

质构仪在骨生物力学检测中的应用

黄纪明 白树民 朱德兵

骨是由钙离子和磷所构成的羟基磷灰石结晶沉着于由胶原蛋白组成的基质上而成。骨骼的质量主要由骨矿盐与骨基质之间的比例所决定^[1],反映骨质量的指标主要有骨骼的强度、弹性、刚度以及骨质的密度等。所以判断骨骼质量的高低,需要测定其生物力学和骨矿盐密度等指标。虽然骨矿盐密度常被用于预测骨折的危险度和评定骨质疏松性,但是仅有骨矿盐密度并不能准确反映骨质量的高低。如单纯骨矿盐含量的增加,骨质量并不一定相应的增加,有时反而降低^[2]。骨生物力学是生物力学的分枝,它以工程力学的理论为基础,研究骨组织在外力作用下的力学特性和骨在受力作用后的生物学效应,是对骨质量评定的一种直接、客观并且可靠的方法^[3]。研究骨质量变化的最终目的在于研究骨骼力学强度的变化和再负荷时骨折发生的可能性大小,所以开展骨生物力学的研究,不但有助于对骨质量进行直接评价,也是评价各种对抗骨质丢失措施的最佳方法之一。我们经过几年的探索,根据质构仪(Stevens quality and test systems, QTS-25型,英国)的工作原理和特点,结合工程力学和理论力学的概念和方法,将其应用于骨生物力学的检测,建立了一套比较系统和成熟的检测骨骼生物力学指标的方法,并用于多项课题的研究^[4],试验结果比较满意。笔者对用质构仪所测定的骨生物力学常用的指标及意义、试验方法和注意事项等做如下报道。

1. 质构仪的构成和工作原理

质构仪的主机与微机相连,主机上的机械臂可以随着凹槽上下移动,探头与机械臂远端相接,与探头相对应的是主机的底座,探头和底座有10几种不同形状和大小,分别适用于各种标本。其工作原理是在主机的机械臂和探头连接处有一个力学感应器,能感应标本对探头的反作用力,并将这种力学信号传递给微机,在应用软件的处理下,将力学信号转变为数字和图形显示于显示器上,即直接快速地记

录标本受力情况。

2. 质构仪检测骨标本的试验:

(1)压缩试验(compressive test):是一种测量骨力学性能的技术,常用于对椎骨的检测。其优点是骨样本受力方向与生理状态相近,使用时简便。缺点是如果与机器接触的标本面不平整,使质构仪对标本施加的力集中于某个局部,影响测定结果。

(2)拉伸试验(tensile test):能准确的测试皮质骨和松质骨的生物力学性状。但该试验由于骨标本的受力方向与正常的生理状态受力方向相反,在研究中使用的较少。

(3)弯曲试验(bending test):该试验常用于测量长骨如胫骨和股骨的力学性能。试验外力作用的方向垂直于标本,主要模拟长骨受到外力作用后,骨骼抵抗能力的大小,是目前试验室最常用的方法。主要有3点弯曲(three point bending test)和4点弯曲试验(four point bending test)。4点弯曲试验由于要求各加压点上的力度必须相等,技术难度较大,一般不常用。笔者将重点介绍3点弯曲试验。

3. 常用的检测指标

(1)骨结构力学指标

骨结构力学的概念是从工程力学中借用过来的。用质构仪做的3点弯曲试验中,骨结构力学指标主要有最大载荷(maximum load)、最大挠度(maximum deformation)、弹性载荷(elastic load)、弹性挠度(elastic deformation)和能量吸收(energy absorption)(载荷-变形曲线下的面积)。前4项指标的数据直接由计算机提供,能量吸收由相应的公式计算获得。这些指标主要反映骨结构力学特性的变化,其数值大小受骨粗细程度和几何形状的影响。3点弯曲试验中,载荷(load)是指探头对受试对象施加的外力(g),弹性载荷是骨骼在弹性变形阶段所能承受的最大载荷。如果骨骼的弹性载荷值变小,表明骨骼在外力负荷作用下更容易发生塑性变形,产生不可逆损伤。最大载荷是骨骼所能承受的极限载荷,如果所施加的外力大于最大载荷,则发生骨折,对于受试骨而

言,载荷越大越好。挠度(deformation)是指探头接触到受试对象后所运动的距离(mm),是骨骼柔韧性指标,其数值的大小与骨基质胶原蛋白含量高低有关。对于受试骨骼来说,单独考虑挠度并不能说明受试骨骼的质量,应根据具体的情况来综合分析。如婴幼儿和骨质软化症病人骨骼中有机基质含量相对较高,矿物质含量相对较低,那么相应的挠度就大。载荷与挠度的大小有时并不一致,有时载荷很大,但挠度反而较小,有时载荷小,但挠度大。能量吸收是反映载荷和挠度的综合指标,表示探头以一定的力作用于受试骨,骨骼断裂之前,在于骨受力方向上移动的距离。也就是骨骼吸收的探头对受试骨所做的功。能量吸收数值越大,表明骨骼抗骨折能力越强。

