

Η εργασία αυτή μοιράστηκε το πρώτο Βραβείο για προφορικές ανακοινώσεις στο 24ο Συνέδριο της ΟΤΕΜΑΘ, το 2005, και είναι μέρος Διδακτορικής Διατριβής

Μικρομηχανικές ιδιότητες της οστικής δοκίδος Ερευνητική εργασία με την εφαρμογή τεχνικών διείσδυσης

Π. Αντωνάρας¹
Γ. Καπετάνος²
Κ. Μπουζάκης³
Μ. Τσούγκας⁴
Α. Χριστοδούλου⁵
Ι. Πουρνάρας⁶

Περίληψη

Εφαρμόσαμε την τεχνική της νανοδιείσδυσης για την εκτίμηση του μέτρου ελαστικότητας της οστικής δοκίδος από τον 4ο ανθρώπινο οσφυϊκό σπόνδυλο. Τα δείγματα προέρχονταν από 5 πρόσφατα θανόντες ανθρώπους (2 άνδρες και 3 γυναίκες), ηλικίας από 16 έως 90 ετών (Μ.Ο. 46,6 έτη). Μετά την αρχική φάση της συλλογής και συντήρησης των σπονδύλων, προετοιμάσαμε κατάλληλα τα δείγματα του σπογγώδους οστού από το σώμα κάθε σπονδύλου, ώστε να προσδιορίσουμε το μέτρο ελαστικότητας των δοκίδων παράλληλα και εγκάρσια, σε σχέση με τον επιμήκη άξονα τους.

Πραγματοποιήσαμε 719 έγκυρες μετρήσεις, σε 103 μεμονωμένες δοκίδες. Στην έρευνα μας διαπιστώσαμε ότι το μέτρο ελαστικότητας της οστικής δοκίδος στον 4ο ανθρώπινο οσφυϊκό σπόνδυλο κυμαίνεται από 8,15 GPa έως 23,27 GPa, με μέσο όρο τα 13,67 GPa. Η τιμή αυτή είναι 2,5 φορές υψηλότερη από την μέχρι σήμερα χρησιμοποιούμενη τιμή.

Η νανοδιείσδυση αποτελεί μία σύγχρονη, αξιόπιστη, υψηλής τεχνολογίας μέθοδο για την εκτίμηση των μηχανικών ιδιοτήτων των μικροανατομικών χαρακτηριστικών του οστού, δηλαδή εκείνων του οστεώνα, των διάμεσων πεταλίων και της οστικής δοκίδος.

1. Α' Πανεπιστημιακή Ορθοπαιδική Κλινική
2. Γ' Πανεπιστημιακή Ορθοπαιδική Κλινική
3. Εργαστήριο Εργαλειομηχανών & Διαμορφωτικής Μηχανολογίας
4. Εργαστήριο Ιατροδικαστικής & Τοξικολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Λέξεις ευρετηρίου: Οστικές δοκίδες, συντελεστής ελαστικότητας, νανοδιείσδυση, μηχανικές ιδιότητες οστού

Εισαγωγή

Οι έρευνες σχετικά με τις μηχανικές ιδιότητες του οστού επηρεάζουν πολλές από τις σύγχρονες απόψεις της Ορθοπαιδικής. Τα πεδία της βασικής έρευνας έχουν επεκταθεί πλέον από το μακροσκοπικό στο μικροσκοπικό επίπεδο οργάνωσης του οστού, σε μία προσπάθεια να ερμηνευτούν καλύτερα, τα βιολογικά φαινόμενα που το αφορούν.

Οι εμβιομηχανικές μελέτες του οστού γίνονται με διάφορες τεχνικές. Συνήθως εφαρμόζονται οι κλασσικές μηχανικές δοκιμασίες (δοκιμασία συμπίεσης, ελκυσμού, κάμψης ή στρόφης) σε μεγάλα ή συγκεκριμένου τύπου οστού δείγματα (π.χ. σπογγώδες ή συμπαγές). Με την εξέλιξη κατέστη δυνατή η εφαρμογή των κλασσικών μηχανικών δοκιμασιών σε πιο μικρά δείγματα οστού (μικρομηχανικές δοκιμασίες). Το υψηλό ποσοστό τεχνικών σφαλμάτων και η ανάγκη για εμβάθυνση της έρευνας οδήγησαν περαιτέρω, στην ανάπτυξη πιο σύγχρονων τεχνικών με υψηλό τεχνολογικό υπόβαθρο, όπως είναι οι υπέρηχοι, το σαρωτικό ακουστικό μικροσκόπιο, τα πεπερασμένα στοιχεία, το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ή οι τεχνικές διείσδυσης. Οι τεχνικές αυτές μπορούν να εφαρμοστούν για να εκτιμήσουν με μεγαλύτερη ακρίβεια τις μηχανικές ιδιότητες των μικροανατομικών πλέον χαρακτηριστικών του οστού, όπως των οστικών δοκίδων, των οστεώνων ή ακόμα και των διαμέσων πεταλίων του οστεώνα.

