(Torque test)这两个试验方法并非用来测量传统的骨的力学特性。拔出试验是测量如骨质疏

松性骨折固定中固定接骨板与骨之间或固定骨界面间的螺钉与骨或以及用于加固骨质强度的

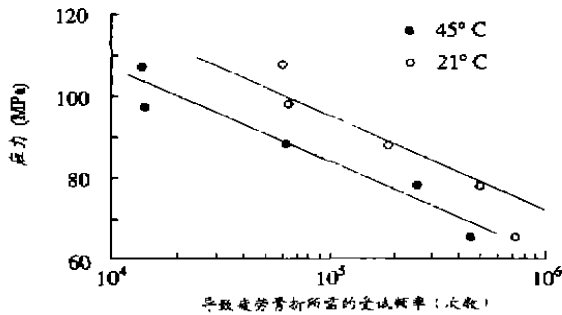


图 12 骨应力大小与疲劳测试时的温度相关
(Keaveny and Hayes, Bone 7:285,1993)

生物材料的之间结构稳固程度^[27]。同拔出试验的目的相似,阻力距试验是用来测试固定或松起螺钉时的阻力距大小^[28,29]。

4 力学测试时的注意事项

骨样本一般应当隔夜从冰箱中取出,以便第二天在室温中进行力学测试。在这个过程中,样本的湿度、温度和测试时所选用的应变速率都会影响测试的结果。

4.1 湿度:与测试前保存骨的要求相同,骨在力学测试时也要注意用生理盐水保持骨样本的湿度。如果骨干燥后,骨样本则会变脆,导致其弹性模量相应增加和骨折所需能量下降(图 13)^[16]。

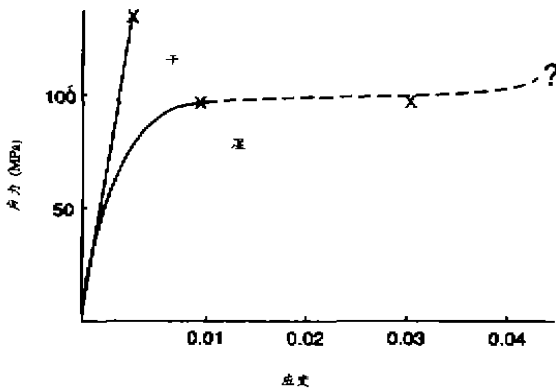


图 13 测试速率为每秒 0.01 时密质骨应力-应变曲线
(Black J, OBRP, 945,1998)

4.2 温度:温度同样影响骨的力学特性。最理想是在体温(摄氏 37℃)情况下对骨进行力学测试。但这样做有实际困难,故大多数骨力学测试是在室温(摄氏 23 度左右)下进行。与体温相比,室温下骨的弹性模量会略微增高 2%~4%^[30]。虽然常温的变化不会明显改变骨的力学特性,但温度的变化对骨的疲劳测试结果就会有显著影响(参考图 12),如在室温下,使骨产生疲劳性骨折所需的应力是在体温下测试时的两倍^[31]。

4.3 应变速率:力学测试时所选用的应变速率亦影响骨的力学特性。测试速度增加十位数,骨的应力会增加近 15%。选择测试速度没有严格的规定,一般可采用骨生理应变速率,即应变系数在 0.01 秒和 0.08 秒之间(图 14)^[32]。

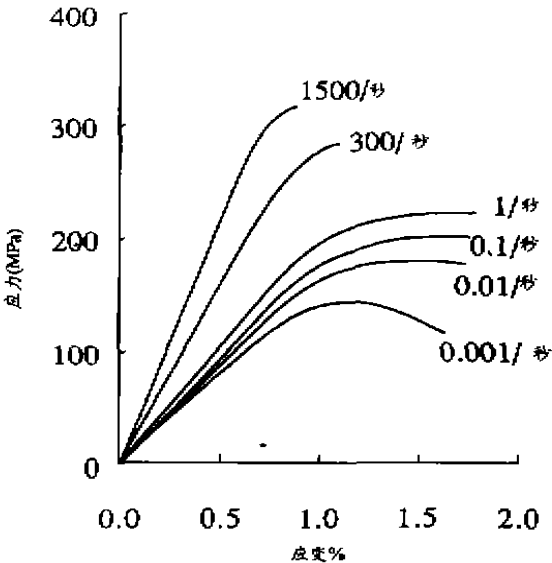


图 14 密质骨在力学测试时的力学特性
受所选用测试速度的影响
(以应变速度为单位)
(Keaveny and Hayes, Bone 7:285,1993)

