

基础骨生物学新观

黎小坚 Harold M Frost 朱绍舜 柯华珠

第二章 骨生物力学

骨骼系统与人体内其他组织系统相比较,其首要功能是满足机体的生物力学需要,其次才是满足机体代谢需要。骨组织的高度坚硬是其他组织所没有的独特性质。这一特性使骨组织起到支撑人体的体形、能通过传递骨骼肌收缩力来使人类进行各种由简单至复杂的运动、能保护人体内部的软组织器官、还能骨髓组织提供架构等生物力学功能。此外,骨组织还作为钙、磷等矿物质的储存库,起到参与细胞外液中矿物离子浓度调节的机体代谢功能^[1-3]。

然而长期以来,部分学者忽略了骨组织的生物力学功能,把其参与机体代谢的功能置于首位,因而认为控制骨组织的代谢过程的主要因素是非生物力学因素,如激素、钙、维生素D、细胞素、生长因子、性别、基因等。这些学者还认为非生物力学因素可以直接通过控制破骨细胞和生骨细胞等效应细胞的功能来完成骨组织的机体代谢功能^[4-6]。这种观点可用以下的关系式表示:

非生物力学因素→骨组织中效应细胞→骨的健康/疾病(关系1)

随着医学科研技术的迅速发展,人们对骨组织如何适应其力学环境的过程的理解不断深化。越来越多的新发现使学者们了解到骨组织在人体发育和成熟过程中,其形状、骨量、以及内部结构在不断地自我调整和自我更新,其主要目的是使本身在质量、数量、分布(结构)和微结构完整性等4个方面都以最佳状况来适应不断增加和变化的力学环境需要。例如举重运动员骨量比正常人群明显增加;失重状态时(太空宇航、卧床患者、制动患者等)骨量比正常明显减少^[7-10]、短期内过量和过频的超负荷运动使骨组织中的微缺损加剧而激活了骨重建这一修复过程^[11-14];骨折的不完全

复位在愈合后逐渐恢复正常形状^[15-16];运动和负荷增加使接受促成骨药物治疗的动物骨量的增加明显大于对照组^[17-20]。越来越多的实验证据使学者们重新认识到,由于骨组织的形状骨量、及其内部结构的变化取决于力学环境的改变,控制这些变化的主要因素只能是外力作用(生物力学因素),而其他的非生物力学因素则起辅助作用。本章主要介绍在这一新观点的指导下,骨生物力学调控系统的构成及其运作;本章还介绍骨生物力学的基本特性及其测量。

第一节 骨生物力学的调控系统

1. 力学调控系统的构成

从材料力学的角度看,钢铁的强度比骨的强度大很多。然而用钢铁造成的汽车寿命只有十多年,而以骨为架构的人类的寿命则可长达一百多年。这是因为人是有生命的。生命的活力使骨组织在不断地自我调整以适应不断变化的力学环境。生命的活力还使骨组织在不断地自我翻新以修复已缺损的内部结构,使之无法累积成患。

骨组织对其力学环境的适应性是相当强的。现实生活中骨的力学环境是在不断地变化的,例如成年之前的体重、肌肉拉力、体力运动都随着年龄的增长而增加。每当力学环境变化后,原有的骨量分布已不能适应,某些部位因骨量不足而负荷增加,某些部位则因骨量过多而负荷减少。这种情况引起了骨量的重新分布,使骨量不足的部位增加骨量,使骨量过多的部位减少骨量。这一过程使骨量再分布从而重新适应新的力学环境。

骨组织对其力学环境的适应能力,说明了骨组织中可能存在着与室内调节温度的“温度调控系统”(Thermostat)类似的调控系统:一个由温度感受器,升温/降温机制和反馈回路机制组成的系统。当温度感受器监测到室温高于/低于指定温度(阈值)时,降温/升温机制开始工作,使室内温度达到指定范围内。因此,我们把这种引起骨量重新分配而适应力学环境的机制称为骨的“力学调控系统”(Mechanostat)。骨力学调控系统可用以下的关系式表示:如关系2所示,这一力学调控系统的主要控制因素是日常生活中由肌肉收缩^[21-24]而产生的外力作用(Mechanical usage),它使骨组织产生变形和微缺损。学者们认为在骨组织中形成无处不达的立体网状结构的骨细胞陷窝-骨小管系统是骨组织的力学感受器(详见第一章,骨细胞)。外力作用使骨组织的变形和微缺损引起骨小管内液的流动,产生剪切应力和流动电压,作用于骨

作者单位:美国,麻州,遗传研究所(Genetics Institute, Massachusetts, USA)首席科学家,国际华人骨研学会前任会长,广东医学院客座教授(黎小坚 Xiao Jian Li, M.D.);美国,克罗拉多州(Southern Colorado Clinic, Northside Clinic, Pueblo, CO, USA),骨外科教授,国际华人骨研学会科学总顾问,广东医学院荣誉教授(Harold M. Frost, M.D.);美国,犹他州,犹他大学(University of Utah, Salt Lake City, UT, USA),解剖系教授,国际华人骨研学会理事长,广东医学院荣誉教授(朱绍舜 Webster S. S. Jee, Ph.D.);美国,康乃迪克州,辉瑞制药厂(Pfizer Research Center, CT, USA),首席科学家,国际华人骨研学会现任会长,广东医学院客座教授(柯华珠 Hua Zhu Ke, M.D.)

在这一力学调控系统中,非生物力学因素只起辅助调节作用。因为它们不能决定骨组织是否需要改变、改变部位和改变的方向(增加或减少),而只能在特定的部位促进或抑制其特定的变化(增加或减少)。学者们认为,非生物力学因素可以通过改变阈值、或改变信号指令的强度这两个途径来调节力学调控系统。例如雌激素可维持骨重建阈值,绝经后妇女雌激素的撤除使骨重建阈值提高了约30%,致使骨组织在外力作用不变的情况下感觉到自己处于废用状态,因而促使骨重建激活频率大幅度增加,同时使骨吸收量大于成骨量,骨单位骨量平衡为负,总骨量减少而导致骨质疏松。在绝经后妇女进行激素替代疗法后,骨重建阈值恢复正常而使骨重建激活频率恢复正常,骨量减少停止。又如甲状旁腺素可使骨建造阈值降低,治疗后尽管力学环境和骨量关系不变,骨组织感受器却监测到现有的骨量不能满足外力作用需要,合成和分泌特定的信号指令,激活骨建造的骨板性成骨漂移机制,同时使正在进行的骨重建机制的骨吸收量小于成骨量,单个骨单位骨量平衡为正,总骨量因而逐渐增加。治疗停止后,阈值恢复正常,骨组织感受器监测到现有的骨量过高地满足外力作用需要,即处于废用状态,因而促使骨重建激活频率大幅度增加,同时使骨吸收量大于成骨量,骨单位骨量平衡为负,总骨量减少至治疗前水平。

