

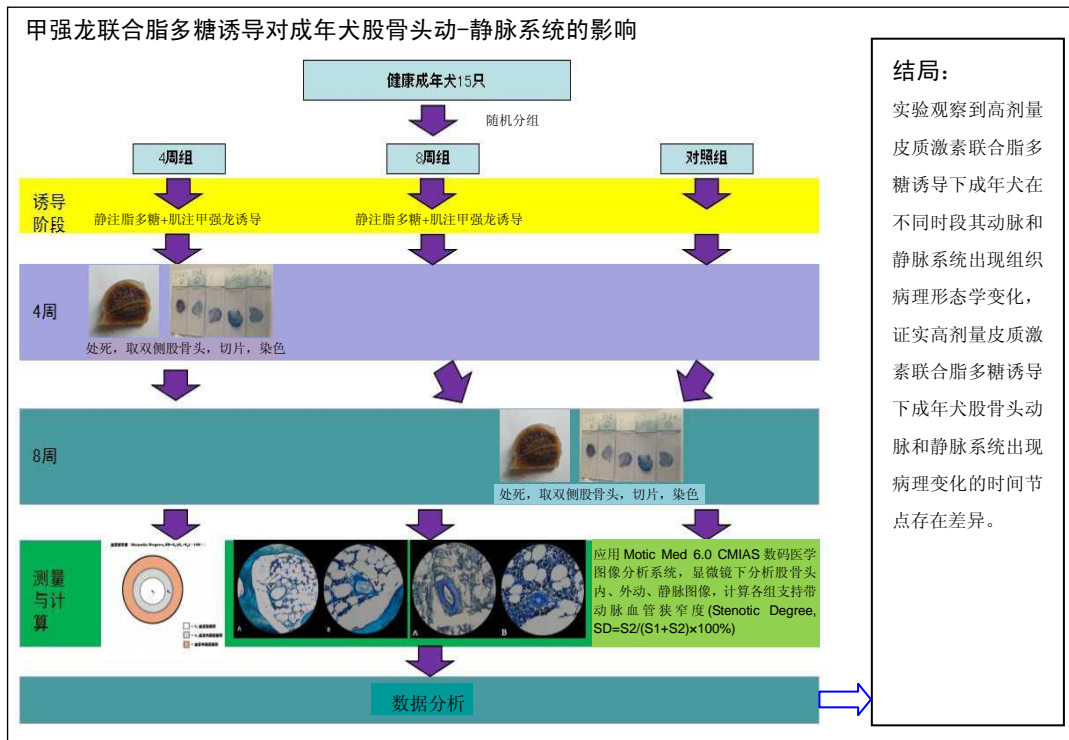
甲强龙联合脂多糖诱导成年犬股骨头动-静脉系统的组织病理学特点

张耀^{1,2}, 赵德伟^{1,2}, 王子华², 尉晓蔚², 田丰德², 杨帆² (1大连理工大学生物医学工程学院, 辽宁省大连市 116024; 2大连大学附属中山医院骨科, 辽宁省大连市 116001)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0320

ORCID: 0000-0002-4725-111X(张耀)

文章快速阅读:



张耀, 男, 大连理工大学生物医学工程在读博士, 大连大学附属中山医院骨科主任医师, 主要从事骨肿瘤骨病及生物医学材料的研究。

通讯作者: 赵德伟, 博士生导师, 主任医师。大连理工大学生物医学工程学院, 辽宁省大连市 116024; 大连大学附属中山医院骨科, 辽宁省大连市 116001

中图分类号:R318

文献标识码:B

稿件接受: 2018-05-02



文题释义:

激素性股骨头坏死: 是因为长时间使用激素而引起的一种股骨头坏死, 从而引起骨细胞进一步缺血、坏死、骨小梁断裂、股骨头塌陷。

脂多糖: 是革兰阴性细菌细胞壁中的一种成分, 脂多糖对宿主是有毒性的。脂多糖只有当细菌死亡溶解或用人工方法破坏菌细胞后才释放出来, 所以叫做内毒素。

摘要

背景: 糖皮质激素类的诸多作用机制对于与骨坏死的病理过程的启动有密切关系, 然而对于激素性骨坏死时股骨头动、静脉血管在不同时段发生的病理形态学变化的区别仍缺少相关记述。

