

骨内微血管显影及三维重建在激素致大鼠股骨头缺血性坏死模型中的应用

朱觉新, 黄连芳* (广东医科大学广东天然药物研究与开发重点实验室, 广东医科大学海洋医药研究院, 广东湛江 524023)

摘要: **目的** 了解Micro-CT在大鼠激素性股骨头缺血性坏死模型中的应用价值。**方法** 20只SD大鼠随机分为实验组和正常组, 实验组腹腔注射醋酸泼尼松龙进行股骨头缺血性坏死造模。两组分别于2、4、6、8周进行Micro-CT扫描。**结果** 正常组与实验组间各项骨组织测量指标比较差异均有统计学意义($P<0.01$ 或 0.05)。2周出现骨小梁稀疏、断裂, 关节面边缘模糊, 软骨下囊性改变, 部分血管萎缩、变细; 第4周骨小梁进一步减少, 部分皮质骨缺损形成小空洞, 大部分血管萎缩, 微血管部分中断; 第6周骨小梁数目明显减少, 皮质骨下空洞扩大, 血管萎缩加重, 大部分微血管中断; 第8周骨小梁中断稀疏, 关节面下较大骨缺损, 微血管不显影。**结论** Micro-CT可用于动态观察大鼠激素性股骨头缺血性坏死结构变化。

关键词: 大鼠股骨头缺血性坏死; 激素; 骨内微血管显影; 三维重建; 骨小梁

中图分类号: R 575.5

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2020)04-0562-04

Application of microvascular imaging and three-dimensional reconstruction in evaluation of steroid induced avascular necrosis of femoral head in rats

ZHU Jue-xin, HUANG Lian-fang* (Guangdong Key Laboratory for Research and Development of Natural Drugs, Institute of Marine Medicine, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China)

Abstract: **Objective** To study the application of Micro-CT in steroid induced avascular necrosis of femoral head (ANFH) in rats. **Methods** Twenty SD rats were randomly divided into ANFH and control groups. ANFH model was established by intraperitoneal injection of prednisolone acetate. All rats underwent Micro-CT scanning in 2, 4, 6, and 8 weeks. **Results** Bone histomorphometric parameters were different between two groups at all timepoints ($P<0.01$ or 0.05). In two weeks, bone trabeculae were sparse and fractured, with fuzzy articular surface edges, subchondral cystic changes, and partial vascular atrophy. In four weeks, bone trabeculae were further reduced, with partial cortical defects and small cavities, extensive vascular atrophy, and partial microvascular interruption. In six weeks, bone trabeculae were remarkably decreased, with enlarged subcortical cavities, severe vascular atrophy, and extensive microvascular interruption. In eight weeks, bone trabeculae were interrupted and scarce, with large bone defects below articular surface and absent microvessels. **Conclusion** The Micro-CT is feasible to observe the dynamical changes of steroid induced ANFH in rats.

Key words: rat; avascular necrosis of femoral head; corticosteroid; Micro-CT

股骨头缺血性坏死(ANFH)是骨科门诊的常见多发病, 多见于长期、短期、间断大量使用糖皮质激素^[1], 应用糖皮质激素所引起的股骨头缺血性坏死

已为目前公认的事实, 通过实验室中建立的动物模型是研究激素性股骨头缺血性坏死的重要手段之一。Micro-CT(微计算机断层扫描技术)为一种新型的高清影像学技术, 其分辨率极高, 可达微米级, 骨骼中骨小梁、微血管等微观结构均能通过Micro-CT高分辨显示^[2], 对ANFH标本骨小梁、微血管等微结构变化具有极高的敏感性。

ANFH主要的骨形态改变表现为骨质连续性破坏和骨小梁形态异常, 股骨头坏死的生物应力可改变骨小梁的立体结构及空间排列, 使其力学强度减弱, 最终难以承重导致塌陷^[3]。ANFH发生后, 成骨