Η φιλοσοφία των τεχνικών διείσδυσης στηρίζεται στην ανάλυση της αντίστασης που εμφανίζει ένα υλικό κατά την είσοδο ενός εισβολέα - εμβόλου στην μάζα του. Η αιχμή του εισβολέα έχει συγκεκριμένο σχήμα και διαστάσεις. Κατά την είσοδο του στη μάζα ενός υλικού δημιουργείται ένα εντύπωμα. Η ανάλυση του μεγέθους του εντυπώματος και της δύναμης που το δημιούργησε μπορεί να οδηγήσει σε ορισμένα συμπεράσματα σχετικά με τις μηχανικές ιδιότητες των υλικών και κυρίως του μέτρου της ελαστικότητας του. (Young's Modulus).

Η νανοδιείσδυση είναι η πιο πρόσφατη εξέλιξη

των τεχνικών διείσδυσης, η οποία αναπτύχθηκε από τους μηχανικούς την τελευταία δεκαετία για την εκτίμηση των μηχανικών ιδιοτήτων των λεπτών επιστρώσεων σε σύνθετα υλικά. Επιτρέπει την παράλληλη και συνεχή καταγραφή της δύναμης εισόδου του εισβολέα και του βάθους διείσδυσης (ύψος του εντυπώματος) με πολύ υψηλή ανάλυση, της τάξεως των mNt για τη δύναμη και nm για το βάθος διείσδυσης και φυσικά με μεγάλη αξιοπιστία στην ακρίβεια των μετρήσεων. Συνήθως υπάρχει μια αρχική φάση φόρτισης, κατά την οποία ο εισβολέας εισάγεται με συγκεκριμένο ρυθμό στη μάζα του υλικού, την οποία διαδέχεται η φάση αποφόρτισης κατά την οποία ο εισβολέας απομακρύνεται. Έτσι λαμβάνεται μία συνεχή καμπύλη φόρτισης - αποφόρτισης από την ανάλυση της οποίας μπορούμε να υπολογίσουμε το μέτρο ελαστικότητας του υλικού.

Το βασικότερο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι επιτρέπει τη μελέτη των μηχανικών ιδιοτήτων σε δείγματα υλικών με μέγεθος μερικών μικρόμετρων (10-6m). Το γεγονός αυτό την καθιστά ιδιαίτερα θελκτική μέθοδο για την εκτίμηση των μηχανικών ιδιοτήτων του οστεώνα ή της οστικής δοκίδος, το μέγεθος των οποίων δεν υπερβαίνει συνήθως τα 500 μικρόμετρα. Επιπλέον, οι μετρήσεις με νανοδιείσδυση μπορούν να γίνουν και σε διαφορετικούς άξονες φόρτισης στο ίδιο δείγμα επιτρέποντας έτσι την εκτίμηση των υλικών με ανισότροπες μηχανικές ιδιότητες, όπως το οστόν. (εικ. 1)

Εμείς εφαρμόσαμε τη νανοδιείσδυση για την εκτίμηση του μέτρου ελαστικότητας της οστικής δοκίδος του 4ου ανθρώπινου οσφυϊκού σπονδύλου. Τα δείγματα προέρχονταν από 5 πρόσφατα θανόντες ανθρώπους (2 άνδρες και 3 γυναίκες), ηλικίας από 16 έως 90 έτη (Μ.Ο. 46,6 έτη). Μετά την αρχική φάση της συλλογής και συντήρησης των σπονδύλων, προετοιμάσαμε κατάλληλα τα δείγματα του σπογγώδους οστού από το σώμα κάθε σπονδύλου, ώστε να προσδιορίσουμε το μέτρο ελαστικότητας των δοκίδων του σε δύο άξονες φόρτισης, δηλαδή παράλληλα και εγκάρσια, σε σχέση με τον επιμήκη άξονα τους.

Υλικό – μέθοδος

Α) Προετοιμασία των δειγμάτων

Κατά τη διάρκεια νεκροτομής ελήφθησαν μαζί με τα παρακείμενα μαλακά μόρια 5 ανθρώπινοι οσφυϊκοί σπόνδυλοι (4ος οσφυϊκός) από 2 άνδρες και 3 γυναίκες, ηλικίας 16 έως 90 έτη (Μ.Ο. 46,6 έτη). Τα δείγματα σφραγίστηκαν σε αεροστεγείς σακούλες και ψύχθηκαν σε θερμοκρασία -10ο βαθμών Κελσίου.

