

· 临床研究 ·

骨质疏松情况下骨能量耗散的改变

张书威, 张孜孜, 隋熠, 李明, 吕厚辰, 王铁, 张立海*

(解放军总医院第一医学中心骨科, 北京 100853)

【摘要】目的 探讨骨质疏松情况下骨强度的降低是否与其微观能量耗散有关。**方法** 纳入2016年1月至2016年12月期间在解放军总医院骨科行髋关节置换术的24例股骨颈骨折患者的股骨头为研究对象。筛选所有样品的骨密度和骨强度, 匹配骨密度水平趋近而机械性能差异显著的目标样本, 研究其骨强度的变化(杨氏模量异质性)。采用SPSS 23.0软件进行统计分析。组间比较采用单因素方差分析。**结果** 1号和3号为目标样品, 其BMD值分别为322.29与327.12 mg/cm³, 失效所需能量分别为(1.05±0.09)和(0.44±0.04)J, 两个样品的BMD值最为接近, 且失效所需能量差异具有统计学意义($P<0.01$)。1号样品模量高低呈散在分布; 3号样品模量以中央垂直线为轴, 轴两侧模量分布相对均匀, 上方模量较低, 下方模量较高。1号和3号目标样品的杨氏模量值分别为(12.17±0.94)和(13.55±0.72) GPa。**结论** 骨质疏松可能导致骨的纳米级异质性改变, 从而改变能量的耗散, 影响骨强度。

【关键词】 骨质疏松; 骨密度; 机械性能; 弹性模量

【中图分类号】 R681

【文献标志码】 A

【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2020.06.095

Changes in bone energy dissipation in osteoporosis

ZHANG Shu-Wei, ZHANG Gong-Zi, SUI Yi, LI Ming, LYU Hou-Chen, WANG Tie, ZHANG Li-Hai*

(Department of Orthopaedics, First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】Objective To investigate whether the reduction of bone strength is related to its microscopic energy dissipation in case of osteoporosis. **Methods** Femoral head specimens from 24 patients undergoing hip arthroplasty in the Orthopaedics Department of the Chinese PLA General Hospital between January 2016 and December 2016 were subjected in this study. Bone mineral density (BMD) and bone strength were measured for all the samples, and the samples with similar BMD but significant different mechanical properties were used to investigate the change of bone strength by Young's modulus. SPSS statistics 23.0 was used to perform the statistical analysis. One way ANOVA was employed for comparison between groups. **Results** The samples No. 1 and No. 3 were selected as the objectives, and their BMD value was 322.29 and 327.12 mg/cm³, and the energy required for fracture was (1.05±0.09) and (0.44±0.04) J, respectively. Their BMD values were quite similar, but the difference of energy required for fracture was statistically significant between the 2 samples ($P<0.01$). The Young's modulus value of sample No. 1 distributed in a scattered manner, while that of the other sample distributed relatively uniform in the both side of a central vertical line as axis, and the modulus value at upper part was lower, and at lower part is higher. The Young's modulus value was (12.17±0.94) and (13.55±0.72) GPa, respectively, for the samples No. 1 and 3. **Conclusion** Osteoporosis may lead to nanoscale heterogeneity changes in bone, and thus change energy dissipation and affect bone strength.

【Key words】 osteoporosis; bone mineral density; mechanical properties; elastic modulus

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31370947) and the Science and Technology Plan of Beijing (Z191100004419008).