基金项目: 广东省科技计划项目(No.2016B030309002), 湛江市科技公关计划项目(No.2017B1140), 广东医科大学科研基金项目(No.M2017027)

收稿日期: 2019-12-26; **修订日期:** 2020-03-26

作者简介: 朱觉新(1982-), 女, 本科, 实验师, E-mail: 424323288@qq.com

通信作者: 黄连芳(1963-), 女, 学士, 高级实验师, E-mail: 273620993@qq.com

细胞介导的新生骨生长和破骨细胞介导的坏死骨吸收同时出现^[6]。随着两种作用的进展,骨内微观结构尤其是骨小梁形态会发生不断改变^[7]。检测和观察股骨头坏死病灶局部微观结构动态变化的过程,是判断病程进展、评价修复程度的重要方法,过去因缺少有效检测方法而难以评价^[8]。Micro-CT的出现,使对活体及离体骨组织微观结构进行高清成像而不破坏内部结构成为可能^[4]。本文旨在了解Micro-CT在大鼠激素性股骨头缺血性坏死模型骨小梁和微血管三维结构观察上的价值。

1 材料和方法

1.1 动物和分组

由广东医科大学实验动物中心提供的清洁级SD大鼠共20只,分笼饲养,自由饮水。20只SD大鼠随机分为实验组和正常组,每组10只。

1.2 方法

实验组进行ANFH造模:腹腔注射醋酸泼尼松龙24.5 mg/kg + 青霉素钠14万U/只,1周2次,连续注射8周^[3]。对照组腹腔注射24.5 mL/kg生理盐水 + 14万U/只青霉素钠,1周2次,连续注射8周。8周内,两组大鼠按正常方式喂养,饮水点设置高位,大鼠于饮水时直立,后肢完全负重。

每只大鼠分别于2、4、6、8周进行Micro-CT扫描,扫描部位为近端股骨颈以上至股骨头末端,保持股骨长轴与扫描室切面垂直,设定扫描参数为扫描层面厚度20 μm ,电流80 μA ,球管电压80 kV,电流500 μA ,旋转角度360°,旋转角度增量0.4°,曝光时间2 960 ms,帧平均数为4,像素组合为1×1。扫描图像原始尺寸:16.897 mm×13.442 mm×6.474 mm,图像分辨率29 μm ,图像位数16位。采用Reconstruction Utility软件行标本三维重建后,采用MicView

V2.1.2三维重建处理软件观察标本结构,应用ABA专用骨骼分析软件测量骨体积分数(BV/TV)、单位体积内骨小梁分支数目(Conn.Dens)、骨小梁数目(Tb.N)、骨小梁厚度(Tb.Th)、骨小梁分离度(Tb.Sp)、结构模型指数(SMI)^[4]。

1.3 统计学处理

采用R语言3.5分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用重复测量的方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

Micro-CT扫描形态学观察结果显示:实验组大鼠的股骨头2周表现关节面边缘模糊,软骨面骨皮质厚度变薄,关节面下骨密度分布不均匀,软骨下出现囊性样改变,骨小梁稀疏、出现断裂不连续、结构紊乱,骨小梁间隙变宽,微血管表现为部分血管萎缩、变细。第4周骨小梁进一步减少,骨小梁间隙进一步增加,皮质骨下部分区域出现骨缺损形成小空洞,微血管出现小部分中断并且大部分出现血管萎缩。第6周骨质继续减少,骨皮质边缘不光滑,甚至有塌陷,皮质骨下空洞较之前更为扩大,骨小梁数目严重减少,微血管大部分出现中断现象并且血管进一步萎缩。第8周股骨头坏死严重,关节面有塌陷,关节面下出现较大骨缺损空洞,骨小梁变薄变稀疏,骨密度也严重下降,微血管不显影。2、4、6、8周正常组与实验组间的各项骨组织测量指标比较差异均有统计学意义($P<0.01$ 或 0.05),见表1。实验组组内各时点两两比较的统计学处理结果见表2。