目的: 观察大剂量皮质激素联合脂多糖诱导下的成年犬在不同时段其动脉和静脉系统的组织病理形态学变化, 以讨论这种变化对骨坏死发生和发展造成的可能影响。

方法: 将健康成年犬 15 只随机分为 4, 8 周观察组及对照组, 每组 5 只(10 髌)。4, 8 周观察组行静脉注射脂多糖 10 g/kg, 于 24 h 后肌注甲强龙 20 mg/kg, 连续注射 3 次, 每次间隔 24 h, 干预后 4, 8 周麻醉处死, 取股骨头行双侧病理切片染色, 对骨内及支持带静脉血管缩窄度进行分析测量。

结果与结论: 诱导 4, 8 周后, 犬骨内静脉的结构形态发生明显变化, 表现为正常型静脉结构显著减少, 而中度狭窄型、阻塞塌陷型静脉结构占比显著升高。在骨内动脉系统, 8 周观察组相对其他 2 组骨内区域动脉血管内膜相对增厚, 血管缩窄程度高($P < 0.05$)。结果证实, 在皮质激素联合脂多糖诱导下, 成年犬股骨头动脉和静脉系统出现病理变化的时间节点存在差异。静脉系统在药物诱导早期(4 周)最先呈现出病理变化, 而动脉系统病理变化出现在药物诱导 8 周后。

关键词:

股骨头坏死; 动物实验; 骨内动静脉; 糖皮质激素-脂多糖诱导; 组织学; 病理学; 血管缩窄度; 组织工程

主题词:

组织工程; 股骨头坏死; 脂多糖

基金资助:

国家自然科学基金(81601885)

Zhang Yao, Doctoral candidate, Chief physician, School of Biomedical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, Liaoning Province, China; Department of Orthopedics, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian 116001, Liaoning Province, China

Corresponding author: Zhao De-wei, Doctoral supervisor, Chief physician, School of Biomedical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, Liaoning Province, China; Department of Orthopedics, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian 116001, Liaoning Province, China

Histopathological characteristics of femoral head arteriovenous system induced by methylprednisolone and lipopolysaccharide in adult dogs

Zhang Yao^{1,2}, Zhao De-wei^{1,2}, Wang Zi-hua², Yu Xiao-wei², Tian Feng-de², Yang Fan² (¹School of Biomedical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, Liaoning Province, China; ²Department of Orthopedics, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian 116001, Liaoning Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Many mechanisms of action of glucocorticoids are closely related to the occurrence of osteonecrosis. However, the differences in pathomorphological changes between femoral head arteries and veins at different periods of steroid-induced osteonecrosis are rarely reported.

OBJECTIVE: To observe the histopathological changes of the arterial and venous system in adult dogs induced by high-dose corticosteroid combined with lipopolysaccharide, and to explore effects of these changes on the occurrence and development of osteonecrosis.

METHODS: Fifteen healthy adult dogs were randomly divided into, 4- and 8-week observation groups and control group ($n=5$ (10 hips) per group). The dogs in the observation groups underwent venous injection of 10 g/kg lipopolysaccharide, then intramuscular injection of 20 mg/kg methylprednisolone after 24 hours, for 3 times, with 24 hours in between. Afterwards, the dogs were sacrificed at 4 and 8 weeks respectively. The bilateral femoral heads were removed for pathological observation. The stenotic degree of arteries and veins in the bone and supporting band was measured.

RESULTS AND CONCLUSION: At 4 and 8 weeks after induction, the structure and morphology of normal intraosseous vein decreased significantly, while the proportion of moderate-stenotic and blocked-collapsed veins increased significantly. Compared with the 4-week observation and control groups, in the 8-week observation group, the thickness of arterial intima in the bone was significantly increased, and the stenotic degree was significantly increased ($P < 0.05$). These results indicate that there is difference in the occurrence of pathological changes between femoral artery and venous system in adult dogs under the induction of corticosteroids combined with lipopolysaccharide. The venous system presents the pathological changes at the early stage after induction (4 weeks), and the pathological changes occurred in the arterial system at 8 weeks.

