

· 基础研究 ·

不同糖皮质激素诱导鸡股骨头坏死的实验研究

肖春生¹, 林娜², 林诗富¹, 万蓉², 陈卫衡¹

(1. 中国中医科学院望京医院, 北京 100102; 2. 中国中医科学院中药研究所)

【摘要】目的:观察甲泼尼龙琥珀酸钠与地塞米松对鸡股骨头坏死发生的影响。**方法:**健康来航鸡 36 只, 随机分成正常组(A 组)、甲泼尼龙小剂量组(B 组)、甲泼尼龙大剂量组(C 组)、地塞米松小剂量加马血清组(D 组)、地塞米松中剂量加马血清组(E 组)、地塞米松大剂量组(F 组), 共 6 组, 每组 6 只。分别于第 6、12 周翼下静脉采血, 检测血清总胆固醇(CHO)和甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)和低密度脂蛋白(LDL); 在实验 12 周取股骨头, 行 HE 染色, 光镜下计数空骨陷窝率, 观察其病理学改变。**结果:**与正常组相比, 在第 6 周, C、F 组 CHO 升高($P<0.05$), B、C、E 组 TG 升高($P<0.05$), 而 B、C、E 组 HDL 降低; 在第 12 周, B、C、E、F 组动物血 TG、CHO 均升高($P<0.05$), C、D、E 组动物血 HDL 降低($P<0.05$), 多数实验鸡血清内 LDL 未能检出。在第 12 周, C、E 组股骨头空骨陷窝明显高于正常组($P<0.05$), 并出现较典型骨坏死病理学改变。**结论:**甲泼尼龙琥珀酸钠较地塞米松更易诱导鸡早期股骨头坏死的发生, 而血脂代谢紊乱可能是激素引起该股骨头坏死的重要病理基础。

【关键词】 股骨头坏死; 鸡; 激素类; 病理过程; 甘油三酯类; 胆固醇

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2010.03.011

Experimental study on avascular necrosis of femoral head in chickens induced by different Glucocorticoides XIAO Chun-sheng, LIN Na, LIN Shi-fu, WAN Rong, CHEN Wei-heng*. *Wangjing Hospital Affiliated to China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100102, China

ABSTRACT Objective: To study the effects of Methylprednisolone and Dexamethasone on the avascular necrosis of femoral head in chickens. **Methods:** Thirty-six chickens were randomly divided into 6 groups ($n=6$): control group (group A), Methylprednisolone low dose group (group B), Methylprednisolone large dose group (group C), small dose Dexamethasone and horse serum group (group D), middle dose Dexamethasone and horse serum group (group E), and Dexamethasone large dose group (group F). On the 6th and 12th weeks, blood samples were obtained to determine the level of total cholesterol triglyceride (TG), high density lipoprotein (HDL) and low density lipoprotein (LDL). On the 12th week, femoral heads were taken off. Paraffin tissue sections were prepared to detect histopathologic change with hematoxylin and eosin staining. **Results:** On the 6th week, compared with group A, the level of CHO increased significantly in group C and group F ($P<0.05$), and TG increased in group B, C and group E, while HDL decreased in group B, C and group E. On the 12th week, the level of TG and CHO increased in group B, C, E and group F, and HDL decreased in group C, D and group E ($P<0.05$). LDL was not detected in most chickens. The ratio of empty lacuna was higher in group C and group E compared with those of the control group ($P<0.05$). **Conclusion:** Methylprednisolone is easier to induce osteonecrosis of femoral head than Dexamethasone. The condition of metabolic disorder in blood may be the basic pathomechanism of steroid-induced necrosis of femoral head.

Key words Femur head necrosis; Chickens; Hormones; Pathologic processes; Triglycerides; Cholesterol

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2010, 23(3): 184-187 www.zggszz.com

股骨头坏死是骨科界难治性疾病之一, 有骨科“不死癌症”之称。近年来, 随着临床糖皮质激素的广泛应用, 激素性骨坏死发病率逐年上升, 其中尤以股骨头坏死为著。本研究中, 我们试图通过观察不同的

糖皮质激素造模对实验鸡股骨头坏死发生的影响, 来探讨骨坏死的发生与常用激素类型的相关性。

1 材料与与方法

1.1 实验动物 14 月龄的健康来航鸡 36 只, 雌性, 体重 1.28~2.35 kg, 由北京梅里来维通实验动物技术有限公司提供。所有动物单笼单只饲养在室温 20~22 °C 的环境下, 标准蛋鸡饲料喂养, 自由饮水, 饲养室保持良好通风。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(编号: 30472131, 30672770)

