

文章编号:1004-7220(2012)02-0139-06

三足负重犬股骨头坏死模型的生物力学相关性研究

张彦, 张长青, 于晓巍

(上海交通大学附属第六人民医院 骨科, 上海 200233)

摘要: **目的** 研究股骨头坏死病程各阶段的生物力学改变,探讨其生物力学发生作用的机制。**方法** 取杂种犬 24 只,固定一侧前肢建立三足负重犬模型。随机取三足负重犬一侧后肢为实验侧,在股骨头内注射无水酒精,致股骨头坏死;对侧为对照侧,在股骨头内注入等量生理盐水。造模后 1、3、6 及 12 周处死动物,每组 6 只,分别对两组股骨头行大体观察以及放射学、组织学、生物力学检测。**结果** 术后 3 周股骨头坏死侧点压硬度及中部松质骨弹性模量相对对照侧分别下降 29% 和 32.9%,此时仅 MRI 可见股骨头出现低密度坏死区,组织学主要表现为骨坏死。术后 6、12 周股骨头坏死侧点压硬度相对对照侧分别下降了 45.5% 和 48.7%,中部松质骨弹性模量相对对照侧分别下降了 34.1% 和 32.4%。6 周时坏死侧 X 线可见股骨头内密度不均,组织学表现为坏死和修复反应并存,坏死区向软骨下骨区进展。12 周时坏死侧 X 线可见股骨头负重区下出现局部骨密度减低区,组织学出现关节软骨面塌陷和关节间隙狭窄。**结论** 生物力学是股骨头病程进展的重要影响因素;病程进展中,特别是修复期力学性能的显著下降可能是后期塌陷的最直接原因。治疗股骨头坏死不仅应促进骨修复,更应提供病变区一个有利、稳定的生物力学环境。

关键词: 股骨头坏死; 三足负重犬; 压硬度; 弹性模量; 组织学; 放射学; 生物力学

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

Correlation study on biomechanics of three-foot weight bearing canine model with femoral head osteonecrosis

ZHANG Yan, ZHANG Chang-qing, YU Xiao-wei (*Department of Orthopaedics, 6th People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200235, China*)

Abstract: **Objective** To study changes in biomechanical characteristics of the femoral head during the progression of avascular osteonecrosis and investigate the mechanism of these biomechanical changes. **Methods** Twenty-four three-foot weight bearing canine models with osteonecrosis of the femoral head (ONFH) were established by fixing one fore limb of the canine. Osteonecrosis was induced in all experimental animals by randomly injecting 5 mL pure ethanol into one side of the femoral head, and the contralateral femoral head was injected with an equal amount of normal saline as the control group. The canines were killed at 1st, 3rd, 6th, and 12th week after the injection of ethanol, with six canines in each group. The radiographic, histological changes and biomechanical characteristics of the femoral head were observed and analyzed. **Results** At 3rd week, 29% reduction of indentation stiffness and 32.9% reduction of elastic modulus in the cancellous bone were found in the infected femoral heads compared to the control heads, and a low density area was detected only in MRI and osteonecrosis was the main histological characteristics. At 6th and 12th week, the indentation stiffness in the infected femoral heads was reduced by 45.5% and 48.7%, respectively, and the elastic modulus of the cancellous bone in the infected femoral heads was reduced by 34.1% and 32.4%, respectively, compared to the control heads. At 6th week, uneven bone density of the femoral head was detected in radiographs, and the progression of osteonecrosis and bone healing was found at the same time. At 12th week, areas of reduced bone mineral density beneath

收稿日期:2011-08-16; 修回日期:2011-11-24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(10872131,81071487),上海市科学技术委员会重点资助项目(054119506,08411950500)。

通讯作者:张长青,教授,博士研究生导师,E-mail:zhangcq@shtel.net.cn。

the load bearing position of the femoral head were observed on radiographs. Collapse of the articular cartilage surface and narrowing of the joint space were the main histological findings. **Conclusions** Biomechanics is an important factor in the progression of ONFH. The decreased mechanical properties may be a direct reason leading to the late collapse of the femoral head. The treatment of ONFH should focus not only on acceleration of the bone healing, but also on provision of a favorable and stable biomechanical environment for the infected femoral head.