Subject headings: Tissue Engineering; Femur Head Necrosis; Lipopolysaccharides

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81601885

0 引言 Introduction

糖皮质激素类的诸多作用机制与骨坏死的病理过程的启动有密切关系,这一论点已被学术界广泛接受^[1-4]。迄今为止,学术界对于糖皮质激素导致股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)的病理机制提出了很多理论,诸如脂类代谢障碍、脂肪栓塞、骨内压升高^[5]、脂肪细胞的增生和造成骨组织及股细胞内脂肪和脂质堆积,以及由细菌内毒素反应所启动血管内凝血^[6-8],以及激素对骨组织细胞的直接毒性作用等^[9]。发生骨坏死的基础和直接原因仍然是骨组织局部循环系统的病理变化,即局部血管结构的变化,其中包括动脉灌注和静脉回流。以往相关的研究大多关注糖皮质激素对股骨头循环系统的具有整体影响方面,如股骨头内血管内皮生长因子(VEGF)的表达^[10],或脂类代谢等方面的异常对于血管舒缩功能、血管损伤、血流黏滞和血管再生等方面的作用^[11-13]。然而,对于股骨头动、静脉血管在不同时段发生的病理形态学变化的区别仍缺少相关记述。在糖皮质激素的诱导下股骨头的基础循环结构(供血动脉/回流静脉)在不同时期发生的形态变化是否具有一致性?这种变化是否又可以一定程度下解释骨组织基础循环的失衡过程及骨坏死发生和发展的规律?

目前用于研究激素性骨坏死的动物模型也有很多,如单纯激素诱导^[14],激素联合马血清诱导^[15-16],激素联合内毒素诱导等^[17-19],其中有学者认为单纯应用激素诱导很难产生典型的股骨头坏死变化,激素联合血清诱导由于血清多为异种,易致使实验动物死亡,而激素联合脂多糖的方

法由于可使实验动物处于造成高凝状态后应用激素,其股骨头坏死造模成功率更高^[20],是一种研究骨坏死疾病的成熟的动物模型。由于成年犬与人类股骨头的循环系统具有相似的结构,实验尝试应用微血管解剖学测量和组织病理学手段对应用大剂量糖皮质激素诱导下的成年犬股骨头支持带动脉和静脉系统进行测量和分析,以期观察大剂量皮质激素联合脂多糖诱导下的成年犬在不同时段其动脉和静脉系统与对照组相比是否存在组织病理形态学变化,以及讨论这种变化对骨坏死发生和发展造成的可能影响。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 于2015年10月至12月在大连大学骨科及运动医学研究所完成。

1.3 材料 健康10-18月龄比格犬15只,体质量(11.0±1.2)kg,由大连医科大学实验动物养殖中心提供,许可证编号:SYXK(辽)2015-0463,随机抽取5只作为对照组,其余为实验组,适应性饲养2周,饲养温度(23±2)℃,湿度(45±20)%。

1.4 实验方法

1.4.1 实验动物分组 将拟用于研究的实验犬随机分为3组:4周观察组,共5只(10髋),先行甲强龙联合脂多糖诱导,4周后于麻醉下给予无痛处死,随后于双侧股骨颈基底部分切取股骨头用于组织病理学观察;8周观察组,共5只(10髋),先期处理同4周观察组,先行甲强龙联合脂多糖诱导,8周后于麻醉下给予无痛处死,之后于双侧股骨

颈基底部切取股骨头用于组织病理学观察; 对照组共 5 只 (10 髓), 不使用激素冲击, 麻醉下给予无痛处死, 随后于双侧股骨颈基底部切取股骨头用于组织病理学观察。

1.4.2 甲强龙联合脂多糖诱导 对 4, 8 周观察组共 10 只实验犬给予静脉注射脂多糖(LPS, lipopolysaccharide, Aladdin, China), 剂量 10 g/kg, 于 24 h 后肌注甲强龙(MPS, methylprednisolone, Pfizer, USA), 剂量 20 mg/kg, 连续注射 3 次, 每次间隔 24 h。所有动物均肌注青霉素预防感染。

1.4.3 病理学切片制作 分别于干预后 4, 8 周麻醉处死动物, 于双侧股骨颈基底部切取股骨头, 将所得股骨头以体积分数 10% 甲醛溶液固定 1 周后用体积分数 10% EDTA 脱钙液进行脱钙 1 个月, 之后在脱水机(SAKURA, Tissue Tek VIP, 东京都, 日本)中梯度脱水 1 d, 石蜡包埋, 应用病理切片机(LEICA, RM2245, 威兹勒, 德国)于股骨颈长轴的方向进行垂直切片, 切片的范围定位于以血管入骨点为中心层厚 10 mm 的节段, 所有切片制成为 4 mm 厚的薄切片, 应用二甲苯、乙醇梯度脱蜡, 进行改良的 van Gieson 染色(在原有的基础上用 1:1 高锰酸钾/亚甲基蓝混合液复染), 应用此种染色法实验可以对支持带血管进行组织病理学和形态学的测定。在支持带血管进入股骨头的区域进行连续切片, 以便于回流静脉的研究。