第二节 骨生物力学的基本特性

1. 骨生物力学的四大基本特性

(1) 材料的质量

一般来说材料的质量指构成材料的元素,例如铁比铜硬。对骨组织来说,材料的质量主要源于两种因素:胶原纤维的结构和矿物化的程度。正常骨组织中胶原纤维排列紧凑而成板层结构,多层胶原纤维板以相互垂直的方向象夹板一样重叠粘合而成。这种结构有利于防止微裂痕的延伸。这种组织的矿物化程度是相当高的。然而在病理状况下,由于胶原纤维排列成疏松的网状结构且矿物化不全,导致质量的大大降低。例如佝偻病和Paget氏骨病等。最典型的例子是,骨质疏松患者在接受氟制剂治疗后骨量大大增加,但由于新骨的质量不好,其主要成分是矿物化不全的网状骨(woven bone),因而骨折不降反升。这一现象说明了,如果骨组织质量降低了,骨量的增加不一定会导致骨强度的增加。因此,美国联邦食品药品监督管理局(FDA)在评价增加骨强度药物疗效时,要求必须有生物力学试验的测试结果。

(2) 材料的数量

显而易见,质量相同的材料如分布正常,在允许范围内,样本的强度是与材料的多少成正比的。骨质疏松症之所以骨强度下降,骨折危险性增高,与骨量的大量减少是分不开的。

(3) 材料的几何分布(结构)

质和量都相同的几个样本,如果材料的几何分布不同,可以导致强度的明显差别。图25显示了一个典型的范例。3个横切面积几乎相等且质量相同的圆柱或圆筒,由于材料

分布的不同,其横切面惯量矩和弯曲强度均不同。材料的分布离圆心的半径越大,其强度也越大。

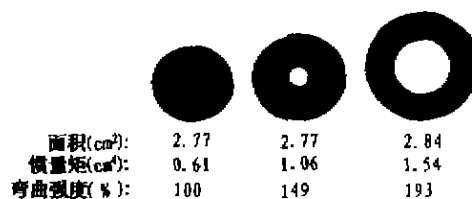


图25 材料的结构与其力学强度的关系

(4) 微结构的完整程度

钢铁的强度比骨大而其寿命却比骨短,就是因为它无法自我修复而使材料内部的微损伤不断积累所致。骨组织中的微裂痕,正常情况下可经过骨重建完全修复。但如果产生的速度太快和数量太多,超越了骨组织自我修复的能力,则会产生疲劳性骨折。

2. 骨生物力学4大基本特性的综合表现型特性:应力与应变的关系^[45]

现实中的骨组织与世界上所有物体一样,是错综复杂的。因而其4大特性的表现不是孤立的。例如骨量的增加往往伴随着骨形状和结构的改变,骨量的减少往往伴随着骨微结构的丢失。骨生物力学4大基本特性的综合表现型特性集中在应力与应变的关系之中。

(1) 应力(stress)和应变(strain)的概念

骨组织受外力作用而产生的内部抵抗力称为应力,其大小等于单位骨面积所接受的外力。根据外力的方向,应力可分为牵拉(tensile)应力,压缩(compressive)应力,和剪切(shear)应力。应力的单位为PASCAL(Pa)。通常在最简单的情况下,骨组织接受的外力是牵拉,压缩和剪切力的综合。骨组织对不同方向外力作用的承受能力是不同的。其承受能力的大小依次是:压缩力,牵拉力和剪切力。

$$\text{应力}(\sigma) = \text{外力强度} / \text{受力面积}$$

骨组织受外力作用而变形(deformation),或改变其长度的现象称为应变(图26)。应变的单位是相对的。当骨受力而增长至原有长度的101%,其变化是1%,单位是0.01 strain(应变),或10 000 μstrain (微应变)。值得注意的是,当骨长度改变时,其宽度也会相应改变。骨宽度应变与长度应变的比值叫泊松比值(Poisson's ratio)。这一比值在皮质骨中是0.28至0.45之间,即当骨在受力方向应变是1%时,与其垂直方向的应变是0.28%至0.45%。

$$\text{应变}(E) = [\text{变形后长度}(L_f) - \text{原长度}(L_o)] / \text{原长度}(L_o)$$

(2) 应力-应变曲线

在外力的作用下,骨的应变是随应力变化而改变的。它们的关系可分为两个阶段:弹性(elastic)阶段和塑性(plastic)阶段(图27)。

弹性阶段是指应力的增加到达骨的弹性极限,或屈服点(yield point)之前。在此阶段中应变随着应力的增加而呈线性比例增加。此时如撤销外力作用,变形了的骨组织可恢复

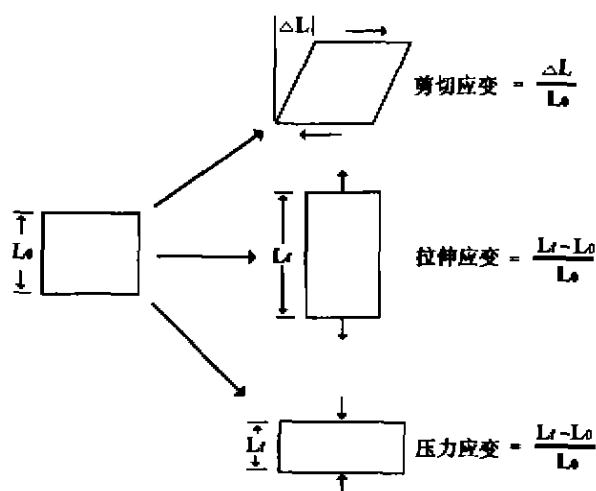


图 26 应变的示意图

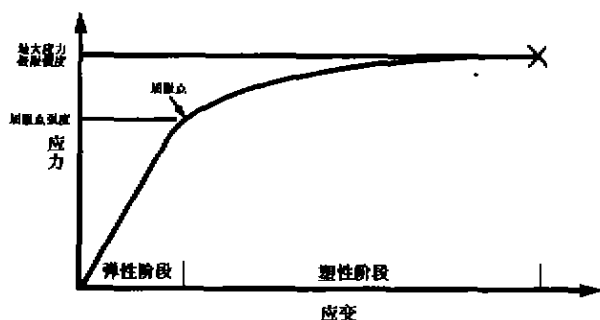


图 27 应力-应变曲线

到受力前的状态,其变形过程中所消耗的能量也可随之而恢复。这一现象称为弹性状态的可逆应变(reversible strain, "elastic behavior")。这种应变大量地存在于日常生活中,支配着骨组织不断地改变其结构和形状而适应不断变更的力学环境,而提供最佳的骨强度。

