

髋部骨折后下肢深静脉血栓形成家兔模型的建立*

张英, 贾丙申, 周建强, 谭海涛, 王晟, 付昆, 孟志斌

Establishment of rabbit models of lower limb deep venous thrombosis after hip fracture

Zhang Ying, Jia Bing-shen, Zhou Jian-qiang, Tan Hai-tao, Wang Sheng, Fu Kun, Meng Zhi-bin

Abstract

BACKGROUND: At present, many methods for inducing lower limb venous thrombosis lack of unified standards.
OBJECTIVE: To establish rabbit models of lower limb venous thrombosis after hip fracture
METHODS: Hip fracture was induced in rabbits by impacting the root of left leg by a dropping object from a height of 28 cm. The right leg was not impacted and served as the control side. After 4 weeks, the iliac and femoral veins of the lower limbs were selected for color Doppler ultrasonography and blood coagulation examination.
RESULTS AND CONCLUSION: Color Doppler ultrasonography showed that there was a thrombosis area with a length of (124±37) mm in the lower limb deep veins. No lower limb deep venous thrombosis was found in the control side. Thrombosis rate was 81.8% and death rate was 9.1%. These findings suggest that rabbit models of lower limb deep venous thrombosis after hip fracture could be successfully established, and the method is simple and feasible.

Zhang Y, Jia BS, Zhou JQ, Tan HT, Wang S, Fu K, Meng Zhi-bin. Establishment of rabbit models of lower limb deep venous thrombosis after hip fracture. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(28): 5210-5212. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 目前各种方法诱导下肢深静脉血栓的动物模型缺乏统一的标准。
目的: 建立髋部骨折后下肢深静脉血栓形成兔模型。
方法: 采用专用击打装置, 用位于 28 cm 高度的击打物击打家兔后下肢左侧大腿根部; 建立兔髋部骨折模型, 另一侧兔后下肢不击打设为对照侧。4 周后选取下肢髂静脉行彩色多普勒超声以及凝血功能的检查血栓形成情况。
结果与结论: 家兔经打击后经彩色多普勒超声检查存在下肢深静脉血栓, 血栓长度(124±37) mm。对照侧无下肢深静脉血栓形成。血栓形成率 81.8%, 死亡率为 9.1%。结果证实, 实验成功建立的兔髋部骨折后下肢深静脉血栓形成模型, 简单可行。
关键词: 深静脉血栓形成; 肺栓塞; 髋; 骨折; 动物模型; 组织构建
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.28.020

Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570102, Hainan Province, China

Zhang Ying, Associate chief physician, Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570102, Hainan Province, China shuntian_zhang@126.com

Correspondence to: Jia Bing-shen, Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570102, Hainan Province, China jbs123@163.com

Supported by: the Natural Science Foundation of Hainan Province, No.809046*

Received: 2011-03-06
Accepted: 2011-06-08

张英, 贾丙申, 周建强, 谭海涛, 王晟, 付昆, 孟志斌. 髋部骨折后下肢深静脉血栓形成家兔模型的建立[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(28):5210-5212. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

下肢深静脉血栓(lower limbs deep venous thrombosis, LDVT)是骨科髋部术后常见和重要的并发症, 因起病隐匿, 常常难以诊断。其血栓脱落引起肺栓塞是LDVT常见和严重的并发症, 常可导致死亡。

随着中国社会经济的发展, 交通工具的逐渐增多, 髋部骨折的发生率也逐渐增多。而LDVT是髋部骨折以后最常见的并发症之一。因此, 对于LDVT的深入研究有助于更好的治疗髋部骨折。

LDVT的动物模型是研究体内静脉血栓形成机制的重要手段和平台。然而, 目前LDVT的动物模型较多, 各种方法下肢静脉血栓形成率也不尽相同, 缺乏统一的标准。

实验以此采用重物打击法制作家兔髋部骨折后LDVT模型。

1 材料和方法

设计: 自身对照动物实验。

时间及地点: 于2010-04/06在海南医学院动物实验中心完成。

材料:

实验动物: 健康成年家兔11只, 雌雄不限, 体质量1.8~2.7 kg, 由海南医学院实验动物中心提供。

主要仪器: ACL9000凝血4项检测仪器购自美国贝克曼·库尔特公司。

实验方法

分组及建模: 采用自身下肢随机对照的实验设计, 随机选取11只兔后下肢一侧为对照侧, 另一侧为损伤侧, 并标记。

将11只家兔耳缘静脉注射体积分数3%的戊巴比妥钠1 mL/kg麻醉, 控制呼吸频率在18~22次/min。麻醉成功后, 采取侧卧位。以右

侧俯卧位为例, 左侧大腿根部置于打击平台上, 击打部位为左股骨大转子及其下1.8 cm之外侧, 使用专用击打装置(海南医学院附属医院骨科特制), 用位于28 cm高度的击打物击打(不直接损伤血管), 经骨擦感证实骨折后, 石膏固定左下肢于屈髋屈膝位, 检查右髋活动自如后, 俯卧位石膏固定。造模后动物均饲养4周。

彩色多普勒超声检查: 所有家兔在行击打造模实验后, 再饲养4周后, 选取后下肢髂股静脉行彩色多普勒超声, 检查血栓形成情况。

凝血功能检查: 所有家兔在实验前, 及造模4周后分别立即抽血进行凝血功能检查, 包括凝血酶原时间、国际标准化值、活化部分凝血活酶时间、纤维蛋白原定量、凝血酶凝结时间。

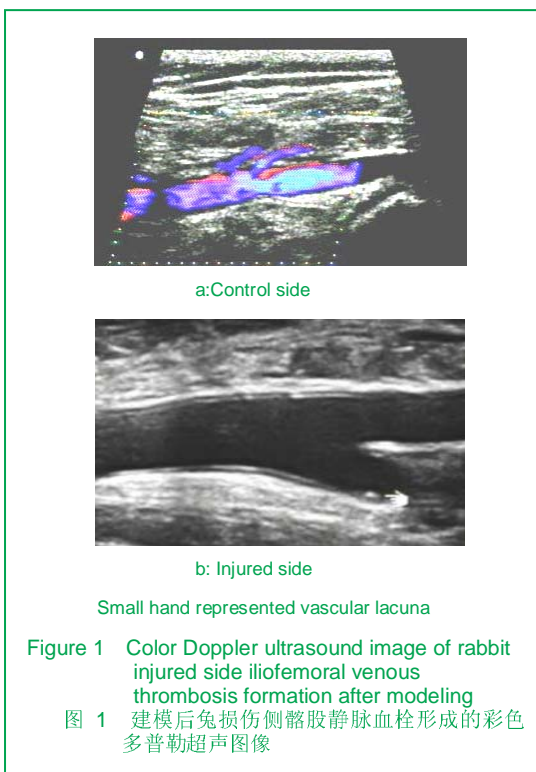
主要观察指标: 建模后兔彩色多普勒超声及凝血功能检查结果。

统计学分析: 计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用SPSS 13.0统计学软件进行数据分析, 组间差异比较采用配对 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验兔数量分析 全部实验家兔11只, 建模时1只死于肺栓塞, 最终10只兔全部进入结果分析。

2.2 多普勒超声检查结果 见图1。



存活的10只兔中有9只兔经彩色多普勒超声检查存在LDVT, 血栓长度(124±37) mm。对照组无LDVT形成。血栓形成率81.8%, 死亡率为9.1%。10只家兔中, 有9只经彩色多普勒超声见损伤侧髂股静脉有血栓形成, 见图1, 其腔内未见彩色血流信号及随呼吸变化的血流频谱。对照侧未出现血栓形成。另一只兔双下肢均未出现血栓形成。

2.3 各项凝血指标变化 建模后凝血酶原时间, 国际标准化比值, 活化部分凝血活酶时间, 凝血酶凝结时间和纤维蛋白原定量实验前后相比差异显著($P < 0.05$)

各项凝血指标实验前后变化见表1。

表1 建模前后大鼠各项凝血指标数值变化		
Table 1 Changes of coagulation index values after modeling ($\bar{x}\pm s, n=9$)		
Item	Before modeling	After modeling
Prothrombin time (s)	9.1±1.4 ^a	9.8±1.1
International normalized ratio	0.6±0.1 ^a	0.7±0.1
Activated partial thromboplastin time (s)	18.2±1.9 ^a	19.2±1.2
Thrombin time (s)	20.9±1.8 ^a	21.3±1.7
Fibrinogen content (g/L)	1.9±0.2 ^a	2.1±0.2

^a $P < 0.05$, vs. after modeling

3 讨论

实验所采用的家兔系具有相同遗传背景, 经实验前相关实验动物检测机构检测, 符合实验标准, 具有稳定、有效及可行性。以家兔作为LDVT造模动物具有可重复性好的特点。

