

激素性股骨头坏死股骨头微血管的变化

胡志明¹,王海彬²,周明乾¹,姚新生¹,马 骊¹,王小宁¹(¹南方医科大学分子免疫学研究所,广东 广州 510515,
²广州中医药大学第一附属医院骨科,广东 广州 510405)

摘要:目的 通过观察激素性股骨头坏死股骨头微血管的变化,探讨股骨头缺血性坏死的机制。方法 将 20 只健康新西兰兔随机分成两组,每组 10 只。A 组:模型组,注射马血清及醋酸泼尼松龙造模;B 组:正常对照组,采用墨汁灌注及病理组织切片对股骨头的微循环结构及组织细胞的病理变化进行观察。结果 墨汁灌注结果显示:模型组股骨头血管显著减少,灌注不全面,血管出现明显栓塞。病理组织切片 HE 染色显示:骨细胞核固缩,部分血管栓塞,骨髓腔内造血组织明显减少。结论 大剂量激素引起的微血管内皮损伤,血管栓塞,可能是造成股骨头坏死的重要原因。

关键词:股骨头坏死;激素;动物模型;微血管

中图分类号:R683.42 文献标识码:A 文章编号:1673-4254(2006)06-0785-03

Pathological changes of the blood vessels in rabbit femoral head with glucocorticoid-induced necrosis

HU Zhi-ming¹, WANG Hai-bin², ZHOU Ming-qian¹, YAO Xin-sheng¹, MA Li¹, WANG Xiao-ning¹

¹Institute of Molecular Immunology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; ²Department of Orthopedic Surgery, First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine and Pharmacology, Guangzhou 510405, China

Abstract: **Objective** To observe the pathological changes in the blood vessels in rabbit femoral head with glucocorticoid-induced necrosis and investigate the pathogenesis of glucocorticoid-induced osteonecrosis. **Methods** Twenty New Zealand white rabbits were randomly divided into two groups, namely group A. which was injected with horse serum and prednisone and group B as the control group. Chinese ink was injected into the femoral cavity of the rabbits to observe the blood vessels in the femoral head under optical microscope and the femoral head was examined histopathologically. **Results** Compared with the normal control group, the rabbits in group A had significantly decreased number of perfused vessels, which was featured by defective perfusion, osteocytic pyknosis or necrosis, increase of empty osteocyte lacunae and fat cells, decrease of hematopoietic tissue, and blood vessel occlusion. **Conclusion** Vascular occlusion and vasculitis due to glucocorticoid treatment may cause avascular necrosis of the femoral head.

Key words: femoral head necrosis; steroid; animal model; blood vessels

股骨头缺血性坏死是临床多发病和常见病,致残率高,它可引起股骨头塌陷、变形,最终导致髋关节功能障碍^[1]。股骨头坏死分创伤性股骨头坏死和非创伤性股骨头坏死,其中激素性股骨头坏死的发病率占非创伤性股骨头坏死首位,并有增高趋势,已引起广泛重视,但其确切的发病机理尚不清楚^[2]。本研究通过建立马血清激素性兔股骨头坏死动物模型,采用墨汁灌注及病理组织切片对股骨头的微循环结构及组织细胞进行观察,旨在研究激素性股骨头坏死与骨内微循环损伤的关系,从而进一步探讨激素性股骨头坏死的发病机理。

1 材料和方法

1.1 材料

动物:新西兰兔,广州中医药大学动物中心提供;试剂:马血清, Hyclone 公司产品;醋酸泼尼松龙:比利时法玛西亚普强公司生产。

1.2 方法

1.2.1 激素诱导兔股骨头坏死动物模型的建立 将 20 只健康新西兰兔,雌雄各半,体质量 2.6~3.2 kg,平均 2.9 kg,随机分成 2 组,每组 10 只。A 组为模型组:每只用马血清 10 ml/kg,经兔耳缘静脉注射,间隔 2 周,按 5 ml/kg 剂量连续 2 d 注射马血清各 1 次,间隔 2 周后,注射醋酸泼尼松龙,按 7.5 mg/kg 腹腔注射 3 次(每间隔 3 d 注射 1 次),期间肌注青霉素抗感染。B 组:正常对照组。动物注射激素 5 周后,处死动物,观察造模情况。

1.2.2 墨汁灌注造影观察 墨汁灌注操作^[3]:动物处死前用戊巴比妥钠麻醉,按 30 mg/kg。切开腹部,暴露腹主动脉,用带 12 号针头的聚乙烯管离心方向插入,立即注射肝素 1 万 IU,然后生理盐水加压灌注约 3000

收稿日期:2005-12-05

基金项目:广州市科技计划项目(2003Z2-E0171);广东省科技攻关计划项目(2004B31201010);军队医药卫生科研基金(04LX028)