塑性阶段是指屈服点后的阶段。这时的骨组织已发生结构上的损坏而产生了永久性的变形,又称塑性变形。其主要原因是骨的微结构产生了器质性变化,如骨板的滑脱(cement line slip-page)、骨小梁的微骨折(trabecular microfracture)、和微裂痕(microcrack)的产生等。当应力增加到一定程度,骨发生断裂而产生骨折。导致骨折所需的应力称为最大应力(maximum stress),或骨的极限强度(ultimate strength)。

屈服点后的应变曲线反应了骨组织的延展性(ductility),或它的反面,脆性(brittleness)。屈服点与骨折点之间的曲线越短,骨的脆性就越高,反之,其延展性就越好。有趣的是,我们常把骨质疏松称为“脆骨病”,却没有足够的实验证据来证实它的脆性增加。

应力-应变曲线以下的区域面积的大小反映了骨折产生过程中消耗的总能量,称为骨的韧度(toughness)。在生物力学中韧度是一个很重要的特性。某些韧度大的材料可能较易到达屈服点,却不易发生骨折。例如儿童期常见的青枝骨折。

弹性阶段的曲线斜率称为弹性模量(elastic modulus),或

杨氏模量(Young's modulus),用以测量骨组织的内部硬度(intrinsic stiffness)。这一指标主要反映了骨组织的材料特性,与材料的量的大小无关。例如由于骨量相差悬殊,相扑运动员的骨强度比女体操运动员大得多,而二者间的杨氏模量则几乎相同。

松质骨的生物力学测量难度较大。松质骨是由许多单个小梁骨互相连接而成的网状结构。其材料硬度指单个小梁骨的硬度。而其结构硬度则指松质骨网状结构的硬度。由于测量单个小梁骨的硬度的难度很大,大部分松质骨的生物力学研究侧重于测量松质骨网状结构的硬度。松质骨网状结构的硬度取决于小梁骨的密度和走向。不同解剖部位松质骨的结构硬度也因其小梁骨密度和走向的不同而异。

密质骨的生物力学强度因外力作用的方向而异。股骨的纵向极限牵拉强度是 135 MPa,收缩强度是 205 MPa,剪切强度是 67 MPa。相比之下,股骨的横向极限牵拉强度则只有 53 MPa。松质骨的生物力学强度的大小在很大程度上取决于小梁骨的密度和走向,是 1 MPa 至 20 MPa 之间,不同部位的强度差别之大可达 20 倍。

在小于屈服点的外力的重复作用下,骨组织的力学强度和杨氏模量随时间的延长而逐渐降解。这种降解现象称为“疲劳”(fatigue),由骨结构中微裂痕(microcrack)的生成和积累所造成。这种微裂痕在外力的重复作用下可逐渐延伸,增长和相互连接,最后导致疲劳性骨折的发生。使已经“疲劳”的骨组织产生骨折所需的外力比使正常骨组织产生骨折所需的外力要小得多。

第三节 骨生物力学的基本试验^[45]

1. 拉伸试验(Tensile test)

拉伸试验要求有较大的骨样本并使其两端牢靠固定,可准确测试密质骨^[46]和松质骨^[47]的生物力学性能。在骨样本的中段夹上一个延长计则可测定其应变。而应力则等于作用外力除以样本中段的横切面积。如前所述,骨的内在硬度与其外在硬度(坚硬度,rigidity)是不同的。本试验中骨的内在硬度等于杨氏模量(E),而其外在硬度则等于 EA/L ,其中 A 是样本中段的横切面积, L 是样本的长度。很明显,除了取决于弹性,骨外在硬度还取决于其样本的长度。由于要求较大的骨样本(样本宽度在 8 mm 以上)^[48],拉伸试验的应用明显受到限制,特别是对松质骨的测试。

2. 弯曲试验(Bending test)

弯曲试验常用于测量骨干密质骨的力学性能。在测试中外力作用使长骨弯曲至断裂。骨弯曲时产生的应力可用图 28 中的公式计算。骨弯曲时受力侧产生压力应力而其对侧则产生张力应力。由于骨组织承受张力的能力差^[49],骨折通常发生在产生张力的一侧。横切面惯量距(cross-sectional moment of inertia)是衡量某一特定轴上材料分布状况的指标。不规则形横切面惯量距的计算公式是基于平行轴定理(parallel axis theorem)而推出的^[50,51](图 28)。

$$I = I_c + Ad^2 \quad (1)$$

式中 i_c 和 A 是中轴的惯量距和横切面内任意点的面积, d 是任意点中心与指定轴之间的距离。切面惯量距可在样本切面的任一轴上测量。但对弯曲试验来说, 这一轴应是位于横切面中心的中性轴。在弯曲状况时此轴上不存在拉力或张力应力。在离开中性轴的任一点上, 拉力或张力的力大小与该点和中性轴的距离成正比。因此, 骨外膜上的应力是最大

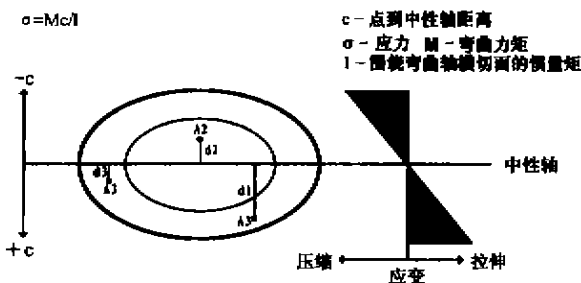


图28 弯曲试验中各种参数的关系和横切面惯量距的计算

的。我们可据此导出以下公式, 用计点技术或数字系统测量骨横切面的惯量距。假设图28中骨的横切面由许多小的长方形组成, 而每一长方形的高度为 h , 宽度为 w , 面积为 A , 与测量轴(中性轴)的距离为 d , 不规则形横切面的惯量距的计算公式则由公式1变为:

$$I = \sum_{i=1}^n (wh^3/12 + whd_i^2)$$

图28中 $i_1 = i_c + d_1^2 A_1$, $i_2 = i_c + d_2^2 A_2$, $i_3 = i_c + d_3^2 A_3$, I 等于所有 i 的总和。

