

Magdalena TOMANIK, Studenckie Koło Naukowe Biomechaników, Wydział Mechaniczny Politechnika Wroclawska, Wrocław

Anna NIKODEM, Zakład Inżynierii Biomedycznej i Mechaniki Eksperymentalnej, Politechnika Wroclawska, Wrocław

BADANIA WŁAŚCIWOŚCI STUKTURALNYCH I MECHANICZNYCH TKANKI KOSTNEJ ZMIENIONEJ ZWYRODNIENIOWO

Streszczenie: Celem badań było określenie właściwości mechanicznych oraz strukturalnych tkanki kostnej gąbczastej pochodzącej z nasad bliższych kości udowych. Materiał badawczy pochodził od pacjentów z chorobą zwyrodnieniową o zróżnicowanym stopniu zaawansowania. Porównując wyniki właściwości strukturalnych i mechanicznych próbek pochodzących z różnych regionów nasady bliższej można stwierdzić większe zmiany modułu Younga, *DMA*, *BV/TV*, *Tb.Th*, *Tb.N* oraz *DA* w rejonie tkanki kostnej, która znajduje się bezpośrednio pod degradującą się stawową warstwą tkanki chrzęstnej.

Słowa kluczowe: osteoartroza, mikrotomograf, badania mechaniczne

1. WSTĘP

Tkanka kostna jest strukturą charakteryzującą się dynamicznymi procesami biologicznymi, determinującymi jej wzrost oraz przebudowę. Pod wpływem działających obciążeń, kość dostosowuje swoją strukturę, zapewniając w ten sposób maksymalną wytrzymałość przy minimalnej masie. Kość można przyrównać do materiału kompozytowego składającego się z fazy organicznej oraz nieorganicznej, w stosunku 1:2,5. Głównym składnikiem fazy nieorganicznej są związki fosforanu wapnia, stanowiące o wytrzymałości mechanicznej kości, natomiast w fazie organicznej wyróżnia się głównie kolagen typu I nadający materiałowi właściwości sprężyste.

Kość można rozpatrywać na 4 poziomach hierarchiczności: od skali makro - całej kości, przez mezo (poziom tkanki), mikro (kanały Haversa, belecзки kostne), aż do skali nano (włókna kolagenowe oraz kryształy HAp) [1]. Tkanka kostna jest tkanką żywą, która reaguje na najmniejsze zmiany siły obciążającej poprzez dostosowanie swojej struktury do nowych warunków biomechanicznych a co za tym idzie do zmiany właściwości mechanicznych. Kształtowania kości jest zjawiskiem ciągłej resorpcji oraz tworzenia kości spowodowanych występowaniem obciążeń. Procesy występujące w uformowanej kości polegające na zrównoważonej degradacji oraz formowaniu tkanki kostnej nosi nazwę przebudowy (ang. *remodeling*) [4]. Zachodzące procesy mają na celu zastąpienie istniejących elementów kości nowymi, poprzez stopniową resorpcję beleczek kostnych w miejscach w których istniały największe naprężenia główne oraz nadbudowę w rejonie najbardziej obciążanym. Poprzez remodeling struktury kość uzyskuje optimum wytrzymałości przy zachowaniu minimum masy. W przypadku zaburzenia równowagi (przeciążenia) procesów adaptacji funkcjonalnej kości, wzmocnionej dodatkowo czynnikami takimi jak wiek czy jakość kości, może dojść do zmian chorobowych tkanki kostnej. Najczęściej spotykanym schorzeniem narządu ruchu jest

choroba zwyrodnieniowa stawów czyli osteoartroza (OA), na którą narażone są najbardziej obciążane tj. staw biodrowy, staw kolanowy oraz kręgosłup. W chorobie zwyrodnieniowej stawu biodrowego (coxarthrosis) dochodzi do wzrostu wartości sił nacisku na powierzchnie stawowe z 5 MPa do 18,6 MPa co prowadzi do niszczenia i atrofi chrząstki stawowej oraz nieprawidłowego przerostu tkanki kostnej w okolicy okołostawowej, co zmienia warunki mechaniczne w rejonie stawu [Pauwels 1976][2].

