5. Lausten GS, Egfiord M, Olgaard K. Metabolism of prednisone in kidney transplanted patients with necrosis of the femoral head. Pharmacol Toxicol, 1993, 72 (2): 78
6. Murphy KG, Greenberg ML. Osteonecrosis in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. Cancer, 1990, 65 (8): 1717
7. 居石 克夫, 平野 薫, 筒井 秀树, ら. 特 性大腿骨头塊死症の临床病理学研究. 整形. 灾害外科, 1993, 36 (1): 3
8. 世古 义观. 血管壁における细胞性免疫反应と动脉硬化病变の形成. 最新医学, 1994, 49 (5): 58
9. 王坤正, 毛履真, 胡长根, 等. 激素性股骨头缺血坏死发病机制的实验研究. 中华外科杂志, 1994, 32 (9): 515

(收稿: 1998-03-30, 修回: 1998-10-14)

硒对家兔实验性骨折愈合过程影响的病理研究

卫建平 芦汉生 杜爱平 薛华新
山西医科大学第二临床医院 (太原 030001)

〔摘要〕 目的 研究硒对骨折愈合的影响。方法 应用 40 只家兔做成双侧肱骨中段实验性骨折, 随机分为 2 组: 对照组饲常规饲料; 实验组每日加饲微量元素硒 0.6mg。术后 2、3、4、5 周取材, 进行骨痂横截面积测量, 光镜及电镜观察。结果 实验组 2~4 周骨痂内的软骨细胞、成骨细胞等及基质的变化较对照组出现早, 且功能活跃。结论 饲料中加硒可促进兔骨折愈合, 这可能与硒刺激软骨细胞的蛋白合成有关。

〔关键词〕 骨折愈合 微量元素 硒 软骨细胞

Pathological Study on the Effect of Selenium in the Healing Process of Experimental Fracture in Rabbits

Wei Jianping, Lu Hansheng, Du Aiping, et al. The Second Teaching Hospital of Shanxi Medical University (Taiyuan 030001)

〔**Abstract**〕 **Objective** To study the effect of trace element, selenium (Se) in the healing process of fracture. **Methods** Forty rabbits had been made experimental fractures at the middle shaft of the humerus bilaterally and divided into two groups randomly: the control group, fed with common forage; the experimental group, fed with Se (0.6mg/day) additionally. The specimens were taken out 2, 3, 4, and 5 weeks after operation, cross sections of the calluses were made to measure the area of the callus and to observe the structures with light and electron microscope. **Results** At 2 and 4 weeks, the appearance of chondrocyte and osteoblast and the changes of matrix in the callus of experimental group were much more earlier and the function of chondrocyte and osteoblast was more active. **Conclusion** Se added in forage could stimulate the synthesis of protein in chondrocyte to promote the healing of rabbit's fracture.

〔**Key words**〕 Fracture union Trace element Selenium Chondrocyte

微量元素在人体中的作用越来越被人们重视, 国内外许多学者注意到骨折后机体微量元素含量的变化[1,2], 并对锌、铜、锰等微量元素与骨折的关系进行了研究, 但很少有人研究硒与骨折的关系。本实验旨在通过兔骨折后加硒饲养过程中的病理观察, 探索硒元素在骨折愈合中的作用, 为临床预防和治疗骨折提供参考资料。

材料及方法

1. 骨折模型与实验分组 健康雄性家兔 40 只, 体重 2.5~3kg, 无菌条件下在双侧肱骨中段以双片锯锯断成 3mm 宽缺损的骨折模型。术后随机分成两组: 实验组 20 只, 每日饲以含 0.6mg 微量元素硒的饲料 (含硒丸剂由山西省太原市制药厂制造); 对照组 20 只, 以常规饲料喂养。

2. 检测项目及方法 (1) 骨痂横截面积检测: 每组在骨折后 2 周、3 周、4 周、5 周在静脉麻醉下分别处死 4 只, 剔除骨痂表面软组织, 用游离标尺测骨痂的最大横径, 计算骨痂横截面积。(2) 光学显微镜检查: 按柴本甫等[3]划分骨痂的方法, 分别在骨内膜骨痂及