式中 $i_c = wh^3/12$, $A = wh$, d_i 是该长方形与中性轴的距离, 从1至 n , 各点的总和为惯量距。横切面的惯量距还可以通过非侵入性途径, 用单或双能X线骨密度仪来测量^[32, 53]。弯曲试验包括三点弯曲试验和四点弯曲试验(图29)。骨标本的受力跨度(span, 图中的 L) 长度必须足够, 否则会造成剪切力的大量产生, 取代弯曲力而影响试验结果的准确性。最理想的样本尺度是长度为宽度的16倍。然而现实生活中能达到这一长宽比例的样本不多。如用大鼠股骨为样本, 其跨度应达15至20 mm, 才能保证85%至95%的弯曲段是由弯曲力, 而不是由剪切力所致。三点弯曲试验较简单, 但在骨中段产生的剪切应力较高。而四点弯曲试验则可在两个上位加压力点之间产生纯弯曲力, 而剪切力是零。由于四点弯曲试验要求各加压力点上的力必须相等, 技术难度较大, 三点弯曲试验则成为学者们喜好而常用的骨生物特性测定方法之一。弯曲试验结果的计算公式如下^[54]:

三点弯曲试验: $\sigma = Flc/4I$, $\epsilon = 12 cd/L^2$,

$$E = F/d \times L^3/48I \quad (2)$$

四点弯曲试验: $\sigma = Fac/2I$, $\epsilon = 6 cd/a(3L - 4a)$,

$$E = F/d \times a^2/12I \times (3L - 4a) \quad (3)$$

式中 σ 是应力, ϵ 是应变, c 是到中性轴的距离, F 是外力, d 是移位, L 是跨度, a 是左侧上下加压力点间的距离(图29)。值得注意的是, 计算得出的应变值准确度不高, 因为①

上述计算应变的公式只适用于屈服点前的应变计算, 而不适用于屈服点后的计算^[55]; ②有相当大的骨变形来源于施压前机器与骨样本的接触, 与弯曲力无关; ③通常有10%~15%的变形是由剪切力而不是由弯曲力引起的。这些因素的综合所致的骨移位相当大, 导致了对应变的过高估价和对杨氏模量的过低估价。因此, 把应变测量计固定在骨干中段, 直接测量出的应变值会更加精确。例如用大鼠股骨进行弯曲试验, 间接计算的杨氏模量为7.6 GPa, 而直接测量的结果则为29.4 GPa^[56]。和拉伸试验一样, 内部硬度和外部硬度的区别是必要的。该试验中骨的内在硬度等于杨氏模量(E), 而其外在硬度则等于 EI , 其中 I 是横切面惯量距。

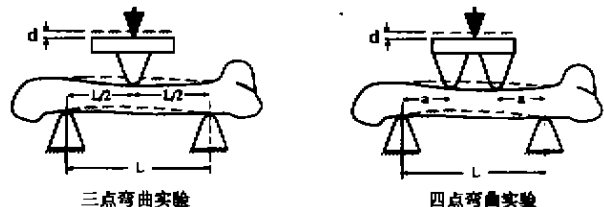


图29 弯曲实验示意图

3. 显微测试(Microtesting)

把上述的拉伸^[57], 三点弯曲^[58], 和四点弯曲^[59]等试验的机械和样本显微化, 按比例缩小, 则能够测量骨组织内部微细结构(如单个小梁骨)的力学特性。显微测试技术的应用使我们能够测量0.2 mm宽, 2 mm长这样小的显微样本。由于目前显微测试技术还处于发展的初级阶段, 样本处理尚未达到标准, 我们应以审慎的态度来分析和判断这些显微测试的结果。据文献报道, 对于同一指标, 用不同显微测试方法所得到的结果是不同的, 有时甚至是矛盾的。例如显微弯曲测试测出的杨氏模量与测试样本的大小成正比^[60], 而显微拉伸测试测出的结果却与测试样本的大小没有相关关系^[57]。很明显, 这种结果的不一致性可能与哈佛氏管和骨小管存在所致使小样本的骨量分布不均匀有关。哈佛氏管和骨小管在大样本中所占的体积百分比可能小于0.1%, 但在0.2 mm宽, 2 mm长这样的小样本中所占的体积百分比则可超过30%。因此所致的骨量分布不均使其在显微弯曲测试时应力分布不均, 导致杨氏模量的减少。由于外力作用方向的不同, 同样的骨量分布不均, 在显微拉伸测试时则不一定会导致杨氏模量的减弱, 或者减弱的程度不明显。

4. 压力试验(Compressive test)

压力试验是一种常用的测量骨力学性能的技术。其优点是骨样本受力方向与生理状态相近, 而且使用时简单方便。然而, 测试过程中骨端与机器接触面相互挤压所致的“终端效应”使其精确度不如拉伸试验。如图30左所示, 骨端与机器接触面的不完全衔接可使应力集中在样本的某个局部而降低骨的整体应力和弹性模量。在机器一端加上枢轴则可纠正这种不完全衔接(图30右)^[61]。另一常见的“终端效应”源于骨样本的处理阶段。在此阶段中所有的松质骨样本经处理后而具有统一的形状和大小, 通常为7~10 mm

宽的正方体或圆柱体。在把多余的松质骨去除后,样本周边的小梁骨因失去了原有的支持而在测试中产生较大的应变。这一误差大大地降低了应变计算的精确度^[62,63]。因此,把应变测量计夹在骨样本中部而直接测出的应变结果才是精确的。

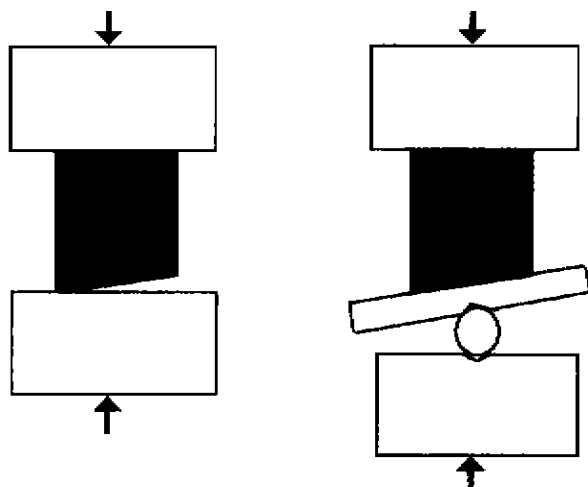


图30 压力试验示意图

压力试验的优点是施压力向与骨的生理受压方向相似,测试样本较小,样本处理相对容易。尽管上述误差的存在,压力试验还是比较精确的。特别是在设计好的实验中,把治疗组的结果与正确的对照组比较可纠正上述的测量误差。

5. 扭曲试验(Torsion test)

扭曲试验常用于测量骨处于扭曲状态时的力学性能。一个扭曲状态中的圆柱体,其圆心的剪切应力是零,其表面的剪切应力则为最大值。扭曲状态中的圆柱体剪切应力的公式是:

$$\tau = Tr/J, \quad (4)$$

式中 τ 是剪切应力, T 是外加的扭曲力, r 是圆柱体的半径, J 是圆柱体的极性惯量距。非圆形物体剪切应力的计算是不宜应用该公式的。值得注意的是,此公式只适用于实心的圆柱体,而骨则类似管状圆柱体,其计算公式是^[64]:

$$\tau = Tr/2At, \quad (5)$$

式中 A 是管状圆柱体内圆面积和外圆面积的平均值, t 是管壁的厚度。这一公式可以应用于计算骨在扭曲状态的剪切应力。然而,用于计算大鼠股骨剪切应力时,该公式会造成19%的低估误差。

