论著

文章编号:1000-5404(2010)13-1456-03

重庆市巴南地区学龄前儿童维生素A营养状况与红细胞生成素水平的关系

刘永芳[1,2],龚 敏[1],陈 立[1],江 伟[1],刘友学[1],陈 洁[1],瞿 平[1],李廷玉[1] (400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院儿研所营养中心[1];400016 重庆,重庆医科大学公共卫生学院[2])

[摘要] 目的 了解重庆市巴南地区学龄前儿童的维生素A(vitamin A, VA)营养状况,全血中血红蛋白(hemoglobin, Hb)及红细胞生成素(erythropoietin, EPO)的水平,进一步探讨VA缺乏与贫血的相关机制。**方法** 采用分层与整群抽样相结合的方法,在重庆市巴南区鱼洞镇7所规模>200名的幼儿园中随机选取3所中的所有3~6岁符合纳入标准的349名学龄前儿童。采用反相高效液相色谱法(high-performance liquid chromatography, HPLC)测静脉血中血清VA浓度,化学发光免疫测定法测定EPO浓度,氰化高铁法测量Hb浓度,并分析相关性。**结果** 该地区学龄前儿童VA缺乏、边缘型VA缺乏及贫血发生率分别为1.72%、22.64%和22.64%;VA缺乏较VA正常儿童贫血的发生率有显著性差异($P<0.05$),VA缺乏儿童的贫血发生率是VA正常儿童的2.32倍。Hb水平与EPO浓度呈显著性负相关($P<0.01$)。贫血儿童较正常Hb水平儿童,EPO有显著差异($P<0.05$)。在贫血儿童中,低VA水平(vitamin A<1.05 μmol/L)儿童Hb浓度与EPO水平呈较强负相关($r=-0.46$,$P<0.05$);在总体学龄前儿童中,低VA水平较VA正常儿童Hb浓度与EPO水平有较强的负相关性($r=-0.23$,$r=-0.16$,$P<0.05$),Lg(EPO)与Hb回归方程斜率低VA较VA正常儿童增加0.000 2。**结论** 机体VA的营养水平影响Hb浓度对EPO的反馈性调节作用。

[关键词] 维生素A;贫血;血红蛋白;红细胞生成素;学龄前儿童

[中图法分类号] R153.2;R195;R556 **[文献标志码]** A

Correlation between vitamin A and erythropoietin levels in preschool children of Banan district of Chongqing

Liu Yongfang[1,2], Gong Min[1], Chen Li[1], Jiang Wei[1], Liu Youxue[1], Chen Jie[1], Qu Ping[1], Li Tingyu[1] ([1]Nutritional Research Center, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400014; [2]College of Public Health, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[Abstract] Objective To study the correlation of vitamin A (VA) with hemoglobin (Hb) and erythropoietin (EPO) levels in preschool children of Banan district of Chongqing, and the mechanism underlying the correlation between VA deficiency and anemia. **Methods** A total of 349 preschool children meeting the inclusion criteria were randomly recruited from 3 kindergartens in Banan district of Chongqing. Serum VA, EPO, and Hb levels were measured by high-performance liquid chromatography (HPLC), chemiluminescent immunoassay, and cyanmethemoglobin determination method, respectively, and their correlation was analyzed. **Results** The rate of VA deficiency, suspicious sub-clinical VA deficiency and anemia was 1.72%, 22.64%, and 22.64%, respectively, in preschool children of Banan district of Chongqing ($P<0.05$). The incidence of anemia was 2.32-fold higher in children with a lower VA level than in those with a normal VA level. The EPO level was significantly higher in children with anemia than in those without anemia ($P<0.05$). The Hb level was negatively correlated with the EPO level in children with anemia ($r=-0.46$, $P<0.05$). Log^{10} regression equation showed that the slope of VA increased by 0.000 2 compared with normal VA. **Conclusion** VA level can influence the feedback regulatory effect of Hb on EPO level.