Key words: Osteonecrosis of the femoral head (ONFH); Three-foot weight-bearing canine; Indentation stiffness; Elastic modulus; Histology; Radiology; Biomechanics

股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)是骨坏死病变中患病人数最多、危害最大的疾患^[1],常发于30~50岁的中青年^[2],治疗困难且致残率高。ONFH如不治疗,常出现软骨面塌陷,导致骨性关节炎发生,此时只有行髋关节置换术才能恢复关节功能。因此,研究塌陷发生的机制对于股骨头坏死的治疗有着重要意义。有研究认为,塌陷的发生是生物学和生物力学双重作用的结果^[3-4],而生物力学改变可能是导致塌陷的直接因素。三足负重犬股骨头坏死模型是目前较为成熟的能模拟人ONFH病程发展至关节面塌陷的动物模型^[5-6]。本文在此动物模型基础上,对其病程进程各时期的股骨头力学特征、影像学及病理学表现进行研究,初步探讨生物力学在坏死进展至关节面塌陷中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物模型制备及分组

取杂种犬24只;体重18~23 kg,雌雄不限,由上海交通大学附属第六人民医院四肢显微外科研究所实验动物部提供。按文献[6]方法建立三足负重犬股骨头坏死模型。造模后定期进行放射学检测,并于1、3、6、12周时间点,分别处死6只犬,取出双侧股骨头并包括粗隆下5 cm的股骨干,剔除周围软组织,进行大体组织学观察;然后用浸润生理盐水的纱布包裹标本,放入标本瓶,密封-80℃保存备生物力学检测。

1.2 观测内容及方法

1.2.1 X线检查 双侧股骨正位片,相同条件下对术后实验组和对照组在1、3、6、12周摄片,观察股骨内密度、股骨头形态及关节间隙的改变。

1.2.2 大体观察 主要观察实验组及对照组在各个不同时间段的股骨头关节软骨的形态、色泽以及

骨隧道变化。

1.2.3 组织学检测 沿股骨头冠状面锯开,取股骨头前半部分行组织学检测。将新鲜标本用甲醛固定、硝酸脱钙后,切取4 mm厚片,酒精逐级脱水,石蜡包埋,用超薄切片机切成厚5~6 μm,分别采用HE染色,观察并记录骨坏死、修复及关节软骨塌陷的情况。

1.2.4 生物力学检测

1.2.4.1 点压实验 实验采用长春试验机研究所CSS-44010电子万能试验机加压,常规采样频率10 Hz,自带软件自动采集时间、载荷、位移等量,并即时描绘加载曲线,计算有关力学参数。

测定前将标本在室温下复温24 h,用骨水泥把标本固定在特制的底座上,待骨水泥固定牢靠后进行点压实验。随机在股骨头负重区上取3个点,根据先前的研究可知,股骨头塌陷最主要发生这个区域^[7](见图1);用自制的点压头(材质为普通优质钢,点压头直径2 mm,呈半圆形)以1 mm/min的速度垂直加压,从接触软骨面至0.5 mm深度时停止,点压头与股骨头接触部分为直径2 mm的半球(见图2)。参数的选择参照文献[8]及预实验的结果,0.5 mm的深度保证点压不会造成软骨的破坏,1 mm/min的加压速度是模仿正常生理过程中股骨头的受压。

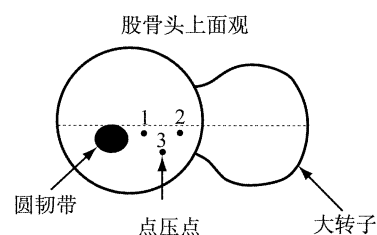


图1 股骨头负重区3点选取示意图

Fig.1 Schematic of three points in load bearing area of the femoral head

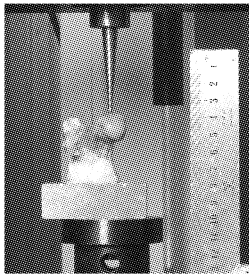


图2 点压实验
Fig.2 Indentation test

1.2.4.2 加压实验 点压实验后用钢锯从股骨头松质骨区锯出约6 mm×6 mm×6 mm的骨块(见图3),用锉刀把各个面锉平,游标卡尺精确计量其长、宽、高,并标明其负重方向。操作过程中生理盐水冲洗标本,以保持湿润和冷却。将松质骨试样放置加压台上,以3 mm/s的速度加压至试样发生塑性形变,得到压力-位移曲线,计算平均弹性模量。

