

注射复合 rhBMP-2 骨水泥制作猕猴椎动脉型颈椎病模型

凌泽莎¹, 贾功伟¹, 谭波涛¹, 郑晓², 张安仁³, 虞乐华¹

(重庆医科大学附属第二医院 1. 康复医学科 2. 超声科, 重庆 400010; 3. 成都军区总医院康复医学科, 四川 成都 610083)

摘要:【目的】寻求一种安全、微创、可信的构建椎动脉型颈椎病动物模型的方法。【方法】高频超声监测正常猕猴(6 只, 雌雄各半, 年龄 3.5 ~ 5.5 岁, 体质量 4 ~ 6 kg)的椎动脉血流状况, 在高频超声的引导下通过骨穿针在猕猴颈 C5-6 左侧椎动脉旁注射复合重组人骨形态发生蛋白-2 (rhBMP-2) 的磷酸钙骨水泥 1.5 mL 来制作椎动脉型颈椎病模型, 并用高频超声监测造模后椎动脉收缩期峰值血流(VS)、舒张期末峰值血流(VD)、阻力指数(RI)、血管内径(D)并评价猕猴椎动脉血流的改变是否符合临床上椎动脉型颈椎病患者血流的改变。【结果】发现在造模 2 个月后猕猴椎动脉的血流变化较明显, 且趋于稳定, 造模 2 月后左侧椎动脉血流速度减慢, 阻力指数增高, 血管管径变窄, VS(6.30 ± 1.52)cm/s、VD(2.41 ± 0.66)cm/s、RI(0.71 ± 0.04)、D(0.08 ± 0.01)cm, 同造模前比较, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。右侧椎动脉代偿性的血流速增加, 管径增粗, RI 减低, VS(8.87 ± 0.98)cm/s、VD(4.31 ± 0.12)cm/s、RI(0.57 ± 0.41)、D(0.09 ± 0.01)cm, 同造模前比较 $P > 0.05$, 差异均无统计学意义。【结论】高频超声引导注射骨水泥制作猕猴椎动脉型颈椎病模型是一种安全、可行的实验方法。

关键词:猕猴; 高频超声; rhBMP-2; 磷酸钙骨水泥; 椎动脉

中图分类号:R332 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2016)05-0775-06

The Successfully Established Vertebral Artery Type of Cervical Spondylosis in Macaque Monkey by Injection Composite rhBMP-2 Bone Cement

LING Ze-sha¹, JIANG Gong-wei¹, TAN Bo-tao¹, ZHENG Xiao², ZHANG An-ren³, YU Le-hua¹

(1. Department of Rehabilitation, 2. Department of ultrasound, The second affiliated hospital of Chongqing medical university, Chongqing, 400010; 3. Department of Rehabilitation, The Chengdu military command general hospital, Chengdu, 610083, China)

Corresponding to: YU Le-hua; E-mail: Email:yulehuadoc@aliyun.com.cn

Abstract: 【Objective】 In order to build a safe, minimally invasive and high credibility animal model of vertebral artery cervical spondylopathy. 【Methods】 six health adults macaque monkeys aged 3.5 ~ 5.5 years and weighing from 4 to 6 kg, were selected as candidates for this study. High-resolution ultrasound monitor the blood flow parameters of vertebral artery of macaque monkey, high-resolution ultrasound-guide injected injectable 1.5mL fast-setting calcium phosphate cement (CPC) with rhBMP-2 to pressed or stimulated the left vertebral artery between C5 and C6 of macaque monkey. We examined and recorded systolic peak flow velocity (VS), diastolic peak flow velocity (VD), resistance index (RI) and vascular diameter (D) of vertebral artery after the injected, and use high-resolution ultrasound to evaluate the effect of the experimental model. 【Results】 we found that after two months later the blood flow parameters of vertebral artery of macaque monkey approximately trends to be stable, after the modeling the left side of the vertebral artery course bend, vascular inner of the left side became narrow and blood flow velocity decreased, VS of left side of the vertebral artery was (6.30 ± 1.52)cm/s, VD of left side of the vertebral artery was(2.41 ± 0.66)cm/s, RI of left side of the vertebral artery was (0.71 ± 0.04), D of left side of the vertebral artery was (0.08 ± 0.01)cm, before and after the building the blood flow parameters of the left vertebral artery of macaque monkey have a significant difference ($P < 0.05$), with statistical significance; vascular inner and blood flow velocity of the right side compensatory increase, RI decrease, VS of right side of the vertebral artery was (8.87 ± 0.98)cm/s, VD of right side of the vertebral artery was(4.31 ± 0.12)cm/s, RI of right side of the vertebral artery was(0.57 ± 0.41)