连接骨痂处取材两块，一块做电镜检材，另一块做光镜检材。光镜检材立即以 10% 福尔马林固定，5% 硝酸脱钙，待组织变软后用流水冲洗 24 小时，然后逐级酒精脱水，石蜡包埋，切成 5μm 厚的切片，苏木精- 伊红染色，光镜观察。(3) 透射电镜检查：检材立即以 2% 戊二醛固定，为防止标本脱钙在固定时将 0.1M 二甲砷酸钠缓冲液 pH 值调整为 8.0，并在每 100ml 缓冲液中加入 40mg 氯化钠。标本于 4℃前固定 2 小时，再用同一缓冲液配制的 1%锇酸于 4℃后固定 2 小时，逐级丙酮脱水后，包埋于环氧树酯 618 内，用玻璃刀超薄切片，醋酸铀和枸橼酸铅染色，透射电镜观察。

由于对照组与实验组 4~ 5 周结果类同，所以本文中以 4 周的光镜、电镜结果为主讨论。

结　　果

1. 大体检查　骨痂以兔骨折断端裂隙处为中心，呈梭形，长约 10mm，灰白色略带光泽，每组骨痂最大横径的平均横截面积见表 1。

表 1　骨痂横截面积 (mm^2)

组别	2 周	3 周	4 周	5 周
实验组	47±0.4	55±1.0	50±1.0	41±0.6
对照组	31±0.6	32±1.1	33±1.1	35±1.7

注　经 t 检验统计学处理，实验组与对照组相比，$P < 0.05$

2. 光镜观察　骨内膜骨痂在光镜下发现，无论实验组还是对照组，第 2 周均有骨小梁形成，可能是骨膜细胞在骨折愈合中起了重要作用；而联接骨痂处则是先形成软骨，进一步骨化而形成骨性骨痂。我们重点观察了联接骨痂处的软骨的变化及骨化的问题。

(1) 对照组　对照组 2 周：骨膜细胞增生后，向软骨细胞分化 (图 1)。骨膜细胞梭形，类似于纤维细胞，核位于细胞中央，卵圆形，深染，细胞质有较长突起；软骨细胞卵圆形，分布在软骨基质的软骨陷窝内。

对照组 4 周：片状软骨组织形成，基质中钙盐沉着增加，可见不规则纤细骨小梁形成 (图 2)。

(2) 实验组　实验组 2 周：组织及细胞结构、形态类同对照组 2 周情况。

实验组 3 周：软骨细胞数量增多，体积变大，呈圆形，部分细胞质空泡状，核固缩，钙盐沉着于软骨基质中，部分区域可见不规则骨小梁形成。

实验组 4 周：骨小梁较 3 周时增粗，但是小梁内仍可见到残留的软骨细胞散布 (图 3)，基质中钙盐沉着增加。

3. 透射电镜观察

(1) 对照组　对照组 2 周：软骨细胞质内缺乏丰富的粗面内质网及线粒体，且细胞核中异染色质少，细胞周软骨基质中微纤维排列呈不规则团块状。

对照组 3 周：软骨细胞结构类同 2 周改变，仅在基质中见到微纤维数量增多，但仍排列成不规则团块状 (图 4)。

对照组 4 周：除软骨细胞外出现了少量前成骨细胞，未见成骨细胞。基质中微纤维较 3 周时排列规则。

(2) 实验组　实验组 2 周：与对照组相比较，出现大量软骨基质及软骨细胞，部分细胞退行性变，仅残留少许骨膜细胞，标志着骨折愈合进入纤维性骨痂后期，软骨细胞卵圆形，有较多突起。细胞质内有较多游离核糖体、轻度扩张的粗面内质网及线粒体，细胞核内常染色质增多，这些改变说明软骨细胞的蛋白生成功能处于旺盛状态。退变的软骨细胞膜大片脱落 (图 5)，残留的细胞膜有扇蛤样凹陷，细胞质内粗面内质网扩大成囊，并联成筛网状，表面核糖体脱失，囊泡内有大小不一的钙颗粒，有的颗粒位于缺损的细胞膜边缘，即将离开细胞。软骨基质中的微纤维可见圆形及不规则形的钙盐颗粒沉积，微纤维排列比较规则。