极性惯量距(J)等于横切面上相互垂直的任意两轴的惯量距之和,或等于横切面的最大和最小两轴的惯量距之和。圆柱体切面之极性惯量距的计算公式是:

$$J = \pi/2 \times r^4 \quad (6)$$

而圆管切面之极性惯量距的计算公式是:

$$J = \pi/2 \times (r_0^4 - r_1^4) \quad (7)$$

式中 r_0 是外半径, r_1 是内半径。按极性平行轴定理将骨横切面图像数字化是测量不规则形横切面极性惯量距的最佳方法。不规则形平行轴定理是^[65,66]:

$$J = j_c + Ar^2 \quad (8)$$

式中 j_c 和 A 分别为某点的极性惯量距和面积, r 是从该点到横切面中心的距离。如该点面积是长方形时,则 $j_c = w^3 h + h^3 w)/12$, $A = hw$, h 为高度, w 为长度。

扭曲试验的测试步骤是,首先把骨的两端用塑胶脂方块或低熔点合金方块包埋,材料测试机把骨两端的方块夹紧后向相反方向扭转^[67,68]。根据转矩-扭转曲线的斜率,骨剪切弹性模量的计算公式是:

$$G = T/\theta \times L/K \quad (9)$$

式中 G 是剪切弹性模量, T/θ 是斜率, L 是未包埋骨段的长度, K 是扭力的常数。可惜的是,计算不规则形长骨的 K 是不容易的。容易而又准确的方法是把应变测量计贴在骨中段,直接测量骨的扭转应变,再除外加应力则可算出剪切弹性模量^[50]。

在扭曲试验中,内在硬度等于剪切弹性模量(G),而在硬度则为 GJ , J 是横切面的极性惯量距。

6. 纯剪切试验(Pure shear test)^[69-73]

扭曲试验除了产生剪切应力外,还产生张力应力,其结果因而精确度不高且不易解析。为满足要求高精度剪切应力的实验,学者们发明了更高级的纯剪切测量方法。这些方法需要制造特殊的夹具,如轨道型剪切夹具,或扭转型槽型夹具来减少测试误差。

7. 超声波试验(Ultrasonic test)

因为钢轨比空气传导声音更快,把耳朵贴在钢轨上可更先听见远处而来的火车。声音在固体中的传导速率取决于其导体的弹性特征和材料密度。其计算公式是:

$$v = \sqrt{\frac{E}{\rho}} \quad (10)$$

式中 v 是传导速率, E 是杨氏模量, ρ 是导体密度。如速率和密度已知,杨氏模量则是:

$$E = \rho v^2 \quad (11)$$

压电变换器可用于测量骨样本对声波和超声波的传导速率。将具有平行界面的骨样本安置在压电变换器的超声波发生器与接受器之间,示波器可测定超声波在骨样本中的传导时间和衰减程度,其传导速率等于样本的长度除以传导时间^[46,63,74]。因剪切波可在固体内部产生,当已知其传导速率后,其弹性模量的计算公式是:

$$G = \rho v_s^2 \quad (12)$$

式中 G 是剪切弹性模量, v_s 是剪切波传导速率。纵向声波是以团块状(bulk)或以条状(bar)这两种形式在实体中传导的^[75]。它们的传导速率是不同的。公式(10)适用于条状传导速率的计算。团块状超声波的传导速率比条状块17%^[76]。其计算公式是:

$$v = \sqrt{\frac{C}{\rho}} \quad (13)$$

式中的 C 是杨氏模量与泊松比之间的弹性相关系数。在5 mm直径的密质骨样本中,频率大于2兆赫的超声波以团块状形式传导,小于500千赫则以条状形式传导^[76]。在松

质骨中,大于2兆赫的超声波可经单个小梁骨传导,因而效率极高^[7],小于100千赫的超声波以条状形式传导^[46]。

与其他力学测量试验相比,超声波试验的优点是多方面的。该实验的非破坏性特征,允许对骨样本多次测量,取平均值作结果,从而减少实验误差,提高精确度。这一优点对提高小样本数实测的统计学可靠性尤其重要。该试验的缺点是不能直接测量骨的力学特性,而只能通过间接推理^[63]。值得注意的是,该试验的骨样本不能太大,如样本长于10 mm,超声波会在样本内完全衰减而无法在输出端测定。一般来说,样本的最佳长度是3~5 mm。

8. 声导纤维镜(Acoustic microscopy)

因为声导纤维镜的测量范围极小,只有 $100\mu\text{m}^2$,这一技术通过用于测量局部小区域或单个小梁骨的材料力学特性。声导纤维镜把声能集中起来并聚焦在骨样本,然后测量不同深度骨层的声波反射时间^[78](图31)。超声波的传导速率等

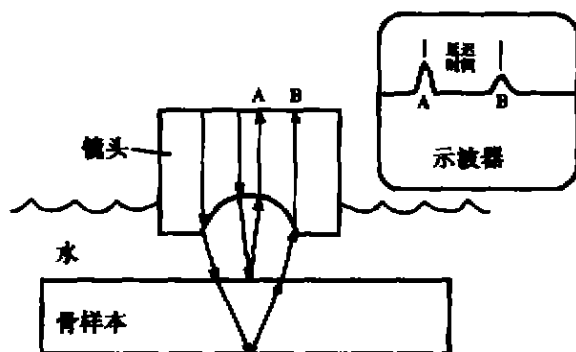


图31 声导纤维镜原理

于骨样本厚度的2倍除以骨表层和骨底层声能反射的时间差。该试验常用的骨样本厚度在0.5~1 mm之间,声频则在30至100兆赫之间。通常这样高频的超声波是以团块状形式传导的。Antich^[79]等人发明了一种技术来测量已被埋藏在塑胶脂中骨样本的生物力学特性。这种技术主要用于测量声波的“反射角”。当声波与一界面接触后,部分能量反射回来,其他能量则折射而消失。如声波所接触的界面呈“折射角”(critical reflect angle)时,所有的能量都会被反射回来。这一“反射角”的值(角度大小)取决于两个因素:①组成界面的两种材料(骨和塑胶脂)对声波的传导速率,和②声波的传导方式(纵向或剪切向)。有关声导纤维镜和“反射角”分析的原理可在Briggs的教科书里找到详尽的解释^[80]。

9. 疲劳试验(Fatigue tests)

