

文章编号: 0253-9950(2003)01-0006-04

超热中子活化法研究补碘大鼠甲状腺碘水平

王雪飞¹, 张 芳¹, 徐 清¹, 刘年庆¹,
柴之芳¹, 赵学勤², 左爱军²

1. 中国科学院 高能物理研究所 核分析技术重点实验室, 北京 100039;
2. 天津医科大学 内分泌研究所, 天津 300070

摘要: 低碘饲料喂养的第二代 Wistar 母鼠, 产子后根据其母鼠饮水中 KIO_3 的质量浓度 (3.0, 0.4, 0 mg/L), 将其分为高碘、适碘和缺碘三组, 另用正常鼠饲以低碘饲料和 0.4 mg/L KIO_3 + 超纯水作为对照组, 用超热中子活化法测定第三代幼鼠甲状腺中的碘含量, 并用酶联免疫法测定血清中甲状腺激素水平。实验结果表明, 与对照组相比, 高碘组的总四碘甲状腺原氨酸 (TT_4) 和游离四碘甲状腺原氨酸 (FT_4) 明显偏低 ($p < 0.001$), 游离的三碘甲状腺原氨酸 (FT_3) 明显偏高 ($p < 0.001$), 其第三代幼鼠的体重也明显增高, 并伴有甲肿, 但甲状腺含碘量无显著差别; 适碘组的甲状腺质量、总含碘量和血清激素水平均无显著差别。实验还表明, 妊娠期缺碘母鼠产后及时补碘, 仔鼠甲状腺中的碘含量和血清甲状腺激素持正常水平。但过量补碘反而引起 TT_4 和 FT_4 水平低下和甲肿。

关键词: 碘过量; 甲状腺激素; 中子活化

中图分类号: O657.4 **文献标识码:** A

碘是人体必需的微量元素, 在体内主要参与甲状腺激素的合成并发挥其生物学作用。体内的甲状腺激素主要包括蛋白结合 $3,3',5,5'$ -四碘甲状腺原氨酸 (TT_4)、蛋白结合 $3,3',5$ -三碘甲状腺原氨酸 (TT_3)、游离 T_4 (FT_4) 和游离 T_3 (FT_3)。其中低活性的 TT_4 是甲状腺的主要分泌物, 高活性的 TT_3 除少量由甲状腺分泌外, 主要由脱碘酶对 TT_4 的脱碘代谢产生。游离的 FT_4 , FT_3 是激素活性成份, 它们可进入细胞, 与特异性受体蛋白结合发挥其生物学功能。碘元素严重缺乏时, 将导致甲状腺功能低下, 胎儿脑发育受阻, 体格生长缓慢, 患所谓呆小症, 即克汀病。补碘是治疗地方性克汀病行之有效的办法^[1]。我国为消除碘缺乏病, 采取了全民食盐加碘措施。但在实施过程中, 出现了过量补碘的问题。新生儿甲状腺对母

体碘补充极其敏感^[2], 母体甲状腺功能异常多数会影响后代^[3,4]。本文研究哺乳期母鼠补碘后对缺碘新生鼠甲状腺功能和血清甲状腺激素水平的影响, 为人体正常补碘提供依据。碘是不稳定易挥发元素, 难以准确测定。超热中子活化分析法具有样品前处理相对简易等优点, 且灵敏度高, 检出限低, 是测量生物微量元素的有效方法。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂 碘酸钾, 分析纯, 北京化工厂生产; 实验用水为超纯水, 购于中国科学院半导体研究所, 经实验检验符合测量要求。

1.1.2 仪器 上海产 TGL-16G 高速离心机; 天津医科大学生物医药技术开发中心产酶联免疫试

收稿日期: 2002-06-27; 修订日期: 2002-10-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (19975055, 10175077, 19935020); 中国科学院重要方向性基金资助项目 (KJ CX-N01)