Supported by Key Sci-Tech Research Project of Guangzhou City (2003Z2-E0171), Sci-Tech Research Project of Guangdong Province (2004B31201010) and Medical Research Foundation of the PLA(04LX028)

作者简介:胡志明(1966-),男,医学博士,电话:02061648322, E-mail:

hzm@fimmu.com

ml,最后用墨水(上海墨水厂出品 214 型)和右旋糖酐(上海富民制药厂)以 7:3 的比例混合注入血管约 100 ml,见双侧下肢发黑。尸体放 40 °C 冰箱过夜,第 2 天取材,5% HNO₃ 脱钙,常规处理后,水杨酸酯钠透明,切成 50 μm 的切片,立体显微镜下观察,观察股骨头微血管分布和生长情况。

1.2.3 病理组织学观察 解剖取双侧股骨头连同干骺端,肉眼观察后,置于 10% 中性福尔马林液(0.1 mol/L, pH7.4),固定 3 d。然后置于 10% EDTA-Tris 缓冲液中(将 EDTA 溶于 0.1 mol/L, pH7.4 的 Tris-HCl 缓冲液中制成)脱钙,每周更换脱钙液 1 次,观察骨标本表面颜色并用物理法测定其脱钙程度。脱钙完全后取材,逐级脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片然后行 HE 染色。光镜观察股骨头骨膜、骨组织、骨小梁、微血管、骨髓组织变化。

在切片中观察骨陷窝时,高倍镜下(10×40)任选

5 个高倍视野,每个视野内计数 50 个骨陷窝,求出空缺骨陷窝所占的百分数。当观察血管数目时,在软骨下区依次任选 5 个高倍视野,计血管数目,求出平均值,观察骨髓腔内造血组织的变化时,任选 5 个高倍视野,估算骨髓腔内造血组织和脂肪细胞所占的比例^[4]。

1.3 统计学处理方法

实验数据用 *t* 检验进行统计学处理。

2 结果

2.1 墨汁灌注血管造影结果

正常组:在软骨下骨小梁内的骨髓中形成血管网,血管网间相通,小血管丰富,未见血管内墨汁外渗(图 1)。造模组:墨汁灌注血管造影显示股骨头血管显著减少,灌注不全面,血管出现明显栓塞,并可见墨水外渗的现象。局部血管弯曲,成竹节状,潮线下血管丛分布少(图 2)。

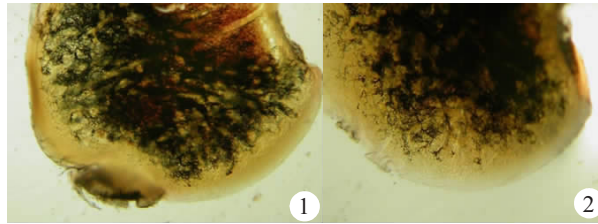


图 1 对照组股骨头血管墨汁灌注结果

Fig.1 Ink-perfused blood vessels in the femoral head of a control rabbit (Original magnification:×10)

图 2 模型组股骨头血管墨汁灌注结果

Fig.2 Ink-perfused blood vessels in the femoral head of a model rabbit (Original magnification:×10)

2.2 病理组织学观察结果

正常股骨头 HE 染色显示:骨膜光滑,软骨细胞排列整齐,骨小梁完整,排列规则,骨小梁中的骨细胞清晰可见,空骨陷窝少见,骨小管内小血管正常,结构完整,血管内皮细胞丰富,血管无栓塞现象。骨髓中造血细胞丰富,脂肪细胞相对较少,形态正常(图 3)。股

骨头坏死模型组 HE 染色显示:骨膜不完整,软骨部分脱落,骨小梁稀疏变细,结构紊乱,有碎片出现,骨小梁骨细胞陷窝空疏,骨细胞核固缩。部分血管栓塞,骨髓腔内造血组织明显减少,细胞数目及网状结构较正常稀疏,脂肪细胞体积增大,有的融合成泡状(图 4、5)。

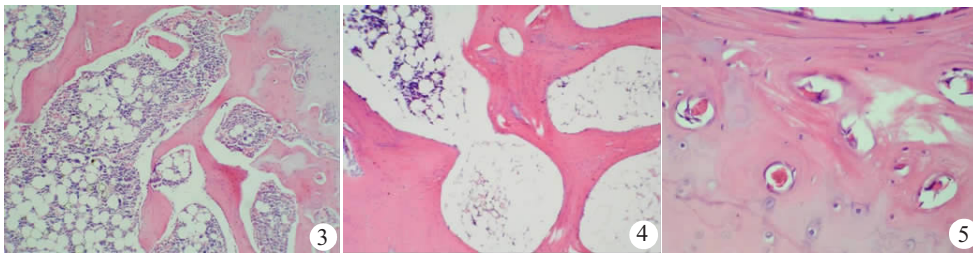


图 3 对照组股骨头骨髓腔中造血组织观察

Fig.3 Microscopic observation of the hematopoietic tissue in the marrow cavity of the femoral head of a control rabbit (HE, original magnification: ×200)