一般来说,骨疲劳的定义是致使骨样本的内在硬度减少30%(应力-应变曲线的斜率减少30%)所需的施压周期数。外力作用越大,导致疲劳性骨折所需的施压周期数越小。反之亦然。拉伸,弯曲,压力和扭曲等试验均可用于测量骨样本的疲劳特性,但测试机器必须具有周期性施压的功能。骨的疲劳是通过“骨板滑脱”^[81]和“裂痕积累”^[82,83]这两种方式发生的。骨在张力应力高(>60 MPa)的状态下产生以骨板滑脱形式为主的疲劳^[84]。骨在压力应力低(<60 MPa)的状态下产生以裂痕积累形式为主的疲劳^[87]。骨在扭力应力低

(<50 MPa)的状态下也产生以裂痕积累形式为主的疲劳。值得注意的是,生理状况下活体骨所承受的压力应力通常小于40 MPa。这种状况是会产生骨板滑脱现象的。

Schaffler教授^[85]发现骨对低应力外力有很大的承受能力。当外力应力是24 MPa时,疲劳性骨折的发生需要3700万个施压周期,相当在86 d中对骨样本以每秒钟5个施压周期的频率连续不断地施压。实验显示,把外力应力从60 MPa降至50 MPa时,拉伸试验产生骨折的时间从3 h延长至5 d,而压力试验产生骨折的时间则从4 d延长至45 d。拉伸试验产生的疲劳性骨折以骨板滑脱形式为主,因而较迅速,而压力试验产生的疲劳性骨折以裂痕积累形式为主,因而较缓慢。实验还显示,当外力应力幅度已定,疲劳性骨折的发生与施压时间的关联大于与施压频率的关联^[86]。

骨的抗疲劳能力是一项很重要的生物力学特性,特别是在用于判断强化骨强度的药物疗效时。疲劳试验是上述众多力学测量试验中最消耗时间和人力的。因此大部分学者都选用比较简易的试验进行测量。

10. 力学试验的注意事项

(1) 样本的储存

骨样本在脱离活体后如不能马上测量,必须以适当的方式储存。如储存不当,样本组织则很快发生自溶,其力学特性也随之而降解。如骨样本在室温中放置24 h后进行测量,其杨氏模量会减少3%。而骨样本在50%酒精中固定了90 d后进行测量,其杨氏模量只减少了2%。由于酒精的脱水作用,测试前几小时应把样本取出并浸泡在生理盐水中,以恢复其原有的湿度。和酒精一样,福尔马林是常用的组织固定剂。与酒精不同的是,福尔马林会增加骨中胶原的交联而明显改变其力学特性。某些学者发现经福尔马林处理后杨氏模量和最大拉伸强度都增加68%,而其他学者则认为福尔马林处理后拉伸强度减少1%~9%,压力强度减少12%~18%。尽管结果不一,福尔马林对骨力学特性有显著作用的结论是一致的。因此,固定后骨样本的测试结果不一定能反映其真正的力学特性。骨样本的最佳储存方法是将其用生理盐水纱布包裹后存放在-20℃冰箱内。实验证明,用此方法储存了30 d后,骨样本的力学特性并没有改变。

(2) 样本的湿度

样本在脱水后其杨氏模量和强度会增加而其韧度会减少。因此在测试中用生理盐水维持样本的湿度是很重要的。

(3) 样本测试的温度

最理想的测试温度是37℃(体温),而最常用的测试温度是23℃(室温)。与体温相比,室温中骨的杨氏模量会增高2%~4%。上述的各种试验中,疲劳试验对温度变化最敏感,在室温中疲劳性骨折所需的施压周期会比体温增加一倍。值得注意的是,“室温”这一定义可能会因人、因地而异。把测试时的室温统一在23℃是必要的。

(4) 测试应变速率

当骨受力变形时,其中的细胞外液受挤压而在骨组织中微细结构(如骨小管)内循环。由于细胞外液具有黏着性(vis-

osity),它在微结构内的循环流动过程是一个能量消耗过程。骨因此而被称为兼具黏着和伸缩(弹性)两性(viscoelasticity)的组织^[87]。骨组织脱水后因黏着性消失而变得象弹簧一样^[89]。而正常的骨组织则象安装了震荡吸收器的弹簧。震荡吸收器的抗外力能力与测试速度成正比,当测试速度增加10倍时,骨的应力则增加15%^[88]。在生理状况下骨的应变速率为 $0.01 \sim 0.08/s$ ^[89],这一参数可在选择测试速度时作为参考。

11. 力学试验的动物模型

所有的力学试验都具有明显的侵入性,因而无法对人体骨组织进行测试,只能进行动物实验。根据实验目的和实验室条件选择力学有效测试指标和合适的实验动物是很重要的。上述所有的力学试验都可以在大动物(狗、猪、羊、猴等)的骨样本上测试。但选用小动物时,力学测试的可选性就局限了。对大鼠模型只能用其长骨作弯曲试验和用其椎骨作压力试验。测量大鼠椎骨的松质骨是不容易的。在进行椎骨压力试验时,中心区取样法因其样本不能满足连续结构的标准而不准确^[44,90],而全椎骨压力试验的结果则因鼠类椎骨中密质骨比例过大而不能代表纯松质骨的力学特性。因此,测量松质骨的力学特性应选择大动物模型。值得注意的是,选择动物模型时密质骨的种类是不可忽略的,羊、山羊和牛等动物的密骨中丛状骨(plexiform bone)的比例只占主导地位,几乎没有与人类骨相似的哈佛氏系统。因而丛状骨组织的代谢率和力学特性与正常人类骨明显不同,特别是作疲劳性试验时^[91]。由于许多力学试验都具有实验成见,设立适合的对照组有助于对结果进行客观分析。