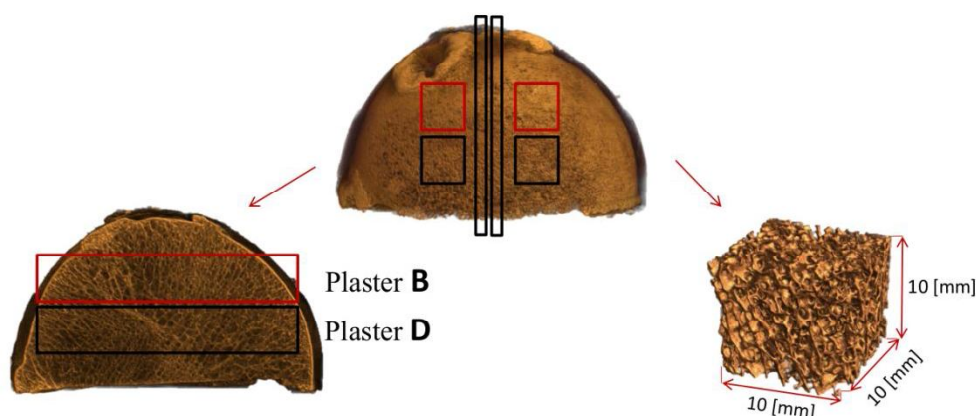
W diagnostyce klinicznej osteoartroza stwierdzana jest na podstawie badań radiologicznych, umożliwiających wizualizację zmian powstałych na wskutek trwania choroby. Wraz z rozwojem metod obrazowania wykorzystujących tomografię komputerową w skali mikro możliwe jest określenie szeregu parametrów strukturalnych charakteryzujących tkankę kostną takich jak BV/TV, Tb.Th, Tb.N czy DA, dając możliwość lepszego poznania przebiegu choroby oraz opisu właściwości mechaniczne tkanki kostnej.

Celem pracy było określenie korelacji pomiędzy właściwościami strukturalnymi oraz mechanicznymi tkanki kostnej gąbczastej zmienionej zwyrodnieniowo. Tego typu opis ma istotne znaczenie dla zrozumienia mechanizmów powstawania zmian tkanki kostnej.

2. MATERIAŁ I METODA

Materiał biologiczny stanowiły nasady bliższe kości udowych (n=6) pobrane od pacjentów Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu, u których przeprowadzono zabieg alloplastyki stawu biodrowego ze względu na stwierdzoną osteoartrozę. Badania zostały przeprowadzone za zgodą Komisji Bioetycznej (KB-86/2010).

W pierwszej kolejności materiał badawczy został sklasyfikowany na 3 grupy, zgodnie ze stopniem zaawansowania choroby zwyrodnieniowej, na podstawie diagnozy lekarskiej, zdjęć RTG, analizy kształtu nasady bliższej oraz stopnia uszkodzenia tkanki chrzęstnej na powierzchni stawowej. Badaniom właściwości strukturalnych i mechanicznych poddano sześciennne próbki o wymiarach 10x10x10 [mm], do uzyskania których użyto przycinarki metalograficznej Accutom-5®, Struers. Próbki przygotowano z 2 plasterów: z warstwy podchrzęstnej 'B' (n=24) oraz dalszej 'D' (n=25). Każdą z otrzymanych próbek poddano badaniom histomorfometrycznym a następnie mechanicznym. Do czasu przeprowadzenia badań materiał przechowywano w płytkach wielodołkowych w temperaturze -20°C.



