富血小板血浆凝胶联合髓芯减压修复兔股骨头无菌性坏死

崔 泳，方国正，凯赛尔江•艾合买提 (新疆医科大学第五附属医院骨科，新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011)

文章亮点：

1 髓芯减压治疗股骨头坏死可有效缓解疼痛，改善股骨头的血运，但不能有效减缓塌陷进程，寻找在髓芯减压后防止软骨下骨进一步塌陷的措施是关键。

2 富血小板血浆中含有高浓度促进骨组织和软组织再生修复的多种细胞生长因子，因此实验创新性观察富血小板血浆联合髓芯减压治疗股骨头坏死的效果，验证了富血小板血浆联合髓芯减压的疗效优于单纯髓芯减压治疗。

关键词：
实验动物；组织构建；修复重建；移植；髓芯减压；富血小板血浆凝胶；股骨头无菌性坏死
主题词：
减压术, 外科；富血小板血浆；凝胶类
基金资助：
新疆维吾尔自治区青年科创基金(2013Y11)

崔泳，男，1979年生，辽宁省本溪市人，汉族，2007年新疆医科大学毕业，硕士，副主任医师，主要从事骨组织工程研究。

通讯作者：凯赛尔江·艾合买提，副主任医师，硕士生导师，新疆医科大学第五附属医院骨科，新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.27.019
[http://www.crter.org]

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:2095-4344(2014)27-04383-06
稿件接受：2014-05-10

摘要

背景：近年来的研究表明，富血小板血浆有较强的成骨能力且在骨科及口腔科领域已得到广泛应用，而其在股骨头坏死方面的实验未见报道。

目的：观察富血小板血浆凝胶联合髓芯减压修复股骨头无菌性坏死模型兔的效果。

方法：取新西兰大白兔25只，在不造成髋关节脱位的基础上，用液氮冷冻兔双侧股骨头建立无菌性坏死模型，造模后2周，随机分组：模型组9只不做任何治疗，髓芯减压组8只行髓芯减压治疗，联合组8只采用富血小板血浆凝胶联合髓芯减压治疗，造模后第8周采集股骨头标本组织切片行MRI检查及苏木精-伊红染色。

结果与结论：①MRI检查：模型组表现为股骨头脂肪高信号中出现不同形态的低信号区，呈环形、带状和灶状；髓芯减压组减压缺损区无明显成骨改变，缺损腔无明显缩小，以长T1、T2信号为主；联合组缺损腔消失，被短T1、T2的大量新生骨所充填。②苏木精-伊红染色：模型组关节软骨缺损与修复同时存在，呈现骨性关节炎样改变；髓芯减压组骨小梁空骨陷窝，骨髓内造血细胞和脂肪细胞坏死；联合组骨小梁空骨陷窝，骨髓散在灶状坏死。表明富血小板血浆凝胶联合髓芯减压治疗股骨头坏死模型兔的效果优于单纯髓芯减压治疗。

崔泳，方国正，凯赛尔江•艾合买提. 富血小板血浆凝胶联合髓芯减压修复兔股骨头无菌性坏死[J].中国组织工程研究，2014，18(27):4383-4388.

Platelet rich plasma gel combined with core decompression for repair of aseptic necrosis of the femoral head in a rabbit

Cui Yong, Fang Guo-zheng, Kaisaierjiang•Aihemaiti (Department of Orthopedics, Fifth Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China)

Abstract

BACKGROUND: Recent studies have shown that platelet rich plasma has strong osteogenic ability and it has been widely used in the field of department of orthopedics and department of stomatology, but experimental study on avascular necrosis of the femoral head has been not reported.

OBJECTIVE: To observe the effect of platelet rich plasma gel combined with marrow core decompression in the repair of aseptic necrosis of rabbit femoral head.

METHODS: A total of 25 New Zealand white rabbits were obtained. Without dislocation of the hip joint, aseptic necrosis model was established by using liquid nitrogen cryotherapy on bilateral femoral head of rabbits. At 2 weeks after model establishment, rabbit models were randomly assigned. Model group with nine rabbits did not receive any treatment. Core decompression group with eight rabbits underwent core decompression treatment. Combination group with eight rabbits underwent core decompression combined with platelet rich plasma gel treatment. At 8 weeks after model induction, tissue sections of femoral head specimens were collected and subjected to MRI and hematoxylin-eosin staining.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) MRI examination: The model group showed low signal area of different forms in femoral head fat high signal, exhibited annular, ribbon and focal shapes. No evident changes in osteogenesis, no apparent minification of the defect cavity were detected at defect site in the core decompression group, showing long T1 and T2 signals. Defect cavity disappeared, and new bone of short T1 and T2 signals filled in the

