

文章编号:1004-7220(2011)04-0349-06

孔隙率对多孔镍钛合金力学性能及离子析出量的影响

徐 玮¹, 石新莹¹, 关锐峰², 张新平², 赵 克¹

(1. 中山大学 光华口腔医学院附属口腔医院, 口腔医学研究所, 广州 510055; 2. 华南理工大学 材料科学与工程学院, 广州 510640)

摘要: 目的 筛选生物力学相容性优良的颌骨内植入用多孔镍钛合金, 比较二氧化钛 (TiO₂) 与羟基磷灰石 (HA) 涂层后的镍离子析出量。方法 采用粉末冶金法制备多孔镍钛合金, 用金相显微镜观察孔隙形貌, 进行压缩与抗折破坏实验, 记录其弹性模量与断裂强度值; 采用溶胶-凝胶法分别涂覆 TiO₂ 与 HA 涂层, 测定 1、3、7、15 d 镍离子析出量。结果 孔隙由相互连通的 50~200 μm 大孔和 ~50 μm 微孔组成, 孔隙率为 (23.5 ± 5.24)% ~ (38.8 ± 1.82)%; 弹性模量为 (9.55 ± 0.19) ~ (4.28 ± 0.32) GPa, 断裂强度值为 (133 ± 6.75) ~ (80.5 ± 5.58) MPa。表面涂层组与未涂层组比较, 离子析出量显著降低; 氧化钛与羟基磷灰石涂层组间差异无统计学意义。结论 随造孔剂增加, 孔隙率增大, 多孔镍钛合金的力学性能呈下降趋势; 涂层能有效抑制多孔镍钛材料中镍离子析出。

关键词: 镍钛; 孔隙率; 弹性模量; 断裂强度; 生物力学; 力学测试; 生物相容性

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

Effect of different porosities on mechanical properties and ion release of porous NiTi alloy

XU Wei¹, SHI Xin-ying¹, GUAN Rui-feng², ZHANG Xin-ping², ZHAO Ke¹ (1. *Research Institute of Stomatology, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510055, China*; 2. *Department of Material Science and Engineering, School of Mechanical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China*)

Abstract: Objective To prepare the porous NiTi alloy with good biocompatibility for jaw bone implantation and compare the amount of the nickel ion release from NiTi alloy with TiO₂ or HA coatings, respectively. **Methods** The porous NiTi samples were fabricated by powder metallurgy and the morphological characteristics were observed by metallographic microscope and X-ray dispersive spectroscopy (XRD). The elastic modulus and fracture strength of the porous NiTi samples were recorded after the compression test. By sol-gel method, TiO₂ or HA coatings were obtained on the porous NiTi samples, and the amount of nickel ion release from the samples was measured at 1, 3, 7, 15 d, respectively. **Results** The pores were interconnected with the pore size of 50~200 μm and ~50 μm. The porosities of porous NiTi samples ranged from (23.5 ± 5.24)% to (38.8 ± 1.82)%, the elastic modulus from (9.55 ± 0.19) GPa to (4.28 ± 0.32) GPa, the fracture strength from (133 ± 6.75) MPa to (80.5 ± 5.58) MPa ($P < 0.05$). The amount of nickel ion release from porous NiTi samples with HA or TiO₂ coatings were obviously lower than that of porous NiTi samples uncoated. There were no statistic differences between HA-coating group and TiO₂-coating group ($P > 0.05$). **Conclusions** The mechanical properties of porous NiTi alloy declined with the increase of pore-forming agent and porosity. Coating treatment could effectively inhibit the release of nickel ion from the porous NiTi alloy.

