

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)08-0737-04

兔激素性股骨头坏死病程中肝脂肪酶改变的意义

张义福¹, 刘建¹, 孟国林¹, 袁志¹, 吕荣¹, 袁鹏²(¹ 第四军医大学西京医院全军骨科研究所, 陕西 西安 710033, ² 乌鲁木齐军区总医院妇产科, 新疆 乌鲁木齐 830000)

Change of hepatic lipase and its meaning during the glucocorticoid-induced avascular necrosis of femoral head in rabbits

ZHANG Yi-Fu¹, LIU Jian¹, MENG Guo-Lin¹, YUAN Zhi¹, LÜ Rong¹, YUAN Peng²¹ PLA Institute of Orthopaedics, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China, ² Department of Obstetrics and Gynecology, Urumqi Military General Hospital, Urumqi 810000, China

【Abstract】 AIM: To elucidate the change of hepatic lipase (HL) activity and its meaning during the glucocorticoid-induced avascular necrosis of the femoral head (NFH). **METHODS:** Forty mature New Zealand white rabbits were randomly allocated to 4 groups: group A served as control; group B were given dexamethasone at a dose of 7.5 mg/kg iv per day for the 1st week, then at a dose of 2.5 mg/kg im every other day; group C, given dexamethasone just as group B, were also given testosterone propionate at a dose of 5 mg/kg im every 3 d at the same time; group D only received testosterone propionate supra citato. Just before and at the 1st, 3rd, 5th week of the experiment, 12-fasted blood samples were collected 15 min after given heparin sodium (at a dose of 50 U/kg iv) to monitor plasma lipid and lipoprotein concentrations and HL activity. Objects were sacrificed in batch randomly and bilateral femoral head were collected to detect bone necrosis index at the 5th and 8th week of the experiment. **RESULTS:** Compared with group A and group D, the concentrations of TG, TCH and HDL in group B and C were much higher (especially in group B); the HL activity decreased distinctively in group B but reascended in group C. While compared with group A, the HL activity was higher in group D. At the end of the 8th week in group B, empty lacuna, increased adipocytes and osteocyte necrosis were extremely obvious; but during the 5th week, such changes were not so serious. Similar changes were also found in group C, but the changes were slight. **CONCLUSION:**

Decrease of HL activity and hyperlipemia exist in the process of glucocorticoid-induced NFH, but hyperlipemia can be relieved when agents are given to upgrade HL activity and such agents can improve NFH and delay its progression.

【Keywords】 necrosis of the femoral head; hepatic lipase; hyperlipemia; glucocorticoid

【摘要】 目的: 探索激素性股骨头坏死(NFH)病程中肝脂肪酶(HL)的变化及其意义。方法: 新西兰大白兔40只随机分为4组:A组:空白对照;B组:地塞米松;C组:地塞米松+丙酸睾酮;D组:丙酸睾酮。分别在给药的第0, 1, 3, 5 wk采血行三酰甘油(TG), 总胆固醇(TCH), 高密度脂蛋白(HDL)以及HL活性的检测。并于实验的第5, 8 wk分批处死实验对象, 取股骨头标本行骨坏死指标的检测。结果: B, C组TG, TCH, HDL较A, D组明显升高, B组的HL活性下降, C组的HL活性较B组明显升高, D组较正常组高。B组第8 wk镜下可见股骨头内脂肪细胞增多, 骨细胞坏死空骨陷窝形成明显, 但第5 wk时改变轻微。C组也存在类似改变, 但病变程度较轻。结论: 激素性股骨头坏死病程中存在高脂血症、HL活性下降, 给予HL活性增强剂可以改善血脂紊乱状态, 并可以改善骨坏死的程度, 延缓其进程。

【关键词】 股骨头坏死; 肝脂肪酶; 高脂血症; 糖皮质激素

【中图分类号】 R658.3 **【文献标识码】** A

0 引言

股骨头坏死是临床常见病。研究发现不论是乙醇性还是激素性股骨头坏死(necrosis of the femoral head, NFH)病程中都存在血脂代谢异常, 研究人员认为血脂代谢异常诱发NFH。肝脂肪酶(hepatic lipase, HL)是脂质代谢过程中的关键酶之一, 对维持体内血脂水平起重要作用。但就HL在NFH病程中的变化目前国内少见报道。我们探讨了NFH病程中HL的变化, 以及这种变化与骨坏死之间的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 成年新西兰白兔40只, 体重2.3~3.4(平均2.6)kg, 雌雄各半, 随机分为4组, 每组10只。A组: 空白对照; B组: 按7.5 mg/kg, 1次/d, 自耳缘静脉iv地塞米松注射液, 1 wk后改为2.5 mg/kg, 1次/2 d, 股后侧im; C组: 在B组给药的基础

