维普资讯 http://www.cqvip.com

胎儿期与出生后缺铜对幼鼠骨骼发育的影响

儿科医院 儿保教研室 黎海芪 罗素芬 郑惠连 尤静生* 周彩菊**

提 要 通过观察幼鼠在胎儿期以及生后45日缺铜骨骼x线和病理组织的变化，发现缺铜幼鼠45日日龄体重只有对照组的1/3($P<0.01$)；血清铜水平显著降低($P<0.01$)。x线摄片显示长骨骨质疏松，皮质变薄，骺板消失；与之相应的病理组织改变为骺板软骨细胞各层细胞变薄，提示软骨内成骨障碍、生长阻滞。补铜治疗15日，幼鼠体重、血生化、骨骼均呈迅速恢复过程

关键词 铜缺乏；软板；骨皮质；骨骺软骨细胞

中图分类号 R591.1、R684

铜系人体内必需微量元素之一。远在1847年Harless已指出铜在体内有许多重要的生物学作用。人体缺铜或含铜过多均可引起体内一系列生化紊乱，生理功能障碍，多种病理变化及疾病。这些异常大多数发生在幼儿及儿童时期，直接影响生长、发育与健康。

近年来人们逐渐认识到微量元素在骨骼发育的作用。Baxter（1951年）和ODell（1981年）已报告缺铜影响骨骼生长(Osteogenesis)[1]。铜作为对正常生长，发育的必需营养素的重要性已在许多动物实验和人类中得以证实，特别是骨骼的异常在胎儿和生后的影响是显著的。妊娠鼠缺铜产生广泛的骨骼的先天异常的表现与胎仔骨成熟不足相似。目前较多的报告多为婴儿缺铜的骨骼X线改变，很少有病理观察结果，更少二者结果的报道。

本文建立幼鼠在胎仔期与后铜摄入不足的动物模型，显示幼鼠的骨骼放射线与病理的变化；并观察铜治疗对骨骼生长发育的作用。

材料与方法

1. 实验动物与分组

纯种Wistar健康成熟雌鼠，3～4月龄，体重200～290g9只；与同种健康成熟雄鼠分笼交配。经阴道涂片确定受孕日期。从受孕第一日始随机分实验缺铜组与对照组。所有动物均分笼饲养于塑料笼内，室温下喂养，任其自由进食与饮水。

2. 饲料与饮水

两组动物饲料均按本实验室方法配制，使基本饲料含铜量<1ppm。其蛋白质、热卡、脂肪、维生素等营养素均满足大鼠生理需要[2]。

实验缺铜组动物饮用去离子三蒸馏水，其含铜量为0.00ppm；对照组动物饮用水用硫酸铜的去离子三蒸馏水，使含铜量达18ppm/L。

实验所用器皿，器械均严格去铜处理。

3. 实验过程

实验组与对照组动物自受精第一日至整个孕期（21～22日）分别饲以缺铜基础饲料与水和缺铜基础饲料与含铜水；产仔后各组均调整幼鼠数，使每

*本院放射科
**本院病理科

维普资讯 http://www.cqvip.com

只母鼠哺乳幼鼠十只左右。哺乳30日时处死所有母鼠。1/3缺铜仔鼠断乳后补铜为治疗组。余下缺铜幼鼠继续缺铜至实验末(第45日日龄)。实验结束时分别取各组血标本送检血清铜；双后肢长骨以20%福尔马林浸泡，留备骨骼x线摄片与病理切片处理。

4. 方法

铜含量测定：火焰原子吸收光谱法(AAs)，日立180～80型偏光2AA原子吸收分光光度计。

血清标本以5%丙三醇稀释后送检；饲料标本在600℃温度下干灰化，然后以硝酸高氯酸湿法消化制成溶液送检。

骨骼X线摄片：取45日龄幼鼠双后肢长骨，采用无增感屏，30kv，80mAs拍摄(日本岛津XHD150 B-10型X线摄片机)。

骨骼病理切片处理：幼鼠骨骼均以1%硝酸浸泡脱钙后切片，HE染色。

统计学处理 各指标三组间用单因素方差分析；各组间两两比较用q检验；各指标两组间比较用t检验，显著性水平($\alpha=0.05$)。

结 果

1. 幼鼠发育状况

实验前两组雌鼠基础生理状况，如月龄、体重，以及血清铜浓度无显著性差别(表Ⅰ)。幼鼠出生体重两组相似；实验末(45日龄)缺铜幼鼠体重仅为对照组同龄幼鼠的1/3($P<0.01$)；血清铜水平显著低于对照组(表Ⅱ)。