Key words: NiTi; Porosity; Elastic modulus; Fracture strength; Biomechanics; Mechanical testing; Biocompatibility

收稿日期: 2011-02-10; 修回日期: 2011-03-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (50671037)。

通讯作者: 赵克, Tel: (020)83802805; E-mail: zhaoke@mail.sysu.edu.cn; 张新平, Tel: (020)22236396; E-mail: mexzhang@scut.edu.cn。

颌骨内植入材料需与人颌骨的生物力学性能相匹配。然而,目前口腔临床应用的植入材料主要是纯钛或钛合金,其弹性模量远高于骨皮质和骨松质。多孔镍钛合金具有较低的弹性模量,且可模拟颌骨多孔性结构^[1-2],利于骨细胞长入,为其作为颌骨内植入材料提供了可能性^[3-5]。但孔隙结构对材料的力学性能(尤其是弹性模量)有很大影响^[6]。孔隙率小,材料的弹性模量与颌骨相差较大,将导致界面间应力集中;孔隙率大,则影响到材料强度,不足以承受殆力负载。适于颌骨内植入用多孔镍钛合金的孔隙率范围、孔径大小及其对力学性能的影响等问题仍未明确,需要深入系统的研究。

镍钛合金中的镍离子释放一直是临床医师的顾虑^[7]。将镍钛合金应用于临床前,必须对材料进行表面改性以抑制镍离子析出。

本研究采用常规粉末冶金法制备多孔镍钛合金,通过调整烧结参数及造孔剂含量筛选生物力学相容性优良、适于颌骨内植入用的多孔镍钛合金材料,并采用溶胶-凝胶法在其表面分别进行二氧化钛(TiO₂)涂层和羟基磷灰石(HA)涂层,比较两者的离子析出量。

1 材料和方法

1.1 主要材料及仪器

Ni粉(直径61 μm,纯度99.9%),Ti粉(直径50 μm,纯度99.9%),NH₄HCO₃颗粒(~200 μm),氩气(纯度99.9%),AG-X电子万能材料试验机(SHIMADZU,日本),DFC320金相显微镜(Leica,德国),数控线切割机床(宁波海曙富茂机械有限公司,中国),CARY50紫外分光光度计(Varian,美国),模拟体液(自配)。

1.2 镍钛试件制备

以Ni粉和Ti粉为主要原料,按50.8:49.2的等原子比配置,筛选质量分数1%、2%、2.5%、5%、7.5%、10%的NH₄HCO₃颗粒作为造孔剂定为6组试件(A、B、C、D、E、F组),分别置于V型高效混合机充分搅拌至混合均匀。利用液压式万能材料试验机在室温下单向冷等静压压制成型,压制压力200 MPa,形成生坯。将生坯放入高温管式烧结炉于高纯保护氩气中加热至543 K保温1 h,梯级升温方式升至1 000 K保温3 h,随炉冷却获得多孔镍钛合金试样。

1.3 显微观察

烧结后的试样分别经丙酮、75%乙醇溶液、去离子水超声清洗5 min各3次,依次用200#、360#、600#、800#、1 000#、1 200#、1 500#的碳化硅砂纸沿试样长轴方向抛光,高温烘箱干燥,用X射线衍射仪(X-ray dispersive spectroscopy, XRD)作物相分析,金相显微镜下进行显微观测,利用Image J软件获得试件的孔径范围。

1.4 孔隙率测定

将线切割后的试样按GB/T1966-1996^[7]测定表观密度,孔隙率通过公式计算:

$$P = \left(1 - \frac{\rho}{\rho_0}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中: ρ 为样品的表观密度,由样品质量和体积所决定; ρ_0 为镍钛合金的理论密度,Ni与Ti的摩尔比为50.8:49.2的镍钛合金的理论密度为6.45 g/cm³。

1.5 压缩弹性模量测定

采用数控线切割法加工多孔镍钛合金6组(A~F组)与纯钛组(G组)试件,打磨、抛光至 $\varnothing(4 \pm 0.2) \text{ mm} \times h(12 \pm 0.25) \text{ mm}$ 圆柱体,每组5个试件。

利用电子万能试验机单向加载至试件断裂,试验机连接的Trapezium软件采集并分析加载过程信号,获取材料压缩时的弹性模量值及应力-应变曲线。

1.6 抗折破坏实验

采用数控线切割法加工多孔镍钛合金6组(A~F组)与纯钛组(G组)试件,打磨、抛光至 $(25 \pm 0.2) \text{ mm} \times (4 \pm 0.2) \text{ mm} \times (3 \pm 0.2) \text{ mm}$,每组5个试件。