3 讨论

ANFH是一种常见且发生后常不可逆转的疾病,主要由股骨头的逆行血液供应障碍导致的缺血缺氧性病理生理变化^[9]。当股骨头开始发生不可逆

表1 两组大鼠顶部松质骨骨组织参数的比较

($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别		BV/TV/(%)	Conn.Dens/mm ³	SMI	Tb.N/mm	Tb.Th/mm	Tb.Sp/mm
正常组	2周	22.00±1.00	1.54±0.15	0.77±0.08	1.14±0.12	0.20±0.03	0.70±0.08
	4周	21.00±3.00	1.48±0.17	0.75±0.09	1.15±0.23	0.18±0.04	0.71±0.09
	6周	23.00±2.00	1.55±0.25	0.77±0.10	1.12±0.24	0.21±0.07	0.75±0.11
	8周	24.00±4.00	1.57±0.22	0.79±0.11	1.19±0.25	0.17±0.11	0.72±0.09
实验组	2周	18.00±2.00 ^a	1.20±0.11 ^a	1.08±0.39 ^b	0.71±0.27 ^a	0.16±0.01 ^a	0.97±0.13 ^a
	4周	16.00±2.00 ^a	1.10±0.21 ^a	1.11±0.25 ^a	0.63±0.17 ^a	0.14±0.01 ^a	1.27±0.23 ^a
	6周	15.00±1.00 ^a	0.90±0.33 ^a	1.39±0.19 ^a	0.51±0.07 ^a	0.10±0.01 ^a	1.33±0.12 ^a
	8周	13.00±2.00 ^a	0.70±0.18 ^a	1.55±0.59 ^a	0.44±0.17 ^a	0.06±0.01 ^a	1.55±0.43 ^a

与正常组同时点比较: ^a $P<0.01$, ^b $P<0.05$

表2 实验组组内各时点间比较的P值

比较时点	BV/TV	Conn.Dens	SMI	Tb.N	Tb.Th	Tb.Sp
2周 vs 4周	0.04	0.20	0.84	0.44	0.01	0.01
2周 vs 6周	0.01	0.01	0.04	0.04	0.01	0.01
2周 vs 8周	0.01	0.01	0.05	0.02	0.01	0.01
4周 vs 6周	0.17	0.12	0.01	0.05	0.01	0.47
4周 vs 8周	0.01	0.01	0.04	0.05	0.01	0.09
6周 vs 8周	0.01	0.11	0.43	0.24	0.01	0.14

转的缺血坏死时,其骨小梁也会相应地出现断裂、缺失等变化,最终导致股骨头的支撑能力减弱甚至塌陷、断裂^[10]。ANFH的具体病因还需分子生物学的进一步研究才能明了^[11],但有众多危险因素最终可以导致骨组织缺血坏死的病理改变,如髋部外伤或手术、慢性酒精中毒、血液系统疾病及长期或不规律的激素治疗等,这些危险因素的进展不但可能引致ANFN还可能继发髋部骨关节炎等^[12-13]。本研究对造模后2、4、6、8周的SD大鼠不同时段与正常SD大鼠进行Micro-CT检测,观察股骨头微观形态结构变化及进行计量学参数对比,不仅可以比较组间修复的差异,还能动态评价病灶修复进程。Micro-CT检测结果显示,自第2周开始实验组股骨头微观结构逐渐开始破坏,微循环开始萎缩,至第8周已严重破坏,甚至微循环完全中断。因此, Micro-CT在形态学的观察上对于ANFN有明确的诊断意义。

