# 國立臺灣大學醫學院暨工學院醫學工程學研究所

碩士論文

Institute of Biomedical Engineering College of Medicine and Engineering National Taiwan University Master Thesis

疲勞負載與休息對椎間盤流變性質的影響

Effect of Fatigue and Rest on the Rheological Properties

of Intact Intervertebral Disc

林子誠

Tzu-Cheng Lin

指導教授:王兆麟 博士

Advisor: Jaw-Lin Wang, Ph.D.

中華民國 97 年 7 月

July, 2008

# 國立臺灣大學碩士學位論文

# 口試委員會審定書

# 疲勞負載與休息對椎間盤流變性質的影響 Effects of Fatigue and Rest on the Rheological Properties of Intact Intervertebral Disc

本論文係林子誠君(R95548008)在國立臺灣大學醫學工 程學研究所完成之碩士學位論文,於民國 97 年 07 月 09 日承 下列考試委員審查通過及口試及格,特此證明



#### 誌謝

一轉眼,就在台北待了六年,在這間實驗也待至少兩年了。一下子要離開這 熟悉的城市及實驗室,還真的有點捨不得。一路上得到許多人的幫助,首先要感 謝指導教授王兆麟老師,從大三就上過您的課,再加上兩年的研究生涯,您那獨 特的教學方式讓我學到許多研究的方法以及處事的態度。茶餘飯後也會與我們討 論時事話題及比較輕鬆休閒的談話,讓我認識到非學術研究方面的老師,相信這 對我往後不論是工作、各種生活態度及與人相處上有很大的幫助。

另外,我也要感謝實驗室另一位大家長楊博,雖然我們接觸的時間不多,但 每次meeting時,您那針針見血、鉅細靡遺的評論,讓我學得做研究應有的態度及 程度。跟老師一起配合指導下,使我的抗壓性增加不少。接下來要感謝四位口試 委員的批評與指教,感謝您們針對我所研究的主題作更多方面的評論及註解,才 使得這份論文能更加完整。趙振綱教授,感謝您從大學的專題就開始教導我生物 力學及工程數學上的觀念與知識,也是開啟我往這神聖領域的大門;莊仕勇醫師 給予許多臨床上的意見,也明確地提供我相關研究的文獻;蘇芳慶教授也提供我 從實驗的結果與實際生理狀況的作思考連結,讓我更清楚實驗的精神與目的;林 晉醫師針對統計上的建議及精闢見解,讓我知道實驗後的數據分析仍有很大的改 善空間。

對於603 實驗室的伙伴們,我也有話要對你們說,奇林學長,你那似冷非冷 的笑話,讓我對你超強程式能力及精密機械的創造能力實在是連不起來; 俊凱學 長的帥氣瀟灑風格,也讓我無法將你幽默風趣及超強影像分析能力的一面聯想起 來;雅雯學姊,如果一份碩論有兩個學位,另一個一定是妳的,感謝妳大力的指 導及生活上的幫忙;于鈞學長,你提供了實驗室新的影像研究方法,也讓我了解 要有力氣作研究,一定要有充足的點心才行。接下來是我「同梯」的好伙伴們, 愛莉、思顯、歐任、朝何,希望你們都能在未來的日子繼續為自己的目標前進, 能與你們一起修課、一起被指責、共同完成研究專題、一起畢業,是這兩年最完 整及最高興的回憶時刻。升碩二的學弟,阿富、小頭、淞閱、阿泰、勝元,感謝 你們這一年對我的各項幫忙及協助,與你們互相學習、互相討論的過程中我也學 得了許多實驗室從未有的新知及方法,也期待未來的日子裡你們可以帶領實驗室 提升至無懈可擊的境界。新進的學弟,檸檬、禮強及瑞安,你們接下來的日子一 定會多采多姿,也會認識到許多實驗室的秘辛及體驗研究中的喜怒哀樂,相信你 們一定可以比我們更好更有收穫。

最後,感謝所有幫助過我的人,已畢業的學長姊們、大學的死黨、女朋友、「業 界」的朋友等,你們對我各方面的支持及贊助,絕對是我研究生涯裡不可缺少的 元素。

還有阿嬤、老爸、老媽、老哥,我畢業嚕!未來家裡的日子一定會更好~

林子誠 Tzu-Cheng Lin

中華民國九十五年七月二十二日星期二 於台大醫工所

### 中文摘要

目的:探討疲勞負載次數與休息對椎間盤流變性質的影響。

背景:疲勞負載是引發下背痛的主要因子之一,並且影響椎間盤水分的含量及黏 彈性行為的表現。文獻上指出,長期的疲勞負載會造成椎間盤力學性質改變,推 測是椎間盤微結構破壞而改變椎間盤水分進出情形。然而,實際機制仍有待詳盡 地探討,因此探討疲勞負載與休息對椎間盤流變性質的影響,有助於了解因疲勞 負載所引起的脊椎病變機制。

材料與方法:使用六個月大的豬隻腰椎運動單元作為試樣(L1-L2,L3-L4,共十 副),每副試樣在疲勞負載前先經過一次潛變測試,於食鹽水中休息24小時後, 依序進行「疲勞負載-休息-潛變測試-休息」的實驗流程,五次循環後即完成一組 實驗。潛變測試時間為1小時,負載力量為420N;疲勞負載的大小為190至590N (平均為420N),頻率為5Hz。五次疲勞負載時間依序為0.5、1、2、3、4小時(次 數:9,000、18,000、36,000、54,000、72,000 次);休息時,將試樣浸泡於生理食 鹽水溶液中24小時。以線性位移計量測計錄試樣於潛變測試中的高度改變,擷取 頻率為2Hz,並使用雙相(固液相)線性模型對椎間盤於潛變期間的高度變化量進 行聚合模數(H<sub>A</sub>,類似材料之楊氏係數)、滲透性(k)的擬合。實驗結束後,將椎間 盤沿著中央冠狀面及矢狀面切半觀察內部結構改變。

結果:椎間盤高度在承受 0.5 小時(9000 次)的疲勞負載後所下降的高度並無法藉 由浸泡 24 小時食鹽水溶液完全回復,且隨著疲勞負載時間的增加,無法回復的高 度量愈多。椎間盤在承受 10.5 小時的疲勞負載後,聚合模數並無顯著性的改變, 滲透性則會隨著疲勞負載時間增加而明顯地下降,直到疲勞負載時間達到 3 小時 以上才不再降低。實驗後從椎間盤的橫剖面可發現靠近椎間核內側的椎間環有明 顯的扭曲變形現象,有些甚致產生斷裂。

結論:椎間盤因為疲勞負載所流失的水分無法藉由浸泡生理24小時食鹽水的過程 中完全回復。隨著疲勞負載時間的增加,椎間盤的滲透性會明顯地下降,聚合模

iii

數則無顯著性改變。椎間盤受到 10.5 小時的疲勞負載後,內側椎間環產生扭曲或 斷裂,但外側椎間環並沒有出現肉眼可觀察到的損傷。

【關鍵詞】 椎間盤、疲勞負載、潛變測試、滲透性、聚合模數



### Abstract

**Objective:** To evaluate the effect of the duration of fatigue loading and the rest on the rheological properties of healthy porcine intervertebral disc.

**Summary of Background Data:** Fatigue loading can induce the low back pain by altering the water content and viscoelastic behaviors of the intervertebral disc. Long term fatigue loading was suspected to result in changes of material properties due to the irreversible failure. However, the mechanical properties of disc fluid flow (i.e., the rheology) within the disc have not been fully discussed yet. The understanding of effect of fatigue loading and rest on the disc rheological properties can be beneficial to delineate the mechanism of fatigue loading induced spinal disorders.

**Methods:** Ten porcine lumbar motion segments (L1-L2 · L3-L4) without posterior elements were applied with fatigue loading (190~590N) at 5 Hz for 0.5, 1, 2, 3, and 4 hours (9,000, 18,000, 36,000, 54,000, 72,000 cycles), respectively. A creep test using 420 N was applied after a 24 hours saline immersion post fatigue loading. The axial deformation during creep phase was curve-fitted with linear biphasic model to obtain the aggregate modulus (H<sub>A</sub>) and permeability coefficient (k). After the fatigue loading, the disc was sectioned along sagittal and coronal plane to find the structure changes of anulus fibrosus and nucleus pulposus. The paired-t test was performed to evaluate the change of disc height, H<sub>A</sub>, and k after a series of fatigue loading and 24 hours rest.

**Results:** The height of intervertebral disc was not recovered by a 24 hours rest after fatigue loading. The permeability decreased significantly with the duration of fatigue loading, while the aggregate modulus remained the same. The ruptured inner fibrosus were found after fatigue loading.

**Conclusion:** A 24 hours rest is not able to fully restore the fluid loss during fatigue loading. The increase of duration of the fatigue loading reduces the disc permeability and damages the structure of inner anular fibrosus.