将试件逐一置于自行改装的抗折破坏实验装置支承台上,支承点直径2.5 mm,宽度10 mm,两支承点间距为20 mm。调整试验机实验台上方的直径为2.5 mm、宽度为10 mm的硬质不锈钢加载头使之接触试件表面。加载头中心点位于支承点中心连线的中点,载荷方向垂直于试件长轴,以0.5 mm/min的速率垂直加载至试件破坏(见图1)。按照下式计算各试件的断裂强度值:

$$\sigma_f = \frac{3Fl}{2bh^2} \quad (2)$$

式中: σ_f 为材料的断裂强度值(MPa); F 为破坏

时的载荷值(N); l 为2个支承点的中心距离(mm); b 为试件宽度(mm); h 为试件厚度(mm)。Trapezium自动记录最大载荷,即材料的断裂强度值。

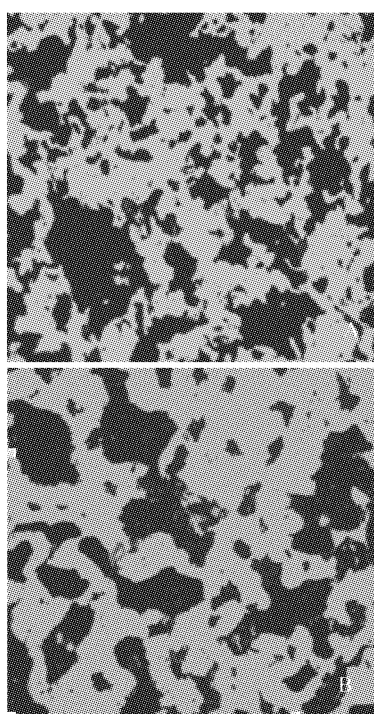


图1 多孔镍钛合金显微金相结构(A: 50×, B: 100×)
 Fig.1 Metallographic micrographs of porous NiTi alloy (A: 50×, B: 100×)

1.7 离子析出试验

采用数控线切割法加工多孔镍钛合金 A~F 组及未加造孔剂的镍钛合金(G组)试件,打磨、抛光至 $\varnothing(12 \pm 0.2)$ mm $\times h(2 \pm 0.1)$ mm,每组10个试件。

将 A~F 组每组5个试件超声震荡清洗,分别置于 TiO₂ 及 HA 溶液中浸泡,24 h 后充分干燥后于 1 300 °C 快速升温管式烧结炉中梯度升温至 500 K,保温 1 h,随炉冷却至室温;重复 5 次,采用溶胶-凝胶法制备 TiO₂ 涂层及 HA 涂层。

利用棉丝将试件悬挂到 30 mL 模拟体液(saturated body fluid, SBF)中进行离子析出量试验,温度恒定在(37 ± 0.5) °C。

每间隔一定的时间(1, 3, 7, 15 d)从浸泡液中吸取 15 mL 溶液,加 5 mL 丁二酮肟溶液作为镍显色

剂,震荡摇匀,置于 1 cm 比色皿中,利用波长设为 550 nm 分光光度计,以新鲜 SBF 溶液为参比,测定吸光度值 A。浸泡液中补充相应新鲜 SBF 溶液,维持恒定的体积比,以保证恒定的析出速率。

1.8 统计分析

采用 SPSS 16.0 软件经 Kruskal-Wallis 检验分析和 Bonferroni 检验进行组间比较对实验结果作统计分析,检验水准取双侧 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 显微结构

金相显微镜下见孔隙分布较均匀,形貌规则,连通性好(见图1);孔隙多由相互连通的 50~200 μm 大孔和分布于大孔周围孤立存在的 ~ 50 μm 微孔组成。XRD 物相分析结果显示,多孔镍钛合金主要成分相为 B₂ 和 B'₁₉,少量的杂质相 Ni₄Ti₃、Ni₃Ti 及 NiTi₂(见图2)。