Rys.1. Zdjęcia przykładowej głowy kości udowej (I stopień OA), uzyskane za pomocą mikrotomografu rtg, z zaznaczonym miejscem pobrania próbek badawczych o wymiarach 10x10x10 [mm]

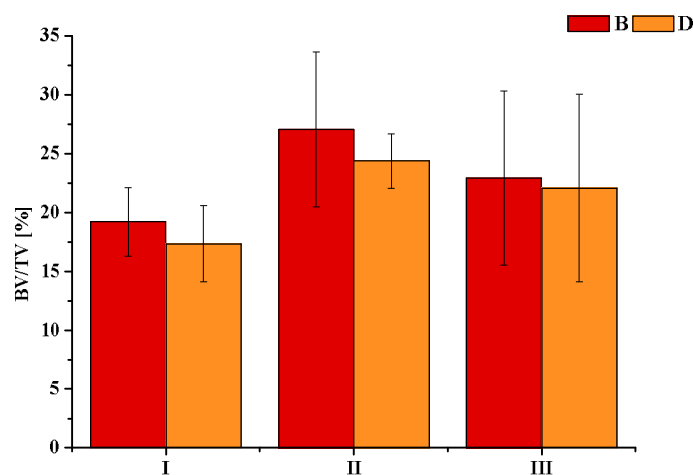
Tkanka kostna jest trójwymiarową siecią połączonych ze sobą beleczek kostnych, mających zróżnicowany kształt, grubość oraz długość. Przestrzenna organizacja elementów budujących tkankę kostną gąbczastą nazywana jest strukturą. Parametry służące do opisu

tkanki kostnej, ze względu na charakter, można podzielić na grupy związane z: geometrią (BV/TV), opisującą wielkość i kształt i rozmieszczenie tkanki kostnej; strukturą ($Tb.Th$, $Tb.N$) charakteryzowaną przez liczbę beleczek, ich typ oraz liczbę połączeń między nimi; oraz anizotropią (DA) świadczącą o uprzywilejowanym kierunku ułożenia beleczek kostnych. W celu określenia właściwości strukturalnych materiału biologicznego przeprowadzono badania stereologiczne z wykorzystaniem mikrotomografu SkyScan1172, Bruker®, który umożliwił stworzenie trójwymiarowej rekonstrukcję próbek tkanki kostnej. Rejestrację obrazów przeprowadzono z wykorzystaniem filtra glinianego (0.5 Al) przy natężeniu promieniowania 84 kV, napięciu 128 μ A, oraz stopniu rotacji 0,5° w zakresie kąta od 0° do 180° oraz rozdzielczością 13,5 μ m. Otrzymane modele próbek pozwoliły na wyznaczenie parametrów strukturalnych 3D uzyskując wartości parametrów BV/TV , $Tb.Th$, $Tb.N$ oraz DA .

Ostatnim etapem badań były pomiary kierunkowych właściwości mechanicznych, które przeprowadzono w testach jednoosiowego ściskania za pomocą maszyny MTS Synergie 100®. Kierunkowe badania mechaniczne przeprowadzono z prędkością odkształcenia równą 0,01/s⁻¹, ze wstępnym obciążeniem 10N, do wartości siły odpowiadającej 1% odkształcenia. Wartość ta odpowiada wartości obciążenia fizjologicznego. Na podstawie uzyskanych charakterystyk naprężenie-odkształcenie, określono wartości modułu Younga (E_1 , E_2 , E_3) oraz wartości parametru DMA.

