

使用超声研究关节软骨的深度 依赖瞬态膨胀行为*

施俊^{1†} 胡跃辉¹ 周康源¹ 郑永平²

(1 中国科学技术大学电子工程与信息科学系 合肥 230027)

(2 香港理工大学赛马会康复工程中心 香港)

摘要 关节软骨是覆盖关节表面的一层承载生物重量的组织, 关节软骨在正常状态下, 软骨蛋白多糖的弹性和胶原纤维的张力保持平衡。这种平衡的微小变化会引起关节软骨的退化。量化关节软骨, 特别是在表层区域的膨胀影响, 可以表征骨关节炎的退化变化。本文的主要目的是使用一种新的实时超声膨胀测量系统来研究在改变浸泡关节软骨的盐水浓度, 以及改用胰岛素溶液时的关节软骨的深度依赖瞬态膨胀行为。

关键词 关节软骨, 深度依赖瞬态膨胀行为, 超声, 胰岛素

Study of the transient and depth-dependent swelling behavior of articular cartilage by ultrasound

SHI Jun¹ HU Yao-Hui¹ ZHOU Kang-Yuan¹ ZHENG Yong-Ping²

(1 Department of Electronic Engineering and Information Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230027)

(2 Jockey Club Rehabilitation Engineering Centre, Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong)

Abstract Articular cartilage (AC) is a biological weight-bearing tissue covering the bone ends of articulating joints. In normal condition the proteoglycan elasticity keeps balance with the collagen tension in articular cartilage. Subtle changes of this balance may lead to the degeneration of AC. These swelling effects in AC, particularly at the superficial zone, can be used to characterize degenerative changes associated with osteoarthritis. The main object of this paper is to use a new real time ultrasound swelling measurement system to investigate the transient and depth-dependent swelling behavior

2003-10-31 收稿; 2004-11-15 定稿

*Research Grant Council of Hong Kong (PolyU5199/02E) 资助项目

作者简介: 施俊 (1977-), 男 (汉族), 江苏人, 中国科学技术大学电子工程和信息科学系博士生, 主要从事有关超声信号处理方向的研究。

胡跃辉 (1970-), 男, 讲师, 博士。周康源 (1941-), 男, 教授, 博士生导师。郑永平 (1966-), 男, 助理教授。

† 通讯联系人 Email: junshi@mail.ustc.edu.cn

of bovine patellar AC induced by changing the concentration of bathing saline solution and using trypsin.

Key words Articular cartilage (AC), Transient and depth-dependent swelling behavior, Ultrasound, Trypsin

1 引言

关节软骨为覆盖关节表面的一层光亮结缔组织, 其功能为传导及分布载荷, 维持和承受接触应力^[1]。软骨细胞和细胞外基质是关节软骨主要组成成分, 而带负电荷的蛋白多糖和胶原纤维是细胞外基质的重要组成部分。正常的关节软骨处于一种平衡状态, 软骨蛋白多糖聚合体和水接合后在软骨间隙内形成的膨胀液压和胶原纤维的张力相互作用维持了这种平衡。这个平衡在关节软骨的生物力学行为方面具有重要的作用, 它的微小变化就有可能引起关节软骨的退化。有研究人员提出, 量化关节软骨, 特别是在表层区域的膨胀影响, 可以表征骨关节炎的退化变化^[2]。

关节软骨的膨胀属性可以用机械的张力和压力特性或者电机械特性来描述。在使用光学的方法研究整个关节软骨切片的平衡膨胀行为^[3,4]之前, 传统的对深度依赖膨胀行为的研究是通过把关节软骨切片切成不同的层, 然后每一层分别实验^[5]。而光学的方法是把整个关节软骨的切面浸泡在不同浓度的盐水中, 并用光学显微镜成像的方法作记录。无论是传统的方法还是光学方法, 使用的样品必定是有损的, 这使得关节软骨难以维持它的完整性, 所以难以研究关节软骨的瞬态膨胀行为, 这对于体内实验显然是很不适合的。