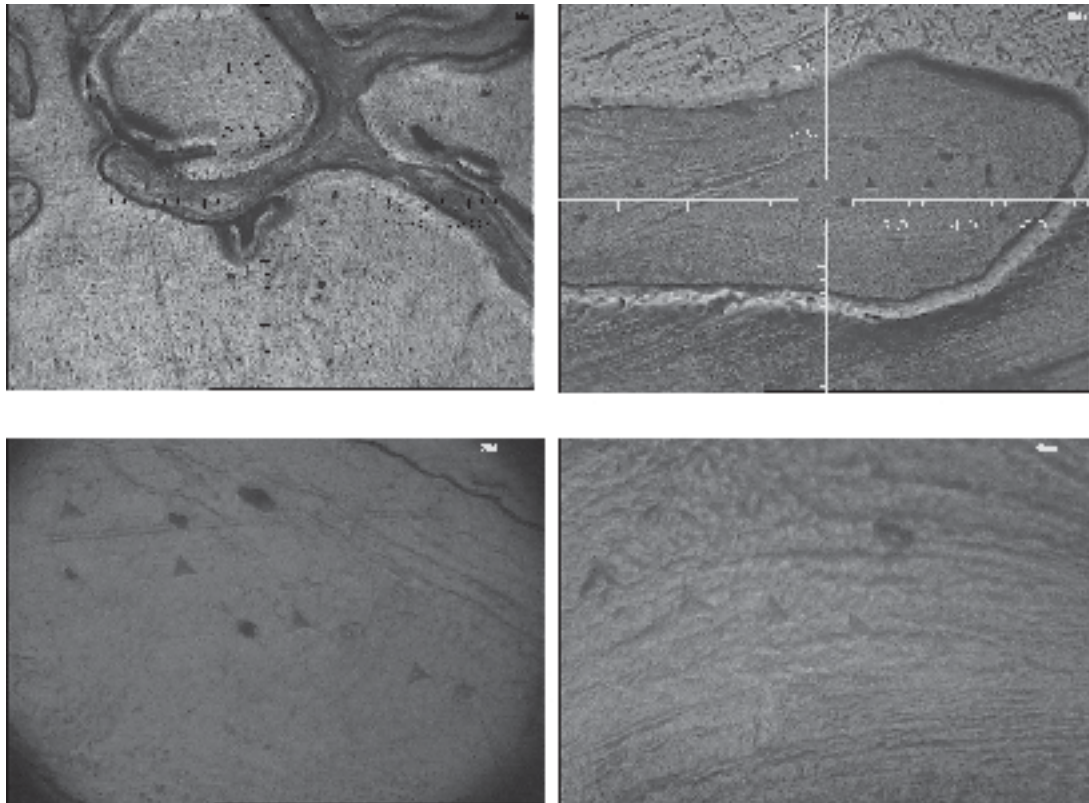
Μετά την πλήρη απόψυξη των σπονδύλων αφαιρέθηκαν με προσοχή όλοι οι περιβάλλοντες μαλακοί ιστοί καθώς και τα οπίσθια στοιχεία (ακανθώδεις αποφύσεις, πέταλα, ανάντις και κατάντις). Κατόπιν άρχισε η κοπή του σώματος των σπονδύλων για τη λήψη των δειγμάτων του σπογγώδους οστού χρησιμοποιώντας τη συσκευή ISOMET 1000 (Buehler), υπό συνεχή ροή απιονισμένου νερού, εξασφαλίζοντας έτσι ελάχιστη μη-

χανική ή θερμική βλάβη στις επιφάνειες κοπής.

Από τη μεσότητα του σώματος κάθε σπονδύλου, αφαιρέθηκε τμήμα σπογγώδους οστού πάχους 5 χιλιοστών, το οποίο κόπηκε εκ νέου στη μέση κατά το εγκάρσιο επίπεδο δημιουργώντας δύο μικρότερους κύβους σπογγώδους οστού, με σκοπό να μετρηθούν οι μηχανικές ιδιότητες των δοκίδων σε δύο κατευθύνσεις: παράλληλα και εγκάρσια σε σχέση με τον επιμήκη άξονα τους.

Τα δείγματα μετά την κοπή τους πλύθηκαν με πίδακα απιονισμένου νερού υπό πίεση για την απομάκρυνση του μυελού από τις μυελοκυψέλες, στέγνωσαν με ξηρό αέρα και μονιμοποιήθηκαν σε εποξική ρητίνη, η οποία στηρίζει τις δοκίδες κατά τη διάρκεια των μετρήσεων.

Μετά τη μονιμοποίησή τους ακολούθησε η λείανση και στίλβωση των επιφανειών μέτρησης με ειδικά, πολύ λεπτά, υαλόχαρτα (SiC), διαδοχικά μικρότερου μεγέθους κόκκων (grid 400, 600, 800, 1000 και 1200) και ειδικές πάστες αλουμινίου ή



Εικόνα 1. Αρχική εικόνα μίας οστικής δοκίδας κάτω από το οπτικό μικροσκόπιο πριν την έναρξη των μετρήσεων. Σε μεγέθυνση τα εντυπώματα που εγκαταλείπει ο εισβολέας μετά την εκτέλεση πολλαπλών μετρήσεων στο οστόν. Το βάθος κάθε τέτοιου εντυπώματος κυμαίνεται περί το 1 μικρόμετρο (10-6m) και η διάμετρος του περί τα 5μm.