血栓形成的机制较复杂, 但总的说来, 有以下几方面: 血液淤滞、高凝状态和血管内壁损伤。髌部骨折所致的LDVT是一种综合影响^[1]。LDVT是髌部骨折及手术后的常见并发症^[2], 栓子脱落可导致肺栓塞, 一旦发生死亡率很高。资料显示, 国外髌部关节置换后50%~70%的患者发生LDVT^[3], 肺栓塞的发病率高达3.4%, 死亡率为0.10%~0.34%。美国每年约65万人被诊断为肺栓塞, 其中10万人死亡^[4-6]。杨刚等^[7]采用双侧下肢上行性静脉造影对关节置换术后的患者进行LDVT研究, 显示全髌关节置换术后LDVT的发生率为40%, 全膝关节为53.8%。张柏根等^[8]报道的术后LDVT发生率中, 髌骨骨折、髌关节成形术分别为48%和51%。蔡伯蔷等^[9]对239例肺栓塞患者进行了回顾性分析, 发现肺栓塞基础性病因正出现变迁, 以LDVT为基础病因的肺栓塞发生率逐年增加,

海南医学院附属医院骨科, 海南省海口市 570102

张英, 男, 1968年生, 海南省海口市人, 汉族, 1990年海南医学院毕业, 副主任医师, 主要从事骨折、显微外科的诊治工作。

shuntian_zhang@126.com

通讯作者: 贾丙申, 海南医学院附属医院骨科, 海南省海口市 570102
jbs123@163.com

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 1673-8225 (2011)28-05210-03

收稿日期: 2011-03-06

修回日期: 2011-06-08

(N20101101013/WJ · S)

由20世纪80年代以前的13%攀升到1998年后的68%，而这些LDVT的发生主要由髌膝关节等下肢手术引起^[10-11]。

在LDVT起病的两三周的急性期内，可能并发肺栓塞，重者可以致命^[12-13]。大多数LDVT患者虽经治疗，但血栓未能完全消融，而转为血栓形成后遗症^[14]。再通不完全者，临床表现为各种程度不同的回流障碍病变；完全再通者，则因深静脉瓣膜悉遭破坏，而酿成血液倒流性病变。两者都将导致下肢静脉系统淤血和高压症，严重影响生活质量和工作能力^[15]。因此，如何防治LDVT，减少病死率是骨科医生值得重视的课题。

LDVT模型作为研究如何防治LDVT的重要手段已经为人们广泛接受^[16-17]。但是，目前存在方法较多且标准不同的问题，如有学者采用手术暴露静脉并结扎的方法形成血栓^[18-19]。此方法结果可靠，但需要较高的实验条件及人员。

实验采用物理击打导致骨折并加以石膏固定的方法，简单易行，模拟了临床上LDVT形成的过程，经过了彩超及凝血功能检测证实，结果可靠，可以作为研究LDVT的模型之一。本次实验中有1只兔实验下肢未出现血栓，考虑可能系石膏松动后动物下肢活动增多，加速了静脉回流过程有关，提示临床工作中，在固定牢靠的情况下，提早的功能锻炼对于预防下肢深静脉血栓的积极意义。

4 参考文献

[1] Huang XZ, Liang W, Ye M, et al. Jieru Fangshexue Zazhi. 2008; (1):124. 黄晓钟,梁卫,叶猛,等.导管直接溶栓治疗下肢深静脉血栓形成[J].介入放射学杂志,2008,(1):124.

[2] Liu XH, Wu Z, Zhao YJ, et al. Harbin Yiyao. 2009;29(5):254-257. 刘晓化,武震,赵延君,等.动力髌螺钉内固定治疗老年股骨粗隆间骨折42例体会[J].哈尔滨医药,2009,29(5):254-257.

[3] Zhang C, He XJ, Lan BS, et al. Influence of early postoperative complication on the operative results in elderly intertrochanteric fractured patients. Nanjing Yike Daxue Xuebao (Yingwenban). 2007;21(5):324.

[4] Dahi OE. Continuing out-hospital prophylaxis following major orthopaedic surgery: what now? Haemostasis. 2000; 30 Suppl 2:101-105.

[5] Wroblewski BM, Slnay PD, Fleming PA. Fatal pulmonary embolism and mortality after revision of failed total hip arthroplasties. J Arthroplasty. 2000;15:437-439.