Corresponding author: ZHANG Li-Hai, E-mail: zhanglihai74@qq.com

收稿日期: 2020-03-26; 接受日期: 2020-04-23

基金项目: 国家自然科学基金(31370947); 北京市科技计划(Z191100004419008)

通信作者: 张立海, E-mail: zhanglihai74@qq.com

骨质疏松症是常见的骨骼疾病,是一种以骨量低、骨组织微结构损坏、骨脆性增加、易发生骨折为特征的全身性骨病^[1]。骨质疏松与增龄相关,随着年龄增长发病率增高。骨质疏松的最严重后果是骨质疏松性骨折^[2]。流行病学调查显示,2010年我国骨质疏松性骨折患者达233万,相关医疗支出649亿元^[3]。骨质疏松已成为我国面临的重要公共卫生问题。

目前,临床上普遍采用骨矿密度(bone mineral density, BMD)值诊断骨质疏松,并由此预测骨折风险。但骨量与骨折风险之间的关系并不完善^[4]。例如,在相同BMD水平下,75岁女性的髋关节和前臂骨折发病率是45岁女性的4~7倍^[5],单独使用BMD值无法有效预测骨折风险。2001年美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)将骨质疏松定义为以骨强度下降和骨折风险增加为特征的骨骼疾病^[6]。骨强度涵盖骨量和骨质量两大要素。BMD值表示的是单位体积内骨骼矿物质的密度,即骨量,而除密度外,骨组织的强度还受到其他因素的影响,如羟基磷灰石微晶的矿化、胶原的糖基化以及受离子影响的胶原纤维间牺牲键等^[7]。本文主要对可能影响骨质量的因素作一探讨,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

纳入2016年1月至2016年12月期间在解放军总医院骨科行髋关节置换术的24例股骨颈骨折患者的股骨头为研究对象。剔除附着在股骨头表面的韧带等软组织,用浸润磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)的纱布包裹,置于-20℃冰箱,梯度降温,1℃/min,冷冻封装保存。纳入标准:(1)基于髋关节平片及CT影像示股骨颈骨折,行髋关节置换术;(2)18~90岁;(3)髋关节置换术中切除的股骨头完整,且保存于我院临床标本资源库;(4)一般情况稳定。排除标准:(1)行空心钉内固定;(2)孕妇或哺乳期妇女;(3)严重脏器功能衰竭、全身情况不稳定、合并风湿及强直性脊柱炎等自身免疫病。患者或家属均签署知情同意书。

1.2 方法

筛选所有样品的骨密度和骨强度,匹配骨密度水平趋近而机械性能差异显著的目标样本,研究其骨强度的变化(杨氏模量异质性)。

1.2.1 骨密度检测 解冻后用生理盐水洗净,置入Micro-CT的检测扫描管内,使用Inveon MM系统对

BMD进行分析并记录,将感性兴趣区域(region of interest, ROI)选择为主压力骨小梁区,沿主压力方向,取直径1 cm、高度1 cm的圆柱体检测。

1.2.2 骨强度检测 在每个样本的主压力骨小梁区,沿主压力方向,制作3个直径0.7 cm、高度3.0 cm的圆柱体骨柱试件。将骨柱试件置于万能拉力机(INSTRON3365)的样品台上,以1 mm/min速度施加压力,直至试件断裂。实验结束后计算机自动输出载荷-位移曲线,根据此曲线,可以得到样品的最大载荷;对曲线下面积进行积分,可得到骨组织断裂所需要的能量。

1.2.3 杨氏模量异质性检测 使用Allied低速精密切割机(TechCut 4)从样本的相同位置上切取5.0 mm×5.0 mm×5.0 mm立方体,使用30% H₂O₂溶液脱去油脂及胶原,包埋于聚甲基丙烯酸甲酯中,Yamato真空干燥箱(DP33)中干燥12 h,70℃。用金刚石研磨膏(1.00 μm、0.30 μm、0.05 μm)抛光得到样品。使用原子力显微镜(Bruker, Dimension Icon)扫描样品,方式:PeakForce QNM;范围:1 μm×1 μm;频率:0.5 Hz。扫描后可得到样品目标区域的高度图和模量分布图。使用AFM分析软件(NanoScope Analysis 1.9)对样品进行分析,计算模量分布。每个样品重复检测10次。

1.3 统计学处理

采用SPSS 23.0软件进行统计分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨密度及骨强度检测结果