缺铜幼鼠在竖耳、出牙、睁眼等发育过程与对照组相似，但30日龄后逐渐表现较明显的进行性加重的临床症状，如皮毛稀少、无光泽、进食少、易激惹、步态不稳等。一只幼鼠于38日龄死亡。

治疗组幼鼠仅饮以含铜水15日，其体重与血清铜浓度在实验末时已达对照组水平(表Ⅱ，Ⅲ)($P>0.05$)。

表1 两组雌鼠体重与血清铜水平

	体重(g)		血清铜(ppm)	
	实验前	哺乳期末	实验前	哺乳期末
缺铜组(6)	261.3±31.0	223.0±26.5	1.94±0.6	0.04±0.03**
对照组(5)	244.4±22.1	223.3±14.7	1.58±0.8	1.65±0.5

括号内为N；表内数字为$\bar{X}\pm SD$，**$p<0.01$

表2 幼鼠体重比较

	出生体重(g)	45日龄体重(g)
缺铜组	5.95±1.2(35)	49.00±17.0(11)**
治疗组	—	131.82±13.5(11)
对照组	5.97±0.6(47)	138.20±13.4(10)

括号内为N，**$p<0.01$

表3 45日龄幼鼠血清铜水平

	动物数	血清铜(ppm)
缺铜组	9	0.05±0.57**
治疗组	10	0.93±0.18
对照组	9	0.96±0.25

**$p<0.01$

维普资讯 http://www.cqvip.com

2. 幼鼠骨骼变化

1) X线摄片(图1,2,3)

与对照组比较，图1显示实验缺铜组幼鼠骨骼细小，骨质普遍稀疏，骨皮质变薄，骨骺板变薄或消失。治疗组幼鼠骨骼与对照组几乎无明显异常。

2) 病理观察(图4,5,6)

光镜下45日对照组幼鼠长骨骺端骺板，从骨骺到骨干间软骨分三带：软骨静止带为幼稚软骨细胞，约3～4层：增生带，特征为垂直状软骨细胞约3～5层；肥大带，软骨细胞扩大为空泡状，约4～5层(图4)。

缺铜幼鼠骺板软骨变薄明显，各层变化相似。这与X线所见符合(图5)。

治疗组幼鼠骺板软骨组织增厚，各层均显示恢复过程，尤以肥大细胞空泡状层增厚明显，但排列较乱(图6)。

讨 论

近年来人们增加了微量元素对骨骼发育作用的研究的兴趣。动物实验发现微量元素可致骨生成障碍和骨骼的畸形。Leek观察猕猴在临界性锌不足时(4ppm)，胎仔和幼仔骨骼表现明显的骨成熟延迟和钙化不全，类似于骼类佝偻病的放射线改变[9]。Strause研究长期饲料锰和铜缺乏，分别为2.5ppm和0.5ppm时，大鼠骨骺显示密度均降低25%[1]。本文观察幼鼠在胎内期与生后一段时间内缺铜对骨发育的影响。结果发现缺铜幼鼠骨骼放射线示骨骼细小，骨质疏松，骨质变薄，骺板变薄或消失。与之相应的病理变化示软骨内成骨停滞，骨骺细胞各层明显变薄。但补铜仅15日的治疗组幼鼠长骨X线、组织形态结构与血生化平行地呈恢复过程。说明缺铜所致骨骼损害虽严重，但并非似脑神经发育损害那样呈一不可逆的过程。缺铜的骨骼组织的损害只要适当补铜，其X线与病理变化很快恢复。这种缺铜的骨骼损害与恢复与缺锌对骨骼的影响经过相似。

正常的骨骼成熟有赖于多种因素，其中维生素D和激素作用最明显，一些内分泌的影响包括垂体、肾上腺、甲状旁腺和甲状腺、性激素。缺铜骨骼异常的生化学基础与铜作为形成骨的酶的功能有关[8,7]。含铜的金属酶赖氨酰氧化酶 (Lysyl Oxydase) 是体内胶骨和弹性蛋白交联作用 (Cross-Linking) 形成过程中的一种关键酶。这种含铜的金属酶在可溶性的胶原蛋白和弹性蛋白中催化赖氨酸和羟化赖氨酸残基，形成醛的衍生物。胶原中的交联对维持其结构的完整性、弹性是非常重要的。骨胶原中含大约95%的未骨化的骨基质，它集结催化骨钙的沉着。当胶原纤维的交联异常时，其钙化不全，而产生明显的放射线变化。同时缺铜也损伤了骨的磷脂的合成 (pho spholipid)。铜是体内重要的微量元素，是若干酶的重要成分，如铜兰蛋白、多巴胺β-羟化酶、细胞色素氧化酶、过氧化歧化酶等。含铜酶参与体内重要代谢过程，故缺铜可致赖铜酶活力下降，而严重影响生长发育。缺铜的骨骼病理改变可以此解释，但如何影响骨细胞的代谢需进一步研究。