实验组 3 周：除残留退变的软骨细胞外，出现了前成骨细胞，此细胞类似于成纤维细胞，细胞质突起多且长，胞核大，卵圆形，核膜下异染色质聚集，细胞质内大量密集的轻度

扩张的粗面内质网，网内含有较原纤维前身的细小纤维。细胞周分布大量具有周期性横纹的胶原纤维。此种改变表明前成骨细胞功能处于旺盛状态（图 6），意味着骨折愈合进入了骨性骨痂阶段。

实验组 4 周：出现成骨细胞及骨细胞。成骨细胞卵圆形（图 7），核较大，核染色质靠边分布，核仁明显。细胞质内可见圆形线粒体及游离核糖体。细胞周胶原纤维细丝上有染色深的钙盐结晶沉积。骨细胞卵圆形，位于骨陷窝中，有细长的胞质突起伸入骨小管。细胞核大，异染色质增多，细胞质内可见扩张的线粒体及游离的核糖体。细胞周胶原纤维细丝上有钙盐结晶沉着构成骨板（图 8）。（图 1~ 8 见加页）

讨　　论

本实验通过骨痂的大体测量、光镜及电镜观察显示，加硒组兔骨折愈合速度快于未加硒组，尤在 2~ 4 周变化最明显。在光镜下，实验组与对照组 2 周的病理几乎相同，均见骨膜细胞增生，部分向软骨细胞分化；可是在联接骨痂处，电镜下实验组的软骨细胞无论从细胞器的改变看，还是从基质改变看均较对照组成熟。实验组 2~ 4 周内的软骨细胞、前成骨细胞及成骨细胞内充有丰富的粗面内质网及多聚核糖体，基质排列也相对成熟，与未加硒组形成鲜明对比。这种超微结构变化与朱天义等[4]在加硒后组织培养的心肌细胞质内超微结构改变一致，即粗面内质网及核糖体极为丰富。这些说明硒在骨折愈合中对细胞修复起重要作用，硒是通过对软骨细胞的蛋白合成起了独到的催化作用，才导致一系列骨折愈合程序加快。

Potruck 等[5]在 1973 年发现硒可能做为谷胱苷肽过氧化物酶的活动中心促进蛋白质的合成，加速细胞修复。硒增强机体免疫功能的机理可能是与增强了机体的谷胱苷肽过氧化物酶的活性有关。我们的实验结果提示硒可能有刺激软骨细胞的蛋白合成作用而导致一系列骨折愈合过程加快。

骨折愈合是机体一种特殊的再生修复过程。1965 年以前，人们认为骨折愈合过程中成骨细胞起主要和决定性作用[6]，现在认为除此之外，还需许多物质的参与，其中包括多种微量元素。通过本实验结果作者认为骨折愈合的基础是骨膜细胞的增生、转化，但软骨细胞功能活跃与否决定骨折愈合的速度。

参考文献

1. 吕德成，吴汝舟，姜长明，等．微量元素对家兔骨折愈合影响的实验研究．中华骨科杂志，1992，12（4）：282
2. 蓝文正，刘国栋，沙田，等．骨折愈合过程中微量元素含量的研究．中华骨科杂志，1989，9（3）：200
3. 柴本甫，汤雪明．实验性骨折愈合的超微结构研究．中华外科杂志，1979，17（5）：368
4. 朱天义，彭麟，李光芝，等．硒对体外培养小鼠心脏心肌缺血损伤的影响．中华医学杂志，1993，17（11）：649
5. Potruck JT，Ganther HE，Pope AL．Selenium biochemical role as component of glutathione peroxidase．Science，1973，179（4073）：588
6. 钟慈声，程关荣，陈细法．细胞和组织的超微结构．北京：人民卫生出版社．1984

（收稿：1997- 04- 21　修回：1997- 12- 20
再修回：1998- 04- 13）