维普资讯 http://www.cqvip.com

141-145

第24卷 第2期 重庆医科大学学报 Vol.24 No.2

1999 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1999

维生素D和钙缺乏对中鸡骨骼发育的影响

儿科学院儿保科 王松艳* 黎海芪 杨锡强 瞿 平

儿科学院检验科 朱 军

提 要 本实验通过建立中鸡VitD缺乏和钙缺乏动物模型，测定其骨密度、骨矿含量、骨含钙量、骨宽、骨重、骨长及血生化，比较两种情况下骨生长情况，分析两种营养素对骨骼发育的影响，初步探讨其病理机制。结果示单纯钙缺乏、VitD缺乏组其骨密度、骨矿含量、骨含钙量、骨宽、骨长、骨重均低于正常组，以重度钙缺乏缺乏组降低尤为明显，各组软骨细胞排列无明显紊乱。结果表明VitD缺乏、钙缺乏均引起了中鸡骨骼发育障碍，以重度钙缺乏组最明显。这与我们研究的VitD缺乏、钙缺乏时雏鸡骨骼发育障碍的情况不同，提示骨发育不同阶段对钙缺乏和VitD缺乏的敏感性可能不同。

关键词 维生素D；钙；骨密度；软骨细胞；骨矿含量；碱性磷酸酶

中图分类号 R153.2

钙和VitD是影响骨发育的两个重要营养素，VitD缺乏引起婴幼儿佝偻病是发展中国家婴幼儿常见的疾病，近年钙营养对骨发育的影响越来越多的受到重视。VitD缺乏通过影响血钙、磷浓度，钙、磷代谢紊乱，使骨矿化过程障碍。单纯钙缺乏亦引起了血钙浓度降低使骨矿化障碍，但两者缺乏引起骨发育障碍的机制是否完全一致目前尚缺乏深入研究。本研究通过建立钙缺乏、VitD缺乏的动物模型，比较了两种情况下骨骼发育、软骨生长，初步探讨VitD缺乏和钙缺乏时长骨发育障碍的机制。

1 材料和方法

1.1 对象、分组及模型建立

1.1.1 对象 选择肉鸡种鸡为实验研究对象，肉鸡种鸡由重庆市养鸡场提供。

1.1.2 分组及喂养方法 将出壳后正常饲料喂养7周的26只雄性小鸡随机分为4组(平均体重264.4g)：A组为正常组6只；B组为轻度低钙组(饲料钙含量为正常量的2/3)6只；C组为重度低钙组(饲料钙含量为正常量的1/3)7只，D组为单纯VitD缺乏组(饲料中钙含量正常、缺VitD且避光喂养)7只，分别用配制饲料喂养5周，喂养中以A组每日每只摄入量为标准，控制B、C、D组0每只中鸡饲料摄入量与A组一致。每周称体重一次。自由进水。

1.1.3 饲料

表1 鸡饲料配方(含量/kg饲料)

	A组	B组	C组	D组
基础配方				
玉米粉(g)	500	500	500	500
麦 麸(g)	250	250	250	250
豆花生饼粉(g)	150	150	150	150
鱼 粉(g)	50	50	50	50
食 盐(g)	3	3	3	3
胆 碱(g)	1	1	1	1
能 量				
添加配方	3100	3100	3100	3100
磷酸氢钙(g)	20	10		20
VitD3(IU)	400	400	400	
VitA(IU)	2700	2700	2700	2700
磷酸二氢钾(g)		0.75	1.5	
维生素B1(mg)	7.2	7.2	7.2	7.2
维生素B2(mg)	1.8	1.8	1.8	1.8

基础饲料含钙量为需要量的1/3，其它微量元素经检

* 女，1964－06出生，讲师

维普资讯 http://www.cqvip.com

测达到鸡饲料供给标准[1]，各组分别混合磷酸氢钙、VitD3、VitA、VitB1、VitB2、磷酸二氢钾。

1.1.4 实验内容 实验末分别测定各组胫骨骨密度，骨矿含量、骨宽，然后处死，分别测其右股骨、胫骨的重量、长度，血标本测血总钙和游离钙、磷、碱性磷酸酶，25(OH)D3。取胫骨干骺端作石蜡切片，H－E染色观察其形态变化。

1.2 实验方法

1.2.1 血25(OH)VitD3测定 25(OH)VitD3测定：采用反相高效液相色谱法[waters高效液相色谱系统，UV－440型检测器；waters－746数据处理器，HBondapak C18色谱柱 (4μm，3.9×150mm)，25(OH)D3标准品 (sigma.chem.co)。]

