

家兔膝关节创伤性骨化性肌炎动物模型的建立*

邓柏杰 陈渭良 张继平 何秋月 香卫红 谭光明
(佛山市中医院,广东 佛山 528000)

【摘要】 目的 建立家兔膝关节创伤性骨化性肌炎动物模型。方法 用新西兰白色家兔 10 只,进行强力被动扭转、暴力按摩,造成膝关节及周围软组织损伤,然后固定膝关节于伸直位。从第 1 周开始每周按摩 6 天,第 5 周开始改为隔天按摩一次,并观察皮温、肿胀度、局部体征、局部骨化情况。至第 9 周进行病理、组织学检查。结果 模型局部肿胀明显;皮温升高;患肢关节强直,伸屈功能明显障碍,最后关节僵硬,膝关节周围肌群可触摸到肌肉硬块;X 线片示全部出现明显骨化影;病理检查示肌束间组织广泛水肿,伴有轻度炎症反应,血管和成纤维细胞增生,肌束间纤维组织增生明显,并形成类骨组织和类软骨组织,局部出现较明显的异位骨化。结论 该动物模型与临床创伤性骨化性肌炎表现和国外文献一致,说明模型复制成功。

【关键词】 骨化性肌炎 实验研究 动物模型

Setting up of the Animal Model of Traumatic Myositis Ossificans in Rabbits' Knee Joint DENG Bai-jie, CHEN Wei-liang, ZHANG Ji-ping, et al. Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine (Guangdong Foshan, 528000)

【Abstract】Objective To set up the animal model of the traumatic myositis ossificans around the knee joints of the rabbits. **Methods** Ten white New Zealand rabbits were strongly torn and violently massaged to result in soft tissue injuries around the knee joints. Then the joints were fixed in extension position. Local swelling, skin temperature, degree of ossification and local signs were observed after massaging once daily during the first week to the fourth week and alternative days from the fifth week on. Pathological examination had been done in the ninth week. **Results** It was showed that the local swelling was severe, the skin temperature was high, the wounded limb joint was stiff and the function of extension-flexion was impaired obviously. One can feel the ossified muscles around the stiff joint. Meanwhile, ossification could be seen clearly in X-ray film. The extensive edema with inflammatory reaction, hyperplastic vessel, fibroblast and fibrous tissue, osteoid and chondroid tissue, obvious ossification could be seen in pathological examination. **Conclusion** The model can mimic the clinical syndromes of traumatic myositis ossificans; the method is in agreement with that reported in domestic as well as in foreign literatures.

【Key Words】 Traumatic myositis ossificans Experimental study Animal model

复制家兔膝关节创伤性骨化性肌炎动物模型国内未见报道。本文参照国外文献^[1],应用固定与粗暴外力损伤相结合复制家兔膝关节创伤性骨化性肌炎动物模型,观察模型骨化形成情况。

1 材料与方 法

1.1 动物 新西兰白色家兔 10 只。雌雄各半,体重 2~3kg,由广东省医用实验动物场提供。先在饲养室饲养 1 周后正式实验,实验室温度为 20 ± 2,相对湿度为 70% ± 5%。

1.2 造模方法 由专人以特定的方法进行强力被动扭转、暴力按摩。术者双手握紧家兔右后肢膝关节按顺时针和逆时针方向以最大的角度转动各 20 圈(以不使骨折为度),强力按揉膝关节周围肌肉各 10 圈,造成膝关节及周围软组织损伤,然后用杉树皮、绷带固定膝关节于伸直位。从第 1 周开始每周按摩 6 天,第 5 周开始改为隔天按摩 1 次,至第 9 周,已复制出膝关节创伤性骨化性肌炎的动物模型。

1.3 观察指标

* 本课题为广东省中医药管理局科研基金资助课题(编号:粤 90-92)

1.3.1 皮温和肿胀度的测定:实验前和实验后每周用 WS 系列测温仪(上海华天电器仪表有限公司生产),分别在家兔膝关节后侧进行健患侧皮温测定,每次持续 2 分钟;再以膝盖为起点用软尺环绕膝关节 1 周,尽量收紧,读取周长,计算健患侧皮温差和周长差。

1.3.2 局部 X 线片表现:分别在实验前和实验后 4、5、7、8、9 周对家兔右后肢于伸直位拍 X 线正侧位片(44kv,32ms,6.3mAs),以了解骨化形成情况,并对骨化程度进行评级。分级方法:0 级,未出现骨化病灶;Ⅰ级,骨化病灶密度低,呈云雾状;Ⅱ级,骨化病灶密度较高,但边界不清;Ⅲ级,骨化病灶密度高,边界清晰。由三位具有副高以上职称的放射科和外科医师分别对 X 线片显示的骨化程度进行双盲评定。