[keywords] disc fatigue creep test permeability aggregate modulus



## 目錄

論文口言	武委員審定書i
誌謝	ii
中文摘	要 iii
英文摘	要v
第一章	前言1
1-1	脊椎的基本構造1
1-2	脊椎盤的基本構造及功能1
1-3	椎間盤水分對其生物力學影響之分析
1-4	椎間盤之潛變生物力學測試5
1-5	疲勞負載與休息對椎間盤性能影響6
1-6	實驗目的與假設
第二章	實驗設備11
2-1	連續式衝擊測試平台(Continuous Impact Testing Apparatus)11
2-2	衝擊錘(Impactor)
2-3	撞擊承受器(Impounder)12
2-4	往復式衝擊模組(Cyclic Loading)13
2-5	線性位移計(Linear variable differential transformer)14
2-6	一維測力元(1-D Load Cell )14
2-7	訊號量測及控制系統15
第三章	材料與方法18
3-1	試樣準備18
3-2	實驗方法19
	3-2-1 實驗流程19
	3-2-2 載荷狀況

3-3	數學模型及統計分析	21
第四章	結果	24
4-1	椎間盤高度變化及參數定義	24
4-2	椎間盤初始高度(H <sub>0</sub> )與疲勞負載後之高度(H <sub>1</sub> )	26
4-3	預壓負載下降高度(h <sub>pre</sub> )	26
4-4	瞬時負載下降高度(hins)及瞬時剛性係數(Sins)	27
4-5	潛變測試下高度下降(h <sub>creep</sub> )及其應變(strain)	29
4-6	聚合模數(Aggregate Modulus, H <sub>A</sub> )與滲透係數(Permeability, k)	31
4-7	椎間盤切面觀察	32
第五章	討論	34
5-1	椎間盤內含水量之討論	34
5-2	潛變測試之材料參數討論	35
5-3	疲勞負載對椎間環破壞	36
5-4	實驗限制	37
第六章	結論與未來展望	39
6-1	結論	39
6-2	未來展望	39
文獻參	考	40

啚	1-1	脊椎構造圖
置	1-2	腰椎椎骨解剖圖2
啚	1-3	(A) 椎間盤結構與(B) 受力情形及纖維環排列3
圖	1-4	椎間環受傷種類5
圖	1- 5	後側椎間環於(a)健康情況與(b)疲勞負載後7
圖	2-1	連續式衝擊測試平台(CITA)11
圖	2-2	撞擊承受器(Impounder)13
圖	2-3	往復式衝擊模組(Cyclic Loading)14
圖	2-4	訊號量測及控制系統16
圖	2-5	鑽石切割機
圖	2-6	數位攝影平台17
圖	3- 1	實驗流程圖
圖	3-2	試樣負載曲線圖
圖	3- 3	試樣承受預壓負載
圖	3- 4	椎間盤受壓模型
圖	4- 1	椎間盤高度變化參數24
圖	4- 2	椎間盤於不同疲勞負載時間之潛變位移曲線
圖	4- 3	椎間盤經過疲勞負載與休息後之高度
圖	4-4	椎間盤承受預負載下降高度
圖	4- 5	椎間盤瞬時負載高度下降量
圖	4- 6	椎間盤瞬時剛性係數28
圖	4- 7	潛變測試之椎間盤高度下降量
圖	4- 8	潛變測試之椎間盤應變
圖	4- 9	潛變測試之椎間盤剛性

# 圖目錄

啚	4-	10	線性擬合曲線	31
圖	4-	11	椎間盤之聚合模數(H <sub>A</sub> )	31
圖	4-	12	椎間盤之滲透性(k)	32
啚	4-	13	健康與疲勞負載後之椎間盤矢狀切面及冠狀切面	33
啚	5-	1 {	建康椎間環排列情形(a)與受壓應變為 20%之椎間環(b~d)	37



# 表目錄

	疲勞負載對椎間盤產生的破壞	表 1-1
計	負載與休息對椎間盤性質的影響文獻統計	表 1-2
	椎間盤之形態參數量測	表 3-1
	椎間盤變形標示說明	表 4-1



### 第一章 前言

### 1-1 脊椎的基本構造

人類的脊椎為一長條狀的骨骼組織,從頭骨(Skull)延伸至骨盆(Pelvis),共由 三十三個脊椎骨及二十三個椎間盤連結而成。如圖 1-1,脊椎由上而下可分為頸 椎(Cervical spine)七節、胸椎(Thoracic spine)十二節、腰椎(Lumbar spine)五節、薦 椎(Sacral spine)五節及尾椎(Coccygeal spine)四節,其中頸、胸、腰椎的椎骨與椎 骨之間各有一個椎間盤作為連結。脊椎的周圍附有肌肉、韌帶等軟組織連結包覆。 脊椎功能以支撐身體重量、提供適當的活動度、保護脊髓(Spinal Cord)與神經根 (Nerve Root)為主。

在頸、胸、腰椎骨中,雖然扮演的角色不同(頸椎提供較大的活動度,胸、腰 承可受較大的重量),但其椎骨構造大致上相同,包含:椎體(Vertebral body)、椎 間孔(Vertebral foramen)、椎弓根(Pedicle)、棘突(Spinous process)、一對橫突 (Transverse process)、一對上關節突(Superior articular process)、一對下關節突 (Snferior articular process),如圖 1-2 所示。由於各部位的交錯組合,使脊椎形成 一微妙多重排列的原始曲度(Primary curve, Kyphosis),能夠提供身體作三維有限 的屈曲(Flexion)、伸展(Extension)、側彎(Lateral bending)及扭轉(Rotation)四種主要 運動模式。

### 1-2 脊椎盤的基本構造及功能

脊椎本體能夠提供有限的活動度及承載重量,作為兩鄰近節椎骨之間連結的 椎間盤(Intervertebral disc)在其中扮演一項相當重要的角色。所有椎間盤的高度約 佔椎骨總高度的四分之一,主要由纖維軟骨所組成一項具有黏彈性質之緩衝結 構。椎間盤內部含有大量的水分(水分約佔椎間核及椎間環各 80%及 70%<sup>1,33</sup>),可 以承受由鄰近節椎骨傳遞的軸向壓力並提供脊椎作有限的活動。如圖 1-3(A),椎 間盤結構上可分為外圍環狀的椎間環(Anulus fibrosus)及內部似球狀的椎間核 (Nucleus pulposus)兩大部份及位於鄰近椎骨硬骨(Subchondral bone)與椎間盤之間 的椎終板(Endplate)。椎間環與椎間核大部份由膠原纖維(Collagen)及蛋白質多醣 (Proteoglycans,形成關節軟骨)所組成。如圖 1-3(B)所示,椎間環之膠原纖維交錯 組合形成與椎骨約 30° 夾角的二十層同心圓結構,約四十層的軸向排列;椎間核 則像半流質灰白色膠狀黏液組織,極具有韌性與彈性;椎終板則是椎間盤養份交 换的主要管道,利用渗透及擴散方式將養份運至椎間核內,並將代謝廢物送至椎 間核外。當椎間盤承受軸向壓力時,椎間核承受高靜水壓,椎間環則緊密包覆椎 間核而同時承受徑向及環向之拉應力 1,5。



圖 1-1 脊椎構造圖 44



圖 1-2 腰椎椎骨解剖圖



圖 1-3 (A)椎間盤結構與(B)受力情形及纖維環排列<sup>1,40</sup>

### 1-3 椎間盤水分對其生物力學影響之分析

當椎間盤受到外力時,由於內部液體的流動情形會隨著時間(time-dependent) 改變與椎間環本身的黏彈性質,使椎間盤產生複雜的力學反應行為。舉例來說, 健康的椎間盤作動方式像是一張「水床」,當椎間盤受到軸向外力時,內部的液體 會在椎間核及內側的椎間環交互流動或經由椎終板流出,此液體的交互流動及重 新分配現象可以將軸向壓力平均分配至整個椎間盤並緩衝能量,所以椎間盤之彈 性材料參數測試也會因為負載大小有不同的反應,文獻上整理出人體腰椎椎間盤 受到壓縮之楊氏係數(Young's Modulus)由 3~31MPa 不等<sup>18</sup>,因此,椎間盤內的水 分流動及含量是決定其生物力學表現的重要主因。但隨著年齡的增長,椎間盤(尤 其是在椎間核內)的水分會有所流失,外圍的椎間環會變成較乾硬的膠原纖維且失 去抵抗外來力量的能力,會造成椎間環受力不平均及椎間核內的高靜水壓降低, 而使椎間盤產生破壞<sup>6</sup>。以生物力學角度而言,文獻上指出原本富含水分的椎間 盤約在年紀 30~40歲時會產生衰退,椎間核內的壓力下降約 30%,椎間盤水分流 失約 15~20%,椎間環抗拉強度及彈性減弱,容易被擠壓而有向外脫出的現象<sup>3,4</sup>。 降,椎間盤高度降底,椎間盤水分的流失多寡與其高度的變化有成正比例的關係 <sup>35,37</sup>。一般來說,成人在晚上睡覺時的身高約比早上起床矮約1%,老人約0.5%、 小孩約2%,主要原因就是人體經過一天的勞動後,腰椎椎間盤內的水分流失(水 分流失約佔椎間盤內總液體量的40%<sup>11</sup>)。研究也指出,人體在白天16小時生理 活動情況下所造成的水分流失,只要經過一夜8小時的睡眠休息,就足以將水分 完全回復至椎間盤內<sup>34</sup>,原因之一是液體透過椎終板流入椎間盤的所受到的阻力 比流出的阻力來得低<sup>8</sup>。