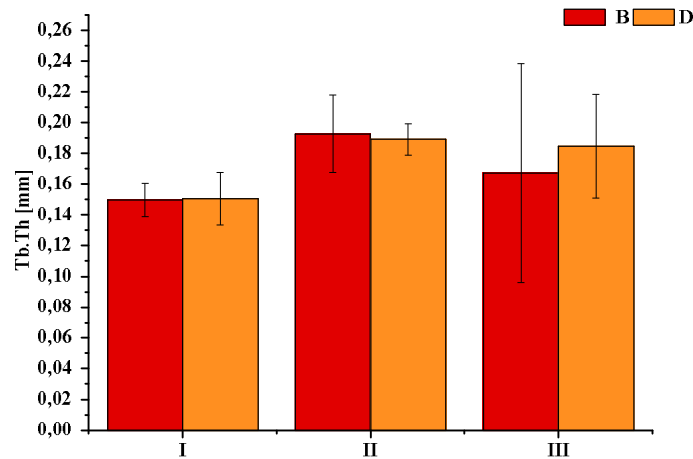
3. WYNIKI

Przeprowadzone badania ilościowe próbek tkanki kostnej gąbczastej pozwoliły na wyznaczenie parametrów strukturalnych takich jak: BV/TV , $Tb.Th$, $Tb.N$ oraz DA . Wartości otrzymane dla parametru BV/TV opisującego geometrię przedstawiono na wykresie Rys.2., parametry $Tb.Th$ i $Tb.N$ opisujące strukturę przedstawiono na wykresach Rys.3-4, natomiast anizotropię strukturalną opisuje wykresy Rys.6.



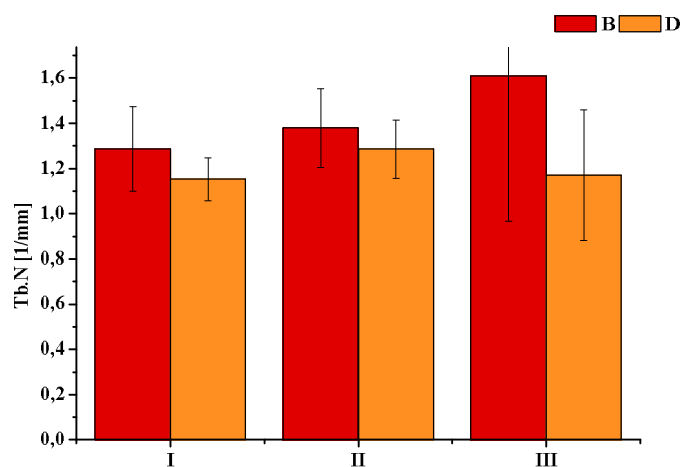
Rys.2. Wykres porównawczy wartości parametru (BV/TV), uzyskanych dla próbek z głów kości udowej, z różnych etapów OA

Uzyskane wartości parametru BV/TV dla próbek rejonu podchrzęstnego (Rys.2.) zawierają się w przedziale: (19.21÷27.07 [%]), natomiast dla rejonu D w zakresie: (17.34÷24.37 [%]). Otrzymane wyniki pokazują, że we wszystkich grupach chorobowych wartości BV/TV dla rejonu dalszego są mniejsze niż dla rejonu bliższego. W kolejnych stadiach OA dochodzi do wzrostu objętościowego udziału tkanki kostnej, względem stadium I najmniej zaawansowanego, zarówno w rejonie podchrzęstnym jak i dalszym.



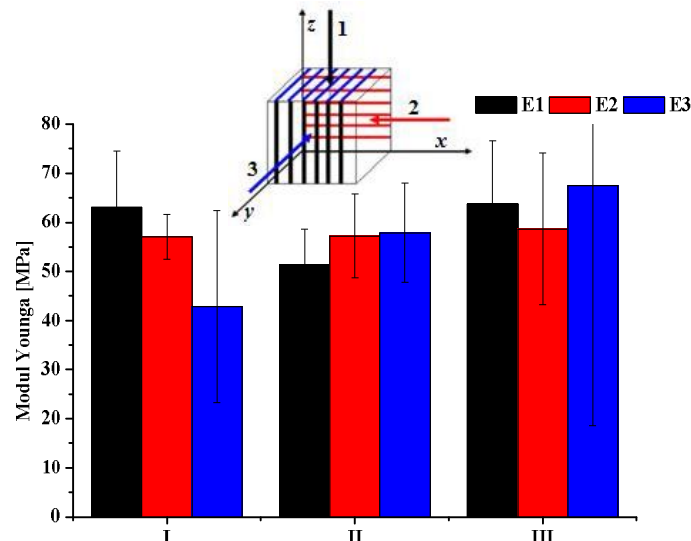
Rys.3. Wykres porównawczy wartości grubości beleczek (Tb.Th), uzyskanych dla próbek z głów kości udowej, z różnych etapów OA