Micro-CT具有极强的空间成像分辨率的优点,能充分的显露精确的解剖细节。另外,骨组织作为高密度组织在Micro-CT里有较高的对比度显示^[14]。目前使用 Micro-CT 在显微骨组织形态的研究逐渐成为热点,骨小梁是骨皮质在骨松质的延伸部分,空间结构各异且非均一,对其结构参数的精准测量有助于评判骨组织强度的大小^[15]。本研究中,实验组ANFH模型各周期与正常组比较差异均有统计学意义,提示通过Micro-CT检测形态学观察可以把握ANFH模型的动态变化,对ANFH模型有诊断意义,可以无创性的对骨形态进行微观结构的观察研究。

从本文表2的结果中可以看出,大多时点间的观察指标差异均有统计学意义,特别是实验组中各时点的Tb.Th差异均有统计学意义($P<0.01$)。各观察指标在早中晚期的敏感程度均不一致,例如BV/TV在中期敏感度较低,4周 vs 6周间的差异无统计学意义($P>0.05$),其余各时点比较差异均有统计学意义($P<0.01$ 或 0.05); Tb.Sp则是在中晚期不敏感,4周 vs 6周、4周 vs 8周、6周 vs 8周差异均无统计学意义($P>$

0.05),而其早期的指标差异均有统计学意义($P<0.01$)。因此, Micro-CT的各项量化指标在各观察时点的敏感程度表现不一致,或许通过延长研究时间可以优化量化指标在ANFH的表现。

综上所述,以亚纳米级硫酸钡为造影剂, Micro-CT动态观察ANFH大鼠各周期骨形态结构变化, Micro-CT在形态学的观察上对于ANFN有明确的诊断意义,可以无创性的对骨形态进行微观结构的观察研究,为ANFH的临床研究提供新的研究方式以及量化指标。

参考文献:

- [1] ZHANG Y, ZHAO Z, WANG C, et al. Association between the angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and avascular necrosis of the femoral head[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2019, 23(11): 778-782.
- [2] DUQUM I S, BRENES C, MENDONCA G, et al. Marginal fit evaluation of CAD/CAM all ceramic crowns obtained by two digital workflows: an in vitro study using micro-ct technology[J]. J Prosthodont, 2019, 28(9): 1037-1043.
- [3] GHALE-NOIE Z N, HASSANI M, KACHOOEI A R, et al. High serum alpha-2-macroglobulin level in patients with osteonecrosis of the femoral head[J]. Arch Bone Jt Surg, 2018, 6(3): 219-224.
- [4] LI L, SHI J, ZHANG K, et al. Early osteointegration evaluation of porous Ti6Al4V scaffolds designed based on triply periodic minimal surface models[J]. J Orthop Translat, 2019, 6(19): 94-105.
- [5] WANG L, XU L, PENG C, et al. The effect of bone marrow mesenchymal stem cell and nano-hydroxyapatite/collagen I/poly-L-lactic acid scaffold implantation on the treatment of avascular necrosis of the femoral head in rabbits[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(3): 2021-2028.
- [6] SHI L, FAN Y, ZHANG C, et al. Value of virtual reality technology in preoperative planning of transtrochanteric curved varus osteotomy for avascular necrosis of femoral head in adults[J]. Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery, 2019, 33(8): 923-928.
- [7] WU Y, ZHANG C, WU J, et al. Angiogenesis and bone regeneration by mesenchymal stem cell transplantation with danshen in a rabbit model of avascular necrotic femoral head[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(1): 163-171.
- [8] XIA T, WEI W, LIU J, et al. Effectiveness comparison between impacting bone graft and rotational osteotomy via surgical hip dislocation approach for avascular necrosis of femoral head at ARCO stage[J]. Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery, 2019, 33(4): 445-450.