(2)骨材料力学指标

骨材料力学特性反映骨质组成成分以及空间结构变化对骨力学特性的影响。由于骨结构力学的大小受骨的大小和几何形状的影响,如大鼠股骨较小鼠粗,测得的弹性载荷和最大载荷均较相同鼠龄的小鼠大,但这个数据并不能就说明大鼠股骨的质量就比小鼠高。所以在对骨的质量分析时应将受试对象统一到相同水平,也就是将其标准化。骨材料力学的指标就是在结构力学的基础上,综合骨的大小和骨截面惯性矩(cross sectional moment of inertia)等因素经标准化后所得到的,他不但是比较骨质量高低的指标,而且还可以通过骨材料力学指标对骨结构力学的数值进行分析。常用的骨材料力学的指标主要有骨应力(stress)、最大应力(maximum stress)和弹性应力(elastic stress),骨弹性模量(elastic modulus)和骨强度(strength)等。骨应力是指骨标本单位面积上所承受的载荷值(MPa, $1\text{N}/\text{mm}^2 = 1\text{MPa}$)。最大应力主要受骨骼无机相质量的影响,弹性应力主要受有机相质量的影响。骨截面惯性矩是计算骨材料力学特性所必需的1个参数,反映围绕骨中轴骨量分布的状态,该参数随年龄的增加而降低。弹性模量是指在载荷-变形曲线上,在屈服点之前直线上的斜率,也称之为杨氏模量(young's modulus)它反映骨质内在硬度的指标,其值不受骨尺寸大小的影响。需要指出的是骨硬度(hardness)是指骨对变形的阻力,并不代表骨强度。骨强度是指骨最大载荷值与每mm标本长度内矿盐含量的比值(或与骨矿盐密度 mg/mm^3 的比值),表示骨的内在特性,与骨尺寸和几何形状无关,其单位常用单位长度内单位矿盐含量所承受的载荷值($\text{N} \times \text{mm} \times \text{mg}^{-1}$)表示:

计算公式^[5]:

皮质面积(mm^2) = $\pi(B \times b - H \times h)/4$; 骨截面惯性矩(J)(mm^4) = $\pi/64 \times (B \times H^3 - b \times h^3)$; 弹性应力(N/mm^2) = (弹性载荷 $\times H \times$ 跨距)/(8 \times 惯性矩); 最大应力(N/mm^2) = (最大载荷 $\times H \times$ 跨距)/(8 \times 惯性矩); 弹性模量(E)(N/mm^2) = (弹性载荷 \times 跨距³)/(48 \times 弹性挠度 \times 惯性矩); 弹性能量吸收($\text{N} \cdot \text{mm}$) = $0.5 \times$ 弹性载荷 \times 弹性挠度

式中 B: 骨外长轴直径(mm); b: 内长轴直径(mm); H: 外短轴直径(mm); h: 内短轴直径(mm)。

4. 试验方法、步骤及注意事项

常用的试验方法是3点弯曲试验和4点弯曲试验,3点弯曲试验主要是针对长骨如胫骨和股骨等骨骼所进行的生物力学试验。下面介绍3点弯曲试验方法。

(1)骨标本的保存: 目前认为保存骨标本的最好方法是用生理盐水浸透的纱布包裹标本,贮存于 -20°C 的冰箱中,也可以将骨标本浸泡于生理盐水中, -20°C 保存,测定前取出,室温放置12h。用该方法保存20d后对股骨生物力学特性影响不大。

(2)骨标本大小的测定: 由于骨标本的结构力学特性与其形状大小有关,所以应对试验标本的内外径进行测定。由于骨标本的形状不太规则,应对同一截面多方位测量,即测定骨标本断面的内外径。但由于剪切力作用的存在,3点弯曲试验后,断面往往不齐,不容易测量骨标本外径。我们在试验中根

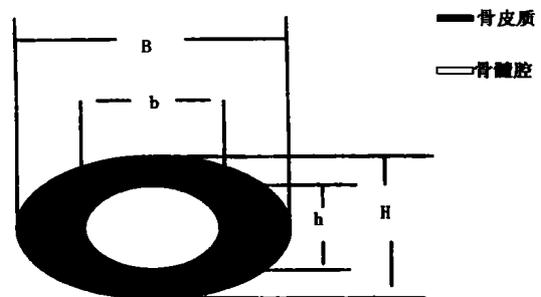


图1 骨干断端横截面示意图

据经验,在做3点弯曲前,找到骨标本的容易断裂点再测量其外径,试验后在断裂面上测量其内径。测量骨标本大小的指标主要有外长轴直径(B)、外短轴直径(H)、内长轴直径(b)和内短轴直径(h)等,见图1。测定外长轴和外短轴直径的方法主要有2种:①游标卡尺法:在容易断裂的可能位点上,测量其外径最大和最小轴的数据,所测定的相应数据分别是骨标本的外长轴和外短轴直径。②显微测量法:用牙科锯将骨标本断裂面处锯成规则的厚度为