1.3.3 病理组织学检查:实验第 9 周结束时,以空气栓塞法将动物处死,在其患肢肌肉坚硬部位取材做病理学检查。

1.3.4 局部体征:分别对家兔实验肢的肿胀情况、关节灵活性、柔软度及肌肉弹性变化进行观察。

1.4 统计方法 对造模前后所得数据用配对 *t* 检验。

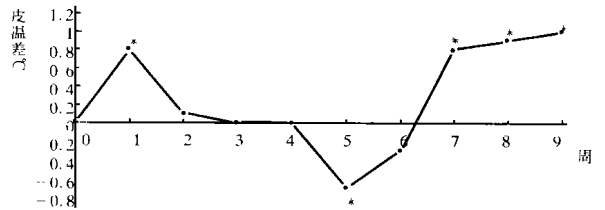
2 结果

实验过程中,因关节肿胀、僵硬较严重和动物挣扎,共有 3 只动物因牵拉不慎而致股骨骨折,在第 8 周和第 9 周各有 1 只动物因挣扎致脊柱骨折而引起下肢瘫痪,均在统计处理时排除。

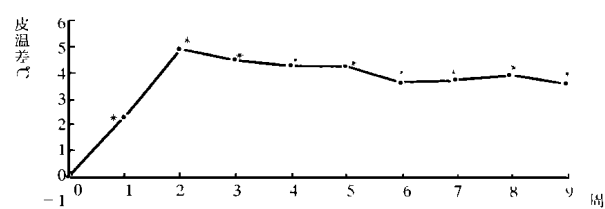
2.1 局部体征 实验开始后,伤肢由于外力对膝关节及周围软组织的损伤以及固定作用,局部出现肿胀,以膝关节以上和脚背最为明显;约 1 周后,伤肢关节变强直,伸屈功能明显障碍,活动受限;2 周后肿胀逐渐减轻,随之关节变得僵硬,最后不能伸展或弯曲,股骨后部肌群靠股骨远端可触摸到肌肉硬块。

2.2 对皮温的影响(见图 1) 图 1 示:造模第 1 周的皮温差明显上升,伤肢皮温明显高于健肢,且明显高于造模前 ($P < 0.05$);以后慢慢降低,到第 5 周降到最低,伤肢皮温明显低于健肢,亦明显低于造模前 ($P < 0.05$);以后逐渐升高,到 7、8、9 周时,明显高于造模前 ($P < 0.05$)。

2.3 对肿胀度的影响(见图 2) 图 2 示:实验开始后伤肢肿胀度与健肢相比持续上升,2 周时达到顶峰,且明显高于造模前 ($P < 0.05$);以后虽逐步降低,但仍维持在一较高水平,均明显高于造模前 ($P < 0.05$)。



注*:与造模前比较, $P < 0.05$
图 1 家兔创伤性骨化性肌炎模型皮温的变化



注*:与造模前比较, $P < 0.05$
图 2 家兔创伤性骨化性肌炎模型肿胀度变化

2.4 X 线片评定(见表 1) 由表 1 可知:造模第 4 周所有动物尚未出现明显的骨化影;至第 5 周,已有 28.57% 的动物发生密度较低、范围较小的骨化病灶(Ⅰ级);至 7、8 周,骨化程度更明显增高;到第 9 周所有动物都达到 Ⅲ级骨化。骨化性肌炎出现的部位多在膝关节周围及大腿中、下部。

表 1 家兔膝关节创伤性骨化性肌炎模型骨化程度(X 线片)情况

造模时间 (周)	动物数 (只)	骨化程度			
		0	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
4	7	7	0	0	0
5	7	5	2	0	0
7	7	2	3	2	0
8	6	0	2	2	2
9	5	0	0	0	5

2.5 病理组织学检查 造模第 9 周,肌束间组织广泛水肿,伴有轻度的炎症反应,血管和成纤维细胞增生,肌纤维束间纤维组织增生明显,并形成类骨组织和类软骨组织,肌束间增生的纤维组织中局部出现异位骨化,骨化灶呈不规则分布,并可见纤维性成骨的移行区。