由于超声波具有穿透性, 可以无损的探测生物体内部的结构, 近年来使用超声来研究关节软骨已经成为一个热门课题。这些研究方向包括利用超声脉冲回波来估计关节软骨在骨关节炎实验时的渐变, 监视关节软骨在酶消化时的超声参数, 测量关节软骨在正常状态和骨关节炎状态下的厚度、速度、衰减、反射和散射系数等参数, 以及测量关节软骨在受压时的非

均匀机械特性等。其中加压实验包括测量受压时的应变^[6]和利用弹性图像^[7]来显示应变, 但是上述这些研究实验大部分是在静态方式下进行的, 而且由于技术的限制, 关节软骨的深度依赖瞬态膨胀行为还没有被测量过。

本文将基于一个新的实时超声膨胀测量系统测量得到的关节软骨信号来研究关节软骨的深度依赖瞬态膨胀行为。

2 实验方法

图 1 是自行开发用来测量关节软骨的深度依赖瞬态膨胀行为的实时超声测量系统的原理图。这个系统包括一个 50MHz 聚焦超声传感器, 一个超声脉冲发射接收器, 一块装在计算机内的分辨率为 8bit 的 500MHz 采集卡, 以及自行开发的信号采集和处理软件。

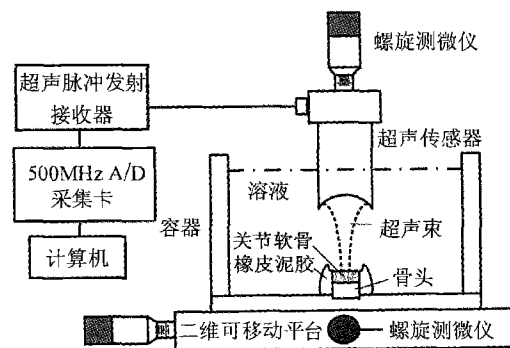


图 1 实时超声膨胀测量系统原理图

2.1 实验 1

试验开始时, 首先把准备好的关节软骨样品从 -20°C 的冰箱中取出, 固定在容器的底部, 然后倒入 0.15M 的盐水溶液以融化它。该样品为直径 6.35mm 的圆柱形新鲜牛膝盖关节软骨, 软骨还连接着大约 3mm 厚的骨头。固

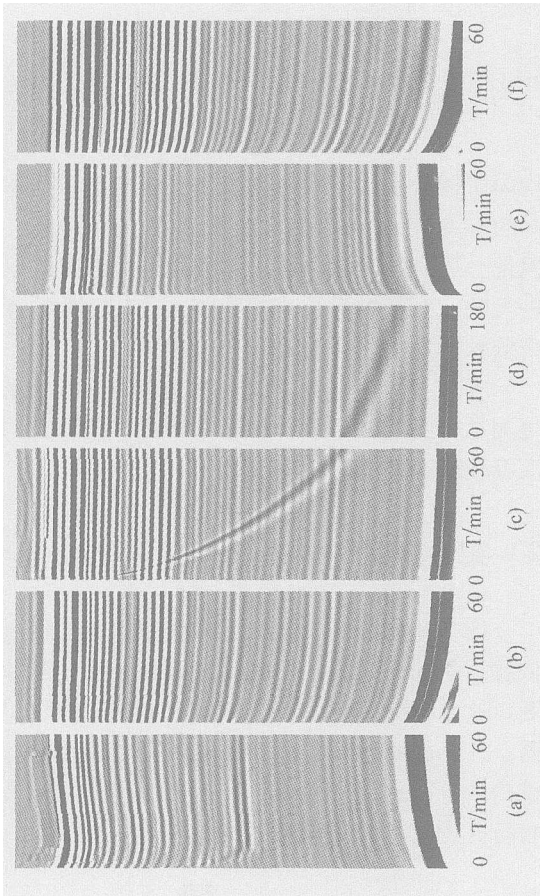


图 2 实验 1 结果, 当关节软骨在 0.15M 的盐水中浸泡 3 个小时以后, 从图 (a) 到图 (f) 分别为浸泡在 2M 盐水、0.15M 盐水、胰岛素溶液、0.15M 盐水、2M 盐水、0.15M 盐水过程中的关节软骨的 M 型超声图像。其中每一幅图的左边起始白色线条为软骨表面, 右边白色粗线条为软骨和骨头的接触面

