

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.32.011

甲状腺功能亢进对大鼠红细胞系列指标及血清铁的影响*

赵晋英,王培培,谢 颖,黄作良,马新华,李艳伟[△]

(邵阳医学高等专科学校检验系/邵阳市分子生物学诊断重点实验室,湖南邵阳 422000)

摘 要:目的 研究甲状腺功能亢进(简称甲亢)对大鼠红细胞系列指标及血清铁的影响。方法 SD 雌性大鼠分为甲亢模型组和对照组,优甲乐灌胃制造甲亢模型,对照组灌服生理盐水。分别在灌胃给药后的第 1~8 周采血,采用放射免疫法测定大鼠血清三碘甲状腺原氨酸(T₃)、四碘甲状腺原氨酸(T₄)及促甲状腺激素(TSH)含量;使用全自动血细胞分析仪测定大鼠红细胞系列指标;比色法测定血清铁含量和总铁结合力。结果 甲亢模型组大鼠血清 T₃、T₄ 含量增高,而 TSH 含量下降。甲亢模型组大鼠红细胞计数(RBC)在第 2~8 周均明显高于对照组($P<0.05$);红细胞压积(HCT)在第 1~8 周均明显高于对照组($P<0.01$);平均红细胞体积(MCV)在第 2~8 周均明显低于对照组($P<0.05$);平均细胞血红蛋白浓度(MCHC)在第 1~8 周均明显低于对照组($P<0.01$);红细胞体积分布宽度标准差(RDW-SD)和红细胞体积分布宽度变异系数(RDW-CV)在第 1~2 周均高于对照组($P<0.01$);血清铁含量和总铁结合力在第 4~8 周均高于对照组($P<0.01$)。结论 本实验甲亢模型鼠虽未出现明显的贫血表现,但红细胞有明显的低色素性改变,血清铁含量和血清铁结合力均升高,提示有铁利用障碍。

关键词:甲状腺功能亢进;甲状腺激素;贫血;铁

中图分类号:R581.1 文献标识码:A 文章编号:1671-8348(2014)32-4307-04

The impact of hyperthyroidism on erythrocyte indices and serum iron of rats*

Zhao Jinying, Wang Peipei, Xie Ying, Huang Zuoliang, Ma Xinhua, Li Yanwei[△]

(Department of Laboratory Medicine, Shaoyang Medical College/Shaoyang Key Laboratory of Molecular Biology Diagnosis, Shaoyang, Hunan 422000, China)

Abstract:Objective To study the change of erythrocyte indices and serum iron in hyperthyroidism rats. **Methods** SD female rats were randomly divided into hyperthyroidism group and control group. Hyperthyroidism rats were induced by intragastric administration of Euthyrox (Levothyroxine) and their blood and serum were obtained after administration of 1—8 weeks, respectively. And the control rats were given normal saline. Levels of T₃, T₄ and TSH were determined by a radioimmunoassay. Erythrocyte index were measured by automatic blood cell analyzer. Serum iron concentration and total iron binding capacity were determined by chromatometry. **Results** The concentration of serum T₃ and T₄ increased in hyperthyroidism rats, whereas the TSH decreased. RBC was higher in hyperthyroidism rats at 2—8 weeks compared with the control rats ($P<0.05$). HCT was higher in hyperthyroidism rats at 1—8 weeks compared with the control rats ($P<0.01$). MCV was lower in hyperthyroidism rats at 2—8 weeks compared with the control rats ($P<0.05$). MCHC was lower in hyperthyroidism rats at 1—8 weeks compared with the control rats ($P<0.01$). RDW SD and RDW CV was higher hyperthyroidism rats at 1—2 weeks compared with the control rats ($P<0.01$). Serum iron concentration and total iron binding capacity increased in hyperthyroidism rats at 4—8 weeks compared with the control rats ($P<0.01$). **Conclusion** The hyperthyroidism rats in the present study is absent significant manifestation of anemia, whereas the hypochromic changes of erythrocyte is significant. Serum iron concentration and total iron binding capacity increase in hyperthyroidism rats, which demonstrate the iron utilization disorder.