24例患者的基本资料及骨密度及断裂功检测结果如表1所示。

由表1可见,1号和3号为目标样品,其BMD值分别为322.29和327.12 mg/cm³,断裂所需能量分别为(1.05±0.09) J和(0.44±0.04) J,两个样品的BMD值最为接近,且断裂所需能量差异具有统计学意义($P < 0.01$)。1号样品和3号样品的载荷-位移曲线及断裂所需能量如图1所示。

2.2 杨氏模量异质性检测

目标样品的杨氏模量分布图显示:1号样品模量高低呈散在分布;3号样品模量以中央垂直线为轴,轴两侧模量分布相对均匀,上方模量较低,下方模量较高(图2A,B)。1号和3号目标样品的杨氏模量值分别为(12.17±0.94)和(13.55±0.72) GPa(图2C)。

表 1 患者骨密度值、等效矿物密度及断裂功
Table 1 BMD, equivalent density and work of fracture of patients

Number	Gender	Age (years)	Diameter (mm)	BMD (mg/cm ³)	Equivalent density (mg/cm ³)	Work of fracture (J)
1	Female	60	38	322. 29	1 275. 53	1. 05±0. 09
2	Female	63	42	470. 74	1 374. 76	0. 64±0. 01
3	Female	78	39	327. 12	1 278. 76	0. 44±0. 04
4	Male	67	42	367. 10	1 305. 50	0. 83±0. 01
5	Female	70	39	396. 10	1 324. 89	0. 66±0. 01
6	Male	63	40	408. 53	1 333. 20	1. 14±0. 02
7	Female	72	38	383. 67	1 316. 58	0. 37±0. 01
8	Female	78	40	360. 14	1 301. 07	0. 28±0. 01
9	Female	83	42	372. 49	1 309. 10	0. 21±0. 01
10	Female	71	39	338. 10	1 286. 10	0. 38±0. 01
11	Female	68	36	351. 36	1 294. 97	1. 05±0. 03
12	Male	83	45	415. 26	1 340. 50	0. 69±0. 01
13	Male	62	45	341. 00	1 288. 04	0. 76±0. 01
14	Female	76	39	335. 20	1 284. 17	0. 61±0. 01
15	Male	69	34	420. 96	1 341. 52	0. 81±0. 02
16	Male	77	45	357. 16	1 298. 85	0. 72±0. 02
17	Female	79	41	367. 10	1 305. 50	0. 29±0. 00
18	Male	75	41	429. 24	1 347. 06	0. 88±0. 02
19	Female	66	40	345. 56	1 291. 09	0. 44±0. 01
20	Male	80	42	458. 24	1 366. 45	0. 41±0. 01
21	Male	75	40	437. 53	1 352. 60	0. 02±0. 01
22	Female	85	37	359. 23	1 300. 23	0. 43±0. 01
23	Female	71	42	382. 01	1 315. 47	0. 63±0. 02
24	Female	68	36	470. 67	1 374. 76	0. 60±0. 01

BMD: bone mineral density.

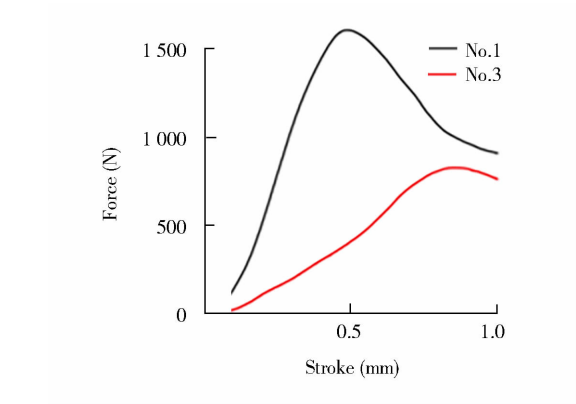


图 1 载荷-位移曲线

Figure 1 Load-displacement curves

3 讨论

本研究通过对骨密度数据的筛选,匹配骨密度水平趋近而机械性能差异显著的一组目标样本,研究骨强度与其纳米异质性是否有关。模量分布作为一种定性的检测手段,所得的模量分布曲线均值并不能定量地评价样本的模量及硬度,模量的空间分布规律也值得关注。本研究结果表明,1 号和 3 号目标样品的杨氏模量值分别为 (12. 17±0. 94) 和