4.4 测试时的受力方向:在各方向上具有相同应力的材料称各向同性材料。骨的结构特性与木材或其他生物结构相似,在各方向的应力大小不均匀,属于各向异性材料。如骨干密质骨的弹性模量由长骨长轴方向的 17GPa 减少到在

横轴方向的 $12\text{GPa}^{[33]}$ 。另外,骨受压力负荷的能力要强于受剪切负荷的能力。与密质骨相似,松质骨的弹性样量大小取决于骨小梁排列的方向和密度。其弹性模量的变化可由 4.5 降低至 0.1GPa ,即骨小梁垂直受力时具有最大的弹性样量^[34]。此外,众所周知的骨质密度越大,在相同测试条件下,其力学试验结果如最大应力和弹性模量会更高(图 15)。

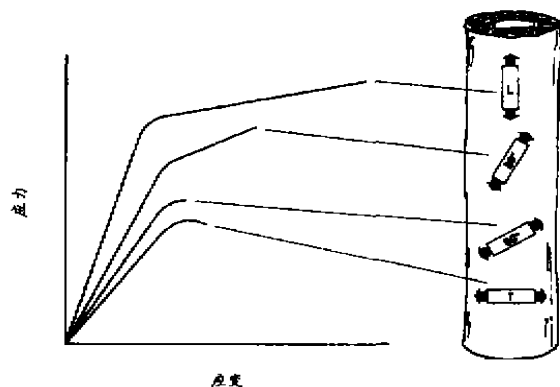


图 15A 骨是各项异性材料,例如人体股骨骨平骨密质的最大应力和弹性模量在垂直受力时最大,而在横间受力时最小

(Nordin et al, BBMS ed2, 1989)

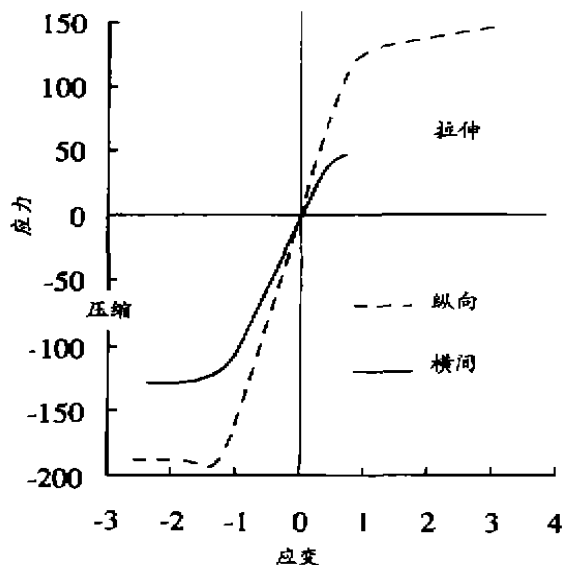


图 15B 密质骨受压缩和拉伸负荷及不同方向对骨作用力时的不同应力-应变曲线图

(Keaveny and Hayes, Bone 7:285, 1993)

