

·实验研究 Experimental research·

介入法犬股骨头坏死模型制作

马 坤, 顾建平, 苏浩波, 楼文胜, 何 旭,
陈 亮, 陈国平, 毛存南, 宋进华, 汪 涛

【摘要】 目的 应用介入方法建立犬股骨头坏死模型。方法 9 只成年杂种犬全麻后,分别通过股动脉 Seldinger 法穿刺插管,超选一侧股骨头供血动脉行平阳霉素灌注及明胶海绵栓塞处理,建立股骨头缺血坏死模型,对侧股骨头作对照。模型犬随机分为 3 组,每组 3 只,分别于栓塞术后 2、4、6 周处死。所有犬均于栓塞术前及术后每周行双侧髋关节 MRI 扫描,栓塞术前、术后即刻、处死前行双侧股骨头供血动脉 DSA 造影检查,最后一次造影结束处死动物,取双侧股骨头标本送病理学观察。结果 9 只犬均造模成功,术后所有栓塞动脉造影复查均未见再通。造模侧股骨头在术后 2 周出现早期病理学改变,术后 4 周 MRI 显示股骨头坏死异常信号,病理切片出现不同程度骨细胞及骨小梁坏死,术后 6 周病理切片可见坏死后增生及修复反应。结论 本法能成功制作出犬股骨头坏死模型,具有创伤小、造模方法简单、造模时间短、动物死亡率低等优点,是一种比较理想的造模方式。

【关键词】 股骨头坏死; 动物模型; 血管内介入; 犬

中图分类号:R681.8 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2009)-06-0470-04

Preparation of femoral head necrosis model in canine with endovascular technique MA Kun, GU Jian-ping, SU Hao-bo, LOU Wen-sheng, HE Xu, CHEN Liang, CHEN Guo-ping, MAO Cun-nan, SONG Jin-hua, WANG Tao. Department of Interventional Radiology, the Affiliated Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China

【Abstract】 Objective To establish a femoral head necrosis model in canine by using endovascular technique. Methods After general anesthesia, catheterization with Seldinger technique via femoral access was carried out in 9 healthy hybrid adult dogs. When super-selective catheterization of the feeding artery of one-side femoral head was accomplished, Pingyangmycin and gelfoam particles were injected through the catheter to embolize the artery, and the femoral head necrosis model was thus established, with the offside femoral head being served as control. The model dogs were randomly and equally divided into three groups. The dogs in group A, B and C were sacrificed in 2, 4 and 6 weeks after the procedure respectively. MRI scanning of both coax joints was performed in all dogs before the procedure and once a week after the procedure, while DSA examination of the feeding arteries of both femoral heads was carried out before and immediately after the embolization, as well as immediately before sacrifice. The femoral heads were taken out and sent for pathologic examination. Results The femoral head necrosis model was successfully established in all 9 dogs, and re-open of the embolized arteries was not found on follow-up DSA. Early pathological changes appeared 2 weeks after the operation. Pathologically, a greater or less degree of osteocyte and bone trabecula necrosis was observed 4 weeks after the procedure, which was manifested as abnormal signal indicating femoral head necrosis on MRI scan. Proliferation and restoration changes were seen on pathological section 6 weeks after the operation. Conclusion Canine model of femoral head necrosis can be prepared with endovascular technique. This technique is minimally-invasive, technically-simple and quickly-prepared with low mortality, therefore, it is an ideal preparation way. (J Intervent Radiol, 2009, 18: 470-473)

【Key words】 femoral head necrosis; animal model; endovascular technique; canine

股骨头坏死是由多种病因造成的股骨头缺血

和骨细胞坏死的病理过程,近年来该病发病率不断增高,发病年龄趋于年轻化。因其临床症状较重,致残率高,治疗困难,越来越引起医学界的重视。临床

作者单位:210006 南京医科大学附属南京第一医院介入科
通信作者:顾建平

治疗股骨头坏死的方法很多,但至今仍无完全令人满意的方法。良好的动物模型的建立是研究股骨头坏死发病机制及评价治疗效果的基础。但目前为止尚无较好的、被广为应用的股骨头坏死模型,因而限制了治疗方法的进一步发展^[1]。本研究采用介入方法制作犬股骨头坏死模型,方法如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物 健康成年杂种犬 9 只,16 ~ 20 月龄,体重 14 ~ 17 kg,雌雄不拘,由南京医科大学附属南京第一医院动物实验中心提供。

1.1.2 穿刺针及导管系统 日本 TEROMO 公司:18 G 血管穿刺针,4 F 血管鞘组,4 F 猪尾导管,4 F Cobra 导管,0.035 英寸超滑导丝;日本 TERUMO 公司:3 F Progreat 微导管。