定时软骨表面向上与溶液接触, 而底部用橡皮泥胶和周围粘住固定, 以模拟在体内的情况。接着调整 3 个方向的螺旋测微仪使得超声传感器处在关节软骨样品中心的上方, 超声束的焦点位于软骨层内。整个实验过程中, 关节软骨样品始终处于室温下 ($19.5 \pm 1^\circ\text{C}$)。当软骨样品在 0.15M 的盐水中浸泡了 3 小时以后, 用 2M 的盐水在 30 秒内取代 0.15M 的盐水, 然后使软骨样品在 2M 的盐水中浸泡 1 小时。在

这个浸泡过程中, 对于从关节软骨表面、软骨和骨头接触面反射的超声信号, 以及软骨内部散射的超声回波信号以 10 秒为采样周期连续记录下来。采集到的超声信号还以 M 模式的超声图像显示出来用以表示瞬态信息。从这个实时信号的 M 型超声图像中可以分析关节软骨由于所浸泡的溶液浓度的变化而引起的瞬态和深度依赖特性。当软骨样品在 2M 的盐水中浸泡了 1 小时以后, 接着依次用 0.15M 的盐水, 1mg/ml 的胰岛素, 0.15M 的盐水, 2M 的盐水, 0.15M 的盐水来浸泡软骨样品, 每个阶段的浸泡时间可以从图 2(a) 到图 2(f) 中看到。为了提高试验的可靠性, 共有 5 个软骨样品 (样品 1~5) 被用来重复上述整个过程。

2.2 实验 2

在进行实验 1 以后, 为了确认关节软骨在使用胰岛素消化前和消化后的膨胀行为的变化不是由于样品在长时间的实验过程中其它因素变化引起的, 又使用一块软骨样品 (样品 6) 重复实验 1 所述整个过程, 但是用 0.15M 的盐水来取代原来的胰岛素溶液。其结果如图 3 所示。

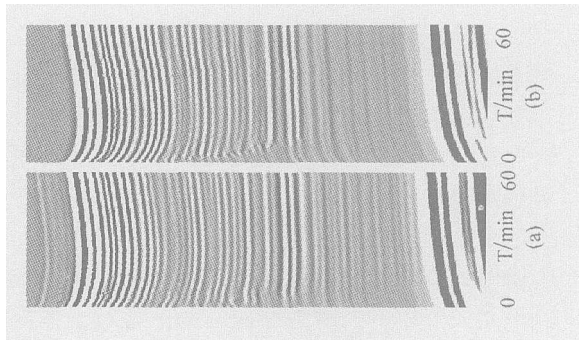


图 3 实验 2 结果, 图 (a) 为最初时的从 0.15M 的盐水变到 2M 的盐水以后, 浸泡在 2M 的盐水中的关节软骨的 M 型超声图像, 图 (b) 则是 10 个小时以后从 0.15M 的盐水变到 2M 的盐水, 浸泡在 2M 的盐水过程中的关节软骨的 M 型超声图像

2.3 实验 3

为了进一步确认关节软骨在使用胰岛素消

化以后所引起膨胀行为的变化, 在实验 3 中, 分两步进行确认实验。第一天按照实验一的方法步骤, 在用胰岛素浸泡以后, 依次用 0.15M 的盐水, 2M 的盐水, 0.15M 的盐水来浸泡软骨样品, 然后实验暂时结束, 把样品放回 -20°C 的冰箱中。然后第二天再把该样品从冰箱中取出, 先在 0.15M 的盐水中浸泡 3 小时, 然后用 2M 的盐水在 30 秒内取代 0.15M 的盐水浸泡 1 小时, 最后再用 0.15M 的盐水替换 2M 的盐水。