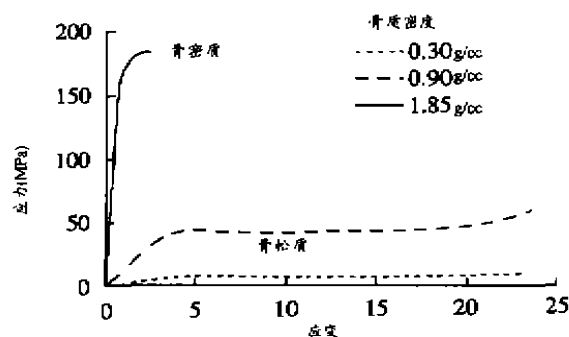


图 16 骨与其力学特性的相关应力-应变曲线
(Keaveny and Hayes, Bone 7:285 1993)

5 力学试验的动物模型

怎样建立骨质疏松的动物模型以便对抗骨质疏松的药物进行综合学科研究已有大量的报道和综述^[15-39]。就力学试验而言,由于实验的条件各异,选择动物模型也应同时考虑到试验室将选用的力学测试方法。选用较大动物,如狗、羊等时,上述方法都可用于对完整骨或制备的骨样本进行力学测试。但如选用小动物时,力学测试方式的可选性就有一定的局限性。如用鼠类做力学试验的动物模型时,一般只能选用对长骨的弯曲和对脊椎骨的压力测试。但如果考虑到动物骨与人骨组织结构的可比性,羊和狗是相对较好的动物模型,因它们具有与人骨相似的代谢速率和在密质骨中含哈佛氏系统。相反,鼠类骨的代谢速率高,皮质骨则没有这样有规则的哈佛氏系统。

6 小结

骨生物力学检验直接反映防治骨质疏松药物对骨组织结构的力学效应,是研制和开发防治骨质疏松新药的一个重要检验手段。以上简述了基础骨材料力学的基本概念、骨样本的保存和力学试验的方法。这些内容是研究抗骨质疏松药物对骨力学性质影响的基础。由于各实验室所选用的动物模型、样本保存、小样本的制备程序、所选用的力学测试条件等不尽一致,实验数据缺乏绝对可比性。但在实验室的同一研

究课题中,通过确保上述条件的统一性,可最大限度上提高实验数据的精确性和可比性。下述三点是我们应在实验设计和力学试验中着重考虑的因素:

选择最佳、有效和易行的力学测试方法:上述各宏观和微观的力学测试方法各有优缺点。最佳、有效和易行的方法是相对整体应用而言的。如在对管状长骨进行测试时,从材料力学机所获得的弹性模量并不可靠。如在长骨骨干上安装上应变片,则可获得可靠的弹性模量。另外,当在同一力学实验中可获得多个力学参数时,我们应对他们进行分析和选用最能准确和精确反应骨有关生物力学的指标^[2,3,12-15]。

选用标准材料做对照:应尽可能采用标准材料来证实所选用的测试程序的准确性。一般常用的骨样本对照标准材料是有机玻璃制成的符合相应力学测试形态的材料。

骨的储存与骨样本的制备:上文已讨论了用于力学测试骨的储存方法。当采用制备好的特殊形状的骨小样本做力学测试时,要用慢速骨锯,并在制备过程中用生理盐水加以冷却,从而降低由于机械损伤和热效应所导致的骨应力强度的减弱^[15,16,19]。此外,在力学试验过程中,要切记用生理盐水浸湿骨样本,以防止由于干燥而导致的骨质变脆。这一点在骨疲劳测试中尤为重要。