然而,椎間盤內液體流動是因為外部負載力量與內部滲透壓力交互關係所造 成,當此兩種達到平衡時,液體則不再流動48。椎間核內的平衡滲透壓力約為 0.2MPa,此時各種外力與椎間環的約束拉應力的交互作用下,也達到平衡狀態 11,46。當椎間盤內的水分流失時,造成原本具有高靜水壓的椎間核體積變小及壓力 下降,無法承受外力負載。所以脊椎在承受軸向負載時,會直接由椎間環承受傳 遞能量<sup>5</sup>加上原本具高含量膠原纖維的椎間環,也隨著年齡的上升而減少其含量 <sup>7</sup>,薄層間變得比較緊密、沒有彈性,易受負載而向內及向外的膨脹,最後導致椎 間環損壞,失去原有可以承受的約束拉應力,椎間盤失去受壓緩衝能力。在這種 衰退的過程中,會導致鄰近組織的也一直增加對外力負載的抵抗,所以椎間環的 撕裂損傷最後會延伸至椎間核及椎骨的破壞<sup>6</sup>。根據文獻的報導,椎間環的傷害 約可分為三種,如圖 1-4 所示。(1)圓周的撕裂或分離(Circumferential tears or Delaminations)、(2)外圍邊緣的撕裂(Peripheral rim tears)及(3)徑向裂縫(Radial fissures)。圓周的撕裂為薄層之間受到剪應力所造成,應力集中於某些部份的纖維 層上;外圍邊緣的撕裂則常發生在椎間環的前端,與外力負載所造成的創傷及椎 骨生長方式有關;徑向裂縫則由椎間核向外延伸至外圍的椎間環,常發生於椎間 盤左右兩側後方,此種損壞模式與椎間核的退化有很大的關係,最後造成所謂的 「椎間盤突出症」<sup>6,20,22,23,38,41</sup>。生理上造成椎間盤退化的潛在原因還包含組織的衰 退、基因特徵、年齡、養份的提供等,但加速椎間盤退化及破壞的主要原因是由

4

於外力所造成不可回復的創傷或循環負載所造成結構上破壞所致,此與鄰近組織 的官能不良及疼痛有著密切關係。



圖 1-4 椎間環受傷種類: (A) 圓周的薄層撕裂或分離,(B) 徑向 凸出裂縫,(C) 外圍邊緣的撕裂傷<sup>1,6</sup>

### 1-4 椎間盤之潛變生物力學測試

一般來說,檢測椎間盤黏彈性質的負載方式大致上分為動態及靜態兩種,除 了負載大小影響椎間盤變形外,也隨著動態負載的頻率及靜態負載的時間而改 變,兩者都可提供椎間盤生物力學上表現的重要資訊<sup>26</sup>。然而,許多文獻使用靜 態的潛變測試來觀察循環負載對椎間盤所造成的影響,並且有效的計算出其黏彈 性質的材料參數<sup>17,24,35,48</sup>。以下為利用靜態潛變負載進行察椎間盤生物力學分析的 相關文獻:

Dhillon<sup>16</sup> 等人在 2001 年以人體腰脊的運動單元作為研究對象,他們施予試 樣 1MPa 的靜態負載 20 分鐘,然後無負載休息 40 分鐘,共五次循環,過程均泡 在食鹽水溶液中。由液體傳輸的數學模型擬合發現,椎間盤的滲透性(permeability) 會隨著負載循環次數的增加而降低,而椎間盤膨脹壓(swelling pressure)及椎間環 應變(anular creep)強度參數則反之,三者約在第三次循環後才趨向穩定。表示剛 開始當外力負載施予椎間盤時,其水分由孔隙被擠出,軟組織變得比較緻密,造 成高度下降。經過休息後,由於其高度並未完全恢復,且潛變負載持續使高度不 斷下降,約在第三次循環時,外力與核內壓力達到平衡狀態,水分重新分佈,軸 向變形量減少,材料參數才趨於穩定。

Palmer<sup>42</sup> 等人在 2004 年使用潛變測試的模型參數來量化健康與退化的椎間 盤對生物力學的反應。他們以老鼠的椎間盤進行體內實驗,先在老鼠的椎間盤持 續地施予 1.3MPa 的外力,一星期後將老鼠犧牲取出椎間盤,與另一組未受任何 負載的老鼠椎間盤進行比較。施予的潛變壓力有 0.4MPa、0.8MPa 兩種,共5 次, 每次 20 分鐘,每次中間休息 40 分鐘。測試結果指出,健康與退化的椎間盤在滲 透性上並無統計的差異,但退化的椎間盤高度約比健康的椎間盤多下降 19%,核 內膨脹壓約下降 40%,從組織切片上可發現靠近內側的椎間環纖維變得較無規則 性排列及無原本的光澤。

Van der veen<sup>47</sup> 等人在 2005 年針對豬隻腰椎的運動單元來研究椎間盤內流體 流動的機械力學行為。他們施予試樣 2.0MPa 的負載 15 分鐘,然後休息 30 分鐘, 共三次循環,實驗過程試樣皆浸泡在食鹽水溶液中。結果發現,三次 15 分鐘的潛 變測試過程中,椎間盤因高度因水分不斷被擠出而下降,受壓的椎間核將力量重 新分配傳至椎間環,椎間核內壓力逐漸降低。

Johannessen<sup>24</sup> 等人在 2006 年使用羊腰椎運動單元作為測試對象,並透過椎 終板移除部分的椎間核來觀察椎間盤的材料特性改變。椎間盤先經過 20 次的疲勞 負載後,再施予試樣靜態負載 200 牛頓1小時做潛變測試。結果發現,在潛變測 試中的軸向變形隨著椎間核移除量的增加而增加,黏彈性材料參數(抗張與抗拉強 度及阻尼係數)則隨之下降。因此,他們推測椎間盤在承受緩慢的負載及潛變測試 下,椎間核可以將能量傳至椎間環吸收而減少軸向變形,此時軸向力與外部膠原 纖維的拉應力達到接近平衡的狀態。

### 1-5 疲勞負載與休息對椎間盤性能影響

造成椎間盤黏彈性行為的改變,另一項主因就是疲勞負載大小及時間長短 <sup>5,26</sup>。流行病學上的文獻多數指出全身經常處於長時間在震動環境下,如卡車司 機,視為下背痛疾病的好發族群<sup>29</sup>。根據生物力學上的文獻指出,由於日常生活 的活動所對脊椎累積的長期疲勞負載會造成嚴重的椎間盤破壞,而位於這些纖維 環裂縫中的神經末端被視為下背疼痛的主要因子<sup>31,49,53</sup>。因此,本文針對文獻上 使用疲勞負載對椎間盤所造成的影響作相關研究的整理,並且特別指出疲勞負載 的次數及大小對椎間盤造成傷害的程度,如表 1-1 所示。

Yu<sup>54</sup> 等人在 2003 年對豬隻腰椎椎間盤作疲勞負載測試,觀察其幾何及形態 學上的變化。他們以三種不同的速度(10、20、30、mm/min)施予椎間盤軸向壓 力負載,位移控制在椎間盤高度的 35%~65%(彈性範圍),直到峰值力量穩定而 停止負載。結果顯示,此三種速度的疲勞負載會使椎間核凸出滲入椎終板及椎間 環內而造成椎間盤結構上的損壞,如圖 1-5 所示,包含椎間核的形狀改變、出血 及椎間環扭曲、斷裂。



圖 1-5 後側椎間環於(a)健康情況與(b)疲勞負載後 54

Masuoka<sup>35</sup> 等人在 2007 年使用老鼠尾巴當作實驗的試樣,他們施予椎間盤 0.15~1.0*MPa*、1*Hz*的軸向循環負載 90 分鐘。結果發現椎間盤的高度有明顯的下降(0.506±0.108*mm, mean±SD*),且椎間核與椎間環內的水分皆有流失(各約 25% 及15%)。

另外,本文也針對椎間盤休息後之水分及高度恢復情形作探討,表 1-2 整理 出目前學者對椎間盤負載後與休息恢復的結果。根據體外實驗的研究指出,即便 經過兩倍負載時間的浸泡食鹽水休息,椎間盤仍無法完全恢復原有的高度及水分 <sup>47,48</sup>,與人體生理上的表現有所不同(如 1-3 節所述)。但學者研判,只要休息時間 夠長(六倍負載時間以上),椎間盤不但可以恢復其原始的高度,在生物力學上的 表現亦可恢復<sup>25,48</sup>。

作者及年份	試樣	負載情形	椎間盤破壞
Hansson et al.	人體腰椎	力量: 60~100% UCS	脊椎骨半球形缺陷
1987 <sup>21</sup>		頻率: 0.5Hz	椎終板中心破裂
		次數:最多1000次	
Adams et al.	人體腰椎	力量:1500~6000N	椎間環薄層扭曲、後
1983 <sup>2</sup>		頻率: 0.67Hz,	侧径向撕裂、椎间盘
		次數:最多9600次	突出
Chen et al.	豬隻胸椎	力量: 280~630N(屈曲)	椎間盤後側突出
2006 <sup>14</sup>		頻率: 5Hz	
		次數:90000次	
Liu et al.	人體腰椎	力量: 37~80% FL	椎終板及軟骨下骨
1983 <sup>30</sup>		頻率: 0.5Hz	破裂
		次數:10000次	

表 1-1 疲勞負載對椎間盤產生的破壞

Callaghan et al.	豬隻頸椎	力量:組合負載	左右後側椎间盤突
2001 <sup>12</sup>		頻率:1Hz	出
		次數:86400次	
Gallagher et al.	人體腰薦椎	力量:屈曲負載(0~45°)	椎終板、椎骨及小面
2005 <sup>19</sup>		頻率: 0.33Hz	關節破裂
		次數:263~8253次	

UCS: ultimate compressive strength (最大壓力強度), FL: failure load (破壞應力) 組合負載: 屈曲/伸展及軸向負載