收稿日期 2006-02-28; 接受日期 2006-03-23

通讯作者: 刘建. Tel: (029) 84771014 Email: ljreny@fmmu.edu.cn

作者简介: 张义福. 硕士生(导师刘建). Tel: (029) 82554082

Email: whl7601@fmmu.edu.cn

上,自股后侧 im 丙酸睾酮注射液 5 mg/kg,1 次/3 d ; D 组 :按上述方法单纯给予丙酸睾酮注射液。肝素钠注射液(上海生物化学制药厂),丙酸睾酮注射液及地塞米松注射液(上海通用药业有限公司),三油酸甘油酯及 1-14C 三油酸甘油酯(AP Chemicals Ltd.),庚烷、丙酮、阿拉伯胶、牛白蛋白(北京奥博星生物技术责任有限公司),检测血脂及 HL 的其他试剂均购自于 Whitman Biotech CO. LTD ,分析仪为日本 Olympus 公司 AU-2700 型全自动生化分析仪。

1.2 方法 实验对象随机分组后按上述方式给药。分别在给药前及给药 1,3,5 wk 清晨禁食前提下,按 50 U/kg 自耳缘静脉 iv 肝素钠稀释液,15 min 后自耳缘静脉取血 5 mL,离心 15 min,取上清液置液氮内速冻(flash-frozen)后,置 -70℃ 冰箱内低温保存、备用。将冻存上清液解冻后以酶法检测 TG, TCH, HDL 含量,参照 Inamoto 等^[1]采用的方法行 HL 活性的检测。并于实验 5,8 wk 采用随机化方法分两批处死实验对象,取双侧股骨头标本,置 40 g/L 甲醛溶液内固定 3 d,为使固定效果满意,特将股骨头沿冠状面纵形剖开)随后置本研究所自制脱钙液内脱钙 2 wk,冲洗后经脱水机洗脱 24 h,将标本石蜡包埋后切片,行 HE 染色,观察软骨面的变化、软骨下骨质的改变、骨小梁的改变、骨细胞的变化、空骨陷窝的发生情况以及髓

腔内脂肪细胞的数量和形态的变化。

统计学处理 :计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 10.0 for windows 统计软件进行分析,对检测结果进行不同组别整体间的重复测量的方差分析,检验水准 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