1.1.3 对比剂及药品 盐酸氯胺酮注射液,3%戊巴比妥钠,40%复方泛影葡胺(60%复方泛影葡胺按 2:1 稀释),肝素,平阳霉素,明胶海绵。

1.1.4 仪器设备 意大利 Mecall DSA 一体机;美国 Marconi Eclipse 1.5T 超导型 MR 扫描机。

1.2 方 法

1.2.1 模型的建立 采用犬左侧股骨头造模,右侧股骨头作对照。造模前实验犬禁食 6 ~ 8 h。以盐酸氯胺酮 10 ~ 15 mg/kg 前肢浅静脉诱导麻醉及 3%戊巴比妥钠 30 mg/kg 静脉滴注维持麻醉后,将实验犬仰卧,固定绑扎于 DSA 检查床上。剪去犬右侧腹股沟区毛发,以 0.5%碘伏消毒后铺单,应用 Seldinger 法穿刺犬右侧股动脉后,置入 4 F 血管鞘,在 0.035 英寸超滑导丝引导下经鞘管插入 4 F 猪尾导管,将猪尾导管头端选择至腹主动脉下端分叉以上 2 cm 处,注入对比剂 40%泛影葡胺 30 ml 行腹主动脉和两侧后肢动脉造影,然后置换 4 F Cobra 导管,将 Cobra 导管头端分别超选择至左侧髂总动脉和髂正中动脉内行左后肢动脉造影,明确血管走行及左侧股骨头供血动脉各分支后,经导管引入 3 F 微导管,将微导管头端分别超选置入股骨头供血分支动脉主干内,缓注平阳霉素 4 mg 及 0.5 mm × 0.5 mm × 0.5 mm 明胶海绵颗粒约 20 颗行栓塞处理,栓塞术后造影示各分支动脉闭塞。撤除导管及鞘管,穿刺点加压包扎,实验犬送回动物实验中心饲养,术后 3 d 每天予肌注青霉素 80 万 u 预防感染。

1.2.2 MRI 检查 实验犬均于栓塞术前及术后每周行双侧髋关节 MRI 扫描。MR 磁场强度为 1.5T,

头相控阵线圈,采用 FSE 序列,常规横断面、冠状面扫描,T1 加权 (TR/TE) 为 500/40 ms,T2 加权为 3085/96 ms,T1 FSAT 为 500/40 ms,质子密度加权为 1485/12 ms,质子抑脂为 1485/12 ms。矩阵 256 × 256,FOV 20 cm,层厚 3.5 mm。

1.2.3 病理切片 模型犬随机分为 A、B、C 组,每组 3 只,分别于栓塞术后 2、4、6 周处死。实验犬处死后,取双侧股骨头标本(沿冠状面剖开),分别于 4%中性甲醛固定液中固定后,10%硝酸脱钙至切割无明显硬感为止,清水漂洗,石蜡包埋后切片,片厚 4 μm,常规 HE 染色,光镜观察。

2 结 果

2.1 造模结果

9 只实验犬术后无一发生感染或死亡,无一出现造模侧肢体坏死,均造模成功。栓塞造模后 1 周内犬精神状态差,食欲欠佳,造模侧肢体不能着地;1 周后精神状态及食欲较前逐渐好转,跛行较前逐渐恢复,并逐渐过渡到造模侧肢体能着地行走。

2.2 DSA 观察

通过造影观察,犬股骨头区血供主要来源于髂内动脉髋关节支和髂正中动脉髋关节分支,栓塞术前血管造影见两侧股骨头区供血动脉显影良好,实质期股骨头区染色均匀。栓塞术后造影见栓塞侧(左侧)髂内动脉分支及髂正中动脉髋关节分支主干远端均不显影,实质期栓塞侧股骨头无染色;术后 2、4、6 周造影复查均未见栓塞动脉再通,左侧髂正中动脉髋关节分支近端主干随时间延长缩细程度逐渐加重,6 周时完全闭塞,左侧髂内动脉主干明显变细(图 1)。

2.3 MRI 检查

栓塞术前及正常对照侧股骨头 T1、T2 加权像均表现为高信号,抑脂像均为低信号;栓塞术后 3 周内双侧股骨头信号与术前无明显差异;栓塞术后 4 周 6 只犬中 4 只犬栓塞侧(左侧)股骨头 T1、T2 加权像开始表现为弥漫性不均匀高低混杂信号,抑脂像同样表现为不均匀混杂信号;栓塞术后 5、6 周剩下 3 只犬栓塞侧股骨头 T1、T2 加权像均表现为混杂信号,且范围随时间延长而扩大,T1 加权像以低信号为主,T2 加权像以中低信号为主,抑脂像以中高信号为主(图 2)。