Cui Yong, Master, Associate chief physician, Department of Orthopedics, Fifth Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Corresponding author: Kaisaierjiang•Aihemaiti, Associate chief physician, Master's supervisor, Department of Orthopedics, Fifth Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Accepted: 2014-05-10

combination group. (2) Hematoxylin-eosin staining: Articular cartilage defect and repair existed in the model group, showing osteoarthritis-like changes. Empty bone lacuna of bone trabecula, hematopoietic cell and adipocyte necrosis in bone marrow were detected in the core decompression group. Empty bone lacuna of bone trabecula, focal necrosis scattered in bone marrow were visible in the combination group. Results suggested that the outcomes of platelet rich plasma gel combined with core decompression were better than core decompression alone in treatment of rabbit models of femoral head necrosis.

Subject headings: decompression, surgical; platelet-rich plasma; gels
Funding: the Youth Science and Technology Innovation Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 2013Y11

Cui Y, Fang GZ, Kaisaierjiang•Aihemaiti. Platelet rich plasma gel combined with core decompression for repair of aseptic necrosis of the femoral head in a rabbit. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2014;18(27):4383-4388.

0 引言 Introduction

股骨头坏死，又称股骨头缺血性坏死，主要累及30-59岁的中青年[1]，多双侧发病，坏死范围广，男性为多发群体，2-12岁儿童也是发病群体之一。资料显示，中国每年新发病例约15万以上，累计病例在(150-300)万；美国每年新发病例为1.5万，全国累计(30-60)万；日本每年新发病例为(0.4-1.0)万；该病致残率较高，已成为世界关注的热点[2-5]。因此，提高股骨头坏死治疗水平十分重要。

股骨头坏死发病机制复杂多样，至今尚未完全阐明，病因大多由于长期应用激素、长期大量饮酒、髋部外伤史、风湿病、血液病、潜水病、烧伤等引起，目前认为微循环障碍是原发性股骨头坏死的共同病理机制，其病理演变的因素可概括为3个方面：病因、破骨细胞介导的骨吸收与骨的有效重建速度的平衡关系、生物力学作用。各种病因最终导致微循环损害。一方面，骨细胞及骨髓组织坏死，骨髓间充质细胞向成骨细胞分化的能力下降，破骨细胞对失去保护骨小梁的吸收增强，使骨小梁变得稀疏、细小；另一方面，因骨小梁中的骨细胞坏死，失去了矿物代谢功能，其生物力学强度随之下降，当应力传导时，稀疏紊乱的骨小梁极易发生断裂而导致骨折，在骨坏死吸收的同时伴随修复，修复的强弱取决于供血状态及骨髓的功能状态。骨髓间质细胞分裂增生，在骨坏死区出现富含成纤维样细胞的结缔组织及毛细血管再生。成骨细胞与来自于骨髓间质细胞分化的成骨细胞合成骨基质，重建坏死的骨小梁，骨坏死的吸收速度及新生骨的有效重建速度应该保持一定的平衡关系，而这种关系最终由破骨细胞的活动、骨髓间质细胞向成骨细胞分化的能力及成骨细胞的功能状态决定[6-7]。总之，股骨头坏死的特征是股骨头缺血、坏死，随之出现修复再生反应，进而发生股骨头塌陷，关节间隙变窄，最终形成髋关节退行性关节炎。全髋关节置换是股骨头坏死晚期患者最佳的治疗方案。

目前，由于股骨头坏死的病理机制和自然病程不甚明确，所以常规应用的临床治疗方案，保守治疗、介入治疗、转基因治疗及手术治疗均不能有效避免股骨头坏死晚期发生塌陷。股骨头坏死的手术治疗方法很多，比如髓芯钻孔减压、带蒂肌骨瓣移植、骨髓干细胞移植、截骨术、人工关节置换等，各种治疗方法主要根据坏死范围、部位、分期，有无其他合并疾病等来决定采取何种方法，但是没有一种单一的手术方式能完全逆转股骨头坏死的病变过程。

1984年Assoian等[8]研究发现富血小板血浆中含有高浓度促进骨组织和软组织再生修复的多种细胞生长因子，包括血小板衍生生长因子、血小板衍生内皮细胞生长因子、转化生长因子β1、转化生长因子β2、表皮生长因子、血管内皮生长因子、成纤维细胞生长因子、血小板激活因子，自此拉开了富血小板血浆研究的热潮，为骨缺损修复开辟了新道路。

本实验是建立在兔股骨头坏死模型的成熟，富血小板血浆提取技术的安全方便及其在口腔及骨科领域中广泛应用的基础上，探讨富血小板血浆联合髓芯减压的疗效是否优于单纯髓芯减压，为后续研究奠定基础。