[Key words] vitamin A; anemia; hemoglobin; erythropoietin; preschool children

Supported by the International Vit A Foundation of SIGHT AND LIFE (2007-2009). Corresponding author: LI Tingyu, Tel: 86-23-63630913, E-mail: tyli@vip.sina.com

维生素A缺乏(vitamin A deficiency, VAD)及贫血影响30%以上的世界人口,是全球性的公共卫生问题,育龄期妇女、婴幼儿及儿童均是易感人群[1]。维生素A(vitamin A, VA)是人体必需的微量营养素,对免疫系统、生长发育等均有重要作用[2,3]。最近研究还发现VA缺乏与贫血的发生存在相关关系,血清VA水平与血红蛋白(hemoglobin, Hb)呈显著正相关[4]。VA缺乏或不足的人群,补充VA可以提高Hb的浓

[基金项目] 瑞士SIGHT AND LIFE国际维生素A研究基金(2007-2009)

[通信作者] 李廷玉,电话:(023)63630913,E-mail: tyli@vip.sina.com

度,并显著降低贫血的发生率[5]。VA 引起贫血的机制之一是影响红细胞的生成,但 VA 影响红细胞生成的机制还不十分清楚。体外实验研究表明 VA 可以促进红细胞生成素(erythropoietin, EPO)的合成[6,7],但 VA 与 EPO 水平的关系人群研究少见。本研究拟通过调查重庆市巴南地区鱼洞镇 349 名 3 ~ 6 岁儿童的 VA、Hb 及 EPO 的水平,探讨 VA 改善贫血的机制。

1 资料与方法

1.1 对象

2008 年 10 月,采用分层与整群抽样相结合的方法,在重庆市巴南区鱼洞镇 7 所规模 >200 名的幼儿园中随机抽取 3 所中的所有 3 ~ 6 岁符合纳入标准的 349 名学龄前儿童。其中男童 186 名,女童 163 名,年龄(4.3 ± 0.9)岁。纳入标准:急性反应蛋白(CRP) <5 mg/L,无慢性传染性疾病,如肺结核、消化性溃疡和慢性腹泻等的健康儿童。纳入儿童均由父母或其监护人签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 抽取儿童空腹血 3 ml,其中 100 μl 装入 EDTA 预处理的抗凝采血管,以测定血红蛋白浓度,其余血标本装入非抗凝采血管。血标本 37 ℃水浴放置 15 min 后,离心 3 000 r/min ×5 min,吸取血清。血清置于 -20 ℃冰箱中保存待测。

1.2.2 血清 VA 测定 采用反相高效液相色谱法(HPLC),检测仪器为 WATERS HPLC。以美国第二次全国健康营养调查(NHANES Ⅱ)所用的标准为参考值,将血清 VA 水平 <0.70 μmol/L(20 μg/dl)定义为 VA 缺乏(VAD),血清 VA 介于 0.7 ~ 1.05 μmol/L(20 ~ 30 μg/dl)定义为边缘型 VAD。VAD 和 MVAD 统称维生素 A 不足(insufficient vitamin A, IVA)。血清 VA 水平≥1.05 μmol/L(30 μg/dl)定义为 VA 正常(normal vitamin A, NVA)。

1.2.3 血红蛋白(hemoglobin, Hb)测定 采用氰化高铁法测定全血中 Hb 含量。按照 2001 年 WHO、UNICEF 制定的诊断贫血的标准:6 ~ 59 个月儿童 Hb < 110 g/L 及 5 ~ 11 岁 Hb < 115 g/L 定义为贫血。其中 90 g/L≤Hb < 110 g/L 为轻度贫血,60 g/L≤Hb < 90 g/L 为中度贫血,Hb < 60 g/L 为重度贫血。