2.4 病理组织切片观察

模型正常对照侧股骨头可见骨小梁完整,排列规则,骨小梁中的骨细胞清晰可见,空骨陷窝少见,

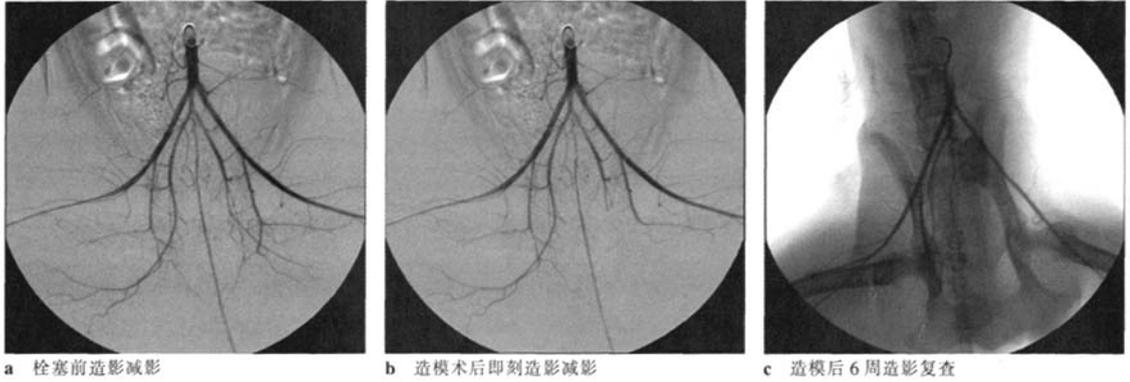


图 1 造模动物栓塞前后影像

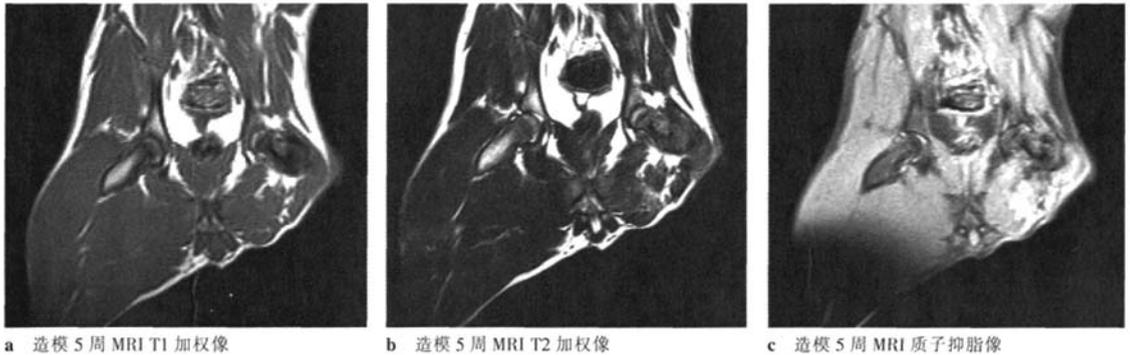
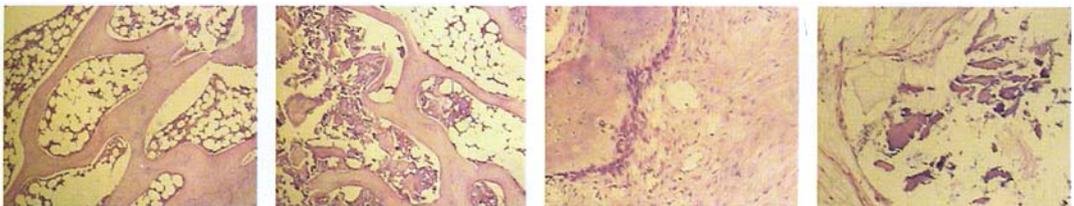


图 2 造模后 MRI

骨髓中造血细胞丰富;模型侧术后 2 周可见骨髓中造血干细胞坏死,脂肪细胞增大融合,部分坏死、溶解,骨小梁排列规则,开始出现少量空骨陷窝;术后 4 周可见不同程度的骨小梁中断、坏死,骨小梁间成片不定形坏死细胞碎片,骨小梁间的脂肪组织被不

定形的坏死细胞碎片取代;术后 6 周病理切片见死骨周围纤维组织增生,伴有反应性增粗的骨小梁及不定形的坏死细胞碎片,骨质边缘出现拥挤、增生的成骨细胞,细胞核染色深、核质比例增大(图 3)。



a 正常骨小梁及骨细胞(HE 染色 × 40) b 术后 4 周,骨细胞及骨小梁坏死(HE 染色 × 40) c 术后 6 周,成骨细胞增生(HE 染色 × 100) d 术后 6 周,死骨周围纤维组织增生(HE 染色 × 100)

图 3 造模前后股骨头组织学改变

3 讨论

人股骨头区血液供应的动脉有来自股深动脉的旋股内、外侧动脉及来自髂内动脉的髋关节分支,其最主要供血动脉是旋股内侧动脉。上述血管因其解剖特点,遭到破坏后不易重建,易导致股骨头缺血坏死的发生。临床股骨头坏死发病原因众多,股骨头区血供减少是股骨头坏死的共同特点^[2]。

在本实验中,通过选择性血管造影观察,犬股骨头区供血和人有所差异,其主要供血动脉由髂正

中动脉髋关节分支和髂内动脉髋关节支组成。本实验采用栓塞法造模,在栓塞上述 2 支动脉主干及分支前应先应用平阳霉素对目标血管进行灌注,起到祛血管化作用^[3],再用明胶海绵栓塞处理,术后 2、4、6 周造影证实栓塞段血管均完全闭塞,无一再通,且未见明显侧支代偿形成,血管闭塞效果确切。术后采用 MRI 对股骨头坏死进行观察,MRI 具有多轴位、多层面、多参数扫描的特点,对微小的水分差和脂肪成分差能产生高对比度,有较好的软组织分辨

率,在对股骨头坏死的早期诊断灵敏度及特异度上明显高于 X 线平片及 CT,是目前对人股骨头坏死早期诊断的首选影像学检查方法。股骨头 MRI 信号强度主要取决于骨髓内的脂肪成分,其信号改变主要反映的是脂肪细胞的死亡和代替^[4]。正常股骨头 MRI 上 T1、T2 加权像均为高信号,抑脂像脂肪信号被抑制,表现为低信号;本实验骨坏死初期(3 周内),脂肪细胞增大融合,部分坏死、溶解,但绝大部分坏死脂肪细胞的胞质膜和膜内脂肪仍然存在,此时缺血缺氧的化学变化未能引起髓内脂肪 MRI 上弛豫时间的变化,因此,此阶段股骨头 MRI 信号不会发生明显变化,同时也表明 MRI 在诊断早期股骨头坏死上尚存在一定限度。随骨坏死进展(4 周时),骨小梁中断、坏死,骨小梁间的脂肪组织被不定形的坏死细胞碎片取代,因脂肪组织缺失的不均匀性,此时股骨头 MRI 上出现弥漫性不均匀高低混杂信号;随骨坏死继续进展(5、6 周时),脂肪组织缺失增多、纤维组织增生及成骨反应等综合作用,MRI 上 T1 加权像以低信号为主,T2 加权像以中低信号为主,抑脂像以中高信号为主。本模型成模时间短,具备骨坏死及坏死后修复反应,成功建立了股骨头坏死模型,当骨吸收超过骨修复时,最终必然引起股骨头塌陷^[5]。