[6] Warwick D, Williams MH, Bannister GC. Death and thromboembolic disease after total hip replacement. A series of 1162 cases with no routine chemical prophylaxis. J Bone Joint Surg Br. 1995;77(1):6-10.

[7] Yang G, Lv HS, Gao J, et al. Zhonghua Waike Zazhi. 2000;38(1):25-27. 杨刚,吕厚山,高健,等.低分子肝素预防人工髌、膝关节置换术后下肢深静脉血栓形成的研究[J].中华外科杂志,2000,38(1):25-27.

[8] Zhang BG, Xue GH. Zhongguo Shiyong Waike Zazhi. 2003;23(4):197-200. 张柏根,薛冠华.深静脉血栓形成的病因及高危因素[J].中国实用外科杂志,2003,23(4):197-200.

[9] Cai BX, Xu L, Guo SJ, et al. Zhonghua Jiehe he Huxi Zazhi. 2001; 24(12):715-717. 蔡伯善,徐凌,郭淑静,等.北京协和医院肺栓塞基础病因的变迁[J].中华结核和呼吸杂志,2001,24(12):715-717.

[10] Míka P, Behounek J, Skoták M, et al. Complications and risks associated with an anticoagulation therapy combining low molecular weight heparin and Warfarin after total replacement of large joints--our experience, Acta Chir Orthop Traumatol Cech. 2004;71(4):237-244.

[11] De A, Roy P, Garg VK, et al. Low-molecular-weight heparin and unfractionated heparin in prophylaxis against deep vein thrombosis in critically ill patients undergoing major surgery. Blood Coagul Fibrinolysis. 2010;21(1):57-61.

[12] Volpin G, Gorski A, Shtarker H, et al. Fat embolism syndrome following injuries and limb fractures. Harefuah. 2010;149(5):304-308, 335.

[13] Sancheti Kh, Sancheti P, Shyam A, Patil S, Dhariwal Q, Joshi R. Primary hemiarthroplasty for unstable osteoporotic intertrochanteric fractures in the elderly: A retrospective case series. Indian J Orthop. 2010;44(4):428-434.

[14] Backes J, Taylor BC, Clayton MD. Septic knee-induced deep venous thrombosis in a young adult. Orthopedics. 2010;33(10):770.

[15] Solomon ER, Frick AC, Paraiso MF, et al. Risk of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in urogynecologic surgical patients. Am J Obstet Gynecol. 2010;203(5):510.e1-4.

[16] Mazzoccoli G, Fontana A, Grilli M, et al. Idiopathic deep venous thrombosis and arterial endothelial dysfunction in the elderly. Age (Dordr). 2011.

[17] Bergqvist D. Venous Thromboembolism After Surgery for Benign Prostatic Hyperplasia. World J Surg. 2011.

[18] Rhodes JM, Cho JS, Gloiczki P, et al. Thrombosis for experimental deep venous thrombosis maintains valvular competence and vasoreactivity. J Vasc Surg. 2000;31(6):1193-1205.

[19] Rong JJ, Wu B, He LR, et al. Suzhou Daxue Xuebao (Yixueban). 2004;24(2):169-172. 戎建杰,伍波,何礼荣,等.导管直接溶栓治疗犬股静脉急性深静脉血栓后静脉壁形态学的变化[J].苏州大学学报:医学版,2004,24(2):169-172.

[20] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 课题受海南省自然科学基金项目(809046)资助, 课题名称: 中西医结合药物预防家兔髌骨骨折后下肢深静脉血栓形成的实验研究。

作者贡献: 贾丙中进行实验设计, 实验实施为张英, 实验评估为周建强, 资料收集为王晟, 谭海涛成文, 付昆审核, 张英对文章负责。

利益冲突: 说明课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 实验对动物的处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》^[20]。

本文创新性:

提供证据: 检索时间: 2011-05-24, 以“髌骨骨折, 下肢深静脉血栓, 模型”检索中国学术文献网络出版总库, 共检索出 2 篇文章, 但均非实验研究。由最终检索结果认定实验具先进性。

创新点说明: 低分子肝素制剂(速必凝)是目前临床防治下肢深静脉血栓常用的药物, 但有许多副作用, 因而研究探索毒副作用小, 效果好的中西医结合疗法防治下肢深静脉血栓具有深远的社会意义和较大的经济价值。上述立题依据中兔创伤性肢体深静脉血栓形成模型模拟了骨科临床肢体创伤后因活动受限形成深静脉血栓的病理变化过程。