Pierwszym z wyznaczonych parametrów opisujących strukturę był parametr Tb.Th określający średnią grubość beleczek, otrzymane wyniki przedstawia Rys.3. Dla I stadium choroby otrzymane wartości mieszczą się w zakresie: $(0,150 \div 0,151 \text{ [mm]})$, wraz z zaawansowaniem choroby wartości te rosną w przedziale: $(0,192 \div 0,190 \text{ [mm]})$ dla stadium II oraz $(0,167 \div 0,185 \text{ [mm]})$ dla stadium III. Wartości parametru Tb.N, opisującego średnią liczbę beleczek, dla rejonu B mieściły się w przedziale: $(1,29 \div 1,61 \text{ [1/mm}^3])$, natomiast dla rejonu D otrzymane wartości zawierały się w zakresie od $(1,15 \div 1,28 \text{ [1/mm}^3])$.



Rys.4. Wykres porównawczy wartości liczby beleczek (Tb.N), uzyskanych dla próbek z głów kości udowej, z różnych etapów OA

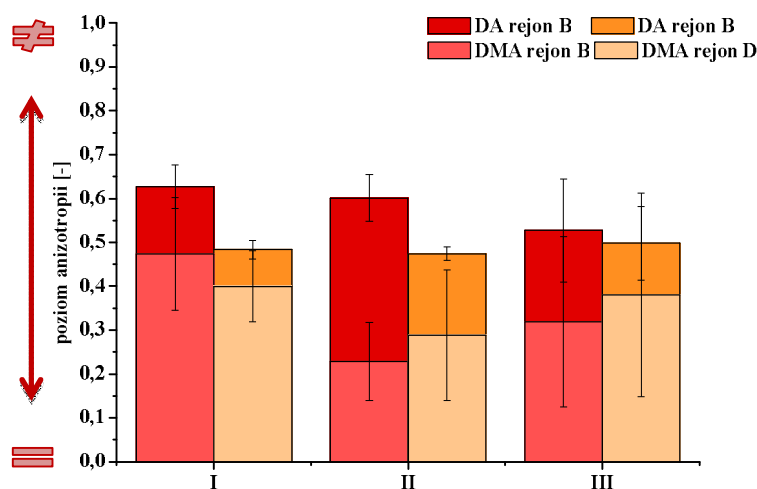
Na podstawie przeprowadzonych badań kierunkowych, w próbach jednoosiowego ściskania, możliwe było wyznaczenie charakterystyk σ - ϵ , które umożliwiły określenie wartości modułu Younga E dla trzech ortogonalnych kierunków (Rys.5) oraz wyznaczenie wartości anizotropii mechanicznej DMA (Rys.6.).



Rys.5. Wykres porównawczy wartości modułu Younga (E_1 , E_2 , E_3), uzyskanych dla próbek z głów kości udowej, z różnych etapów OA

Na wykresie Rys.5. przedstawiono otrzymane wartości modułów Younga E dla próbek tkanki kostnej pochodzących z rejonu podchrzęstnego nasad bliższych kości udowych. Otrzymane wartości kierunkowych modułów Younga dla poszczególnych stadiów OA są zróżnicowane, dla każdego ze stadiów można określić kierunek, w którym kość posiada największe wartości modułu Younga. W próbkach pochodzących ze stadium I, największe wartości otrzymano dla E_1 następnie E_2 oraz E_3 . W kolejnych stadiach choroby zwyrodnieniowej zależności te przedstawiają się w odmienny sposób, podczas gdy w stadium II są wręcz odwrotne.