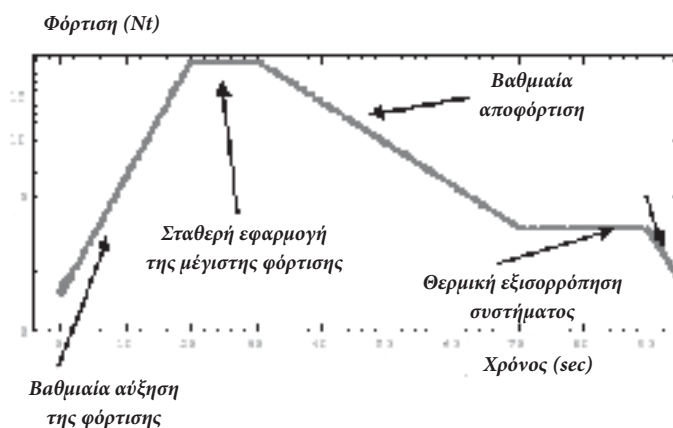
διαμαντιού το μέγεθος των κόκκων των οποίων ξεκινά από 5 μικρόμετρα (10-6m) έως 0,05 μικρόμετρα. Έτσι το τελικό μέγεθος των ανωμαλιών στις επιφάνειες μέτρησης δεν υπερέβαινε τα 50 νανόμετρα (10-9m), που σημαίνει ότι οι επιφάνειες ήταν πρακτικά τέλεια λείες και τα δείγματα ήταν πλέον έτοιμα για την εκτέλεση των νανομετρήσεων.

Β) εκτέλεση των μετρήσεων

Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Fischerscope H100 της Fischer. Τις μετρήσεις τις πραγματοποιήσαμε χρησιμοποιώντας αιχμή εμβόλου τύπου Berckonvits (οξύαιχμη εισβολείς με βάση ισόπλευρου τριγώνου). Αρχικά το δείγμα τοποθετείται πάνω στην ειδική κινητή πλατφόρμα της συσκευής, κάτω από το οπτικό μικροσκόπιο, όπου αναγνωρίζονται οι πλέον κατάλληλες προς μέτρηση δοκίδες. Στη συνέχεια προγραμματίζεται στον ηλεκτρονικό υπολογιστή η ακολουθία των σημείων όπου θα γίνουν οι μετρήσεις (κατά μέσο όρο 7 - 8 σε κάθε δοκίδα) και οι τεχνικές συνθήκες του πειράματος (μέγιστη δύναμη φόρτισης, ρυθμός αύξησης της δύναμης, ταχύτητα αποφόρτισης κ.λ.π.) και το δείγμα μεταφέρεται κάτω από τη μονάδα του εισβολέα για την εκτέλεση των διεισδύσεων. (εικ.1)

Σε κάθε μέτρηση το έμβολο πλησίαζε την επιφάνεια του δείγματος με την πιο μικρή δυνατή ταχύτητα ($< 1 \mu\text{m/sec}$), ώστε να προσδιοριστεί με ακρίβεια το σημείο της 1ης επαφής του εισβολέα με την επιφάνεια του δείγματος, το οποίο αποτελούσε το σημείο αναφοράς για την καταγραφή του βάθους διείσδυσης. Από εκείνο το σημείο ξεκινούσε πλέον ένας πλήρης κύκλος φόρτισης - αποφόρτισης.

Το πειραματικό πρωτόκολλο περιελάμβανε τη βαθμιαία αύξηση της δύναμης εισβολής με σταθερή ταχύτητα: μέγιστη δύναμη φόρτισης ($P_{\max}$) 20mNt με ρυθμό φόρτισης 1Nt/sec. Το μέγιστο βάθος διείσδυσης ($h_{\max}$) στα περισσότερα δείγματα ξεπερνούσε ελαφρά το ένα μικρόμετρο ($1 \mu\text{m} = 10^{-6}$ μέτρου). Ακολουθούσε ένα χρονικό διάστημα 10", με σταθερή τη μέγιστη δύναμη φόρτισης και στη συνέχεια αποσύρονταν ο εισβολέας, (αποφόρτιση) με ρυθμό το μισό του ρυθμού φόρτισης (χρόνος αποφόρτισης ίσος με 40") μέχρι το 10% της μέγιστης δύναμης φόρτισης (2 mNt). Σε αυτό το σημείο διατηρούσαμε, εκ νέου, σταθερή τη φόρτιση των 2 mNt για ακόμα 20", ώστε να εξισορροποιηθεί θερμικά το σύστημα και ο εισβολέας αποσύρονταν πλήρως από το συγκεκριμένο σημείο μέτρησης. Ένα νέο σημείο μέτρησης επιλέγονταν και επαναλαμβάνονταν ένας νέος κύκλος μετρήσεων. (σχήμα 1)