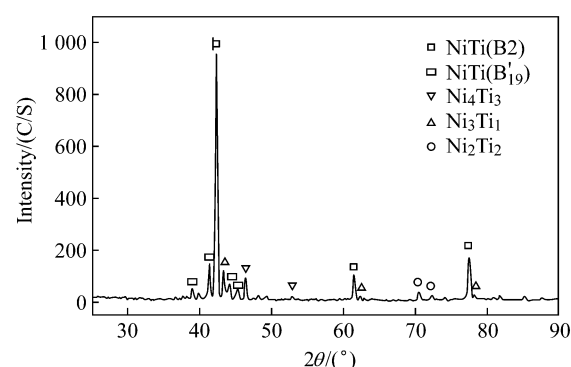


图2 多孔镍钛合金 X 射线衍射物相分析图谱
 Fig.2 XRD spectrum of porous NiTi alloy

2.2 孔隙率

根据公式(1)获得 A~F 组试件的表现密度及孔隙率见表1。

2.2.1 多孔镍钛合金与纯钛试件压缩弹性模量

A~F 组试件的弹性模量值见表1;G 组纯 Ti 试件的弹性模量为(112.59 ± 0.86) GPa。

2.2.2 多孔镍钛合金与纯钛试件断裂强度

按式(2)获得 A~F 组多孔镍钛合金与 G 组纯 Ti 试件的断裂强度值分别为(133 ± 6.75), (130 ± 7.16), (113 ± 3.32), (102 ± 7.88), (83.8 ± 4.56), (80.5 ± 5.58), (262 ± 8.76) MPa(见图3)。

表1 不同含量造孔剂制备的多孔镍钛合金表现密度、孔隙率及压缩弹性模量值

Tab.1 Bulk density, porosity and elastic modulus of porous NiTi samples with different amount of pore-forming agent

组别	表现密度/(g·cm ⁻³)	孔隙率/%	压缩弹性模量/MPa
A	4.59 ± 0.02	23.5 ± 0.52	9.55 ± 0.19
B	4.55 ± 0.01	23.9 ± 0.37	8.78 ± 0.35
C	4.41 ± 0.01	24.3 ± 0.29	8.76 ± 0.69
D	4.18 ± 0.02	35.2 ± 0.60	8.40 ± 0.04
E	4.05 ± 0.02	37.3 ± 0.10	5.10 ± 0.28
F	3.95 ± 0.01	38.8 ± 0.27	4.28 ± 0.33

注:A组为造孔剂1%,B组为造孔剂2%,C组为造孔剂2.5%,D组为造孔剂5%,E组为造孔剂7.5%,F组为造孔剂10%

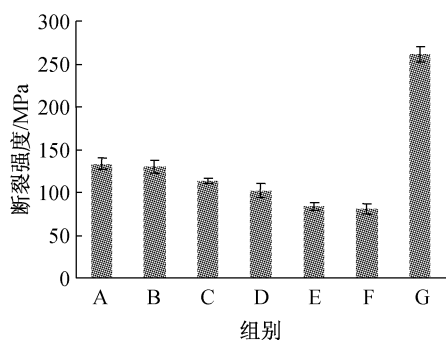


图3 多孔镍钛合金断裂强度随孔隙率变化图 (A组为造孔剂1%,B组为造孔剂2%,C组为造孔剂2.5%,D组为造孔剂5%,E组为造孔剂7.5%,F组为造孔剂10%,G组为纯钛组)

Fig.3 Comparison of fracture strength of porous NiTi samples with different porosities (Group A: 10% NH₄HCO₃, Group B: 10% NH₄HCO₃, Group C: 10% NH₄HCO₃, Group D: 10% NH₄HCO₃, Group E: 10% NH₄HCO₃, Group F: 10% NH₄HCO₃, Group G: Pure titanium)

2.2.3 离子析出实验

分别获得 TiO₂ 层及 HA 涂层多孔 NiTi 合金材料各组试件的离子析出量及标准差,如表 2~3 所示。

3 讨论

颌骨内植入用材料的应用与其生物力学性能和生物相容性息息相关。理想的颌骨内植入用材料应具有良好的生物力学相容性,形成良好的骨整合,才能承受一定的殆力负载。多孔材料与人体骨骼多孔性结构近似,有利于诱导新生骨组织长入,且在界面

表2 TiO₂ 涂层多孔镍钛合金不同时间段离子析出量 (单位:ng/mL)Tab.2 Ion release of porous NiTi samples with TiO₂ coatings at different time