收稿日期: 2016-02-01

基金项目: 重庆市卫生局项目(2011-2-172); 国家自然科学基金(81171859)

作者简介: 凌泽莎, 硕士研究生, 研究方向: 椎动脉型颈椎病的发病机制, E-mail: lzesha@163.com; 虞乐华, 通信作者, 教授, 博士生导师, E-mail: yulehuadoc@aliyun.com.cn

± 0.41), D of right side of the vertebral artery was (0.09 ± 0.01) cm, However, before and after the building the blood flow parameters of the right vertebral artery of macaque monkey have no significant difference ($P > 0.05$), without statistical significance.

【Conclusion】 The experimental method by injecting rhBMP-2 bone cement to press or stimulated the left vertebral artery of macaque monkey to make cervical vertebral disease was a reliable and safe.

Key words: macaque monkey; high-resolution ultrasound; rhBMP-2; calcium phosphate cement; vertebral artery

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2016, 37(5): 775-780]

椎动脉型颈椎病 (cervical spondylopathy of vertebral artery, CSA) 是一种临床常见病, 发病率仅次于神经根型颈椎病, 占有颈椎病的 20%^[1], 主要表现为头晕、视物模糊。CSA 已成为现代人最常见的疾病之一, 并有年轻化趋势^[2], 但是其病因复杂, 部分病理机制尚不清楚。目前研究表明 CSA 的致病机制主要有机械压迫、血管本身病变、颈交感神经学说、体液学说及血液流变学等^[3], 其中骨性压迫理论及交感神经刺激理论已被广泛公认, 并且两种因素互相影响或互为因果关系^[4]。钩椎关节增生、椎间盘退变狭窄等因素, 均能导致椎动脉的受压或受刺激痉挛或扭曲产生症状^[5-7]。在实验动物上复制 CSA 来揭示其病因和发病机制等, 是目前对椎动脉性颈椎病研究的重要途径之一。目前 CSA 动物模型造模方法主要有: 植骨压迫法、椎动脉结扎法和瘀血阻络造模法等。植骨压迫法为最早报道, 并公认为 CSA 经典造模的方法, 但是植入骨块压迫程度很难评测; 椎动脉结扎法在造模中突发阻断一侧或双侧结扎椎动脉, 较人 CSA 发病差异性大; 瘀血阻络造模法属于中医辨证分型造模方法, 操作简易, 但作为单一证型其普及意义有限^[8-9]。本实验以猕猴为研究对象, 在超声引导下, 通过在颈椎 C5-6 左侧横突孔之间椎动脉旁注射骨水泥来模拟椎动脉受压或是被刺激后所引起临床上 CAS 血流的变化, 从而提供一种新的微创造模方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验猕猴 6 只, 体质量 4 ~ 6 kg, 年龄 3.5 ~ 5.5 岁, 均购于重庆硕斯灵长类动物研究有限公司 [SCXK(渝)2013050], 经过外观、体温、呼吸率、心率、呼吸运动、血液常规、生化等检查和通过普通级实验猴质量国家标准要求检测为健康合格, 并饲养在重庆医科大学动物实验中心 [SYXK(渝)2007-0001]; 猕猴各自分开在笼 (63 cm × 76 cm ×