3 实验结果及讨论

图 2 到图 4 的各幅图显示了 3 个实验的结果, 每幅图从左致右依次是软骨表面、软骨内部、软骨与骨头接触面的回波信号。

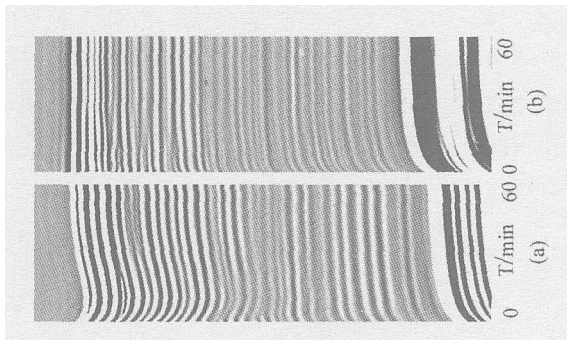


图 4 实验 3 结果, 图 (a) 为胰岛素消化过的样品隔天从 0.15M 的盐水变到 2M 的盐水以后, 浸泡在 2M 的盐水过程中的关节软骨的 M 型超声图像, 图 (b) 为接着图 (a) 继续从 2M 的盐水变到 0.15M 的盐水以后, 浸泡在 0.15M 的盐水过程中的关节软骨的 M 型超声图像

图 2(a) 到图 2(f) 显示了实验 1 的结果, 由下至上按时间顺序排列的 M 型超声图像表示了一个关节软骨样品中采集到的各个浸泡过程的超声信号。当把 0.15M 的盐水变成 2M 的盐水以后, 可以观察到正常关节软骨的表面部分先逐渐向内收缩, 然后大概在一个小时以内再渐渐恢复到它最初的位置 (图 2(a))。对

于其它几个测试的样品, 这个现象也能同样观测到。而从关节软骨和骨头的接触面反射回来的回波信号的位置在逐渐地向软骨表面偏移, 这表明了软骨内的超声速度在逐渐地变化, 这是由于 2M 的盐水逐渐从软骨表面渗透进入了软骨内部。由于连接软骨的骨头被固定在容器的底部, 所以软骨和骨头的接触面是不会移动的, 从而可以发现关节软骨的厚度首先减小, 然后再慢慢恢复到差不多原来的厚度。图 2(b) 显示的是盐水从 2M 变成 0.15M 以后的软骨变化过程。从图中可以发现软骨表面的位移很小, 但是软骨和骨头的接触面的反射回波移动很多, 这还是由于 0.15M 的盐水慢慢渗透进入软骨内部而引起的。这个现象表明由于改变盐溶液浓度从 0.15M 到 2M, 再从 2M 回到 0.15M, 从而引起的膨胀过程是不可逆的。如图 2(a) 所示, 在这个过程开始的部分, 通过对图中超声信号的扰动的追踪, 可以估计 2M 浓度的盐溶液的渗透情况。利用在关节软骨中超声信号的速度改变以及超声信号的扰动, 还可以估计盐溶液在不同深度中的渗透情况。关节软骨在不同深度的位移可以通过追踪水平踪迹来估计。需要注意的是超声速度在关节软骨不同深度的瞬态变化也有可能使超声信号在时间尺度上发生移动。

图 2(c) 显示的是从胰岛素渗透到软骨内部过程中采集的超声信号, 这个过程持续了 6 个小时。从图中可以很清楚的看到一条表示胰岛素渗透过程的弧形曲线, 这是由一个从关节软骨内部已经被胰岛素渗透的组织和没有被渗透的组织的交界面反射的回波信号产生的。从图中右边部分软骨和骨头的接触面可以发现反射的回波只有很小的位移, 这表明胰岛素渗透进入软骨内部以后所引起的超声速度的改变很小。当软骨在胰岛素中浸泡了 6 个小时以后, 用 0.15M 的盐水取代胰岛素继续浸泡软骨样品 3 个小时。在这 3 个小时中, 软骨内残余的胰岛素继续消化软骨组织。

