论著

文章编号:1000-5404(2010)09-0904-04

高敏度小张力膜状生物材料力学检测装置改进

张才茂,伍津津,鲁元刚,杨 涛,杨桂红,唐书谦 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所皮肤科,重庆市创伤愈合与组织工程研究所,重庆市高校皮肤组织工程研究中心)

[摘要] **目的** 改进本实验室与重庆大学联合研制的高敏度小张力膜状生物材料力学检测装置并测试其准确度及稳定性。**方法** ①将原仪器液-气压力加载系统改为气体加载系统;②将夹具升级为可轴向运动,夹持稳固、精确,可视的夹持系统;③更换为高精度、量程为20 kPa的传感器,并对系统软件内参数作相应调整;④对仪器准确度、稳定性进行测试。**结果** ①成功地将原仪器改进成外形小巧,夹持可靠,试件变化可视,操作方便、快捷的装置。②准确度测试结果:引用误差为-0.30% ~ +0.29%之间。③稳定性测试:不同日期5个不同时段测得同一标准品的数据[分别为(18 723 ± 16)、(18 705 ± 5)、(18 720 ± 23)、(18 731 ± 15)、(18 733 ± 20)Pa]之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 经改进后仪器能准确测量出组织工程皮肤等膜状生物材料的抗张强度。

[关键词] 组织工程;膜状生物材料;张力测试;环状夹具

[中图法分类号] R318.08; R312 **[文献标志码]** A

Improvement of high-sensitivity mechanical test device for detecting properties of small tension membranaceous biomaterials

Zhang Caimao, Wu Jinjin, Lu Yuangang, Yang Tao, Yang Guihong, Tang Shuqian (Department of Dermatology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Institute of Wound Healing and Tissue Engineering Research of Chongqing, Skin Tissue Engineering Research Center of Chongqing Universities, Chongqing, 400042, China)

[Abstract] **Objective** To improve the high-sensitivity mechanical test device for detecting the properties of small tension membranaceous biomaterials produced in our laboratory and Chongqing University and examine its accuracy and stability. **Methods** The original air-liquid pressure loading system was replaced by an airy pressure loading system. The clamp was upgraded to a visual clamping system which can be moved along the axial direction and clamped firmly and accurately. The original pressure sensor was replaced by a higher precision sensor with a measurement range from 0 to 20 kPa. The parameters in the software were adjusted accordingly. The accuracy and stability of the device were tested. **Results** The original device was improved as a small, delicate and easy to operate device with reliable clamps and visible change in its test parts. Accuracy testing showed that the reference error was very small, ranging from -0.30% to +0.29%. Stability testing showed the data obtained from the 5 groups tested at different time were (18 723 ± 16), (18 705 ± 5), (18 720 ± 23), (18 731 ± 15), (18 733 ± 20) Pa, and there was no significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** The improved device is suitable for detecting the tension strength of small tension membranaceous biomaterials such as tissue engineered skin.

[Key words] tissue engineering; membranaceous biomaterial; tension measurement; circular clamping apparatus

Supported by the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program, 2006AA02A121), and the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2007BB5383). Corresponding author: Wu Jinjin, Tel: 86-23-68757591, E-mail: wjjjj@163.com

[基金项目] 国家高技术研究发展计划(863计划,2006AA02A121);重庆市自然科学基金(CSTC2007BB5383)

[通信作者] 伍津津,电话:(023)68757591,E-mail:wjjjj@163.com

组织工程皮肤为深部创面(如烧伤)、大面积急性伤口和长期慢性伤口(如静脉性溃疡、糖尿病性溃疡和压迫性溃疡)的愈合和修复提供了一种很好的可选

方案[1]。作为皮肤替代物,不仅要求其有良好的生物学特性,而且要有一定的力学强度。另一方面,已有研究表明细胞之间力的传播是通过细胞骨架与其周围基质相互作用进行的[2,3],组织工程皮肤力学生物学研究需要从宏观及微观角度阐明力学因素对其的影响,因此量化其力学性能成了力学研究中的重要问题。文献[4-8]报道研究皮肤力学性能采用单(多)轴拉伸测量、压痕法测量、气动吸料测量、超声波测量等方法。1997年第一个组织工程皮肤产品Dermagraft获得了FDA批准应用于临床[9,10]。常用测量材料力学强度的仪器是从一维的角度进行测量,且用于测量组织工程皮肤时由于组织工程皮肤柔软、强度低,因此常不便操作。