76 cm) 内饲养, 每天光照 12 h, 动物房温度为 20℃ ~ 24℃, 相对湿度为 45% ~ 50%, 全价营养膨化饲料及青饲料, 每天定时定量喂食, 苹果 1 个/d, 自由饮水, 适当补充复合维生素片。试验前 1 周停止喂养含钙质的饲料添加剂。本实验所有的实验方案经重庆医科大学动物伦理委员会批准。

1.2 实验仪器

百胜 esaote 彩色超声诊断仪, KMC 椎体成形导向系统 (上海凯利泰医疗科技股份有限公司)。

1.3 实验药物

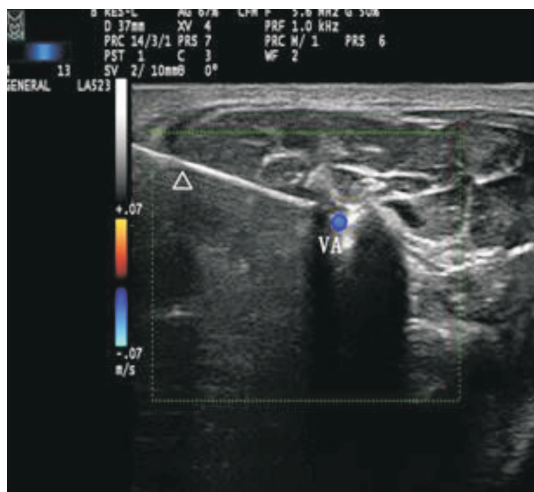
麻醉药品: 盐酸氯胺酮注射液 (江苏恒瑞医药股份有限公司), 速眠新 (长春市解放军军需大学兽医研究所研制), 硫酸阿托品 (上海禾丰制药有限公司), 注射自固化磷酸钙人工骨 (上海邦瑞生物材料有限公司), rhBMP-2 (军事研究所)。

1.4 实验方法

1.4.1 实验模型制作 实验前猕猴禁食 12 h、禁水 8 h, 麻醉前肌内注射阿托品 0.05 mg/kg, 以减少唾液腺分泌, 保持气管和呼吸道通畅。30 min 后肌内注射复合麻醉, 速眠新与氯胺酮配比度是 1/2 (体积比), 给药量为 0.15 mL/kg, 给猕猴做血管造影以排除椎动脉行走异常等畸形。

猕猴颈部血流的超声检查由一名经过专门培训的临床超声医师监测, 超声探头频率 7.5 ~ 10 MHz。采集椎动脉的血流数值收缩期峰值血流速度 (VS)、舒张末峰值血流速度 (VD)、血管阻力指数 (RI)、血管内径 (D)。每组数值测 3 次后取其平均值以减少测量误差, 探测时将麻醉后的猕猴平卧于检查床上, 用脱毛剂脱掉颈部猴毛。颈下垫枕, 头略向后仰, 偏向检查的对侧, 充分暴露颈部, 将探头置于猕猴气管旁显示颈总动脉, 稍向外后方移动探头, 即可显示椎动脉, 声束方向与血管走行夹角 $< 60^\circ$ 并校正。采集数值后, 在超声引导下将骨穿针经颈前入路在颈左 C5-6 横突孔间隙之间进针, 骨穿针进针至 C5-6 横突孔间隙间椎动脉旁处固定 (图 1)。将 1.5 mL 复合 rhBMP-2 磷酸钙骨水泥吸至 2.5 mL 一次性注射器中, 然后通过骨穿

针注射至横突孔间隙间的椎动脉旁,术中给予 160 万单位青霉素静滴预防感染,术后每日肌注 1 次 80 万单位青霉素,连续 3 d。术后分笼饲养,允许其任意活动。



△:puncture needle VA:vertebral artery

图 1 超声引导下注射骨水泥至猕猴左侧椎动脉

Fig.1 Ultrasound-guide injected injectable fast-setting calcium phosphate cement(CPC) composite rhBMP-2 to pressed or stimulated the left vertebral artery of macaque monkey