1.2.4 EPO 测定 采用化学发光免疫测定法。试剂盒由德国 SIEMENS 公司提供(YZB/USA 918-40),检测采用 IMMULITE 1000 全自动分析仪。

1.2.5 CRP 测定 采用胶体金法,试剂盒由上海奥普生物医药有限公司提供(CRP-DOT, YZB 3424-40),测量仪器为金标斑点定量读数仪 Uppergold U2。

1.3 统计学处理

采用 SAS 8.1 统计软件,组间采用 t 检验或方差分析,计数资料采用 χ^2 检验,变量间采用线性相关分析。

2 结果

2.1 VAD、MVAD 和贫血的发生情况

该地区学龄前儿童的 VA 和 Hb 水平分别为(1.24 ± 0.26)μmol/L 和(117 ± 10)g/L,EPO 平均浓度为 9.19 mU/ml(P_{25} ~ P_{75} = 7.53 ~ 11.4)。VAD 和 MVAD 的发生率分别为 1.72% 和 22.64%;贫血、轻度贫血和中度贫血的发生率分别为 22.64%、19.2% 和 3.44%,未发现重度贫血儿童。该地区学龄前儿童 VA 水平与 Hb 浓度呈显著性正相关(r = 0.12, P = 0.02)。贫血与 Hb 水平正常儿童 IVA 检出率分别为 27.85% 和 23.33%,差别无显著性(χ^2 = 0.68, P > 0.05,)。由表 1 可见,VAD 较 NVA 儿童贫血的发生率有显著性差异(χ^2 = 2.8, P = 0.02),VAD 儿童贫血发生率是 NVA 组的 2.32 倍。VAD 儿童 Hb 水平显著低于 NVA(t = 2.15, P < 0.05)。

表 1 不同血清 VA 营养水平的儿童贫血情况

血清 VA 水平(μmol/L)	n	贫血[例(%)]	Hb(g/L, $\bar{x} \pm s$)
≥1.05(NVA)	264	57(21.59)	118 ± 9
0.7 ~ 1.05(MVAD)	79	19(24.05)	117 ± 10
<0.7(VAD)	6	3(50.00)[a]	111 ± 6[a]

a: P < 0.05, 与 NVA 比较

2.2 VA 与 Hb、EPO 的关系

校正学龄前儿童的年龄和性别后分析贫血、Hb 水平正常及总体学龄前儿童,显示各组 EPO 与 Hb 浓度均呈显著性负相关(P < 0.01, P < 0.05);贫血较 Hb 水平正常儿童,EPO 浓度显著升高(t = 2.32, P = 0.02)。由表 2 可见,在 IVA 儿童中,贫血儿童 EPO 水平较 Hb 水平正常儿童高,但差异不明显(P = 0.07);在 NVA 儿童中,贫血较 Hb 水平正常儿童 EPO 浓度显著升高(t = 2.12, P = 0.03)。在贫血及总体学龄前儿童中,IVA 儿童 EPO 水平均较 NVA 高,但无统计学意义(P > 0.05)。在贫血儿童中,IVA 儿童 EPO 与 Hb 相关系数为 r = -0.46 (P < 0.05),直线回归方程为 $\text{Log}^{10}(\text{EPO}) = 3.313\,9 - 0.022\,1 \times \text{Hb}$;NVA 儿童 EPO 与 Hb 未见明显相关性(P > 0.05)。在总体学龄前儿童中,IVA 儿童 EPO 与 Hb 相关系数为 r = -0.23 (P = 0.01),直线回归方程为 $\text{Log}^{10}(\text{EPO}) = 1.375\,8 - 0.003\,4 \times \text{Hb}$;NVA 儿童 EPO 与 Hb 相关系数为 r = -0.16(P = 0.03),直线回归方程为 $\log^{10}(\text{EPO}) = 1.375\,3 - 0.003\,6 \times \text{Hb}$;IVA 儿童 Log^{10}(EPO)与 Hb 的线性回归方程斜率较 NVA 增加了 0.000 2。

表 2 贫血与 Hb 水平正常儿童血清 VA 水平的比较(μmol/L, $\bar{x} \pm s$)