本实验室与重庆大学于2003年成功研制了采用三维拉伸进行测量的高敏度小张力膜状生物材料力学检测装置,该装置所使用环状夹具具有易于夹持,测量时能最大程度地减少夹具对测量结果的影响,测量数据能更大程度接近材料的实际力学性质,敏感性和稳定性较好,软件界面友好且不允许修改数据,能确保实验数据真实可靠等优点,已获得专利[11]。但该仪器在使用中也有一些不足,如压力加载系统效率低下、体积庞大、测试时不便观察等,因此有必要对仪器进行改进,提高其性能,并进行精确度与稳定性测试验证。

1 仪器改进

1.1 方案

原仪器主要不足:①原设计中的压力加载系统采用机械提升水柱,通过水柱产生的压力以空气传导作用至固定于环形夹具上的膜状材料,要产生10 kPa压力,需要1.33 m高的水柱,这就造成仪器体积比较庞大;②该仪器设计用于测量膜状材料抗张强度,测量过程中材料破裂后系统内气压急剧下降,而作为压力源的水柱柱内液体迅速从材料破裂处流失,再次测量时需重新加水,操作不便;③原仪器夹具置于密闭金属容器内,不能观察到测试过程中试件的变化情况,也难以了解测试过程中试件是否按预期变化;④原设计夹具的游离轻质试样固定环无固定装置,在试件强度较小时依靠夹具与试件间的摩擦力来达到夹持试件的目的,但强度较大时则易滑脱;⑤原仪器量程10 kPa偏小。因此有必要对仪器进行改进,提高其性能,并进行精确度与稳定性测试验证。

据此拟订以下改进方案。①将压力加载系统改为软件控制步进电机,驱动滚珠丝杠带动注射器活塞直接压缩空气进行压力加载,通过软件控制加载速度。②将原夹具的游离轻质试样固定环粘接至底面开孔与其内径一致的透明塑料箱体上,透明塑料箱体固定于可纵向移动的平台上,与原夹具固定部分形成可观察到试件的夹持系统,可纵向移动的平台具有限位装置,用于限定夹具活动部分与固定部分之间的间隙,从而调节夹持力量大小。③压力加载系统、压力变送器及夹持系统通过导管相连,且加装有可与外界相通的三通开关,在试件安放到夹具上后开闭1次开关,使系统初始压力为大气压,试件两面受到的压力相等,保证测试条件一致。④压力变送器采用定制北京昆仑海岸传感技术中心的JYB-G型、0~20 kPa、准确度±0.25%、输出信号为电压的压力液位变送器。⑤压力变送器更换后软件内参数作相应调整。改进后系统原理见图1。

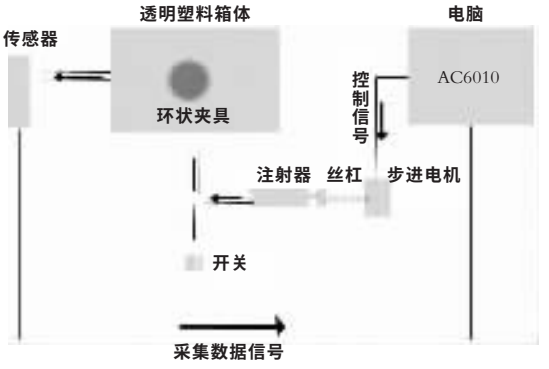


图1 系统改进后原理图

1.2 系统改进后准确度及稳定性测量

本仪器无现成标准品,因此利用理想气体方程$V_1 \times P_1 = V_2 \times P_2$的原理,压缩相同的体积获得相同的压强,以此制作标准品。实验中将密闭容器用导管与测量系统相连,从而形成一个容积固定的密闭系统,向容器内加满水后倒出,测量水的体积从而获得系统初始容积为184 ml,然后再分别向容器内注入50、100、120 ml体积不可压缩的水后剩余134、84、64 ml 3个大小初始容积,加上不加水时的184 ml共4个不同的初始容积,每次测量软件发出2 460个脉冲驱动步进电机使注射器移动相同的距离,使密闭系统内空气压缩相同的体积,产生仪器量程内4个高中低不同大小的压强标准品,每一压强标准品反复测量10个数据,经统计学分析得出仪器的精确度。以65 ml为初始容积,由软件发出2 460个脉冲驱动步进电机压缩10.5 ml后的容器内压作为标准品,在3 d内5个不同时间进行测量,每次测量5个数据,进行稳定性分析。

