

缺铁性贫血大鼠模型建立和补充乳酸亚铁改善血红蛋白水平研究

汪会玲 孟 晶 潘丽莉 赖建强 荫士安
(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021)

摘 要:为探讨缺铁性贫血大鼠模型建立及补充乳酸亚铁后大鼠生长发育和血红蛋白水平的变化,为相关研究提供参考数据,采用二级初断乳 Wistar 大鼠 25 只,体重 50~60 g,在二级动物房单笼饲低铁饲料 4 周,测定尾血血红蛋白(Hb),将 Hb 低于 100 g/L 的大鼠依血红蛋白水平随机分成缺铁对照组和补充铁组,每组 10 只。实验期为 4 周。缺铁大鼠和乳酸亚铁补充组大鼠的及其差值均有差异有非常显著性($P<0.0001$);缺铁性贫血大鼠肝脏重量和心脏重量低于补充乳酸亚铁组大鼠($P<0.0002$),而脾脏和肾脏重量高于补充乳酸亚铁组大鼠,两组脾脏重量差异有显著性($P<0.05$);缺铁性贫血大鼠的脾脏/体重与心脏/体重显著大于补充乳酸亚铁组大鼠($P<0.05$),补充乳酸亚铁组大鼠的肾脏/体重则大于缺铁性贫血大鼠($P=0.001$);缺铁对照组大鼠的血红蛋白含量非常显著低于补充乳酸亚铁组大鼠($P<0.0001$),而缺铁对照组大鼠的红细胞游离原卟啉含量非常显著高于补充乳酸亚铁组大鼠($P<0.0001$),缺铁组大鼠的白细胞数量是补充组的 3.4 倍,红细胞数量却仅为补充组的 33.9%。缺铁大鼠模型建立需要严格控制饲养条件,缺铁大鼠通过一定的代偿性增生改善机体适应缺铁和缺氧状况的能力有限,补充乳酸亚铁后可以有效地改善缺铁状况。

关键词:贫血, 缺铁性; 体重; 乳酸盐类; 血红蛋白类

因表达蛋白组与大肠杆菌菌液对照组、BSA 对照组比较,均未发现小鼠的体重、血液生化和肠道菌群各指标差异有显著性,未提示 *Cry1Ie* 基因表达蛋白对动物健康有影响。Noteborn 和 Kuiper 等对转 *Cry1A* 基因番茄进行了大鼠、小鼠全食品喂养实验,受试动物生长发育正常,未出现任何病理反应,90 d 喂养试验结果表明,受试动物的所有检测指标均处于正常范围之内^[6],说明 *Cry1Ie* 基因表达蛋白与 Bt 家族 Cry 蛋白的毒理学实验结果一致。本研究也探讨了 *Cry1Ie* 蛋白对小鼠肠道菌群的影响,结果表明 *Cry1Ie* 蛋白对肠球菌、肠杆菌等条件致病菌群和双歧杆菌、乳酸杆菌等益生菌群的数量均没有影响。

本研究为新的抗虫基因 *Cry1Ie* 表达蛋白的安全性评价积累了第一手的实验资料,并为摸索转基因食品中外来蛋白的食品安全性评价的方法奠定了一些基础,在新引入食品的蛋白质还缺乏安全食用的历史时,必要的急性经口毒性试验是其安全性评价的一个重要组成部分^[7],本研究由于样品的数量限制,未进行此实验。今后还将以 *Cry1Ie* 基因为模式蛋白,在外源蛋白质纯化的表达量、制备单克隆抗体、致敏性研究等方面继续开展工作,以获得比较完整的 *Cry1Ie* 蛋白毒性资料,同时进一步完善我国转

基因食品的安全性评价体系和规范。

参考文献

[1] Adams T B, Doull J D, Goodman J I, et al. The FEMA GRAS assessment of fufural used as a flavour ingredient[J]. Food Chem Toxicol, 1997, 35: 739-751.

[2] Hockney R C. Recent developments in heterologous protein production in *Escherichia coli* [J]. Trends Biotechnol, 1994, 12(11): 456-463.

[3] 杨月欣, 主编. 中国食物成分表 2002[M]. 北京: 北京大学医学部出版社, 2002.

[4] 刘允军. 人工改造的 *cry1Ac*、*cry1Ie* 基因在大肠杆菌、转基因烟草和玉米中的表达[D]. 中国农业大学博士论文集, 2004.

[5] 中华人民共和国卫生部. 转基因食品卫生管理办法[Z].