血清 EPO 水平	n	NVA(VA≥1.05)	IVA(VA<1.05)
贫血	79	10.99 ± 5.24[a]	11.16 ± 5.01
Hb 水平正常	270	9.34 ± 3.58	9.66 ± 5.25

a: P < 0.05,与 Hb 水平正常儿童比较

3 讨论

本研究通过测定重庆市巴南地区鱼洞镇 349 名 3 ~ 6 岁儿童的 VA、Hb 及 EPO 的水平,发现该地区学龄前儿童典型的 VAD 及中、重度贫血已不多见,但 MVAD 和轻度贫血发病率仍较高;VAD 较 NVA 儿童 Hb 浓度显著降低,贫血的发生率明显增高;贫血儿童与 Hb 水平正常儿童比较,前者的 VA 平均水平明显低于后者,VAD 及 MVAD 的检出率前者均高于后者:提示 VA 对红细胞的生成具有相关关系。上述结果与林良明等[8] 2003 年对一项中国 6 岁以下儿童的大样本 VA 与贫血的关系分析结论及本课题组的前期研究结果一致[9]。

现代造血理论认为,红细胞的发生是指多能干细胞在特定环境和一些因素作用下,增殖分化为成熟红

细胞的过程。这个过程分为以下几个池:多能造血干细胞(CFU-S),造血祖细胞(BFU-E、CFU-E),形态上可识别的造血前体细胞和外周血成熟细胞。CFU-S具有高度自我更新能力,并有进一步分化为各系造血祖细胞的潜能;造血细胞已失去自我更新和多分化的能力,其细胞表面出现了多造血调控因子[如集落刺激因子(CSF)、红细胞生成素(EPO)等]发生反应的受体,现认为机体的造血调控主要在此阶段进行[10]。VA影响造血的部分机制为:①通过影响BFU-E的增值分化,影响红细胞的生成[11];②通过促进红细胞生成素(EPO)的生成,刺激红细胞的生成。EPO是幼稚红细胞最初分化阶段必须的造血因子,血清EPO水平反应机体红细胞生成的能力,是造血功能指标之一。EPO通过位于骨髓红系祖细胞表面的特异性EPO受体介导而发挥造血作用[12]。因为肾管周细胞生成EPO受外周血中Hb浓度的影响,EPO浓度改变量、Log^{10}(EPO)与Hb回归线斜率的变化是衡量EPO水平变化的两个非常重要的指标[13]。在本研究中,EPO与Hb浓度呈显著性负相关关系,贫血儿童EPO浓度显著高于Hb水平正常儿童,与目前的当体内Hb水平降低,反馈调节EPO代偿性增高,促使Hb的合成的结论一致。在贫血儿童中,IVA儿童EPO与Hb有较强相关性($r = -0.46$),其EPO浓度数值较NVA高。在总体学龄前儿童中,IVA较NVA儿童EPO与Hb的相关性更强($r = -0.23$ 和 $r = -0.16$);IVA儿童Log^{10}(EPO)与Hb的回归方程斜率较NVA增加。根据VA体内活性代谢产物可以直接刺激红细胞的生成的机制[11];及在体外及动物实验研究中,VA可以促进EPO的生成,体内EPO合成受机体VA水平的影响[6]。EPO基因的增强子含有可以被视黄酸调控的类固醇效应元件DR-2的高度同源序列,视黄酸可诱导该基因的产生[14]。VA调节EPO生成受造血微环境中红细胞携氧能力的影响[15,16],即VA调节EPO的生成能力可能受机体Hb水平的影响。在贫血状态时,正常VA水平下,相比于VA刺激EPO的合成,可能VA直接介导调节Hb的生成占主导作用,机体正常VA水平刺激生成的EPO及直接介导调节提升了的Hb水平,下调了EPO对低Hb反应的灵敏度,此时EPO对低Hb浓度的反应较迟钝。贫血儿童中并发VA缺乏,VA缺乏还可造成幼红细胞增殖障碍[10],抑制Hb分子的形成过程,进一步加重贫血,此时由于VA直接介导调节EPO和Hb生成作用减弱,EPO对低Hb浓度反应较灵敏,促使肾管周细胞生成EPO的量增加,反馈调节Hb的合成。