1.3 统计学分析

采用SPSS 16.0软件进行统计学分析,各组数据以$\bar{x} \pm s$表示,准确度以引用误差[12]表示。$\gamma = \Delta / X_N$,$\Delta = x - \bar{x}$,其中γ为引用误差,Δ为示值误差,x为示值,$\bar{x}$为均值,X_N为测量上限,各组数据间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 改进后装置

经改进后,整套装置体积小巧、结构紧凑;夹持系统夹持可靠,并且可针对不同厚度试样调整夹具间隙,以保证有效夹持但又不致夹破试样;测试过程中试样被夹持于透明箱体内,可实时观察测试过程中试样的变化情况及试样夹持是否可靠;测

试时只需将试样平放于载样台中央,转动手柄使载样台上升至预定位置,当试样被可靠夹持后,单击软件"开始测量"按钮便于自动完成测量,操作方便、快捷。

2.2 准确度

4个标准品测得数据计算出引用误差均极小,在-0.30%~+0.29%之间(表1),各压力段均能准确反映出材料的真实值。

表1 改进后系统准确度测量结果

初始容积(ml)	压强(Pa,$\bar{x}\pm s$)	引用误差
184	5 735±11	-0.08%
134	8 318±29	-0.30%
84	13 787±33	+0.29%
64	19 019±25	+0.29%

2.3 稳定性

同一初始容积由软件发出2 460个脉冲驱动步进电机将空气压缩10.5 ml后容器内压作为标准品,于3 d内不同时段(分别为第1天17:00、第1天21:00、第2天8:00、第3天9:00、第3天13:00)测得5组数据[分别为(18 723±16)、(18 705±5)、(18 720±23)、(18 731±15)、(18 733±20)],经统计学分析,5组数据之间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

力学性能的测量是生物力学研究的基础,只有准确测量出材料的真实力学性能才能进一步研究影响材料力学性能的因素。皮肤的生物力学特性包括粘弹性、张力、抗压力等。由于软组织的结构和功能的复杂性和特殊性,对软组织进行力学分析的边界条件和测试手段比工程力学更为复杂[13]。皮肤从工程学材料角度看,具有各向异性、非线性和黏弹性等性质[14],因此学者们提出了用不同的本构模型去描述这些性质。近来出现基于微结构的模型,该模型考虑了表示纤维性质的参数,并将其加入已知的本构方程中[15]。这些模型的优点在于模型的参数拥有生理学意义,如材料性质的变化可以直接归结于组织学的变化。模型都很容易应用于拟合由基础的体外试验得到的结果,如单向和双向拉伸试验,试验假设组织试样足够小,特性参数全部为常数,变形为均匀。