理想的动物模型除了要求在组织学上与人类股骨头坏死有相似性和可比性之外,还应包括:①符合人类股骨头坏死病变客观规律;②具有良好可重复性;③所选动物的解剖和生理特点应尽可能与人类相似;④经济、可行。目前股骨头坏死造模方法较多,常见有手术机械创伤法、液氮冷冻法、激素或激素联合辅助制剂诱导法、乙醇诱导法等。各种造模方法虽然均取得了一定的效果,但也不同程度存在一些问题,比如创伤大,造模过程复杂,或造模用时长、代价高,或模型动物耐受性差、存活率低^[6],又或模型病理组织学改变和自然股骨头坏死病程相差较远,有些造模方法尚存在争议^[7]。理想的股骨头坏死模型的缺乏限制了治疗学的进一步发展。而本实验采用介入栓塞股骨头供血动脉的方法造模,造模过程中股骨头区域损伤破坏小,保证了术后髋关

节的稳定性,实验动物在病程上接近人类的改变。本实验选用犬,耐受性好,造模后存活率高,9 只犬术后无一死亡。Suehiro 等^[8]通过实验,提出了髋关节承重是股骨头坏死的重要因素。本实验因造模创伤小,造模后 1 周内实验犬造模侧股骨头区由于急性缺血疼痛而导致患肢暂时不能着地,1 周后逐渐过渡到四足均能着地行走,保证了造模术后早期模型侧髋关节能得到适当的承重刺激。本实验的不足之处在于造模后观察时间不足,未能观察至股骨头坏死塌陷阶段,在以后的实验中需进一步完善。

介入法能成功制作出股骨头坏死模型,该造模方法简单,机制明确,成模时间短,对实验动物创伤小,术后动物死亡率低,且髋关节稳定性较好,并能在术后早期得到合理的负重刺激,实验动物在病程上接近人类的改变,是一种和人股骨头坏死病程相似的新型造模方法,能够用于股骨头坏死的治疗和病理学研究,值得推广应用。

【参考文献】

- [1] Jones LC, Hungerford DS. The pathogenesis of osteonecrosis[J]. Instr Course Lect, 2007, 56: 179 - 196.
- [2] 严学君, 刘兆玉, 吴振华, 等. 成人股骨头坏死的 MRI 表现与病理对照研究[J]. 中华放射学杂志, 1995, 29: 327 - 330.
- [3] 曾庆乐, 李彦豪, 陈勇, 等. 平阳霉素碘油乳剂注射治疗体表静脉畸形[J]. 介入放射学杂志, 2001, 10: 274 - 276.
- [4] Mont MA, Hungerford DS. Non-traumatic avascular necrosis of the femoral head[J]. J Bone Joint Surg, 1995, 77: 459 - 474.
- [5] Bowers JR, Dailianas ZH, McCarthy EF, et al. Drug therapy increases bone density in osteonecrosis of the femoral head in canines[J]. J Surg Orthop Adv, 2004, 13: 210 - 216.
- [6] 曹海利, 白彬, 孟巍. 激素性股骨头缺血坏死性动物模型的动物实验研究[J]. 医学影像学杂志, 2008, 18: 183 - 186.
- [7] Kabata T, Kubo T, Matsumoto T, et al. Onset of steroid-induced osteonecrosis in rabbits and its relationship to hyperlipaemia and increased free fatty acids[J]. Rheumatology(Oxford), 2005, 44: 1233 - 1237.
- [8] Suehiro M, Hirano T, Mihara K, et al. Etiologic factors in femoral head osteonecrosis in growing rats [J]. Orthop Sci, 2000, 5: 52 - 56.

(收稿日期:2008-12-22)

介入法犬股骨头坏死模型制作

作者: [马坤](#), [顾建平](#), [苏浩波](#), [楼文胜](#), [何旭](#), [陈亮](#), [陈国平](#), [毛存南](#), [宋进华](#), [汪涛](#),
 , [MA Kun](#), [GU Jian-ping](#), [SU Hao-bo](#), [LOU Wen-sheng](#), [HE Xu](#), [CHEN Liang](#),
[CHEN Guo-ping](#), [MAO Cun-nan](#), [SONG Jin-hua](#), [WANG Tao](#)

作者单位: [南京医科大学附属南京第一医院介入科, 210006](#)

刊名: [介入放射学杂志](#) **ISTIC PKU**

英文刊名: [JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY](#)

年, 卷(期): 2009, 18(6)

被引用次数: 1次

参考文献(8条)

1. Jones LC, Hungerford DS [The pathogenesis of osteonecrosis](#) 2007
2. 严学君, 刘兆玉, 吴振华 [成人股骨头坏死的MRI表现与病理对照研究](#) 1995
3. 曾庆乐, 李彦豪, 陈勇 [平阳霉素碘油乳剂注射治疗体表静脉曲张畸形\[期刊论文\]-介入放射学杂志](#) 2001
4. Mont MA, Hungefford DS [Nan-traumatic avascular necrosis of the femoral head](#) 1995
5. Bowers JR, Dailianas ZH, McCarthy EF [Drug therapy increases bone density in osteonecrosis of the femoral head in canines](#) 2004
6. 曹海利, 白彬, 孟巍 [激素性股骨头缺血坏死性动物模型的动物实验研究\[期刊论文\]-医学影像学杂志](#) 2008
7. Kabata T, Kubo T, Matsumoto T [Onset of steroid-induced osteonecrosis in rabbits and its relationship to hyperlipaemia and increased free fatty acids](#) 2005
8. Suehiro M, Hirano T, Mihara K [Etiologic factors in femoral head osteonecrosis in growing rats](#) 2000