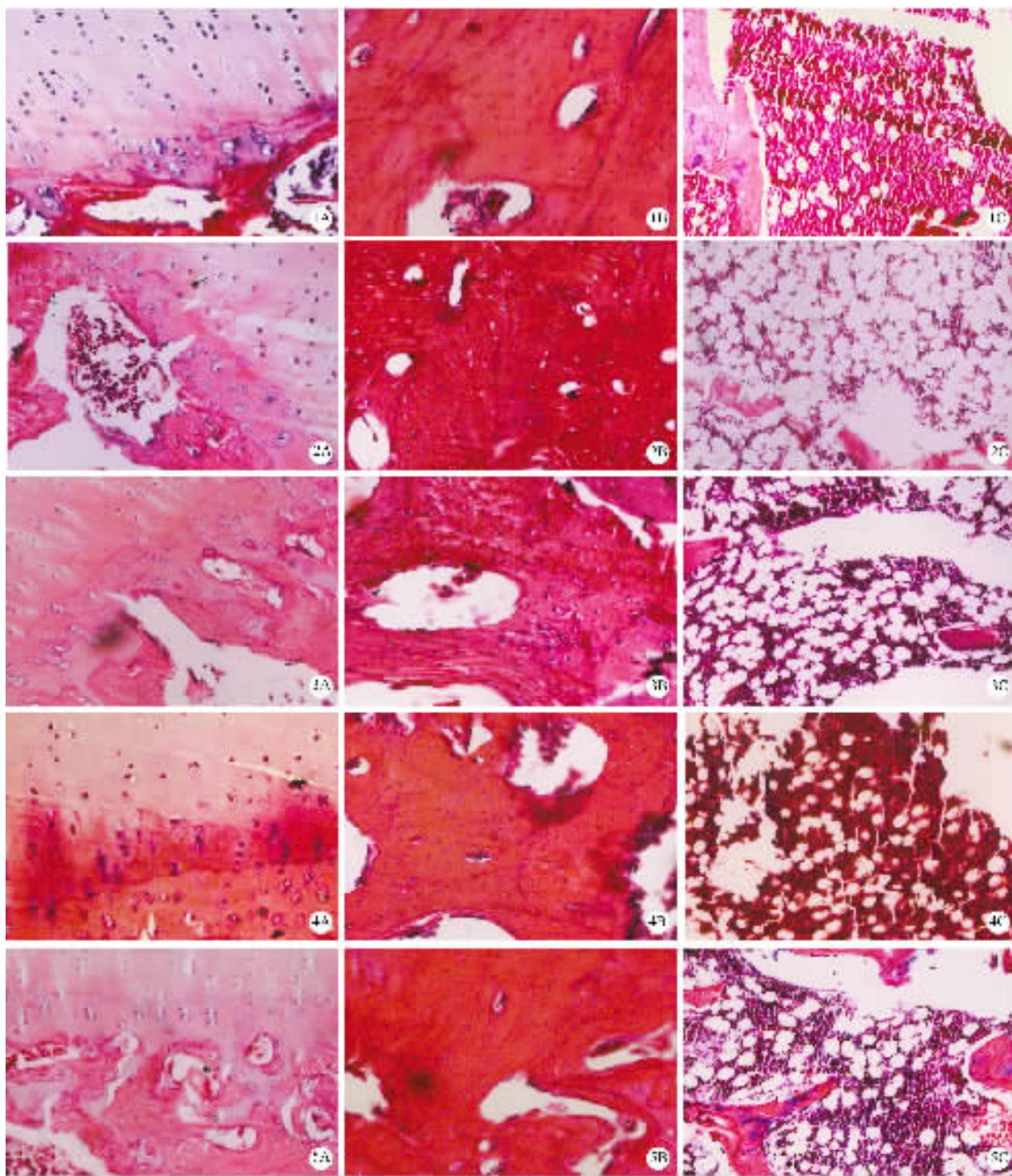
2 结果

2.1 肝素后 HL 活性及血脂的变化 实验对象给予激素后肝素后血浆 HL 活性显著降低,降低的程度与激素剂量相关。在实验开始 1 wk 静脉推注大剂量激素时,酶活性降低明显,而自 2 wk 开始减小激素剂量后酶活性略有回升,而没给激素的甲组及丁组检测结果没有这种变动,给予丙酸睾酮 HL 的活性增强,各组间差异显著。与对照组相比,单纯给予激素组血脂成分明显升高,其中以三酰甘油升高最为显著,胆固醇呈中等程度升高,而 HDL 轻度升高,联合给药组仅有三酰甘油及总胆固醇升高,以三酰甘油升高为明显, HDL 无显著改变,单纯给予丙酸睾酮组,各血脂成分变化无差异性。与单纯给予激素组相比,联合给药组血脂升高程度较低,仍以三酰甘油升高为明显,而 HDL 处于正常值界限内。减少激素剂量后血脂含量也相应下降(表 1)。

表 1 肝素后血浆 HL 活性及 TG, TCH, HDL 值 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