作者简介: 王雪飞 (1978—), 男, 山西长治人, 硕士研究生, 无机化学专业。

剂盒;实验过程中所用玻璃器皿均用 1:1 HNO₃ 浸泡,48 h 后用超纯水冲洗干净,烘干后使用。

1.1.3 动物模型 实验动物为 20 日龄克汀鼠模型,天津医科大学内分泌研究所提供。培养方法:正常 Wistar 大鼠以低碘饲料和超纯水喂养三个月,交配产仔,即为第二代仔鼠。以同样方式喂养四个月后交配,所产仔鼠即为第三代克汀鼠模型。产后的第二代母鼠分三组:高碘(EI)、缺碘(ID)、适碘(AI)。EI 组:以低碘饲料和高碘水(超纯水 + 3.0 mg/L KIO₃) 喂养;ID 组:以低碘饲料和缺碘水(超纯水) 喂养;AI 组:以低碘饲料和适碘水(超纯水 + 0.4 mg/L KIO₃) 喂养。另设对照组(C),母鼠为正常 Wistar 大鼠,以低碘饲料和适碘水(同上) 喂养三个月后产仔鼠,产后母鼠饲养方式不变。

1.2 实验方法

1.2.1 样品及标准的制备 第三代克汀鼠,20 日龄时处死,剥离其甲状腺,低温下干燥后称重,擦镜纸包好后再用聚乙烯薄膜密封。

碘标准的制备:准确称取一定量的 KIO₃, 配制成含碘 110.6, 55.3 和 36.9 mg/L 标准溶液。分别取以上标准溶液 100 μL 滴于 6 层 φ8 mm 定量滤纸上,室温下晾干。封于 10 mm × 10 mm 的聚乙烯薄膜中,制成每包含碘 11.06, 5.53 和 3.69 μg 的化学标准。选用国际标准参考物牡蛎(Oyster tissue 1566a) 作为质量分析控制,取样量为 100 mg,按样品相同方法制靶。实验分析标准参考物的测量值为 $(4.59 \pm 0.03) \times 10^{-6}$,与推荐值 $(4.4 \pm 0.2) \times 10^{-6}$ 基本吻合。

1.2.2 照射和测量 将制备好的样品和标准放入氮化硼(BN)屏蔽盒中,再将其放入聚乙烯跑兔盒中,并送入微型反应堆孔道内照射。照射时间为 15 min,超热中子注量率为 $6 \times 10^{11}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 。样品出堆后冷却 3 ~ 10 min,然后在由 HPGe 探头、多道分析器和 IBM-386 计算机组成的分析系统上测量谱。用 CIAE/SPAN 5.0 谱分析软件解谱,得到 443 keV 处 ¹²⁸I 峰面积,用相对比较法计算元素含量。

收集上述动物模型血样并分离出血清,采用酶联免疫法(ELISE)测定血清中 TT₃, TT₄, FT₃, FT₄ 含量。

数据统计处理采用 SPSS 10.0 for windows 软件,首先根据 T 法排除奇异值,然后做统计处理,组间数值比较采用单因素方差分析(One Way-ANOVA)。

2 结果和讨论

2.1 甲状腺中碘的分析

第三代克汀鼠的甲状腺质量、碘与甲状腺的质量比列入表 1。从表 1 看出,与 AI 组和 C 组相比, ID 组的甲状腺总含碘量以及碘与甲状腺的质量比均有显著性下降 ($p < 0.05$), 甲状腺总含碘量为对照组的 1/60, 碘与甲状腺的质量比仅是对照组的 1/250, 并伴有明显的甲肿症状。EI 组与 C 组或 AI 组比较可以发现, EI 组的甲状腺质量增大 ($p < 0.05$)。说明摄入过量碘也会引起甲肿^[5]。文献[6,7]认为,高碘会抑制甲状腺激素的合成和释放(主要是释放),使胶质物滞留在甲状腺滤泡腔内,滤泡扩张造成甲状腺肿大。实验结果还表明,高碘摄入引起的甲肿与低碘有所不同,高碘甲状腺总含碘量未见明显变化,只是碘与甲状腺的质量比下降。可见过量碘的摄入影响了甲状腺正常生理状态,而碘在组织内的积累效应并不明显。这可能是由于过量碘抑制了甲状腺滤泡的摄碘机制^[8]。但也有文献报道,高碘造成甲状腺中碘的累积^[7],因此碘对甲状腺的抑制作用还有待深入了解。适碘组和对对照组的甲状腺质量和总含碘量均无明显差别。