Key words: hyperthyroidism; thyroid hormone; anemia; iron

甲状腺功能亢进(简称甲亢)是由于甲状腺激素分泌过多所致的一种常见内分泌疾病。众多资料显示甲亢患者发生贫血的并不少见,国外报道其发病率约为 8%~57%,国内 10%~44%,且贫血可作为甲亢的首发表现^[1-3]。贫血的出现可加重患者高动力循环状态,增加心脏、肝脏损害,给治疗带来困难。有研究提示甲亢性贫血与机体铁代谢异常有关,但迄今为止甲亢对机体铁代谢的影响尚不清楚。本研究采用优甲乐灌胃制造大鼠甲亢模型,通过研究大鼠红细胞系列指标及血清铁的变化,为后续甲亢对机体铁代谢影响的研究提供实验基础,这对甲亢性贫血的防治具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 材料 选取雌性 SD 大鼠 102 只,体质量(200±10)g,购于

南华大学实验动物中心,室温 18~25℃,相对湿度 50%~70%条件下饲养。将大鼠分为甲亢模型组(48 只)和对照组(54 只)。

1.2 方 法

1.2.1 造模方法 参照张彬等的方法造模^[4]:研磨左甲状腺素钠(100 μg/片,德国默克公司)用生理盐水配成混悬液,灌胃给药(每次 60 μg/100 g,每天 1 次)。对照组大鼠灌服生理盐水(1 mL/100 g)。每天记录大鼠饮食、饮水量,行为指征。每天称体质量,按体质量调整给药量。在实验前处死对照组大鼠 6 只,分别于实验第 1~8 周末处死甲亢模型组和对照组各 6 只大鼠,心脏采血,部分全血经抗凝后测定红细胞系列指标,其余血离心取血清用于测定激素和血清铁等指标。

1.2.2 激素测定 采用放射免疫测定法检测血清三碘甲状腺

* 基金项目:湖南省教育厅科学研究优秀青年项目(13B157);2012 年湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目(594)。 作者简介:赵晋英(1979—),讲师,硕士,主要从事贫血与铁调素的关系。 △ 通讯作者, Tel:13873995409; E-mail:liyanwei915@163.com。

原氨酸(T3)、四碘甲状腺原氨酸(T4)及促甲状腺激素(TSH)。严格按照 T3、T4、TSH 放免试剂盒(北京科美东雅生物公司提供)说明书进行操作,所有样品同批测定,以避免批次误差。

1.2.3 红细胞系列指标测定 采用全自动血细胞分析仪测定大鼠血常规,记录指标包括红细胞计数(RBC)、红细胞压积(HCT)、血红蛋白(Hb)、平均红细胞体积(MCV)、平均细胞血红蛋白量(MCH)、平均细胞血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞体积分布宽度标准差(RDW-SD)、红细胞体积分布宽度变异系数(RDW-CV)。

1.2.4 血清铁含量和总铁结合力测定 比色法测定血清铁含量和总铁结合力,试剂盒由南京建成生物工程研究所提供,严格按照试剂盒说明书操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用析因设计的方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠一般状况比较 对照组在整个实验中精神状态、活动情况、毛色光泽均未见异常。模型组大鼠在给药第 1 周末即出现易怒、好斗、饮食饮水量增多等甲亢表现;给药 2 周后部分大鼠毛色枯槁及明显脱毛,粪便增多并出现腹泻表现;随给药时间的延长,上述症状越发明显,给药 8 周后,症状最为明显。随着实验的进行,对照组体质量逐渐增加,而模型组体质量增加缓慢甚至减轻。