Ilościowe badania strukturalne oraz kierunkowe badania mechaniczne próbek tkanki kostnej pozwoliły na określenie poziomu anizotropii dwojakiego rodzaju: strukturalnej (DA) oraz mechanicznej (DMA). Porównanie uzyskanych wartości DA oraz DMA, dla rejonu podchrzęstnego oraz dalszego, przedstawiono na wykresie Rys.6. Otrzymane wyniki wskazują, że tkanka kostna pochodząca z nasad bliższych kości udowych charakteryzuje się większą anizotropią strukturalną niż mechaniczną. Wraz z postępem OA dochodzi do obniżenia anizotropii zarówno strukturalnej jak i mechanicznej, jak również do zmniejszenia różnic pomiędzy DA rejonu B a D oraz wzrostu anizotropii mechanicznej w rejonie D.



Rys.6. Wykres porównawczy wartości anizotropii mechanicznej (DMA) oraz strukturalnej (DA), uzyskanych dla próbek z głów kości udowej, z różnych etapów OA

3. PODSUMOWANIE

Celem niniejszej pracy było określenie właściwości strukturalnych oraz mechanicznych tkanki kostnej gąbczastej zmienionej patologicznie. Tego typu opis ma istotne znaczenie dla zrozumienia mechanizmów powstawania zmian tkanki kostnej. Na podstawie przeprowadzonych badań ilościowych oraz kierunkowych możliwe było wyznaczenie parametrów jakimi charakteryzuje się tkanka kostna na poszczególnych etapach choroby zwyrodnieniowej.

Przeprowadzone badania wskazują, że wraz z pogłębiającymi się zmianami w chorobie zwyrodnieniowej stawu biodrowego tkanka kostna gąbczasta charakteryzuje się zmiennymi wartościami parametrów strukturalnych oraz mechanicznych. Porównując wyniki właściwości strukturalnych i mechanicznych próbek tkanki pochodzących z rejonu podchrzęstnego oraz dalszego, można stwierdzić większą zmienność badanych parametrów w rejonie tkanki kostnej, która znajduje się bezpośrednio pod degradującą się stawową warstwą tkanki chrzęstnej. Otrzymane w badaniach duże różnice w badanych parametrach, wynikają z różnego stopnia zaawansowania choroby jak również zróżnicowania struktury tkanki kostnej w obrębie nasady bliższej kości udowej.

Ze względu, iż osteoartroza nosi miano choroby cywilizacyjnej na całym świecie, prowadzone są badania, w których próbuje się określić zarówno mechanizmy powstawania patologii kości jak również ich następstwa. Przeprowadzone badania mogą zatem poszerzyć wiedzę z zakresu właściwości mechanicznych tkanki kostnej zmienionej chorobowo oraz przyczynić się do lepszego poznania mechanizmów wywołujących osteoartrozę.

LITERATURA

- [1] Currey J.D.: The structure and mechanics of bone. In: Anniversary Review, Springer 2011.
- [2] Keuttner K.E.: Goldberg V.M., Osteoarthritic Disorders. American Academy of Orthopedic Surgeons, Rosemont 1995.
- [3] Nikodem A.: Correlations between structural and mechanical properties of human trabecular femur bone, Acta of Bioengineering and Biomechanics, 2012, vol.14, pp.37-46.
- [4] Ruimerman R. (2005:) Modeling and remodeling in bone tissue, University Press Facilities, Eindhoven

INVESTIGATION OF STRUKTURAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF CANCELLOUS BONE IN OSTEOARTHRITIS

Abstract: It is common known that the cancellous bone is able to change its structure under the influence of acting forces. The Osteoarthritis (OA), is degenerative joint disease, caused by the breakdown of cartilage and is most common in hips. As OA is progressing the mechanical stress on joint increase, causing a degeneration and deformation of a femur head. Due to changes of mechanical conditions in the joint the structure of bone adapts to new loading forces. The purpose of the study is to determine the mechanical and structural properties of human femoral bone tissue in different stages of OA.