综上所述,通过本项调查发现重庆市巴南地区学龄前儿童的MVAD和轻度贫血发病率仍较高,要引起重视。机体VA的营养水平影响Hb浓度对EPO的反馈性调节作用,正常机体VA水平下,EPO对低Hb浓度的反应较迟钝。下一步我们将进行动物及人群VA补充实验,进一步分析论证VA影响Hb与EPO的反馈性调节作用而改善贫血的机制。

参考文献:

[1] West K P Jr. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age[J]. J Nutr, 2002, 132(9 Suppl): 2857S-2866S.

[2] 刘星, 李廷玉, 张德文, 等. 孕期和生后维生素A缺乏及干预对幼鼠胫骨生长的影响[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(24): 2437-2439.

[3] 江伟, 房春晓, 瞿平, 等. 低剂量维生素A及多种微量营养素佐治新生儿肺炎随机双盲对照研究[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(5): 450-453.

[4] Semba R D, Bloem M W. The anemia of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis[J]. Eur J Clin Nutr, 2002, 56(4): 271-281.

[5] Jimenez C, Leets I, Puche R, *et al*. A single dose of vitamin A improves haemoglobin concentration, retinol status and phagocytic function of neutrophils in preschool children[J]. Br J Nutr, 2010, 103(6): 798-802.

[6] Evans T. Regulation of hematopoiesis by retinoid signaling[J]. Exp Hematol, 2005, 33(9): 1055-1061.

[7] Neumcke I, Schneider B, Fandrey J, *et al*. Effects of pro-and antioxidative compounds on renal production of erythropoietin[J]. Endocrinology, 1999, 140(2): 641-645.

[8] 林良明, 宋小芳, 刘玉琳, 等. 中国儿童维生素A缺乏与贫血关系分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2003, 11(4): 242-244.

[9] Chen K, Li T Y, Chen L, *et al*. Effects of vitamin A, vitamin A plus iron and multiple micronutrient-fortified seasoning powder on preschool children in a suburb of Chongqing, China[J]. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2008, 54(6): 440-447.

[10] 李廷玉, 王亚平, 黎海芪, 等. 维生素A缺乏对大鼠红系祖细胞增殖分化的影响[J]. 营养学报, 1995, 17(1): 1-6.

[11] Rusten L S, Dybedal I, Blomhoff H K, *et al*. The RAR-RXR as well as the RXR-RXR pathway is involved in signaling growth inhibition of human $CD34^+$ erythroid progenitor cells[J]. Blood, 1996, 87(5): 1728-1736.

[12] Fisher J W. Erythropoietin: physiology and pharmacology update[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2003, 228(1): 1-14.

[13] Zimmermann M B, Biebinger R, Rohner F, *et al*. Vitamin A supplementation in children with poor vitamin A and iron status increases erythropoietin and hemoglobin concentrations without changing total body iron[J]. Am J Clin Nutr, 2006, 84(3): 580-586.

[14] Makita T, Hernandez-Hoyos G, Chen T H, *et al*. A developmental transition in definitive erythropoiesis: erythropoietin expression is sequentially regulated by retinoic acid receptors and HNF4[J]. Genes Dev, 2001, 15(7): 889-901.

[15] Ebert B L, Bunn H F. Regulation of the erythropoietin gene[J]. Blood, 1999, 94(6): 1864-1877.

[16] Kambe T, Tada-Kambe J, Kuge Y, *et al*. Retinoic acid stimulates erythropoietin gene transcription in embryonal carcinoma cells through the direct repeat of a steroid/thyroid hormone receptor response element half-site in the hypoxia-response enhancer[J]. Blood, 2000, 96(9): 3265-3271.

(**收稿**:2009-11-29;**修回**:2009-12-30)

(编辑 龙 亮)