1.4.4 病理学切片观察与测量方法 Olympus 生物显微镜(日本, 东京)连接电脑, 切片标本通过摄像头捕捉后传输至图像处理器, 在电脑中成像, 经由病理图文分析软件(Motic Med 6.0 CMIAS 数码医学图像分析系统), 应用描图仪对血管相关数值进行分析测量, 并进行计算。

实验在 200 倍视野下, 应用专业病理图像处理分析系统(Motic Med 6.0 CMIAS 数码医学图像分析系统)在病理染色的切片上对支持带血管进行了计数和测量。实验取上支持带血管的内横截面积和内膜横截面积, 进而计算血管缩窄度(Stenotic Degree, $SD=S_2/(S_1+S_2)\times 100\%$, 图 1)为测量值, 并比较各组之间动脉血管缩窄度间的差异。实验同时计数了每组每个病例的血管数量并在各组之间进行横向比较。

1.5 主要观察指标 各组血管腔面积(S_1), 血管内膜层面积(S_2)及血管缩窄度。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 计量资料均进行 Shapiro-Wilk 检验, 符合正态分布 ($P=0.645$)。计量资料以小鼠 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间数据比较采用单因素方差分析和 LSD 检验, 3 组间静脉计数资料分布差异分析采取 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验共纳入成年犬 15 只, 均进入结果分析, 无死亡及感染, 无脱失值。

2.2 各组股骨头静脉系统病理改变 利用连续切片方法,

实验以血管穿出/穿入骨皮质的滋养孔为中心从骨内区域到骨外区域测量了穿经该区域的支持带静脉。在 200 倍显微镜下可以观察到, 在骨内区域内, 参与回流的静脉结构主要为薄壁窦状小管, 其在股骨头的穿出部分逐渐变为典型的具有薄静脉壁的静脉结构, 其外围包裹一层较厚的纤维间质。在邻近出骨点的骨外区域, 可以观察到静脉结构在形态上存在差异, 通过计算血管缩窄度(Stenotic Degree, $SD=S_2/(S_1+S_2)\times 100\%$), 可将静脉血管分为 3 种类型: 第 1 种: 正常型, 静脉管壁基本正常, 无明显管腔狭窄($SD < 33\%$); 第 2 种: 中度狭窄型, 静脉管腔呈现中度狭窄($33\% < SD < 66\%$); 第 3 种: 重度狭窄或阻塞塌陷型, 静脉管腔呈现严重狭窄或阻塞(缩窄度为 $SD: 66\% - 99\%$)甚至出现管壁塌陷或管腔消失(图 2)。在 3 组中, 观察到的静脉数量分别为 51, 57, 47, 平均 5.2/股骨头, 3 组间所有观察到的 3 种类型静脉结构的分布见表 1。

从实验结果可以观察到, 在经甲强龙及脂多糖联合诱导 4 周后, 犬支持带静脉的结构形态发生了明显变化, 表现为正常型静脉结构显著减少, 而中度狭窄型、阻塞塌陷型静脉结构占比显著升高。在诱导 8 周后, 中度狭窄型、阻塞塌陷型静脉在切片观察中仍然保持高比率, 其相对于对照组仍然有显著差异($P < 0.05$), 但对比 4 周观察组并无显著性意义($P > 0.05$)。

2.3 各组股骨头动脉系统病理改变 应用 Motic Med 6.0 CMIAS 数码医学图像分析系统, 通过对小血管病理横切面面积的测量将不规则的血管切面近似转换为规则的圆形(图 3), 通过血管直径, 内膜厚度以进行血管缩窄都近似计算。3 组支持带动脉血管缩窄度(Stenotic Degree, $SD=S_2/(S_1+S_2)\times 100\%$)在骨外和骨内区域测量计算数值如表 2。

将骨内区域和骨外区域 3 组血管缩窄度百分数测量数据进行比较: 在骨内区域, 3 组总体比较差异有显著性意义($P=0.001$), 但 4 周观察组与对照组比较无显著差异($P > 0.05$), 4 周观察组与 8 周观察组比较差异有显著性意义($P < 0.05$), 以及对对照组与 8 周观察组之间差异有显著性意义($P=0.001$), 即认为 8 周观察组骨内区域动脉血管内膜相对增厚, 血管缩窄程度高(表 2); 在骨外区域, 3 组的血管缩窄度差异无显著性意义($P > 0.05$, 表 2)。