1 材料和方法 Materials and methods

设计：对照观察动物实验。

时间及地点：于2013年6月至2014年6月在新疆医科大学动物实验中心完成。

材料：

实验动物：6月龄SPF级新西兰大白兔28只，由新疆医科大学实验动物中心提供，体质量2.5-3.0 kg。采用实验室啮齿类动物标准饲料饲养，自由摄水及食物，饲养间室温控制在20-25 ℃，湿度控制在70%左右，空气流通。动物实验操作程序经新疆医科大学实验动物伦理委员会审议批准。

主要仪器：1.5T核磁共振仪(德国西门子公司，新疆医科大学第五附属医院提供)；数字减影血管造影机(新疆医科大学第一附属医院医学研究中心实验动物科学研究部提供)；离心机(新疆医科大学第一附属医院医学研究中心实验动物科学研究部提供)；生物组织包埋机(天津航空机电公司，新疆医科大学第五附属医院提供)；光学显微镜、图像信号采集与分析系统(日本Olympus公司，新疆医科大学第五附属医院提供)。

药品及试剂：①麻醉药品的配制：安定10 mg、氯胺酮0.1 g、阿托品0.5 mg、吗啡10 mg，4种药物按1∶1配比与氯化钠注射液混合(所有麻醉药品均由新疆医科大学第一附属医院医学研究中心实验动物科学研究部提供)。②富血小板血浆的获得：兔自体血液富集提取。③液氮由新疆医科大学第一附属医院医学研究中心实验动物科学研究

部提供。④抗凝剂、凝血剂、染色剂由新疆医科大学第五附属医院提供。

实验方法：

建立股骨头无菌性坏死动物模型：所有动物的双侧股骨头均参加实验，术前正常饮食饮水，局部脱毛，兔耳缘静脉麻醉后，取俯卧位，取髋关节后侧4 cm长皮肤切口，钝性分离皮下组织至肌层，分离浅深筋膜，寻找臀中肌间隙，显露髋关节，暴露关节囊并十字切开，内旋股骨，显露股骨头的负重区，在不切断股骨头圆韧带、髋关节不脱位的基础上，保护周围组织，以液氮棉团连续快速冷冻股骨头10 s，共约20次，温盐水复温1 min后关闭手术切口。术后常规饮食，完全负重继续单笼饲养，术后3 d青霉素40×10^4 U/d肌肉注射，以预防术后感染。

造模成功的判定：①MRI检查指标：Mont等[9]比较文献后发现，目前常用的股骨头坏死分期方法有3种，占到文献报道分期方法的85%，这3种分期方法分别为Ficat-Arlet分期、国际骨循环研究学会分期和宾夕法尼亚大学分期。②一般情况：观察各组动物造模后的步态和体质量变化。镜下观察骨小梁空骨陷窝，骨细胞核固缩，周围骨髓坏死包括脂肪细胞和造血细胞坏死，骨小梁正常而只有骨髓坏死也认为是骨坏死[10]。

动物分组：建立模型过程中，3只兔因腹泻死亡，将剩余25只依照随机表法分为3组，模型组9只不再做任何治疗，髓芯减压组8只在模型建立后第2周双侧股骨头给予髓芯减压治疗，联合组8只在模型建立后第2周双侧股骨头给予髓芯减压联合富血小板血浆凝胶治疗。将所有实验兔编号，均为单笼饲养。

富血小板血浆凝胶的制备：富血小板血浆制作过程严格施行无菌操作，选取10 mL含复方枸橼酸钠抗疑剂抗凝管，从兔耳中央动脉抽10 mL血液离心，血液摇匀，置入离心管中，采用两次离心法，第1次离心，3 650 r/min离心10 min，液体分成上清液层和红细胞层，吸取上清液及交界面以下1.0-2.0 mm的红细胞至另一离心管，进行第2次离心，3 000 r/min离心10 min，弃去上清液上3/4，剩余液体约0.7 mL，摇匀，即为富血小板血浆。取1个2 mL注射器，依次吸入0.7 mL富血小板血浆，0.3 mL凝血剂(由1 mL 10%的氯化钙、1 000 U凝血酶混合而成)和0.2 mL空气(吸入空气便于摇匀)，摇匀，放置10 s左右，制成富血小板血浆凝胶，配好即用。

髓芯减压方法：将兔制动后侧卧，局部麻醉，常规消毒，铺无菌巾，患股骨头在数字剪影机透视引导下定位，找到股骨大转子部取股骨头外侧面前中轴线为进针点，以直径1 mm骨髓穿刺针平行于股骨颈，注意保持10°左右的前倾角，穿过股骨头坏死区域至股骨头软骨处，用细柯氏针沿导针钻孔扩槽，扩出直径约2 mm的孔。以同样方法向囊内坏死区不同方向转孔2个。髓芯减压组只做髓芯减压不注射富血小板血浆，联合组向孔内注射富血小板血浆凝胶1 mL，模型组正常喂养不做任何处理。