Σχήμα 1. Χρονική ακολουθία του πειραματικού πρωτοκόλλου

Γ) υπολογισμός του μέτρου ελαστικότητας

Η ανάλυση κάθε καμπύλης φόρτισης – αποφόρτισης (σχήμα 2) στηρίζεται στη θεωρία που αναπτύχθηκε από τους Oliver and Pharr (1992). Το πρώτο βήμα για τον υπολογισμό του μέτρου ελαστικότητας (E_b) του υλικού είναι ο υπολογισμός μίας μεταβλητής, που ονομάζεται “ακαμψία επαφής” (contact stiffness, S) και η οποία αποτελεί ένα δείκτη της αντίστασης του οστού στην ελαστική παραμόρφωση. Η μεταβλητή S υπολογίζεται εύκολα από την καμπύλη φόρτισης – αποφόρτισης, ισοδυναμεί δε με την κλίση του αρχικού τμήματος της καμπύλης αποφόρτισης, όπως φαίνεται στο σχήμα 2.

Το μέτρο ελαστικότητας (E_b) του οστού σχετίζεται με τη μεταβλητή S με βάση την εξίσωση (1):

$$S = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \beta \left[\frac{1-\nu_s^2}{E_s} + \frac{1-\nu_r^2}{E_r} \right]^{-1} \sqrt{A}$$

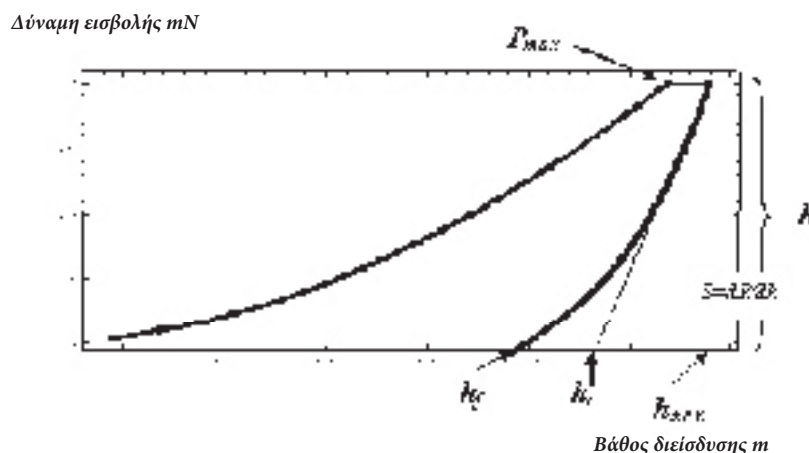
όπου E_b και ν_b είναι το μέτρο ελαστικότητας και ο συντελεστής Poisson του οστού, E_i και ν_i οι αντίστοιχες τιμές για το υλικό της αιχμής του εμβόλου (διαμάντι στη συγκεκριμένη περίπτωση) και β μία σταθερά, που έχει υπολογιστεί πειραματικά και είναι ίση με 1034.

Η μεταβλητή (A) ονομάζεται επιφάνεια επαφής (contact area) και υπολογίζεται από την καμπύ-

λη φόρτισης – αποφόρτισης μέσω μίας σειράς μαθηματικών μοντέλων που προϋποθέτουν την απόλυτα ακριβή γνώση του σχήματος και των διαστάσεων της αιχμής του εμβόλου. Ουσιαστικά εκφράζει το εμβαδόν του εντυπώματος που δημιουργεί το έμβολο στο υλικό τη στιγμή της μέγιστης διείσδυσης. Οι τιμές των μεταβλητών E_i και ν_i , που αφορούν το έμβολο τύπου Berkovits είναι 1141 GPa και 0,07 αντίστοιχα. Ο δείκτης Poisson στα οστά θεωρείται ίσος με 0,3. Εφόσον στην εξίσωση (1) είναι γνωστές οι τιμές των μεταβλητών, ν_b , E_i , ν_i και β και, όπως αναφέραμε, μπορούμε να υπολογίσουμε τις τιμές των (S) και (A), είναι εύκολο πλέον να υπολογίσουμε το μέτρο ελαστικότητας (E_b) του οστού.

Αποτελέσματα

Εκτελέσαμε 719 έγκυρες μετρήσεις σε 103 συνολικά δοκίδες (μέσος όρος 7-8 μετρήσεις ανά δοκίδα). Τα δείγματα προέρχονται από 5 διαφορετικούς δότες και πραγματοποιήσαμε μετρήσεις εγκάρσια και παράλληλα με τον επιμήκη άξονα των κάθετων δοκίδων του σπογγώδους οστού. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων περιελάμβανε τον υπολογισμό του μέσου όρου του μέτρου ελαστικότητας για όλα τα δείγματα και αντίστοιχα τον υπολογισμό του μέτρου ελαστικότητας για κάθε κατεύθυνση και για κάθε δείγμα ξεχωριστά (πίνακας 1).