1.4.2 观察指标 术后观察猕猴进食、排便、活动以及穿刺部位皮肤愈合情况。分别于术后 2、4、8 周时用超声监测左右两侧椎动脉的血流变化及管

径变化,由仪器自动显示各血流参数。

1.5 统计学处理

应用 SPSS17.0 软件进行统计学处理,测试所得数据采用($\bar{x} \pm s$)表示,采用配对 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

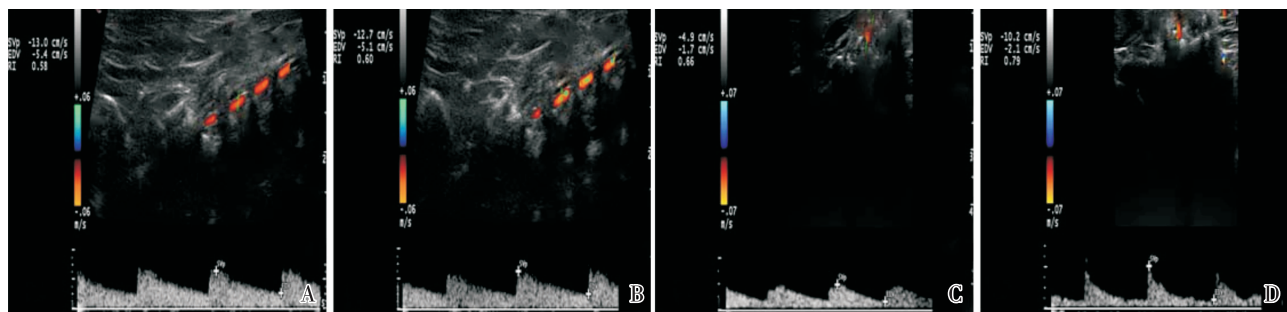
2 结果

2.1 正常猕猴椎动脉血流动力学检测结果

实验发现健康猕猴左侧椎动脉 VS (10.49 ± 2.44)cm/s 明显高于右侧椎动脉 VS (8.77 ± 1.07)cm/s,差异具有统计学意义($P < 0.05$);左侧椎动脉 RI(0.67 ± 0.05)较右侧椎动脉 RI(0.58 ± 0.04)大,差异具有统计学意义($P < 0.05$);左侧椎动脉的内径约为(0.10 ± 0.01)cm,右侧椎动脉的内径约(0.09 ± 0.01)cm,左右两侧椎动脉的内径差异无统计学意义($P > 0.05$);猕猴左侧椎动脉 VD (4.50 ± 0.50)cm/s 和右侧椎动脉 VD(4.23 ± 0.61)cm/s 比较差异无统计学意义(表 1, $P > 0.05$)。

2.2 造模 2 月后猕猴的椎动脉血流动力学变化

在猕猴左侧 C5-6 横突孔之间 VA 旁注射复合 rhBMP-2 的磷酸钙骨水泥 2 个月后血流变化明显且趋于稳定。其中,左侧椎动脉的 VS 和 VD 减低,RI 增高,椎动脉内径(D)变小,VS(6.30 ± 1.52)cm/s、VD (2.41 ± 0.66)cm/s、RI (0.71 ± 0.04)、D(0.08 ± 0.01)cm,左侧椎动脉造模前后血流变化差异具有统计学意义($P < 0.05$);右侧椎动脉的 VS 和 VD 增高,RI 减低,椎动脉内径(D)增



A:flow spectrum of the left vertebral artery of macaque monkey before injection calcium phosphate cement composite rhBMP-2; B:flow spectrum of the right vertebral artery of macaque monkey before injection calcium phosphate cement composite rhBMP-2; C:flow spectrum of the left vertebral artery of macaque monkey two months after injection calcium phosphate cement composite rhBMP-2; D:flow spectrum of the right vertebral artery of macaque monkey two months after injection calcium phosphate cement composite rhBMP-2