[6] Kuiper H A, Noteborn H P J M. Food safety assessment of transgenic insect-resistant Bt tomatoes[A]. OECD. OECD. Food Safety Evaluation[C]. Paris: OCED, 1996. 50-57.

[7] WHO. Application of the principles of substantial equivalence to the safety evaluation of food components from plants derived by modern biotechnology[Z]. Report of a WHO Workshop. Geneva: WHO, 1995, 11.

[收稿日期: 2006-02-20]

中图分类号: R15; Q343.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2006)04-0296-04

作者简介: 汪会玲 女 实验师

Establishment of Rat Model of Iron Deficiency Anemia (IDA) and Improvement of Iron Status with Supplement of Ferrous Lactate

WANG Hui-ling, MENG Jing, Pan L-Fli, LAI Jian-qiang, YIN Shi-an

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100021, China)

Abstract: To explore the establishment of rat model of iron deficiency anemia and observe the change of hemoglobin (Hb) level after supplement of ferrous lactate, 25 SPF weanling female Wistar rats weighing 50 ~ 60 g were fed low iron diet for 4 weeks, and 20 of them with hemoglobin less than 100 g/L were randomly divided into 2 groups (control group and supplement group). The duration of this experiment was 4 weeks. At the end of the experiment, the body weight of supplement group was higher than that of control group ($P < 0.001$). The liver and heart weights of control group were lower than those of supplement group ($P < 0.01$). The spleen weight of control group was higher than supplement group ($P < 0.05$). Hemoglobin (Hb) level of control group was lower than that of supplement group ($P < 0.001$). The free erythrocyte porphyrin (FEP) of control group was higher than that of supplement group ($P < 0.001$). WBC counts of control group were 3.4 times those of supplement group and RBC counts were 33.9 % those of supplement group. The IDA model was successful established with strict control of the condition, and the supplement of ferrous lactate to rats with IDA improved the Hb level.

Key word: Anemia, Iron-Deficiency; Body Weight; Lactates; Hemoglobin

铁缺乏是最常见的营养素缺乏症之一,铁摄入不足可引起贫血或相关功能障碍,以大鼠作为缺铁的研究对象应用比较广泛,但是由于饲养条件和大鼠属种要求严格,较难建立模型。本文在建立缺铁性贫血大鼠模型基础上,进一步研究补充铁对机体铁营养状况的改善以及对大鼠生长发育的影响。

1 材料与方法

1.1 动物模型 选用二级初断乳 Wistar 大鼠 25 只,体重 50 ~ 60 g,雌性,购自中国药品生物制品检定所实验动物中心(动物合格证书:京动许字第 SCXK11-00-0010 号)。

1.2 动物饲料的制备^[1] EDTA 处理酪蛋白 15 %;大米粉(梗稻) 75 %;玉米油 5 %;AIN^{-76M}混合盐 3.5 %;AIN^{-76M}混合维生素 1.2 %;dl-蛋氨酸 0.3 %。可用鸡蛋白粉代替 EDTA 处理酪蛋白,同时不用添加 dl-蛋氨酸,因为市售蛋清粉中的铁含量(Fe 7.7 ~ 8.4 mg/kg)低于用 EDTA 处理酪蛋白含铁量(Fe 16.5 mg/kg,未处理酪蛋白含铁 131.1 mg/kg)。用上述配方,每公斤饲料含铁量约 8 ~ 15 mg。EDTA 处理酪蛋白的制备:用去离子水配制 1 %的 EDTA - Na₂ 水溶液;将酪蛋白过 20 目筛,用 1 % EDTA - Na₂ 溶液浸泡过夜;捞出酪蛋白放入布袋中,置洗衣机中脱水;反复用去离子水冲洗,直至完全洗净酪蛋白中的 EDTA - Na₂;脱水后,放入烤箱,80 °C 烘干,研磨成粉,过 20 目筛后备用。AIN^{-76M}混合盐配方(g/kg):磷酸二氢钙,500.00;氯化钠,74.00;柠檬酸钾,220.00;硫酸钾,52.00;氧化镁,24.00;碳酸锰(43 % ~ 48 % Mn),3.50;碳酸锌(70 % ZnO),1.60;碳酸铜(53 % ~ 55 %),0.30;碘化钾,0.01;硒酸钠,0.01;硫