Σχήμα 2. Τυπική καμπύλη φόρτισης – αποφόρτισης σε νανοδιείσδυση. Από την κλίση του αρχικού τμήματος της καμπύλης αποφόρτισης υπολογίζεται η ακαμψία επαφής (S)

Πίνακας 1. Συγκεντρωτικός πίνακας των αποτελεσμάτων του μέτρου ελαστικότητας της οστικής δοκίδος

Δείγμα	Κατεύθυνση μέτρησης	Αρ. Δοκίδων	Αρ. Μετρήσεων	Μέσος όρος μέτρου ελαστικότητας
AT16	επιμήκως	14	113	12,6 (2,0)
	εγκαρσίως	11	99	13,88 (2,7)
DP62	επιμήκως	9	74	14,49 (2,3)
	εγκαρσίως	10	74	14,79 (2,4)
TK48	επιμήκως	10	55	14,37 (2,3)
	εγκαρσίως	10	72	12,8 (2,4)
SP90	επιμήκως	11	84	14,33 (2,5)
	εγκαρσίως	11	55	12,0 (1,6)
MG17	επιμήκως	11	50	14,16 (2,6)
	εγκαρσίως	6	43	13,45 (2,8)
ΣΥΝΟΛΙΚΑ	επιμήκως	55	364	13,8 (2,4)
	εγκαρσίως	48	355	13,5 (2,6)
	ΣΥΝΟΛΙΚΑ	103	719	13,67 (2,5)

Στα αποτελέσματά μας διαπιστώσαμε ότι το μέτρο ελαστικότητας της οστικής δοκίδος κυμαίνεται από 8,15 GPa έως 23,67 GPa με μέσο όρο 13,67 GPa. Οι αντίστοιχοι μέσοι όροι για το εγκάρσιο και επίμηκες μέτρο ελαστικότητας είναι 13,5 GPa και 13,8 GPa.

Συζήτηση

Η εκτίμηση των μηχανικών ιδιοτήτων των οστών αποτελεί βασικό τμήμα της έρευνας για τη θεραπεία των οστικών παθήσεων και της εξέλιξης των υλικών και φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην Ορθοπαιδική. Η σύγχρονη έρευνα προσανατολίζεται πλέον στην εκτίμηση των μηχανικών ιδιοτήτων των μικροανατομικών χαρακτηριστικών του οστού, όπως π.χ. της οστικής δοκίδος.

Το μέγεθος του οστεώνα κυμαίνεται από 200 έως 300 μm και εκείνο της οστικής δοκίδος είναι

συνήθως μικρότερο από 500 μm (Rho et al,1999). Εφαρμόζοντας τα κλασσικά μηχανικά τεστ σε μεμονωμένες δοκίδες ή οστεώνες (μικρομηχανικά τεστ) διαπιστώθηκε ότι είναι ευαίσθητα σε τεχνικά σφάλματα. Επιπλέον, οι προγενέστερες τεχνικές διείσδυσης, (μακρο- και μικρο-διείσδυση) έχουν ορισμένους περιορισμούς στο μέγεθος των μορφολογικών χαρακτηριστικών του οστού, όπου μπορούν να εφαρμοστούν και επιπλέον σε αυτή την κλίμακα μεγέθους η επίδραση των υπομικροσκοπικών χαρακτηριστικών του οστού, όπως π.χ. των θεμελίων γραμμών ή των σωληνίσκων είναι σημαντική και επηρεάζει την ακρίβεια των αποτελεσμάτων.

Η νανοδιείσδυση στηρίζεται στην ταυτόχρονη καταγραφή της δύναμης και της παραμόρφωσης, με πολύ μεγάλη ανάλυση των μεταβολών, που αγγίζει τα 0,4 m-Nt (10-3 Nt) για τη δύναμη και 1nm (10-9m) για την παραμόρφωση. Η δυνατότητα της εφαρμογής της σε επιλεγμένα σημεία της

επιφάνειας των δειγμάτων με μεγάλη ακρίβεια, σε συνδυασμό με τη μεγάλη ανάλυση κάνουν τη νανοδιείσδυση μία πολύ καλή μέθοδο για την εκτίμηση των μηχανικών ιδιοτήτων του οστεώνα, του διάμεσου οστού, της οστικής δοκίδος και των οστικών πεταλίων, χωρίς οι μετρήσεις να δέχονται έντονα τις επιδράσεις των υπομικροσκοπικών χαρακτηριστικών του οστού, όπως αναφέραμε για τις προγενέστερες τεχνικές.

Το βασικότερο, επομένως, πλεονέκτημα της εφαρμογής της νανοδιείσδυσης στο οστόν είναι ότι μπορεί να εκτιμήσει, με μεγαλύτερη ακρίβεια, το μέτρο ελαστικότητας του οστού στα βασικότερα επίπεδα της κατασκευής του, εκείνα, δηλαδή, του οστεώνα και της οστικής δοκίδος.