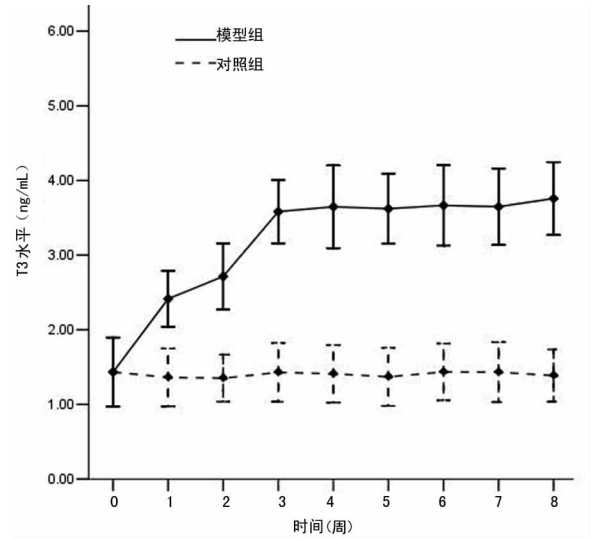


图 1 大鼠血清 T3 水平变化

2.2 大鼠血清 T3、T4、TSH 的变化 模型组大鼠血清 T3、T4 水平在第 1 周末即明显高于对照组,以后逐渐升高,到第 3 周末达平台,持续到 8 周末(图 1、2),与对照组差异均有统计学意义($P < 0.01$)。而模型组大鼠 TSH 水平均低于对照组($P < 0.01$),见图 3。

2.3 大鼠红细胞指标变化 分析大鼠血常规发现,对照组大鼠红细胞指标随时间延长无明显变化($P > 0.05$)。模型组大鼠 RBC 除在第 1 周无明显变化外,第 2~8 周均明显高于对照组($P < 0.01, P < 0.05$);HCT 在第 1~8 周均明显高于对照组($P < 0.01$);MCH 除第 1 周无变化外,第 2~8 周均明显低于对照组($P < 0.05$);MCHC 在第 1~8 周均明显低于对照组($P < 0.01$);RDW-SD 和 RDW-CV 在第 1~2 周均高于对照组($P < 0.01$),在第 3~8 周与对照组差异均无统计学意义($P > 0.05$);而 Hb 和 MCV 在 1~8 周与对照组差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

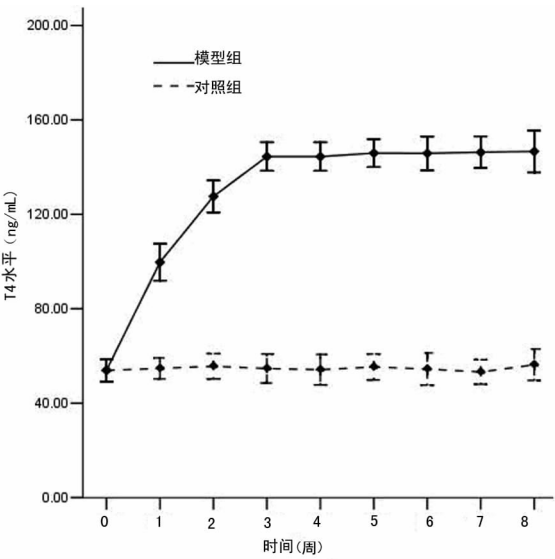


图 2 大鼠血清 T4 水平变化

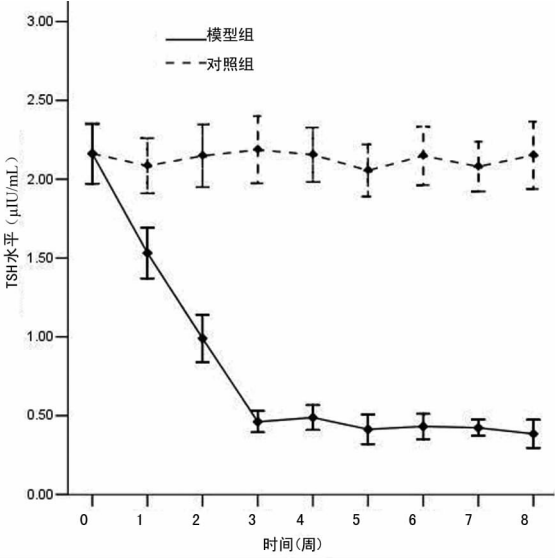


图 3 大鼠血清 TSH 水平变化

2.4 大鼠血清铁水平和总铁结合力变化 对照组大鼠血清铁含量和总铁结合力随时间延长无明显变化($P > 0.05$)。而模型鼠血清铁含量和血清总铁结合力均逐渐升高(图 4、5)。第 1~3 周与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),第 4~8 周均明显高于对照组($P < 0.01$)。