相似文献(10条)

1. 期刊论文 [李鸿帅](#), [张长青](#), [LI Hong-shuai](#), [ZHANG Chang-qing](#) [股骨头坏死动物模型研究进展 - 国际骨科学杂志](#) 2006, 27(3)

各种股骨头坏死治疗新方法的发展基于能够模拟人股骨头坏死自然病程的动物模型。通过外科手术或化学药物使动物股骨头坏死并不困难,但建立一种与人股骨头坏死发展相似的、能够逐步进展至晚期关节面塌陷的动物模型却十分困难。目前报道的各种四足动物模型均无法模拟人股骨头坏死逐步进展至晚期的关节面塌陷,两足大型动物鹌鹑股骨头坏死模型的成功使生物力学因素在股骨头坏死过程中的作用受到重视。该文就不同动物模型的特点、优缺点及其主要的建模方法作一综述。

2. 期刊论文 [李传将](#), [王万明](#), [庄颜峰](#), [李政](#), [李杰](#), [Li Chuan-jiang](#), [Wang Wan-ming](#), [Zhuang Yan-feng](#), [Li Zheng](#), [Li Jie](#) [改良激素性股骨头坏死动物模型的建立与评价 - 中国组织工程研究与临床康复](#) 2010, 14(24)

背景:在股骨头坏死发病机制的研究中,目前仍缺乏有效的动物模型,各种股骨头坏死治疗新方法的发展需要能够模拟人股骨头坏死自然病程动物模型的基础实验。目的:通过联合应用马血清和低剂量甲强龙的松龙建立激素性兔股骨头缺血性坏死动物模型。方法:20只健康日本大白兔随机分成2组。实验组动物注入马血清,间隔2周后,再次注入马血清,第1次注射马血清后24 h肌肉注射甲强龙的松龙,每隔1周注射1次,共8周。对照组动物单纯注射同等量的生理盐水。于第1次注射马血清前、注射甲强龙的松龙后2, 4, 8周行血液学检查。并分别于注射甲强龙的松龙后4, 8周行MRI检查、苏木精-伊红染色和电镜观察股骨头缺血坏死情况。结果与结论:与对照组比较,2, 4, 8周实验组三酰甘油、胆固醇均明显上升($P < 0.05$);激活部分凝血酶时间则明显下降($P < 0.05$)。4周实验组MRI显示部分动物可见局部信号改变,8周时可见皮质下出血;与对照组比较,4, 8周实验组骨髓周围有坏死的骨髓细胞碎片存在,空骨陷窝率逐渐增加($P < 0.01$);4周时实验组个别骨细胞结构模糊不清,或有大气泡;8周时部分骨细胞核破裂、核溶解,凋亡细胞大量出现,骨胶原结构排列紊乱。结果证实联合运用激素和马血清明显提高股骨头缺血性坏死的发生率,能够较好地建立激素性兔股骨头缺血性坏死动物模型。

3. 会议论文 [裴福兴](#), [康鹏德](#), [王坤正](#) [股骨头坏死动物模型的研究](#) 2006

过去多年来,许多学者都努力探索试图造动物模型真实模拟人类股骨头坏死自然进程。不管通过手术或非手术的方法比较容易造成股骨头坏死动物模型,但是对于股骨头坏死晚期塌陷却在动物体内造模都有一定困难。2002年Conzemi报道用成年鹌鹑(emu)造模,成功模拟出股骨头塌陷模型。本文就各种股骨头坏死动物模型及其优缺点以及各种造股骨头坏死的方法进行综述,或许有助于股骨头坏死动物模型的研究。

4. 学位论文 [李鸿帅](#) [三足负重犬股骨头坏死动物模型的相关研究](#) 2007

股骨头坏死致残率高且治疗困难,是骨科的一大顽症,被誉为“不死的骨癌”。其致残的主要原因是晚期出现股骨头软骨面的塌陷,最终须行人工髓关节置换术来恢复关节功能。对于青年型患者,常选用保留自身股骨头的治疗方法。保头治疗的终极目标是重建坏死的股骨头的血运、防止股骨头软骨面的进一步塌陷,尽量延缓或避免人工髓关节置换。然而,现有的各种保头治疗方法,疗效均不确定,临床争议较大。各种预防塌陷的新疗法的发展和对照有修复方法进行客观地评价需要一个能模仿人类股骨头塌陷进程的坏死动物模型。但至今仍缺乏一个能够完全模仿临床股骨头坏死全过程的,能逐步进展至晚期关节面塌陷的实验动物模型。吻合血管的游离腓骨移植术是目前较为公认的、最有效的保头治疗方法,其不仅能重建缺血股骨头的血运,还能有效地支撑起软骨下骨,防止股骨头的塌陷。然而,在临床中,每个患者的坏死部位及大小均存在差异,如何针对患者的个体情况,制定腓骨植入的适宜位置?手术中将腓骨植入在哪个部位能最有效地重建股骨头局部的生物力学环境?是进一步提高临床疗效的关键。针对以上问题,本研究创新性地将三足负重犬,强制其双后肢负重,在此基础上建立一个能逐步进展至股骨头塌陷的坏死动物模型,并通过三维力学有限元分析的方法,从力学角度上对游离腓骨植入的适宜位置进行了分析。