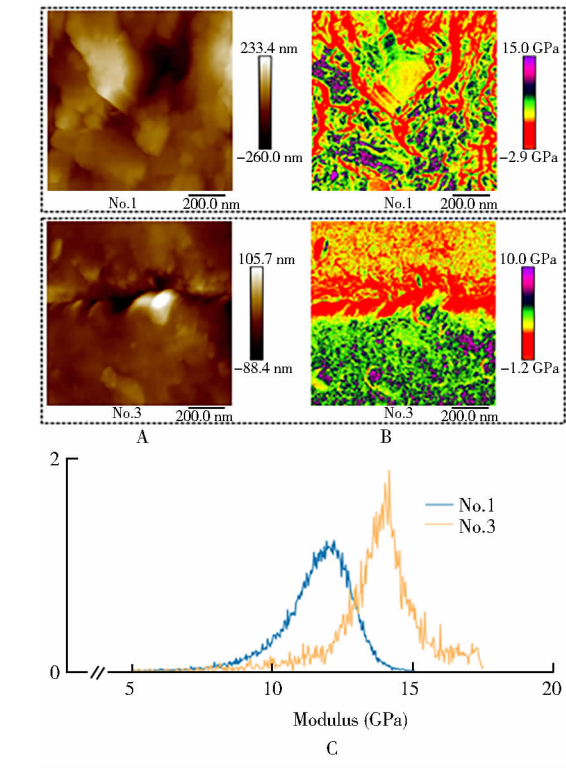


图 2 杨氏模量检测结果

Figure 2 Results of Young's modulus

A: height sensor; B: DMT modulus; C: modulus distribution curves.
DMT: Derjaguin Muller Toporov.

(13.55±0.72) GPa, 数值接近但模量的空间分布规律差异很大:1号样品模量高低呈散在分布;3号样品模量以中央水平线为界面,界面两侧模量分布相对均匀。

Tai等^[8]就纳米级异质性的对骨能量耗散的影响进行了四点弯曲的模拟实验,结果显示,完全均质的试件在受到弯曲时应力集中;而模量分布散在的不均匀试件更有利于应力的分散,应力传导的距离为均匀试件的近2倍。这似乎可以解释,平均杨氏模量较高的3号样品,因为均质而更容易造成应力集中,而在宏观机械性能上表现较差,提示骨强度与其纳米异质性有关。骨主要由交联的I型胶原基质和矿化的纳米羟基磷灰石晶体组成。过去的研究将骨的弹性性质归因于矿物相,将其可塑性归因于胶原基质。这种简单的模型,没有考虑到两个相的相互作用,也没有考虑每个相在骨组织的弹性和塑性变形中都起到了作用。像所有复合材料一样,骨骼的每种成分对组织的整体质量都有不同、但密切相关的贡献。像许多天然材料一样,骨骼中矿物和有机质的几何形状、取向和结构的异质性,可导致其在机械性能上的异质性^[9]。由于骨的多层级性质,其机械性能的异质性存在于多个长度尺度上。宏观上,为了适应不同的负载要求,对于不同的解剖位置,甚至特定解剖位置内的不同区域,机械性能均存在着明显的变化^[10]。在微观水平上,纳米压痕进一步确定了骨小梁、骨单位与间质的模量和硬度差异,这归因于胶原纤维的取向和各向异性以及矿物质含量的变化。在这种长度尺度上的异质性也可能源于成骨细胞和破骨细胞的重塑过程,从而导致“旧”骨和“新”骨的混合^[11,12]。经历重塑后,较旧的间质骨具有了较高的矿化度,导致刚度增加。