在 0.15M 的盐水中浸泡了 3 个小时以后,

重复 0.15M 到 2M, 2M 再回到 0.15M 的过程, 可以发现关节软骨的表面不再有位移, 而软骨底部是固定不动的, 只有软骨和骨头接触面的回波位置变化, 表明不同浓度溶液中盐水渗透而引起的超声速度变化。

在实验 2 中, 胰岛素溶液被 0.15M 的盐水所取代, 图 3(a) 显示的是整个过程最初时的从 0.15M 的盐水变到 2M 的盐水以后软骨的膨胀过程, 而图 3(b) 则是大概 10 个小时以后从 0.15M 的盐水变到 2M 的盐水以后软骨的膨胀过程。由下至上按时间顺序整体观察可以发现这两幅图是很相似的, 这就证实了实验 1 中胰岛素使用前和使用后的膨胀行为不是因为其它因素的影响而造成的。

在实验 3 中, 经过胰岛素消化过的样品, 虽然隔了一天再取出来做实验, 但是从图 4(a) 和图 4(b) 中就可以发现, 结果和实验 1 胰岛素消化以后的样品显示的 M 型超声图的结果是一样的。由此可以证实了实验 1 中由胰岛素而引起的膨胀行为不是因为其它因素的影响而造成的。

在实验中我们发现, 当盐溶液浓度由 0.15M 变到 2M 以后, 软骨组织首先收缩, 然后大概 10 分钟以后就开始膨胀, 大概 40 到 100 分钟以后就差不多可以恢复到最初的位置。这个现象在所有的测试样品中都出现了, 而且, 有一个样品在 0.15M 的盐水变为 2M 以后测试了 4 个小时, 软骨表面并没有发现进一步的变化。在实验中还发现, 当用胰岛素模拟自然的退化过程消化蛋白多糖以后, 关节软骨的瞬态膨胀行为发生了很大的变化。由于本技术的高灵敏度, 结合关节内窥镜检查, 它可以潜在使用于体内关节软骨退化的早期诊断。

相对与低浓度的盐溶液, 在高浓度的盐溶液中, 超声速度要快一点。当盐溶液的浓度发

生变化的时候, 通过观察超声信号的扰动, 并从超声在 AC 界面上的回波信号的移动中测出超声速度的改变, 就能够可靠的监视 NaCl 渗透的瞬态变化。盐溶液的渗透率和关节软骨的渗透性有关, 这项技术可以提供一个无损的方法来测量不同大小的分子在关节软骨的不同深度的渗透性, 以便更好的理解关节软骨中的液体运动情况以及营养和药物的传输情况。

4 结论

本文介绍了一种新的超声测量技术来研究关节软骨由于改变浸泡溶液浓度而引起的深度依赖瞬态膨胀行为。动物或者人的关节软骨在化学、电化学、力学和其它模拟类型下的不同深度的动态过程也可以通过这种方法来实时研究。把关节软骨膨胀特性和压缩特性结合起来有助于验证当前关节软骨的生物力学模型, 对于建立更新的模型也是有帮助的。同时, 这项技术结合关节内窥镜检查, 具有潜在的早期诊断体内关节退化的价值。

参 考 文 献

- 1 郭世斌. 骨与关节损伤杂志, 1995, 10(1): 61~64.
- 2 Maroudas A. *Nature*, 1976, 260(5554): 808~809.
- 3 Setton L A, Tohyama H, Mow V C. *Journal of Biomechanical Engineering*, 1998, 120(3): 355~361.
- 4 Narmoneva D A, Wang J Y, Setton L A. *Biophysical Journal*, 2001, 81(6): 3066~3076.
- 5 Guilak F, Ratcliffe A, Lane N et al. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*, 1994, 12(4): 474~484.
- 6 Zheng Y P, Mak A F T, Lau K P et al. *Physics in Medicine and Biology*, 2002, 47(17): 3165~3180.
- 7 Ophir J, Alam S K, Garra B S et al. *Journal of Engineering in Medicine*, 1999, 213(3): 203~233.