图 2 造模前及造模 2 月后猕猴椎动脉的超声检测结果

Fig.2 Color ultrasonic inspection cervical vascular of macaque before and two months after injection calcium phosphate cement composite rhBMP-2 B

表 1 造模前及造模 2 月后猕猴椎动脉左右两侧血流变化

Table 1 The change of blood flow parameters and the diameter of the vertebral artery of macaque monkey before and two months after injection calcium phosphate cement composite rhBMP-2

Indicator	before injection		two months after injection	
	L-VA	R-VA	L-VA	R-VA
VS	10.49 ± 2.44	8.77 ± 1.07 ¹⁾	6.30 ± 1.52 ²⁾	8.87 ± 0.98
VD	4.50 ± 0.50	4.23 ± 0.61	2.41 ± 0.66 ²⁾	4.31 ± 0.12
RI	0.67 ± 0.05	0.58 ± 0.04 ¹⁾	0.71 ± 0.04 ²⁾	0.57 ± 0.41
D	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.01 ²⁾	0.09 ± 0.01

1) blood flow parameters and diameter of the left vertebral artery compared with the right vertebral artery before injection, $P < 0.05$; 2) blood flow parameters and diameter of the left vertebral artery compared with the right vertebral artery two months after injection, $P < 0.05$

宽, VS (8.87 ± 0.98)cm/s、VD (4.31 ± 0.12)cm/s、RI (0.57 ± 0.41)、D (0.09 ± 0.01)cm, 右侧椎动脉造模前后血流变化差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。左侧椎动脉的频谱多普勒表现: 血流频谱波峰圆钝, 上升支缓慢、波幅减低, 舒张期频谱低平, 提示 VS、VD 减低, RI 增高(图 2)。

3 讨 论

目前主要以鼠、兔、狗为制作 CSA 动物模型的实验研究对象^[10-11]。造模方法有以手术自体髂骨或异体骨移植的方式压迫椎动脉。自体骨移植虽然具有成骨性强, 组织相容性好, 但易出现供骨区疼痛、感染、创伤增加。异体骨移植虽避免了对取骨区的损伤, 但其愈合是爬行替代过程, 固定时间长且材料来源困难、取材操作复杂、未能完全排除某些疾病传播的可能性。且可有抗原性, 排斥反应等并发症^[12-13], 而手术本身就是一种有创、高危的造模方式, 不太符合实验动物的保护福利原则。其他造模方法如: 椎动脉结扎法、瘀血阻络造模法等具有各自缺陷。因此, 我们探索一种安全、微创、可信的构建 CSA 动物模型的方法。本研究首次采用椎动脉旁注射骨水泥压迫椎动脉的方法, 以期达到影响猕猴椎动脉血流, 构建 CSA 动物模型, 是颈椎病研究中的一次有益探索。

磷酸钙骨水泥(CPC)是 80 年代美国成功研制的一种新型自固型、非陶瓷型骨水泥。CPC 是一种可生物降解的骨水泥, 利用其固化前的流动性充填任何形状的骨缺损, 原位固化为羟基磷灰石, 具有一定的力学强度并且可恢复骨骼的连续性, 也是一种新型骨替代物, 具有骨引导、可吸收及生物

相容性好等优点。但 CPC 仅具有骨传导能力, 不具备诱导成骨能力, 在体内成骨活性较低, 而骨形态发生蛋白-2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 是 BMP 家族中诱导成骨活性最强的因子之一。可诱导未分化间充质干细胞向成软骨细胞和成骨细胞定向分化与增殖, 促进成骨细胞分化成熟, 大量研究报道 rhBMP 复合材料可兼具骨引导和诱导成骨的双重作用^[14-16], CPC/rhBMP 复合材料具有良好的生物相容性和生物降解性, 其传导成骨和诱导成骨活性较单独应用 CPC 材料强^[17-18]。新型复合 rhBMP-2 的磷酸钙骨水泥无毒性、无刺激性、无致敏性, 无热源反应, 具有良好的血液相容性, 植入动物肌肉后为非组织刺激物, 具有较好的生物安全性^[19-20]。