第一部分三足负重犬动物模型的建立及其有效性评价

目的:建立能模仿人类膝关节应力的三足负重犬动物模型,观察其双后肢的动力学参数变化。

材料和方法:选用10只Beagle犬,一侧腕关节屈曲90度位固定,建立三足负重犬模型。于固定前行三维步态分析,比较双后肢的动力学参数变化。
结果:犬固定一侧前肢后,可三足行走,双后肢持续负重,步态发生明显变化。双后肢的垂直地面反力,同侧后肢的峰值加速度力明显增加;双后肢的峰值减速度力明显减小。

结论:三足负重犬可作为一个负重动物模型用来研究生物力学因素在腕关节相关疾病中的作用。

第二部分三足负重酒精灭活性犬股骨头坏死模型的建立及其相关评价

目的:建立能够逐步进展至关节塌陷的股骨头坏死动物模型,对其进行影像学、组织学、图像分析、Micro-CT三维骨计量学及生物力学评价。

方法:取杂种犬52只,分为三足犬组和四肢犬组。三足犬组克氏针固定一侧腕关节,强制其三足负重。经股外侧切口,在C臂机监控下,自股骨大转子处钻孔至股骨头内负重而下。在实验侧,经导管注入5ml无水酒精;在对照侧注入等量的生理盐水。分别于1、3、6、12周或动物出现明显跛行时处死动物。取双侧股骨头行影像学、大体及组织学观察、图像分析、Micro-CT三维骨计量学及生物力学评价。

结果:酒精致死12周时,四足犬活动未见异常;9只三足犬中有3只出现跛行。致死死后第6周时,大体上可观察到明显的坏死区,中央液化,结构破坏;12周时,坏死区被纤维组织替代,局部可见新骨形成;出现跛行的3只动物中,可见负重区软骨面的皱褶伴部分软骨面缺损。酒精致死死后6周,X线上可见股骨头内密度不均;12周时,负重区下出现局部骨密度减低区。组织学检测在酒精致死死后3周可见明显骨坏死;6周左右骨坏死和修复反应并存,三足犬的坏死区向软骨下骨区进展;12周左右出现软骨面的皱褶和缺损。Micro-CT骨计量学显示,随坏死的进展,骨小梁的矿物质含量明显降低,骨小梁三维构型也发生明显变化。骨小梁面积和骨小梁厚度逐渐下降,骨小梁数目也逐渐减少,骨小梁分离度逐渐增大。以上变化在酒精致死死后3周开始显现,6周时最为明显。生物力学检测显示酒精致死死后整个股骨头及其内松质骨的生物力学性能逐渐下降,在第6周时下降最为明显。

结论:三足负重酒精灭活性犬股骨头坏死模型是一个可靠的股骨头坏死动物模型。其能够模拟人股骨头坏死早期至晚期的病理改变,并能逐步进展至软骨面塌陷。此动物模型适合对各种保守疗法尤其是吻合血管的骨移植术进行疗效评价和比较研究,对新疗法的研发提供了可靠的实验平台。

第三部分正常及股骨头坏死犬股骨近端三维有限元模型的建立及相关力学分析

目的:建立犬股骨近端三维有限元模型,明确其应力分布特征;模拟不同部位及体积的坏死灶,明确最佳致死坏死部位及坏死体积;模拟不同位置及深度的游离腓骨植入,明确最佳的游离腓骨植入方案。

材料和方法:取杂种犬1只,将通过CT扫描获取的图像经有限元建模的方法在ANSYS软件中建立正常犬股骨近端的三维有限元模型;在此基础上建立具有不同大小、方向和深度的股骨头坏死有限元模型,比较正常犬及坏死犬股骨头的内部应力及压力/强度比的变化;模拟不同方向和深度的腓骨植入,分析比较不同空间位置的腓骨移植后对坏死股骨头内部应力的重建作用。

结果:经实体和有限元建模后,得到正常犬股骨近端、不同空间位置坏死区和腓骨植入的三维有限元模型。通过此方法建立的犬股骨近端有限元模型具有逼真的解剖学外形;正常犬股骨近端模型具有19995个单元、27496个节点。正常犬股骨头内部的应力大小从0.27致4.02MPa不等,主要按承重骨小梁的轨迹,沿股骨头内侧经小转子向下传导;内部的应力/强度比分布范围在0.013至0.196之间;最大应力/强度比主要出现在股骨头负重区下松质骨部位。当股骨头内出现坏死区后,整个股骨头内部的最大应力和应力/强度比出现重新分布;不同大小、深度和方向的坏死灶内的应力均有不同程度的增加;最大应力值均出现在坏死区内,相对固定于坏死区临近压力轴线的部位;大体积坏死灶的应力水平均高于小体积的坏死灶;越接近关节软骨面的坏死灶,其内部的应力水平越高;最容易出现塌陷的部位位于负重区偏后的位置。模拟游离腓骨植入后,在处于压力轴线偏后的坏死区,最佳的腓骨植入位置位于坏死区的偏外侧且与正常松质骨相邻;当腓骨植入于坏死区中间及内侧部位时反而容易导致应力/强度比的增加。

结论:股骨头内出现坏死区后,整个股骨头内部的应力出现重新分布;不同空间位置及大小的坏死灶致犬股骨头塌陷的危险性不同,位于股骨头负重区偏后位置、接近关节软骨面且体积较大的坏死灶最易导致股骨头的塌陷;植入腓骨的位置和深度是其能否起到有效支撑作用的重要影响因素;不恰当的植入位置反而容易导致股骨头的塌陷;腓骨植入的最佳位置应与应力传导的方向相一致。