3 讨论 Discussion

激素是导致非创伤性骨坏死最常见的高危因素, 多年来, 学界对于激素性骨坏死的发病机制进行了深入研究, 提出了诸多学说, 但激素诱导骨坏死的具体机制目前仍然不明。一些研究发现了激素的一些作用机制可能导致血管壁结构的变化, 如对血管平滑肌细胞的毒性作用^[21]。此前的一些动物实验亦表明, 在骨坏死发生后, 软骨下骨区域的小动脉血管壁发生胶原纤维变性和内皮增生的病理变化^[22]。因此, 很多学者支持激素诱导的骨坏死是由于各种

血管缩窄度(Stenotic Degree, $SD=S_2/(S_1+S_2)\times 100\%$)

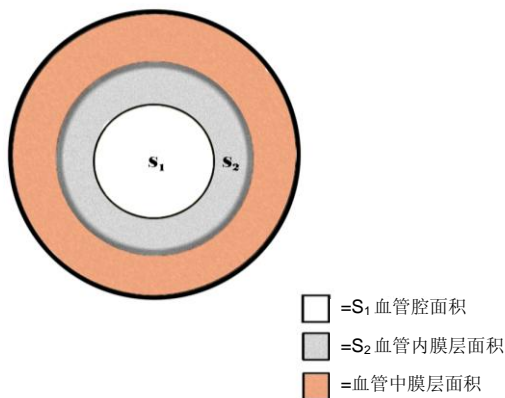


图1 应用病理图像分析系统 Motic Med 6.0 CMIAS 进行血管缩窄度计算示意图

Figure 1 Schematic diagram of stenotic degree measurement by Motic Med 6.0 CMIAS

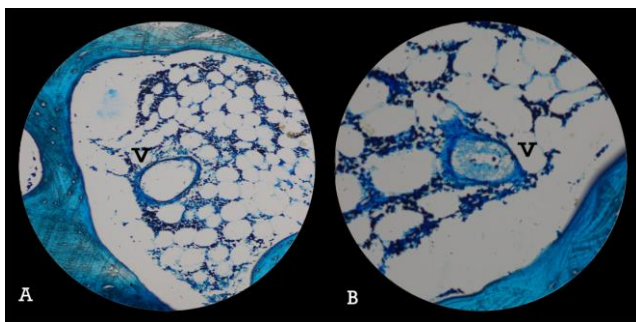


图2 改良 Van Gieson 染色 200 倍显微镜下静脉形态

Figure 2 Morphology of the veins under microscope (advanced van Gieson staining, $\times 200$)

图注: 图 A 为骨内正常静脉形态; B 为内膜显著增生致血管腔狭窄的骨内静脉形态。

原因引起的终末动脉损害, 继而发生动脉血供中断而引起。此外, 另一些研究报道了在使用高剂量激素后可能导致骨内压力增高^[23-25], 造成这种压力增高的原因被认为可能与激素导致的脂肪代谢障碍和脂肪堆积有关。先前的研究普遍认为在激素诱导的骨坏死形成后, 主要发生在骨内的小动脉结构的病理变化引起局部血供障碍, 但在骨坏死形成过程中, 特别是骨坏死初期对静脉系统进行动态观察的研究则较为少见。

在实验中实验观察到, 在经甲强龙及脂多糖联合诱导后 4 周时, 犬支持带静脉系统的结构形态与对照组相比首先发生了明显变化, 表现为正常型静脉结构显著减少, 而中度狭窄型、阻塞塌陷型静脉结构占比显著升高, 而此时支持带动脉无论是骨内区域还是骨外区域均无显著变化; 在诱导后 8 周时, 犬支持带静脉结构形态依旧与对照组相比有明显区别, 但与 4 周观察组未见明显区别。而此时支持带动脉的骨内区域发生了显著变化, 表现为动脉血管内径相对变小, 内膜增厚, 血管缩窄程度高(内膜厚度/内膜

表 1 各种类型静脉在 3 组间的分布 [n=10 髓, n(%)]
Table 1 Distribution of different types of veins in each group

组别	正常型	中度狭窄型	阻塞塌陷型	总数
4 周观察组	8(16) ^a	31(61) ^a	12(23) ^a	51(100) ^a
8 周观察组	10(18) ^a	28(49) ^a	19(33) ^a	57(100) ^a
对照组	29(62)	13(28)	5(10)	47(100)

表注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$ 。

表 2 各组支持带动脉血管狭窄度在骨外、骨内区域测量计算值 ($\bar{x}\pm s$, n=10 髓, %)