组别	1 d	3 d	7 d	15 d
A	4.6 ± 0.01	6.9 ± 0.02	7.4 ± 0.03	7.8 ± 0.02
B	6.9 ± 0.01	7.1 ± 0.11	8.4 ± 0.04	8.9 ± 0.01
C	7.5 ± 0.03	8.5 ± 0.21	9.1 ± 0.02	9.4 ± 0.03
D	11.8 ± 0.21	16.4 ± 0.01	17.7 ± 0.04	18.3 ± 0.06
E	23.5 ± 0.07	40.9 ± 0.03	44.5 ± 0.11	45.5 ± 0.21
F	55.8 ± 0.09	112 ± 0.14	122 ± 0.10	123 ± 0.20
G	123 ± 0.19	133 ± 0.11	143 ± 0.11	144 ± 0.17

注:A组为造孔剂1%,B组为造孔剂2%,C组为造孔剂2.5%,D组为造孔剂5%,E组为造孔剂7.5%,F组为造孔剂10%,G组为对照组(未涂层多孔 NiTi 合金试件组)

表3 HA 涂层多孔镍钛合金试件不同时间段离子析出量 (单位:ng/mL)

Tab.3 Ion release of porous NiTi samples with HA coatings at different time

组别	1 d	3 d	7 d	15 d
A	3.8 ± 0.09	6.2 ± 0.19	7.5 ± 0.11	7.6 ± 0.15
B	6.5 ± 0.19	6.9 ± 0.21	8.2 ± 0.07	8.6 ± 0.21
C	7.3 ± 0.21	8.1 ± 0.13	9.3 ± 0.14	9.0 ± 0.13
D	10.9 ± 0.17	15.9 ± 0.08	16.9 ± 0.19	17.8 ± 0.17
E	22.5 ± 0.16	40.9 ± 0.21	43.4 ± 0.14	45.1 ± 0.19
F	53.9 ± 0.07	109 ± 0.11	123 ± 0.22	123 ± 0.12
G	112 ± 0.15	132 ± 0.19	141 ± 0.21	144 ± 0.23

注:A组为造孔剂1%,B组为造孔剂2%,C组为造孔剂2.5%,D组为造孔剂5%,E组为造孔剂7.5%,F组为造孔剂10%,G组为对照组(未涂层多孔 NiTi 合金试件组)

间形成机械锁结作用,增加了植入材料的表面积和界面接触面积,使两者结合更加紧密。有研究者通过与非多孔材料的比较,观察到纤维细胞、血管组织、红细胞等呈乳头状长入有孔材料表面的孔隙内;而与表面孔隙相通深部孔隙内,也可见组织的长入^[2,9]。

有研究者认为,适合骨细胞生长的孔径范围在 100~500 μm,而孔径小于 100 μm 则有利于纤维结缔组织的连接^[10]。Stangl 等^[11] 研究结果显示,200 μm 孔径对人成骨细胞在材料表面的黏附生长

最为有利,且孔隙的形状也会引起细胞生物学行为的明显变化。但孔隙率大小对多孔植入材料力学性能及骨细胞粘附生长的影响仍未有定论, Wirtha等^[10]认为,多孔植入材料的孔隙率范围应在30%~90%。

本实验采用常规粉末冶金法结合 NH_4HCO_3 造孔剂技术制备多孔镍钛合金材料,获得的试样孔隙特征可控性好,呈三维网络状均匀分布,孔隙间有较好的连通,利于养分、水分的运输及骨组织的长入,以实现组织和植入体间的牢固结合。XRD物相分析表明结果显示,多孔镍钛合金主要成分相是 B_2 和 B'_9 ,仅包含少量粉末混合烧结法在烧结初期因Ni、Ti相互扩散所不可避免的杂质相。孔隙率随造孔剂含量的增加而增大。所制备的多孔镍钛合金的孔隙率范围在 $(23.51 \pm 0.52)\%$ ~ $(38.83 \pm 0.27)\%$,接近人体骨的孔隙范围30%~90%。50~200 μm 及以上的大孔,由材料颗粒及 NH_4HCO_3 造孔剂的高温分解产生,其形貌主要受制于的 NH_4HCO_3 颗粒;还有少部分可能是原料粉末在高温烧结过程中发生液相的流动造成^[3]。50 μm 以下的孔隙,可能为压制过程中颗粒间隙造成。局部孔隙的内侧表面不够平整,存在着轻微的褶皱和沟壑,使试件表面积增大。