酸铬钾,0.55;添加葡萄糖(原配方中为蔗糖) 118.00,研磨成粉混合均匀后过 20 目筛。AIN^{-76M}混合维生素配方(g/kg):维生素 A (250.000 IU/g),1.6;维生素 D₃ (400.000 IU/g),0.25;dl-α-生育酚 (250 IU/g),20.0;维生素 B₁,0.6;维生素 B₂,0.6;维生素 B₆,0.7;维生素 B₁₂,0.001;维生素 K,0.005;生物素,0.02;叶酸,0.2;泛酸,1.6;尼克酸,3.0;添加葡萄糖(原配方中为蔗糖) 972.9 g,研磨成粉混合均匀后过 20 目筛,然后添加氯化胆碱 200.0 充分混合,过筛。

1.3 主要仪器与试剂 紫外可见分光光度计,UV1600 型,北京瑞利分析仪器公司生产;荧光分光光度计,日本日立 F4000;血细胞计数仪,BECKMAN COULTER[®] Tdiff[™];文齐氏浓缩液,中国医学科学院血液学研究所;氰化高铁血红蛋白标准液,中国医学科学院血液学研究所;氰化高铁血红蛋白参考液,中国医学科学院血液学研究所;红细胞游离原卟啉标准物质(GBW 09137),中国疾病预防控制中心;乳酸亚铁,(18 % Fe),互润(国际)食品集团有限公司提供。

1.4 模型建立 在中国医学科学院药物研究所二级动物房饲养[动物实验室合格证,京动许字 SYXK(京)2004-0001]进行模型建立。大鼠适应 1 周后,单笼饲养,自由饮用去离子水,饲低铁饲料 4 周,经尾静脉取血,测定血红蛋白和红细胞游离原卟啉含量,将血红蛋白含量低于 100 g/L 的大鼠随机分成缺铁对照组和补充铁组,每组 10 只。补充组大鼠每日给予乳酸亚铁 2 mg/kg BW d⁻¹[2],对照组给予去离子水 1 ml/100 g BW d⁻¹。实验期为 4 周。实验结束时,再次经尾静脉取血,测定血红蛋白和红细胞游离原

卟啉含量。麻醉大鼠,取腹主静脉血 3~5 ml,测定血象等指标。在实验开始和结束时测量大鼠的体重。

1.5 生化指标

血红蛋白含量检测(氰化高铁法) 用 10 μl 定量毛细管取大鼠尾血,放入盛有 2.5 ml 高铁氰化钾试剂的塑料管中,充分振荡,使血完全溶出,避光放置 15 min 后,于波长 540 nm 处测定,同时测定血红蛋白标准品和参考基准物质。

红细胞游离原卟啉含量检测 将全血 20 μl 自然滴在专用滤纸上,待干燥后存入 4℃ 冰箱备用(时间不超过 2 个月)。测定时,用打孔器将带有血滴的滤纸打入玻璃试管中,加入 2 %硅藻土溶液,放入 4℃ 冰箱过夜洗脱,加入乙酸乙酯 + 冰乙酸 (4 + 1) 混合液萃取,离心 10 min 后,取上清液加入 0.5 mol/L HCl,振荡离心,取下层液体用荧光分光光度计测定。

1.6 血象检查 白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、红细胞压积(Hct)、红细胞平均压积体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH),平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)和血小板(PLT)。

1.7 数据处理 采用 SAS 统计软件进行两均数比较(*t* 检验),结果以平均值 ±标准差表示($\bar{x} \pm s$)。

2 结果与分析

2.1 一般状况 缺铁性贫血模型动物出现毛发蓬松、脱落、呆滞、食欲不振、稀便等现象。

2.2 大鼠体重及主要脏器重量 大鼠在实验结束时,补充乳酸亚铁组大鼠体重非常显著高于缺铁对照组 (*P* < 0.000 1);缺铁性贫血大鼠肝脏重量和心脏重量低于补充乳酸亚铁组大鼠 (*P* = 0.000 2),而脾脏和肾脏重量高于补充乳酸亚铁组大鼠,两组脾脏重量差异有显著性 (*P* < 0.05);两组大鼠的肝脏与体重比差异没有显著性,但是缺铁性贫血大鼠的脾脏/体重与心脏/体重显著大于补充乳酸亚铁组大鼠 (*P* < 0.05),补充乳酸亚铁组大鼠的肾脏/体重则大于缺铁性贫血大鼠 (*P* = 0.001)。见表 1。

2.3 大鼠血液主要生化指标结果 实验结束时,乳酸亚铁组大鼠的血红蛋白水平非常显著高于缺铁对照组 (*P* < 0.000 1),乳酸亚铁组大鼠比实验前显著增加 70.4 g/L,缺铁对照组大鼠比实验前降低 13.3 g/L。实验结束时,乳酸亚铁组大鼠的红细胞游离原卟啉含量非常显著低于缺铁对照组 (*P* < 0.000 1),乳酸亚铁组大鼠比实验前显著降低 30.2 μg/dl,缺铁对照组大鼠比实验前增加 4.6 μg/dl。缺铁组大鼠的白细胞计数和平均血红蛋白含量(MCH)非常显著高于乳酸亚铁组 (*P* < 0.000 1)。见