肖春生现工作单位: 广东省中医院骨科

通讯作者: 林娜, 陈卫衡 E-mail: linna888@163.com

1.2 动物分组与模型制备 将 36 只来航鸡随机分成 6 组,每组 6 只。空白对照组(A 组),每周胸肌注射生理盐水 0.5 ml/kg;甲泼尼龙小剂量组(B 组),胸肌内注射甲泼尼龙琥珀酸钠 4.2 mg/kg(相当于人临床用量的 1.1 倍),1 次/周;甲泼尼龙大剂量组(C 组),胸肌注射甲泼尼龙琥珀酸钠 6.3 mg/kg(相当于人临床用量 1.7 倍),1 次/周;地塞米松小剂量加马血清组(D 组),胸肌注射地塞米松磷酸钠 1.5 mg/kg(相当于临床量的 3 倍),1 次/周,并于第 1、3 周翼下静脉注射马血清 10 ml/kg,共 2 次;地塞米松中剂量加马血清组(E 组),胸肌注射地塞米松磷酸钠 2.0 mg/kg(相当于临床量的 4 倍),1 次/周,并于第 1、3 周翼下静脉注射马血清 10 ml/kg,共 2 次;地塞米松大剂量组(F 组),胸肌注射地塞米松磷酸钠 2.5 mg/kg(相当于临床量的 5 倍),1 次/周。所有实验动物预防性胸肌内注射青霉素 2 万 U/kg 和链霉素 50 mg/kg,2 次/周。

1.3 检测指标

1.3.1 血液生化检测 实验第 6、12 周各组动物在禁食水 12 h 后,翼下静脉取血 4 ml,用 OLYMPUS AU400 型全自动生化仪,采用直接一步法测血清高密度脂蛋白(HDL)和低密度脂蛋白(LDL)含量;用酶法测血清总胆固醇(CHO)和甘油三酯(TG)含量。

1.3.2 组织病理学检测

1.3.2.1 组织切片制备 实验第 12 周断颈处死动物,取双侧股骨头,去除周围软组织。4%多聚甲醛固定液中固定 48 h。12.5%的 EDTA-2Na 溶液 4℃冰箱中脱钙,每 3 d 换 1 次脱钙液,共 45 d。所有标本流水冲洗 2 h,乙醇逐级脱水,二甲苯透明。52~56℃溶点的石蜡包埋,做 4~6 μm 切片备用。

1.3.2.2 HE 染色 切片脱蜡水化,苏木素染色,1%盐酸分化,伊红染色,氨水返蓝,二甲苯透明,树脂封片。

1.3.2.3 空骨陷窝计数 HE 染色病理片,在高倍镜(10×40)下任选 10 个视野,每个视野计数 50 个骨陷窝,求空骨陷窝数的百分比。

1.4 统计方法 实验数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,组间数据的比较采用 Multivariate ANOVA 方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

C 组在第 2 次注射马血清后死亡 1 只,实验第 4 周时 E 组死亡 1 只。

2.1 血生化检测结果 见表 1。与正常组相比,实验第 6 周,C、F 组 CHO 升高,B、C、E 组 TG 升高;而 B、C、E 组 HDL 明显降低;实验 12 周,B、C、D、E、F 组动物血 CHO 升高,B、C、E、F 组动物血 TG 升高,C、D、E 组动物血 HDL 降低。

2.2 病理学改变

2.2.1 标本大体观察 所有标本未出现明显股骨头塌陷,C 组与 E 组股骨骨质较松脆,取材时易于切削。

2.2.2 病理观察结果 A 组:12 周时骨小梁完整,空骨陷窝少(12.1%),可见带状排列的成骨细胞,破骨细胞较少,骨髓腔内造血细胞丰富,未见肥大的脂肪细胞及明显的出血区(见图 1-2)。B、E 和 F 组:部分股骨头骨小梁纤细,空骨陷窝较正常组增多,但无统计学差异,成骨细胞减少,破骨细胞稍多;骨髓组织内造血细胞减少,脂肪细胞较正常组增多、肥大,部分可见骨髓内出血,尤以 E、F 组明显。C、E 组(见图 3-6):股骨头内骨小梁稀疏、纤细,间隙增宽,部分可见软骨下骨小梁断裂,骨细胞核固缩、边聚、破裂,C 组空骨陷窝率约 24%,E 组空骨陷窝率约 23%,空骨陷窝较 A 组明显增多,差异有统计学意义($P < 0.05$)(见表 2),部分骨小梁内可见类骨质的形成;成骨细胞减少,破骨细胞增多(E 组更明显);骨