指标	组别	0 wk	1 wk	3 wk	5 wk
HL(μ kat/L)	A	26.50 \pm 1.20	26.49 \pm 0.93	26.17 \pm 0.76	26.78 \pm 0.85
	B	26.28 \pm 1.01	19.25 \pm 0.71 ^{bc}	20.27 \pm 0.63 ^b	20.17 \pm 0.43 ^b
	C	26.58 \pm 0.74	22.08 \pm 0.67 ^{bc}	23.49 \pm 1.03 ^b	23.69 \pm 0.64 ^b
	D	26.49 \pm 0.88	32.58 \pm 1.10 ^b	32.39 \pm 1.20 ^b	32.66 \pm 0.43 ^b
TG(mmol/L)	A	0.84 \pm 0.20	0.93 \pm 0.20	0.90 \pm 0.22	0.89 \pm 0.21
	B	0.86 \pm 0.30	9.55 \pm 0.79 ^{bd}	7.02 \pm 1.07 ^{bc}	6.67 \pm 0.95 ^{bc}
	C	0.89 \pm 0.31	5.71 \pm 0.93 ^{bc}	4.30 \pm 1.43 ^b	4.14 \pm 0.96 ^b
	D	0.83 \pm 0.22	0.99 \pm 0.25	1.01 \pm 0.37	0.84 \pm 0.25
TCH(mmol/L)	A	1.07 \pm 0.23	0.95 \pm 0.18	0.90 \pm 0.19	1.03 \pm 0.21
	B	1.10 \pm 0.55	3.52 \pm 0.90 ^{bd}	2.61 \pm 0.97 ^b	2.52 \pm 0.87 ^b
	C	0.94 \pm 0.48	2.16 \pm 0.75 ^{bc}	1.95 \pm 1.01 ^b	1.98 \pm 0.69 ^b
	D	1.05 \pm 0.39	0.91 \pm 0.23	0.83 \pm 0.33	0.87 \pm 0.26
HDI(mmol/L)	A	0.57 \pm 0.22	0.58 \pm 0.23	0.56 \pm 0.21	0.59 \pm 0.23
	B	0.43 \pm 0.21	0.79 \pm 0.31 ^{bc}	0.76 \pm 0.31 ^{bc}	0.66 \pm 0.33 ^a
	C	0.48 \pm 0.23	0.54 \pm 0.29	0.60 \pm 0.26	0.52 \pm 0.20
	D	0.53 \pm 0.19	0.46 \pm 0.22	0.49 \pm 0.21	0.52 \pm 0.23

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 在与对照组比较有显著差异前提下,各组间再比较; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ 与第一个时间点比较有显著差异前提下,各时间点再比较。A :空白对照 B :地塞米松 C :地塞米松 + 丙酸睾酮 D :丙酸睾酮。



A:软骨 HE $\times 200$ B:骨组织 HE $\times 200$ C:髓内脂肪组织 HE $\times 100$.

图1 正常组织结构:软骨结构正常,排列规则,坏死骨细胞罕见,空骨陷窝率 $<5\%$,骨小梁沿应力线分布,脂肪细胞数少

图2 早期坏死改变:软骨细胞分布尚均匀规则,骨组织破坏罕见,空骨陷窝 $>10\%$,髓腔脂肪细胞数量增多,散在分布

图3 晚期坏死改变:软骨细胞分布不均匀,失去层次性,排列紊乱,骨质破坏明显,骨细胞分布不均匀,空骨陷窝率 $>30\%$,髓腔脂肪细胞明显增多,直径增大,且多聚集成团

图4 治疗早期改变:镜下见组织正常,仅髓腔脂肪细胞增多,呈散在分布

图5 治疗晚期改变:软骨结构紊乱,细胞分布失去层次性,骨质结构紊乱,空骨陷窝率 $<30\%$,髓腔脂肪细胞明显增多,呈散在分布

2.2 股骨头的病理改变 各组股骨头标本外观上无明显差异。A组:光镜下见关节面无破坏,软骨细胞愈近髓腔愈成熟,排列规则,软骨下骨质无破坏,骨组织排列规则,骨细胞分布均匀,空骨陷窝罕见,空骨陷窝率<5%(以200倍镜下每50个骨陷窝出现的空骨陷窝数表示);骨小梁无明显中断或破坏,髓腔脂肪细胞呈散在分布,数目少(图1)。B组:5 wk,镜下存在异常改变但不明显,软骨面完整,软骨细胞排列尚规则,无明显软骨细胞坏死,骨组织灶状破坏罕见,空骨陷窝>10%,骨小梁连续性尚可,髓腔脂肪细胞数量增多,大多呈散在分布(图2)。8 wk,关节面完整,软骨细胞分布不均匀,排列紊乱,可见空软骨陷窝,软骨下骨质局灶性破坏明显,骨组织结构紊乱,骨细胞分布不均匀,空骨陷窝率>30%;可见骨小梁连续性中断,结构紊乱,髓腔脂肪细胞明显增多,平均直径增大(以200倍镜下随机抽取的10个脂肪细胞计算),且多聚集成团,镜下表现为多个脂肪细胞融合成大的脂肪空泡,髓内组织减少(图3)。C组:5 wk,镜下见其余组织正常,仅髓腔脂肪细胞增多,呈散在分布(图4)。8 wk,镜下见关节面无明显破坏,软骨结构紊乱,软骨细胞分布不均匀,失去层次性,偶见空软骨陷窝,软骨下骨质无明显破坏,但组织结构紊乱,骨细胞分布不均匀,空骨陷窝率<30%;骨小梁连续性完整,结构紊乱,灶状新生骨质罕见,髓腔脂肪细胞明显增多,呈散在分布,仅少量聚集成较大的脂肪空泡(图5)。D组:镜下结构同正常对照组。