另外,骨作为一种复合材料,由多种构建模块组成整体,而整体之间存在着界面,对整体机械性能而言,界面的重要性与其构建模块本身不相上下^[13]。过去的研究已经注意到了纤维间界面和粘合线^[10]:粘合线作为骨单位和基质之间的弱界面,在受外力作用时,能够将微裂缝引入其中,即破坏过程发生在弱界面。本组3号样本中模量分布分界的界面可能具有弱界面相似的性质,应力不仅易于在相对均质的组织中集中,并且容易沿着其界面断裂。但通过其原子力显微镜高度图,并没有发现周期性排布的胶原纤维束和羟基磷灰石片晶,其成因还有待进一步研究。

【参考文献】

- [1] Experts Group of Consensus Development Conference. Consensus development conference: prophylaxis and treatment of osteoporosis[J]. Br Med J, 1987, 6603(295): 914-915. DOI: 10.1136/bmj.295.6603.914.
- [2] 贺丽英, 孙蕴, 要文娟, 等. 2010-2016年中国老年人骨质疏松症患病率 Meta 分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(12): 1590-1596. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2016.12.019.
He LY, Sun Y, Yao WJ, et al. The prevalence rate of osteoporosis in the elderly in China between 2010 and 2016: a Meta-analysis of single rate[J]. Chin J Osteoporosis, 2016, 22(12): 1590-1596. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2016.12.019.
- [3] Si L, Winzenberg TM, Jiang Q, et al. Projection of osteoporosis-related fractures and costs in China: 2010-2050[J]. Osteoporosis Int, 2015, 26(7): 1929-1937. DOI: 10.1007/s00198-015-3093-2.
- [4] Omelon S, Savage K, Damani M, et al. A new tool to assess the mechanical properties of bone due to collagen degradation[J]. Bone, 2009, 44(5): 840-848. DOI: 10.1016/j.bone.2008.12.014.
- [5] Miller LM, Burr DB, Ruppel ME. The effect of the microscopic and nanoscale structure on bone fragility[J]. Osteoporosis Int, 2008, 19(9): 1251-1265. DOI: 10.1007/s00198-008-0579-1.
- [6] Experts Group of NIH Consensus Conference. NIH consensus development panel on osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy, March 7-29, 2000: highlights of the conference[J]. South Med J, 2001, 94(6): 569-573. DOI: 10.1097/00007611-200194060-00004.
- [7] Fantner GE, Hassenkam T, Kindt JH, et al. Sacrificial bonds and hidden length dissipate energy as mineralized fibrils separate during bone fracture[J]. Nat Mater, 2005, 4(8): 612-616. DOI: 10.1038/nmat1428.
- [8] Tai K, Dao M, Suresh S, et al. Nanoscale heterogeneity promotes energy dissipation in bone[J]. Nat Mater, 2007, 6(6): 454-462. DOI: 10.1038/nmat1911.
- [9] 曹海玲, 张一娜. 双膦酸盐治疗原发性骨质疏松症疗程的研究进展[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2019, 18(4): 313-316. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2019.04.064.
Cao HL, Zhang YN. Research progress in bisphosphonates for treatment of primary osteoporosis[J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2019, 18(4): 313-316. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2019.04.064.
- [10] Hofmann T, Heyroth F, Meinhard H, et al. Assessment of composition and anisotropic elastic properties of secondary osteon lamellae[J]. J Biomech, 2006, 39(12): 2282-2294. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2005.07.009.
- [11] Ascenzi MG, Roe AK. The osteon: the micromechanical unit of compact bone[J]. Front Biosci, 2012, 17(1): 1551-1581. DOI: 10.2741/4003.
- [12] Skedros JG, Holmes JL, Vajda EG, et al. Cement lines of secondary osteons in human bone are not mineral-deficient: new data in a historical perspective[J]. Anat Rec, 2005, 286(1): 781-803. DOI: 10.1002/ar.a.20214.
- [13] Barthelat F, Yin Z, Buehler MJ. Structure and mechanics of interfaces in biological materials[J]. Nat Rev Mater, 2016, 1(4): 16007. DOI: 10.1038/natrevmats.2016.7.

(编辑: 吕青远)