参 考 文 献

- 殷文娟,薛延. 骨质疏松症防治药物—双磷酸盐的研究进展. 罗先正等主编. 骨质疏松症—骨基础理论研究. 哈尔滨出版社,1998. 198-202.
- Aifentraner B, Bauss F, Qin L, et al. Mechanical properties of cancellous and cortical bone after long term I bandronate dosing in beagle dogs. *Bone*, 1995, 17: 604.
- Peter CP, Guy J, Sheu M, et al. Long-term safety of the amino bisphosphonate alendronate in adult dogs. I. General safety and biomechanical properties of bone. *Pharmacol Exp Ther*, 1996, 276: 271-276.
- Yoshida Y, Moriya A, Kitamura K, et al. Responses of trabecular and cortical bone turnover and bone mass and strength to bisphosphonate YH529 in various hysterectomized beagles with calcium restriction. *Bone Miner Res*, 1998, 13: 1011-1022.
- Burstein AH, Currey JD, Frankel VH, et al. The ultimate properties of bone tissue: the effects of yielding. *J Biomech*, 1972, 5: 35-44.
- Ashman RB, Rho JY. Elastic modulus of trabecular material. *J Biomech*, 1988, 21: 177-181.
- Sedlin ED, Hirsch C. Factors affecting the determination of the physical properties of femoral cortical bone. *Acta Orthop Scand*, 1996, 37: 29-48.
- McCalden RW, McCaugh JA, Court-Brown CM, et al. Age-related changes in the compressive strength of cancellous bone. *J Bone Joint Surg*, 1997, 79A: 421-427.
- Hobatho MC, Rho TY, Ashman RB. Anatomical variation of human cancellous bone mechanical properties *in vitro*. In: Lowet G et al. (eds.) *Bone research in biomechanics*. Amsterdam: IOS Press, 1997. 157-174.
- Demetropoulos CK, Willis CB, Goldstein SA. Biomechanical characteristics of rat trabecular bone. *Trans Orthop Res Soc*, 1993, 18: 585.
- Reilly DT, Burstein AH. The mechanical properties of cortical bone. *J Bone Joint Surg*, 1974, A56: 1001-1021.
- Azuma Y, Oue Y, Kanatani H, et al. Effects of continuous alendronate treatment on bone mass and mechanical properties in ovariectomized rats: comparison with pamidronate and etidronate in growing rats. *Pharmacol Exp Ther*, 1998, 286: 128-135.
- Motoie H, Nakamura T, Ouchi N, et al. Effects of the bisphosphonate YM175 on bone mineral density, strength, structure, and turnover in ovariectomized beagles on concomitant dietary calcium restriction. *Bone Miner Res*, 1995, 10: 910-920.
- Cointry GR, Modelo N, Zanchetta JR, et al. Intravenous olpadronate restores ovariectomy-affected bone strength: a mechanical, densitometric and tomographic (pQCT) study. *Bone*, 1995, 17: 373-378.
- Qin L, Chan KM, Rahn B, et al. Bone mineral content measurement using pQCT for predicting the cortical and trabecular bone mechanical properties. *Chin J Orthop*, 1997, 17: 66-70.
- Turner CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone*, 1993, 14: 595-608.
- Ferretti JL. Perspectives of pQCT technology associated to biomechanical studies in skeletal research employing rat models. *Bone*, 1995, 17: 353-364.
- Kuhn JL, Goldstein SA, Choi K, et al. Comparison of the