作者	負載	受力時間	恢復時間	量測值	恢復
Ekstrom et al. 1996 <sup>17</sup>	動態	1h	1h	椎間盤高度	Х
Johanessen et al. 2004 <sup>25</sup>	動態	2.5h	18h	鬆弛、剛性係數	$\vee$
Van der Veen et al. 2005 <sup>47</sup>	靜態	15min x3	30min x3	高度、壓力	X
Vresilovic et al. 2006 <sup>50</sup>	動態	2.5h	18h	應力鬆弛	х
Van der Veen et al. 2007 <sup>48</sup>	靜態 動態	15min x4	30min x3 10h	高度、剛性	V
MacLean et al. 2007 <sup>32</sup>	靜態	4h x2	6h x2	高度	X

表 1-2 負載與休息對椎間盤性質的影響文獻統計 52

動態負載:cyclic loading,靜態負載:creep

### 1-6 實驗目的與假設

綜合以上所述,疲勞負載對椎間盤的機械性質改變有很大的關聯,除了水分 的流失外,還有可能造成椎間核破裂、壓力下降及椎間環產生裂縫而失去鎖水能 力等。針對摸擬人體椎間盤而言,尚未有疲勞負載可以藉由休息恢復及針對椎間 盤受到疲勞負載時間與潛變測試機械性質改變的量化關係。因此,本實驗目的為 利用潛變測試探討當椎間盤承受不同的疲勞負載時間(次數約9000~72000次) 後,相同的休息時間是否足夠恢復其內部液體的流變特性。

根據文獻指出,椎間盤在經過3小時(54000次)的疲勞負載後,能透過12小時的休息使其動態性能(彈性係數及阻尼係數)恢復至初始狀態。但在施予第二次3小時的循環負載過程中,發現椎間盤的動態性能在第0.5小時有更明顯的變化。 作者推測經過12小時的浸泡生理食鹽水後,水分雖然能夠完全恢復,但椎間環可 能已造成不可恢復的破壞,動態性能提早達到平衡狀態<sup>52</sup>。因此本實驗有兩項主 要的假設,第一,椎間盤受到短時間(0.5hr)的疲勞負載後,經過長時間24hr) 的浸泡生理食鹽水休息,可恢復到其原始高度及材料特性。第二,長時間的疲勞 負載(3、4hr)後,椎間盤高度下降量與機械性質會到達平衡,且造成椎間環破 壞。



## 第二章 實驗設備

### 2-1 連續式衝擊測試平台(Continuous Impact Testing Apparatus)

連續式衝擊試驗平台(以下簡稱 CITA)為本實驗室自行研發之多功能材料測 試平台,如圖 2-1 所示,包含機台主體結構、控制面板及訊號擷取系統及多種物 理感測器三部份組合而成。機台主要的作動方式約有以下三種:



圖 2-1 連續式衝擊測試平台(CITA)

(一)自由落體式衝擊測試機,藉由調整固定架的高度來改變衝擊錘自由落下的高度,可模擬生物試樣在承受不同的衝擊載荷時,產生的動態力學行為反應。

(二)靜態式負載,利用撞擊承受器、衝擊錘及砝碼,可給生物試樣不同大小靜態 負載,本實驗即使用此特性進行靜態負載的潛變測試。

(三)動態循環負載,將自製的往復式衝擊模組裝於衝擊錘上,可產生連續之動態 負載,載荷大小與頻率皆可依所需而調整,可模擬生物體在日常生活中所承受的 連續式動態負載。

CITA本身備有至少三件一維測力元、單軸加速規及線性位移計,可用來量測 試樣所承受及反應的力學行為。另外,CITA底部可加裝六維測力元(Fx、Fy、Fz、 Mx、My、Mz),可清楚了解試樣所承受的力量各方向的細節,試樣也可貼上雙軸 加速規(Ax、Az)、應變規等,了解其本身變形及位移速度情形。搭配訊號處理放 大器、類比/數位擷取卡等硬體控制系統,透過訊號擷取程式即可儲存實驗過程中 的各種感測器的完整資料,以下小節針對本實驗所選用的設備加以說明。

### 2-2 衝擊錘(Impactor)

如圖 2-1 所示,其重量為 12 公斤,由上面的掛勾舉起,最大自由落下高度約為 1.5 公尺,可施予試樣高速衝擊載荷。本實驗並無使用衝擊功能,而是利用衝擊錘本身的重量施予靜態負載約 120 牛頓。

#### 2-3 撞擊承受器(Impounder)

撞擊承受器即為衝擊錘與試樣的連結器,包含兩件一維測力元及位移感測 器,可自由地軸向上下移動(依固定器位置改變,行程約7公分),由圖2-2中的黑 色固定器決定其作用位置。上方設有緩衝件,不同性質的用來控制撞擊試樣的接 觸時間及力量大小;下方的平板可用C型夾固定試樣上方的補土,因此使用線性 位移計量測撞擊承受器的位移表示試樣上方椎骨的位移。重量約9公斤,本實驗 所利用的功能如同衝擊錘,靜態負載約為90牛頓。

12



圖 2-2 撞擊承受器(Impounder)

### 2-4 往復式衝擊模組(Cyclic Loading)

往復式衝擊模組主要是由一顆直流馬達及兩組偏心惰輪所組成,如圖 2-3 所 示。馬達最大轉速可達 3000rpm,偏心惰輪是增加鐵塊在直徑約 15cm 鋼圓盤的 一邊,導致圓盤轉動時,產生不同力量的軸向循環輸出。馬達透過兩邊齒輪組帶 動偏心惰輪產生相反方向的旋轉(順時針及逆時針),此法消除因旋轉而產生不必 要的力矩,僅產生軸向的上下負載。此偏心輪的旋轉可帶動衝擊錘軸向上下周期 性的運動而產生往復式的負載,施予椎間盤動態性的疲勞負載,載荷的大小及頻 率分別可透過施加砝碼於衝擊錘上方及速度控制面板來調整。本實驗所使用的力 量大小為 190~590N,平均力量為 420N,頻率 5H<sub>Z</sub>(其減速齒輪箱的轉速比為5:1, 所以在控制面板調整為 1500rpm,馬達實際上轉速為: <u>1500rpm</u> = 5Hz)。



圖 2-3 往復式衝擊模組(Cyclic Loading)

### 2-5 線性位移計(Linear variable differential transformer)

如圖 2-2 所示,本實驗所選用之線性位移計(以下簡稱 LVDT) 最大量測範圍 為  $\pm$ 7.62 mm,線性度為  $\pm$ 0.5%,靈敏度為 82.7 mV/V/mm。LVDT 本體鎖於於固 定器上,鐵心鎖於撞擊承受器的平板上。本體與鐵心利用線圈感應,當鐵心在本 體移動時,線圈感應到的電壓改變,作為量測撞擊承受器的位移量,如前小節所 述,此位移量表示上節椎骨因為椎間盤的軸向變形而產生的移動量。其位移(y)-電壓值(x)校正公式如下所示。(單位: y = mm, x = v,向下為正)  $y = 0.9006 \times x$ 

### 2-6 一維測力元(1-D Load Cell)

本實驗所使用之一維測力元為 S-type Load Cell,利用懸臂樑原理所產生的微 小變形輸出電壓值,如圖 2-2 所示。本實驗所使用的兩件測力元為靠近試樣上下 方補土的位置,一件固定於撞擊承受器上,另一件則固定於底座,代表試樣所承 受的輸入及輸出的軸向力。量測最大範圍為 250kg,敏感度為 2.9989 mV/V,力 量(y)-電壓值(x) 校正公式如下所示(單位: y=N, x=v,向下為正)。

 $y_{up} = 262.5 \times 4x$ 

$$y_{down} = 281.01 \times x$$

### 2-7 訊號量測及控制系統

除了上述的感测器外,量测系統還包含訊號放大器、訊號連接器、類比數位 撷取卡、人機介面程式及電腦。如圖 2-4 所示,感测器的電壓訊號可由放大器放 大或直接由訊號連結器傳送至撷取卡,最後再進入電腦轉成物理訊號分析儲存。 CITA 上的其中一種訊號放大器為 3B Amplifier (Analog Device), 3B Amplifier 有 32 條通道,最大輸出電壓為±10 V,透過 Ranging card (AC1301) 可調整增益, 增益大小依照各感測器需求而改變,本實驗所撷取的測力元及線性位移計訊號即 經過此放大器作訊號放大處理。訊號撷取卡(AD/DA card)使用美商慧碁公司 (National Instrument Inc.)所出的產品,型號為 PCI-MIO-64E-1。此數位類比訊號 頻取卡具有 64 個單點接地的類比訊號輸入通道,擷取壞率為 2Hz,時間為 75 分鐘。另外其還有 2 個類比訊輸出通道、數位觸發計數器等功用,適用於外部控 制硬體部份,如觸發衝擊錘自由落下的掛勾。最後,配合人機介面程式將訊號資 料撷取儲存,本實驗使用 LabVEIW 6i 圖控軟體撰寫一套多通道的訊號擷取平台。 **2-8 鑽石切割機及數位照相平台** 

本實驗於試樣結束負載後作切片的觀察,如圖 2-5、2-6 所示為本實驗室自行 設計之鑽石切割機及攝影平台。切割機且有單向的位移,精度可達 0.5mm,具有 自動冷卻給水及進給系統,夾具配合試樣的大小可作更換。攝影平台可依照要求 而更換相機及鏡頭,相機可作 z 軸的移動,試樣可作 x-y 平面的移動至相機拍攝 位置。