图 4 模型组股骨头骨髓腔中造血组织观察

Fig.4 Microscopic observation of the hematopoietic tissue in the marrow cavity of the femoral head of a model rabbit (HE,original magnification: ×200)

图 5 模型组股骨头内血管出现广泛栓塞

Fig.5 Microscopic observation of occluded blood vessels in the femoral head of a model rabbit (HE, original magnification: ×200)

两组动物病理检查结果见表1,经统计学分析,两组之间空缺骨陷窝百分比、血管数、骨髓腔内造血组织百分比均有统计学差异($P<0.01$)。

表1 两组动物光镜检查结果

Tab.1 Results of optical microscopic examination of the femoral head in the two groups of rabbits (Mean±SD)

Group	n	Percentage of empty bone lacunae(%)	Number of blood vessel	Percentage of hematopoietic tissue(%)
Model	6	25.2±1.2*	3.5±1.0*	13.5±1.9*
Control	6	12.6±1.4	8.0±1.4	58.3±2.4

* $P<0.01$ vs control group

3 讨论

股骨头坏死重要的病理现象是股骨头血供不足,本实验采用墨汁灌注血管造影观察模型兔和正常兔股骨头血管的变化,结果显示:造模组股骨头血管显著减少,灌注不全面。病理组织切片HE染色显示:模型组股骨头血管出现明显栓塞,骨髓腔内造血组织明显减少,脂肪细胞体积增大。其可能的机制是:大量摄入激素后,一方面血清内脂类含量明显增高,总胆固醇、甘油三脂、游离脂肪酸均增高,形成高脂血症。脂肪酸使血内极低密度脂蛋白乳化不完全,脂蛋白球相互联合,在周围血管中构成脂肪栓子,同时脂肪栓子水解产生的游离脂肪酸,触发血管内凝血^[5]。另一方面大量激素进入体内后引起骨内小血管炎症加重,骨内压明显升高,而股骨头、肱骨、股骨髁等球形松质骨部位因受坚硬壁限制,骨内压升高最为明显。髓内血窦、毛细血管、小静脉受压后造成静脉血流受阻,血液回流出现延迟或瘀滞现象,直接影响骨组织内动脉血供,造成骨组织的缺血坏死^[6]。

关于血管灌注,目前常用的有甲基丙烯酸甲酯血管铸型及微血管造影法^[7]。甲基丙烯酸甲酯血管铸型,

其优点能清楚地显示血管的表面情况,如能和扫描电镜配合,是一种理想的观察血管,特别是观察血窦的好方法。但步骤复杂,且需一定设备。微血管造影法,造影剂主要用硫酸钡,此法影像缺乏立体感,微血管走行、关系不易分辨,且需用X线机拍片等。本实验选用墨汁灌注进行连续切片,动物股骨头的墨汁灌注可以清楚地反映股骨头内血管系统,包括细微血管的形态,便于仔细观察微血管的空间分布、走行、形态、联系和过渡关系,可显示微血管表面,反映血管内皮功能的损伤情况,且操作简便、无需特殊的仪器设备。本实验的结果显示:早期股骨头坏死表现为股骨头微血管的栓塞和坏死,血管的损伤和栓塞导致股骨头坏死不断加重,是一个恶性循环的发病过程。因此,提示对股骨头坏死的早期治疗应以刺激股骨头新血管的生成来改善股骨头的血供。激素性股骨头坏死的发生是一个复杂的病理过程,本文仅对其微血管的变化作了初步的探讨,其确切机制还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Arlet J. Nontraumatic avascular necrosis of the femoral head past present and future[J]. Clin Orthop, 1992, 277: 12-21.
- [2] Kim YM, Rhyu KH, Lee SH, et al. Can osteonecrosis of the femoral head be recurrent[J]? Clin Orthop, 2003, 406: 123-8.
- [3] 田牛. 微循环[M]. 北京: 科学出版社, 1986: 7-9.
- [4] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors [J]. Breast Cancer Res Treat, 1995, 36: 169-72.
- [5] Jones JP. Fat embolism of bone[J]. J Bone Joint Surg (Am), 1996, 48: 149-53.
- [6] Kloen P, Leunig M, Ganz R, et al. Early lesions the labrum and acetabular cartilage in osteonecrosis of the femoral head[J]. J Bone Joint Surg (Br), 2002, 84(1): 66-9.
- [7] 周谋望,徐皓,朱盛修. 自制微细硫酸钡造影观察骨微循环[J]. 中华实验外科杂志, 1991, 8(2): 95-7.

(责任编辑:陈望忠)