猕猴与人类同属灵长类, 在生理结构和生存条件上十分相似, 且 94% 的基因与人类相同, 因此猕猴一直是生物学、心理学以及医学等多种科学研究中比较理想的非人类灵长类动物实验对象^[21-22], 其实验结果也比较适合用于临床。通过对猕猴的三维 CT 血管重建检查发现猕猴的主动脉弓发出两条分支动脉血管, 右侧的分支动脉血管较粗称为共干, 其进一步又分为左颈总动脉和无名动脉(或称头臂干), 左侧的分支较小称左锁骨下动脉, 左侧椎动脉就起源于左锁骨下动脉。无名动脉在气管的前方斜向右上, 在右胸锁关节的后方处分为右颈总动脉和右锁骨下动脉, 右锁骨下动脉在进一步分支发出右侧椎动脉, 猕猴颈总动脉在 C2-C3 处分为颈内动脉和颈外动脉。猕猴椎动脉起自锁骨下动脉, 经 C6 横突孔入颈椎, 猕猴椎动脉的走行与人类极其的相似^[23], 因此我们认为猕猴可作为一种研究椎动脉型颈椎病比较理想的实验对

象。实验猕猴椎动脉的解剖走行、毗邻关系、彩色血流信号和多普勒频谱形与健康人类相近,超声检查方法也基本相同,超声检测发现猕猴椎动脉血流速度峰值显示出左侧优势,与健康人相似^[24-25]。鉴于该研究结果,我们选择左侧作为手术点。本研究发现,在猕猴左侧横突孔之间椎动脉旁注入骨水泥后,该侧椎动脉血流变细,血流速度降低,管腔狭窄,阻力指数增高,提示骨水泥对椎动脉形成了压迫,影响了局部血流。虽然对侧椎动脉出现了代偿性血流增加,管腔增宽,但是相比注射前差异不具有统计学意义,代偿不足。骨水泥注射引起以上改变的原因可能为:①直接压迫椎动脉使管径变窄,②刺激椎动脉周围的交感神经^[12-13],引起椎动脉反射性收缩,血管痉挛,血流量下降。大量临床研究发现,在椎动脉型颈椎病患者中当病变侧椎动脉明显狭窄后对侧才会出现代偿性增宽。本实验的研究结果同临床上椎动脉型颈椎病患者的血流变化相一致^[26-28],也说明注射固化型磷酸钙骨水泥制作猕猴椎动脉型颈椎病具有一定可行性。

本实验验证在猕猴椎动脉旁注入复合骨水泥可以模拟模拟椎动脉型颈椎病的血流动力学变化,是一种安全,损伤小的微创造模方法。由于猕猴颈椎病模型还没有成熟的行为学评价体系,本研究中我们也没有发现猕猴有明显的行为异常表现,比如出现眼震、跌倒、呕吐、厌食等情况。我们认定的成功也仅限于超声的血流动力学观察结果。考虑到椎动脉型颈椎病的临床特点为慢性病程,我们认为猴子的行为学观察可能需要持续更长的时间。在后续研究中,我们会继续观察猕猴的行为学表现和随访超声结果,并在必要时结合CTA、解剖以及病理学检查,为椎动脉型颈椎病的基础研究提供实验依据。