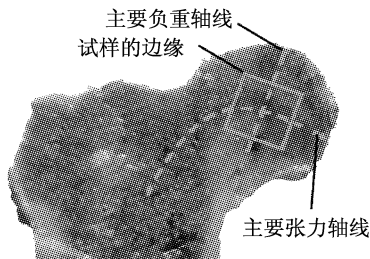


图3 股骨头内松质骨区锯出骨块
Fig.3 Bone block sawed from cancellous bone in the femoral head

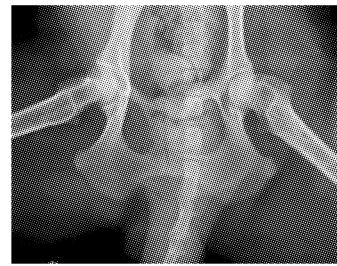
1.3 统计分析

用SPSS 11.0统计学软件,两组间差异采用 t 检验,多组间差异采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 时,认为差别具有显著意义。

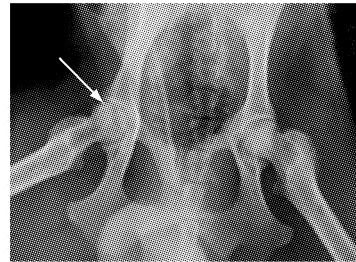
2 结果

2.1 影像学变化

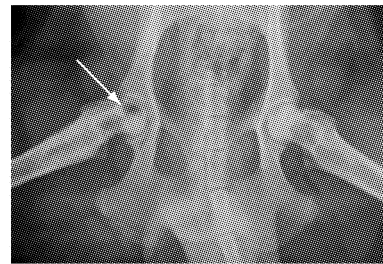
致坏死后3周时X线片可见钻孔针道,未见股骨头内骨密度的改变(见图4(a)),MRI可见股骨头出现低密度坏死区(见图5)。6周时可见股骨头内密度不均(见图4(b))。12周时可见股骨头内负重区下出现局部密度减低区(见图4(c))。



(a)



(b)



(c)

图4 影像学表现 (a)术后3周,(b)术后6周(白箭头为密度不均区),(c)术后12周(白箭头为局部低密度区)。

Fig.4 Results of the radiographs (a) Radiograph taken at third week after surgery, (b) Radiograph taken at sixth week after surgery (red arrow indicated uneven density area), (c) Radiograph taken at twelfth week after surgery (red arrow indicated low density area)

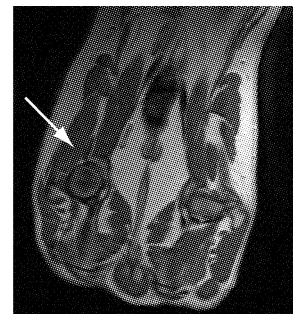


图5 MRI表现(箭头为低密度区)
Fig.5 Results of MRI (arrow indicated low density area)

2.2 大体观察

致坏死后第1及3周,股骨头表面光滑,无明显变形、塌陷,冠状剖面可见股骨头内骨坏死。6周时,部分动物出现股骨头软骨面局部色泽较暗,但未观察到股骨头的变形及软骨面的塌陷。12周时可见负重区软骨面的皱褶,伴部分软骨面缺损。