Table 2 Stenotic degree of arteries at the supporting band in each group

区域	4 周观察组	8 周观察组	对照组
骨内区域	40.2 \pm 3.5	45.8 \pm 5.1 ^{ab}	37.7 \pm 4.6
骨外区域	43.2 \pm 2.5	45.4 \pm 7.1	40.4 \pm 8.9

表注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$; 与 4 周观察组相比, ^b $P < 0.05$ 。

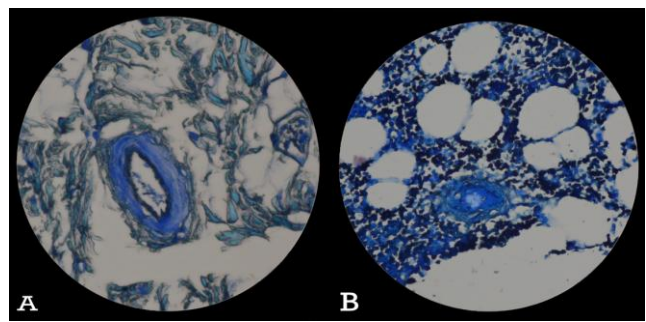


图3 正常型动脉(A)与内膜增厚血管腔缩窄型(B)动脉形态对比情况(改良 Van Gieson 染色, $\times 200$)

Figure 3 Comparison of the morphology of normal arteries (A) and arteries with thickened intima and narrowed lumen (advanced van Gieson staining, $\times 200$)

厚度+内径) $\times 100\%$), 但骨外区域支持带动脉与对照组及 4 周观察组相比未见显著变化。

Henrik 等^[26]曾经对处于坏死的晚期 14 个股骨头标本进行病理学研究, 其结果显示了股骨头静脉系统出现了显著的血栓阻塞及血管周围纤维化现象。但该研究所用标本是处于晚期骨坏死的股骨头, 无法得知这种病理变化在股骨头坏死的哪个时期出现, 并且对股骨头坏死的整个病理发展过程起到何种作用。实验观察结果不但证实了在骨坏死发生前期, 激素会对股骨头内动脉和静脉循环系统均产生损伤, 且研究结果显示了在该时期动脉、静脉系统出现明显病理表现的时期并不一致, 相对于动脉系统, 静脉系统发生病理变化的时间甚至更早。在经甲强龙及脂多糖联合诱导后, 股骨头的静脉回流系统首先发生明显的病理变化, 在 4 周后即出现狭窄型和阻塞塌陷型静脉结构的比例显著升高, 而在此时动脉系统并无显著病理变化。当股骨头静脉系统发生阻塞狭窄后, 可能会导致不同程度的静脉回流通路受阻, 继而出现静脉瘀滞现象, 导致整个股骨头

内动-静脉循环系统出现局部的“静脉危象”^[27]。在此阶段, 静脉瘀滞的出现将使得静脉压升高, 这也许可以解释在股骨头坏死早期MRI观察到的骨髓水肿现象以及股骨头坏死早期骨内压升高导致的疼痛现象^[28-29]。在诱导8周后, 这种静脉系统的变化仍然存在, 而此时骨内区域的动脉系统亦出现内膜增厚和狭窄现象, 这与此前研究观察到的股骨头内小血管内膜增生现象基本一致^[30-32], 但值得注意的是, 实验显示, 这种动脉系统的变化仅限于骨内区域的微小动脉, 而在骨外区域, 支持带动脉的内膜和管腔面积并未发生显著变化。此外, 实验结果可能预示了激素导致的动脉系统变化并不一定完全是由于激素对动脉血管系统的直接破坏作用, 在股骨头发生循环障碍的早期, 这种由静脉危象先引起继发的动脉系统病理变化可能起到更为主要的作用。这种先发生在静脉, 后发生在小动脉的病理变化机制可能与由于静脉危象导致的动脉危象的循环障碍类似, 当小动脉出现狭窄和闭塞时, 局部骨组织的血供将出现障碍, 继而发生局部的骨组织细胞失氧死亡, 出现局灶性的骨坏死现象。

实验显示, 在股骨头出现循环障碍的早期, 静脉系统的病理变化先于动脉系统出现, 且静脉系统的受累程度更高, 阻塞塌陷型静脉结构比例的增高使得这个时期循环障碍的主要特点呈现为静脉瘀滞, 并随之导致骨内压力增高和疼痛, 如不加以干预, 循环障碍将进一步累及动脉系统, 导致动脉血供障碍。这种先于动脉系统出现的静脉病理改变似乎可以解释在股坏死早期进行髓芯减压术有效的原因^[33-35]。在股骨头静脉系统回流障碍的时期, 髓芯减压术不仅可以通过降低骨内压力而明显减轻疼痛, 更重要的是, 可以通过将瘀滞的静脉血引流而改善这种循环障碍现象, 促进局部小血管再生, 使骨坏死的血运障碍病理进程发生逆转。