参考文献

- [1] 宋敏,李泽佳,刘彦宏,等.血液流变学在椎动脉型颈椎病诊疗中的应用价值评价[J]. 颈腰痛杂志, 2013, 34(2): 164-165.
SONG M, LI ZJ, LIU YH, et al. Investigate the value of hemorheological in treatments for vertebral artery-type cervical spondylopathy[J]. J Cervicod Lumbod, 2013, 34(2): 164-165.
- [2] 马明,张世民.青年颈椎病的研究进展[J]. 中国骨伤, 2014, 27(9): 792-795.
MA M, ZHANG SM. Progress on cervical spondylosis in youths[J]. Chin J Orthop Traumatol, 2014, 27(9): 792-795.
- [3] 刘智勇,郝阳泉.椎动脉型颈椎病的病因病机研究进展[J]. 实用中西医结合临床, 2015, 15(4): 88-90.
LIU ZY, HE YQ. Research etiology and pathogenesis of vertebral artery type of cervical syndrome [J]. Pract Clin J Integrat Tradi Chin West Med, 2015, 15(4): 88-90.
- [4] 史达,孙银娣,张平安,等.椎动脉型颈椎病发病机制的中西医研究进展[J]. 颈腰痛杂志, 2011, 32(1): 60-61.
SHI D, SUN YT, ZHANG PA, et al. Traditional medicine and western medicine research pathogenesis of vertebral artery-type cervical spondylopathy [J]. J Cervicod Lumbod, 2011, 32(1): 60-61.
- [5] MACHALYSA, SENNAMK, SADEKAG. Vertigo is associated with advanced degenerative changes in patients with cervical spondylosis [J]. Clin Rheumat, 2011, 30(12): 1527-1534.
- [6] HARTMAN J. Anatomy and clinical significance of the uncinate process and uncovertebral joint: a comprehensive review [J]. Clin Anat, 2014, 27(3): 431-440.
- [7] UJIFUKU K, HAYASHI K, TSUNODA K, et al. Positional vertebral artery compression and vertebrobasilar insufficiency due to a herniated cervical disc [J]. J Neurosurg Spine, 2009, 11(3): 326-329.
- [8] 柴居堂,宋敏,董万涛,等.椎动脉型颈椎病动物模型国内研究进展及评价[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2015, 23(1): 26-30.
CAI JT, SONG M, DONG WT, et al. Development and evaluation of domestic research on animal model of vertebral artery type of cervical spondylosis [J]. Chin J Tradi Med Traumat Orthop, 2015, 23(1): 26-30.
- [9] ZHANG CW, WU JJ, HAN Y, et al. Experimental study of eliminate dampness resolve phlegm method in treating cervical spondylopathy of the vertebral artery type [J]. Chin J Orthop Traumatol, 2010, 23(7): 534-537.
- [10] ZHANG MC, SHI Y, CHEN DY, et al. Clinical significance of vertebral artery MRA to vertebral artery type of cervical spondylosis' diagnosis and treatment [J]. Chin J Orthop Traumatol, 2014, 26(11): 908-912.
- [11] ZHAXING S, LIN S, PENGCHENG X. Assessing the validity of a novel model of vertebral artery type of cervical syndrome induced by injecting sclerosing agent next to transverse process of cervical vertebra [J]. J Huazhong Uni of Sci Techno (Med Sci), 2010, 30(1):