2.2 血清甲状腺激素的分析

将 EI, ID, AI, C 组的血清甲状腺激素水平列入表 2。与 C 组相比, EI 组和 ID 组的激素水平呈现相同的变化趋势: FT₃ 显著升高, TT₄ 和 FT₄ 显著降低。TT₄ 是血液中甲状腺激素的主要成分,全部由甲状腺合成分泌, TT₄ 的下降表明了高碘和低碘对甲状腺功能的抑制。另外,在 TT₄, FT₄ 水平下降情况下,作为甲状腺激素的活性成分, FT₃ 水平升高,可能属于甲低初期体内代偿机制作用的缘故。各组的 TT₃ 在实验中相对稳定,各组间无明显差异,与文献[9,10]的研究结果一致。表 2 中 AI 组与 C 组各参数均无显著差异 ($p > 0.05$)。由此可见,低碘和高碘的摄入均影响甲状腺的正常生理功能。

表 1 大鼠甲状腺中碘的分析结果
Table 1 Analytical results of iodine in the thyroid of iodine treated rats

组别 (Group)	<i>n</i>	<i>m</i> (Thyroid)/ mg	<i>m</i> (I) _{total} / ng	<i>R</i> (I/ thyr)
高碘组 EI (Excessive iodine)	22	2.0 ±0.4 ¹⁾	2 707 ±844	1.4 ×10 ⁻³ ¹⁾
缺碘组 ID (Iodine deficient)	31	5.0 ±1.0 ²⁾	36.26 ±8.21 ¹⁾	7.3 ×10 ⁻⁶ ¹⁾
适碘组 AI (Adequate iodine)	18	1.3 ±0.2	2 454 ±590	1.9 ×10 ⁻³
对照组 C (Control)	17	1.2 ±0.2	2 229 ±297	1.9 ×10 ⁻³

注(Notes): 1) 与 C 比较, 0.001 < *p* < 0.05;
2) 与 C 比较, *p* < 0.001

表 2 血清甲状腺激素的分析结果
Table 2 Analytical results of serum thyroid hormone in thyroid of iodine treated rats

组别 (Group)	<i>m</i> (rat)/ g	(TT ₃)/ (ng ·mL ⁻¹)	(TT ₄)/ (ng ·mL ⁻¹)	(FT ₃)/ (pg ·mL ⁻¹)	(FT ₄)/ (pg ·mL ⁻¹)
EI	30.0 ±4.9(24) ¹⁾	0.95 ±0.49(20)	50.34 ±7.68(21) ²⁾	1.35 ±0.40(21) ²⁾	8.12 ±3.78(21) ¹⁾
ID	23.4 ±3.9(25)	1.12 ±0.69(25)	8.39 ±5.60(16) ²⁾	1.23 ±0.32(23) ¹⁾	0.56 ±0.39(20) ²⁾
AI	21.1 ±2.9(20)	1.12 ±0.52(16)	89.38 ±15.92(19)	0.77 ±0.38(19)	16.73 ±5.83(20)
C	22.2 ±7.5(19)	1.19 ±0.72(19)	81.34 ±19.00(19)	0.87 ±0.38(17)	13.10 ±5.45(19)

注(Notes): 括号内为样本数 *n* (The value in the parentheses is the sample data);
1), 2) 同上(i. d)

对表 2 进行线性相关分析发现, TT₄ 与 FT₄ 具有较高的正相关性 ($n = 73, r = 0.75, p = 0$), 而 TT₄ 与 FT₃ 呈现一定的负相关 ($n = 71, r = -0.48, p = 0$), 体重与 FT₃ 表现为正相关 ($n = 80, r = 0.29, p = 0.004$)。文献[11]认为, 甲状腺激素的主要作用部位为细胞核, TT₃ 能促使多种 RNA (核糖核酸) 聚合酶和 mRNA (信使 RNA) 增加, 从而增加蛋白的合成。而且细胞核结合 T₃ 大大多于 T₄, 在被占居的核受体中, T₃ 为 80%, T₄ 仅为 10% ~ 15%。在体内 FT₃ 增加时, 即使 T₄ 下降, 仍会促进蛋白合成, 致使高碘组体重相对升高。另外缺碘组体重并未因 FT₃ 的升高而增加。可能由于影响机体发育的 T₄ 过低的缘故。

3 结 论

(1) 用超热中子活化分析法测定了幼鼠甲状腺中碘的含量, 并结合相关的生化指标分析发现: 同碘摄入不足相似, 过量碘摄入对动物体甲状腺功能和发育同样会产生负面影响, 但过量的碘并未在甲状腺组织中蓄积。