3 讨论

3.1 多次暴力损伤是建立创伤性骨化性肌炎模型的首要条件 骨化性肌炎的发生发展与创伤关系密切,反复手法造成软组织多次损伤、出血,继之骨化^[2-4]。Michelsson 等于 1980 年首次用固定与暴力按摩复制家兔实验性骨化性肌炎模型,并对模型伤肢各部分组织的局部血流量分别进行测定,结果发现股骨骨髓、髌骨、股中间肌及小腿部的局部血流量在实验第 2 周后显著性降低,且皮温明显升高^[5-7]。

根据《医宗金鉴》“夫皮不破而内损者多有瘀”，认为损伤之后内有恶血瘀结，导致气血运行不畅，从而产生血瘀气滞^[8]。根据本文研究发现：实验开始后，由于暴力使膝关节和周围软组织损伤，局部出现肿胀，以膝关节以上和脚背最为明显，实验开始后肿胀度持续上升，2 周后达到最高，明显高于造模前，以后逐步降低，但维持在一较高水平；说明暴力所造成的关节及周围软组织损伤，明显影响了外周血液循环，使局部循环发生障碍而致局部肿胀度增高是造成骨化性肌炎的首要条件。

3.2 长期固定是建立创伤性骨化性肌炎模型的必要条件 有学者研究发现，固定可使家兔后肢骨关节产生退行性病变，膝关节发生钙化变得僵硬，最终导致骨关节炎，但放松数周后，关节炎会缓解，膝关节活动如常^[9]。因此单纯固定并不会导致骨化性肌炎，只能导致局部的循环紊乱，如果固定并施以强力牵拉、暴力按摩，第 2 周开始可观察到骨化逐渐形成，4~5 周后便可产生骨化性肌炎，其 X 线片观察及病理表现与人类的一致^[11]。本文亦采用暴力按摩与固定结合复制家兔骨化性肌炎模型，从第 5 周开始，已有近 30% 的动物发生密度较低、范围较小的骨化病灶，以后骨化程度明显增高，到第 9 周时所有的动物都出现明显的骨化；骨化性肌炎出现的部位多在膝关节周围及大腿中、下部。病理组织学检查发现肌肉间组织广泛水肿，伴有轻度的炎症反应，局部出现较明显的异位骨化。其所有表现与国外文献报道及临床骨化性肌炎一致^[11]。说明固定是复制该模型的必要条件。

外伤除肌肉纤维之间的异位骨化外，还有关节骨软骨瘤病的改变，其病理基础是由透明软骨及滑

膜组织的逐渐移行、退行性变化、软化、纤维化及钙化，以后出现成骨细胞变成有骨密度的小结节状多个小的骨软骨瘤于关节周围，与放射学上的表现一致，可由外伤引起此种改变^[10]。

综上所述，长期固定并同时施加暴力手法的牵拉、按摩等暴力使动物伤肢关节和周围软组织损伤，是复制创伤性骨化性肌炎模型的两个决定性条件，本文按此方法复制，其实验结果与国外文献报道及临床骨化性肌炎表现一致，说明该模型复制成功。

参考文献

[1] Michelsson JE, Granroth G, Andersson LC, et al. Myositis ossificans following forcible manipulation of the leg (a rabbit model for the study of heterotopic bone formation). *J Bone Joint Surgery*, 1980, 62-A(5):811.

[2] Smith FM. *Surgery of the elbow*. 2th ed. London: Saunders, 1972. 185-192.

[3] 陶舜, 等. 创伤性肘关节强直的早期手术治疗. *天津医药·骨科副刊*, 1979, (12):38.

[4] 王亦聪, 等. 侧方入路肘关节松解术. *中华骨科杂志*, 1982, 2(4):235.

[5] Michelsson JE, et al. Contractures of the knee in provoking osteoarthritis in rabbits by immobilization. *IRCS Med Sci*, 1977, 5:61.

[6] Videman T, et al. The development of radiographic changes in experimental osteoarthritis provoked by immobilization of the knee in rabbits. *IRCS Med Sci*, 1977, 5:62.

[7] Michelsson JE, et al. Skin temperature changes in the rabbits leg during development of osteoarthritis of the knee by immobilization. *IRCS Med Sci*, 1978, 6:151.

[8] 邓柏杰, 陈渭良. 中西医结合治疗肘关节创伤性骨化性肌炎的体会. *中国骨伤*, 1995, 增刊:59.

[9] Woo SL Y, et al. Connective tissue response to immobility. Correlative study of biomechanical and biochemical measurements of normal and immobilized rabbit knees. *Arthr Rheum*, 1975, 18(3):257.

[10] 王玉凯主编. *骨肿瘤 X 线诊断学*. 北京:人民卫生出版社, 1995. 236-241.

(收稿:1998-09-21;修回:1999-06-22 编辑:房世源)