- 85-88.
- [12] NKENKE E, WEISBACH V, WINCKLER E, et al. Morbidity of harvesting of bone orbital reconstruction[J]. *Oral Maxillofac Surg*, 2004, 62(7): 8732-8811.
- [13] KRUEGER R, GROLL J. Fiber reinforced calcium phosphate cements on the way to degradable load bearing bone substitutes? [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(25): 5887-5900.
- [14] 蔡华雄, 宋洁文, 赵小朋, 等. 富含血小板血浆和 rhBMP-2 复合物诱导兔下颌骨再生的实验[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2007, 28(3): 430-433.
CAI HX, SONG JW, ZHAO XP, et al. Effects of platelet-rich plasma in combination with rhBMP-2 on bone healing of mandibular defects in rabbits[J]. *J Sun Yat-Sen Univ (Med Sci)*, 2007, 28(3): 430-433.
- [15] 夏远军, 余翔, 章莹, 等. 重组人 BMP-2/壳聚糖/硫酸葡聚糖复合微球诱导异位成骨的 micro-CT 评价[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2016, 30(3): 286-291.
XIA YJ, YU X, ZHANG Y, et al. Ectopic osteogenesis evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein 2 loaded chitosan/dextran sulfate by micro-CT [J]. *Chin J Repar and Reconstruct Surg*, 2016, 30(3): 286-291.
- [16] DING S, HANG J, TIAN Y, et al. Magnesium modification up-regulates the bioactivity of bone morphogenetic protein -2 upon calcium phosphate cement via enhanced BMP receptor recognition and Smad signaling pathway [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2016, 4(26): 145:140-151.
- [17] 张群慧, 于锋, 张浩亮, 等. 磷酸钙骨水泥/rhBMP-7 修复兔上颌窦上壁骨折的实验研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2015, 29(21): 1890-1893.
ZHANG QH, YU F, ZHANG HL, et al. Reconstruction of maxillary sinus superior wall fractures with calcium phosphate cement/recombinant human bone morphogenetic protein 7 compound implanted material in rabbit [J]. *J Clin Otorhinolaryngol Head Surg (China)*, 2015, 29(21): 1890-1893.
- [18] WU Y, HOU J, YIN M, et al. Enhanced healing of rabbit segmental radius defects with surface-coated calcium phosphate cement/bone morphogenetic protein-2 scaffolds[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2014, 11(44): 326-35.
- [19] AMBROSIO L, GUARINO V, SANGINARIO V, et al. Injectable calcium-phosphate-based composites for skeletal bone treatments [J]. *Biomed Mater*, 2012, 7(2): 024113.
- [20] AMBROSIO, LUIGI, SANGINARIO, et al. Injectable composite material suitable for use as a bone substitute [J]. *Mate Sci*, 2012, 7(31): 424-602..
- [21] FREY S, PANDYA DN, CHAKRAVARTY MM, et al. An MRI based average macaque monkey stereotaxic atlas and space (MNI monkey space) [J]. *Neuroimage*, 2011, 55(4): 1435-1442.
- [22] MAEDA M, TAKAMATSU H, FURUICHI Y, et al. Characterization of a novel thrombotic middle cerebral artery occlusion model in monkeys that exhibits progressive hypo perfusion and robust cortical infarction [J]. *Neurosci Methods*, 2005, 146(1): 106-115.
- [23] 凌泽莎, 周志明, 郑晓, 等. 实验用猕猴颈部骨骼和血管的影像学及血流动力学分析[J]. *中国实验动物学报*, 2015, 23(5): 501-505.
LING ZS, ZHOU ZM, ZHENG X, et al. Morphology and hemodynamic analysis of vertebral arteries in rhesus macaques by 320-CT and color Doppler ultrasound [J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2015, 23(5): 501-505.
- [24] 孙希化. 椎动脉型颈椎病的应用解剖学特点[J]. *中国老年学杂志*, 2012, 32(17): 3661-3663.
SUN XH. Anatomic characteristic of vertebral artery-type cervical spondylopathy[J]. *Chin J Gerontol*, 2012, 32(17): 3661-3663.
- [25] ALBAYRAK R, DEGIRMENCI B, ACAR M, et al. Doppler sonography evaluation of flow velocity and volume of the extracranial internal carotid and vertebral arteries in healthy adults[J]. *J Clin Ultrasound*, 2007, 35(1): 27-33.
- [26] 杨玉华, 李飒. 高频彩色多普勒超声对椎动脉病变声像图的分析[J]. *中国医学创新*, 2013, 10(13): 92-93.
YANG YH, LI S. Analysis of vertebral artery lesions sonogram by high-frequency color doppler ultrasound [J]. *Med Innova china*, 2013, 10(13): 92-93.
- [27] BULUT MD, ALPAYCI M, ŞENKÖY E, et al. Decreased vertebral artery hemodynamics in patients with loss of cervical lordosis[J]. *Med Sci Monit*, 2016, 2(15): 495-500.
- [28] MACHALY SA, SENNA MK, SADEK AG. Vertigo is associated with advanced degenerative changes in patients with cervical spondylosis [J]. *Clin Rheumatol*, 2011, 30(12): 1527-1534.