表 1 6 周和 12 周动物血脂水平比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of the level of blood fat at 6 th and 12 th weeks($\bar{x} \pm s$)

| 分组 | 鸡数 (只) | 6 周 | | | 12 周 | | |
|-------------------|-----------|------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|
| | | CHO | TG | HDL | CHO | TG | HDL |
| 空白对照组(A 组) | 6 | 3.44±1.36 | 8.29±2.33 | 0.41±0.12 | 3.15±0.87 | 7.39±1.28 | 0.41±0.12 |
| 甲泼尼龙小剂量组(B 组) | 6 | 3.66±0.47 | 11.52±2.17* | 0.23±0.11* | 4.54±0.77* | 11.61±2.4** | 0.30±0.08 |
| 甲泼尼龙大剂量组(C 组) | 6 | 4.85±1.24* | 12.81±2.7* | 0.24±0.09* | 5.44±1.27** | 11.81±3.18* | 0.26±0.11* |
| 地塞米松小剂量加马血清组(D 组) | 6 | 4.56±1.03 | 10.47±3.36 | 0.26±0.11 | 4.73±0.91* | 10.63±4.06 | 0.22±0.06* |
| 地塞米松中剂量加马血清组(E 组) | 6 | 4.83±0.72 | 11.94±3.11* | 0.26±0.07* | 4.83±0.72* | 11.01±3.63* | 0.24±0.07* |
| 地塞米松大剂量组(F 组) | 6 | 4.92±0.18* | 10.20±2.86 | 0.26±0.08 | 5.57±1.43** | 12.30±3.75* | 0.37±0.22 |
| F 值 | | 1.646 | 3.349 | 3.230 | 0.816 | 1.459 | 0.118 |

注:与正常组相比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: Compared with control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