文献报告严重缺铜和临界性缺铜所致的骨骼损害特征之一为骨质疏松(Osteoporosis)[4]。婴幼儿缺铜的X线检查亦常显示单纯的骨质疏松，早产儿不明原因的肋骨骨折，骨膜反应及长骨干骺端骨刺形成。有的学者发现婴儿缺铜的骨骼X线似坏血病或VitD缺乏性佝偻病改变。因此，诊断缺铜的骨骼放射线变化与之鉴别[3,5,6,8,9]。本文幼鼠缺铜的放射线变化除骨质疏松外，表现与人类所见不同，似生长阻滞现象。这也许是种系间的差别，值得进一步研究比较。

参 考 文 献

[1] Strase LG. J Nutr. 1986; 116:135
[2] Reinstein NH. J Nutr. 1984; 114:1266
[3] Carlos CD. Am J Clin Nutr. 1988; 47:710

维普资讯 http://www.cqvip.com

[4] Danks DM. Ann.Rev.Nutr.1988; 8:235
[5] Crunebaum M.pediatr.Radiol.1988; 9:101
[6] Allen TM. Clinical Orthopaedics Related Research 1982; 168:206
[7] 何志谦.人体营养学 第一版 人民卫生出版社 1988; 320
[8] Levy Y.The Journal of pediatrios 1985; 106:786
[9] Leek JC. Am J Clin Nutr. 1984; 40:1203

(收稿日期1990-05-15)

SKELETAL CHANGES ASSOCIATED WITH COPPER DEFICIENCY DURING FETUS AND AFTER BIRTH

Li Haiqi, et al
(Depar of Primary Child Care Children' Hospitar)

The aime of the present study were to investigate whether the bone growth was affected by copper deficiency dur ing fetus and after birth. In this experiment the copper-deficiency rats were conducted from the beginning of conception through 45 days of postnatal life. The weights of 45-day baby rats were only one third of control group ($P<0.01$). The levels of copper in serum of copper-deficiency rats were lower than that of the controls also ($P<0.01$). Skeletal changes of radiography and pathology were observed. And there was an evidence of defective mineralization. Reontgenograpy of long bone showed osteoporosis and rarefied cortical bone in copper-deficiency rats. Light-microscopically, the cartilage cells of metaphyses became small and the number of the cells were reduced, suggesting the bone growth was stunted. After 15 days of copper supplementatien, the waights of baby rats, biochemical changes in blood and reontgenograph were rapidly restoreb

KEY WOLDS copper-deficiency; metaphyses; cortical bone; chondo-epiphysial cells

短 篇

院内感染的断面调查

流行病学教研室 杜渝平 卢仙城 王其南
预防保健科 邓明亨 李德秀

预防医院内感染作为医院管理的重要内容已日趋为国内外医务界所重视，我们于1990年6月4日至6日，对12个高危病房的360例病员进行了一次院内感染断面调查，断面调查用于反馈院内感染信息是一种有效和快速的评价方法。

调查对象为泌尿科，神经外科等12个病房所有住院三天以上的病人，由两名医师阅读调查对象病历后，逐一询问，按照事先设计表格登记，对调查当天符合CDC诊断院内感染标准的病员，定为此次调查的感染病例。总感染率3.1%(11/360)，感染病例分布为：泌尿科3例(3/39)，外三3例(3/34)，骨科1例(1/40) 烧伤1例(1/10)，肺科1例(1/33)，神外2例(2/31)。细菌学培养4例阳性，菌种为绿脓杆菌，硝酸盐阴性杆菌，金黄色葡萄球菌及未能鉴定G^+杆菌。

本次调查院内感染病例感染部位分布为：泌尿道感染4例，其中3例插有导尿管；伤口感染5例，2例使用激素；内源性感染1例，亦使用激素；褥疮1例。病例平均年龄范围为52±18岁，平均住院时间33±16天，全部使用了抗生素，最多者达6种。

资料提示：对使用激素或插有导尿管者应加强护理和预防工作，进行重点监护；亦应注意合理使用抗生素。

结果表明：时点患病率为3.1%，感染病例除1例外，全为外科病例，这可能与调查时间在夏季有关。

断面调查可以反映院内感染的一个方面，它具有灵活，节省人力，物力，时间，能快速评价一个阶段工作的优点，是我们随时了解医院管理情况和医疗质量的一种有效方法。

刘恩惠，曹何，余显书，黄维强同志参与该项工作。)