15



訊號放大器

放大器訊號入口 訊號連接器 加速規 & 測力元訊號處理器 加速規 & 測力元訊號處理器

應變規訊號處理器

線性電位計訊號處理器

圖 2-4 訊號量測及控制系統

自動進給擺桿 試樣擺放位置 X 軸移動平台 鑽石切割刀片



圖 2-5 鑽石切割機



圖 2-6 數位攝影平台



### 第三章 材料與方法

### 3-1 試樣準備

本實驗使用六個月大的豬隻腰椎為樣本,以雙節椎體為一運動單元(椎骨-椎 間盤-椎骨,分別為L1~L2及L3~L4),共十副。首先,將豬隻的腰椎(L1~L4)取下 後,使用線鋸機於連結椎骨(L2~L3 的椎間盤鋸開,並移除椎骨後側(含小面關節) 及盡可能剔除周邊肌肉、韌帶組織。再將運動單元的上下節椎骨以補土包埋(直 徑:10cm,高度:2cm),並確定椎間盤與上下節補土保持平行,以便試樣於實驗 時,易固定於測試機台及受到鉛直的軸向力量。以上過程皆以生理食鹽水噴灑於 椎間盤四周保濕。最後,將試樣四周以濕紗布覆蓋,並放於-20℃冰箱冷藏保存。 試樣於實驗開始前放入5℃冰箱解凍24小時,解凍過程中均浸泡於食鹽水溶液 中,於實驗前4小時再將試樣拿到室溫下退冰。

試樣於受測之前,先以游標卡尺量測椎間盤的高度(H<sub>0</sub>)、前-後(depth)及左-右(width)之距離作為初始狀況之型態參數,如表 3-1,以便資料的分析。

NO.	H <sub>0</sub>	width	depth
1	6	37.8	23.4
2	5.5	39.6	21.6
3	5.7	38.3	21.8
4	5.8	36.8	25
5	5.6	36	25.4
6	6.5	36.4	27.3
7	6.6	35	25
8	6.3	36.6	25.4
9	6	36	25.5
10	6.4	37.4	26.8
平均	6.0	37.0	24.7

表 3-1 椎間盤之形態參數量測



單位:mm

### 3-2 實驗方法

#### 3-2-1 實驗流程

本實驗的流程如圖 3-1 所示, 試樣未受疲勞負載前會先經過一次靜態的潛變 測試,約1小時10分鐘(含預負載)。在疲勞負載開始前,試樣會先浸泡食鹽水溶 液24小時作為休息。疲勞負載結束後,試樣也會再浸泡於食鹽水溶液24小時, 才開始執行潛變測試,如此一共五次循環。五次循環中的疲勞負載時間依序為 0.5、1、2、3、4小時,休息與潛變測試之負載環境皆相同。試樣休息時,為了使 水分有足夠的時間流回椎間盤,本實驗的休息時間設定為24小時,為負載時間 (0.5~4小時)的六倍以上,以便承受接續的負載測試。休息時將試樣放入食鹽水溶 液中浸泡,前20小時放入5℃冰箱冷藏,後4小時於室溫(約26℃)下退冰。當試 樣進行依序五種不同的疲勞負載時間及相同的靜態潛變負載五次循環時,即為一 組完整的實驗流程。試樣在承受第一次的潛變測試後(疲勞負載前),接著5次的 負載曲線如圖 3-2 所示。

最後,使用鑽石切割機將椎間盤對半切開,包含矢狀切面(sagittal plane)及冠 切面(frontal plane)兩種,各隨機選取五組試樣。先敲除上下補土,再包覆黃石膏 於試樣的左側及後側,以利夾持具固定。切開的椎間盤以數位相機拍攝觀察其內 部結構變化情形。為了比較承受疲勞負載過後的椎間盤與初始狀態時結構上的改 變,本實驗也另外剖開一組未經過疲勞負載與0.5小時疲勞負載的椎間盤作為對 照組以便觀察。

19



圖 3-2 試樣負載曲線圖

3-2-2 載荷狀況

**潛變負載.**本實驗的潛變測試包含 10 分鐘的預壓(40N)及 1 小時的長時間靜 態負載(420N)。首先,使用游標卡尺量測試樣的高度(平均高度約 80mm)及椎間盤 的高度(H<sub>0</sub>)、前後及左右長度,前者是為了再調整固定架至適當位置並確實固定, 使線性位移計的量測及撞擊承受器的上下位移達到最大範圍,以確保在負載過程 中,可量測試樣所有的軸向變形量;後者為資料分析時使用。如圖 3-3 所示,將 試樣放置於 CITA 機台上,確定椎骨與機台同軸心後,使用 C 型夾將試樣的補土 固定於上下兩個一維測力元中,使試樣承受撞擊承受器的軸向負載(axial force) 40 牛頓作為預負載,負載時間 10 分鐘。接著將衝擊錘緩慢放下接觸撞擊承受器,並 在其上方以 2 公斤的砝碼增加重量至 420 牛頓(衝擊錘 12 公斤、撞擊承受器 4 公 斤、砝碼 13 顆 26 公斤,過程約花 20 秒),負載時間 1 小時。以上過程擷取一維 測力元及位移感測器訊號,擷取頻率為 2Hz, 擷取時間其約 1 小時 15 分鐘(含負 載增加時間),並每 15 分鐘噴灑生理食鹽水使試樣保溼。

**疲勞負載.**將試樣放置於 CITA上,試樣的固定位置及方法與前面所提及的 靜態負載相同,移除固定架上的彈簧並將往復式衝擊模組放入衝擊錘上固定。疲 勞負載的平均力量約為420牛頓(負載大小:190~590牛頓),負載頻率5Hz,負載 時間依序增加為0.5、1、2、3、4小時(循環次數分別為:9000、18000、36000、 54000、72000 次)。

### 3-3 數學模型及統計分析

由第一章節所述,椎間盤主要是由固態纖維軟組織及液態水分所組成,因此 本實驗使用一維線性雙相模型(Biphasic model)針對潛變測試過程中,隨時間而改 變的軸向位移進行線性擬合,計算出椎間盤的兩項材料參數:聚合模數(aggregate modulus, H<sub>A</sub>)、滲透性(permeability, k)。聚合模數代表使椎間盤抵抗軸向變形的難 易度,滲透性量測的是液體在椎間盤內流動的難易度。此一維線性雙相模型假設 外力(F)施於待測物時,內含的液體僅限於垂直方向的流動,如圖 3-4 所示。核內 線性雙相理論針對等向均質材料受到徑向局限負載之廣義方程式如式(1)所示 <sup>28,39</sup>,其初始條件為式(2)所示,椎間盤受壓前的變形為0;邊界條件如式(3)所示。 經過推導後,此解析解與文獻上所提供簡化後的數學模型<sup>45</sup>相同,如式(4),本文 採用最小方差法擬合最佳化的結果,r<sup>2</sup>愈接近1代表擬合曲線與實驗曲線愈相符, 表示擬合出來的材料參數愈接近真實情況,如式(5)。



圖 3-3 試樣承受預壓負載



邊界條件....
$$\begin{cases} u(z,0) = 0 \\ H_A \frac{\partial u}{\partial t} \Big|_{z=h} = -P_A \end{cases}$$
 (3)

$$u(z,t) = -\frac{P_A}{H_A} \left[ z - \frac{2h}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{(n+\frac{1}{2})^2} \sin\left[ \left( n + \frac{1}{2} \right) \frac{\pi z}{h} \right] \times \exp\left( \frac{-H_A k}{h^2} \left( n + \frac{1}{2} \right)^2 \pi^2 t \right) \right] \qquad \dots (4)$$

$$r^{2} = 1 - \frac{\sum (p - p_{e})}{\sum (p - \overline{p})}$$
(5)

P=擬合之理論值,pe=實驗值, p=理論平均值 (均指椎間盤高度於潛變之下降量) 式(4)中的 z=椎間盤高度

 $P_{A} = \frac{F}{A} , 為潛變壓力(F=420N, A = \frac{\pi \times (width) \times (depth)}{4} , 椎間盤截面積以橢圓面$ 積<sup>18</sup>計算)

n 為擬合常數=3(3 以後的值趨近於 0,故不考慮)。

利用Paired t-test 來比較椎間盤之高度、聚合模數及滲透性在不同時間疲勞負載下的改變。當p<0.05時,被視為有顯著性的差異。



圖 3-4 椎間盤受壓模型

### 第四章 結果

### 4-1 椎間盤高度變化及參數定義

試樣受到靜態潛變負載過程的高度下降情形如圖 4-1 所示,椎間盤受到每一 段負載之高度的變化量命名解釋,如表 4-1,椎間盤未受疲勞負載前的高度為 H<sub>0</sub>, 疲勞負載結束後浸入生理食鹽水 24 hr 後的高度為 H<sub>1</sub>,此高度與椎間盤未接受任 何負載(H<sub>0</sub>)時的高度差為 h<sub>un</sub>,視為椎間盤未恢復的高度。接受預負載(40N)後的 高度為 H<sub>2</sub>,預負載前後的高度差為 h<sub>pre</sub>。當潛變測試開始,負載大小由 40N 增至 420N 後椎間盤的高度為 H<sub>3</sub>,此時增加的變形量為 h<sub>ins</sub>,潛變測試結束後椎間盤的 高度為 H<sub>4</sub>,潛變開始至結束的椎間盤高度變化為 h<sub>creep</sub>。