有研究结果显示,低弹性模量的植入材料有利于将界面应力传递至周围骨组织,减少界面间应力集中现象的发生^[12]。人颌骨骨松质的弹性模量不足3 GPa,骨密质则在12~17 GPa,抗压强度为3~20 MPa,而如今临床应用较多的纯钛植入材料其弹性模量为110 GPa,远远大于人颌骨的弹性模量,使颌骨内植入材料承受并传到咬合力时容易导致界面骨组织的慢性疲劳破坏(chronic fatigue damage)^[13-14]。本实验中随着造孔剂的增加和孔隙率的增大,弹性模量减小,当加入造孔剂质量分数低于5%时,多孔镍钛合金弹性模量在5~10 GPa,显著低于纯钛试件,适合于颌骨内植入^[14]。

制备的多孔镍钛合金,当造孔剂含量低时,断裂强度为 (133 ± 6.75) MPa,远高于牙釉质的断裂强度75.8 MPa^[15],能较好地适应口腔内环境,承受殆力负载。但由于其还不能达到牙本质的断裂强度266 MPa^[15],因此不建议过度负载。但应注意的是,随着孔隙率增加,断裂强度呈下降趋势。

本研究表明,加入的造孔剂越多,试件孔隙率越大,多孔镍钛合金的弹性模量及压缩强度越低。因此,制备多孔镍钛合金时应注意加入的造孔剂含量,否则将严重影响颌骨内植入用多孔镍钛合金力学性能。本研究所制备的多孔镍钛合金具有与颌骨接近的弹性模量,利于将承受的功能负荷传递到骨组织内部。

溶胶-凝胶法制备 TiO_2 和HA涂层的方法简便易行且合成温度低,避免了杂质引入^[15]。实验结果显示,A~F组试件在1,3,7,15 d的离子析出量均有所降低;随着孔隙率的增加,多孔镍钛合金的镍离子析出量相应增多,差异有统计学意义,提示孔隙率对多孔镍钛材料中镍离子的析出有影响。正如显微观察所见,孔隙率相对较大的多孔镍钛合金组,孔隙直径更大、分布更广,与SBF接触的面积更多,为镍离子析出提供的可能性更大。随浸泡时间增加,离子析出量有递增趋势。与未经涂层处理的多孔镍钛合金材料组比较,经涂层处理后多孔镍钛合金的镍离子析出量有明显改善,差异有统计学意义,提示涂层处理能有效抑制颌骨内植入用多孔镍钛材料中镍离子的析出。

参考文献:

- [1] Inaekyan K, Brailovski V, Prokoshkin S, *et al.* Characterization of amorphous and nanocrystalline Ti-Ni-based shape memory alloys [J]. *J Alloys Compounds*, 2009,473(1-2):71-78.
- [2] Zanotti C, Giuliani P, Bassani P, *et al.* Comparison between the thermal properties of fully dense and porous NiTi SMAs [J]. *Intermetallics*, 2010,18(1):14-21.
- [3] Zhang YP, Yuan B, Zeng MQ, *et al.* High porosity and large pore size shape memory alloys fabricated by using pore-forming agent (NH_4HCO_3) and capsule-free hot isostatic pressing [J]. *J Mater Process Technol*, 2007,192-193(1):439-442.
- [4] Esenwein SA, Bogdanski D, Habijan T, *et al.* Influence of nickel ion release on leukocyte activation: A study with coated and non-coated NiTi shape memory alloys [J]. *Mater Sci Eng*, 2008, 481-482:612-615.
- [5] Sauli Kujala, Ari Pajala, Matti Kallioinen, *et al.* Biocompatibility and strength properties of nitinol shape memory alloy suture in rabbit tendon [J]. *Biomaterials*, 2005,25(2):353-358.