1.2.2 股骨、胫骨长、重的测定 处死动物后，取股骨、胫骨，分别称取重量，用游标长尺测长度(精确到0.1mm)，计算股骨含钙指数(股骨总钙/股骨长度)。

1.2.3 血总钙、磷、碱性磷酸酶测定，用常规生化方法。离子钙测定用离子电极测量技术。

1.2.4 骨密度、骨矿含量、骨宽测定 用我院BH－6012双维骨密度测定仪分别测定各鸡胫骨中段骨密度、骨矿含量和骨宽。

1.2.5 干骺端生长板软骨形态学观察 取右侧胫骨近端干骺端，用10%福尔马林固定，经梯度酒精系列脱水，常规石蜡包埋，切片，H－E染色，显微镜观察组织学变化。

1.3 数据的统计学处理 所有实验数据采用华西医科大学的医学统计程序计算机处理，实验数据先进行方差齐性分析，然后再进行各组间两两比较；相关关系用直线回归分析。$\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 血清25(OH)VitD3的测定结果

VitD缺乏中鸡血清25(OH)VitD3明显低于其它三组，差异有显著性。B、C组与A组间无显著差异。

表2 中鸡25(OH)VitD3血浆浓度(nmol/L)

A组	B组	C组	D组
33.47	31.75	29.24	14.82
±	±11.53	±8.27	±5.15**△

与A组相比 *$P<0.05$ 与B组相比 #$P<0.05$ 与C组相比 △$P<0.05$

2.2 一般情况 同龄各组鸡体重增长速度较一致，统计检验差异无显著性。见表3、图1。在分组喂养后2～3周，D组开始出现激惹现象，且鸡毛稀疏，

表3 中鸡体重增长情况(g)

实验时间	A组	B组	C组	D组
0周	270.43±47.84	259.14±30.96	269.00±50.24	259.13±49.30
1周	313.00±58.75	299.86±49.97	308.38±56.91	296.12±54.18
2周	357.75±71.84	333.43±43.91	360.75±68.28	356.00±63.91
3周	420.57±91.21	398.71±36.74	411.00±81.26	399.87±76.57
4周	497.14±93.09	491.43±59.36	498.87±92.21	513.75±96.21
5周	618.29±106.91	598.6±100.68	610.62±104.36	603.12±106.80

表4 中鸡各组血Ca、P、ALP、离子钙水平

	离子钙(mmol/L)	总钙(mmol/L)	磷(mmol/L)	碱性磷酸酶(u/dL)
A	0.82±0.07	2.04±0.13	2.38±0.29	331.33±57.50
B	0.74±0.06	1.87±0.22*	2.37±0.46	419.92±218.99
C	0.72±0.07	1.79±0.22*	2.50±0.45	513.06±143.44
D	0.74±0.06	1.92±0.18	1.90±0.25*	577.79±155.37*

与A组相比 *$P<0.05$ **$P<0.01$

维普资讯 http://www.cqvip.com

表5 中鸡各组骨密度、骨矿含量、骨矿测定结果

	骨密度(g/cm²)	骨矿含量(g/cm)	骨宽(cm)
A	0.81±0.07(100%)	1.52±0.38(100%)	1.86±0.37
B	0.75±0.07(92.6%)	1.17±0.16(76.9%)**	1.57±0.15
C	0.71±0.13(87.7%)	0.92±0.47(60%)**	1.46±0.24
D	0.71±0.10(87.7%)*	1.14±0.34(75%)*	1.56±0.26

与A组相比 $**P<0.01$ $*P<0.05$

缺乏光泽。

2.3 VitD缺乏、钙缺乏时中鸡血生化改变

从表4可见单纯钙缺乏组中鸡血总钙、离子钙降低、ALP增加，其中以严重钙缺乏组(C组)显著，缺VitD组(D组)血总钙和离子钙的降低不如缺钙组明显，但磷降低、ALP升高明显。