2.2.1 点压实验 计算3个点压处的点压硬度,为点压曲线的斜率。由标准化后的数据计算弹性模量,为加载曲线的斜率。取3个点的平均值进行统计学分析。

术后1周,实验侧点压硬度为(70.77 ± 1.35) MPa,相对对照侧(73.56 ± 1.96) MPa下降了3.8%,无显著性差异($P > 0.05$);术后3周,实验侧点压硬度为(55.91 ± 3.50) MPa,相对对照侧(78.74 ± 5.11) MPa下降了28.99%,有显著性差异($P < 0.05$);术后6周,实验侧点压硬度为(48.32 ± 3.31) MPa,相对对照侧(88.73 ± 6.91) MPa下降了45.54%,有显著性差异($P < 0.01$);术后12周,实验侧点压硬度为(41.5 ± 3.14) MPa,相对对照侧(80.85 ± 8.21) MPa下降了48.67%,有显著性差异($P < 0.05$)。对照侧与实验侧点压硬度的差值进行组间比较,6周与12周间无显著性差异($P > 0.05$),其余各组间均有显著性差异($P < 0.05$,见图6)

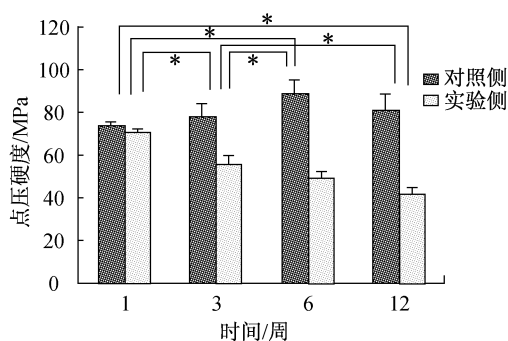


图6 术后不同时间点压硬度的变化(* $P < 0.05$)
Fig.6 Changes in indentation stiffness at different time after surgery

2.2.2 加压实验 根据实验得到的压力-位移曲线计算各松质骨标本的弹性模量,得到的数值进行统计学分析。术后1周,实验侧弹性模量为(141.93 ± 3.65) MPa,相对对照侧(146.06 ± 4.37) MPa下

降了2.83%,无显著性差异($P > 0.05$);术后3周,实验侧弹性模量为(92.79 ± 5.23) MPa,相对对照侧(138.18 ± 5.85) MPa下降了32.85%,有显著性差异($P < 0.05$);术后6周,实验侧弹性模量为(95.54 ± 11.28) MPa,相对对照侧(145.03 ± 5.87) MPa下降了34.12%,有显著性差异($P < 0.05$);术后12周,实验侧弹性模量为(91.06 ± 8.82) MPa,相对对照侧(134.78 ± 3.82) MPa下降了32.43%,有显著性差异($P < 0.05$)。对照侧与实验侧弹性模量的差值进行组间比较,术后1周分别与3、6、12周间有显著性差异($P < 0.05$),其余各组间无显著性差异($P > 0.05$,见图7)

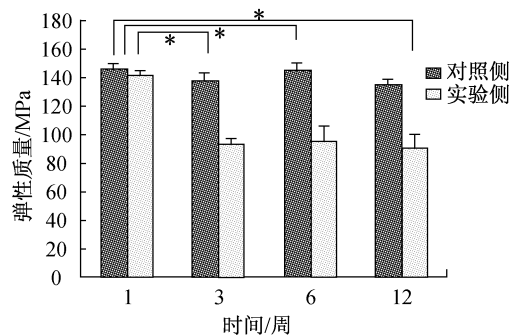


图7 术后不同时间松质骨弹性模量的变化(* $P < 0.05$)
Fig.7 Changes in elastic modulus of the cancellous bone at different time after surgery

3 讨论

股骨头坏死是骨科最为常见的难治疾病,且好发于中青年患者,未进行有效治疗,将出现股骨头塌陷和骨性关节炎^[9];严重影响生活和工作,并最终需进行关节置换术^[10-11]。因此,研究 ONFH 后软骨面塌陷的机制对于提高各种预防塌陷的保头治疗具有重要意义。ONFH 后软骨面的塌陷不仅与生物学变化有关,更与其生物力学改变有密切联系,是两者相互作用的结果。本文通过固定犬一侧前肢的方法强制双后肢持续负重,建立三足负重犬动物模型,模仿人类的髋关节受力环境,并在此基础上采用股骨头内局部注射无水酒精的方法建立 ONFH 动物模型。此动物模型在病理学和影像学上均观察到逐步进展的关节面塌陷。结合前期研究^[5-6]及本实验结果可以看出,生物学应力在股骨头病程进展特别是