- trabecular and cortical tissue moduli from human iliac crests. *J Orthop Res*, 1989, 7; 876-884.
- 19 Choi K, Kuhn JL, Ciarelli MJ, et al. The elastic moduli of human subchondral, trabecular, and cortical bone tissue and the size-dependency of cortical bone modulus. *J Biomech*, 1990, 23; 1103-1113.
 - 20 Rho JY, Tsui TY, Pharr GM. Elastic properties of human cortical and trabecular lamellar bone measured by nanoindentation. *Biomaterials*, 1997, 18; 1325-1330.
 - 21 Grynblas MD, Acito A, Dimitriu M, et al. Changes in bone mineralization, architecture and mechanical properties due to long-term (1-year) administration of pamidronate (APD) to adult dogs. *Osteoporosis Int*, 1992, 2; 74-81.
 - 22 Forward MR, et al. Microdamage in response to repetitive torsional loading in the rat tibia. *Calcif Tissue Int*, 1989, 45; 47-53.
 - 23 Park HC, Lakes RS. Cosserat micromechanics of human bone: strain redistribution by a hydration sensitive constituent. *J Biomech*, 1986, 19; 385-397.
 - 24 Ashman RB, Corin JD, Turner CH. Elastic properties of cancellous bone: measurement by an ultrasonic technique. *J Biomech*, 1987, 20; 979-986.
 - 25 Turner CH, Eich M. Ultrasonic velocity as a predictor of strength in bovine cancellous bone. *Calcif Tissue Int*, 1991, 49; 1116-1119.
 - 26 Katz JL, Meunier A. Scanning acoustic microscopy of human and canine cortical bone microstructure at high frequencies. In: Lowet G et al. (eds). *Bone research in biomechanics*. Amsterdam: IOS Press, 1997; 123-238.
 - 27 Chapman JR, Harrington RM, Lee KM, et al. Factors affecting the pullout strength of cancellous bone screws. *J Biomech Eng*, 1996, 118; 391-398.
 - 28 Morberg P, Albrektsson T. Removal torque for bone-cement and titanium screws implanted in rabbits. *Acta Orthop Scand*, 1991, 62; 554-556.
 - 29 Ryken TC, Clausen JD, Traynelis VC, et al. Biomechanical analysis of bone mineral density, insertion technique, screw torque, and holding strength of anterior cervical plate screws. *J Neurosurg*, 1995, 83; 325-329.
 - 30 Bonfield W, Li CH. The temperature dependence of the deformation of bone. *J Biomech Eng*, 1968, 1; 323-329.
 - 31 Carter DR, Hayes WC. Fatigue life of compact bone-I. Effects of stress amplitude, temperature and density. *J Biomech*, 1976, 9; 27-34.
 - 32 Carter DR, Hayes WC. The compressive behavior of bone as two-phase porous structure. *J Bone Joint Surg*, 1997, 59A; 954-962.
 - 33 Carter DR, Hayes WC, Shurman DJ. Fatigue life of compact bone. II. Effects of microstructure and density. *J Biomech*, 1976, 9; 211-217.
 - 34 Turner CH, Cowin SC, Rho JY, et al. The fabric dependence of the orthotropic elastic constants of cancellous bone. *J Biomech*, 1990, 23; 549-561.
 - 35 冯坤, 王健智. 骨质疏松的实验动物模型. 刘忠厚主编. 骨质疏松学. 科学出版社, 1998; 501-511.
 - 36 Giardino R, et al. Experimental surgical model in osteoporosis study. *Boll Soc It Biol Sper*, 1993, 111; 453-460.
 - 37 Hornby SB, Ford SL, Mase CA, et al. Skeletal changes in the ovariectomized ewe and subsequent response to treatment with 17 β oestradiol. *Bone*, 1995, 17; 389-394.
 - 38 Newman E, Turner AS, Wark JD. The potential of sheep for the study of osteopenia, current status and comparison with other animal models. *Bone*, 1995, 16; 277-284.
 - 39 Qin L, Mak AFT, Cheng CW, et al. Histomorphological study on patterns of fluid movement in cortical bone in goats. *Anat Rec*, 1999, 255; 380-387.
 - 40 Dickson GR. *Calcified tissue preparation*. Amsterdam: Elsevier, 1984.

第七届全国骨质疏松年会和第四届全国钙剂年会征文通知

经上级批准,中国老年学学会骨质疏松委员会、中国骨质疏松杂志社主办,中国骨质疏松基金会协办,定于2000年9月下旬在浙江省杭州市召开第七届全国骨质疏松年会和第四届全国钙剂年会(简称杭州会议)。

征文内容:原发性骨质疏松症与继发性骨质疏松症的病因、病理、生化、诊断及鉴别诊断;骨质疏松流行病学、骨矿测量、临床治疗药物及方法;骨质疏松诊断仪器设备与开发;中医中药研究与应用;钙剂研究与应用等最新成果与综述。

截稿日期:2000年7月1日,稿件应注明《杭州会议征稿》(以邮戳为准)。

会议期间,欢迎厂家参展。来信索取通知。 征稿请寄:北京朝阳区惠新里38号 邮编:100029 中国骨质疏松杂志社办公室 孙继荣 主任收

联系电话:64985881 010-64978180 传真:010-64976421 E-mail:CGSOC@hns.cjfh.ac.cn