Η σημασία αυτής της δυνατότητας είναι μεγάλη. Ο Ρ. Ζιούρος (2001) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το μέτρο ελαστικότητας που υπολογίστηκε με νανοδιείσδυση στο συμπαγές οστόν μπορεί να προβλέψει το μέτρο ελαστικότητας ολόκληρου του οστού και να ερμηνεύσει τις διαφορές της ευθραυστότητας των οστών μεταξύ τους. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Rho et al (2002), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι το μέτρο ελαστικότητας από νανοδιείσδυσεις συσχετίζεται με το μέτρο ελαστικότητας, που υπολογίζεται από δοκιμασίες κάμψης ολόκληρου οστού σε ποσοστό 88%. Το αποτέλεσμα αυτό βελτιωνόταν στο 94%, αν συνυπολογιζόταν και ο παράγοντας της ηλικίας. Πρόσφατα, οι Hengsberger et al (2003) ανέπτυξαν μία τεχνική με την οποία βελτίωσαν μέχρι 98%, τη δυνατότητα πρόβλεψης, από τη νανοδιείσδυση, του μέτρου ελαστικότητας μεγαλύτερων δειγμάτων οστού, που υπολογίζεται σε πειράματα εφελκυσμού.

Οι εφαρμογές της νανοδιείσδυσης συνεχώς διευρύνονται, αν και ακόμα είμαστε στα πρώτα χρόνια της εφαρμογής της. Οι Guo et al (2000) μελέτησαν με νανοδιείσδυση τις μηχανικές ιδιότητες που έχει το νεοσχηματιζόμενο οστόν σε ένα πειραματικό μοντέλο σπονδυλοδεσίας με υδροξυαπατίτη. Οι Guo and Goldstein (2000) μελέτησαν τις διαφορές στις μηχανικές ιδιότητες του οστού μεταξύ οστεοπορωτικών και μη ποντικών, ενώ οι Roy et al (2000) τις σχέσεις ανάμεσα στο μέτρο ελαστικότητας και στον βαθμό της επιμετάλλω-

σης και συγκέντρωσης της οστεοκαλσίνης. Το 2002, έγιναν έρευνες σχετικές με το μέτρο ελαστικότητας και γενετικές βλάβες (Zhang et al) των οστών.

Πολλά ακόμα παραδείγματα και οι τάσεις της έρευνας δείχνουν πως τεχνολογικά εξελιγμένες τεχνικές, όπως αυτή της νανοδιείσδυσης, θα μεταβάλουν πολλές από τις σημερινές μας απόψεις σχετικές με τον οστικό μεταβολισμό, τις μηχανικές ιδιότητες του οστού, την αποτελεσματικότητα της φαρμακευτικής θεραπείας και ίσως ακόμα και τις δυνατότητες της χειρουργικής θεραπείας.

Στην έρευνα μας εκτιμήσαμε το μέτρο ελαστικότητας της οστικής δοκίδος του 4ου ανθρώπινου οσφυϊκού σπονδύλου με την τεχνική της νανοδιείσδυσης. Σε σύνολο 719 μετρήσεων και σε 5 διαφορετικούς ανθρώπους ηλικίας από 16 έως 90 έτη, διαπιστώσαμε ότι το μέτρο ελαστικότητας κυμαινόταν από 8,15 Gra έως 23,27 Gra με μέσο όρο 13,7 Gra ($\pm 2,5$).

Οι Guo and Goldstein (1997) αναφέρουν ότι το μέτρο ελαστικότητας του σπογγώδους οστού κυμαίνεται από 1,3 Gra έως 21,5 Gra ανάλογα με την τεχνική μέτρησης, με επικρατούσες τις χαμηλότερες από 10,0 Gra τιμές. Οι Yuehuein H An and R A Draughn (2000) αναφέρουν ότι το μέτρο ελαστικότητας του σπογγώδους οστού, σε μικρομηχανικά τεστ κυμαίνεται από 0,8 Gra έως 10,0 Gra.

Το σύνολο των ερευνών δείχνει πως το μέτρο ελαστικότητας της μεμονωμένης οστικής δοκίδος είναι μεγαλύτερο από το μέτρο ελαστικότητας του σπογγώδους οστού. Οι τιμές του μέτρου ελαστικότητας της οστικής δοκίδος που υπολογίσαμε είναι μεγαλύτερες από τις μέχρι σήμερα χρησιμοποιούμενες τιμές.

Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγουν και οι Rho et al (1997), οι οποίοι μέτρησαν με νανοδιείσδυση το μέτρο ελαστικότητας της δοκίδος του 12ου θωρακικού σπονδύλου κατά την εγκάρσια κατεύθυνση και το υπολόγισαν ίσο με 13.5(2.0)Gra. Τόνισαν ότι η τιμή αυτή ήταν 2.5 φορές μεγαλύτερη από την μέχρι τότε ευρέως χρησιμοποιούμενη των 5.4 Gra (Choi et al, 1990). Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και άλλες ακόμα έρευνες, οι οποίες εκτίμησαν το μέτρο ελαστικότητας του οστού στο

επίπεδο των ενδογενών του ιδιοτήτων (Roy et al 1998, Rho et al 1998, Zysset et al 1998, Hoffer et al 2000), και όλες δείχνουν την τάση να αναθεωρήσουμε τις μέχρι σήμερα αποδεκτές τιμές σχετικά με το πραγματικό μέτρο ελαστικότητας της οστικής δοκίδος.