表 2、表 3。

3 讨论

营养性贫血是世界范围内营养性问题之一,其中缺铁性贫血占 80 %以上,改善贫血的措施主要有改善膳食结构、食物强化和营养素补充等^[3],采用大鼠作为铁缺乏模型较为常见,本文旨在提供缺铁性贫血大鼠模型建立和补充乳酸亚铁后铁营养状况改善的数据,以利于相关研究人员参考。

表 1 两组大鼠体重、脏器重量及脏体比值比较

指标	缺铁对照组	乳酸亚铁组	<i>t</i>	<i>P</i>
初始体重(g)	85.9 ±4.7	84.5 ±10.9	0.38	0.7054
终体重(g)	146.7 ±12.1	188.4 ±16.3	7.73	< 0.0001
体重增加值(g)	55.6 ±7.6	104.0 ±11.1	11.38	< 0.0001
肝脏重量(g)	4.37 ±0.38	5.90 ±0.94	4.77	0.0002
脾脏重量(g)	0.65 ±0.15	0.54 ±0.06	2.27	0.035
肾脏重量(g)	0.75 ±0.10	0.72 ±0.11	0.75	0.465
心脏重量(g)	1.09 ±0.11	1.30 ±0.09	4.70	0.0002
肝/体重(g/g)	0.031 ±0.002	0.031 ±0.003	0.27	0.7868
脾/体重(g/g)	0.034 ±0.008	0.026 ±0.003	2.78	0.0123
肾/体重(g/g)	1.760 ±0.471	2.433 ±0.267	3.93	0.0010
心/体重(g/g)	0.173 ±0.019	0.123 ±0.017	6.14	< 0.0001

表 2 两组大鼠血象检查

指标	缺铁对照组	乳酸亚铁组	<i>t</i>	<i>P</i>
白细胞计数(WBC) ×10 ⁹ /L	23.3 ±10.9	6.8 ±2.1	4.73	0.0002
红细胞计数(RBC) ×10 ¹² /L	2.0 ±0.1	5.9 ±0.2	46.77	< 0.0001
红细胞压积(Hct) %	0.0 ±0.0	32.0 ±1.0	114.03	< 0.0001
红细胞平均压积体积(MCV)fl	0.0 ±0.0	53.9 ±1.5	110.71	< 0.0001
平均红细胞血红蛋白含量(MCH)pg	24.6 ±1.8	20.5 ±0.4	7.02	< 0.0001
平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)g/L	0.0 ±0.0	380.4 ±7.2	166.75	< 0.0001
血小板(PLT) ×10 ⁹ /L	0.0 ±0.0	1227.9 ±140.6	27.61	< 0.0001

表 3 两组大鼠血红蛋白和红细胞游离原卟啉含量

指标	缺铁对照组	乳酸亚铁组	<i>t</i>	<i>P</i>
Hb(g/L)				
实验前	67.6 ±9.4	67.2 ±8.8	0.11	0.9164
实验后	54.4 ±6.6	137.6 ±9.2	23.29	< 0.0001
差值	- 13.3 ±8.8	70.4 ±13.3	16.62	< 0.0001
FEP(μg/dl)				
实验前	84.0 ±21.4	84.4 ±10.4	0.06	0.9552
实验后	88.6 ±8.1	54.2 ±6.5	10.45	< 0.0001
差值	4.6 ±20.4	- 30.2 ±12.9	4.57	0.00012

缺铁性贫血动物模型建立的方式主要有放血造模和喂饲低铁饲料造模等,以往研究由于原料精度不够,配制出来的饲料低铁程度达不到要求,建立缺铁性贫血动物模型还需辅以放血^[4]、溶血等手段,动

广东省部分城市餐饮业推行食品卫生量化分级制度影响因素分析

杨卫国¹ 黄 彪¹ 黄宏瑜¹ 张永慧² 连玉峰¹ 周红华¹ 袁永红¹ 陈 哲¹ 陈玉梅¹ 任 坚¹
(1. 珠海市卫生监督所,广东 珠海 519000;2. 广东省卫生监督所,广东 广州 510300)