1~2mm的标本,置于带有刻度的显微镜下分别测量其最大值和最小值,所得值即是外长轴和外短轴直径。由于显微测量法比较麻烦,并且也存在较大的测量误差,游标卡尺法比较简单方便,误差不比显微测量法测量大,所以我们常用游标卡尺法测定骨标本外长轴和外短轴直径。内长轴和内短轴直径测定的方法也有2种:①直接用游标卡尺法或显微测量法测定,该方法适用于对较大的骨标本的测定。②测定骨壁的厚度(thickness),通过计算间接得到内长轴和内短轴的数据。由于骨标本也存在厚度不一的情况,用游标卡尺测量时,应对骨标本断裂面上外长轴和外短轴的厚度分别测量,并分别求出长轴和短轴骨的平均厚度,如骨标本长轴一端的厚度是 t_1 ,另一端的厚度是 t_2 ,那么其平均厚度就是 $t_1 = (t_1 + t_2)/2$ 。相应的计算公式:内长轴直径 $b = \text{外长轴直径}(B) - 2 \times \text{长轴平均厚度}(t_1)$;内短轴直径 $(h) = \text{外短轴直径}(H) - 2 \times \text{短轴平均厚度}(t_2)$ 。

(3) 3点弯曲试验:试验开始之前,设置弯曲试验跨距,通常跨距应为标本直径的16倍。根据经验,对大鼠长骨而言,其跨距设置为15mm,小鼠长骨的跨距设为10mm。之后将质构仪检测软件从计算机中调出,设置检测参数。一般情况下大鼠长骨的加载速度为15mm/min,探头接触标本后继续运动2.5mm;小鼠长骨的加载速度为10mm/min,探头接触标本后继续运行2mm。仪器调试正常后,将骨标本的宽面朝上,点击计算机界面上的运行按钮,开始弯曲试验。在骨骼标本断裂后,计算机界面上出现曲线,见图2。

该曲线就是载荷-变形曲线,在该曲线上可以直接读出弹性载荷、弹性挠度、最大载荷和最大挠度等的数值。在所读出的数据基础上,再结合骨骼的大小算出相应的骨材料力学指标数据。

5. 结果的统计分析

所得到的计量资料用均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示各组结果,并进行 t 检验。如果2组之间有显著性差异时,需要依据2组的结果进行进一步的分析,例如尾吊模拟失重组大鼠股骨弹性载荷和最大载荷都明显的低于地面自由对照组,表明悬吊大鼠股骨

出现显著性退行性变化,说明模拟失重大鼠股骨抵抗外力负荷的能力降低,更容易发生骨折。以此原始数据计算的最大应力和弹性应力失重组也不同程度的低于对照组,提示模拟失重大鼠有机相和无机相的质量降低,股骨的材料强度下降。由于在模拟失重状态下,大鼠后肢去负荷,引起股骨的材料强度下降,而导致了股骨最大载荷和弹性载荷的下降。用股骨的弹性载荷和最大载荷数值再结合股骨的几何形状和内外径的大小、骨矿盐密度的高低和骨钙含量等因素,可以进一步解释载荷增加或降低的原因。

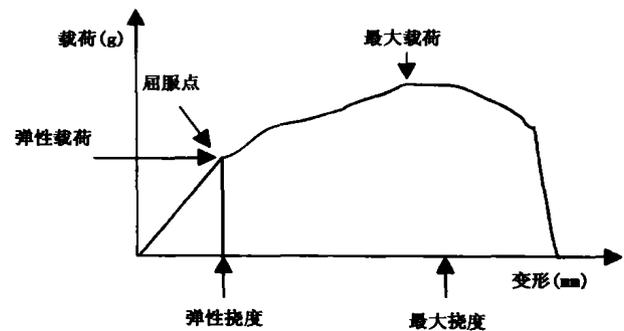


图2 骨的载荷-变形曲线

虽然骨生物力学指标可以反映骨骼的强度等特性,但需要强调的是,由于目前尚没有统一的力学试验标准,不同的试验室之间所做的结果没有可比性,所以有必要尽早制订一套统一的试验规程,使之规范化,从而促进我国在骨生物力学方面的研究。

参 考 文 献

- 1 刘忠厚,主编. 骨质疏松症,北京:化学工业出版社,1992.131.
- 2 Sogaard CH, Mosekilde L, Schwartz W. Effects of fluoride on rat vertebral body biomechanical competence and bone mass. Bone, 1995, 16: 163.
- 3 Lis Mosekilde, Danielsen CC. The effects of aging and ovariectomy on the vertebral bone mass and biomechanical properties of mature rats. bone, 1993, 14:1-6.
- 4 崔伟,史之贞,刘成林. 模拟失重大鼠骨矿盐再分布与骨力学性能降低. 中国骨质疏松杂志,1998,4:9-11.
- 5 崔伟,刘成林. 基础骨生物力学(二). 中国骨质疏松杂志,1998, 4:90-92.

(收稿日期:2002-12-26)

欢迎从事骨质疏松、骨关节炎的研究人员、临床医师,积极投稿