圖 4-1 椎間盤高度變化參數

表 4-1 椎間盤變形標示說明

標示	說明
$H_0$	原始高度(實驗前)
$\mathbf{h}_{un}$	疲勞負載與休息後,未恢復的變形量
$H_1$	疲勞負載與休息後的高度
h <sub>pre</sub>	預壓負載的變形量
$H_2$	預壓負載後的高度
h <sub>ins</sub>	預壓負載增加至潛變負載的變形量
$H_3$	預壓負載增加至潛變負載後的高度
h <sub>creep</sub>	潛變負載的變形量
$H_4$	潛變負載後的高度(實驗結束)
	1 - m + - 1 m m + + + + - 1 1

註:字母大寫(H)表示椎間盤高度;字母小寫(h)

椎間盤在承受五種依序增加的疲勞負載與休息24小時後,潛變測試過程中之



圖 4-2 椎間盤於不同疲勞負載時間之潛變位移曲線

### 4-2 椎間盤初始高度(H<sub>0</sub>)與疲勞負載後之高度(H<sub>1</sub>)

由圖 4-3 可知,經過疲勞負載後,椎間盤的高度並無法藉由食鹽水 24 hr 的浸 泡達到完全恢復,即使疲勞負載的時間僅有 0.5 小時,椎間盤的高度仍比未受任 何負載前為低。隨著疲勞負載時間的增加,椎間盤可恢復的高度逐漸減少,直至 3hr 之後,才到達平衡。



#:與Ohr 有顯著性差異 +:與O.5hr 有顯著性差異 ◎:與 1hr 有顯著性差異 □:與 2hr 有顯著性差異

圖 4-3 椎間盤經過疲勞負載與休息後之高度

### 4-3 預壓負載下降高度(hpre)

當試樣進行潛變測試前,本實驗先施予試樣預壓負載,目的是為了讓休息後的椎間盤內的水分重新分佈,也可將過多的水分排除。如圖 4-4 所示,隨著疲勞 負載時間的增加,椎間盤於預負載時產生的軸向變形量有逐漸降低的趨勢。



圖 4-4 椎間盤承受預負載下降高度

### 4-4 瞬時負載下降高度(hins)及瞬時剛性係數(Instantaneous Stiffness)

椎間盤承受預壓負載後(40N),再施予負載至 420N 進行潛變測試。此過程之 高度下降量如圖 4-5 所示,椎間盤的瞬時下降量會隨著疲勞負載時間的延長而有 降低的趨勢。但統計結果顯示,瞬時下降量在經過 1hr 疲勞負載後即達到平衡狀 態,不再有顯著性地降低。推測潛變測試的負載過程所造成的椎間盤水分流失量, 在經過疲勞負載 1hr 後即達到平衡。圖 4-6 則顯示瞬時剛性係數,瞬時剛性係數 的計算方式如式(3)所示。在經過 2hr 以上的疲勞負載後,椎間盤的剛性係數才與 Ohr 時有顯著性差異。

$$S_{ins} = \frac{380N}{h_{ins}}$$
(6)

\*瞬時負載為 380N



顯著差異 p<0.05 #:與 0hr 有顯著性差異 +:與 0.5hr 有顯著性差異

圖 4-6 椎間盤瞬時剛性係數

### 4-5 潛變測試下高度下降(h<sub>creep</sub>)及其應變(strain)

圖 4-7 及圖 4-8 顯示椎間盤在承受 420N 時之高度下降量及應變,應變的計算 是由下降高度除以潛變前高度(hcreep/H<sub>3</sub>)。由結果可知,經過 0.5hr 以上的疲勞負 載後,椎間盤在潛變過程的高度下降量與應變量皆與 0hr(未受疲勞負載時)有顯著 性差異,而 3、4hr 疲勞負載與 0~2hr 的疲勞負載這兩組之間在高度下降量也有顯 著性差異,應變則無此差異。其高度下降量與應變皆與 0hr 有顯著性差異,而 3、 4hr 疲勞負載與 0~2hr 的疲勞負載這兩組之間在高度下降量也有顯著性差異,應變 則無此差異。在剛性的部分,則會隨著疲勞負載的增加而有顯著性的增加。



◎:與1hr有顯著性差異 □:與2hr有顯著性差異 ※:與3hr有顯著性差異

圖 4-7 潛變測試之椎間盤高度下降量



\*:與4hr有顯著性差異

圖 4-9 潛變測試之椎間盤剛性

### 4-6 聚合模數(Aggregate Modulus, H<sub>A</sub>)與渗透係數(Permeability, k)

圖 4-10 為潛變測試的位移曲線進行數學模型擬合的結果,所得到的聚合模數 (H<sub>A</sub>)與滲透係數(k),隨著疲勞負載時間延長的變化情形如圖 4-11、4-12 所示。聚 合模數並沒有隨疲勞負載時間的延長而有所改變,相反地,滲透係數隨著疲勞負 載時間的延長有顯著性的遞減,直到 3hr 的疲勞負載後才趨向穩定。



圖 4-11 椎間盤之聚合模數(H<sub>A</sub>)



### 4-7 椎間盤切面觀察

如圖 4-13 所示,依序為(A) 健康完整(B)經過經過 0.5hr 及(C)4hr 疲勞負載後 椎間盤矢狀面結構圖與(D)冠狀面結構。由圖中可用發現,健康完整的椎間盤與 0.5hr 疲勞負載的椎間盤,其椎間環向外側排列較整齊,椎間核保持半透明狀。而 經過長時間 4hr 疲勞負載後的椎間盤可以發現在前端及左右兩側靠內的椎間環向 中心產生斷裂或腫脹扭曲(如圖中黃色框框所示,肉眼觀察三組斷裂,七組排列扭 曲),且椎間核都呈現紅色出血現象。



圖 4-13 椎間盤矢狀切面(A)完整健康(B)0.5hr 及(C)4hr 疲勞負載與(D)冠狀切面

### 第五章 討論

本實驗旨在探討疲勞負載時間的長短對椎間盤的含水量以及流變性質回復的 影響,並藉此推論疲勞負載如何對椎間盤產生傷害,導致椎間盤水分流失並引起 力學反應的改變。由於疲勞負載對椎間盤的傷害是屬於慢性的,會對椎間盤造成 傷害的原因並非是負載過大,而是負載時間過長。本實驗中使用靜態負載以及疲 勞負載的大小對椎間盤所造成的壓力平均為0.45MPa,屬於椎間盤的生理可容忍 範圍內,相當於坐著或輕鬆站姿下椎間盤所承受的負載<sup>51</sup>。實驗結束時,每一個 試樣總共歷經10.5小時,約189,000次的疲勞負載。假設走路的頻率為2Hz,則 4 小時的疲勞負載(72000次)相當於連續走路10小時。在每次疲勞負載後,為了 使水分有足夠的時間流回椎間盤,本實驗的休息時間設定為24小時,為負載時間 (0.5~4小時)的六倍以上。

### 5-1 椎間盤內含水量之討論

椎間盤的含水量與椎間盤的高度有顯著的正相關性<sup>35</sup>,文獻上也指出椎間盤 水分的流失與其體積縮小有密切的關聯<sup>27</sup>。當椎間盤承受外力時,核內壓力變大 而將水分經由椎終板或椎間環擠出,椎間盤內的液體便會產生流動,椎間環也會 產生變形使椎間盤高度下降,直到外部負載與椎間盤內部滲透壓力及椎間環的拉 應力(tensile stress)達到平衡狀態時<sup>3,11,46</sup>,液體才會停止流動。

由本實驗結果可知,隨著疲勞負載時間的增長,椎間盤的高度越無法在24 小時內回復(圖4-3)。即使椎間盤僅經過0.5hr的疲勞負載,在休息24 hr後,其高 度也顯著地低於未經負載時的高度,與文獻上所推測的結果並不一致<sup>25</sup>。不過, 此時椎間盤的高度下降量僅有0.43±0.53mm (mean±stdv),此無法回復的高度有可 能是來自椎骨的永久變形。椎間盤高度是椎間盤含水量的重要指標,椎間盤回復 高度的降低,代表椎間盤含水量的減少。椎間盤經過疲勞負載,休息24 hr後高 度無法完全恢復的原因推測有三:第一,在連續的動態疲勞負載與靜態潛變負載 之下,部份椎間環失去彈性而產生塑性變形(plastic deformation),因此雖然在休息 時椎間盤無承受任何負載,椎間環仍無法完全彈回原狀,使椎間盤高度無法恢復。 第二,受壓後的椎間盤內軟組織變得比較緻密,椎間盤的孔洞性(porosity)越低, 組織的孔洞被擠壓縮小而增加水分進入的阻力,因此椎間盤於食鹽水溶液休息 時,水分可能需要更長的時間才能完全流回。第三,椎間核外側的椎間環被破壞, 導致椎間盤中心的含水能力降低,造成椎間核的靜水壓降低,椎間盤膨脹趨勢 (swelling propensity)變小,故椎間盤的高度無法藉由休息恢復。此項可由本實驗 中椎間盤的矢狀切面得到證實,而 Adams 等人也證明椎間盤經過長時間的負載 後,中心的靜水壓會減少<sup>5</sup>。