- [9] PU R, PENG H. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases as targets in the treatment of steroid-associated femoral head necrosis using antler extract[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(1): 977-984.
- [10] OZEN B, BASER M. Is Prolotherapy effective in the treatment of avascular necrosis of the femoral head?[J]. *Altern Ther Health Med*, 2019, 25(5): 57-59.
- [11] SONG Q, NI J, JIANG H, et al. Sildenafil improves blood perfusion in steroid-induced avascular necrosis of femoral head in rabbits via a protein kinase G-dependent mechanism [J]. *Acta Orthop Traumatol Turc*, 2017, 51(5): 398-403.
- [12] WANG L, XU L, PENG C, et al. The effect of bone marrow mesenchymal stem cell and nano-hydroxyapatite/collagen I/poly-L-lactic acid scaffold implantation on the treatment of avascular necrosis of the femoral head in rabbits[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(3): 2021-2028.
- [13] NOVOA-PARRA C D, PEREZ-ORTIZ S, LOPEZ-TRAB- UCCO R E, et al. Factors associated with the development of avascular necrosis of the femoral head after non-displaced femoral neck fracture treated with internal fixation[J]. *Rev Esp Cir Ortop Traumatol*, 2019, 63(3): 233-238.
- [14] EKANDJO L K, RUPPEL S, REMUS R, et al. Site-directed mutagenesis to deactivate two nitrogenase isozymes of *Kosakonia radicincitans*[J]. *Can J Microbiol*, 2018, 64(2): 97-106.
- [15] GHALE-NOIE Z N, HASSANI M, KACHOOEI A R, et al. High serum alpha-2-macroglobulin level in patients with osteonecrosis of the femoral head[J]. *Arch Bone Jt Surg*, 2018, 6(3): 219-224.

320排动态容积CT双入口肺灌注扫描技术对原发性肺腺癌化疗近期效果的评估

夏 俊, 揭广廉, 许定华, 罗泽斌 (广东医科大学附属放射科, 广东湛江 524001)

摘要: **目的** 探讨320排动态容积CT双入口肺灌注扫描技术对肺腺癌化疗患者近期效果的评估价值。**方法** 50例中晚期原发性肺腺癌患者在化疗前及化疗后1个月接受320排动态容积CT双入口肺灌注检查, 分析支气管动脉灌注值(BAF)、肺动脉灌注值(PAF)、灌注指数(PI)与疗效的关系。**结果** 治疗前, 缓解组PI值高于未缓解组, BAF值低于未缓解组($P<0.01$ 或 0.05)。治疗后, 缓解组PAF和BAF值、未缓解组PI值均较治疗前下降($P<0.01$ 或 0.05)。**结论** 320排动态容积CT双入口肺灌注扫描成像技术有助于评估中晚期原发性肺腺癌化疗患者的近期效果。

关键词: CT; 双入口肺灌注; 肺腺癌; 化疗

中图分类号: R 814.42

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2020)05-0565-04

Post-chemotherapy short-term evaluation of dual-input pulmonary perfusion with 320-slice dynamic volumetric CT in primary pulmonary adenocarcinoma

XIA Jun, JIE Guang-liang, XU Ding-hua, LUO Ze-bing (Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the post-chemotherapy short-term role of dual-input pulmonary perfusion (DIPP) with 320-slice dynamic volumetric CT in primary pulmonary adenocarcinoma (PPAC). **Methods** Fifty patients with intermediate and advanced PPAC underwent DIPP with 320-slice dynamic volumetric CT before and 1 month after chemotherapy. The relationship between clinical efficacy and perfusion parameters including bronchial arterial flow (BAF), pulmonary arterial flow (PAF), and perfusion index (PI) was analyzed. **Results** Before treatment, PI was higher and BAF lower in remission group than in non-remission group ($P<0.01$ or 0.05). However, PAF and BAF in remission group and PI in non-remission group were decreased after treatment ($P<0.01$ or 0.05). **Conclusion** DIPP with 320-slice dynamic volumetric CT is helpful to

基金项目: 湛江市科技专项竞争性基金课题资助(No.2016A01013)

收稿日期: 2019-12-20; **修订日期:** 2020-04-08

作者简介: 夏 俊(1968-), 男, 本科, 副主任医师