主要观察指标：

MRI检查：建模前确定所有实验动物双侧股骨头正常，治疗前分别检查3组动物股骨头是否有坏死，造模后第4周观察3组治疗效果，麻醉后，取仰卧位，下肢屈曲并固定。MRI扫描，关节线圈，常规SE序列T1WI(TR/TE=490/14 ms)，T2WI(TR/TE=2 632/96 ms)；矩阵128×256；视野14 cm×14 cm；层厚3 mm，无间隔。T1WI表现为点状、线状、片状低信号或T2WI表现为点状、细线状、片状高信号被认为是股骨头坏死。

组织学观察：造模后第8周对所有实验兔进行核磁检查，核磁检查后即以耳缘静脉过量麻醉剂快速推注处死兔子，双侧股骨头标本取材，参照文献[11]观察大体关节面外形及剥脱情况、关节软骨色泽、软骨下区改变及骨小梁和骺板变化，参照文献[12]再将股骨头沿冠状面切开，体积分数10%甲醛固定24 h，8%甲酸溶液中脱钙48-72 h，梯度乙醇脱水，常规石蜡包埋，5 μm厚切开后行苏木精-伊红染色，先大体观察切片关节面剥脱程度、骺板及骨小梁形态等变化，并用数码相机进行拍照，再用光学显微镜按照5层(即关节软骨区、软骨下区、坏死区、修复区、骺板区)观察关节软骨、骨小梁形态、空骨陷窝数、髓腔等在各个时间点的组织形态变化，评价骨组织坏死及修复程度。

质量控制：①参与本课题的所有实验人员进入实验前必须通过新疆医科大学第一附属医院的体检，除外肝炎、结核等传染病，进行系统的实验前培训，了解实验兔的习性，严格按照动物实验的伦理要求进一步实验。依照新疆医科大学第一附属医院动物实验中心的相关要求，先填写一份有关该实验详细步骤的申请书，经由一附院动物实验中心伦理委员会审核合格后，先进行预实验，熟悉实验的整个过程，提高造模成功率及实验准确度，在实验中心各位老师的指导下完成正式实验。②实验动物按随机数字表法分组，整个实验过程遵守可行性、重复性、随机性、对照等原则，确保实验兔的生活环境(饲养、温度、湿度、光照)等一致，尽可能避免客观环境影响实验结果。③实验动物模型已经相当成熟，严格按照相关文献[13]进行造模。富血小板血浆的提取安全可靠。④新疆医科大学第一附属医院实验研究中心具有完善的实验平台及专业技术指导人员，实验指标的检测设备均来源正规厂家，检测过程是在新疆医科大学第一及第五附属医院相关专业技术人员的指导下完成，统计学设计及统计结果分析在新疆医科大学第一附属医院科技楼医学统计分析教研室老师的指导下完成。

统计学分析：所有实验数据均用SPSS 10.0软件进行统计分析，数据以$\bar{x}\pm s$表示，实验前后数据比较采用配对t检验，同期数据比较采用方差分析，然后再进行两两比较，$P < 0.05$为差异有显著性意义。

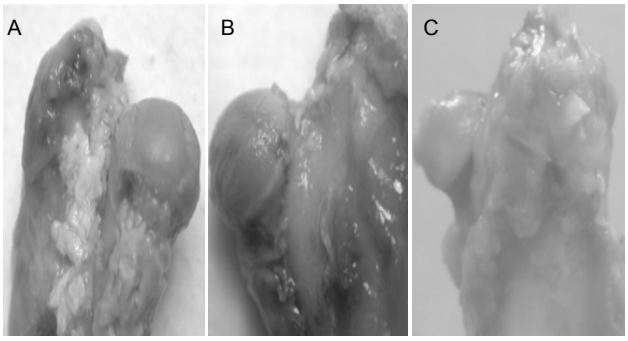

图 1　采用不同方法治疗兔股骨头无菌性坏死的大体观察

Figure 1　General observation of aseptic necrosis of the rabbit femoral head after different treatments

图注：图中 A 为兔股骨头无菌性坏死模型建立后 8 周，关节软骨表面苍白粗糙不平，剥脱严重，关节软骨下有骨暴露；B 为髓芯减压治疗后 6 周，股骨头标本外形大体正常，关节软骨薄且苍白，未见明显软骨剥脱或股骨头塌陷；C 为自体富血小板血浆联合髓芯减压治疗后 6 周，股骨头标本外形大体正常，关节软骨表面略苍白，表面平整，无明显软骨剥脱及股骨头塌陷。

表 1　各组兔股骨头坏死率

Table 1　Necrosis rate of rabbit femoral head in each group　(%)