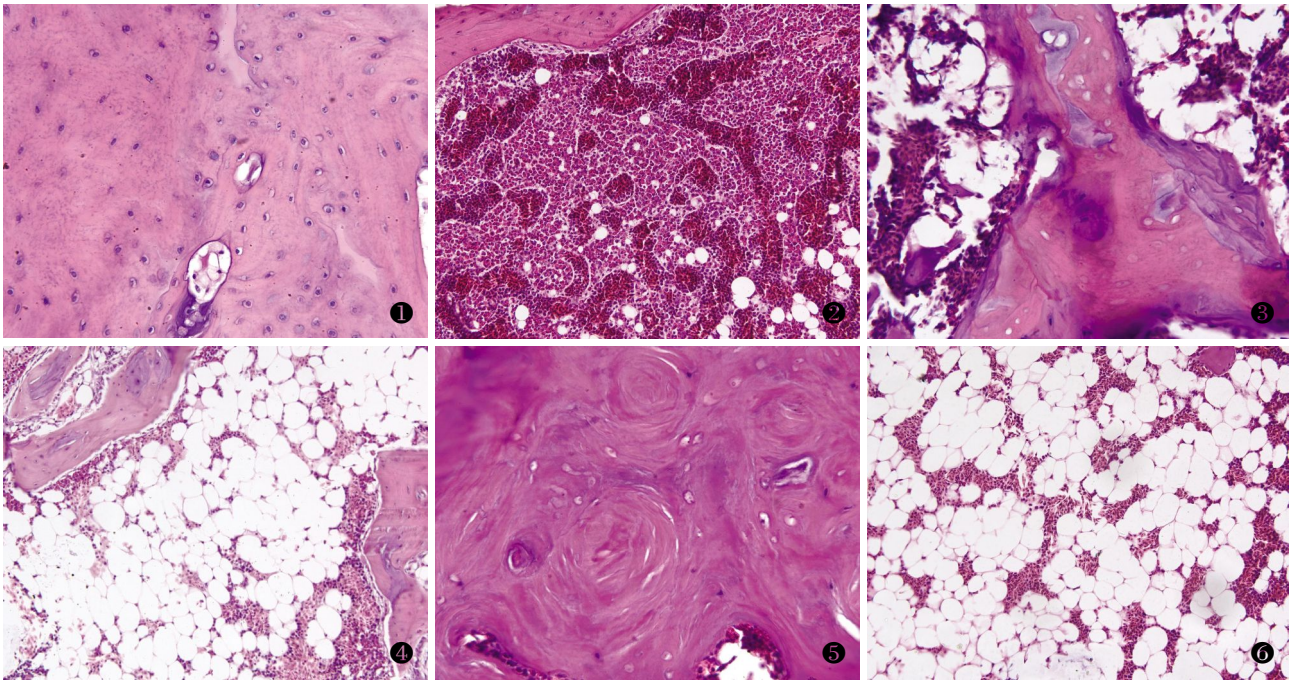


图 1,2 正常股骨头骨质骨小梁致密,骨细胞饱满,未见明显空骨陷窝,骨髓腔内,造血细胞丰富,未见明显脂肪细胞 图 3,4 甲泼尼龙大剂量组股骨头骨小梁稀疏,空骨陷窝(↓)明显增多,成骨细胞减少,骨髓腔内脂肪细胞明显增多,造血细胞减少 图 5,6 地塞米松中剂量加马血清组骨小梁内见大片类骨质,内见较多的空骨陷窝,成骨细胞稀少,成熟骨小梁稀少,骨髓腔内见大片脂肪细胞(图 1、3、5 为 10×40,图 2、4、6 为 10×20)

Fig.1,2 Normal dense bone trabecula, well-stacked bone cells, rare empty lacuna in the normal femoral head. There were abundant hematopoietic cells and rare adipose cells in the cavitas medullaris Fig.3,4 Rare bone trabecula, high rate of empty lacuna and reduction of osteoblast in the femoral head of Methylprednisolone group. There were abundant adipose cells and rare hematopoietic cells in the cavitas medullaris Fig.5,6 Massive osteoid and fat cells, abundant empty lacuna, rare osteoblast and mature bone trabecula in middle dose Dexamethasone and horse serum group (Fig.1,3,5: 10×40; Fig. 2,4,6: 10×20)

髓腔内脂肪细胞增多、肿大明显,核边聚,部分骨髓腔内可见大片的出血区(C组明显)。

表 2 第 12 周空骨陷窝计数($\bar{x} \pm s$)
Tab.2 The ratio of empty lacuna($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 12 周 |
|------------------|--------------|
| 空白对照组(A组) | 0.121±0.070 |
| 甲泼尼龙小剂量组(B组) | 0.141±0.040 |
| 甲泼尼龙大剂量组(C组) | 0.240±0.090* |
| 地塞米松小剂量加马血清组(D组) | 0.145±0.010 |
| 地塞米松中剂量加马血清组(E组) | 0.226±0.040* |
| 地塞米松大剂量组(F组) | 0.156±0.040 |
| F 值 | 6.372 |

注:与正常组相比较,*P<0.05

Note: Compared with control group, *P<0.05

3 讨论

3.1 股骨头坏死程度与激素类型及剂量相关 虽然股骨头坏死的发病机制仍不十分清楚,但已肯定糖皮质激素可促进脂肪分解并抑制其合成,促使脂肪分解成大量游离脂肪酸释放到血液中,血中 TG 和 CHO 的含量大幅升高,造成高脂血症。在本研究

中,实验动物应用激素后,TG、CHO 均有一定程度升高。实验结果表明,小剂量激素即可导致血脂代谢紊乱,但不一定发生股骨头坏死。此外,C、E 组动物股骨头内可见骨髓脂肪化,骨细胞核受压固缩在边缘,骨细胞坏死,空骨陷窝增多,说明大量使用激素可以导致股骨头内骨髓脂肪化,骨细胞脂肪变性,局部脂肪栓塞,引起股骨头坏死。

实验中发现甲泼尼龙对股骨头的影响比地塞米松明显, Miyanishi 等^[1]用等效量的氢化泼尼松、曲安舒松和甲泼尼龙同时给家兔肌肉注射,结果显示甲泼尼龙组血清 CHO、TG 和游离脂肪酸明显高于其他组,组织病理学观察亦表明甲泼尼龙组骨坏死率明显高于其他激素组,这与我们的实验结果相似。甲泼尼龙引起股骨头坏死的主要机制目前尚不清楚,地塞米松与甲泼尼龙的临床生物等效剂量比为 0.75:5,甲泼尼龙是中效糖皮质激素,由糖皮质激素化合物中相同的碳架结构 6 α 位引入甲基而成。甲泼尼龙进入体内后在胆碱脂酶的作用下能迅速分解为游离的甲泼尼龙,在体内不容易被灭活,即使在血浆中也检测不到,但其在细胞内的药理活性仍继续存

全髋关节置换术后早期后脱位的原因分析

徐利明, 朱炳斌, 蒋毅, 余海平

(建德市第一人民医院骨科, 浙江 建德 311600)

关键词 关节成形术; 置换; 髋; 脱位; 手术后并发症; 再手术

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2010.03.012

Causes of early posterior dislocation after total hip replacement XU Li-ming, ZHU Bing-bin, JIANG Yi, YU Hai-ping.