- [6] Liang CY, Yang Y, Wang HS, *et al.* Preparation of porous microstructures on NiTi alloy surface with femtosecond laser pulses [J]. *Chin Sci Bull*, 2008,53:700-705.
- [7] GB/T1966-1996, 多孔陶瓷显气孔率、容重试验方法[S].
- [8] ISO 10271-2001, Dental metallic materials-Corrosion test methods [S].
- [9] Swidera P, Pedronoa A, Mouzin O, *et al.* Biomechanical analysis of the shear behaviour adjacent to an axially loaded implant [J]. *J Biomech*, 2006,39(10):1873-1882.
- [10] Wirtha C, Comtea V, Lagneau C, *et al.* Nitinol surface roughness modulates in vitro cell response: A comparison between fibroblasts and osteoblasts [J]. *Mater Sci Eng*, 2005,25(1):51-60.
- [11] Stangl R, Rinne B, Kastl S, *et al.* The influence of pore geometry in cp Ti-implants a cell culture investigation [J]. *Eur Cell Mater*, 2001,2(2):1-9.
- [12] Lettry S, Seedhom BB, Berry E, *et al.* Quality assessment of the cortical bone of the human mandible [J]. *Bone*, 2003,32(1):35-44.
- [13] Misch CE, Zhimin Qu, Bidez MW. Mechanical properties of trabecular bone in the human mandible [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 1999,57(6):700-706.
- [14] 樊瑜波. 口腔生物力学[J]. 医用生物力学, 2007,22(2):119-120.
- [14] Fan YB. Dental biomechanics [J]. *J Med Biomech*, 2007,22(2):119-120.
- [15] Barry M, Kennedy D, Keating, *et al.* Design of dynamic test equipment for the testing of dental implants [J]. *Mater Design*, 2005,26(3):209-216.
- [16] 马轩祥, 赵钦民. 口腔修复学(第六版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005:42.

· 致读者 ·

医学论文写作中的注意事项

论文的写作前言主要概述研究的背景、目的、研究思路、理论依据等。有些研究还应说明该研究开始的具体时间。前方必须开门见、简要、清楚,切忌套话、空话、牵涉面过宽、详述历史过程或复习文献过多等。不要涉及本研究中的数据或结论。不要与摘要雷同。未经检索,前言中不可写“国内外未曾报道”等字样,也不可自我评价达到“xx水平”或“填补xx空白”等。前言通常不需要标题。论著文稿的前言一般不超过250字;比较短的论文可以只用小段文字起前言作用。

方法主要介绍研究对象(人或实验动物,包括对照组)的选择及其基本情况,以及研究所采用的方法及观察指标。常用标题有“材料与方法”、“对象与方法”、“资料与方法”等。

临床研究需交代病例和对照者的来源、选择标准及研究对象的年龄、性别和其他重要特征等,并注明参与研究者是否知情同意。临床随机对照组研究应交代干预方法(随机方法)和所采用的盲法。实验研究需注明动物的名称、种系、等级、数量、来源、性别、年龄、体重、饲养条件和健康状况等。

个人创造的方法应详细说明“方法”的细节,以备他人重复。改进的方法应详述改进之外,并以引用文献的方式给出原方法的出处。原封不动地使用他人方法,应以引用文献的方式给出方法的出处,无须展开描述。

药品、试剂应使用化学名,并注明剂量、单位、纯度、批号、生产单位和生产时间。仪器、设备应注明名称、型号、规格、生产单位、精密度或误差范围。无须描述其工作原理。

统计学处理项应说明统计分析方法及其选择依据。

结果的叙述应客观真实、简洁明了、重点突出、层次分明、合乎逻辑,不应与讨论内容混淆。若文稿设有图表,则正文不需重述其全数据,只需摘述其主要发现或数据。若使用文字描述,内容冗长烦琐不易读懂,则应改用图或表来表达数据,以收到一目了然的效果。应认真核对正文和图表的数据,达到准确、统一。统计学分析应交代统计方法、统计值,仅有P值不能体现重要的定量信息。

讨论应着重讨论研究中的新发现及从中得出的结论,包括发现的意义及其限度,以及对进一步研究的启示。若不能导出结论,出可以进行必要的讨论,提出建议、设想、改进的意见或待解决的问题。应将研究结果与其他有关的研究相联系,并将本研究的结论与目的相关联。不必重述已在前言和结果部分详述过的数据或资料。不要过多罗列文献。避免作不成熟的主观推断。讨论中一般不应设置图或表。