组别	左侧股骨头坏死率	右侧股骨头坏死率
模型组	77.8	88.9
髓芯减压组	50.0	62.5
联合组	25.0	37.5
x^2	56.26	56.26
P	0	0

2　结果　Results

2.1　*动物一般情况观察*　建模过程中3只兔因腹泻死亡，余25只动物未发生髋关节脱位，造模后二三周伤口缝线自行脱落，伤口Ⅰ期愈合。

模型组：造模后第1周食欲尚可，体质量未见明显改变，无跛行步态，第2周体质量增长速度缓慢，活动量较前减少，无跛行步态，第4周所有动物未出现跛行，从第6周开始体质量无明显增长，未出现跛行，两侧髋关节外旋外展出现明显抵抗。第8周，7只体质量减轻，毛发无色泽，所有兔均有不同程度跛行。

髓芯减压组：行髓芯减压1周后所有实验动物饮食正常，活动较少，将两侧髋关节外旋外展时伴有抵抗，2周后所有动物均恢复正常活动，饮食正常，其中有4只两侧髋关节外旋外展时无明显抵抗。4周后所有动物正常活动，无明显跛行，髋关节外旋外展时无明显抵抗。

联合组：髓芯减压注入富血小板血浆后1周所有实验动物饮食、活动正常，将两侧髋关节外旋外展时伴有抵抗，2周后所有动物恢复正常活动，无跛行，其中有6只两侧髋关节外旋外展时无明显抵抗。4周后所有动物正常活动，无跛行，髋关节外旋外展时无明显抵抗。

2.2　MRI观察　模型组造模后4周表现为坏死区低信号围绕的信号不均坏死区，8周时表现为股骨头脂肪高信号中出现不同形态的低信号区，呈环形、带状和灶状。髓芯减压组造模后4周，减压缺损区无明显成骨改变，缺损腔无明显缩小，以长T1、T2信号为主，8周时缺损腔仍为长T1、T2信号。联合组造模后4周有较明显的成骨，表现为长T1短T2信号，缺损腔缩小；8周时缺损腔消失，可见到被短T1、T2的大量新生骨所充填。

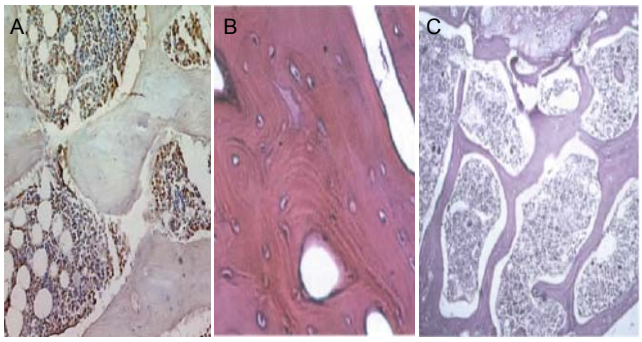

图 2　采用不同方法治疗兔股骨头无菌性坏死的苏木精-伊红染色(光学显微镜，×200)

Figure 2　Hematoxylin-eosin staining of sections after various treatments for aseptic necrosis of the rabbit femoral head (light microscope, ×200)

图注：图中 A 为兔股骨头无菌性坏死模型建立后 8 周，骨小梁断裂，排列紊乱，骨小梁骨折和吸收同时存在，骨陷窝空虚，出现大量新生类骨质，骨髓内大面积造血细胞和脂肪细胞坏死，坏死周围可见炎细胞浸润及纤维组织增生，呈现骨性关节炎样改变；B 为髓芯减压治疗后 6 周，骨小梁空骨陷窝，骨髓内造血细胞和脂肪细胞坏死；C 为自体富血小板血浆联合髓芯减压治疗后 6 周，骨小梁空骨陷窝，骨髓散在灶状坏死。

2.3　*股骨头标本大体及组织学观察*　模型组股骨头标本外形变扁，冷冻关节软骨表面苍白粗糙不平，剥脱严重，关节软骨下有骨暴露，大量骨小梁断裂，对应冷冻处下方骺板模糊，髓腔周围有死骨，并可见新骨生长，并有2只失去其圆形轮廓，间隙变窄，呈现骨性关节炎样改变(**图1A**)；苏木精-伊红染色显示冷冻关节的关节软骨缺损与修复同时存在，骨小梁断裂，排列紊乱，骨小梁骨折和吸收同时存在，骨陷窝空虚，出现大量的新生类骨质，骨髓内大面积造血细胞和脂肪细胞坏死，坏死周围可见炎细胞浸润及纤维组织增生，间隙变窄，呈现骨性关节炎样改变(**图2A**)。髓芯减压组冷冻股骨头标本外形大体正常，关节软骨薄且苍白，未见明显软骨剥脱或股骨头塌陷(**图1B**)；苏木精-伊红染色表现为骨小梁空骨陷窝，骨髓内造血细胞和脂肪细胞坏死(**图2B**)。联合组冷冻股骨头标本外形大体正常，关节软骨表面略苍白，表面平整，无明显软骨剥脱及股骨头塌陷(**图1C**)；苏木精-伊红染色表现骨小梁空骨陷窝，骨髓散在灶状坏死(**图2C**)。各组股骨头坏死率见**表1**。