参 考 文 献

- Jee WSS. The skeletal tissues, In: cell and tissue biology, a textbook of histology. Chapter 7. Weiss L, Ed. Baltimore: Urban and Schwarzenberg, 1988.
- Jee WSS. Structure and function of bone tissue, In: orthopaedics, principles of basic and clinical science. Chapter 1. Bronner F and Worrell RV, Eds. Boca Raton: CRC Press, 1999.
- Frost HM. Introduction to a new skeletal physiology, Volumes I and II, Pueblo: Pajaro Group, 1995.
- Frost HM. Why the ISMNI and the Utah paradigm? Their role in skeletal and extraskeletal disorders, J Musculoskel Neuron Interact, 2000, 1: 5-9.
- Frost HM. The Utah paradigm of skeletal physiology: an overview of its insights for bone, cartilage and collagenous tissue organs. J Bone Miner Metab, 2000, 18: 305-316.
- Jee WSS. Principles in bone physiology. J Musculoskel Neuron Interact, 2000, 1: 11-13.
- Li XJ, Jee WSS. Adaptation of diaphyseal structure to aging and decreased mechanical loading in the adult rat: a densitometric and histomorphometric study. Anatomical Record, 1991, 229: 291.
- Li XJ, Jee WSS, Chow SY, et al. Adaptation of cancellous bone to aging and immobilization in the rat: a single photon absorptiometry and histomorphometry study. Anatomical Record, 1990, 227: 12.
- Cann CE, Genant HK, Young DR. Comparison of vertebral and peripheral mineral losses in disease osteoporosis in monkeys. Radiology, 1980, 134: 525.
- Jaworski ZFG, Uthoff HK. Disuse osteoporosis: current status and problems. In: Current concepts of bone fragility. Uthoff HK, ed. New York: Springer-Verlag, 1986: 181-194.
- Young DR, Nikowitz WJ, Steele CR. Tibial changes in experimental disuse osteoporosis in the monkey. Calcified Tissue International, 1983, 35: 304.
- Mori S, Burr DB. Increased intracortical remodeling following fatigue damage. Bone, 1993, 14: 103.
- Burr DB, Martin RB, Schaffler MB, et al. Bone remodeling in response to *in vivo* fatigue damage. J Biomechanics, 1985, 18: 189.
- Beutels V, Boyce TM, Fyhr DP, et al. Intracortical bone remodeling in adult rat long bones after fatigue loading. Bone, 1998, 23: 275.
- Frost HM. The biology of fracture healing: an overview for clinicians. Part I. Clin Orthop, 1989, 248: 283-293.
- Frost HM. The biology of fracture healing: an overview for clinicians. Part II. Clin Orthop, 1989, 248: 294-309.
- Chow JWM, Fox SW, Jagger CJ, et al. Role for parathyroid hormone in mechanical responsiveness of rat bone. Am J Physiol, 1998, 274: E146.
- Chambers TJ, Evans M, Gardner TN, et al. Induction of bone formation in rat tail vertebrae by mechanical loading. Bone Min. 1993, 20: 167.
- Yeh JK, Aloia JF, Cheo M. Growth hormone administration potentiates the effect of treadmill exercise on long bone formation but not on the vertebrae in middle-aged rats. Calcified Tissue International, 1994, 54: 38.
- Mosekilde L, Thomsen JS, Orhii PB, et al. Additive effect of voluntary exercise and growth hormone treatment on bone strength assessed at four different skeletal sites in an aged rat model. Bone, 1999, 24: 271.
- Burr DB. Muscle strength, bone mass and age related bone loss. J Bone Min Res, 1997, 12: 1547.
- Jee WSS. The interactions of muscles and skeletal tissue. In: Musculo-skeletal Interactions. Vol. II, Lyritis GP, Ed. Athens: Hylonome Editions, 1999, 35.
- Aniansson A, Zetterberg C, Hedberg M, et al. Impaired muscle function with aging: a background factor in the incidence of fractures of the proximal end of the femur. Clin Orthop, 1984, 191: 193.
- Kritz-Silverstein M, Barrett-Connor E. Grip strength and bone mineral density in older women. J Bone Min Res, 1994, 9: 45.
- Faulkner JA, Brooks SV, Zerva E. Skeletal muscle weakness and fatigue in old age: underlying mechanisms. In: annual review of gerontology and geriatrics. Cristofalo VJ and Awton MP Eds. New York: Springer-Verlag, 1990, 147.
- McCarter R. Age-related changes in skeletal muscle function. Aging, 1990, 2: 27.
- Murray M, Gardner G, Mollinger L, et al. Strength of isometric and isokinetic contractions: knee muscles of men aged 20 to 86. Phys Ther, 1980, 60: 412.
- Raloff J. Vanishing flesh: muscle loss in the elderly finally gets some respect. Science News, 1996, 150: 90.
- Frost HM. Osteoporosis: new concepts and some implications for future diagnosis, treatment and research (Based on insights from the Utah paradigm). Berlin: Ernst Schering Research Foundation AG, 1998, 7.
- Frost HM. A determinant of bone architecture: the minimum effective strain. Clin Orthop Relat Res, 1983, 175: 286.
- Frost HM. Bone "mass" and the "mechanostat", a proposal. Anat Rec, 1987, 219: 1.
- Frost HM. The mechanostat: a proposed pathogenic mechanism of osteoporosis and the bone mass effects of mechanical and nonmechanical agents. Bone, Min, 1987, 2: 73.
- Frost HM. Structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 1. Redefining Wolff's Law the bone modeling problem. Anat Rec, 1990, 226: 403.
- Frost HM. Structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2. Redefining Wolff's Law: the bone remodeling problem. Anat, 1990, 226: 414.
- Burr DB, Martin RB, Schaffler MB, et al. Bone remodeling in response to *in vivo* fatigue damage. J Biomechanics, 1985, 18: 189.
- O'Connor JA, Lanyon LE, MacFie H. The influence of strain rate on adaptive bone remodeling. J Biomechanics, 1982, 15: 767.
- Frost HM. Perspective on our age-related bone loss: insights from a new paradigm. J Bone Min Res, 1997, 12: 1539.
- Frost HM. On defining osteopenias and osteoporoses: problems! Another