组织工程皮肤强度低、弹性差、厚度薄,常规的测量方法如铅印挤压测量、气动吸料测量、超声波测量都不适合。常用的单轴拉伸材料试验机是Instron材料试验机[16],该仪器原理是将待测材料两端固定在夹具上,一端夹具固定于精密拉力传感器上,另一端固定于具有精确位移传感器的拉伸装置上。拉伸前在软件中输入材料的宽度、厚度及夹具间距,由拉力传感器测量材料受到的最大负荷,位移传感器检测最大位移,据此软件计算出材料的最大应力、最大应变、杨氏模量、断裂负荷及断裂能量等参数。该仪器具有精度高、重复性好的特点,测量强度较大的材料时操作方便、反应灵敏、结果准确,但它是从一维角度出发来阐明皮肤的力学特性,就局部皮肤来讲受到周边及上下方向力的作用,完整地描述其生物力学特性理论上应是三维[13]。组织工程皮肤质地柔软,从培养基中取出后由于表面张力的作用很快卷曲在一起,要再铺展开安放到夹具上进行测量较费时费力,而且目前还未见将Instron材料试验机用来测量组织工程皮肤的报道。组织工程皮肤较天然皮肤强度要低很多,之前曾尝试采用20 mm×30 mm×1 mm规格的组织工程皮肤在Instron材料试验机上测得最大负荷约为0.1 N,但操作不便,且试样常从夹具夹持处断裂。在测试过程中很难确保材料从中部断裂从而尽可能反应出材料的真实力学特性,这是由于夹具夹持部位受夹持后强度较中部更低,且夹持时很难保证两个夹具完全平行从而使材料两侧受力一致而不被从一边撕裂。基于已有仪器存在上述不足,本实验室于2003年与重庆大学生物工程学院联合研制了高敏度小张力膜状材料张力测试机,采用环形夹具易于夹持试样,可以最大程度降低夹具对测试结果的影响,且采用三维拉伸的方式进行测量,充分反应材料的力学特性,该仪器克服了其他已有仪器的不足,成功地用于组织工程皮肤力学性能的研究[17],但在使用中也暴露出了前述的一些不足之处,为此进行了改进。

Ahlfors等[18]曾使用了类似的装置对成纤维细胞分泌的细胞外基质(extracellular matrix,ECM)力学性能进行了量化研究,相似的是他们使用磷酸盐缓冲液(PBS)液体加载,不同的是他们还使用了激光位移传感器测量材料厚度及加载压力后的材料位移从而可计算出极限抗张强度(ultimate tensile strength,UTS)、破坏应变(failure strain,FS)等指标。但也存在测量时加载压力至材料破裂后加载液体从破裂处流失,再次测量时需要重新加液致使操作费时费力的问题。以气体加载当材料破裂后容器内压力即为大气压,加载系统返回原点后不需要专门调零,容器内压即为系统零点——大气压,节省时间,操作方便。从仪器的构造可以看出影响仪器精度的主要是传感器的精度及数据采集卡的采样率,因此本仪器采用精度为±0.25%的高精度压力传感器,具有120 kHz、12位数模转换器的高速数据采集卡实时采集测量数据,使仪器保持了很高的精度。测试结果证实引用误差在-0.30%~+0.29%之

间,略大于压力传感器的±0.25%精度范围,这可能与滚珠丝杠精密度有关[19]。经不同日期的5个不同时段反复测量同一标准品所得数据经统计学分析无显著性差异,表明仪器具有良好的稳定性。仪器能否准确反应材料的力学特性除了受精度影响外,夹持系统也会对测量结果产生重要影响。传统的单轴拉伸夹持方式要保证夹持稳固,保证测试的边界一致就必须有一定的夹持力量,导致试样从夹具夹持部位断裂,不能反应材料的真实性能,在实际测量中人们常采用将试样中央部位修剪成哑铃形[20],以确保拉伸时从试样中央断裂,但实际操作中可能很难保证修剪后试样的一致性。而我们采用的环形夹具夹持膜状材料试样,不需要对试样进行任何处理,采用空气加压的方式加载,构成一种悬膜结构,一般地在悬膜结构几何中心处,膜所受拉力最大[21]。因此在测量中试样中部承受的应力最大,在夹具夹持稳固的同时能保证试样从夹具中央破裂,使测试结果不受夹具影响,实际应用中也证实了这一点。改进后初步测量了培养1~10 d的组织工程皮肤的强度在5~18 kPa左右,仪器能够灵敏地区分出不同培养天数组织工程皮肤强度,具有很好的灵敏度。

当然,改进后的仪器虽然有很好的灵敏度、精确度及稳定性,操作方便,外形小巧,测试时试件变化可视,加载效率高,但也有明显的局限性,即目前只能测量材料的最大强度,不能测量材料的厚度、应变、蠕变及杨氏模量等指标。但即使如此,只要边界条件相同(比如将环状夹具内径均设置为10 mm),不同实验室在不同时间测得的数据仍然有可比性,对同一实验室更是如此。因此该装置对于组织工程皮肤力学性能及其影响因素研究具有重要的实际意义,并且在条件许可时加装激光位移传感器,仪器的性能可得到进一步提升,可测量材料厚度、应变、蠕变及杨氏模量等指标。

参考文献:

[1] 伍津津, 朱堂友. 皮肤组织工程学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2009: 3-4.