3　讨论　Discussion

股骨头缺血性坏死的病因及发病机制的研究现状股骨头坏死不管是什么原因所致，最终都是由于骨细胞缺

氧而死亡。大多数股骨头坏死的病因和病理都与局部血循环或微循环障碍有关，因而凡是能影响股骨头血液循环的因素都可能是致病原因。然而骨坏死又不仅仅是骨细胞死亡还包括骨髓的死亡。

创伤性骨坏死是由血流的直接阻断导致的，而非创伤性骨坏死的发病机制研究由于缺乏纵向比较研究和理想的动物模型[14]，目前仍不十分清楚。非创伤性骨坏死的病因有以下假说，如血管内凝血学说、脂肪栓塞学说、骨内高压及静脉淤滞学说、微血管损伤学说、骨质疏松学说等，原因都是机械性原因、血栓栓塞和血管外压迫等阻断了血管血流，导致缺血，最后出现骨细胞坏死。

3.2 股骨头缺血性坏死的治疗现状 股骨头缺血性坏死是一种慢性骨科疑难病，早期有效的治疗对防止患者致残和预后至关重要，国内外学者对此做了大量研究工作，目前治疗方法多种多样，但最为理想的方法是保留完整的股骨头。治疗的主要目标是重建及改善缺血坏死股骨头的血供[2]，加强对股骨头软骨下骨的支撑，促进股骨头内缺血坏死区的骨修复重建，保存自体骨股骨头，防止塌陷[15]。而早期有效的治疗是防止股骨头塌陷的关键，但目前尚未很好地解决这一难题。

保守治疗：保守治疗又称非手术治疗，目前保守的方法主要有药物治疗、体外骨冲击波、高压氧疗法、电刺激疗法、限制负重功能锻炼等，非手术疗法的失败率为80%-92%，与非治疗组相当。早期股骨头坏死通过限制负重功能锻炼，减少对股骨头的应力作用，防止股骨头软骨下骨的骨折和股骨头塌陷，减缓疾病进展，但其效果非常有限。股骨头坏死的非手术治疗方法很多，对早期患者能够起到一定缓解疼痛的作用，但是其并不能有效延缓股骨头坏死的进程。

手术治疗：①髓芯减压：动物实验及临床应用证明髓芯减压可改善股骨头坏死负重区血液循环，降低股骨头骨内压，而且可以刺激减压隧道内的血管生长，促进死骨的爬行替代[15-18]。目前有报道应用3 mm钻头多次钻孔治疗股骨头坏死取得了较传统髓芯减压技术更理想的治疗效果[19]，且没有传统髓芯减压技术的系列并发症，但目前本法主要适用于0-ⅡA期的患者[20]。②截骨术：截骨术的目的是通过截骨使股骨头坏死区偏离负重区域，改变其力学环境，防止股骨头进一步塌陷。Scheider等[21]分析各种截骨法治疗股骨头坏死后发现，旋转截骨并发症发生率最高(55%)。③介入治疗：介入治疗股骨头坏死是一种介于保守和手术治疗之间的新的治疗方法。其机制就是经股动脉直接将高剂量溶栓剂、扩张血管改善循环及促骨质生长药物，选择性地插入患侧靶血管内，保证了病变部位营养血管内药物的浓度，使药物充分发挥效应，达到改善局部的血液供应，延缓骨坏死发展，促进骨修复和新骨再生的目的。近几年研究结果提示，介入治疗对FicatⅠ、Ⅱ期因外伤、激素、酗酒引起的股骨头坏死优于不明原因引起的股骨头坏死，对于Ⅲ期患者介入治疗后能明显缓解临床症状，较好促进坏死骨质修复和关节功能的恢复，而Ⅳ期患者经介入治疗治愈的可能性不大，多为部分缓解、延缓或终止病情进展。④人工关节置换：人工关节置换分为髋关节表面置换、全髓关节置换及人工股骨头置换。髋关节表面置换适用于髓关节畸形较轻、局部骨质好的患者，人工股骨头置换与全髓关节置换适用于晚期患者中的老年人(国外学者主张55-60岁以上患者为宜，国内学者主张60岁以上患者为宜)，髋臼无改变的ARCO分期Ⅲ(B、C)期及Ⅳ期，关节功能障碍，疼痛较重者亦选用全髋关节置换。