后期关节面塌陷中起到重要的作用。

本实验观测了股骨头从坏死至关节面塌陷整个病理过程中生物力学的动态变化,结果发现力学指标的变化主要在两个阶段。第1个阶段位于术后3周,此时组织学上主要表现为股骨头内骨坏死,坏死中心区骨小梁崩解,骨髓腔内可见大量纤维组织增生,伴有巨噬细胞浸润,坏死周边区可见不规则的骨小梁吸收现象,此时未见新生骨。影像学上没有明显密度改变。第2个阶段位于术后6周,此时组织学上可见到坏死骨被吸收,有血管新生、骨岛形成,影像学表现出股骨头内骨密度的改变,股骨头的病变由坏死期进入修复期,此阶段点压硬度下降最为显著,实验侧较对照侧下降45.54%。其结果可以看出修复期股骨头的力学性能下降是最明显的。分析修复期力学性能下降的主要原因可能是:骨坏死修复时,骨母细胞增生的同时破骨细胞对失去保护的骨小梁吸收增强,骨小梁因吸收变得稀疏细小。另一方面,骨小梁中的骨细胞坏死失去了矿物代谢功能,新生骨力未完全钙化和塑形,机械强度随之下降^[12-14]。同时坏死骨与活骨之间产生应力集中,应力集中导致骨小梁显微骨折,削弱了股骨头的力学强度。

在修复反应出现的同时也能观察到逐步进展的坏死,坏死的部位主要向关节软骨面下发展,最终导致关节面的塌陷。这与Manggold等^[15]将无水酒精注入羊股骨头内的研究结果不同。组织学显示至坏死后6周,修复反应出现,12周时坏死区已基本被活骨替代,未观察到软骨面的任何改变。这可能是由于负重的缘故,髋关节的应力对软骨下骨的修复作用起了明显的阻碍作用,修复的延缓导致力学性能的持续下降,恶性循环最终导致股骨头塌陷。生物力学在股骨头坏死中发挥了非常重要的作用,而坏死本身又进一步导致了生物力学改变,形成恶性循环,故在治疗上需要切断该循环。但是,本研究不能推断两个因素哪个更为重要。由于没有对中期或早期的实验犬进行避免负重,本文研究注重了股骨头坏死病程中自然过程,这是下一步研究的方向。

软骨下骨板与深部松质骨有着不同的结构,坏死修复过程中两者力学性能出现不同程度的下降,其对于后期塌陷也有着不同的影响。Brown等^[16]从中晚期ONFH患者股骨头切取的坏死松质骨进

行非轴向加压试验,发现其屈服强度减少52%,弹性模量减少72%。Kim等^[17]对坏死股骨头的软骨下骨和中部松质骨分别进行了力学测定,证明负重区软骨下骨力学性能的降低与股骨头塌陷有直接关系,随着软骨下骨板力学性能的下降,软骨下骨产生更大的应力,并随软骨下骨板的断裂而塌陷。本实验中的点压硬度反映了负重区股骨头整体力学性能的变化,是软骨下骨及松质骨力学性能变化的综合表现。术后3周,松质骨弹性模量和点压硬度均下降;术后6周松质骨区的力学性能下降不明显,主要以点压硬度下降为主,病理上表现为坏死区逐渐向软骨下区发展。结果表明,早期的生物力学下降可能主要是由于坏死松质骨力学性能下降,当病变逐渐向软骨下区发展时,以软骨下骨板的力学性能下降为主;随着软骨下骨板力学性能的下降,松质骨遭受更大的应力,最终引起软骨下骨板断裂、股骨头塌陷。负重区软骨下骨板的力学性能的降低可能与股骨头塌陷的关系更为密切。

生物力学因素在股骨头坏死发生、发展及转归过程中起重要作用,股骨头坏死的治疗不仅应从生物学角度促进股骨头修复,更应在修复过程中为股骨头提供一个有利的生物力学环境。

参考文献:

- [1] Magnussen RA, Guilak F, Vail TP. Cartilage degeneration in post-collapse cases of osteonecrosis of the human femoral head: Altered mechanical properties in tension, compression, and shear [J]. *J Orthop Res*, 2005, 23(3): 576-583.
- [2] Etienne G, Mont MA, Ragland PS. The diagnosis and treatment of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head [J]. *Instr Course Lect*, 2004, 53: 67-85.
- [3] Nishii T, Sugano N, Ohzono K, et al. Progression and cessation of collapse in osteonecrosis of the femoral head [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2002, 400: 149-157.
- [4] Plenck H Jr, Gstettner M, Grossschmidt K, et al. Magnetic resonance imaging and histology of repair in femoral head osteonecrosis [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2001, 386: 42-53.
- [5] 李鸿帅,张长青,白跃宏,等. 固定一侧前肢后对犬后肢负重的影响[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2008, 22(1): 66-69.
- [6] 李鸿帅,张长青,曾炳芳,等. 酒精灭活性股骨头坏死犬模型

- 中松质骨骨矿密度和三维结构的变化[J]. 中国修复重建外科杂志, 2008, 22(3): 281-288.
- [7] Kim HK, Su PH. Development of flattening and apparent fragmentation following ischemic necrosis of the capital femoral epiphysis in a piglet model [J]. J Bone Joint Surg, 2002, 84-A(8): 1329-1334.
- [8] Pringle D, Koob TJ, Kim HK. Indentation properties of growing femoral head following ischemic necrosis [J]. J Orthop Res, 2004, 22(1): 122-130.
- [9] Mont MA, Jones LC, Hungerford DS, *et al.* Nontraumatic osteonecrosis of the femoral head: Ten years later [J]. J Bone Joint Surg Am, 2006, 88(5): 1117-1132.
- [10] Malizos KN, Karantanas AH, Varitimidis SE, *et al.* Osteonecrosis of the femoral head: Etiology, imaging and treatment [J]. Eur J Radiol, 2007, 63(1): 16-28.
- [11] 张强, 王岩, 陈怡婷, 等. 中国人股骨头缺血性坏死股骨近端的形态研究[J]. 医用生物力学, 2009, 24(2): 138-142. Zhang Q, Wang Y, Chen YT, *et al.* Geometric study of proximal femur for the Chinese AVN population [J]. J Med Biomech, 2009, 24(2): 138-142.
- [12] Jones LC, Hungerford DS. The pathogenesis of osteonecrosis [J]. Instr Course Lect, 2007, 56: 179-196.
- [13] Yoshida G, Hirano T, Shindo H. Deformation and vascular occlusion of the growing rat femoral head induced by mechanical stress [J]. J Orthop Sci, 2000, 5(5): 495-502.
- [14] Barou O, Mekraldi S, Vico L, *et al.* Relationships between trabecular bone remodeling and bone vascularization: A quantitative study [J]. Bone, 2002, 30(4): 604-612.
- [15] Manggold J, Sergi C, Becker K, *et al.* A new animal model of femoral head necrosis induced by intraosseous injection of ethanol [J]. Lab Anim, 2002, 36(2): 173-180.
- [16] Brown TD, Hild GL. Pre-collapse stress redistributions in femoral head osteonecrosis a three dimensional finite element analysis [J]. J Biomech Eng, 1983, 105(2): 171-176.
- [17] Kim YM, Lee SH, Lee FY, *et al.* Morphologic and biomechanical study of avascular necrosis of the femoral head [J]. Orthopedics, 1991, 14(10): 1111-1116.

勘误

刊登在本刊2012年第27卷第1期的论著《三维有限元分析膝关节内侧副韧带的生物力学功能》(作者:王海鹏,王友,容可,钟砚琳),有关正文42页表1的出处,作者在投稿时,曾经引用了参考文献[15]《膝关节前交叉韧带与内附侧韧带黏弹性实验研究》(作者:朴成东,李鹏,马洪顺)一文的相关内容,但是因为杂志字数有限制,作者在对文章正文进行修改时,删除了该文章中引用的相关内容,由于疏忽没有删除相应的参考文献。表1数据实际引用自 Weiss JA, Gardiner JC. Computational modeling of ligament mechanics [J]. Crit Rev Biomed Eng, 2001, 29(3): 303-371 正文部分 Table 1,而非文后所标注参考文献[15],特此勘误并致歉。

本刊编辑部
2012-04-25