3 讨论

NFH已引起人们高度重视,但其发病机制目前仍未明确。大量临床及动物实验证实不论是在激素性还是在乙醇性NFH病程中存在明显的血脂代谢紊乱,这在激素性NFH病程中尤为明显^[2-3],但其产生机制却悬而未决^[4]。HL是体内脂质代谢的三大关键酶之一,对控制体内TG、TCH含量,维持HDL的正常水平起重要作用^[5]。我们首次从酶代谢的角度探索骨坏死的产生机制。在参照国内外文献的基础上结合本研究所的经验,我们成功建立了NFH的动物模型。模型组HL活性明显下降,出现显著的血脂代谢紊乱,早期髓腔脂肪细胞增多,骨坏死不明显,后期出现明显的骨坏死改变,髓内组织明显减少。这种结果可能与糖皮质激素抑制HL活性有关^[6]。在建立模型的同时给予雄激素^[7]后,HL活性又有回升,虽

然也出现一定程度的血脂代谢紊乱,但比模型组要轻得多,髓腔脂肪细胞也增多,但融合成脂肪团块的较少,骨坏死改变也较模型组轻得多。统计分析后我们发现,NFH病程中HL活性与血脂状态及骨坏死程度呈负相关关系:HL活性下降出现血脂代谢紊乱,骨坏死改变明显,活性上调后则这种改变减轻。但HL活性增高对生理状态下的正常血脂含量不起作用,其原因是,虽然单纯给予增强剂组的HL活性比正常组还高,但两者的血脂成分却无显著性差异。

我们认为,NFH的产生可能与机体内HL活性下调有关,糖皮质激素可能是通过某种机制抑制了HL的活性而诱发高脂血症,后者的长期存在造成股骨头髓腔脂肪细胞增多,脂肪栓塞,最终造成股骨头坏死病变的形成;且随用药时间延长,骨坏死愈明显,这与临床病例是吻合的,HL活性增强剂能有效增强酶活性,改善NFH病程中的高血脂状态,减少髓腔脂肪细胞及脂肪栓子的数量,抑制或延缓股骨头坏死病变的形成。由此我们提出这样的设想:临床长期应用皮质激素治疗各类疾病时,可考虑同时给予HL增强剂或脂质清除剂,以避免或延缓股骨头坏死病变的出现。

【参考文献】

- [1] Inamoto Y, Teramoto T, Shirai K, et al. Severe hypercholesterolemia associated with decreased hepatic triglyceride lipase activity and pseudohyponatremia in patients after allogeneic stem cell transplantation [J]. *Int Hematol*, 2005, 82(4): 362-366.
- [2] 赵德伟,刘强,何伟,等.骨坏死[M].北京:人民卫生出版社,2004:11-34.
- [3] 李峻辉,宁亚功,叶建红,等.激素性股骨头坏死家兔血液流变学及血脂观察[J].*云南医药*, 2003, 24(2): 82-88.
- [4] Aldridge JM, Urbaniak JR. Avascular necrosis of the femoral head: Etiology, pathophysiology, classification, and current treatment guidelines [J]. *Am Orthop*, 2004, 33(7): 327-332.
- [5] Ambon A, Bertocco S. Relevance of hepatic lipase to the metabolism of triacylglycerol-rich lipoproteins [J]. *Biochem*, 2003, 31(5): 1070-1074.
- [6] Perret B, Mabile L. Hepatic lipase: Structure/function relationship, synthesis, and regulation [J]. *Lipid Research*, 2002, 43: 1163-1169.
- [7] Karen L, John K, John D, et al. Testosterone administration to men increases hepatic lipase activity and decreases HDL and LDL size in 3 wk [J]. *Physiol Endocrinol Metab (Am)*, 2003, 284: E1112-E1118.

编辑 袁天峰