[2] Cai Y, Sheetz M P. Force propagation across cells: mechanical coherence of dynamic cytoskeletons[J]. Curr Opin Cell Biol, 2009, 21(1): 47-50.

[3] Chen C S. Mechanotransduction—a field pulling together? [J]. J Cell Sci, 2008, 121(Pt 20): 3285-3292.

[4] Lim K H, Chew C M, Chen P C, *et al*. New extensometer to measure *in vivo* uniaxial mechanical properties of human skin [J]. J Biomech, 2008, 41(5): 931-936.

[5] Boyer G, Laquieze L, Le-Bot A, *et al*. Dynamic indentation on human skin *in vivo*: ageing effects[J]. Skin Res Technol, 2009, 15(1): 55-67.

[6] Scalari G, Eisinberg A, Menciassi A, *et al*. Micro instrumentation for non-invasive measurement of mechanical properties of tissues[C]. Microtechnologies in Medicine and Biology, 1st Annual International, Conference On. Lyon, 2000: 199-202.

[7] Ihn H, Shimozuma M, Fujimoto M, *et al*. Ultrasound measurement of skin thickness in systemic sclerosis[J]. Br J Rheumatol, 1995, 34(6): 535-538.

[8] Wilkes R, Zhao Y, Cunningham K, *et al*. 3D strain measurement in soft tissue: demonstration of a novel inverse finite element model algorithm on MicroCT images of a tissue phantom exposed to negative pressure wound therapy[J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2009, 2(3): 272-287.

[9] Hansbrough J F, Mozingo D W, Kealey G P, *et al*. Clinical trials of a biosynthetic temporary skin replacement, Dermagraft-Transitional Covering, compared with cryopreserved human cadaver skin for temporary coverage of excised burn wounds[J]. J Burn Care Rehabil, 1997, 18(1 Pt 1): 43-51.

[10] Langer A, Rogowski W. Systematic review of economic evaluations of human cell-derived wound care products for the treatment of venous leg and diabetic foot ulcers [J]. BMC Health Serv Res, 2009, 9: 115.

[11] 伍津津, 赵建华, 周凌. 高敏度小张力膜状生物材料力学检测装置: 中国, CN1789958[P]. 2006-06-21.

[12] 刘欣菊, 范振华, 何欣. 压力测量仪器准确度指标的表达[J]. 中国计量, 2008, (5): 95-96.

[13] 汤文成, 蔡传宝. 皮肤生物力学研究进展[J]. 东南大学学报: 自然科学版, 2006, 36(3): 493-498.

[14] 冯元桢. 生物力学[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 160-164.

[15] Lokshin O, Lanir Y. Micro and macro rheology of planar tissues[J]. Biomaterials, 2009, 30(17): 3118-3127.

[16] 赵永生, 滕学仁, 胡光亮, 等. 同种异体腱移植重建膝关节交叉韧带的研究[J]. 实用骨科杂志, 2008, 14(5): 278-282.

[17] 周凌, 伍津津, 杨亚东, 等. 组织工程真皮抗张强度的初步研究[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(6): 521-522.

[18] Ahlfors J E, Billiar K L. Biomechanical and biochemical characteristics of a human fibroblast-produced and remodeled matrix [J]. Biomaterials, 2007, 28(13): 2183-2191.

[19] Xia J Y, Hu Y M, Wu B, *et al*. Research on thermal dynamics characteristics and modeling approach of ball screw [J]. Int J Adv Manuf Technol, 2009, 43(5-6): 421-430.

[20] 张正文, 翟弘峰, 康深松, 等. 扩张皮肤移植后的生物力学变化[J]. 中国美容医学, 2006, 15(3): 267-269.

[21] 汤顺波, 贾乃文. 悬膜结构塑性失稳破坏计算[J]. 空间结构, 2001, 7(4): 24-29.

(**收稿**:2009-12-14;**修回**:2010-01-20)

(编辑 王 红)