隨著疲勞負載時間的增加,椎間盤的水分越無法回復。如圖 4-6 所示,椎間 盤的剛性(stiffness)也隨之增加,吸收負載能量的能力降低,不易因外力而變形。 本實驗結果顯示,隨著疲勞負載時間的增加,椎間盤即使經過 24 小時的休息,椎 間盤在進行潛變測試時,於預負載期間(hpre)、增壓期間(hins)、潛變期間(hcreep)的 高度降低量都有減少的趨勢(圖 4-4、圖 4-5、圖 4-7)。持續性的負載會使椎間盤變 得較剛硬,表示椎間盤變得無法藉由水分從基質(matrix)流進、流出的方式來抵抗 外力,轉而需要由周圍的椎間環來幫助抵抗外力。隨著負載時間增長,椎間盤結 構破損的機會增加,椎骨受傷的危險性也會隨之提高。此種情況類似好發於長跑 選手的下肢脛骨疼痛症候群(shin splints)。當脛骨周圍的肌肉群因過度使用進入疲 勞狀態,吸收外來能量的能力便降低,外在能量便會直接由脛骨承擔,造成脛骨 產生壓力性骨折(stress fracture)。文獻指出,當椎間盤受到兩小時的疲勞負載後, 在椎間環可能產生不可逆的微小傷害,該傷害雖然不影響椎間盤在休息期間水分 的流入,卻會使補充進椎間盤的水分在椎間盤再次受壓後快速流出,使椎間盤的 剛性係數提早升高,阻尼係數提早降低 52。

### 5-2 潛變測試之材料參數討論

本實驗中由數值擬合得到的聚合模數(H<sub>A</sub>)可視為椎間盤抵抗外力負載變形的 一項材料參數,椎間盤在潛變測試期間的高度下降量(h<sub>creep</sub>)隨著疲勞負載時間增

35

加而減少(圖 4-7),但其 H<sub>A</sub> 並無顯著性差異(圖 4-11)。換句話說,經過長期疲勞 負載後的椎間盤,經過休息後,其 H<sub>A</sub> 並沒有像剛性一樣隨負載時間增加而上升 反而呈現持平。推測可能原因在於 10.5 小時的疲勞載雖會造成內側椎間環破壞, 但並不足以對外側椎間環產生斷裂。在外側纖維環保持完整的情況之下,仍舊可 以提供含水量較低的椎間盤良好的支撐力,故造成負載 10.5 小時後的椎間盤,其 H<sub>A</sub>的大小仍與未受負載時相同。

本實驗中,由數值擬合得到的另一參數為滲透係數(k, permeability),代表液 體在含水組織內流動的難易度。實驗結果顯示,椎間盤在潛變期間的滲透係數(k) 隨著疲勞負載時間的增加而顯著性的降低(圖 4-12)。當組織內的含水量降低、受 到的負載增大、應變量增大,組織的滲透性便會降低。本實驗中潛變測試所使用 的負載力量固定,每一個椎間盤面積的變化量甚小,因此每一個椎間盤所受到的 壓力大致相等。疲勞負載過後的椎間盤,經過休息之後,其在潛變期間的應變量 並不會隨疲勞負載時間的增加而有顯著的差異(圖 4-8)。因此,造成滲透係數隨疲 勞負載時間的增加而減少的主要原因應是椎間盤的含水量無法及時在 24 小時的 休息內回復的關係,而究其原因則如前所述。另外,經過疲勞負載後的椎間盤內 軟組織變得比較致密,原本的水分流動的微小孔道在疲勞負載中已被壓縮。故椎 間盤的孔洞性(porosity)降低,不僅使水分回流入椎間盤的阻力增加,亦會造成水 分流出的困難,所以椎間盤對流體的通透性降低。

#### 5-3 疲勞負載對椎間環破壞

本實驗顯示,椎間盤經過一連串的動態疲勞負載及靜態潛變測後,前端內側 的椎間環有明顯的斷裂或排列不整齊(圖 4-13)。Cassidy<sup>13</sup> 等人於 1990 年使用狗 的椎間盤作壓力負載實驗時(控制應變為 0.2),將觀察到的椎間環變形分為三類(圖 5-1)。本實驗中,椎間盤在經過 10.5 小時的疲勞負載後,所觀察到的內部拮構也 類似圖 5-1(b)及(c)所示,所以推測椎間盤受到疲勞負壓後,內側的椎間環會先向 其原本排列的曲度(curvature)變形(圖 5-1(a)),接著因為受椎間盤與椎骨連結表面 的曲度關係,椎間環會有向內側的彎曲產生(圖 5-1(b)),此時因為核內壓力增加將 水分向外擠壓,椎間環又承受向外的變形(圖 5-1(c))。最後導致內側的椎間環產生 不正常的彎曲或排列方向不一而破壞斷裂。此處的椎間環若被破壞,當椎間盤受 壓時,便無法抵抗椎間核向外擴張的阻力,使部分椎間核液體往外側流動,導致 椎間核內的靜水壓降低。此時椎間環便要承擔部分的軸向力。由於椎間環內膠原 纖維排列方向的緣故,椎間環較能抵抗拉伸力(tensile force)而較不能抵抗壓縮力 (compression force),因此椎間環一旦有微小破壞產生,便可能加快後續椎間環的 破壞速度。另外,從影像中也可發現受過疲勞負載後的椎間核呈現血紅色的半透 明液體,推測是疲勞負載造成鄰近組織(紅骨髓,椎終板外側)的血管破裂,導致 紅血球流入椎間核內所引起。可能造成液體分子變大或混濁而不易流動,使椎間 盤之滲透性(k)下降。



圖 5-1 健康椎間環排列情形(a)與受壓應變為 20%之椎間環(b~d)<sup>13</sup>

#### 5-4 實驗限制

本實驗使用約六個月大之豬隻腰椎椎間盤作為試樣,雖然人腰椎與豬隻腰椎 在幾何形狀上不盡相同<sup>15,36</sup>,但本實驗移除大部份後側組織(包含棘突、橫突及上 下關節突),只針對椎間盤本身對負載的反應作討論。因此兩種生物種類骨頭結構 的差異對本實驗結果的影響是非常小的。其認,雖然豬隻與人體的椎間盤的含水 量及其對軸向負載的反應有所差異,但若將椎間盤的高度與面積作正規化處理 後,兩者對軸向機械力學性質的反應是非常類似的<sup>9</sup>。因此,本文認為此實驗結 果可以模擬實際人體椎間盤所受到負載後的變化情形。

本實驗以 0~4 hr 疲勞負載與 24 hr 休息時間針對豬腰椎運動單元作測試,雖 然可以量化椎間盤對負載的力學反應,但無法完全模擬脊椎於生理上正常的受力 情形。正常的脊椎力量的傳導不僅只由椎間盤傳遞,還包含關節及周邊軟組織的 連結,無法代表椎間盤於臨床上真實的反應。因此,本研究僅提供一項椎間盤的 材料特性對於疲勞負載的影響的指標,了解椎間盤於力學反應上改變的趨勢,可 以提供日後對於人工椎間盤之研究上參考的依據。

本實驗對於椎間盤之潛變結果使用一維的雙相線性模型來分析,只考慮椎間 盤於軸向的變形及液體直向的流動情形。雖然液體進出椎間盤的方式可經由椎終 板及椎間環兩種管道,但由體內的實驗得知液體主要是經由椎終板進出椎間盤 <sup>43</sup>,且椎間盤體積的變化主要是由於椎間盤高度的下降而非徑向的膨脹<sup>10</sup>,所以 本文認為此擬合所得到的材料參數與實際上椎間盤內部液體流動情形並不會有太 大的差異。

### 第六章 結論與未來展望

#### 6-1 結論

本實驗使用靜態潛變測試求得椎間盤於動態疲勞負載後之流變材料特性,根 據實驗結果,本文可以作以下結論:第一,椎間盤承受疲勞負載(至少 0.5hr)後, 透過 24 hr 的浸泡食鹽水溶液,高度並無法完全恢復,且椎間盤高度會隨著負載 的時間增加而愈無法恢復。第二,椎間盤承受疲勞負載過程中,其滲透性(k)會隨 著疲勞負載時間的增加而顯著性下降,但聚合模數(H<sub>A</sub>)並無顯性差異。第三,椎 間盤經過 10.5hr 的疲勞負載後,內側椎間環有明顯的斷裂或扭曲,且椎間核呈現 血紅色之半透明黏液狀。

#### 6-2 未來展望

本研究已經對椎間盤受到疲勞負載與休息後的流變性質作初步的探討,但本 研究使用一維的簡化模型加以分析,並無法完全得知椎間盤內部實際對負載之反 應情形。因此,未來欲得到更多椎間盤對疲勞負載之生物力學反應,可加入其它 的物理感測器於負載過程中,如壓力感測器等,便能得知椎間盤於動態疲勞負載 及靜態潛變測試過程中核內壓力改變情形,能提供椎間盤的相關研究上更多生物 力學反應資訊。

另外,本研究觀察出疲勞負載對椎間環所造成的傷害及材料性質的影響,也 能提供日後針對「椎間盤修復」之研究一項參考的指標。若能有效地探討修補軟 組織之間的連結與生物力學性能恢復情形的關聯,將是一項重要且有利的發展。

39

# 文獻參考

1. Adams MA. Biomechanics of back pain. Acupunct Med 2004;22:178-88.

2. Adams MA, Hutton WC. The effect of fatigue on the lumbar intervertebral disc. *J Bone Joint Surg Br* 1983;65:199-203.

3. Adams MA, Hutton WC. The effect of posture on the fluid content of lumbar intervertebral discs. *Spine* 1983;8:665-71.