2.4 胫骨骨密度、骨矿含量、骨宽

中鸡D组骨密度及骨矿含量与A组均有显著性差异，B、C组骨密度亦降低，但与A组差异无显著;B、C组与A组比较骨矿含量差异显著(表5)。

2.5 各组长骨发育情况

钙缺乏、VitD缺乏中鸡长骨发育均较正常组差，但以严重钙缺乏(C)组尤为明显，差异有显著性。

鸡钙磷乘积与碱性磷酸酶呈直线相关关系，$r=0.57$，$P<0.01$。

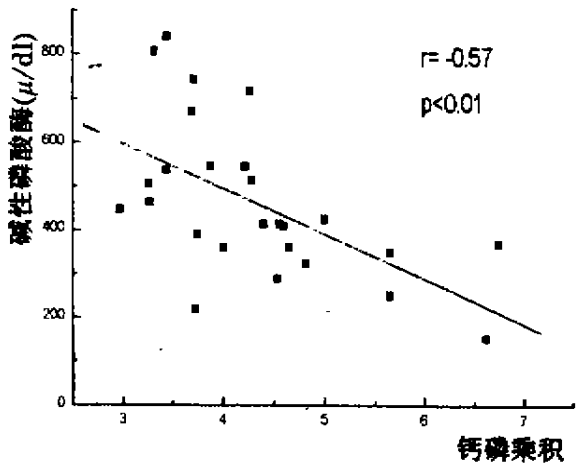


图1 钙磷乘积与碱性磷酸酶相关关系

表6 中鸡各组长骨发育情况

	骨密度(g/cm²)	骨矿含量(g/cm)	骨宽(cm)
A	0.81±0.07(100%)	1.52±0.38(100%)	1.86±0.37
B	0.75±0.07(92.6%)	1.17±0.16(76.9%)**	1.57±0.15
C	0.71±0.13(87.7%)	0.92±0.47(60%)**	1.46±0.24
D	0.71±0.10(87.7%)*	1.14±0.34(75%)	1.56±0.26

与A组相比 $**P<0.01$ $*P<0.05$

2.6 钙缺乏、VitD缺乏时鸡长骨干骺端生长板软骨的形态学变化

钙缺乏、维生素D缺乏对中鸡和雏鸡软骨细胞的影响不完全相同。光镜下，中鸡B、C、D组有增殖层和肥大层的增厚、以重度钙缺乏组增厚明显，各组均未见软骨细胞排列紊乱。而雏鸡以维生素D缺乏组增厚明显，可见软骨细胞层结构排列紊乱。见图2～5。

3 讨论

3.1 动物的选择和模型建立

钙和VitD缺乏均是发展中国家引起儿童生长迟缓的重要原因。由于婴幼儿期骨生长迅速，一旦饮食中钙不足，或各种原因引起VitD缺乏，将导致骨生长迟缓。鸡骨的发育与人非常类似，其雏鸡阶段(0.8周，相当于人婴幼儿期)和中鸡阶段(8周至产卵前，相当于人儿童到青春期)骨生长非常迅速，各种生理和病理过程的发生发展与人相似，故许多有关骨生理病理的研究常以鸡作为动物模型。肉鸡种鸡是一种生长快、品种纯的鸡种，骨骼生长易受钙或VitD的影响，动物模型易于建立。我们用饲料中缺钙和缺VitD加避光喂养的方法，造成了缺钙组血清总钙、离子钙浓度降低，骨密度、骨矿含量等降低;VitD缺乏组血清25(OH)D3显著低于其它各组及明显的骨骼发育异常。表明动物模型的建立是成功的。

3.2 单纯钙缺乏对骨骼发育的影响

骨正常生长是通过长骨干骺端生长板软骨生长、基质形成和软骨钙化三者良好的平衡产生的[2]。正常骨形成表面的钙化需要以下的条件:①骨细胞活性正常;②软骨发育正常;③骨基质结构