3.3 本实验构思及设计

动物模型的选择：理想股骨头坏死模型应该能够模拟人股骨头坏死整个自然病理过程和人股骨头坏死软骨下骨塌陷的临床特征，国内外学者对此进行了大量研究。Takoaka等[22]曾用液氮冷冻方法建立了犬股骨头坏死模型，但术后易并发腹泻，动物存活率低且冻死面积过大不利于后续研究，杨述华等[23]用同样方法建立家兔股骨头坏死模型，是将股骨头脱位，冷冻3 min，盐水复温后再复位。但该法使整个股骨头坏死，骨组织的修复出现较晚(术后1个月)且不活跃。戴双武等[13]则总结前人的成功经验，在不造成髋关节脱位的情况下使用液氮冷冻股骨头，成功建立了兔股骨头坏死模型，此法简便易行成功率高，可作为后续研究的理想模型。周正丽等[24]实验结果提示适宜的冷冻强度能使股骨头坏死病损深度波及到干骺端，证实兔股骨头坏死模型病变渐进发展并与修复交织的显著特征，这与人类股骨头坏死疾病演变过程极其相似，本实验即参照其液氮冷冻不造成髋关节脱位造模的方法，结合病理结果显示造模较成功，为进一步的后续研究奠定基础。

3.4 对髓芯减压及富血小板血浆的认识 股骨头坏死的治疗是目前骨科面临的难题，尤其是早中期，从文献报道看，对于早中期的治疗方法很多，其治疗效果也是各执己见，晚期治疗全髋置换是惟一选择。而目前人工关节的使用年限10-20年，对于年轻的患者再次行返修术效果更差，因此对早中期年轻的股骨头坏死仍主张采取尽量保存股骨头的方法。

髓芯减压是本病的传统治疗方法，术后缓解疼痛效果明显，其理论依据是骨坏死后股骨头内血流减少且常伴有骨内压增高，通过钻开骨皮质使密闭的骨坏死腔开放，以降低骨内压，增加静脉回流，改善骨内微循环[24-25]；坏死组织也可经减压隧道排出或被新生骨组织替代，从而恢复骨的活性，重塑骨的结构；还可减轻骨髓水肿，降低髓腔内压，刺激髓腔内新生血管形成，改善股骨头的血运。但在股骨头坏死自然修复过程中，随着血运的重建，破骨和骨吸收的速度常大于新骨的形成[26]，髓芯减压后就使已经薄弱的软骨下骨机械支撑力进一步减弱，反而会加速股骨头的塌陷。因此单纯的髓芯减压已不能有效减缓塌陷进程，寻找在髓芯减压后防止软骨下骨进一步塌陷的措施是关键。

Marx等[27]在20世纪90年代最早开始研究富血小板血

浆对骨组织修复的作用，其研究结果发现，富血小板血浆复合移植骨修复速度比单纯用移植骨修复速度快1.6-2.6倍，富血小板血浆组移植骨密度也较对照组明显增高，并发现促进骨缺损修复的机制主要在于高浓度的血小板衍生生长因子和转化生长因子β刺激成骨。因此本实验验证富血小板血浆联合髓芯减压是否优于单纯髓芯减压对股骨头坏死的疗效。实验数据及病理学观察也证实了髓芯减压术在一定程度上对股骨头坏死起到了治疗作用，但很有限。自体富血小板凝胶来自于患者自身，提取简便，对患者损伤小，安全无排斥作用，通过实验初步证实了富血小板血浆联合髓芯减压在兔股骨头坏死中的治疗作用。

3.5 研究的理论及实际意义 股骨头坏死已经成为骨科的一种常见病，致残率高，并且有年轻化的趋势，保头治疗是目前研究的重点，近年来的研究表明，富血小板血浆有较强的成骨能力且在骨科及口腔科领域已得到广泛应用，而在股骨头坏死方面的实验文献中未有报道。本实验通过髓芯减压联合富血小板血浆治疗股骨头坏死，根据实验病理结果及统计分析结果提示富血小板血浆联合髓芯减压治疗股骨头坏死优于单纯髓芯减压，为今后进一步研究乃至应用于临床提供了基础。

作者贡献：凯赛尔江·艾合买提进行实验设计，实验实施为方国正，实验评估为崔泳，资料收集为崔泳，方国正成文，凯赛尔江·艾合买提审校，崔泳对文章负责。

利益冲突：文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求：动物实验操作程序经新疆医科大学实验动物伦理委员会审议批准。

学术术语：富血小板血浆-是自体全血经离心后得到的血小板浓缩物，含有大量生长因子及蛋白质。

作者声明：文章为原创作品，无抄袭剽窃，无泄密及署名和专利争议，内容及数据真实，文责自负。

4 参考文献 References

[1] Jones LC,Hungerford DS.The pathogenesis of osteonecrosis. Instr Course Lect.2007;56(2):179-196.