4. Adams MA, Hutton WC. Prolapsed intervertebral disc. A hyperflexion injury 1981 Volvo Award in Basic Science. *Spine* 1982;7:184-91.

5. Adams MA, McMillan DW, Green TP, et al. Sustained loading generates stress concentrations in lumbar intervertebral discs. *Spine* 1996;21:434-8.

6. Adams MA, Roughley PJ. What is intervertebral disc degeneration, and what causes it? *Spine* 2006;31:2151-61.

7. Antoniou J, Steffen T, Nelson F, et al. The human lumbar intervertebral disc: evidence for changes in the biosynthesis and denaturation of the extracellular matrix with growth, maturation, ageing, and degeneration. *J Clin Invest* 1996;98:996-1003.

8. Ayotte DC, Ito K, Perren SM, et al. Direction-dependent constriction flow in a poroelastic solid: the intervertebral disc valve. *J Biomech Eng* 2000;122:587-93.

9. Beckstein JC, Sen S, Schaer TP, et al. Comparison of animal discs used in disc research to human lumbar disc: axial compression mechanics and glycosaminoglycan content. *Spine* 2008;33:E166-73.

10. Botsford DJ, Esses SI, Ogilvie-Harris DJ. In vivo diurnal variation in intervertebral disc volume and morphology. *Spine* 1994;19:935-40.

11. Broberg KB. Slow deformation of intervertebral discs. *J Biomech* 1993;26:501-12.

12. Callaghan JP, McGill SM. Intervertebral disc herniation: studies on a porcine model exposed to highly repetitive flexion/extension motion with compressive force. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2001;16:28-37.

13. Cassidy JJ, Hiltner A, Baer E. The response of the hierarchical structure of the intervertebral disc to uniaxial compression. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 1990;1:69-80.

14. Chen W-C, Wang J-L. The effect of intervertebral disc herniation on the disc performance and spine biomechanics. Graduate Institute of Biomedical Engineering College of Medicine and Engineering Taipei: National Taiwan University 2006:64.

15. Dath R, Ebinesan AD, Porter KM, et al. Anatomical measurements of porcine lumbar vertebrae. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2007;22:607-13.

16. Dhillon N, Bass EC, Lotz JC. Effect of frozen storage on the creep behavior of human intervertebral discs. *Spine* 2001;26:883-8.

17. Ekstrom L, Kaigle A, Hult E, et al. Intervertebral disc response to cyclic loading--an animal model. *Proc Inst Mech Eng [H]* 1996;210:249-58.

18. Elliott DM, Sarver JJ. Young investigator award winner: validation of the mouse and rat disc as mechanical models of the human lumbar disc. *Spine* 2004;29:713-22.

19. Gallagher S, Marras WS, Litsky AS, et al. Torso flexion loads and the fatigue failure of human lumbosacral motion segments. *Spine* 2005;30:2265-73.

20. Goel VK, Monroe BT, Gilbertson LG, et al. Interlaminar shear stresses and laminae separation in a disc. Finite element analysis of the L3-L4 motion segment subjected to axial compressive loads. *Spine* 1995;20:689-98.

21. Hansson TH, Keller TS, Spengler DM. Mechanical behavior of the human lumbar spine. II. Fatigue strength during dynamic compressive loading. *J Orthop Res* 1987;5:479-87.

22. Hilton RC, Ball J. Vertebral rim lesions in the dorsolumbar spine. *Ann Rheum Dis* 1984;43:302-7.

23. Jensen MC, Brant-Zawadzki MN, Obuchowski N, et al. Magnetic resonance imaging of the lumbar spine in people without back pain. *N Engl J Med* 1994;331:69-73.

24. Johannessen W, Cloyd JM, O'Connell GD, et al. Trans-endplate nucleotomy increases deformation and creep response in axial loading. *Ann Biomed Eng* 2006;34:687-96.

25. Johannessen W, Vresilovic EJ, Wright AC, et al. Intervertebral disc mechanics are restored following cyclic loading and unloaded recovery. *Ann Biomed Eng* 2004;32:70-6.

26. Keller TS, Spengler DM, Hansson TH. Mechanical behavior of the human lumbar spine. I. Creep analysis during static compressive loading. *J Orthop Res* 1987;5:467-78.

27. Kusaka Y, Nakajima S, Uemura O, et al. Intradiscal solid phase displacement as a determinant of the centripetal fluid shift in the loaded intervertebral disc. *Spine* 2001;26:E174-81.

28. Kwan M, Michael Lai W, Van Mow C. Fundamentals of fluid transport through cartilage in compression. *Annals of Biomedical Engineering* 1984;12:537-58.

29. Lings S, Leboeuf-Yde C. Whole-body vibration and low back pain: a systematic, critical review of the epidemiological literature 1992-1999. *Int Arch Occup Environ Health* 2000;73:290-7.

30. Liu YK, Njus G, Buckwalter J, et al. Fatigue response of lumbar intervertebral joints under axial cyclic loading. *Spine* 1983;8:857-65.

31. Luoma K, Riihimaki H, Luukkonen R, et al. Low back pain in relation to lumbar disc degeneration. *Spine* 2000;25:487-92.

32. MacLean JJ, Owen JP, Iatridis JC. Role of endplates in contributing to compression behaviors of motion segments and intervertebral discs. *J Biomech* 2007;40:55-63.

33. Malko JA, Hutton WC, Fajman WA. An in vivo magnetic resonance imaging study of changes in the volume (and fluid content) of the lumbar intervertebral discs during a simulated diurnal load cycle. *Spine* 1999;24:1015-22.

34. Malko JA, Hutton WC, Fajman WA. An in vivo MRI study of the changes in volume (and fluid content) of the lumbar intervertebral disc after overnight bed rest and during an 8-hour walking protocol. *J Spinal Disord Tech* 2002;15:157-63.

35. Masuoka K, Michalek AJ, MacLean JJ, et al. Different effects of static versus cyclic compressive loading on rat intervertebral disc height and water loss in vitro. *Spine* 2007;32:1974-9.

36. McLain RF, Yerby SA, Moseley TA. Comparative morphometry of L4 vertebrae: comparison of large animal models for the human lumbar spine. *Spine* 2002;27:E200-6.

37. McMillan DW, Garbutt G, Adams MA. Effect of sustained loading on the water content of intervertebral discs: implications for disc metabolism. *Ann Rheum Dis* 1996;55:880-7.

38. Moore RJ, Vernon-Roberts B, Fraser RD, et al. The origin and fate of herniated lumbar intervertebral disc tissue. *Spine* 1996;21:2149-55.

39. Mow VC, Kuei SC, Lai WM, et al. Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression? Theory and experiments. *J Biomech Eng* 1980;102:73-84.

40. Nordin M, Frankel VH, Leger D, et al. *Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System*. third ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
41. Osti OL, Vernon-Roberts B, Moore R, et al. Annular tears and disc degeneration in the lumbar spine. A post-mortem study of 135 discs. *J Bone Joint Surg Br* 1992;74:678-82.

42. Palmer EI, Lotz JC. The compressive creep properties of normal and degenerated murine intervertebral discs. *J Orthop Res* 2004;22:164-9.

43. Rajasekaran S, Babu JN, Arun R, et al. ISSLS prize winner: A study of diffusion in human lumbar discs: a serial magnetic resonance imaging study documenting the influence of the endplate on diffusion in normal and degenerate discs. *Spine* 2004;29:2654-67.

44. shen C-L. *Practical Anatomy*. third ed. Taipei: Farseeing Publishing CO., Ltd, 2002.

45. Soltz MA, Ateshian GA. Experimental verification and theoretical prediction of cartilage interstitial fluid pressurization at an impermeable contact interface in

confined compression. J Biomech 1998;31:927-34.

46. Urban JP, McMullin JF. Swelling pressure of the lumbar intervertebral discs:
influence of age, spinal level, composition, and degeneration. *Spine* 1988;13:179-87.
47. van der Veen AJ, Mullender M, Smit TH, et al. Flow-related mechanics of the

intervertebral disc: the validity of an in vitro model. Spine 2005;30:E534-9.

48. van der Veen AJ, van Dieen JH, Nadort A, et al. Intervertebral disc recovery after dynamic or static loading in vitro: is there a role for the endplate? *J Biomech* 2007;40:2230-5.

49. Videman T, Nurminen M. The occurrence of anular tears and their relation to lifetime back pain history: a cadaveric study using barium sulfate discography. *Spine* 2004;29:2668-76.

50. Vresilovic EJ, Johannessen W, Elliott DM. Disc mechanics with trans-endplate partial nucleotomy are not fully restored following cyclic compressive loading and unloaded recovery. *J Biomech Eng* 2006;128:823-9.

51. Wilke HJ, Neef P, Caimi M, et al. New in vivo measurements of pressures in the intervertebral disc in daily life. *Spine* 1999;24:755-62.

52. Wu T-K, Wang J-L. The Effect of Fatigue Loading and Rest on The Shock Attenuation of Intervertebral Disc. Graduate Institute of Biomedical Engineering College of Medicine and Engineering Taipei: National Taiwan University 2007:46.

53. Yoshizawa H, O'Brien JP, Smith WT, et al. The neuropathology of intervertebral discs removed for low-back pain. *J Pathol* 1980;132:95-104.

54. Yu CY, Tsai KH, Hu WP, et al. Geometric and morphological changes of the intervertebral disc under fatigue testing. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2003;18:S3-9.