维普资讯 http://www.cqvip.com



图2 正常中鸡生长板软骨细胞层结构 100

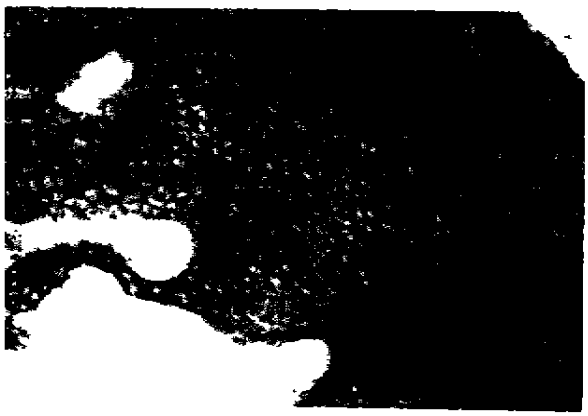


图3 中鸡钙缺乏(重度)组生长板软骨细胞层结构，软骨细胞层增厚明显，无结构紊乱×100

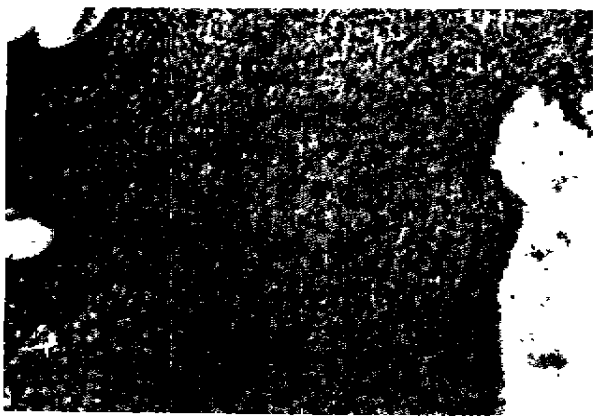


图4 中鸡VitD缺乏组生长板软骨细胞层结构，软骨细胞层增厚明显，无结构紊乱×100

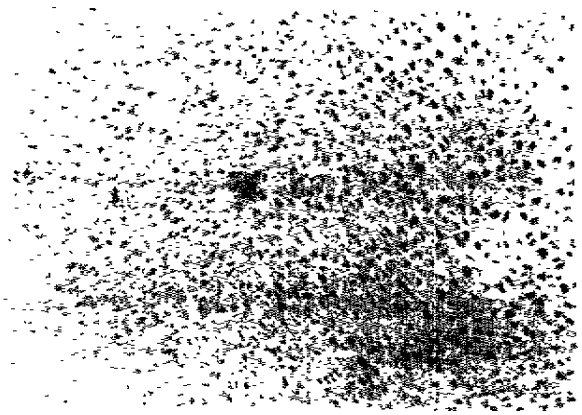


图5 雏鸡VitD缺乏组生长板软骨细胞层可见明显增厚，软骨细胞结构排列紊乱×100

正常、合成速度正常;④细胞外液能供应充足的矿物盐离子、主要是钙和无机磷;⑤矿化局部环境的酸碱度适宜。钙缺乏由于肠道摄入钙下降，细胞外液钙减少、影响了骨矿化过程，导致矿化障碍、软骨堆积，生长板增厚，同时由于甲状旁腺激素代偿性分泌增加，骨脱钙，加重骨质疏松。我们的实验显示单纯钙缺乏主要引起了骨质疏松为主的病理改变，如骨密度、骨矿含量的降低，而生长板软骨细胞层的病理改变较轻。随着钙缺乏的加重、骨质疏松程度加重。比较钙缺乏、VitD缺乏时0.7周雏鸡(中华儿科杂志待发表)和中鸡的骨骼改变，结果示中鸡对钙缺乏更为敏感，单纯钙缺乏引起的中鸡骨质疏松甚至重于VitD缺乏引起的改变，这与断奶期大鼠低钙研究结果一致[3]。提示在骨发育的不同时期，骨对VitD、钙营养素的敏感性可能不同，即骨发育早期对VitD营养敏感、而骨发育第二高峰期则可能对钙营养更敏感。

血碱性磷酸酶主要来源于骨和肝脏。在骨中碱性磷酸酶主要由成骨细胞产生。在终末肥大软骨细胞带含有高水平的碱性磷酸酶(ALP)，骨矿化

维普资讯 http://www.cqvip.com

障碍导致血ALP升高[2]。本实验表明缺钙和VitD缺乏均导致了碱性磷酸酶升高，证实均存在骨矿化的障碍。钙磷乘积与ALP呈直线相关，表明血钙、磷浓度降低是骨矿化障碍的重要原因。

3.4 VitD缺乏对骨骼发育的影响：

维生素D活性代谢产物调节Ca、P在骨的沉积，同时也直接刺激骨生长。VitD缺乏时，其活性代谢产物减少，血清钙、磷不足，使软骨基质钙化不良，软骨组织堆积，骨重吸收增加使骨质疏松，骨生长迟缓。

比较中鸡VitD缺乏、钙缺乏时低钙组(B、C)、与VitD缺乏组其骨密度、骨矿含量、骨宽、股骨重、长、胫骨重、长均较正常组低，但以严重钙缺乏组更为显著。表明钙缺乏对中鸡骨生长的影响重于单纯VitD缺乏。这与维生素D缺乏、钙缺乏雏鸡骨生长异常的情况不同，可能与骨发育不同时期对VitD和钙的敏感性不同有关，值得进一步研究。

参 考 文 献

1.李福新，主编.动物配合饲料大全.中国海洋大学出版社 1994
2.JS Price, et al. Eur J Clin Nutr 1994;48(suppl 1):S131
3.黎海芪，等.中华儿童保健杂志 1996;4(S):35

(收稿日期 1998－09－25)

Bone growth disorder in vitamin D deficient, calcium deficient elder chicken

Wang Songyan, et al
Department of child health, college of pediatrics

This study is to observe the different mechanisms of bone growth disorders caused by vitamin D and calcium deficiency. Our results showed that the bone densities, bone mineral and calcium contents, as well as bone weights, lengths and widths were decreased ,while serum alkaline phosphatase levels and growth plate thickness increased in both calcium deficient and vitamin D deficient chickens, bone disorder are more serious in calcium. deficient diet group (C group). These studies demonstrated that calcium deficiency ant Vitamin D deficiency may induce dismineralisation and osteoporsis in long bone. The seriousness of bore disorder are different in elder chickens and young chickens. VitD deficiency can not canse chondrocytes cloumn disorder in elder chickens, but it do in young chickens. Maybe the mechanisms of bone growth disorder caused by vitamin D, calcium deficiency are different in different age of chickens

KEY WORDS VitD; Calcium; Bone mineral density; Chondrocytes; Bone mineral content; Alkaline phosphatase