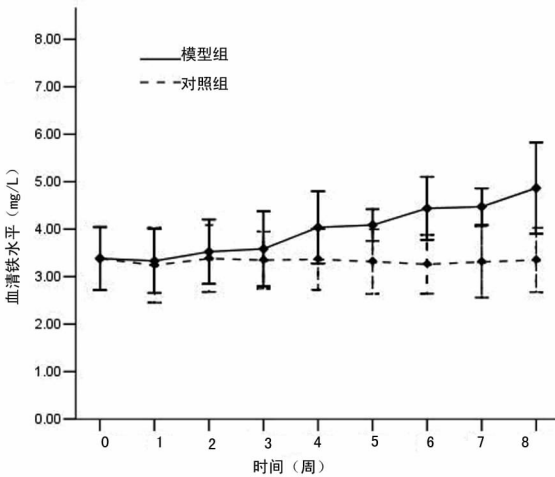


图 4 大鼠血清铁水平变化

表 1 甲亢对大鼠红细胞系列指标的影响(±s)

项目	0周	1周	2周	3周	4周	5周	6周	7周	8周
RBC(10 ¹² 个/L)	7.36±0.38	7.47±0.35	8.10±0.43**	8.06±0.31**	7.96±0.51*	8.21±0.31**	8.05±0.46**	8.14±0.35**	7.89±0.42*
(g/L)Hb	134.00±4.73	133.00±5.14	134.00±6.03	137.50±5.47	135.83±5.91	135.83±5.98	135.66±6.89	137.33±2.94	134.17±5.78
HCT	0.40±0.01	0.41±0.01**	0.43±0.02**	0.43±0.02**	0.43±0.02**	0.43±0.02**	0.43±0.02**	0.43±0.01**	0.43±0.02**
MCV(fL)	54.62±1.39	54.03±1.77	54.45±1.74	54.59±1.42	53.89±1.46	53.15±1.68	52.68±1.28	53.60±2.56	54.78±1.86
MCH(pg)	18.25±0.59	18.16±0.42	17.30±0.52**	17.39±0.56**	17.42±0.62**	17.19±0.57**	16.87±0.24**	17.34±0.61**	17.07±0.32**
MCHC(g/L)	332.00±4.38	329.17±6.24**	314.50±8.14**	317.17±5.56**	320.83±8.70**	316.33±7.63**	320.17±4.96**	316.50±6.83**	311.20±6.13**
RDW-SD(fL)	28.67±1.97	36.68±2.58**	32.49±1.80**	28.08±1.59	29.10±1.64	27.22±1.11	26.97±1.21	27.12±1.62	27.38±1.98
RDW-CV(%)	13.78±0.98	18.37±1.45**	16.66±1.69**	14.26±1.09	13.68±0.96	14.86±1.33	15.03±1.50	14.90±2.19	14.49±1.64