5. 会议论文 何华.尚希福.牛敬才 一种新的股骨头坏死动物模型制备方法 2008

目的:采用一种新的方法制备兔股骨头坏死的动物模型,为研究建立兔股骨头坏死动物模型提供参考。

方法:将出生后4周的幼兔通过适应性训练和特定的悬吊(利用本实验室设计制作的悬吊四头带和特制的兔笼),模拟人类直立行走,两条后腿负重行走。饲养成年后用液氮将一侧股骨头冷冻,术后两周继续悬吊,定期拍X线片和取股骨头组织切片了解造模侧的股骨头坏死情况。

结果:术后3d切片见造模侧股骨头完全坏死,标本显示软骨细胞、骨细胞及骨髓坏死,空骨陷窝率最低75%,最高达93%,骨小梁结构完整,术后7周X片出现典型的新月征和股骨头坏死塌陷表现。

结论:液氮冷冻模拟人类“直立行走兔”短期内复制出了与人股骨头坏死一致的动物模型,为制备兔股骨头坏死的动物模型提供了一种新的方法。

6. 期刊论文 肖林.李彦林.王娴默.李康.王伟.贾福.XIAO Lin.LI Yan-lin.WANG Xian-mo.LI Kang.WANG Wei. JIA

Fu 股骨头坏死动物模型的研究进展 -昆明医学院学报2007, 28(5)

股骨头坏死是一种重要的外科疾病,由于股骨头坏死患病人数多,病程进展缓慢,严重影响患者的劳动能力和生活质量。目前为止,股骨头坏死的各项研究进展仍十分缓慢,其中主要原因是股骨头坏死病因多,发病机制复杂。现就近年来股骨头坏死动物模型的几种建立方法的特点作一综述。

7. 学位论文 窦浚峰 马血清致敏条件下鸡酒精性股骨头坏死动物模型的制作与观察 2009

背景和目的:

长期大量饮酒可以引起股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH),已经证实酒精中毒是ONFH的一个确定病因。制作理想的动物模型,可以为深入研究酒精性ONFH的发病机制和防治措施提供良好的载体。1998年王义生等首次报道采用灌胃法成功制成兔酒精性ONFH的动物模型,此后多位学者进行了相关的实验研究,证明灌胃法模拟人类饮酒,制成的动物模型组织学变化符合人类ONFH早期病理特征,是酒精性ONFH动物模型较好的造模方法。但是兔、鼠等四肢动物的负重特点与人类不同,且造模周期较长。为了解决这些问题,我们在马血清致敏条件下,采用灌胃法成功制作出鸡酒精性ONFH动物模型,具有类似人类双下肢负重、造模周期短、成功率高等特点。

材料和方法:

取64只健康成年雄性三黄鸡(河南省实验动物中心提供)随机分为4组,每组16只。A组(马血清+酒精组):给予马血清(美国GIBICO公司)10ml/kg静脉注射2次,间隔2周,从第2次给予马血清2周后次日开始采用灌胃法给予烈性白酒(含乙醇46%)10ml/kg·d;B组(单纯酒精组):与A组同步同法给予等量白酒;C组(单纯马血清组):与A组同步同法给予等量马血清;D组(空白对照组):不给予马血清或酒精。C、D组与A组同步同法给予生理盐水(N·S)10ml/kg·d灌胃。于灌胃第4、8周末分批处死,取股骨头制作常规和冰冻切片,分别行HE和苏丹III染色,光镜观察组织学变化并测算最大脂肪细胞平均直径、骨小梁面积分数、空骨陷窝计数、股骨头坏死发生率等指标。于灌胃第8周末,各组分别取2只动物股骨头制作标本,扫描电镜观察组织学变化。

结果:

1.一般状况:实验动物无1例死亡。注射马血清后,动物一般状况无明显变化。灌酒4周,A、B组动物食欲差,体重下降,毛发光泽差,精神状态稍差,灌酒8周,A、B组动物食欲差,体重明显下降,毛发无光泽,精神状态差,C、D组一般状况好,与实验前无明显变化。

2.肝脏:灌胃第4周末,各组肝脏大体和光镜下均无明显变化。灌胃第8周末,A组肝脏增大,质脆,呈淡黄色,切面有滑腻感,光镜检查,肝细胞内出现脂肪空泡,以小叶中央区受累最为明显,脂肪染色可见小叶中央区遍布桔红色脂肪颗粒;B组动物肝脏有类似改变,但变化程度较A组轻微;C、D组动物肝脏为暗红色,质软,光镜检查无变化。

3.股骨头:大体观察:灌胃第4周末,各组动物股骨头大体形态、质地无明显变化。灌胃第8周末,各组动物股骨头大体形态无明显变化,A组股骨头较其它各组松软,易于剖切。光镜检查:灌胃第4周末:各组股骨头组织未见明显病理改变,仅A组中少部分动物出现软骨下骨髓内造血组织减少。灌胃第8周末:病理改变明显,主要集中在股骨头软骨下区。A组HE染色可见骨髓内造血组织明显减少,骨小梁明显变细、稀疏,多处断裂,结构紊乱,空骨陷窝明显增多,脂肪染色见软骨下骨的骨髓腔内充满桔红色的脂肪,脂肪细胞增殖肥大。B组中有2只动物见到股骨头软骨下骨髓内造血组织减少,脂肪组织增多,其中1只仅可见少部分骨小梁骨小梁变细、稀疏、断裂,空骨陷窝增多。C组中有2只动物股骨头内可见骨髓内造血组织减少,脂肪组织增多。D组未见到这些异常变化。A组骨小梁面积分数(32.2±2.58)%减少、空骨陷窝计数(21.60±2.12)%增加、最大脂肪细胞平均直径(47.22±2.79)μm增大,与其它3组比较,差异有统计学意义(P<0.01)。