Department of Orthopaedics, the First People's Hospital of Jiande, Jiande 311600, Zhejiang, China

Key words Arthroplasty, replacement, hip; Dislocations; Postoperative complications; Reoperation

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2010, 23(3): 187-188 www.zggszz.com

全髋关节置换术(THR)后脱位是全髋置换术最常见的并发症之一, 它可以使患者对手术治疗及手术医师失去信心, 同时患者对手术的满意度也会明显降低。关于全髋关节置换术后的脱位率, 报道不尽相同。复习近年的文献报道, 初次全髋置换术后的脱位率一般认为在 2%~3%, 全髋翻修手术的脱位率则较初次置换高 3~4 倍, 达 9%~10%, 而第 2 次或更多次翻修手术后脱位率可高达 26.17%^[1]。按时间一般分为早期脱位(术后 6 周内)和晚期脱位(术后 6 周后), 肖德常等^[2]

把 THR 术后 5 年以上发生脱位作为后期脱位。大多数脱位发生在术后早期, 其中 75% 为后脱位^[3]。1998 年 1 月至 2008 年 1 月, 行人工全髋关节置换术 109 例(112 髋), 其中发生脱位 5 例(5 髋), 占 4.46%, 试结合临床和有关文献对术后早期后脱位的原因作粗浅分析如下。

1 临床资料

本组 109 例(112 髋), 行单侧者 106 例, 双侧者 3 例。男 62 例, 女 47 例; 平均年龄 63.5 岁(48~78 岁)。股骨头缺血性

在, 或可导致组织细胞的长期溶解。有学者认为不同激素具有不同的白蛋白结合能力和不同的皮质类固醇结合球蛋白(CBG), 因甲泼尼龙对 CBG 的结合能力低于氢化泼尼松, 故使体内游离的甲泼尼龙增多, 对脂质的影响和细胞的毒性增强, 这可能也是其易引起骨坏死的原因之一。

3.2 以鸡作为激素性股骨头坏死模型动物的特点

目前用以复制实验性股骨头坏死模型的动物多为四足动物, 如鼠、兔、犬、猪、马和羊等, 因其头颈使主要负重部位落在前肢, 后肢承重较小, 且四足动物会保护性地限制患肢负重, 进一步降低导致坏死侧的髋关节机械应力^[2], 故难于观察到类似人类的软骨面塌陷。Conzemius 等^[3]报道冷冻两足大型动物鹌鹑可以造成能逐渐进展至股骨头塌陷的动物模型, 但由于鹌鹑来源有限, 饲养困难, 使得该模型的应用受到限制。本研究中, 我们选择鸡作为激素性股骨头坏死模型动物, 体会到以下几个特点: ①鸡双下肢负重, 突出了机械应力的作用, 病程进展快, 病理变化接近人类; ②应用激素后鸡易形成高脂血症, 其血液黏稠性高, 易造成股骨头内微循环障碍, 缺血、缺氧而坏死; ③鸡死亡率低, 饲养方便; ④能很好地体

现脂肪代谢紊乱状态。由于脂肪代谢紊乱是中医“痰”的物质基础^[4], 因此, 我们认为以后在涉及脂肪代谢紊乱或中医“痰”或“瘀”方面内容的激素性股骨头坏死实验研究中, 将鸡作为激素性股骨头坏死模型动物可能是一种较好的选择。

本实验条件下, 我们使用地塞米松加马血清与甲泼尼龙琥珀酸钠均能诱导出较典型的鸡早期股骨头坏死。相比之下, 甲泼尼龙琥珀酸钠致骨坏死的效价高, 使用方法简便, 将其作为激素性股骨头坏死的造模剂可能更具优势。

参考文献

- [1] Miyanishi K, Yamamoto T, Iriya T, et al. Effects of different corticosteroids on the development of osteonecrosis in rabbits. *Rheumatology (Oxford)*, 2005, 44(3): 332-326.
- [2] 李鸿帅, 张长青. 股骨头坏死动物模型研究进展. *国际骨科学杂志*, 2006, 27(3): 173.
- [3] Conzemius MG, Brown TD, Zhang Y, et al. A new animal model of femoral head osteonecrosis: one that progresses to human-like mechanical failure. *J Orthop Res*, 2002, 20(2): 303-309.
- [4] 陈卫衡. 股骨头坏死“痰瘀同治”的理论基础. *江苏中医药*, 2008, 40(5): 3-4.

(收稿日期: 2009-12-23 本文编辑: 连智华)