0周:对照组;1~8周:模型组。*:P<0.05,**:P<0.01,与对照组比较。

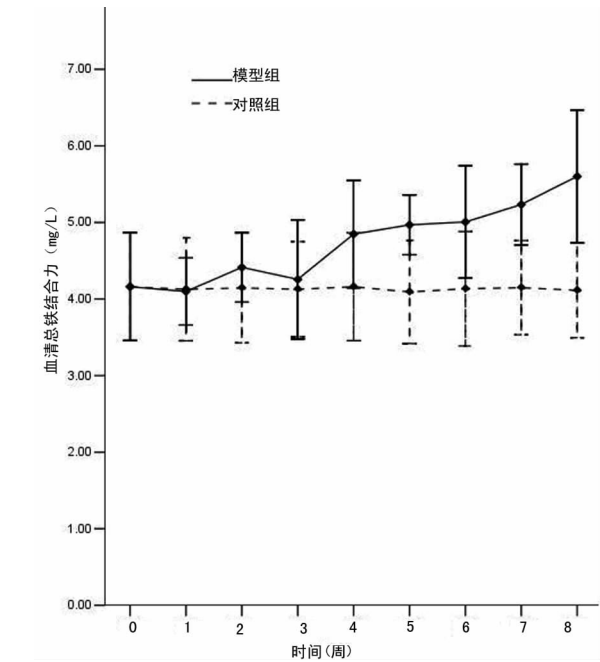


图 5 大鼠血清总铁结合力变化

3 讨 论

本实验主要研究甲亢对模型组大鼠血红细胞系列指标及血清铁的影响。国外采用腹腔注射 T3 或 T4 建立甲亢大鼠模型,但 T3、T4 注射液昂贵,国内学者多采用甲状腺素片或左甲状腺素钠灌胃法^[5-7]。甲状腺素片建模的优势在于价格便宜,但其成份复杂;而左甲状腺素钠成分明确,灌胃建模仅需 20~30 d,多被采用^[8]。因此,本研究采用左甲状腺素钠灌胃法建甲亢大鼠模型。

本研究中,经左甲状腺素钠灌胃后,大鼠有易怒、好斗、饮食饮水量增多、脱毛、粪便增多、体质量减轻等表现,并随给药时间的延长,表现越发明显。模型组大鼠血清 T3、T4 水平第 1~8 周末均明显高于对照组,血清 TSH 与 T3、T4 的变化正好相反。这些均提示甲亢大鼠造模基本成功。

在检测了大鼠红细胞系列指标后发现,在第 2~8 周模型组大鼠 RBC 和 HCT 均高于对照组,Hb 和 MCV 无明显差异,表明本研究模型组大鼠未出现明显的贫血表现。但是本研究发现 MCH 和 MCHC 在第 1~8 周均明显低于对照组。原因可能是模型鼠红细胞已有低色素性改变,缺铁引起红细胞变化时,低色素性改变往往早于小细胞性改变所致,此时若外周血存在双型红细胞(“正色素”与“低色素”二者并存)时 MCV 可维持在正常范围。本研究还发现,模型鼠 RDW-SD 和 RDW-CV 在第 1~2 周均高于对照组,表明可能是缺铁的早期征象,或者甲状腺激素直接刺激骨髓造血旺盛,从而引起红细胞相对缺铁,部分红细胞出现小细胞变,致反映红细胞大小离散状态

的 RDW 升高。谢益安等^[9]的临床研究也显示,甲亢合并贫血患者多为小细胞低色素性(MCV、MCH、MCHC 降低),且以细胞大小不均一,RDW 增高者为主,他们推断甲亢并贫血主要为缺铁性贫血及类似于慢性病贫血的铁利用障碍。而本研究结果在一定程度上很好地模拟了临床,为后续实验研究打下很好的基础。甲亢是一种慢性代谢性疾病,因此研究结果也提示在后续研究时,模型组给药时间可以进一步延长,给药剂量可以适当加大。

临床资料显示,甲亢引起的贫血多在病程晚期,除极少数可为重度贫血外,无并发症的甲亢多为轻度贫血,甲亢患者骨髓红细胞生成异常活跃,幼红细胞数量明显升高。由于甲状腺激素可能直接刺激或借助于促红细胞生成素间接刺激骨髓红细胞生成,如果没有造血原料的缺乏将会导致红细胞增多症^[10]。这也解释了本研究甲亢大鼠 RBC 和 HCT 为何会有升高表现。

甲亢性贫血的类型,取决于不同的发病机制,以小细胞性贫血最为多见^[11]。有时甲亢患者虽无贫血,但有 MCV 降低的表现^[12]。这可能与缺铁和铁利用障碍有关。因此本研究检测了模型组大鼠血清铁,随着给药时间的延长,大鼠血清铁水平和总铁结合力均逐渐升高。总铁结合力代表血清转铁蛋白的水平,这可能与甲状腺激素促进肝脏转铁蛋白强烈表达,增加血清运铁的能力,以满足机体高代谢需求有关^[13]。