4.骨坏死发生率:灌胃第4周末,各组骨坏死率均为0。灌胃第8周末,A组有7只发生骨坏死(7/8,其中双侧的5只,一侧的2只,1级、2级比例为3/9),占87.5%;B组有2只发生骨坏死(2/8,均为单侧,1、2级各一),占25%;C组有2只发生骨坏死(2/8,均为单侧1级),占25%;D组无发生骨

坏死者。A组与其它3组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

5. 扫描电镜检查: 灌胃第8周末, A组股骨头表面可见凹陷, 伴有多处裂痕, 剖面可见骨小梁失去原有形态, 变细、稀疏, 多处断裂, 空骨陷窝增多, 而B、C、D组未见到这些变化。

小结:

1. 马血清致敏条件下, 采用灌胃法成功制作出鸡酒精性ONFH动物模型, 具有造模周期短、成功率高等特点。

2. 鸡可以作为酒精性ONFH的研究对象, 具有类似人类双下肢负重的特点。

8. 期刊论文 [魏青. 杨杏芬. 刘力. 张越华. 胡斌. 陈铁江. 张桥. 邓丽霞. 徐栋梁. 陈伟. 激素性股骨头坏死动物模型的建立和评价](#) -中国骨质疏松杂志1999, 5 (2)

本实验采用马血清和甲基强的松龙合用诱导兔股骨头坏死动物模型, 行活体股骨头X线照片、股骨头切片光镜、电镜和骨动力学检查。结果激素造模16周时, X线显示模型动物骨质疏松、骨小梁模糊, 股骨头密度减低, 光镜、电镜检查呈现股骨头坏死的早期病理改变, 计数空骨陷窝率明显增加, 股骨头生长测定值明显降低。提示本实验16周诱导出股骨头坏死动物模型可用于股骨头坏死机制研究及临床或保健品、食品疗效的观察。

9. 学位论文 [赵金东. 激素性股骨头坏死动物模型的建立与评价](#) 2007

目的: 探讨不同方法所致的激素性股骨头坏死动物模型的优劣, 以期能找到一种用于临床和基础研究的理想动物模型。

方法: 健康中国大耳白兔36只随机分为A组(对照组)、B组(激素组)、C组(激素加马血清组)及D组(激素加内毒素组)实验组分别从兔耳缘静脉注射马血清(10ml/kg)和内毒素(50ug/kg)后连续三日臀肌注射甲基强的松龙40mg/kg, 对照组注射等量的生理盐水。

结果: 实验纳入兔36只, 实验过程中, 实验组死亡8只, 进入结果分析28只。①实验组第四周光镜下兔股骨头空骨陷窝量的改变: A组(58.6±1.776)、B组(55.4±5.125)、C组(56.4±5.189)、D组(40.1±3.510), A与B、C, $P > 0.05$, A与D, $P < 0.01$; B与C, $P > 0.05$, D与B、C, $P < 0.01$ 。第八周可见小片状缺血骨细胞的区域。②电子显微镜观察对照组和实验组股骨头超微结构变化: 早期骨细胞胞浆和胞核内出现脂质沉积, 晚期骨细胞核固缩、核膜破裂染色质溶解, 血管内皮细胞胞浆肿胀出现脂滴, 毛细血管壁肿胀, 脂膜结构不完整, 可见到明显的裂隙。

结论: 在相同的实验条件下, 激素加内毒素组造模出现时间最早、坏死效果最明显并且骨陷窝空虚率随着时间的延长而增加。

10. 期刊论文 [徐俊. 张长青. 孙建琪. 张爱莉. XU Jun. ZHANG Changqing. SUN Jianqi. ZHANG Aili. 应用低温手术建立三只犬股骨头坏死动物模型](#) -中国修复重建外科杂志2008, 22 (10)

目的 建立一种能模拟人股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)病理生理过程的实验动物模型。方法 取健康成年雄性Beagle犬10只, 体重(16.0±1.6)kg, 建立三只犬模型后, 于0.5 MPa加压液氮作用下冷冻16.5 min, 复温10min至0℃, 再冷冻16.5 min建立ONFH动物模型。其中实验组9只, 对照组假冷冻组, 打隧道但并不冷冻。术中监测股骨头表面温度, 术后6个月处死实验组9只犬进行脱钙骨组织学检查, 对照组1只犬观察至24个月。结果 术中监测第一次边界温度为(-27.9±4.3)℃, 第二次边界温度为(-31.3±4.7)℃, 第二次冷冻后股骨头表面温度较第一次平均下降3.4℃, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。股骨头直径(17.7±1.1)mm, 经线性回归分析, 股骨头直径越小, 股骨头表面温度下降越低, 回归方程为 $y = -2.6 - 2.409x$ ($P < 0.05$)。将股骨头直径与第一次边界温度进行Pearson相关性分析, 成线性相关($r = -0.977$, $P < 0.05$)。病理组织学检查示术后6个月实验组4只犬出现股骨头塌陷, 塌陷率44.4%; 对照组无异常改变。结论 低温手术可建立进展至股骨头塌陷的三只犬ONFH模型。

引证文献(1条)

1. [李小峰. 杨渊. 股骨头缺血坏死动物模型的研究进展](#)[期刊论文]-广西中医学院学报 2010 (1)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200906019.aspx

授权使用: 中国科学技术大学(zgkx.jsdx), 授权号: b9a04376-498d-47a3-bdf3-9df6017a553a

下载时间: 2010年9月19日