Συμπεράσματα

Καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η νανοδιείσδυση είναι μία πολύ αξιόπιστη, υψηλής τεχνολογίας τεχνική για την εκτίμηση των μηχανικών ιδιοτήτων των οστών. Πιστεύουμε ότι στο μέλλον οι δυνατότητες που ανοίγουν με την εφαρμογή της στη βασική έρευνα των οστών θα έχουν σημαντικές κλινικές επιδράσεις.

Οι μετρήσεις μας προσδιόρισαν για πρώτη φορά το μέτρο ελαστικότητας στο σπογγώδες οστό του 4ου σπονδύλου και σαφώς είναι υψηλότερες από τις μέχρι τώρα τιμές του μέτρου ελαστικότητας στη σπονδυλική στήλη, που προσδιόριζαν τα κλασσικά τεστ μηχανικής.

Abstract

Micromechanical properties of human vertebral trabeculae

P. Antonarakos, G. Kapetanios, K. Bouzakis, M. Tsougas, A. Christodoulou, J. Pournaras

We applied nanoindentation to assess the micromechanical properties of human vertebral trabeculae. 5 specimens from 4th lumbar vertebra were obtained from fresh, unembalmed human cadavers (2 males and 3 females), aged from 16 to 90 years. After carefully removing posterior elements and soft tissues, the vertebral bodies were cut to a thickness of 5mm and embedded in epoxy resin to provide support for the porous network. Then the samples were metallographically polished to produce smooth testing surfaces and nanoindentation tests were conducted to measure Young's modulus of individual trabeculae. Measurements were made in both longitudinal and transverse direction according to the longitudinal axes of the trabeculae. The inden-

tation load – displacement data obtained in these tests were analyzed, using the method of Oliver and Pharr. A total of 719 nanoindentations were produced in this research. A mean of 7 - 8 indentations were made in 103 separate trabeculae both in longitudinal and transverse direction. The mean Young's modulus was found to be 13.67(2.5) GPa, which is higher than the one obtained by classic micromechanical tests. Nanoindentation is a very promising technique for evaluating intrinsic mechanical properties of bone at sub-micro level of organization.

Key words: trabeculae, Young's modulus, Nanoindentation, bone's mechanical properties

Βιβλιογραφία

1. **Choi et al:** The elastic moduli of human subchondral, trabecular and cortical bone tissue and the size dependency of cortical bone modulus, *j biomech*, 1990,23:1103-1110
2. **Guo and Goldstein:** Is trabecular bone tissue different from cortical bone tissue, *Forma*, 1997,12:185-196
3. **Guo et al:** Nanoindentation study of interfaces between calcium phosphate and bone in an animal spinal fusion model, *j biomed mater res*, 2001,54:554-559
4. **Guo X E and Goldstein S A:** Vertebral trabecular bone microscopic tissue elastic modulus and hardness do not change in ovariectomized rats, *j orthop res*, 2000,18:333-336
5. **Hengsberger et al:** How is the indentation modulus of bone tissue related to its macroscopic elastic response: a validation study, *j biomech*, 2003,36:1503-1509
6. **Hoffer C E et al:** Age, gender and bone lamellae elastic moduli, *j orthop res*, 2000, 18:432-437
7. **Linde F and Sorensen H C:** The effect of different storage methods on the mechanical properties of trabecular bone, *j biomech*, 1993,16:1249-1255
8. **Oliver and Pharr:** An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indenta-

- tion experiments, *j mater res*, 1992,7(6):1564-1583
9. **Rho et al:** Elastic properties of human cortical and trabecular lamellar bone measured by nanoindentation, *Biomaterials*, 1997,18:1325-1330
 10. **Rho et al:** Elastic properties of microstructural components of human bone as measured by nanoindentation, *j biomed mater res*, 1998,45:48-54
 11. **Rho et al:** Variations in the individual thick lamellar properties within osteons by nanoindentation, *Bone*, 1999,25(3):295-300
 12. **Rho et al:** Microstructural elasticity and regional heterogeneity in human femoral bone of various ages examined by nanoindentation, *j biomech*, 2002,35:189-198
 13. **Roy et al:** Mechanical and morphological variation of the human lumbar vertebral cortical and trabecular bone, *j biomed mater res*, 1998,44:191-197
 14. **Yuehuein H An and R A Draughn:** Mechanical testing of bone and the bone – implant interface, CRS Press, 2000
 15. **Zhang Y et al:** Mechanical properties of skeletal bone in gene -mutated stopsel and wild- type zebrafish (*Danio rerio*) measured by AFM -based nanoindentation, *Bone*, 2002,30:541-546
 16. **Zioupou P:** Ageing human bone: Factors affecting its biomechanical properties and the role of collagen, *j biomat applic*, 2001,15:187-228
 17. **Zysset et al:** Mechanical properties of human trabecular bone lamellae quantified by nanoindentation, *technol health care*, 1998, 6:429-432.