有关甲亢患者血清铁水平的报道意见不一。陈新宇等^[14]对 30 例甲亢患者进行了检测,发现血清铁水平明显高于对照。也有学者证实甲亢患者红细胞内未与铁结合的游离原卟啉及含铁血红蛋白的比值升高,而血清铁水平正常^[15]。王季猛等^[16]发现多数甲亢患者并无明显的缺铁证据,70%患者铁蛋白增高,表明大部分甲亢贫血患者体内储存铁不但不减少,反而增多,提示这类患者的贫血与铁利用障碍有密切关系,甲亢贫血患者在合成血红蛋白时,铁利用减低,而形成某种程度的无效红细胞生成。Gianoukakis 等^[17]的临床研究也发现,甲亢性贫血普遍存在,类似于慢性病贫血。有研究者认为,这种铁利用障碍与患者血红素合成酶的活性降低有关,但其机制并不清楚^[18]。总之,无论从文献资料和本研究的结果均显示,甲亢性贫血与铁代谢的紊乱有密切联系。

最新研究显示,肝脏产生的铁调素对机体铁代谢的调控起重要作用,Hepc 异常与多种贫血的发生有关^[19-20]。当缺铁性贫血等造血旺盛时,Hepc 呈低表达;而慢性病性贫血的发病与 Hepc 表达过多有关^[21]。然而,Hepc 作为重要的铁调节因子,在甲亢时是否有异常;Hepc 与甲亢贫血和铁利用障碍的发生是否有关,至今尚未见报道。进一步研究甲亢对机体铁代谢的影响,尤其与 Hepc 的关系,将有利于揭示甲亢性贫血发病机制,对甲亢及其贫血的治疗具有重要意义。

参考文献:

[1] Omar S, Hadj Taeib S, Kanoun F, et al. Erythrocyte ab-

- normalities in thyroid dysfunction[J]. *Tunis Med*, 2010, 88(11):783-788.
- [2] 罗国春,潘长玉. 甲亢性贫血[J]. 中国人民解放军军医进修学院学报, 1984, 5(2):219-222.
 - [3] 赵笑燕,王淑芳,于正翠. 以贫血为主要表现的甲亢 1 例[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(3):376.
 - [4] 张彬,毕建玲,李金源,等. 即刻负载微种植体在甲亢大鼠模型中支抗稳定性的研究[J]. 口腔医学研究, 2011, 27(3):183-186.
 - [5] Fukuyama K, Ichiki T, Takeda K, et al. Downregulation of vascular angiotensin II type 1 receptor by thyroid hormone[J]. *Hypertension*, 2003, 41(3):598-603.
 - [6] 李斌,陈晶,宋芳,等. 雌性甲亢大鼠模型的建立[J]. 包头医学院学报, 2010, 26(6):1-2.
 - [7] 张子泰,侯英萍,汪静,等. 用左旋 T4 建立大鼠甲状腺功能亢进模型的实验研究[J]. 西北国防医学杂志, 2006, 27(1):34-36.
 - [8] 闵晓俊,厉晶萍,陈如泉,等. 复方甲亢片对甲亢合并肝损害大鼠肝功能影响的实验研究[J]. 湖北中医杂志, 2008, 30(12):5-7.
 - [9] 谢益安,钟丽俊. 甲亢并贫血的外周血特点及相关因素分析[J]. 广西医学, 2007, 29(8):1178-1180.
 - [10] Das KC, Mukherjee M, Sarkar TK, et al. Erythropoiesis and erythropoietin in hypo- and hyperthyroidism[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1975, 40(2):211-220.
 - [11] 张坚力. 甲亢患者贫血有关指标检测分析[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(31):7587-7588.
 - [12] Hegazi MO, Ahmed S. Atypical clinical manifestations of graves' disease; an analysis in depth[J]. *J Thyroid Res*, 2012, 2012:768019.
 - [13] Lin KH, Lee HY, Shih CH, et al. Plasma protein regulation by thyroid hormone[J]. *J Endocrinol*, 2003, 179(3):367-377.
 - [14] 陈新宇,胡云良. 甲状腺功能亢进症患者血清锌、铁、铜、钙的测定及意义[J]. 江西医学检验, 2004, 12(6):489-490.
 - [15] Davis PJ, Yoshida K, Schoenl M. Interaction of thyroid hormone and hemoglobin I. Nature of the interaction and effect of hemoglobin on thyroid hormone radioimmunoassay[J]. *J Lab Clin Med*, 1980, 95(5):714-724.
 - [16] 王季猛,阮婉玉,袁杰,等. 甲亢贫血的铁代谢探讨[J]. 衡阳医学院学报, 1993, 21(2):176-179.
 - [17] Gianoukakis AG, Leigh MJ, Richards P, et al. Characterization of the anaemia associated with Graves' disease[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2009, 70(5):781-787.
 - [18] Smith TJ, Drummond GS. Thyroid hormone regulation of heme synthesis in rat liver[J]. *Endocrinology*, 1988, 122(5):1964-1967.
 - [19] 李艳伟,赵晋英,钱忠明. 铁调素药物研究现状和应用前景[J]. 广东医学, 2010, 31(2):257-260.
 - [20] 赵晋英,李艳伟,李琳,等. 铁调素在贫血诊断和治疗中的应用[J]. 检验医学, 2011, 26(9):635-639.
 - [21] Nemeth E. Targeting the hepcidin-ferroportin axis in the diagnosis and treatment of anemias[J]. *Adv Hematol*, 2010, 2010:750643.
- (收稿日期:2014-08-10 修回日期:2014-09-22)
-
- (上接第 4306 页)
- in vitro[J]. *Leuk Res*, 2013, 37(2):146-154.
- [8] 姚志峰,姚建新,刘永彪. 草茛明碱抗肿瘤作用及其机制[J]. 国际肿瘤学杂志, 2013, 40(4):259-263.
 - [9] Qi Y, Fu X, Xiong Z, et al. Methylseleninic acid enhances paclitaxel efficacy for the treatment of triple-negative breast cancer[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2):e31539
 - [10] Golovine KV, Makhov PB, Teper E, et al. Piperlongumine induces rapid depletion of the androgen receptor in human prostate cancer cells[J]. *Prostate*, 2013, 73(1):23-30.
 - [11] Jarvius M, Fryknas M, D'Arcy P, et al. Piperlongumine induces inhibition of the ubiquitin-proteasome system in cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 431(2):117-123.
 - [12] Randhawa H, Kibble K, Zeng H, et al. Activation of ERK signaling and induction of colon cancer cell death by piperlongumine[J]. *Toxicol Vitro*, 2013, 27(6):1626-1633.
 - [13] Makhov P, Golovine K, Teper E, et al. Piperlongumine promotes autophagy via inhibition of Akt/mTOR signaling and mediates cancer cell death[J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(4):899-907.
 - [14] Bezerra DP, Militão GC, de Castro FO, et al. Piplartine induces inhibition of leukemia cell proliferation triggering both apoptosis and necrosis pathways [J]. *Toxicol In Vitro*, 2007, 21(1):1-8.
 - [15] Bezerra DP, Pessoa C, de Moraes MO, et al. Antiproliferative effects of two amides, piperine and piplartine, from Piper species[J]. *Z Naturforsch C*, 2005, 60(7/8):539-543.
 - [16] Gelmon K, Dent R, Mackey JR, et al. Targeting triple-negative breast cancer; optimising therapeutic outcomes [J]. *Ann Oncol*, 2012, 23(9):2223-2234.
 - [17] Kong EH, Kim YJ, Kim YJ, et al. Piplartine induces caspase-mediated apoptosis in PC-3 human prostate cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2008, 20(4):785-792.
 - [18] Trachootham D, Alexandre J, Huang P. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(7):579-591.
 - [19] Tsukaharas S, Yamamoto S, Shew TT, et al. Inhalation of low-level formaldehyde increases the bcl-2/bax expression ratio in the hippocampus of immunologically sensitized mice[J]. *Neuroimmunomodulation*, 2006, 13(2):63-68.
 - [20] Ola MS, Nawaz M, Ahsan H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 351(1/2):41-58.
- (收稿日期:2013-08-25 修回日期:2014-09-20)