(2) 适碘与对照各组参数均无明显差异, 表明长期缺碘的母鼠, 在哺乳期及时补充碘, 幼鼠甲状腺中碘量和血清激素水平仍可达正常值。

致谢: 在活化测量以及图谱分析过程中, 得到了中国原子能科学研究院王珂老师的技术指导, 在此致以诚挚的谢意。

参考文献:

- [1] HUFNER M. Thyroid Hormones in the Treatment of Iodine Deficiency Goiter. Superfluous like Goiter? [J]. MMW Fortschr der Med, 2002, 144(9): 26 ~ 29.
- [2] DELANGE F. Neonatal Hypothyroidism: Recent Developments [J]. Baillieres Clin Endocrinol Metab, 1988, 2(3): 637 ~ 652.
- [3] KUNGA W C, LAO T T, CHAU M T, et al. Goitrogenesis During Pregnancy and Neonatal Hypothyroxinaemia in a Borderline Iodine Sufficient Area [J]. Clin Endocrinol, 2000, 53(6): 725 ~ 731.
- [4] CALACIURA F, MENDORLA G, DISTEFANO M, et al. Childhood IQ Measurements in Infants With Transient Neonatal Hypothyroidism [J]. Clin Endocrinol, 1995, 43(5): 473 ~ 477.
- [5] JANNINI E A, CAROSA E, GRAZIANO F M, et al. Iodine Deficiency Diseases and Pregnancy [J]. Minerva Endocrinol, 1994, 19(3): 149 ~ 154.
- [6] KANNO J, ONODERA H, FURUTA K, et al. Tumor Promoting Effects of Both Iodine Deficiency and Iodine

- Excess in the Rat Thyroid[J]. *Toxicol Pathol*,1992 , 20(2) :226 ~ 235.
- [7] 秦贵军,王庆祝,欧阳安,等. 不同浓度高碘水对小鼠甲状腺形态和功能影响的实验研究[J]. *中国地方病学杂志*,1997,16(4) :225 ~ 227.
- [8] 冯 凭. 甲状腺疾病[M]. 天津:天津科技翻译出版公司,1996. 13.
- [9] HOTZ C S,FITZPATRICK D W,TRICK K D,et al. Dietary Iodine and Selenium Interact to Affect Thyroid Hormone Metabolism of Rats [J]. *J Nutr*,1997,127(6) :1 214 ~ 1 218.
- [10] 刘年庆,刘平生,朱 立,等. 补碘和硒对克汀鼠红血球中的微量元素的影响[J]. *核技术*,2001,24(3) :189 ~ 193.
- [11] 孙传良,刁幼华. 甲状腺功能亢进病[M]. 北京:人民医学出版社,2001. 43 ~ 47.

STUDY ON IODINE LEVELS IN THYROID OF IODINE-SUPPLEMENTED RATS BY EPITHERMAL NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS

WANG Xue-fei¹, ZHANG Fang¹, XU Qing¹, LIU Nian-qing¹, CHAI Zhi-fang¹,
ZHAO Xue-qin², ZUO Ai-jun²

1. Laboratory of Nuclear Analytical Techniques, Institute of High Energy Physics, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China;
2. Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract : The second generation female Wistar rats that have been treated with iodine-deficient food, after their delivery, are divided into three groups i. e. excessive-iodine (EI), adequate-iodine (AI) and iodine-deficient (ID) according to the KIO_3 concentration in the drinking water (3.0, 0.4, 0 mg/L). In addition, the normal rats with low iodine food and 0.4 mg/L KIO_3 water are used as the control group (C). The iodine content in thyroid and the serum thyroid hormone levels of the third generation rats are measured by means of epithermal neutron activation analysis (ENAA), and the method of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), respectively. The results indicate that the total thyroxine (TT_4) and the free thyroxine (FT_4) of the EI, compared with those of the controls, are significantly decreased ($p < 0.001$), whereas the free triiodothyronine (FT_3) evidently increased ($p < 0.001$). The body weight of the third generation weanling rat of EI is seriously reduced and their thyroid is swollen, but the total iodine content in thyroid is not altered. There is no significant difference between AI and C in the thyroid weight, iodine content and serum hormone levels. This study also indicates that if mother rats suffering iodine deficiency in gestation period gets an adequate iodine intake soon after delivery, a normal iodine level would be found in the body of her baby rat. However, excessive iodine intake may result in low levels of TT_4 , FT_4 and goiter.

Key words : excess iodine; thyroid hormone; ENAA