摘 要:通过对广东省部分城市在餐饮业推行食品卫生监督量化分级管理制度的综合成效影响因素研究,探讨有针对性的推行策略,并对推行过程影响因素模型进行检验。利用推行过程成效影响因素模型对广东省部分城市在推行过程中的实际情况进行回顾性调查,通过皮尔逊卡方值 χ^2 检验等统计分析,筛选出主要影响因素。所调查的城市中均有监督员掌握标准程度、监管机制、预期目标实现、宣传培训、监督频率落实和推行方案的可操作性等 20 余项指标存在不足,影响了推行的总体成效;城市之间影响因素实施情况与成效评价结果及现实情况相一致。本次研究建立的推行过程影响因素指标体系能较准确地反映真实情况,在推行量化分级管理策略方面具有一定的参考价值,同时也提出了进一步推行的策略。
关键词:餐馆;公共卫生;卫生状况指标;安全管理

物往往产生应急反应且程序繁琐不便。采用喂饲低铁饲料建立模型,对大鼠没有明显创伤,近似人体因为膳食因素导致贫血发生的机理,降低大鼠血红蛋白水平速度较快,效果可靠。但是对于这种模型建立方式,需要特殊饲料配制,具有喂养环境严密的特点,特别是要防止铁的污染。

缺铁性贫血大鼠体重增长缓慢,平均每周 13.9 g,而补充乳酸亚铁组大鼠则每周增重 26 g,相差 1 倍。缺铁大鼠的脾脏重量比乳酸亚铁组大鼠增加了 20.4%,心脏/体重比乳酸亚铁组大鼠增加了 40.7%,说明缺铁大鼠为了改善机体缺铁性贫血状况进行代偿性增生。脾窦扩张、红细胞聚集、胶原纤维增生可能是缺铁组大鼠脾脏体积增大、重量增加的主要原因。肝脏细胞和细胞器体积的缩小可能是缺铁性贫血大鼠肝脏重量减少原因^[5]。

本实验采用血红蛋白和红细胞游离原卟啉作为观测指标,是基于这两项指标测定简单方便,结果稳定可靠,在一般的实验室广泛应用。实验结束时,乳酸亚铁组大鼠血红蛋白比实验前显著增加 70.4 g/L,缺铁对照组大鼠比实验前降低 13.3 g/L。红细胞游离厚卟啉含量乳酸亚铁组大鼠比实验前显著降低 30.2 $\mu\text{g/dl}$,缺铁对照组大鼠比实验前增加 4.6 $\mu\text{g/dl}$ 。说明本实验成功地建立了缺铁性贫血模型,补充乳酸亚铁后可以有效增加血红蛋白水平,增强大鼠的造血功能。缺铁组大鼠的白细胞数量是补充

组的 3.4 倍,红细胞数量却仅为补充组的 33.9%,与血红蛋白结果接近,遗憾的是缺铁组大鼠的 HCT、MCV、MCHC、PLT 等指标没有检测出来,淋巴细胞没有分类的数据。白细胞数量大幅度增加说明缺铁严重损害了大鼠免疫系统,有研究表明,缺铁性贫血大鼠的脾脏淋巴细胞线粒体出现空洞,膜破损现象^[6,7]。本研究没有检测出淋巴细胞及其分类也说明了这一点。

参考文献

[1] William S. Official methods of analysis of association of official analytical chemists[M]. 14th ed. USA, 1984.800.

[2] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[Z]. 2003 - 02 - 14.

[3] 翟凤英,主编. 中国营养工作回顾[M]. 北京:中国轻工业出版社,2005. 281-289.

[4] 廖清奎,罗春华,李强,等. 缺铁性贫血模型的建立[J]. 中华血液学杂志,1990,3:156.

[5] 项晓人,龚跃新,孙云,等. 缺铁性贫血模型大鼠骨髓与肝脏的电镜观察[J]. 江苏临床医学杂志,2000,4(3): 203-204.

[6] 罗春华,陈静,廖清奎,等. 缺铁性贫血大鼠胸腺和脾脏的发育及腺苷脱氨酶活性的影响[J]. 华西医科大学学报,1990,21(1): 63-66.

[7] 付锦艳,马雅静,王勇,等. 大鼠生长期铁代谢特点的初步研究[J]. 广东微量元素科学,2004,11(2): 18-22.

[收稿日期:2006 - 04 - 22]

中图分类号:R15;R- 332;S858. 91 文献标识码:A 文章编号:1004 - 8456(2006)04 - 0299 - 04

基金项目:广东省医学科研基金项目(A2005661);珠海市科技项目(200502036)
作者简介:杨卫国 男 副主任医师 硕士