[2] 李子荣. 中日友好医院成立骨坏死与关节保留重建中心[J]. 中国骨肿瘤骨病,2004,3(5):封底.

[3] 王义生.股骨头坏死的分期治疗[J].郑州大学学报:医学版,2009,44(2):252.

[4] 王义生.股骨头缺血性坏死[J].中国矫形外科杂志,2005,13(4):310.

[5] 李子荣,孙伟,张念非,等.SARS患者骨坏死：皮质激素与骨坏死关系[J].中日友好医院学报,2004,12(1):34.

[6] Suh KT,Kim SW,Roh HL,et al.Decreased osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in alcohol-induced osteonecrosis.Clin Orthop.2005;(431):220.

[7] Weibrich G,Kleis WK,Hafner G.Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system.Int J Oral Maxillofac Implants.2002;17(2):184-190.

[8] Assoian RK,Grotendorst GR,Muller DM,et al.Cellular transformation by coordinated action of three peptide growth factors from hum an platelets.Nature.1984;309(5971):804-806.

[9] Mont MA,Marulanda GA,Jones LC,et al.Systematic analysis of classification systems for osteoecrosis of the femoral head.J Bone Joint Surg (Am).2006;88(Suppl 3):16-26.

[10] Yamamoto T,Irisa T,Sugioka Y,et al. Effects of pulse methyl prednisolone on bone and marrow tissues.Arthritis Rheum. 1997; 40:2055.

[11] 戚亦萍,吴明媛,王明海,等.兔膝关节炎骨关节组织切片的制备方法[J].上海交通大学学报:农业科学版,2009,27(3):314-317.

[12] 陈富周.成人股骨头缺血坏死的组织病理学观察[J].中国现代医学杂志,2009,19(13):2044-2047.

[13] 戴双武,丁帅,李章华,等.液氮冷冻法制作兔股骨头坏死模型：可行，理想与可信[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(2):276-279.

[14] Boss JH,Misselevich I.Osteonecrosis of the femoral head of laboratory animals: the lessons learned from a comparative study of osteonecrosis in man and experimental animals.VVet Pathol.2003;40(4):345-354.

[15] 徐小良,王坤正,陈君长.成人股骨头缺血性坏死保髋手术治疗现状[J].中国矫形外科杂志,2000,7(11):1114-1116.

[16] Valerie G,Jean H,Celso M,et al.Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone-marrow cells.J Bone Joint Surg Am.2004;86-A(6):1153-1160.

[17] Gangji V,Hauzeur JP.Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone-marrow cells. Surgical technique.J Bone Joint Surg Am.2005;87 Suppl 1(Pt 1):106-112.

[18] Hernigou P,Beaujean F.Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting.Clin Orthop Relat Res.2002;(405):14-23.

[19] Mont MA,Ragland PS,Etienne G.Core decompression of the femoral head for osteonecrosis using percutaneous multiple small-diameter drilling.Clin Orthop Relat Res.2004;(429):131-138.

[20] 罗先正,邱贵兴.人工髋关节学[M].北京:中国协和医科大学出版社,2003:275.

[21] Scheider W,Aigner N,Ping gera O,et al.Intertrochanteric osteotomy for avascular necrosis of the head of the femur. Survival probability of two different methods.J J Bone Joint Surg Br.2002;84(6):817-824.

[22] Takaoka K,Yoshioka T,Hosoya T,et al.The repair process in experimentally induced avascular necrosis of the femoral head in dogs.Arch Orthop Trauma Surg.1981;99(2):109-115.

[23] 杨述华,杨操,许伟华,等.液氮冷冻建立兔股骨头缺血性坏死模型[J].中国矫形外科杂志,2003,8(1):48-49.

[24] 周正丽,张潜,彭笳宸,等.液氮冷冻兔股骨头坏死模型制备新方法及可靠性评价[J].解剖学报,2012,43(2):284-288.

[25] Radke S,Kirschner S,Seipel V,et al.Magnetic resonance imaging criteria of successful core decompression in avascular necrosis of the hip. Skeletal Radiol.2004;33(9):519-523.

[26] Plenk HJR,Gstettner M,Gossschmidt K,et al.Magnetic resonance imaging and histology of repair in femoral head osteonecrosis.Clin Orthop.2001;386(5):42-53.

[27] Marx RE,Carlson ER,Eichstaedt RM,et al.Platelet-rich plasma growth factor enhancement for bon e grafts. Oral Surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod.1998;85(6):638-646.