- view (with insights from a new paradigm). *Bone*, 1997, 20:385.
- 39 Frost HM. On rho, a marrow mediator and estrogen: their roles in bone strength and "mass" in human females, osteopenias and osteoporoses (insights from a new paradigm). *J Bone Min Meta*, 1998, 16:113
 - 40 Burr DB, Martin RB. Errors in bone remodeling: toward a unified theory of metabolic bone disease. *Am J Anat*, 1989, 186:186.
 - 41 Frost HM. The pathomechanics of osteoporoses. *Clin Orthops Relat Res*, 1985, 200:198.
 - 42 Frost HM. On the estrogen-bone relationship and postmenopausal bone loss: a new model. *J Bone Min Res*, 1999, 14:1473.
 - 43 Frost HM. Bone modeling and skeletal modeling errors. Springfield: C. C. Thomas, 1973.
 - 44 Frost HM. Bone development during childhood, a tutorial (some insights of a new paradigm). In: Paediatric osteology, Schönau E, Ed. Amsterdam: Elsevier, 1996.
 - 45 Turner CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone*, 1993, 14:595-608.
 - 46 Ashman RB, Corin JD, Turner CH. Elastic properties of cancellous bone: measurement by an ultrasonic technique. *J Biomech*, 1987, 20:979-986.
 - 47 Reilly DT, Burstein AH, Frankel VH. The elastic modulus for bone. *J Biomech*, 1974, 7:271-275.
 - 48 Harrigan TP, Jasty M, Mann RW, et al. Limitations of the continuum assumption in cancellous bone. *J Biomech*, 1988, 21:269-275.
 - 49 Reilly DT, Burstein AH. The elastic and ultimate properties of compact bone tissue. *J Biomech*, 1975, 8:393-405.
 - 50 Keller TS, Spengler DM, Carter DR. Geometric, elastic, and structural properties of maturing rat femora. *J Orthop Res*, 1986, 4:57-67.
 - 51 Turner CH, Akhter MP, Heaney RP. The effects of fluoridated water on bone strength. *J Orthop Res*, 1992, 10:581-587.
 - 52 Martin RB, Burr DB. Non-invasive measurement of long bone cross-sectional moment of inertia by photon absorptiometry. *J Biomech*, 1984, 17:195-201.
 - 53 Yoshikawa T, Turner CH, Markwardt P, et al. Cross-sectional moment of inertia of the femoral neck measured using DEXA. *J Bone Miner Res*, 1992, 7(Suppl 1):S135.
 - 54 Gere JM, Timoshenko S. Mechanics of materials. Boston: PWS-Kent, 1984.
 - 55 Burstein AH, Currey JD, Frankel VH, et al. The ultimate properties of bone tissue: the effects of yielding. *J Biomech*, 1972, 5:35-44.
 - 56 Turner CH, Akhter MP, Raab DM, et al. A noninvasive *in vivo* model for studying strain adaptive bone modeling. *Bone*, 1991, 12:73-79.
 - 57 Rho JY, Ashman RB, Turner CH. Young's modulus of trabecular and cortical bone material: ultrasonic and microtensile measurements. *J Biomech*, 1993, 26:111-119.
 - 58 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.
 - 59 Choi K, Goldstein SA. A comparison of the fatigue behavior of human trabecular and cortical bone tissue. *J Biomech*, 1992, 25:1371-1381.
 - 60 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, 23:1013-1113.
 - 61 Odgaard A, Hvid I, Linde F. Compressive axial strain distributions in cancellous bone specimens. *J Biomech*, 1989, 22:829-835.
 - 62 Mosekilde L, Mosekilde L, Danielsen CC. Biomechanical competence of vertebral trabecular bone in relation to ash density and age in normal individuals. *Bone*, 1987, 8:79-85.
 - 63 Turner CH, Eich M. Ultrasonic velocity as a predictor of strength in bovine cancellous bone. *Calcif Tissue Int*, 1991, 49:116-119.
 - 64 Roark RJ, Young WC. Formulas for stress and strain New York: McGrawHill, 1975.
 - 65 Wang C. Applied elasticity. New York: McGraw-Hill, 1953.
 - 66 Martin RB. Measuring the moment of inertia of innegular cross sections. *Rev Sci Instr*, 1975, 46:838-839.
 - 67 Forwood MR, Parker AW. Effects of exercise on bone growth: mechanical and physical properties studied in the rat. *Clin Biomech*, 1987, 2:185-190.
 - 68 Einbom TA, Wakley CK, Linkhart S, et al. Incorporation of sodium fluoride into cortical bone does not impair the mechanical properties of the appendicular skeleton of rats. *Calcif Tissue Int*, 1992, 51:127-131.
 - 69 Park HC, Lakes RS. Cosserat micromechanics of human bone: strain redistribution by a hydration sensitive constituent. *J Biomech*, 1986, 19:385-397.
 - 70 Tarnopol'skin, Lu M, Kincis T. Static test methods for composites. New York: Van Nostrand Reinhold, 1985.
 - 71 Whitney JM, Stansberger DL, Howell HB. Analysis of rail shear test-applications and limitations. *J Composite Mater*, 1971, 5:24-34.
 - 72 Losipescu N. New accurate procedure for single shear testing of metals. *J Mater*, 1967, 2:537-566.
 - 73 Walrath DE, Adams DF. The Losipescu shear test as applied to composite materials. *Exp Mech*, 1983, 23:105-110.
 - 74 Yoon S, Katz J L. Ultrasonic wave propagation in human cortical bone II. Measurements of elastic properties and microhardness. *J Biomech*, 1976, 9:459-464.
 - 75 Kolsky H. Stress waves in solids. New York: Dover Press, 1963.
 - 76 Ashman RB, Cowin SC, Van Buskirk WC, et al. A continuous wave technique for the measurement of the elastic properties of cortical bone. *J Biomech*, 1984, 17:349-361.
 - 77 Ashman RB, Rho JY. Elastic modulus of trabecular material. *J Biomech*, 1988, 21:177-181.
 - 78 Zimmerman MC, Meunier A, Kaz JL, et al. The evaluation of cortical bone remodeling with a new ultrasonic technique. *IEEE Trans Biomed Eng*, 1990, 37:431-441.
 - 79 Antuch PP, Anderson JA, Ashman RB, et al. Measurement of mechanical properties of bone material *in vitro* by ultrasound reflection: Methodology and comparison with ultrasonic transmission. *J Bone Miner Res*, 1991, 4:417-426.
 - 80 Briggs A. Acoustic microscopy. New York: Oxford University Press, 1992.
 - 81 Lakes RS, Saba S. Cement line motion in bone. *Science*, 1979, 204:501-503.
 - 82 Carter DR, Hayes WC. Compact bone fatigue damage: a microscopic examination. *Clin Orthop*, 1977, 127:265-274.
 - 83 Forwood MR, Parker AW. Microdamage in response to repetitive torsional loading in the rat tibia. *Calcif Tissue Int*, 1989, 45:47-53.
 - 84 Carter DR, Caller WC. A cumulative damage model for bone fracture. *J Orthop Res*, 1985, 3:84-90.
 - 85 Schaffler MB, Radin EL, Burr DB. Long-term fatigue behavior of compact bone at low strain magnitude and rate. *Bone*, 1990, 11:321-326.
 - 86 Caler WE, Carter DR. Bone creep-fatigue damage accumulation. *J Biomech*, 1989, 22:625-635.
 - 87 Lakes RS, Katz JL, Sternstein SS. Viscoelastic properties of wet cortical bone-I. Torsional and biaxial studies. *J Biomech*, 1979, 12:657-678.
 - 88 Carter DR, Hayes WC. The compressive behavior of bone as a two-phase porous structure. *J Bone Joint Surg*, 1977b, 59A:954-962.
 - 89 Rubin CT, Lanyon LE. Limb mechanics as a function of speed and gait: a study of functional train in the radius and tibia of horse and dog. *J Exp Biol*, 1982, 101:187-211.
 - 90 Demetropoulos CK, Willis CB, Goldstein SA. biomechanical characteristics of rat trabecular bone. *Trans Orthop Res Soc*, 1993, 18:585.
 - 91 Carter DR, Hayes WC. Fatigue life of compact bone-I. Effects of stress amplitude, temperature and density. *J Biomech*, 1976, 9:27-34.