因此, 在临床上应用各种影像学手段(如MR及DSA等)识别早期股骨头静脉循环障碍, 以进行早期髓芯减压干预治疗是遏制并逆转出现初期循环障碍的股骨头发生进一步坏死、塌陷、骨关节炎等病理进程的关键。这要求实验对骨循环在发生早期障碍时段(主要累及静脉以及初步累及动脉的时间点)的影像学特点(如MR及DSA等)进行更进一步详细的研究并归纳其特征性变化, 以期做到早期准确诊断, 及时干预治疗, 通过最小的代价获得最佳的治疗效果。

在大剂量皮质激素联合脂多糖诱导下, 成年犬股骨头动脉和静脉系统出现病理变化的时间节点存在差异。静脉系统最先呈现出病理变化, 体现在药物诱导早期(4周), 股骨头静脉系统血管内膜增厚, 缩窄度显著增高, 但4周后缩窄度无显著改变; 动脉系统病理变化出现较迟, 表现为药物诱导8周后, 动脉系统内膜增厚, 缩窄度显著增高。

作者贡献: 实验设计为张耀、赵德伟、王子华及尉晓蔚。实验实施为张耀、王子华、田丰德及杨帆。实验评估为张耀、赵德伟、尉晓蔚及田丰德。资料收集为王子华及杨帆。统计学分析为王子华及杨帆。

经费支持: 该文章接受了“国家自然科学基金(81601885)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

机构伦理问题: 实验方案已经大连大学附属中山医院伦理委员会讨论批准。

写作指南: 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实施与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

生物统计学声明: 本文统计学方法已经大连大学附属中山医院生物统计学专家审核。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其他任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Matsui M, Saito S, Ohzono K, et al. Experimental steroid-induced osteonecrosis in adult rabbits with hypersensitivity vasculitis. Clin Orthop Relat Res. 1992;(277): 61-72.
- [2] Iida S, Harada Y, Shimizu K, et al. Correlation between bone marrow edema and collapse of the femoral head in steroid-induced osteonecrosis. AJR Am J Roentgenol. 2000; 174(3):735.
- [3] Asano T, Takahashi KA, Fujioka M, et al. Genetic analysis of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head. J Orthop Sci. 2003;8(3):329-333.
- [4] Nagasawa K, Tada Y, Koarada S, et al. Prevention of steroid-induced osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus by anti-coagulant. Lupus. 2006;15(6): 354.
- [5] Wang GJ, Moga DB, Richemer WG, et al. Cortisone induced bone changes and its response to lipid clearing agents. Clin Orthop Relat Res. 1978;130(130):81.
- [6] Jr JJ. Concepts of etiology and early pathogenesis of osteonecrosis. Instr Course Lect. 1994;43(43):499.
- [7] Yamamoto T, Hirano K, Tsutsui H, et al. Corticosteroid enhances the experimental induction of osteonecrosis in rabbits with Shwartzman reaction. Clin Orthop Relat Res. 1995;(316):235-243.
- [8] Jr JJ. Fat embolism, intravascular coagulation, and osteonecrosis. Clin Orthop Relat Res. 1993;292(292):294.
- [9] Warner JJ, Philip JH, Brodsky GL, et al. Studies of nontraumatic osteonecrosis. Manometric and histologic studies of the femoral head after chronic steroid treatment: an experimental study in rabbits. Clin Orthop Relat Res. 1987; 225(225):128-140.
- [10] 张健,殷富裕,彭吾训.血管收缩因子及血管内皮生长因子表达与激素性股骨头坏死的相关性[J].中国老年学杂志, 2017,37(9): 2270-2271.

- [11] Zhu ZH, Gao YS, Zeng BF, et al. The effect of dexamethasone and hypoxic stress on MC3T3-E1 cells. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2011;16:2747-2755.
- [12] Wang L, Luo DK, Pan ZY. Expression of 11beta-HSD in steroid-induced avascular necrosis of the femoral head. *Mol Med Rep*. 2013;7(5):1482-1486.
- [13] Bank I, Libourel EJ, Middeldorp S, et al. Elevated levels of FV III: C within families are associated with an increased risk for venous and arterial thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2005; 3(1):79-84.
- [14] 瓦庆德,张天宏,刘毅,等.单纯激素造成兔早期股骨头坏死模型的实验研究[J].中外医疗,2008,27(25):27-28.
- [15] Wen Q, Ma L, Chen YP, et al. A rabbit model of hormone-induced early avascular necrosis of the femoral head. *Biomed Environ Sci*. 2008;21(5):398.
- [16] 曹良权,杜斌,孙光权,等.不同剂量糖皮质激素联合马血清构建激素诱导型股骨头缺血性坏死兔模型[J].中国组织工程研究, 2017, 21(8):1229-1235.
- [17] Qin L, Zhang G, Sheng H, et al. Multiple bioimaging modalities in evaluation of an experimental osteonecrosis induced by a combination of lipopolysaccharide and methylprednisolone. *Bone*. 2006;39(4):863-71.
- [18] 喻钧伦,唐曦,黄雨,等.激素联合脂多糖诱导股骨头缺血坏死模型兔的骨质变化[J].中国组织工程研究,2017,21(28):4518-4522.
- [19] Zhang KJ, Zhang J, Kang ZK, et al. Ibandronate for prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis in rabbits. *Rheumatol Int*. 2012;32(11): 3405-3411.
- [20] Motomura G, Yamamoto T, Irisa T, et al. Dose effects of corticosteroids on the development of osteonecrosis in rabbits. *J Rheumatol*. 2008;35(12):2395-2399.
- [21] 赵万军,肖鲁伟,童培建.激素诱导股骨头缺血性坏死的发病机理及中医药的防治[J].中国中医骨伤科杂志,1998,6(3):49-53.
- [22] Saito S, Inoue A, Ohzono K, et al. Intramedullary haemorrhage as a possible cause of avascular necrosis of the femoral head. The histology of 16 femoral heads at the silent stage. *J Bone Joint Surg Br*. 1987;69(3):346-351.
- [23] Hungerford DS, Lennox DW. The importance of increased intraosseous pressure in the development of osteonecrosis of the femoral head: implications for treatment. *Orthop Clin North Am*. 1985;16(4):635-654.
- [24] Learmonth ID, Maloon S, Dall G. Core decompression for early atraumatic osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br*. 1990;72(3):387-390.
- [25] Zizic TM, Hungerford DS, Stevens MB. Ischemic bone necrosis in systemic lupus erythematosus. II. The early diagnosis of ischemic necrosis of bone. *Medicine (Baltimore)*. 1980;59(2):134-142.
- [26] Starklint H, Lausten GS, Arnoldi CC. Microvascular obstruction in avascular necrosis. Immunohistochemistry of 14 femoral heads. *Acta Orthop Scand*. 1995;66(1):9-12.
- [27] Liu Y, Zhao D, Wang W, et al. Efficacy of core decompression for treatment of canine femoral head osteonecrosis induced by arterial ischaemia and venous congestion. *Hip Int*. 2017; 27(4):406-411.
- [28] Kim YM, Oh HC, Kim HJ. The pattern of bone marrow oedema on MRI in osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br*. 2000;82(6):837-841.
- [29] Sakai T, Sugano N, Nishii T, et al. MR findings of necrotic lesions and the extralesional area of osteonecrosis of the femoral head. *Skeletal Radiol*. 2000;29(3):133-141.
- [30] Matsui M, Saito S, Ohzono K, et al. Experimental steroid-induced osteonecrosis in adult rabbits with hypersensitivity vasculitis. *Clin Orthop Relat Res*. 1992;(277): 61-72.
- [31] 李子荣,张念非,岳德波,等.激素性股骨头坏死动物模型的诱导和观察[J].中华外科杂志,1995,33(8):485-487.
- [32] Xu B, Hu QH, Zhao B, et al. Variation and significance of serum leptin, blood lipid level, adiponectin, NO and TNF- for patients with non-traumatic ischemic necrosis of the femoral head. *Saudi J Biol Sci*. 2017;24(8):1763-1766.
- [33] Lavernia CJ, Sierra RJ. Core decompression in atraumatic osteonecrosis of the hip. *J Arthroplasty*. 2000;15(2):171-178.
- [34] Yu PA, Peng KT, Huang TW, et al. Injectable synthetic bone graft substitute combined with core decompression in the treatment of advanced osteonecrosis of the femoral head: a 5-year follow-up. *Biomed J*. 2015;38(3):257-261.
- [35] Zhao DW, Yu XB. Core decompression treatment of early-stage osteonecrosis of femoral head resulted from venous stasis or artery blood supply insufficiency. *J Surg Res*. 2015;194(2):614-621.